بررسی اثر سیلی‌مارین حاصل از بذر گیاه بومی و اصلاح شده خار مریم بر میزان چربی خون و پلاک آترواسکلروز در آئورت خرگوش هایپرکلسترولمی

طیبه رجبیان[1]*، حسن فلاح‌حسینی[2]، منیژه کرمی[1]، بهنام زرپاک[3]، ایرج رسولی[1]

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران
۲- استادیار پژوهش، گروه پژوهشی فارماکولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران
۳- مربی، گروه ریاضی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران
* آدرس مکاتبه: تهران، ابتدای آزاد راه تهران- قم، روبروی حرم مطهر حضرت امام خمینی (ره)، دانشگاه شاهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، صندوق‌پستی: ۱۸۱۵۱/۱۵۹، تلفن: ۲۳۱۷- ۵۲۷۷۴۰۰ (۰۲۱)، نمابر: ۵۲۷۷۶۴۵ (۰۲۱)
پست الکترونیک: rajabian@shahed.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۳/۹/۴

چکیده

مقدمه: سیلی‌مارین به مجموعه‌ای از ترکیبات فلاوونولیگنان موجود در بذر گیاه خار مریم ***Silybum marianum*** **(L.) Gaertn. اطلاق می‌شود که دارای خواص دارویی متعددی است. بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که گیاهان دارویی حاوی مواد با خواص آنتی‌اکسیدانی از جمله سیلی‌مارین بر کاهش لیپوپروتئین‌های سرم خون در حیوانات تغذیه شده با رژیم‌های غذایی پرچرب اثرات بارزی دارند.**

هدف: **هدف اصلی تحقیق حاضر بررسی اثر سیلی‌مارین حاصل از بذر گیاهان اصلاح شده و بومی خارمریم و داروی لووستاتین، بر میزان چربی خون و همچنین تشکیل پلاک آترواسکلروز در عروق آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی بود.**

روش تحقیق: **در این تحقیق پنج گروه ۸ تایی خرگوش انتخاب شدند و به چهار گروه از آنها غذای حاوی کلسترول (۱ درصد) به مدت ۶۰ روز تجویز شد. به یک گروه از خرگوش‌ها داروی لووستاتین (۱۰ میلی‌گرم /کیلوگرم وزن/ روز) و به دو گروه بعدی داروی گیاهی سیلی‌مارین حاصل از بذر گیاهان بومی و اصلاح شده (۲۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن/ روز) تجویز شد. یک گروه از خرگوش‌ها که از غذای حیوانخانه تغذیه می‌شدند به عنوان گروه شاهد منفی در نظر گرفته شدند. گروه آخر از خرگوش‌ها که با هیچ یک از داروها تیمار نشدند به عنوان گروه شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. میزان کلسترول کل، HDL-کلسترول، LDL-کلسترول و تری گلیسرید خون خرگوش‌ها، ناشتا و پس از ۳۰ و ۶۰ روز اندازه‌گیری شد. در پایان مطالعه خرگوش‌ها کشته شدند و میزان تشکیل پلاک آترواسکلروز در عروق آئورت آنها اندازه‌گیری شد.**

یافته‌ها: **نتایج حاکی از آن بود که در گروه لووستاتین میزان کلسترول کل و LDL-کلسترول به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مثبت کاهش نشان داد. در گروه سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده نیز میزان کلسترول کل، LDL-کلسترول و تری‌گلیسرید خون ناشتا، به طور معنی‌داری کاهش یافت، اما HDL-کلسترول به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. بررسی‌های مورفولوژیکی و مورفومتری نیز اثرات مطلوب و کاهش‌دهنده لووستاتین و سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده را بر پیشرفت آترواسکلروز در عروق آئورت خرگوش هایپرکلسترولمی نشان دادند. هر دو نوع سیلی‌مارین در این مورد به یک میزان موثر بودند و اثر آنها با لووستاتین قابل مقایسه بود.**

نتیجه‌گیری: **نتیجه کلی آن که تجویز داروی گیاهی سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده به خرگوش هایپرکلسترولمی اگرچه به نسبت کمتری در مقایسه با لووستاتین موجب کاهش میزان کلسترول کل و LDL- کلسترول در خون شد، اما همانند لووستاتین که یک داروی کاهنده چربی خون می‌باشد موجب مهار تشکیل پلاک آترواسکلروز شد. تاثیر دو داروی گیاهی سیلی‌مارین بومی و اصلاح بر چربی خون و در مهار تشکیل پلاک آترواسکلروز مشابه بود.**

گل‌واژگان: **سیلی‌مارین، آنتی‌اکسیدان، هایپرکلسترولمی، آترواسکلروز**

مقدمه

خارمریم[1] گیاه دارویی یک‌ساله یا دوساله از خانوادهٔ گل ستاره‌ای‌ها[2] و بومی اروپای غربی، مرکزی و شمال هند است که امروزه به طور خودرو در اروپای جنوبی، افریقا، چین، استرالیا، آمریکای جنوبی و برخی قسمت‌های آمریکای شمالی و غرب و جنوب آسیا می‌روید. این گیاه در ایران در مناطق گنبد کاووس، دره هراز، دشت مغان، پشت کوه، ملاثانی در اهواز، شوش، حمیدیه، رامهرمز، ایذه و کارون و کازرون پراکندگی دارد [۱،۲،۳].

میوه‌های فندقه این گیاه حاوی گروهی ازترکیبات فلاوونوییدی است که تحت نام سیلی‌مارین[3] نامیده می‌شوند. سیلی‌مارین از فلاوونولیگنان‌های سیلی‌بین، سیلی‌دیانین، سیلی‌کریستین و ایزوسیلی‌بین تشکیل می‌شود [۴].

حدود دو هزار سال است که خارمریم به عنوان داروی سنتی در تحریک تولید شیر، درمان بی‌نظمی‌های کبدی، کلیه، طحال، سنگ صفرا، یرقان و دردهای قاعدگی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۵،۶]. سیلی‌مارین حاصل از بذر خارمریم امروزه به عنوان یک داروی موثر در پیشگیری و بهبود بیماری‌ها و اختلالات کبدی و مسمومیت کبدی ناشی از سموم قارچ کشنده کلاهدار[4] مورد استفاده می‌باشد [۶،۷]. به علاوه سیلی‌مارین سلول‌های کبدی را در برابر حلال‌ها و مواد شیمیایی محافظت می‌کند [۸]. اثرات ضدسرطانی سیلی‌مارین روی سلول‌های سرطانی پروستات، پوست، سینه، کولون، تخمدان و مغز گزارش شده است [۹،۱۰،۱۱]. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که سیلی‌مارین همچنین دارای اثرات ضدالتهابی، تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی خواص آنتی‌اکسیدانی و پایین آورنده میزان کلسترول خون و کاهش‌دهنده خطر ابتلا به آترواسکلروز است [۱۲،۱۳،۱۴،۱۵،۱۶،۱۷،۱۸،۱۹،۲۰].

اسیدهای چرب اشباع شده و کلسترول در مواد غذایی دو عامل اصلی هستند که میزان لیپو پروتئین‌های سرم خون را افزایش می‌دهند. در انسان میزان ۱۵ درصد یا بیشتر LDL -کلسترول (لیپوپروتئین کلسترول با دانسیته کم) می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های کرونری قلب را تا حدود ۴۵-۱۵ درصد افزایش دهد. شکل اکسید شدهٔ LDL-کلسترول عامل اصلی بروز عارضه آترواسکلروز است [۱۰،۱۸،۲۱].

هدف اصلی تحقیق حاضر بررسی اثر سیلی‌مارین اصلاح شده (بذر وارد شده از کشور مجارستان با کد S_{250} از موسسه Plantarum Medicinarum Hortus Botanicum که در بانک ژن گروه کشت و توسعه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی نگهداری می‌شود و در مزرعه تحقیقاتی گروه مذکور کشت گردید) و بومی (بذرهای جمع‌آوری شده از منطقه کوش بیجار ۵ کیلومتری زیباکنار رشت) به صورت قرص‌های ۴۰۰ میلی‌گرمی تهیه شد. قرص‌های ۲۰ میلی‌گرمی لووستاتین بر روی تراز لیپوپروتئین‌ها (کلسترول، LDL-کلسترول و HDL-کلسترول) و تری گلیسرید سرم خون و همچنین میزان تشکیل و پیشرفت آترواسکلروز در خرگوش‌های با رژیم غذایی هایپرکلسترولی است.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

سیلی‌مارین حاصل از بذر گیاهان خارمریم اصلاح شده (بذر وارد شده از کشور مجارستان با کد S_{250} از موسسه Plantarum Medicinarum Hortus Botanicum (که در بانک ژن گروه کشت و توسعه پژوهشکده گیاهان جهاددانشگاهی نگهداری می‌شود و در مزرعه تحقیقاتی گروه مذکور کشت گردید) و بومی (بذرهای جمع‌آوری شده از منطقه کوش بیجار ۵۰ کیلومتری زیبا کنار رشت) به صورت قرص‌های ۴۰۰ میلی‌گرمی تهیه شد. قرص‌های ۲۰ میلی‌گرمی لووستاتین[1] (داروی شیمیایی پایین‌آورنده چربی خون) از بازار دارویی ایران تهیه شد. کلسترول نیز از شرکت (Batch : ۶۰۲۵) Solvay Duphar تهیه گردید.

تهیه حیوان

تعداد ۴۰ سر خرگوش نر نژاد سفید نیوزیلند[2] با وزن حدود ۲-۱/۸ کیلوگرم و عمر شش ماه از موسسه تحقیقات رازی خریداری شد. خرگوش‌ها در قفس های استاندارد، در گروه‌های ۲ تایی نگه‌داری شدند و ۵ گروه ۸ تایی از این خرگوش‌ها برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات، برای سازگاری با محیط جدید (مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) به مدت یک هفته با غذای آماده (پلت[3] خریداری شده از مرکز خوراک دام پارس) تغذیه شدند.

روش تهیه غذای حاوی کلسترول

غذای آماده پودر و به آن پودر کلسترول و روغن مایع ذرت اضافه شد [۲۱]. مقدار کلسترول موجود در غذا ۱ درصد و مقدار روغن مایع ذرت مورد استفاده ۳ درصد بود (یک گرم کلسترول + ۳ گرم روغن مایع + ۹۶ گرم پلت). به مخلوط غذا، کلسترول و روغن مایع ذرت کمی آب اضافه گردید و بعد از مخلوط نمودن تحت فشار مجدداً به صورت پلت در آورده و پس از خشک کردن به مقدار مورد نیاز روزانه به حیوانات خورانده می‌شد.

[1] *Silybum marianum* (L.) Gaertn.
[2] Asteraceae
[3] silymarin
[4] *Amanita phalloides*

[1] levostatin
[2] New Zealand white rabbits
[3] pellet

گروه‌بندی حیوانات

حیوانات در در ۵ گر وه زیر گروه‌بندی شدند:

۱- گروه شاهد منفی: با غذای حیوانخانه تیمار شدند.

۲- گروه شاهد مثبت: با غذای حاوی کلسترول + دارونما (روزانه ۴۰۰ میلی‌گرم غذای حیوانخانه یک ساعت قبل از غذا به حیوانات خورانده می‌شد) تیمار شدند.

۳- گروه داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر اصلاح شده: با غذای حاوی کلسترول + سیلی‌مارین (۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن/ روز یک ساعت قبل از غذا) تیمار شدند.

۴- گروه داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر بومی: با غذای حاوی کلسترول + سیلی‌مارین (۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن / روز یک ساعت قبل از غذا) تیمار شدند.

۵- گروه داروی شیمیایی لووستاتین: با غذای حاوی کلسترول + لووستاتین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن/ روز یک ساعت قبل از غذا) تیمار شدند.

آزمایش‌های بیوشیمیایی

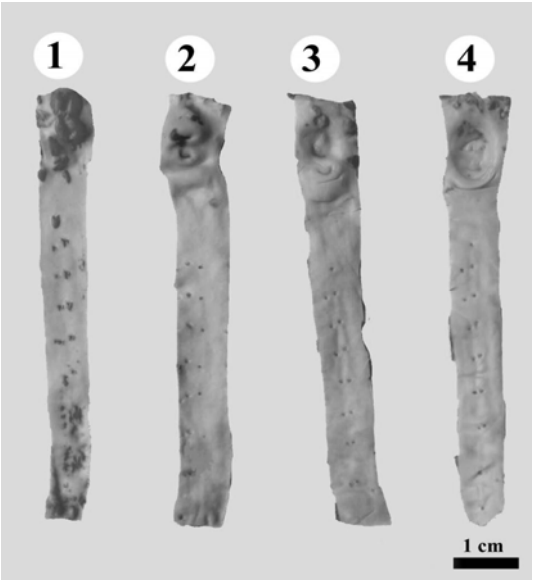
میزان کلسترول کل، LDL-کلسترول، HDL-کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون خرگوش‌ها ناشتا، در زمان صفر (زمان شروع آزمایش) و ۳۰ و ۶۰ روز پس از تجویز غذای حاوی کلسترول و دارو اندازه‌گیری شد. کلیه آزمایش‌ها با استفاده از روش‌های استانداردی که برای جداسازی و اندازه‌گیری لیپوپروتئین‌ها در سرم خون انسان به کار می‌روند، با استفاده از کیت‌های مربوط تهیه شده از شرکت سهامی خاص پارس آزمون و شرکت زیست‌شیمی اندازه‌گیری شد.

مطالعات بافت شناختی

پس از پایان دورهٔ آزمایش‌های بیوشیمیایی (زمان ۶۰ روز)، خرگوش‌ها تحت آزمایش به کمک کلروفرم (overdose) کشته و سریعاً جراحی شدند و عروق آئورت آنها از محل اتصال به قلب تا محل اتصال به پردهٔ دیافراگم جدا گردید. پس از تمیز نمودن عروق از بافت همبند، عروق به طور طولی برش خورده و به صورت اختصاصی رنگ‌آمیزی شدند. عروق ابتدا با اتانل ۷۰ درصد شستشو داده شدند و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۱ درصد سودان IV همراه با تکان دایم رنگ‌آمیزی شدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در اتانل ۸۰ درصد و نهایتاً به مدت یک ساعت در آب شستشو شدند. بعد از انجام مراحل فوق پلاک‌های آترواسکلروز در سطوح عروق آئورت به صورت لکه‌های قرمز رنگ مشخص شدند و بقیه سطوح سفید رنگ باقی ماندند [۲۲]. از عروق رنگ‌آمیزی شده به کمک دوربین عکاسی تصاویری تهیه شد تا پس از اسکن به روش پلانیمتری[1] درصد پلاک‌های تشکیل شده در عروق اندازه‌گیری شود (شکل شماره ۱).

[1] planimetry

سپس عروق رنگ‌آمیزی شده در پاکت‌های نایلونی حاوی فرمالین ۱۰درصد قرار داده شدند و پس از تخلیه هوای موجود آنها، در پاکت‌ها مسدود شد.



شکل شماره ۱- چگونگی تشکیل پلاک آترواسکلروز در عروق آئورت خرگوش‌های مورد آزمون در گروه‌های شاهد مثبت (۱)، تیمار شده با داروی لووستاتین (۲)، تیمار شده با سیلی‌مارین بذر بومی (۳) و تیمار شده با سیلی‌مارین بذر اصلاح شده (٤)

پلانیمتری به روش کامپیوتری

با استفاده از نرم‌افزار (version 3, 2002) Internet UTSCSA image tool، سطوحی از عروق را که توسط پلاک‌های قرمز رنگ آترواسکلروز اشغال شده بودند اندازه‌گیری نموده، به نسبت سطح کل عروق مطابق معادله زیر درصد تشکیل پلاک آترواسکلروز اندازه‌گیری شد:

$$X = \frac{B \times ۱۰۰}{A}$$

A= سطح کل آئورت

B= سطح پلاک آترواسکلروز

X= درصد تشکیل پلاک آترواسکلروز

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

بررسی آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه[1] و با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. همچنین با کمک آزمون دانکن[2]

[1] ANOVA
[2] DMRT

تفاوت‌های بین گروهی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و تیمارها بر اساس پاسخ‌های مشاهده شده در سطح معنی‌دار $p<0/01$ گروه‌بندی شدند.

نتایج

داده‌ها در جدول شماره ۱ و شکل شماره ۲ نشان می‌دهند که تغذیه خرگوش‌ها با کلسترول به مدت ۶۰ روز باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان کلسترول کل، LDL-کلسترول، HDL-کلسترول و به نسبت کمتری تری‌گلیسرید سرم خون آنها می‌شود. تجویز سیلی‌مارین بذر اصلاح شده و بذر بومی به خرگوش‌های هایپرکلسترولمی موجب کاهش معنی‌داری در تراز کلسترول کل و LDL-کلسترول سرم خون آنها نسبت به خرگوش‌های گروه شاهد مثبت شد. داروی شیمیایی لووستاتین نسبت به گروه شاهد مثبت و گروه‌های دو داروی گیاهی اثر بارزتری بر کاهش تراز کلسترول کل و LDL-کلسترول سرم خون خرگوش‌های تغذیه شده با کلسترول نشان داد. تیمار با سیلی‌مارین بذر اصلاح شده افزایش محسوسی را در تراز HDL-کلسترول خون خرگوش‌ها پس از ۳۰ و ۶۰ روز نشان داد. این اثر در مورد سیلی‌مارین بذر بومی پس از ۶۰ روز قابل ملاحظه بود و تیمار با این داروی گیاهی در کوتاه مدت (۳۰ روز) اثر بارزی بر افزایش HDL-کلسترول سرم خون حیوانات مورد آزمون نداشت. همچنین نتایج نشان داد که داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر اصلاح شده نسبت به داروهای دیگر مورد استفاده، بیشترین اثر را در کاهش تراز تری‌گلیسرید سرم خون خرگوش‌های هایپرکلسترولمی پس از ۳۰ روز دارد. این اثر کاهشی در میزان تری‌گلیسرید پس از ۶۰ روز نیز در مورد سیلی‌مارین بذر اصلاح شده همچنان محسوس بود. نتایج همچنین نشان دادند که تیمار با داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر بومی و داروی شیمیایی لووستاتین به مدت ۶۰ روز نیز می‌تواند اثر محسوسی در کاهش تراز تری‌گلیسرید در سرم خون حیوانات تیمار شده داشته باشد.

همان‌گونه که داده‌های جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱ و ۳ نشان می‌دهند، تیمار طولانی مدت خرگوش‌ها با داروی گیاهی سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده و داروی شیمیایی لووستاتین اثر بسیار محسوس و بارزی در پیشگیری از تشکیل پلاک آترواسکلروزدر عروق آئورت این حیوانات داشته است. به طوری که، میزان تشکیل پلاک آترواسکلروز در خرگوش‌های تیمار شده با سیلی‌مارین بذرهای اصلاح شده و بومی (به ترتیب ۶/۸۶ و ۶/۲۹ درصد) و داروی شیمیایی لووستاتین (۳/۶ درصد) تفاوت محسوسی را با خرگوش‌های گروه شاهد مثبت (۲۱/۱۶ درصد) نشان دادند.

بحث

اختلالات متابولیسمی و کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی خون در بیماران مبتلا به چربی خون بالا منجر به افزایش تولید و کاهش دفع رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. این رادیکال‌های اکسیژن به دلیل میل ترکیبی زیاد به ملکول‌ها و ترکیبات مختلف به ویژه LDL-کلسترول منجر به اکسیداسیون LDL می‌شود. شکل اکسید شده LDL در ترکیب با لایه‌های چربی غشای سلولی منجر به تولید اکسید لیپید در غشای سلولی شده که این اختلالات موجب تشدید آترواسکلروز و بیماری قلبی عروقی در بیماران مبتلا به چربی خون بالا می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کاهش اختلالات متابولیسمی ناشی از استرس اکسیداسیون موثر می‌باشند [۲۳،۲۴،۲۵]. اثر مثبت آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش چربی نیز در حیوانات آزمایشگاهی مشاهده شده است [۲۶،۲۷،۲۸،۲۹].

در تحقیق حاضر تاثیر داروی گیاهی سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده به عنوان داروی گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی و همچنین داروی لووستاتین به عنوان داروی کاهش‌دهنده چربی خون با خواص آنتی‌اکسیدانی بر میزان چربی خون و روند تشکیل پلاک آترواسکلروز در خرگوش هایپرکلسترولمی بررسی شد.

داروی لووستاتین به طور معنی‌داری موجب کاهش کلسترول کل، LDL- کلسترول و همچنین کاهش تشکیل پلاک آترواسکلروز در مقایسه با گروه شاهد مثبت شد.

در گروه‌های داروی گیاهی سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده نیز میزان کلسترول کل، LDL -کلسترول و تری گلیسرید خون به طور معنی‌داری کاهش و HDL -کلسترول افزایش یافت. به علاوه در این دو گروه نیز تشکیل پلاک آترواسکلروز در مقایسه با گروه شاهد مثبت به طور معنی‌داری کاهش یافت.

اثر لووستاتین در کاهش تراز کلسترول کل و LDL-کلسترول و همچنین مهار تشکیل پلاک آترواسکلروز که در این طرح پژوهشی مشاهده شد تاییدی بر گزارش‌های قبلی بوده و به دلیل اثر کاهش‌دهندگی چربی خون و خواص آنتی‌اکسیدانی این دارو می‌باشد [۳۰،۳۱].

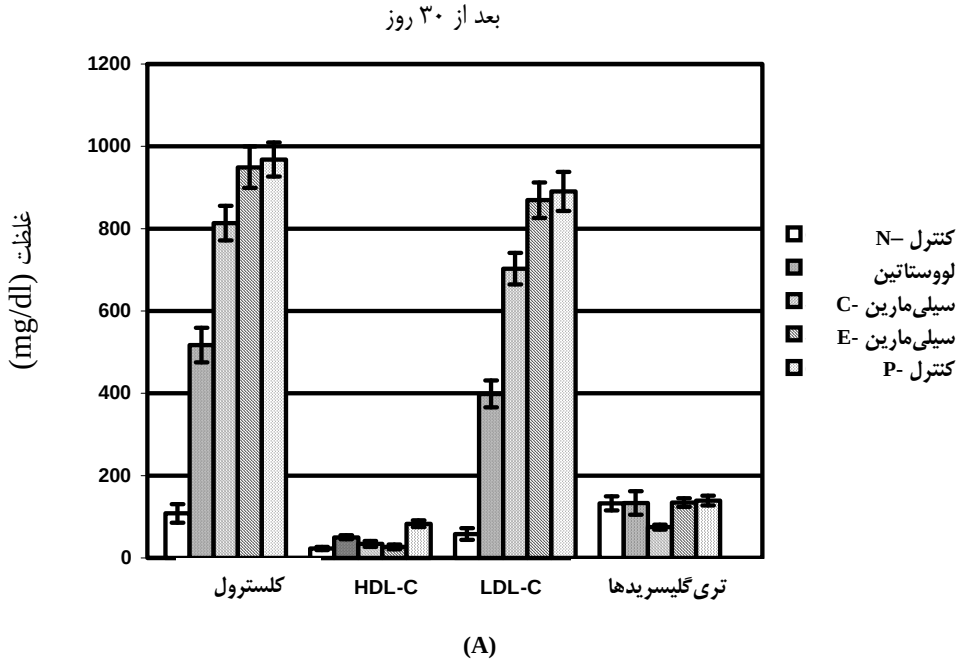
مکانیسم اثر سیلی‌مارین در کاهش تشکیل پلاک آترواسکلروز به طور دقیق گزارش نشده است. اما خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و تاثیر مثبت این داروی گیاهی بر لیپوپروتئین‌ها احتمالاً بر روند تشکیل پلاک آترواسکلروز تاثیرگذار باشد [۱۸،۱۹،۲۰]. سیلی‌مارین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با جاروب کردن رادیکال‌های آزاد خطرناک اکسیژن (O_2^- و H_2O_2) مانع پراکسیداسیون لیپیدها شده، سبب حفظ و پایداری غشاهای سلولی می‌شود. سیلی‌مارین با ممانعت از فعالیت لیپواکسیژناز مانع التهاب می‌شود. سیلی‌مارین همچنین با افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز[1] و گلوتاتیون اکسیداز و افزایش غلظت گلوتاتیون ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌کند [۹،۱۰،۱۵،۲۱]. گونه‌های واکنش‌کننده (رادیکال‌های آزاد اکسیژن) می‌توانند گسترهٔ وسیعی از بیماری‌های انسان از جمله آترواسکلروز را باعث شوند.

[1] superoxide dismutase (SOD)

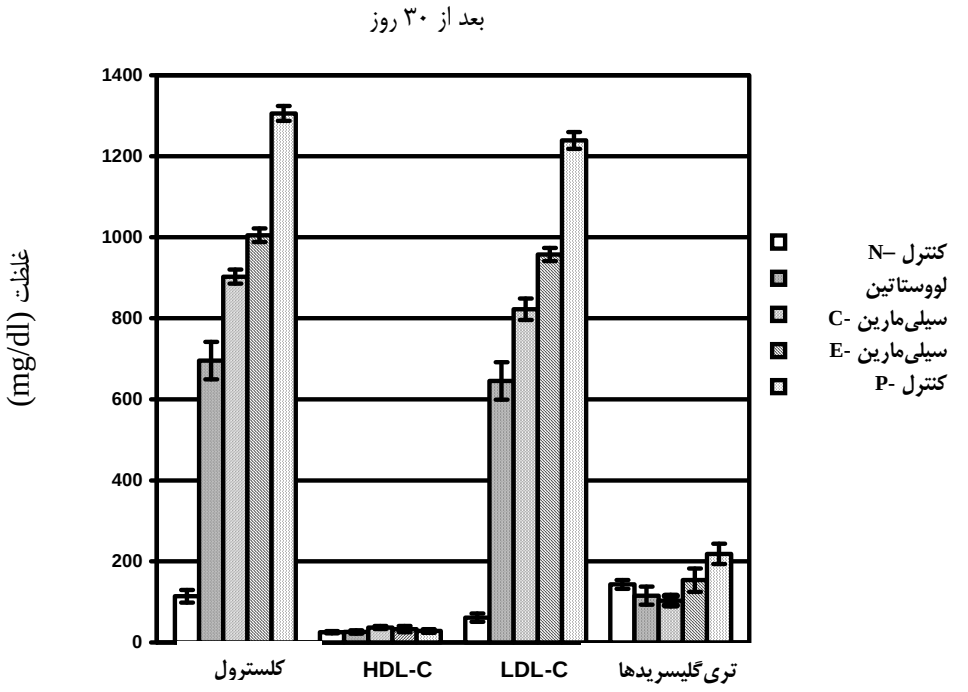
جدول شماره ۱- اثر درمان‌های مختلف (سیلی‌مارین بذر اصلاح شده و بومی و داروی لوستاتین) بر میزان لیپوپروتئین‌ها و تری‌گلیسرید در سرم خون خرگوش‌های هایپرکلسترولمی

تیمار	کلسترول کل (mg/ dl)		HDL-کلسترول (mg/dl)		LDL-کلسترول (mg/ dl)		تری گلیسرید (mg/dl)	
	۳۰ روز	۶۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز
شاهد منفی (n=۸)	۱۰۸/۲۵ ±۲۲/۷۰ A	۱۱۳/۸۸ ± ۱۵/۸۰ A	۲۳/۰۰ ± ۴/۰۰ A	۲۵/۳۸ ± ۲/۷۰ A	۵۸/۰۰ ± ۱۴/۲۰ A	۶۰/۸۸ ± ۱۰/۱۳ A	۱۳۲/۸۸ ± ۱۷/۱۴ B	۱۳۴/۱۳ ± ۱۰/۷۰ BC
داروی لوستاتین (n=۸)	۵۱۷/۳۰ ± ۴۲/۰۰ B	۶۹۵/۷۵ ± ۴۶/۲۰ B	۵۰/۲۵ ± ۴/۹۸ B	۲۵/۸۸ ± ۴/۲۸ A	۳۹۸/۵۰ ± ۳۲/۴۰ B	۶۴۵/۳۸ ± ۴۶/۱۰ B	۱۳۳/۶۳ ± ۲۸/۸۰ B	۱۱۵/۲۵ ± ۲۲/۴۳ AB
سیلی‌مارین بذر اصلاح شده (n=۸)	۸۱۳/۶۴ ± ۴۲/۲۴ C	۹۰۲/۷۵ ± ۱۷/۲۹ C	۳۴/۳۸ ± ۷/۲۴ A	۳۶/۷۵ ± ۳/۸۳ C	۷۰۲/۶۳ ± ۳۸/۳۷ C	۸۲۲/۵۰ ± ۲۶/۵۹ C	۷۴/۸۸ ± ۵/۷۸ A	۱۰۳/۰۰ ± ۱۱/۷۸ A
سیلی‌مارین بذر بومی (n=۸)	۹۴۹/۲۵ ± ۵۰/۰۰ D	۱۰۰۵/۱۳ ± ۱۶/۷۸ D	۲۷/۰۰ ± ۵/۹۰ A	۳۲/۸۸ ± ۷/۸۸ BC	۸۶۹/۳۸ ± ۴۳/۰۰ D	۹۵۷/۶۳ ± ۱۶/۰۹ D	۱۳۴/۸۸ ± ۱۰/۴۹ B	۱۵۳/۷۵ ± ۲۸/۹۶ C
شاهد مثبت (n=۸)	۹۶۷/۷۵ ± ۴۱/۴۰ D	۱۳۰۵/۸۸ ± ۱۸/۲۸ E	۸۳/۱۳ ± ۸/۳۰ C	۲۸/۳۸ ± ۴/۴۳ AB	۸۹۰/۳۸ ± ۴۷/۳۰ D	۱۲۳۸/۸۸ ± ۲۰/۶۸ E	۱۳۹/۳۸ ± ۱۱/۸۴ B	۲۱۸/۶۳ ± ۲۵/۰۰ D

با استفاده از آزمون دانکن مشخص شده است که تفاوت‌ها بین میانگین‌هایی که حروف مشترکی را نشان نمی‌دهند در سطح $p<0/01$ معنی‌دار است. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) نشان داده شده‌اند.



(A)



(B)

شکل شماره ۲ - نمودار تغییرات تراز لیپوپروتئین‌ها و تری‌گلیسریدها در سرم خون خرگوش‌های هایپرکلسترولمی در گروه‌های شاهد منفی[1]، داروی شیمیایی لووستاتین[2]، داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر اصلاح شده[3]، داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر بومی[4] و شاهد مثبت[5] پس از ۳۰ (A) و ۶۰ روز (B)

[1] Control-N
[2] Levostatin
[3] Silymarin-C
[4] Silymarin-E
[5] Control-P

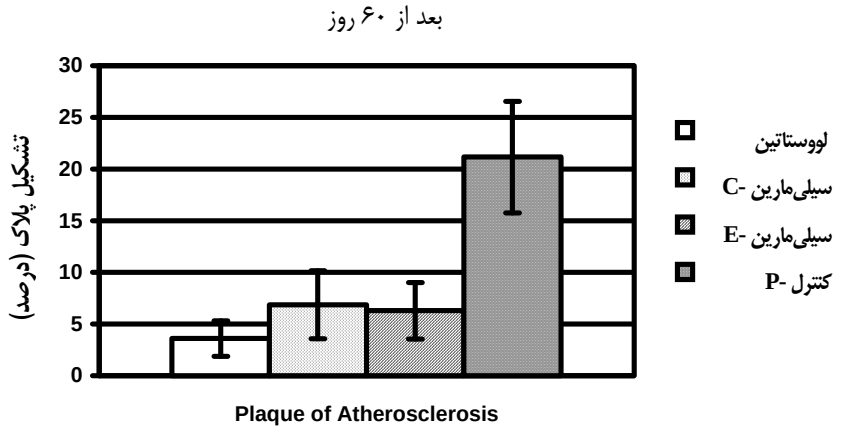
به علاوه عصاره سیلی‌مارین همانند دیگر عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات بسیار فراوانی می‌باشد که تاثیر بیولوژیکی آن را نمی‌توان به یک ترکیب واحد ارتباط داد. فلاوونوییدها یک گروه ترکیبات موجود در سیلی‌مارین هستند که علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی، موجب تثبیت غشای سلولی و افزایش گلوتاتیون سلولی می‌شوند که احتمالاً بر متابولیسم چربی تاثیرگذار می‌باشند [۲۶،۲۷،۲۸،۲۹].

نتیجه کلی آنکه تجویز داروی گیاهی سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده به خرگوش هایپرکلسترولمی با کاهش میزان کلسترول کل وLDL-کلسترول در خون همانند لووستاتین که یک داروی کاهنده چربی خون می‌باشد، موجب مهار تشکیل پلاک آترواسکلروز شدند. تاثیر دو داروی گیاهی سیلی‌مارین بومی و اصلاح شده بر چربی خون و مهار تشکیل پلاک آترواسکلروز تا حدودی مشابه بود. با توجه به نتایج این تحقیق و گزارش تحقیقات قبلی، داروی گیاهی سیلی‌مارین می‌تواند ابزار جدیدی جهت تحقیقات بیشتر در درمان و پیشگیری عوارض ناشی از چربی خون بالا در انسان مطرح باشد.

جدول شماره ۲ – اثر درمان‌های مختلف (سیلی‌مارین بذر اصلاح شده و بومی و داروی لووستاتین) بر تشکیل پلاک آترواسکلروز در آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی (پس از ۶۰ روز)

تیمار	درصد تشکیل پلاک آترواسکلروز
داروی لووستاتین (n=۸)	۳/۶۰ ± ۱/۷۱ ^{A}
سیلی‌مارین بذر اصلاح شده (n=۸)	۶/۸۶ ± ۳/۲۹ ^{A}
سیلی‌مارین بذر بومی (n=۸)	۶/۲۹ ± ۲/۷۴ ^{A}
شاهد مثبت (n=۸)	۲۱/۱۶ ± ۵/۳۹ ^{B}

با استفاده از آزمون دانکن مشخص شده است که تفاوت‌ها بین میانگین‌هایی که حروف مشترکی را نشان نمی‌دهند در سطح $p<۰/۰۱$ معنی‌دار است. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) نشان داده شده‌اند.



شکل شماره ۳–نمودار تغییرات درصد تشکیل پلاک آترواسکلروز در عروق آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی در گروه‌های داروی شیمیایی لووستاتین[1]، داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر اصلاح شده[2]، داروی گیاهی سیلی‌مارین بذر بومی[3] و شاهد مثبت[4] پس از ۶۰ روز

[1] Levostatin
[2] Silymarin-C
[3] Silymarin-E
[4] Control-P

تشکر و قدردانی

با تشکر و قدردانی از معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد، بـه منظـور تامین هزینه مالی انجام این پـژوهش و همچنـین بـا سپاسـگزاری از گروه فارماکولوژی پژوهشـکده گیاهـان دارویـی جهـاد دانشـگاهی و دانشگاه بقیه ا... (عج) که ما را در انجـام امـور آزمایشـگاهی یـاری نمودند.

منابع

۱- قهرمان احمد. *فلور رنگی ایران*. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. ۱۳۶۲، جلد نهم، صفحه .۱۰۹۵

۲- فلاح‌حسینی حسن، همتی‌مقدم احمدرضا، علویان سیدمؤید. *مروری بر گیاه دارویی خار مریم*. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۳۸۳، سال سوم، شماره یازدهم، صفحات ۲۴ – ۱۴.

3. Dittrich M, Petrak F, Rechinger KH, Wagenitz G. The genus Silybum in Rechinger kh (ed.). *Flora Iranica* Akademische Druck. Austria. 1979, vol. 139b, pp: 281- 282.

4. Burgess CA. *Silybum marianum* (Milk Thistle). *Journal of the Pharmacy Society of Winconsin*. 2003; Mar/Apr, 3-40.

5. Fintelmann V. Modern phytotherapy and its uses in gastrointestinal conditions. *Planta Med*. 1991; 57:48-52.

6. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1. *Altern. Med. Rev*. 1998; 3:410-421.

7. Parish RC, Doering PL. Treatment of Amanita mushroom poisoning: a review. *Vet. Hum. Toxicol*. 1986; 28: 318-322.

8. Boari C, Montanari FM, Galletti GP, Rizzoli D, Baldi E, Caudarella R. Toxic occupational liver diseases.Therapeutic effects of silymarin**.** *Minerva. Med*. 1981; 72: 2679-2688.

9. Manna SK, Mukhopadhyay A, Van NT, Aggarwal BB. Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF-kappa B, c-Jun N-terminal kinase, and apoptosis. *J. Immunol*. 1999; 163 (12): 6800-9.

10. Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavanging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol. Pharm. Bull*. 2001; 24 (10): 1202-5.

11. Milk Thistle (*Silybum marianum*). *Cancer*. American Botanical Council. HerbClip™, August 2004.www.herbalgram.org/herbclip/review.sspi=43858.

12. Gupta OP, Sing S, Bani S, Sharma N, Malhotra S, Gupta BD. Anti-inflammatory and anti-arthritic activities of silymarin acting through inhibition of 5-lipoxygenase. *Phytomedicine* 2000; 7 (1): 21-4.

13. Amirghofran Z, Azadbakht M, Karimi MH. Evaluation of the immunomodulatory effects of five herbal plants. *J. Ethnopharmocol*. 2000; 72 (1-2): 167-72.

14. Horvath ME, Gonzalez-Cabello R, Blazovics A, van der Looij M, Barta I, Muzes G and *et al*. Effects of silibinin and vitamin E on restoration of celluloimmune response after partial hepatectomy. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 77 (2-3): 227-32.

15. Locher R, Suter PM, Weyhenmeyer R, Vetter W. Inhibitory action of silibin on low-density lipoprotein oxidation. *Arzneimitlelforschung* 1998; 48 (3): 236-9.

16. Skottova N, Krecman V. Silymarin as a potential hypocholesterolaemia drug. *Physiol. Res*. 1998; 47: 1-7.

17. Skottova N and Krecman V. Dietry silymarin improves removal of low-density lipoproteins by perfused rat liver. *Acta Univ. Palacki. Olomuc. Fac. Med.* 1998; 141: 39-40.

18. Skottova N, Krecman V, Vana P, Chmela Z, Ulrichova J and Simanek V. Effect of silymarin and silibinin-phosphatidylcholine complex on plasma and lipoprotein cholesterol, and oxidation of LDL in rats fed on high cholesterol diet supplemented with currant oil. *Acta Univ. Palacki. Olomuc. Fac. Med.* 2000; 144: 55-8.

19. Bialecka M. The effect of bioflavonoids and lecithin on the course experimental atherosclerosis in rabbits. *Ann. Acad. Med. Stetin*. 1997; 43: 41-56.

20. Varga Z, Czompa A, Kakuk G and Antus S. Inhibition of the superoxide anion release and hydrogenperoxid formation in PMNLs by flavonolignans. *Phythoter. Res.* 2001; 15 (7): 608-12.

21. Skottova N, Krecman V, Walterova D, Ulrichova J, Kosina P and Simanek V. Effect of silymarin on serum cholesterol level in rats. *Acta Univ. Palacki. Olomuc. Fac. Med.* 1998; 141: 87-9.

22. Holman RL, Mc Gill Jr HC, Strong JP and Geer JC. Technics for studing atherosclerotic lesions. *Lab. Invest*. 1958; 7: 42-47.

23. Krieger M. The "best" of cholesterols, the "worst" of cholesterols: a tale of two receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 1998; 95 (8): 4077-80.

24. Bohler S, Glaesmer H, Pittrow D, Lehnert H, Stalla GK, Zeiher AM. Diabetes and cardiovascular risk evaluation and management in primary care: progress and unresolved issues - rationale for a nationwide primary care project in Germany**.** *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 2004; 112 (4): 157-70.

25. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ and *et al*. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predicator of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997; 95 (1): 69-75.

26. Hou L, Zhou B, Yang L, Liu ZL. Inhibition of human low - density lipoprotein oxidation by flavonols and their glycosides. *Chem. Phys. Lipids* 2004; 129 (2): 209-19.

27. Bohm H, Boeing H, Hempel J, Raab B, Kroke A. Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases. *Zernahrung Swiss* 1998; 37(2): 147-63.

28. Mennen LI, Sapinho D, de Bree A, Arnault N, Bertrais S, Galan P. Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women. *J. Nutr*. 2004; 134 (4): 923-6.

29. Yokozawa T, Ishida A, Cho EJ, Nakagawa T. The effects of *Coptidis Rhizoma* extract on a hypercholesterolemic animal model. *Phytomedicine* 2003; 10 (1): 17-22.

30. Stoll LL, McCormick ML, Denning GM, Weintraub NL. Antioxidant effects of statins. *Drugs Today (Barc).* 2004; 40 (12): 975-90.

31. Nietlispach F, Hug B, Jansen C, Barbosa V, Keller D, Buser P and *et al*. Echocardiographic quantification of atherosclerosis leads to cost-effective treatment with statins. *Swiss Med.Wkly*. 2005 22; 135 (3-4): 62-8.