

اثر درمانی دریافت پروتئین ایزوله سویا در موش‌های دچار نارسایی حاد کبدی

مریم ارشاد لنگرودی^۱، محمدحسن افتخاری^۲، محمدراضا پنجه شاهین^۳، احمد عربان^۴، حمیدرضا طباطبایی^۵

۱- دانشآموخته کارشناسی ارشد علوم تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز پست الکترونیکی: h_eftekhari@yahoo.com

۳- استاد گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

۴- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

۵- استادیار گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

تاریخ پذیرش: ۸۸/۶/۹

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: پروتئین‌ها به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌توانند سلول‌ها را از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت کنند. هدف این مطالعه، بررسی اثر محافظتی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های سویا در شرایط التهاب حاد کبدی بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر که از نوع تجربی بود، تعداد ۴۸ موش به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول و دوم، با رژیم حاوی ۲۰٪ پروتئین کازئین و گروه سوم با رژیم حاوی ۲۰٪ پروتئین ایزوله سویا تغذیه شدند. از دوز ۳۰ mg/kg ۳۰ دی‌متیل نیتروزامین جهت ایجاد آسیب کبدی موش‌های گروه‌های دوم و سوم استفاده شد. در انتهای مطالعه، شاخص‌های سرمی آنزیم‌های AST، ALT، آلkalین فسفاتاز، پروتئین توتال، آلبومین، بیلریوبین توتال، مالون‌دی‌آلدهید و بافت کبد در میان گروه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: رژیم حاوی پروتئین ایزوله سویا موجب کاهش میزان ALT سرم ($270/2 \pm 493/6$ IU.L⁻¹) و $P < 0.05$) و افزایش مقدار سرمی آلبومین ($4/3 \pm 0.7$ g.dL⁻¹) و MDA ($8/5 \pm 1.7$ nmol.ml⁻¹) شد. این رژیم در مورد سایر شاخص‌ها موجب تغییرات معنی‌دار نشد. یافته‌های هیستوپاتولوژیکی حاکی از اثر مثبت پروتئین ایزوله سویا در بهبود آسیب و بازسازی سریع‌تر هپاتوسیت‌ها بود.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده پروتئین ایزوله سویا می‌تواند در بهبود آسیب حاد کبدی و کاهش عارضه دارو مؤثر باشد.

وازگان کلیدی: التهاب حاد کبدی، پروتئین ایزوله سویا، کازئین

• مقدمه

هپاتیت یکی از بیماری‌های کبدی است که می‌تواند به سیروز یا کارسینومای سلول‌های کبدی منجر شود. سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۰۶ شیوع HCV (Hepatitis C virus) در جهان را ۰.۳٪ (۱۸۰ میلیون نفر گزارش کرد) (۴). در ایران شیوع HCV در میان اهدا کنندگان خون بین ۰.۱٪ (۵) و ۰.۵٪ (۶) و در میان زندانیان تزریقی بین ۰.۳٪ (۷) و ۰.۴٪ (۸) تخمین زده شده است.

بدن دارای سیستم دفاع سلولی علیه گونه‌های فعال اکسیژن است. این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی با وزن مولکولی

بیماری کبدی یکی از مشکلات عمده سلامت در جهان به حساب می‌آید و یکی از عوارض آن، القای استرس اکسیداتیو بیشتر به بدن است؛ به شکلی که تعادل پراکسیدان/ آنتی‌اکسیدان به سمت پراکسیدان به هم می‌خورد و این مسئله سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، کاهش قدرت دفاعی آنتی‌اکسیدانی اندام‌ها، اختلال در هموستاز سلولی، فعل شدن چرخه اکسیداتیو- احیا گلوتاتیون (۱-۳) و بنابراین، تشدید روند بیماری، افزایش آنزیم‌های کبدی و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود.

نشان داد که پروتئین سویا با مقادیر کم ایزوپلاون موجب کاهش ALT می‌شود. *Kim* و همکاران (۲۴) نشان دادند که بهبود فاکتورهای AST و ALT و پروتئین‌های کبد نتیجه بهبود آسیب و التهاب کبدی است.

Bazzoli و همکاران (۱۷) هم نشان دادند که مصرف روزانه ۴۰ گرم پروتئین سویا به مدت ۴ هفته موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید پلاسمما می‌شود. این محققان نشان دادند پروتئین سویا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمما را افزایش می‌دهد، این یافته بر اساس ارزیابی TAS (Total Antioxidant Status) مطالعه *Bazzoli* و همکاران مصرف ۴ هفته پروتئین سویا موجب بروز برخی اثرات آنتی‌اکسیدانی شد که با نتایج مطالعه *Aoki* و همکاران (۲۵) همسو است. این محققان نشان دادند که پروتئین ایزله سویا فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش می‌دهد. به همین دلیل گفته می‌شود که پروتئین سویا در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سم گیاهی Paraquat نقش محافظتی دارد. در راستای مطالعات انجام شده و به منظور تکمیل یافته‌های موجود، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات محافظتی رژیم حاوی پروتئین ایزووله سویا بر آسیب کبدی ناشی از دی‌متیل نیتروزآمین طراحی شد.

• مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی با استفاده از نمونه حیوانی است. در این مطالعه ۴۸ موش بزرگ نر از نژاد Sprague Dawley با وزن تقریبی ۲۰۰ ± ۱۰ گرم به صورت تخصیص تصادفی به ۳ گروه ۱۶ تایی تقسیم شدند. موش‌های بزرگ در طول مطالعه در قفس‌های جداگانه واقع در اتاقی با دمای $۲۰-۲۵^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت٪ ۵۵ و مدت ۱۲ ساعت روشناختی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. آب و غذا به مقدار آزاد در اختیار آنها قرار داده شد.

ابتدا یک پیش-مطالعه آزمایشی (پایلوت) جهت بررسی دوز مناسب دی‌متیل نیتروزآمین و مدت زمان مناسب برای اجرای طرح انجام شد. دوز

پایین است که از طریق مهار تولید رادیکال فعال اکسیژن سبب محافظت ماکرومولکول‌ها و غشای زیستی در برابر اکسیداسیون می‌شود (۹). با این حال، این سیستم به طور کامل قادر به جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به خصوص در شرایط حاد بیماری نیست و بنابراین، مصرف مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان به کاهش آسیب و جلوگیری از بیماری‌های ناشی از آنها کمک می‌کند (۱۰، ۱۱).

توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های حیوانی و گیاهی در حال افزایش است (۱۲-۱۴). به عنوان مثال، مطالعات مختلفی روی پروتئین‌های شیر (۱۵)، زئین ذرت (۱۶) و سویا (۱۷) انجام شده است.

طی مراحل فراوری غذا و هضم روده‌ای، پروتئین‌ها و پیتیدهای کوچکی ایجاد می‌شوند که توسط دستگاه گوارش جذب شده و اندام‌های هدف را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این پیتیدها عموماً به صورت ترکیبات تنظیمی با فعالیت شبیه هورمونی عمل می‌کنند. تاکنون پیتیدهای فعال بیولوژیکی متعددی شناسایی شده‌اند (۱۸).

پروتئین سویا به عنوان یکی از مرغوب‌ترین پروتئین‌های گیاهی معرفی شده است که می‌تواند همه اسیدهای آمینه مورد نیاز فرد را تأمین کند. محققان خواص بیولوژیکی پیتیدهای سویا را گزارش کرده‌اند که در این میان، خواص آنتی‌اکسیدانی سویا به طور وسیعی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۹، ۲۰). در مطالعه Sugiyama و همکاران (۲۱) در شرایط هپاتیت، پروتئین سویا علاوه بر افزایش سطح گلوتاتیون کبد موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST پلاسمما به ترتیب به میزان $\frac{۱}{۴}$ و $\frac{۱}{۵}$ موش‌های دریافت کننده رژیم حاوی٪ ۲۵ پروتئین کارئین شد. همچنین، در بررسی اثر پروتئین سویا بر آسیب کبدی و هیپرلیپیدمی ناشی از مصرف الكل در موش‌ها، توسط Park و همکاران (۲۲) پروتئین سویا موجب بهبود مارکرهای آنزیمی بالینی مانند AST و ALT در موش‌های دچار آسیب کبد شد. کاهش سطوح این آنزیم‌ها نشان‌دهنده اثر محافظتی پروتئین سویا بر کبد عنوان شده است. مطالعه Davis و همکاران (۲۳) هم

تشییت شده و در بلوک‌های پارافینی قرار داده شد. نمونه‌های کبدی توسط Hematoxylin – Eosin رنگ آمیزی شدند.

اندازه‌گیری آنزیم‌های AST و ALT با روش بافر فسفات DGKC ، آنزیم آلکالین فسفاتاز با روش AMP-Nitrophenylphosphate ، آلبومین با روش Diazo ، بیلی روبن توتال با روش Bromocresol Green (با استفاده از کیت تجاری زیست شیمی، تهران، ایران)، توتال پروتئین با روش Biuret reaction end point (توسط کیت تجاری پارس آزمون، تهران، ایران) انجام گرفت. سطح مالون دی آلدیید با ارزیابی TBARS به روش کالریمتریک اندازه‌گیری شد(۳).

روش‌های آماری: تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند و برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS¹³ و به منظور مقایسه میانگین شاخص‌ها میان گروه‌های مورد مطالعه از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. جهت مقایسه دو به دوی گروه‌ها با توجه به نرمال بودن توزیع واریانس‌ها آزمون‌های Scheffe و Tamhane مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها نرمال بودند و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

جدول ۱ نشان دهنده شاخص‌های مورد مطالعه در انتهای مطالعه است (در انتهای مطالعه در گروه‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۱۶، ۱۴ و ۱۳ موسی بود). دریافت غذا و درشت مغذی‌ها و وزن بدن موسی‌ها در گروه‌های بیمار دریافت کننده پروتئین‌های کازئین و سویا کمتر از گروه سالم دریافت کننده پروتئین کازئین بود. میزان افزایش وزن و وزن نهایی در گروه دریافت کننده (پروتئین ایزوله سویا) SPI به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود($P < 0.05$). همچنین، نسبت بهره‌وری غذا و نسبت بهره‌وری پروتئین در این گروه کمتر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0.05$). مقایسه وزن کبد و شاخص هپاتوسوماتیک در این گروه‌ها حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بود.

$30 \text{ mg/kg.B.W}^{-1}$ و زمان ۴ روز پس از تزریق دارو مناسب دیده شد.

گروه اول، موش‌های سالم با رژیم حاوی پروتئین کازئین، گروه دوم موش‌های بیمار با رژیم حاوی پروتئین کازئین و گروه سوم موش‌های بیمار با رژیم حاوی پروتئین ایزوله سویا بودند. به منظور ایجاد شرایط مشابه، موش‌ها به مدت ۳ روز تحت رژیم پایه (حاوی کازئین) قرار داده شدند. ویژگی رژیم‌های غذایی مورد استفاده به این شرح بود: ۵۶٪ نشاسته ذرت، ۲۰٪ کازئین (یا سویا)، ۱۰٪ ساکاروز، ۴٪ روغن ذرت، ۵٪ نسلولز غیر مغذی، ۳/۵٪ مخلوط مینرال، ۱٪ مخلوط ویتامین، ۲٪ L-cystine و ۰/۲۵٪ کولین کلراید. درصد خلوص پروتئین‌های کازئین و سویا به ترتیب عبارت بودند از: ۹۰٪ و ۹۰٪. کازئین از شرکت شیمی مرجان و پروتئین ایزوله سویا از شرکت Shanghai Richland International چین تهیه شد.

هر گروه به طور جداگانه و همزمان به مدت ۱۵ روز تحت رژیم‌های ۲۰٪ پروتئین کازئین و ایزوله سویا قرار داده شدند. سپس برای ایجاد آسیب حاد کبدی میزان ۳۰ mg/kg، دی متیل نیتروزآمین به موش‌ها تزریق شد. پس از گذشت ۴ روز یعنی در انتهای مطالعه با کشتن همه موش‌ها وزن کبد و شاخص‌های بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیکی، مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت خونگیری، موش‌ها ابتدا در ظرف شیشه‌ای سرپوش دار توسط دی اتیل اتر بیهودش شدند و به وسیله سرنگ ۵cc از ناحیه قلب خونگیری انجام شد. خون خارج شده در لوله سرولوژیک ریخته شد و سرم در همان روز توسط سانتریفیوژ (با دور ۲۵۰۰ g به مدت ۶ تا ۷ دقیقه در دمای 25°C) از خون جدا شد و به صورت جداگانه در چند میکروتیوب ۵۰۰ میکرولیتری قرار داده شد. نمونه‌های سرم‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی (شامل میزان سرمی آنزیم‌های ALT, AST, آلکالین فسفاتاز، آلبومین و بیلی روبین تام، پروتئین تام و مالون دی آلدئید) در دمای 70°C -نگهداری شد. برای تهیه اسلايد از نمونه‌های کبد، ابتدا نمونه‌ها در محلول Bouins

جدول ۱- مقایسه مقادیر دریافت غذا، درشت مغذی‌ها، وزن نهایی، نسبت بهره‌وری غذا و پروتئین و شاخص هپاتوسوماتیک در سه گروه مورد مطالعه

*بیمار+سویا(۱۴)	*بیمار+کازئین(۱۳)	*سالم+کازئین(۱۶)	شاخص‌ها
۱۰/۵±۰/۹ ^a	۱۰/۳±۱/۵ ^a	۱۳/۰±۱/۲ ^{b\\$}	دریافت غذا (گرم در روز)
۲/۱±۰/۲ ^a	۲/۱±۰/۳ ^a	۲/۶±۰/۲ ^b	دریافت پروتئین (گرم در روز)
۰/۴±۰/۰ ^a	۰/۴±۰/۱ ^a	۰/۵±۰/۰ ^b	دریافت چربی (گرم در روز)
۷/۵±۰/۷ ^a	۷/۳±۱/۱ ^a	۹/۲±۰/۹ ^b	دریافت کربوهیدرات (گرم در روز)
۲۰۰/۰±۱۶/۲	۲۰۲/۱±۷/۷	۲۰۰/۰±۸/۹	وزن اولیه (گرم)
۲۱۳/۲±۱۷/۲ ^b	۲۳۳/۹±۱۲/۴ ^a	۲۴۳/۶±۱۸/۷ ^a	وزن نهایی (گرم)
۱۳/۶±۱۴/۲ ^b	۳۱/۸±۱۳/۶ ^a	۴۳/۵±۱۴/۱ ^a	افزایش وزن (گرم)
۰/۰±۰/۱ ^b	۰/۱±۰/۰ ^a	۰/۱±۰/۰ ^a	نسبت بهره‌وری غذا
۰/۳±۰/۳ ^b	۰/۶±۰/۳ ^a	۰/۷±۰/۲ ^a	نسبت بهره‌وری پروتئین
۱۰/۷±۱/۶	۱۲/۱۰±۱/۳۰	۱۱/۴۹±۱/۵۸	وزن کبد (گرم)
۵/۰±۰/۵	۵/۲±۰/۶	۴/۷±۰/۶	شاخص هپاتوسوماتیک

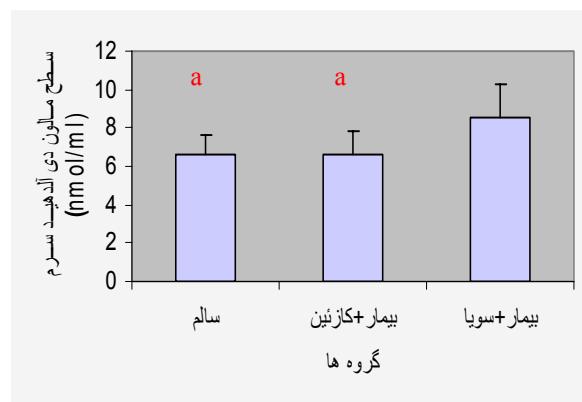
* اعداد داخل پرانتز تعداد موش در هر گروه در انتهای مطالعه را نشان می‌دهد.

§ در هر ردیف حروف متفاوت، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح $P<0.05$ هستند. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه استفاده شد.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی در ۳ گروه مورد بررسی در انتهای مطالعه را نشان می‌دهد. همان طور که ملاحظه می‌شود، ترکیب دی متیل نیتروز، آمین موجب افزایش معنی‌دار سطح سرمی ALT، AST، آلكالین فسفاتاز و بیلی روبین و کاهش معنی‌دار آلبومین سرم شد. SPI موجب افزایش آلبومین سرم گردید ($P<0.05$)، این رژیم همچنین موجب کاهش معنی‌دار آنزیم ALT و کاهش بیلی روبین در مقایسه با گروه بیمار تحت رژیم حاوی پروتئین کازئین شد، هر چند این کاهش در مورد بیلی روبین معنی‌دار نبود ولی یافته‌ها حاکی از اثر مثبت پروتئین ایزوله سویا در کاهش سطح سرمی این شاخص در مقایسه با گروه بیمار درمان نشده می‌باشد.

همچنین، به منظور بررسی آسیب کبدی و تأثیر SPI در سطح بافت، نمونه‌های کبد از نظر هیستوپاتولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند.

مقایسه میانگین سطح سرمی مالون دی آلدھید در انتهای مطالعه نشان می‌دهد که این شاخص در گروه SPI به طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داشته است (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین سطح سرمی مالون دی آلدھید در گروه‌های مورد مطالعه

(سالم: ۱۶ قطعه، بیمار+کازئین: ۱۳ قطعه، سویا+کازئین: ۱۴ قطعه)
^a با گروه دریافت کننده پروتئین سویا در سطح $P<0.05$ معنی‌دار است.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی در سه گروه مورد مطالعه

* بیمار+سویا (۱۴)	* بیمار+کازئین (۱۳)	* سالم + کازئین (۱۶)	شاخص‌ها
۴۶۱/۴±۳۴۲/۵ ^a	۴۷۰/۳±۳۴۳/۳ ^a	۱۳۴/۸±۷۲/۰	(IU.L ^{-۱}) AST [#]
۲۷۰/۲±۴۹۳/۶ ^a	۸۲۶/۷±۷۶۶/۲ ^b	۱۹۴/۸±۵۲/۶	(IU.L ^{-۱}) ALT [#]
۳۴۰/۷±۸۹/۵ ^a	۳۳۹/۱±۱۰۳/۹ ^a	۱۵۹/۱±۷۱/۱	آلکالین فسفاتاز (IU.L ^{-۱})
۶/۸±۰/۶	۷/۳±۰/۶	۶/۸±۰/۷	پروتئین توتال (g.dL ^{-۱})
۴/۳±۰/۷ ^b	۳/۴±۰/۷ ^c	۵/۲±۱/۰ ^a	آلبومین (g.dL ^{-۱})
۲/۸±۱/۴ ^a	۳/۵±۱/۶ ^a	۱/۶±۰/۶ ^a	بیلی روبین توتال (mg.dL ^{-۱})

* اعداد داخل پرانتز نشان دهنده تعداد موش در هر گروه در انتهای مطالعه است.

در هر ردیف، حروف متفاوت، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.05$ است. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه استفاده شد.
= اسپارتات آمینو ترانسفراز، ALT = آلانین آمینو ترانسفراز



شکل ۲- یافته‌های هیستوپاتولوژیکی بافت کبد

(گروه سالم: ۱۶، بیمار+کازئین: ۱۳، سویا+کازئین: ۱۴). (میزان بزرگنمایی برای گروه‌ها به ترتیب: گروه سالم: ۱۸۰، بیمار+کازئین: ۴۵، بیمار+کازئین: ۷۲، بیمار+سویا: ۱۸۰، بیمار+سویا: ۱۸۰)

سلول کبد تازه بازسازی شده در بررش بافت موش‌ها دیده شد کبد ۴ موش از این گروه تقریباً نرمال بود.

• بحث

میزان افزایش وزن در موش‌های بیمار، پس از اتمام مطالعه در میان گروه‌های دریافت کننده پروتئین کازئین و سویا به ترتیب ۷۳٪ و ۳۱٪ موش‌های نرمال بود. همان طور که در نتایج دیده شد، دی متیل نیتروز آمین موجب کاهش اشتتها و در نتیجه، کاهش وزن شد. عنوان شده است که پپتیدهای حاصل از هضم پروتئین به واسطه گیرنده اپیوئیدهای روده‌ای و کولی‌سیستوکینین A سیگنال‌های سیری ایجاد می‌کند. به عنوان مثال، زیراحدهای β -conglycinin در سویا با افزایش کوله سیستوکینین، سبب کاهش دریافت غذا و تخلیه معده می‌شود. همچنین، پپتیدهایی از پروتئین سویا که غنی از

کبد موش‌های گروه سالم، نرمال بود، در گروه بیمار دریافت کننده پروتئین کازئین، از میان ۱۳ موش بزرگ باقی مانده همگی محدوده‌های مقادیر متفاوت نکروز سلولی و خونریزی را نشان دادند. نکروز شدید در ۹ موش مشهود بود و در بقیه موش‌ها نکروز خفیف یا متوسط قابل مشاهده بود تغییرات چربی در کبد ۷ موش دیده شد و telangiectasis (تورم مویرگی) در کبد ۴ موش بیمار ایجاد شده بود. هیچ علامتی از بازسازی هپاتوسیت‌ها در این گروه مشهود نبود. از ۱۴ موش باقی‌مانده در گروه بیمار دریافت کننده پروتئین سویا، فقط نکروز شدید در ۳ موش دیده شد. حالت خفیف نکروز در ۷ موش مشاهده شد و فقط ۱ تا ۲ ردیف از سلول‌های اطراف ورید مرکزی دچار اپوپتوز شده بودند. برخی هپاتوسیت‌ها شروع به بازسازی کرده و چندین

گروه دریافت کننده پروتئین سویا از دیگر دلایل عدم افزایش وزن مناسب در طول مطالعه است. شاخص هپاتوسوماتیک در موش‌هایی که رژیم حاوی SPI دریافت کرده‌اند، با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت که این مسئله توسط یافته *Bhathena* و همکاران نیز حمایت می‌شود (۲۹).

کبد قابلیت بالایی برای بازسازی خود پس از آسیب دارد. سویا اثرات محافظتی بسیاری روی کبد نشان داده است (۲۱). در مطالعه حاضر، اثرات محافظتی این پروتئین بر آسیب حاد کبدی شامل بهبود بافت آسیب دیده مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در نتایج مشاهده شد، دی متیل نیتروز آمین موجب ایجاد آثار مخرب در بافت کبد و اختلال در عملکرد آن در گروه دریافت کننده رژیم پایه (حاوی پروتئین کازئین) شد. آسیب سلول‌های کبدی منجر به افزایش سطح سرمی بیلی روبین توتال، آلکالین فسفاتاز، اسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز و کاهش آلبومین سرم شد (۳۰، ۳۱). در مطالعه حاضر، سطوح سرمی ALT، آلبومین و تا حدودی بیلی روبین توتال در گروه دریافت کننده SPI به گروه کنترل سالم نزدیک شد. به عبارتی SPI با بهبود آسیب و تسريع بازسازی سلول‌های کبدی موجب کاهش سطح ALT و بیلی روبین توتال افزایش یافته در اثر DMN شد (هر چند این افزایش در مورد بیلی روبین به لحاظ آماری معنی‌دار نبود).

همچنین، این پروتئین سبب افزایش آلبومین کاهش یافته در اثر ترکیب DMN شد. استرس اکسیداتیو ایجاد شده در اثر متابولیت‌های DMN علت عدمه آسیب سلول‌های کبدی است (۳۲). پروتئین سویا با اثرات درمانی بر کبد موجب کاهش استرس و آسیب‌های ناشی از آن شد. این یافته با نتیجه حاصل از مطالعه *Sugiyama* و همکاران (۲۱) هماهنگ است. این در حالی است که سطوح سرمی آنزیمهای AST و ALP در سطح خطرناکی بالاتر از نرمال بود.

در این مطالعه، در پروتئین تام هیچ یک از گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. سطح مالون دی‌آلدهید سرم در گروه دریافت کننده پروتئین سویا به طور غیر

آرژنین هستند، دریافت غذا را کاهش می‌دهند (۱۹). علاوه بر این نکته، دیده شده است که پروتئین سویا سبب کاهش ۶۵٪ غلظت انسولین سرمی پس از دریافت غذا می‌شود. از طرفی پروتئین سویا سبب افزایش ۵۱٪ گلوکاگون سرم می‌شود (۱۹). بنابراین، قابل انتظار است که با کاهش هورمون آنابولیک انسولین و افزایش هورمون کاتابولیک گلوکاگون وزن موش‌ها کاهش یابد. مطالعات (۲۳) و (۱۹) *Torres* و *Davis* نشان داد که پروتئین سویا موجب افزایش وزن کمتر در مقایسه با رژیم حاوی پروتئین کازئین شد (این تفاوت در مطالعه اول معنی‌دار بود در حالی که در مطالعه دوم معنی‌دار نبود).

یکی دیگر از مکانیسم‌های پیشنهادی برای علت عدم وزن‌گیری مناسب موش‌های گروه سویا را می‌توان چنین بیان کرد: PPAR γ (Peroxisome Proliferators-Activated Receptor- γ) در بافت چربی تولید می‌شود. رژیم حاوی پروتئین سویا موجب افزایش PPAR γ در SREBP-1 (Sterol Regulatory Element Binding Proteins-1) در مقایسه با رژیم حاوی پروتئین کازئین می‌شود. PPAR γ در فعالیت‌های فیزیولوژیکی مانند سنتز چربی کلیدی دارد. PPAR γ موجب افزایش برداشت اسید چرب پلاسمایی شده و به همراه SREBP-1 در لیپوزن نقش دارد. همان طور که گفته شد، سویا موجب کاهش افزایش PPAR γ می‌شود و به واسطه این عمل، لیپوزن و هیپرتروفی سلول‌های چربی کاهش می‌یابد. همچنین سنتز و ترشح ادیپونکتین را کنترل می‌کند. بنابراین، احتمالاً پروتئین سویا موجب افزایش سطح ادیپونکتین در سیستم گردش خون می‌شود. از آنجا که ادیپونکتین تعادل انرژی و هموستاز لیپید را تنظیم می‌کند، شاید علت عدم وزن‌گیری مناسب موش‌های دریافت کننده رژیم حاوی پروتئین سویا، افزایش ادیپونکتین به همراه کاهش SREBP-1 و تغییرات متابولیکی ایجاد شده به دنبال این دو فرایند باشد (۲۶-۲۸) کمبود نسبت بهره‌وری پروتئین و غذا در مورد

نتایج مطالعه حاضر آسیب فیبروز و نکروز را به واسطه DMN در هپاتوسیت‌ها نشان می‌دهد. به علاوه، آثاری از تغییرات چربی و telangiectasis در بافت کبد گروه بیمار دریافت کننده پروتئین کازئین دیده شد، در حالی که در گروه دریافت کننده پروتئین سویا، توکسیستی و فیبروز کبدی که به واسطه DMN ایجاد شده بود، تا حد زیادی بهبود یافت و این مسئله نشان دهنده افزایش سرعت بازسازی کبد و بنابراین، بهبود آسیب نکروتیک هپاتوسیت‌ها است.

بر اساس نتایج به دست آمده، مطالعه حاضر نشان داد که SPI اثرات مفیدی در بهبود فیبروز و آسیب وارد بر کبد دارد. این پروتئین با بهبود آسیب ناشی از ترکیب DMN و همچنین تسريع روند بازسازی هپاتوسیت‌ها موجب جلوگیری از پیشرفت آسیب وارد بر سلول‌های کبدی و بهبود سلول‌های آسیب دیده می‌شود. بهبود فاکتورهای بیوشیمیایی در نتایج مطالعه حاضر، مؤید همین مسئله است.

قابل انتظاری افزایش یافت. برای توجیه این روند باید گفت که پروتئین سویا سبب مهار تجمع تری گلیسرید در کبد و کاهش اثرات لیپوتوكسیستی آن می‌شود. TG همچنین، این پروتئین با کاهش سنتز اسید چرب و TG در کبد و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب موجب کاهش تجمع TG می‌شود. این پروتئین PPAR- α (Peroxisome Proliferator Activated Receptors) موجب کنترل متابولیسم اکسیداتیو اسیدهای چرب می‌شود. به علاوه، پروتئین سویا سبب افزایش بیان ژن کارنی‌تین-پالمیتوئیل ترانسفراز ۱ و برخی آنزیم‌های مسیر β -اکسیداسیون شده و از این طریق، افزایش اکسیداسیون اسید چرب را سبب می‌شود.^(۱۹)

مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های stellate کبدی و میوفیبروبلاست‌های مشتق شده به همراه سیتوکین‌های متعدد به عنوان فاکتورهای کلیدی در ایجاد فرایند آسیب سلول‌های کبدی و فیبروز کبدی نقش دارند. TGF- β و PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) مهم‌ترین سیتوکین‌های دخیل در این فرایند هستند.^(۲۰، ۲۱)

• References

- Pihlanto A. Anti oxidative peptides derived from milk proteins. Int. Dairy J. 2006; 16: 1306–14.
- Goretta L, Carrasqued F. The regular supplementation with an antioxidant mixture decreases oxidative stress in healthy humans. Clin Chim Acta. 2004;349: 97-103.
- Mostafavipour Z., Zal F., Monabati A., Vessal M. Protective effects of a combination of quercetin and vitamin E against cyclosporine A-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. Hepatol Res. 2008; 38: 385-92.
- Available from: http://www.who.int/immunization/topics/hepatitis/en/in_x2.html. Accessed 2006.
- Alavian, S M, Adibi P, Zali MR. Hepatitis C virus in Iran: Epidemiology of an emerging infection. Arch Iran Med 2005;8(2): 84–90.
- Ghavanini AA, Sabri MR. Hepatitis B surface antigen and anti-hepatitis C antibodies among blood donors in the Islamic Republic of Iran. East Mediterr Health J 2000; 6: 1114–16.
- Alizadeh MA, Alavian SM, Jafari K, Yazdi N. Prevalence of hepatitis C virus and its related risk factors in drug abuser prisoners in Hamedan-Iran. World J Gastroenterol 2005;1: 4085–89.
- Zali MR, Aghazadeh R, Nowroozi A, Amir-Rasouly H. Anti- HCV antibody among Iranian IV drug users: is it a serious problem? Arch Iran Med 2001 ;4: 115–119.
- Kahrle J, Brigelius FR, Bock A, Grater R. Selenium in biology facts and medical perspective. Biol Chem. 2000; 381: 349-364.
- Kullisaar T, Songisepp E, Mikelsaar M, Zilmer K, Vihalemm T, Zilmer M. Antioxidative probiotic fermented goat's milk decreases oxidative stress-mediated atherogeneity in human subjects. Br J Nutr 2003; 90:449-56.
- Zommara M, Tachibana N, Sakomo M, Suzuki Y, Oda T, Hashida H, Imaizumi K. Whey from cultured skim milk decreases serum cholesterol and increases antioxidant enzymes in liver and red blood cells in rats. Nutr Res.1996 :293-302.
- Penar-Ramos EA, Xiong YL, Artega GE. Fractionation and characterization for antioxidant activity of hydrolysed whey protein. J Sci Food Agric. 2004; 84: 1908–18.

13. Chang CY, Wu KC, Chiang S.H. Antioxidant properties and protein compositions of porcine haemoglobin hydrolysates. *Food Chem.* 2007; 100: 1537–43.
14. Okada Y., Okada M. Scavenging effect of water soluble proteins in broad beans on free radicals and active oxygen species. *J Agric Food Chem.* 1998; 46: 401–6.
- 15 . Chen J, Lindmark-Mansson H, Gorton L, Akesson B.Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods.*Int Dairy J* 2003;13: 927-35.
- 16 . Chiue H, Kusano T, Iwami K. Deamidation induced fragmentation of maize zein ,and its linked reduction in fatty acid-binding capacity as well as antioxidative effect. *Food Chem* 1997b;58: 111—'7.
17. Bazzoli DL, Hill S. DiSilvestro RA. Soy protein antioxidant actions in active, young adult women. *Nutr Res* 2002 ; 22(7): 807-15.
18. Wenyi W, Elvira Gonzalez M. Comprehensive reviews in foods science and food safety: A New Frontier in Soy Bioactive Peptides That May Prevent Age- related chronic Disease. *Institute of Food Technologists* 2005; (4): 63-78.
19. Torres N, Torre-Villalvazo I, Tovar A.R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. *J Nutr Biochem.* 17 (2006) 365–73.
20. Moure A, Dominguez H, Parajo JC. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochem.*2006,41: 447-56.
21. Sugiyama K, Shimada Y, Iwai K, Morita T. differential effects of dietary casien aqnd soy bean protien Isolate on lipopolysaccharide-induced Hepatitis in D-galactosamine-sensitized rats. *Biosci. Biotechnol Biochem* 2002 , 66(10): 2232-35.
22. Park KJ, Kim HY, Chang BJ, Lee HH. Ameliorative effects of soy 11S protein on liver damage and hyperlipidemia in alcohol-fed rats. *Biol Pharm Bull* 2004 Oct;27(10):1636-41.
23. Davis J, Steinle J, Higginbotham DA, Oitker J, Peterson RG, Banz WJ. Soy protein influences insulin sensitivity and cardiovascular risk in male lean Shhf rats. *Horm Metab Res.* 2005; 37(5):309-15.
24. Kim EY, Kim EK, Lee HS, Sohm Y, Soh Y, Jung HS, et al. Protective effect of cuscutae semen against dimethylnitrosamine induced acute liver injury in sprague dawley rats. *Biol Pharm Bull* 2007;30(8): 1427-31.
25. Aoki H, Otaka Y, Igarashi K, Takenaka A. Soy protein reduces paraquat-induced oxidative stress in rats. *J Nutr* 2002;132: 2258-2262.
26. Tovar AR, Torre-Villalvazo I, Ochoa M, Elias AL, Ortiz V, Aguilar- Salinas CA, et al. Soy protein reduces hepatic lipotoxicity in hyperinsulinemic obese Zucker fa/fa rats. *J Lipid Res* 2005;46: 1823–32 .
27. Unger RH. Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab.* 2003, 14: 398–403.
28. Horton JD, Shimomura I, Ikemoto S, Basamakov Y, Hammer RE, Overexpression of sterol regulatory element-binding protein -1a in mouse adipose tissue produces adipocyte hypertrophy, increased fatty acid secretion, and fatty liver. *J Biol Chem* 2003,278: 36652-60.
29. Bhathena SJ, Ali AA, Haudenschild C, Latham P, Ranich T, Mohamed AI, et al. Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *J Am Coll Nutr* 2003; 2(2): 157–164
30. Hasan FAM, Owyed S. Interpretation of liver chemistry tests. *Bull Kuwait Inst Med Spec* 2003; 2:27-31.
31. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz fundamentals of clinical chemistry*. 6th ed,Philadelphia, Pennsylvania, USA: Saunderes;6, 2007.
32. Shin JW, Son JY, Oh SM, Han SH, Wang JH, Cho JH, et al. An herbal formula, CGX, exerts hepatotherapeutic effects on dimethylnitrosamine-induced chronic liver injury model in rats. *World J Gastroenterol* 2006 ; 12(38): 6142-48.