ORIGINAL ARTICLE

Protective Effect of Hydroethanolic Extract of Cress against Hepatotoxicity due to Acetaminophen in Rats

Esfandiar Heidarian[1],
Ghazal Movahed-Mohammadi[2],
Javad Saffari[3],
Keihan Ghatreh-Samani[4]

[1] Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[2] Student in Medicine, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[3] Medical Plants Research Center, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

(Received February 23, 2013 ; Accepted June 15, 2013)

Abstract

Background and purpose: Acetaminophen is a routine analgesic and antipyretic agent that in overdose causes liver and kidney necrosis in both humans and animals. The cress (*Lepidium sativum* L.) contains flavonoid, alkaloid, and antioxidant components. In this study we investigated the hepatic protection of the hydroethanolic extract of cress against hepatotoxicity due to acetaminophen.

Materials and methods: Forty-two rats were randomly divided into six groups. The first (control) and second (test without treatment) groups were administered the solvent of drug in the morning (08:00) and evening (16:00) on days 1 and 2 but, the third, fourth, and fifth groups received 200, 500, and 1000 mg/kg b.w of the extract of the cress, respectively. The sixth group (positive control) received 200 mg/kg b.w silymarin. Then all groups, except the control group, received 400 mg/kg acetaminophen per os on day 2 (10:00). After 24 hr, all blood samples were collected for determination of GOT (glutamic-oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic- pyruvic transaminase), ALP (alkaline phosphatase), malondialdehyde (MDA), and serum antioxidant capacity. Also, a piece of liver was used for determining catalase activity and histopathological studies. For statistical analysis of the data, group means were analyzed with one way ANOVA followed by Tukey's test for multiple comparisons.

Results: Serum GOT, GPT, ALP, and MDA reduced significantly ($P< 0.001$) in the treated groups with the extract of cress compared to acetaminophen group without treatment. The reduction of GPT and ALP were dose dependent. The serum antioxidant capacity and liver catalase in treated groups with the extract of the cress and silymarin treated group elevated significantly ($P< 0.001$) compared to the acetaminophen group without treatment. The liver histopathology in rats treated with the extract of cress showed a remarkable reduction of lymphocyte infiltration compared with rats without treatment (group two).

Conclusion: These results demonstrate that the extract of the cress have protection effect against hepatotoxicity due to acetaminophen.

Keywords: Cress, *Lepidium sativum* L., acetaminophen, anti-oxidant, catalase, hepatotoxicity

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(102): 73-84 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم شماره ۱۰۲ تیر سال ۱۳۹۲ (۸۴-۷۳)

بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی شاهی بر مسمومیت کبدی ناشی از استامینوفن در موش صحرایی

اسفندیار حیدریان[۱]
غزل موحد محمدی[۲]
جواد صفاری[۳]
کیهان قطره سامانی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: استامینوفن یک داروی متداول ضد درد و تب است که در دوزهای بالا منجر به نکروز کبدی و کلیوی در انسان و حیوان می گردد. شاهی گیاهی با ترکیبات فلاوونوئیدی، آلکالوئیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی است. در تحقیق حاضر، اثر محافظت کبدی عصاره هیدروالکلی شاهی در مسمومیت کبدی ناشی از استامینوفن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: ۴۲ سر رت نر در ۶ گروه ۸ تایی به طوری تقسیم شدند که به گروه اول (شاهد) و گروه دوم (مسموم) روز اول و دوم ساعت ۸ صبح و ۴ عصر حلال دارو ولی به گروه‌های سوم، چهارم و پنجم به ترتیب عصاره شاهی را در دوزهای ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم برکیلوگرم وزن بدن داده شد و به گروه ششم (کنترل مثبت) سیلیمارین به میزان mg/kg ۲۰۰ داده شد. سپس در روز دوم ساعت ۱۰ صبح به تمامی گروه‌ها به جز گروه شاهد به میزان mg/kg ۴۰۰ استامینوفن به صورت خوراکی داده شد. پس از ۲۴ ساعت جهت اندازه‌گیری ALP (آلکالن فسفاتاز)، GPT (گلوتامات پیروات ترانس آمیناز)، GOT (گلوتامات اگزالواستات ترانس آمیناز)، مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم تهیه شد. بخشی از کبد جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و مطالعات هیستوپاتولوژیکی برداشته شد. از آزمون ANOVA یک طرفه جهت آنالیز میانگین متغیرها در گروه‌ها استفاده شد. برای مقایسه گروه‌ها به صورت دو به دو از آزمونTukey استفاده گردید.

یافته‌ها: ALP، GPT، GOT و MDA سرم در گروه‌های دریافت کننده عصاره شاهی نسبت به گروه استامینوفن بدون درمان به میزان معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۰۱$). در مورد GPT و ALP این کاهش وابسته به دوز عصاره بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و سطح کاتالاز کبدی در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره شاهی و گروه سلیمارین به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه استامینوفن بدون درمان افزایش یافت. از نظرهیستوپاتولوژیک نیز، نکروز و ارتشاح لنفوسیتی درکبد گروه‌های دریافت‌کننده عصاره شاهی و گروه سلیمارین کاهش یافته بود.

استنتاج: نتایج نشان می‌دهند که عصاره هیدروالکلی شاهی در بهبود مسمومیت کبدی حاد ناشی از استامینوفن نقش محافظتی دارد.

واژه های کلیدی: شاهی، استامینوفن، آنتی اکسیدان، کاتالاز، مسمومیت کبدی

مقدمه

مطالعات نشان می‌دهند که فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک در گیاهان دارای اثرات بیولوژیکی متعددی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، مهارکننده رادیکال های آزاد و اثرات ضد التهابی می باشند(۱). بنابراین، گرایش

مؤلف مسئول: اسفندیار حیدریان– شهرکرد: رحمتیه، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی E-mail: heidarian46@yahoo.com
۱. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشکده پیراپزشکی، داشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۱۲/۵ تاریخ انجام اصلاحات: ۱۳۹۲/۲/۲۹ تاریخ تصویب : ۱۳۹۲/۳/۲۵

به طب سنتی و داروهای گیاهی در سال‌های اخیر رواج یافته است(۲). استامینوفن یا پاراستامول (APAP) امروزه به عنوان یک داروی مسکن و ضد درد مصرف می‌شود(۳). این دارو از دهه ۱۹۵۰ به عنوان یک داروی ضد درد و تب بر مصرف جهانی پیدا کرد ولی اثرات سوء ناشی از مصرف بیش از حد آن تا سال ۱۹۶۶ ناشناخته بود(۴). مسمومیت‌های ناشی از استامینوفن معمولاً با کسالت، استفراغ، اسهال و گاهی شوک شروع شده و در عرض چند روز به زردی (در مصارف بیش از حد)، نارسایی کبدی و در مواردی به آسیب هم‌زمان میوکارد و کلیه منجر خواهد شد(۴). کبد یکی از محل‌های مهم جذب، متابولیزه کردن و دفع داروها و سایر مواد مضر است. بنابراین، همواره در معرض عوارض سمی داروها و مواد مختلف بوده و از این نظر مورد توجه خاص می‌باشد(۵). مصرف استامینوفن در مقادیر طبیعی عمدتاً توسط مسیرهای گلوکورونیداسیون یا سولفاسیون در بافت کبد متابولیزه می‌گردد. استامینوفن پس از ورود به بدن بخشی ازآن نیز توسط سیتوکروم p450 به متابولیت فعال N-استیل P- بنزوکوئینن ایمن (NAPQI) تبدیل می‌شود که از لحاظ شیمیایی به شدت الکتروفیل می‌باشد و معمولاً با استفاده گلوتاتیون کونژوگه شده و بدین ترتیب باعث تخلیه ذخیره گلوتاتیون کبدی می‌شود. NAPQI کونژوگه شده، متعاقباً در کلیه‌ها و روده‌ها تجزیه و به صورت اسید مرکاپتوریک و کونژوگه‌های سیستئین از طریق ادار دفع می‌شود(۴،۳). NAPQI به علت خاصیت نوکلئوفیلیک به عنوان یک اکسید کننده قوی عمل می‌کند و قادر است باعث پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به ماکرومولکول‌ها و اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها و افزایش نفوذ پذیری غشا نیز گردد(۶). مطالعات انجام گرفته نیز حاکی ازاثرات سمی استامینوفن در انسان و حیوانات آزمایشگاهی در مصارف بیش از حد آن می‌باشد(۳). در مقابل تمام اثرات سمی و مخرب داروهایی مانند استامینوفن، ترکیباتی یافت می‌شوند که می‌تواند تا حدی مسمومیت‌های ناشی از سوء مصرف چنین ترکیباتی را مهار کنند. از جمله این ترکیبات، مواد مؤثره عصاره های گیاهی می‌باشند.

شاهی که به نام تره تیزک شناخته می‌شود از جنس Lepidium و از خانواده Cruciferua است. این گیاه بدون کرک ۶۰ سانتی‌متر طول دارد. برگ‌ها کامل یا از هم جدا هستند و دارای لوب‌های مختلف و اغلب با سگمان‌های خطی می‌باشند.گل‌های این گیاه سفید یا صورتی کم‌رنگ است. دانه‌ها کوچک و بیضی شکل و به رنگ قرمز قهوه‌ای‌اند. حوزه انتشار جغرافیایی آن در ایران، مناطق شمالی، شمال غربی، جنوبی، سواحل خلیج فارس، جنوب شرقی و بخش مرکزی است(۷). برای شاهی خاصیت ضد فشار خون، ضد التهابی، ضد درد، محافظ کبدی و آنتی اکسیدانت شناخته شده است(۹،۸). هم‌چنین به طور مرسوم برای اختلالاتی مانند روماتیسم، آسم، استئوآرتریت، زخم‌ها، اختلالات جنسی و قاعدگی به کار می‌رود(۹). از ترکیبات مؤثره در شاهی آلکالوئیدها، فلاونیدها، گلیکوزیدها، استرول و تنین می‌باشند(۹). تحقیقات انجام گرفته نشان داده که فلاونیدها دارای آثار فارماکولوژیک متعددی از قبیل ضد التهاب، ضد سرطان، ضد دیابت، محافظت کبد و ضد تومور می‌باشند(۱۱،۱۰).

با توجه به گستردگی مصرف استامینوفن و نظر به سمی بودن سوء مصرف این داروی متداول در اثر آسیب کبدی وکلیوی که می‌تواند منجر به مرگ شود بنابراین، دستیابی به راهکارهای مناسب برای پیشگیری و کاهش از مسمومیت‌های احتمالی ناشی از مصرف استامینوفن کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. متأسفانه علی‌رغم این‌که تا اکنون اثرات پیشگیری کننده و رفع مسمومیتی برخی از گیاهان دارویی و ترکیبات مؤثره مختلف آن‌ها بر آسیب‌های کبدی ناشی از داروها بررسی شده است، ولی فقط چند عصاره یا ماده مؤثره در رفع مسمومیت کبدی شناسایی شده است(۱۳،۱۲). بنابراین، با توجه ارزانی گیاهان دارویی، وجود ترکیبات

مؤثره در آن‌ها و سهولت دسترسی به آنان(۱۴،۱۱)، گیاهان دارویی هنوز می‌توانند گزینه مناسبی در رابطه با تحقیقات جهت بررسی رفع مسمومیت کبدی ناشی از اثرات داروها و یا سایر ترکیبات سمی باشند(۱۳،۱۲). بنابراین، در این مطالعه اثر عصاره گیاه شاهی بر مسمومیت ناشی از سوء مصرف داروی مسکن استامینوفن بر روی رت های نژاد ویستار بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، در مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بر روی ۴۸ موش صحرایی ویستار نر با سن ۸ هفته و وزن تقریبی ۲۰±۲۰۰ گرم انجام گرفت. همه موش‌ها در شرایط استاندارد و یکسان از نظر نور، دما (۲±۲۴درجه سانتی‌گراد) و رطوبت نگهداری شدند و به مدت دو هفته قبل از آزمایش جهت ایجاد تطابق با محیط در محل نگهداری، و از آب و غذای کافی آزادانه برخوردار بودند.

در این مطالعه شاهی تازه خریداری و پس از تأیید توسط متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد با شماره ۴۰۲ هرباریوم شد. بعد از گذراندن مراحل خشک شدن شاهی در سایه، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به روش پرکولاسیون در درجه حرارت ۲۰- ۱۵ به کمک اتانول ۷۰ درصد عصاره‌گیری انجام شد. جهت عصاره‌گیری ۵۰۰ سی سی اتانول ۷۰ درصد بر روی ۱۰۰ گرم پودر گیاه ریخته شد تا حدی که روی آن را بپوشاند و ۲۴ ساعت بعد به پرکولاتور منتقل و پس از ۷۲ ساعت عصاره جمع شده گیاه به دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) منتقل و به میزان یک سوم مقدار اولیه تغلیظ گردید. سپس عصاره حاصل با استفاده از آون در حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد.

مقدارترکیبات فنلی براساس روش رنگ‌سنجی فولین- سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) و بر حسب اسید گالیک (mg/g)، اندازه گیری شد(۱۵). محلول‌های استاندارد از اسید گالیک با غلظت های ۱۲/۵، ۲۵، ۶۲/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ قسمت در میلیون در محلول ۶۰ درصد متانول تهیه گردید. سپس، از هر یک از استانداردها ۰/۱ میلی لیتر به لوله های آزمایش منتقل و به آن‌ها ۰/۵ میلی لیتر از محلول ۱۰ درصد واکنشگر فولین- سیوکالتیو اضافه شد و پس از ۵ دقیقه به لوله‌ها ۰/۴ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از آن، میزان جذب به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر و در سه تکرار اندازه‌گیری و منحنی استاندارد رسم شد. برای تعیین فنول کل عصاره، ۰/۱ گرم از عصاره خشک را در متانول ۶۰ درصد حل گردید و به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده و براساس روش فوق میزان فنول کل برحسب mg/g اسید گالیک تعیین شد.

قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی شاهی با استفاده از مدل بتا کاروتن لینولئات تعیین شد(۱۶). ابتدا مقدار ۰/۲ میلی لیتر از بتا کاروتن در ۰/۲ ازکلروفرم حل شد. به این امولسیون ۲۰ میلی گرم لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ اضافه شد. مقدار ۴۰ میلی‌لیتر آب اشباع از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه همراه با تکان شدید) به مواد فوق اضافه گردید. عصاره هیدروالکلی شاهی با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر در اتانول خالص تهیه گردید و به ۲ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده و کنترل (اتانول) مقدار ۴ میلی لیتر از محلول آماده شده اضافه گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بر اساس میزان رنگ بری بتا کاروتن در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت ۱۸۰ دقیقه (به فاصله هر ۱۵ دقیقه) و با استفاده از فرمول زیر محاسبه و میانگین مقادیر به‌دست آمده به عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در نظر گرفته شد. $AA= 100[1-(A^0-A_t)/ (A^0_0- A^0_t)]$ دراین فرمول A_0 و A^0_0 نشان دهنده جذب نوری در زمان صفر و A_t و A^0_t

جذب نوری در زمان‌های مختلف طی ۱۸۰ دقیقه برای نمونه و کنترل بود(۱۶).

رت‌ها به شش گروه هشت سری به طور تصادفی تقسیم شدند. گروه اول: به عنوان شاهد (کنترل منفی) در نظر گرفته شد و جهت ایجاد شوک مساوی با سایر گروه‌ها، در روز اول ساعت ۸ صبح و ۱۶ بعد از ظهر به میزان ۰/۵ سی سی حلال CMC (کربوکسی متیل سلولز) ۰/۵درصد را از طریق گاواژ دریافت کرد. سپس این گروه به مدت ۲۴ ساعت ناشتا نگه داشته شد. درروز دوم، صبح ساعت ۸ تزریق خوراکی حلال صورت گرفت و سپس ۲ ساعت بعد از تزریق و ساعت ۱۶ بعد از ظهر نیز تزریق خوراکی حلال صورت گرفت(۱۷). پس از گذشت ۲۴ ساعت رت ها بیهوش شده و نمونه خون از قلب آن‌ها جهت اندازه گیری ALP (آلکالن فسفاتاز)، GPT (گلوتامات پیروات ترانس آمیناز)، GOT (گلوتامات اگزالواستات ترانس آمیناز)، مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (FRAP) گرفته شد. هم‌چنین بخشی از بافت کبدی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و مطالعات هیستوپاتولوژیکی برداشته شد.

گروه دوم: به عنوان تست بدون درمان در نظر گرفته شدند و در روز اول ساعت ۸ صبح و ۱۶ بعد از ظهر حلال ۰/۵ درصد CMC (کربوکسی متیل سلولز) را به میزان ۰/۵ سی سی داده دریافت کردند. این گروه پس از تزریق خوراکی عصر به مدت ۲۴ ساعت ناشتا نگه داشته شد. در روز دوم، صبح ساعت ۸ تزریق خوراکی حلال صورت گرفت و سپس ۲ ساعت بعد از تزریق به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استامینوفن به صورت خوراکی در حلال ۰/۵درصد CMC دریافت کردند. سپس ساعت ۱۶ بعد از ظهر تزریق خوراکی حلال صورت گرفت(۱۷). پس از گذشت ۲۴ ساعت از تزیق استامینوفن رت ها بیهوش شده و نمونه خون از قلب آن‌ها جهت اندازه گیری ALP، GPT، GOT، MDA و FRAP گرفته شد. هم‌چنین بخشی از بافت کبدی جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و مطالعات هیستوپاتولوژیکی برداشته شد.

گروه‌های سوم، چهارم و پنجم گروه‌های تست هستند که به ترتیب عصاره شاهی در دوزهای ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن را در حلال ۰/۵درصد CMC (کربوکسی متیل سلولز) به میزان ۰/۵ سی‌سی دریافت کردند. در روز اول ساعت ۸ صبح و ۱۶ بعداز ظهر حلال ۰/۵ درصد CMC را به میزان ۰/۵ سی‌سی که محتوی دوز مربوطه عصاره شاهی است، دریافت کردند و پس از آن به مدت ۲۴ ساعت ناشتا نگه داشته شدند. در روز دوم، ساعت ۸ صبح به میزان ۰/۵ سی‌سی عصاره شاهی در دوز مربوطه را دریافت کردند. سپس، ۲ ساعت بعد از تزیق عصاره‌های مربوطه به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استامینوفن به صورت خوراکی در حلال ۰/۵درصد CMC دریافت کردند و ساعت ۱۶ بعد از ظهر مجدداً به میزان ۰/۵ سی‌سی عصاره خوشاریزه در دوز مربوطه برای هر گروه به صورت خوراکی داده و غذا در اختیار آن‌ها قرار گرفت و پس از گذشت ۲۴ ساعت از تزریق استامینوفن رت‌ها بیهوش شدند و نمونه خون از قلب آن‌ها جهت اندازه‌گیری ALP، GPT، GOT، مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم (FRAP) گرفته شد. هم‌چنین بخشی از بافت کبدی جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و مطالعات هیستوپاتولوژیکی برداشته شد(۱۷).

گروه ششم که گروه کنترل مثبت بودند و در روز اول ساعت ۸ صبح حلال ۰/۵درصد CMC (کربوکسی متیل سلولز) را به میزان ۰/۵ سی‌سی که حاوی سیلیمارین به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن است دریافت کردند(۱۸). پس از آن به مدت ۲۴ ساعت ناشتا نگه داشته شدند ولی در دریافت آب آزاد بودند. در روز دوم، صبح ساعت ۸ تزریق خوراکی سیلیمارین به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن صورت گرفت و پس از ۲ ساعت به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استامینوفن بصورت خوراکی در

حلال ۰/۵درصد CMC دریافت کردند. سپس، در ساعت ۱۶ بعد از ظهر تزریق خوراکی سیلیمارین به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن صورت گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت از تزیق استامینوفن رت‌ها بیهوش شده و نمونه خون از قلب آن‌ها جهت اندازه‌گیری ALP، GPT، GOT، مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم (FRAP) گرفته شد. هم‌چنین بخشی از بافت کبدی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و مطالعات هیستوپاتولوژیکی برداشته شد.

ALP، GPT و GOT سرم با استفاده از کیت‌های تجاری (شرکت پارس آزمون) و دستگاه آتو آنالیزور (BT 3000، ایتالیا) بر روی سرم اندازه گیری شدند.

غلظت مالون دی آلدئید (MDA) سرم با دستگاه HPLC (Agilent, USA) و طبق روش Agarwal (۱۹) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری ۵۰ میکرولیتر از سرم ریخته وسپس به آن ۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۰۵ درصد از BHT (Butylated hydroxytoluene) تهیه شده در اتانول ۰/۹۵ درصد، ۴۰۰ میکرولیتر اسید فسفریک ۰/۴۴ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول اسید تیوباربی توریک (TBA) ۴۲ میلی‌مولار اضافه شد. محلول حاصله ورتکس شد و به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه در انکوباتور گذاشته شد. سپس، نمونه ها به مدت ۵ دقیقه بر روی یخ جهت سرد شدن، قرار داده شدند. متعاقباً ۲۵۰ میکرولیتر بوتانول جهت استخراج کمپلکس MDA-TBA به میکروتیوب اضافه و به مدت ۵ دقیقه ورتکس و در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید واز محلول رویی ۱۰۰ میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق شد. شرایط دستگاه HPLC عبارت بود ازستون C18، فاز متحرک شامل متانول و بافر فسفات پتاسیم منوبازیک ۵۰ میلی‌مولار با pH مساوی ۶/۸ (به نسبت ۴۰ به ۶۰)، سرعت فاز متحرک ۱ میلی لیتر در دقیقه، دمای ستون ۳۷ درجه سانتی گراد، excitation دتکتور فلورسانس در طول موج ۵۱۵ نانومتر و emission دتکتور در طول موج ۵۵۳ نانومتر تنظیم شد. از 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) به عنوان استاندارد مالون دی آلدئید استفاده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (FRAP) نیز با استفاده از ترکیب تری پیریدیل تری آذین طبق روشی که قبلاً توضیح داده شد، اندازه‌گیری شد(۱۰).

پس از خارج کردن بافت کبدی، بافت‌های زائد آن جدا گردید و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. سپس ۱گرم از بافت کبد قطعه قطعه و در یک استوانه شیشه‌ای ریخته شد و به میزان ۴ برابر حجم، به آن بافر فسفات ۵۰ میلی مولارهموژنیزاسیون اضافه و با استفاده از هموژنایزر (Heidolph, Silentcrusher M model, Germany) به مدت ۴ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰RPM هموژنیزه شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دور RPM ۴۵۰۰ سانتریفوژ شد تا سلول‌های هموژنیزه نشده رسوب کنند و محلول هموژن خالص برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از آب اکسیژن به عنوان سوبسترا طبق روش Abei مورد استفاده قرار گرفت(۲۰). ۵۰ میکرولیتر از مایع فوقانی سانتریفوژ شده را برداشته و با ۲۵ میلی لیتر بافر فسفات به میزان ۵۰۰ بار رقیق گردید. سپس ۲ میلی لیتر از این محلول در داخل کووت ریخته شد و ۱ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ میلی مولار را به آن اضافه گردید و کاهش جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مقابل بلانک هر ۱۵ ثانیه یک بار قرائت شد. مقدار پروتئین به روش برادفورد و با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری گردید و سپس فعالیت آنزیم برحسب فعالیت مخصوص محاسبه شد(۲۱).

قسمتی از کبد موش‌ها از سمت لوب چپ برداشته و جهت پایدارسازی در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. نمونه‌های کبدی با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت مورد پاساژ قرار گرفتند و برای تهیه مقاطع آسیب‌شناسی، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون با میکروتوم تهیه و با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین-

ائوزین مورد بررسی قرارگرفتند.

در این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 17) و آزمون ANOVA یک طرفه میانگین متغیرها در گروه‌ها بررسی شد. برای مقایسه گروه‌ها به صورت دو به دو از آزمون Tukey استفاده گردید. مقادیر با $p<۰/۰۵$، در بین گروه‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ترکیبات فنلی کل عصاره هیدروالکلی شاهی ۳۱ میلی گرم برگرم وزن خشک عصاره و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی شاهی ۲۷ درصد مهار اکسیداسیون بتاکاروتن به دست آمد. در جدول شماره ۱ اثر شاهی بر مقادیر سرمی ALP، GPT، GOT، MDA و FRAP در گروه‌های مختلف مورد آزمایش مشاهده می‌شود. نتایج نشان داد که مقادیر سرمی ALP، GPT، GOT و MDA در سرم رت‌های گروه دوم (گروه تست بدون درمان) نسبت به رت‌های دریافت کننده رژیم معمولی (گروه شاهد) افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) را نشان دادند.

مقادیر سرمی ALP، GPT، GOT و MDA در سرم رت‌های گروه‌های ۳ و ۴ (گروه‌های تست دریافت‌کننده شاهی در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) تفاوت معنی داری با گروه تست دریافت‌کننده سیلیمارین (گروه ششم) نشان نداند ($p>۰/۰۵$). نتایج حاکی از اثر وابسته به دوز شاهی در گروه‌های تست برای کاهش ALP، GPT و GOT نسبت به گروه تست بدون درمان (گروه دوم) بود. علاوه بر این شاهی در دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (گروه پنجم) دارای تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در کاهش ALP، GPT و GOT نسبت به شاهی در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن (گروه دوم) بود ولی بین شاهی در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (گروه‌های چهارم و پنجم) با یکدیگر تفاوتی مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین، میزان MDA در گروه‌های دریافت کننده شاهی و سیلیمارین کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) را نسبت به گروه تست بدون درمان (گروه دوم) نشان داد. از طرف دیگر، میزان FRAP در گروه‌های دریافت‌کننده شاهی و سیلیمارین افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) را نسبت به گروه تست بدون درمان (گروه دوم) نشان داد. همچنین، میزان FRAP در گروه‌های دریافت‌کننده شاهی (دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و سیلیمارین (گروه ششم)

جدول شماره ۱: اثر عصاره شاهی بر مقادیر سرمی ALP ، SGPT، SGOT ، MDA و FRAP در گروه های مورد آزمایش

گروه ها	ALP (U/L)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	MDA (µM)	FRAP (µM)
اول	۳۸۰/۷۵±۵۸/۷۹	۱۴۵/۲۵±۸/۸۶	۵۴/۵۰±۷/۷۴	۰/۸۶±۰/۱۳	۴۸۳/۵۵±۱۵/۹
دوم	^{a}۸۹۱/۲۵±۵۱/۳۶	^{a}۳۲۳/۸۷±۲۶/۶۲	^{a}۲۹۹/۷۵±۲۴/۷۷	^{a}۱/۷۶±۰/۱۲	^{a}۳۶۸/۴۷±۳۴/۵۲
سوم	^{ab}۶۲۸/۵۰±۶۸/۰۷	^{ab}۱۷۶/۸۵±۱۵/۴۸	^{ab}۸۴/۸۷±۶/۰۱	^{b}۰/۹۱±۰/۳۳	^{b}۴۹۹/۸۲±۲۲/۳۸
چهارم	^{ab}۵۵۸/۸۷±۶۲/۷۷	^{b}۱۵۶/۶۲±۱۰/۷۴	^{b}۷۲/۶۸±۹/۰۷	^{b}۰/۹۳±۰/۱۶	^{ab}۵۳۴/۲۷±۲۵/۵۶
پنجم	^{abc}۵۳۵/۸۵±۵۶/۶۱	^{bc}۱۶۰/۷۱±۹/۴۷	^{bc}۶۰/۷۳±۱۱/۴۵	^{b}۰/۹۴±۰/۱۱	^{abcd}۶۲۹/۰۶±۴۲/۰۸
ششم	^{abc}۴۷۳/۲۵±۴۳/۱۹	^{b}۱۶۹/۳۷±۱۹/۹۶	^{b}۷۳/۳۴±۱۰/۳۶	^{b}۰/۶۹±۰/۱۱	^{abcd}۶۱۶/۰۳±۲۰/۲۹

حجم نمونه در هر گروه ۸ سر موش صحرایی نر گروه اول شاهد(Control)، گروه دوم موش‌های بدون درمان، گروه سوم موش‌های تست تحت درمان با دوز شاهی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه چهارم موش‌های تست تحت درمان با دوز شاهی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه پنجم موش‌های تست تحت درمان با دوز شاهی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه ششم موش‌های تست تحت درمان با دوز سلیمارین ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن. ALP (آلکالن فسفاتاز)، SGPT (سرم گلوتامات پیروات ترانس آمیناز)، SGOT (سرم گلوتامات اگزالواستات ترانس آمیناز)، MDA (مالون دی آلدئید) و FRAP (ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم).

^{a} $p<۰/۰۰۱$ در مقایسه با مقادیر میانگین گروه اول (گروه شاهد).

^{b} $p<۰/۰۰۱$ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه دوم.

^{c} $p<۰/۰۰۱$ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه سوم.

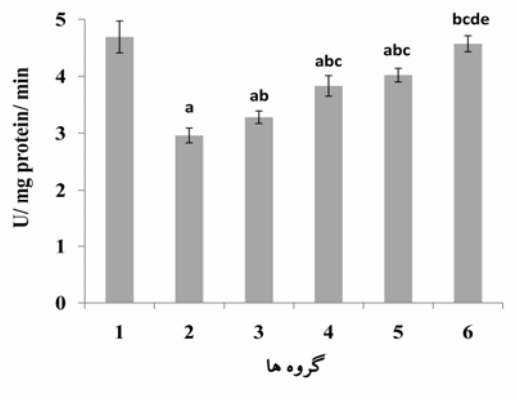
^{d} $p<۰/۰۰۱$ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه چهارم.

اعداد به صورت Mean±SEM نشان داده شده اند.

افزایش معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۰۱) را نسبت به گروه‌های شاهی دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (گروه‌های سوم و چهارم) نشان داد.

در نمودار شماره ۱ اثر شاهی بر فعالیت مخصوص آنزیم کاتالاز کبدی در گروه‌های مورد آزمایش مشاهده می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که مقادیر فعالیت مخصوص آنزیم کاتالاز کبدی در رت‌های گروه دوم (گروه تست بدون درمان) نسبت به رت‌های دریافت کننده رژیم معمولی (گروه شاهد)کاهش معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۰۱) دارد.از طرف دیگر، در نمودار شماره ۱ مشاهده می‌شود که تجویز شاهی در دوز ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (گروه های سوم، چهارم و پنجم) باعث افزایش معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۰۱) فعالیت مخصوص آنزیم کاتالاز کبدی نسبت به رت‌های گروه دوم (گروه تست بدون درمان) شد. هم‌چنین، نتایج حاکی از اثر وابسته به دوز شاهی در افزایش فعالیت مخصوص آنزیم کاتالاز کبدی می‌باشد به طوری‌که دوزهای شاهی ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (گروه‌های چهارم و پنجم) افزایش معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۰۱) را نسبت به گروه شاهی دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (گروه سوم) نشان دادند ولی فعالیت مخصوص آنزیم کاتالاز کبدی در دوزهای شاهی ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (گروه‌های چهارم و پنجم) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($p >$ ۰/۰۵). از طرف دیگر، فعالیت مخصوص آنزیم کاتالاز کبدی در گروه دریافت کننده سیلیمارین (گروه ششم) نسبت به گروه اول (گروه شاهد) تفاوت معنی‌داری نشان نداد ولی نسبت به سایر گروه‌ها (گروه‌های دوم، سوم، چهارم و پنجم) دارای یک افزایش فعالیت معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۰۱) بود.

در تصویر شماره ۱ تغییرات آسیب شناسی بافتی تمامی گروه‌ها مقایسه گردیده است. در مشاهدات ریزبینی بافت کبد موش های گروه اول (شاهد سالم)



نمودار شماره ۱: اثر عصاره شاهی بر فعالیت مخصوص آنزیم کاتالاز کبدی در گروه های مورد آزمایش

حجم نمونه در هر گروه ۸ سر موش صحرایی نر. گروه اول شاهد (Control)، گروه دوم موش‌های بدون درمان، گروه سوم موش‌های تست تحت درمان با دوز شاهی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه چهارم موش‌های تست تحت درمان با دوز شاهی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه پنجم موش های تست تحت درمان با دوز شاهی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه ششم موش‌های تست تحت درمان با دوز سلیمارین ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

[a] $p<$۰/۰۰۱ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه اول (گروه شاهد).

[b] $p<$۰/۰۰۱ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه دوم.

[c] $p<$۰/۰۰۱ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه سوم.

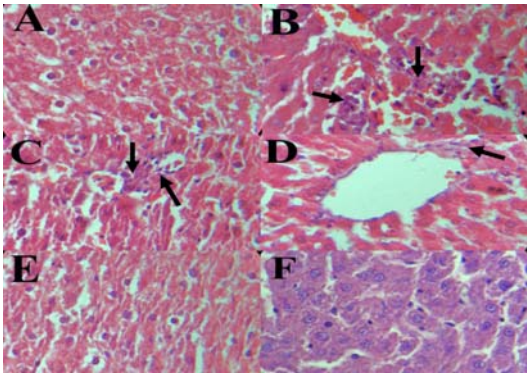
[d] $p<$۰/۰۰۱ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه چهارم.

[e] $p<$۰/۰۰۱ درمقایسه با مقادیر میانگین گروه پنجم.

اعداد به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.

ساختار بافت کبدی سالم و طبیعی مشاهده شد (A). در نمونه‌های بافتی کبد موش‌های گروه دوم که بدون درمان بودند تغییرات دژنراتیو متوسط تا شدید به همراه ارتشاح تک هسته‌ای ها (پیکان ضخیم) و پرخونی نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید (B). در نمونه های بافتی کبد موش‌های گروه سوم که ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن عصاره شاهی دریافت کردند تغییرات دژنراتیو متوسط به همراه ارتشاح تک هسته‌ای‌ها (پیکان ضخیم) مشاهده گردید (C) و تفاوت قابل ملاحضه‌ای با گروه دوم نداشت. در نمونه‌های بافتی کبد موش‌های گروه‌های سوم و چهارم (دریافت کننده دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره شاهی) در مقایسه با گروه‌های دوم و سوم، کاهش بسیار قابل ملاحضه‌ای

در آسیب بافتی به همراه ارتشاح تک هسته‌ای‌ها و پرخونی مشاهده گردید (D&E). در نمونه‌های بافتی کبد موش‌های گروه ششم که سلیمارین دریافت کردند آسیب بافتی در مقایسه با گروه اول که شاهد است بسیار خفیف و حاکی از توانایی بالای سیلیمارین در حفاظت کبدی است.



تصویر شماره ۱: اثر عصاره شاهی بر نمای ریز بینی کبد موش های صحرایی مورد آزمایش (هماتوکسیلین- ائوزین)

A – نمای ریز بینی از کبد موشهای صحرایی شاهد سالم که ساختار آن طبیعی است. B – نمای ریزبینی از کبد گروه دوم که بدون درمان بودند که در آن پرولیفراسیون سلول‌های کوپفر و ارتشاح تک هسته‌ای‌ها (پیکان ضخیم) مشخص می‌باشد. C- نمای ریزبینی دیگر از کبد گروه سوم که ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن عصاره شاهی دریافت کردند که ارتشاح تک هسته‌ای‌ها (پیکان ضخیم) در فضای پورتال آن دیده می‌شود. D و E- نمای ریزبینی از کبدگروه‌های سوم و چهارم (دریافت‌کننده دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره شاهی) که ارتشاح تک هسته‌ای‌ها (پیکان ضخیم) کاهش بسیار قابل ملاحضه‌ای خصوصاً اطراف وریدچه مرکزی را نشان می‌دهند. (F) نمای ریز بینی از کبد گروه ششم که سلیمارین دریافت کردند آسیب بافتی کاهش بسیار کاهش یافته و بافت آن نسبتاً سالم به نظر می‌رسد.

بحث

امروزه استفاده از گیاهان دارویی به علت دارا بودن ترکیبات سودمند و هم‌چنین حداقل عوارض جانبی بسیار گسترده شده است. هم اکنون چندین گیاه دارویی جهت درمان مسمومیت‌ها و بیماری‌های کبدی در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته است که این گیاهان عمدتاً حاوی ترکیبات پلی فنلی و فلاونوییدها هستند که به عنوان مهم‌ترین آنتی اکسیدان‌ها می‌باشند(۱۲). مطالعات اخیر نشان داده اند که عوامل غذایی نقش مهمی در بالا بردن توانایی بدن برای سم زدایی مواد شیمیایی و داروها ایفا می‌کنند. همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود مقادیر سرمی ALP، GPT، GOT و MDA در سرم رت‌های گروه دوم (گروه تست بدون درمان) نسبت به رت‌های دریافت کننده رژیم معمولی (گروه شاهد) افزایش معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) را نشان می‌دهد که حاکی ازایجاد آسیب کبدی در گروه تست بدون درمان است که با نتایج گزارش شده توسط سایر محققین در رابطه با گیاهان دارویی هم‌خوانی دارد به طوری‌که تحقیقات در این خصوص نشان داده که تجویز صمغ عربی نکروز کبدی و افزایش حاد ترانس آمینازهای سرمی ناشی از استامینوفن را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد(۲۲). از طرف دیگر، تجویز شاهی در گروه‌های تست تحت درمان نشان داد که عصاره شاهی قادر به کاهش مؤثری در تغییرات مقادیر سرمی ALP، GPT، GOT و MDA می‌باشد و نکته حائز اهمیت این است که این اثر وابسته به دوز شاهی نیز می‌باشد به طوری‌که در گروه‌های تست دریافت کننده شاهی در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای GPT، GOT و MDA تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد دیده نمی‌شود (جدول شماره ۱) که با مطالعات به عمل آمده با سایر گیاهان دارویی هم‌خوانی دارد به طوری‌که در بررسی Khorsandi و همکارانش تأثیر محافظتی عصاره زردچوبه (Curcuma longa) با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر سمیت کبدی ناشی از استامینوفن اثبات شده است و کاهش عمده‌ای را در افزایش حاد GPT، GOT ایجاد کرد(۲۳). در رابطه با شدت ایجاد آسیب کبدی و کلیوی ناشی از مصرف استامینوفن اثبات شده که سیستم سیتوکروم P450 و ذخایر گلوتاتیون بدن نقش اساسی دارند. مسمومیت کبدی ناشی از استامینوفن به علت فعال شدن سیستم سیتوکروم P450 و ایجاد متابولیت

واسطه‌ای سمی به نام ان استیل- پارا بنزوکین ایمین می‌باشد. این متابولیت پس از تشکیل به گلوتاتیون متصل شده و سپس به اسید مرکاپتوریک محلول در آب تبدیل و از طریق کلیه دفع می‌گردد. در مواردی که مقادیر زیادی از این دارو مصرف شود، منجر به تولید بیش از حد متابولیت‌های سمی و متعاقباً سبب تمام شدن گلوتاتیون‌های سلول شده و در نتیجه ان استیل پارا بنزوکین ایمین باقی‌مانده از طریق پیوند کووالان به پروتئین‌های سلول کبدی منجر به آسیب بافت کبدی می‌شود(۳-۱). در این رابطه مطالعات قبلی نشان داد که استفاده از عصاره ریشه گیاه موتان می‌تواند از آسیب سلولی توسط دوز توکسیک استامینوفن جلوگیری به عمل آورد. مطالعات نشان داد که این اثر رفع مسمومیتی عصاره ریشه گیاه موتان ناشی از جلوگیری از تخلیه مخازن گلوتاتیون توسط استامینوفن و مهار فعالیت هیدروکسیلازهای وابسته به سیتوکروم P450 سلول‌های کبدی است. بنابراین در این تحقیق نیز با توجه به اثرات قوی، مهار اثر سمی استامینوفن توسط عصاره شاهی احتمالاً این اثر مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنلی و فلاونویید، آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استرول و تنین موجود در عصاره شاهی است که قادر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول است. علاوه بر این، در رابطه با عصاره گیاهان دارویی دیگر در پیشگیری از آسیب‌های کبدی اثبات شده که بذر گیاه خارمریم که سیلی مارین نام دارد که حاوی فلاونوییدهای سیلی بین، سیلی کریستین، سیلی دیانین و ایزوسیلی بین است و دارای اثر مهاری بر روی سیستم سم زدایی سیتوکروم P450 است و می‌تواند از متابولیسم ترکیبات سمی مانند تیواستامید، استامینوفن و تتراکلریدکربن جلوگیری کند که با نتایج حاصل در این تحقیق هم‌خوانی دارد به طوری‌که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود تجویز شاهی در هر سه دوز مصرفی باعث کاهش معنی دار غلظت سرمی MDA در گروه‌های درمان نسبت به گروه تست بدون درمان شده است ولی گروه درمان شده با سلیمارین به عنوان کنترل مثبت غلظت سرمی MDA به مراتب کم‌تر از گروه‌های درمان بود که حاکی از توانایی بالای سیلیمارین در حفاظت کبدی است که توسط سایر محققین گزارش شده است(۲۴). علاوه بر این، اثر تعدادی از گیاهان دارویی به عنوان محافظ کبدی بررسی و مورد تأیید قرار گرفته‌اند که در بین آن‌ها میتوان به کنگر فرنگی (Cynara scolymus)، رازیانه (Feniculum vulgare)، تاجریزی(Solanum nigrum)، زنیان (Carum copticum) وهلیله (Terminalia chebula) اشاره کرد که اثر حفاظت کبدی در این گیاهان به وجود گلیکوزید، فلاونوئید، تریترپن و فنول آن‌ها نسبت داده شده است(۲۶،۲۵). هرچند اثرات محافظت کبدی گیاهان دارویی مذکور مشخص شده‌اند و هم‌چنین نتایج این طرح نیز حاکی از اثر شاهی بر محافظت کبدی است، ولی پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات بعدی محققین برای طراحی و یا یافتن داروهای با منشاء گیاهی، اثرات ترکیبی مواد مؤثره این گیاهان دارویی با یکدیگر و یا به صورت ترکیبی با داروهای شیمیایی را بررسی کنند. علاوه بر این در بسیاری از تحقیقات به عمل آمده در رابطه با اثرات محافظت کبدی گیاهان دارویی از تتراکلریدکربن جهت مسمومیت استفاده شده، هرچند مصرف و مسمومیت ناشی از تتراکلریدکربن در حالت عادی بسیار کم می‌باشد، ولی اثرات مسمومیت بافتی آن شبیه به اثرات مسمومیت ناشی از داروها می‌باشد و استفاده مستقیم از خود دارو ها در تشخیص مکانیسم و متابولیت‌های سمی ناشی از دارو بهتر می‌باشد(۲۷،۱۳،۱۲).

مطالعات نشان داده که دوزهای حاد مواد سمی و برخی از داروها مانند استامینوفن یا مصرف طولانی مدت بعضی مواد و داروها می‌تواند موجب تولید مقادیر بالایی از رادیکال‌های فعال شود که این رادیکال ها قادرند بر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی غلبه نمایند و موجب آسیب‌های کبدی شوند که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد، همان طور که در جدول شماره ۱ دیده می‌شود، در گروه تست بدون درمان غلظت سرمی

MDA به طور معنی‌دار و قابل توجهی نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است و در عین حال ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (FRAP) به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است(۱۴). علاوه براین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم نیز به طور وابسته به دوز به طور معنی‌داری در گروه‌های درمان نسبت به گروه تست بدون درمان افزایش نشان داد که این افزایش در FRAP توجیه کننده کاهش سطح غلظت سرمی MDA در گروه های درمان و متعاقب آن کاهش مقادیر سرمی ALP، GPT، GOT است. در این رابطه می توان به آنتی اکسیدان‌ها اشاره کرد که می‌توانند غشاهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان‌ها حفظ کنند. ساز و کار عمل این ترکیبات جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، واگذاری الکترون به این اکسیدان‌ها و غیر فعال کردن آن‌ها می باشد و متعاقباً باعث پایداری غشاء سلولی و به دنبال آن کاهش مقادیر سرمی ALP، GPT، GOT می‌شوند که با نتایج تحقیق ما با توجه به میزان ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره شاهی هم‌خوانی دارد(۲۹،۲۸). بنابراین، تجویز عصاره شاهی باعث افزایش FRAP سرمی می‌شود که این افزایش FRAP مربوط به وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی پلی فنلی، فلاونویید، آلکالوئیدها،گلیکوزیدها، استرول و تنین موجود در عصاره شاهی است(۹).

به طورکلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند که عصاره هیدروالکلی شاهی در بهبود مسمومیت کبدی حاد ناشی از استامینوفن نقش محافظتی دارد.

سپاسگزاری

این تحقیق مربوط به پایان نامه خانم غزل موحد محمدی دانشجویی رشته پزشکی به شماره ثبت طرح تحقیقاتی ۱۱۴۴ معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد است. هم‌چنین، بدین‌وسیله پژوهشگران مراتب تقدیر و تشکر خود را از پرسنل محترم مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند، ابراز می‌دارند.

References

1. Asgari S, Ansari-Samani R, Deris F, Shahinfard N, Salimi M, Mortazaei S, et al. Antioxidant activity and the lowering effect of hydroalcoholic extract of *Allium hirtifolium* boisson some haemostatic factors in hypercholesterolemic rabbits. J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(91): 40-48 (Persian).
2. Parvin N, Farzane-Dehkordi S, Goudarzi I, Nikfarjam M, Rafieian-Kohpaei M, Heidarian E, et al. Effects of *Portulaca oleracea* L (purslane) on psychological symptoms of chronic schizophrenic patients in Sina hospital. J Mazand Univ Med Sci 2013; 22(97): 2-10 (Persian).
3. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. Drug Metab Dispos 2003; 31(12): 1499-1506.
4. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Diseases. 7th ed. Elsevier Saunders: Philadelphia; 2005. p. 25-26, 428.
5. Taghikhani A, Ansarisamani R, Afrogh H, Shahinfard N, Ganji F, Asgari A, et al. The hepatotoxic effects of stachys *Lavandulifolia vahl* on wistar rat. J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(88): 81-87 (Persian).
6. Song Z, McClain CJ, Cheh T. S-Adenosylmethionine protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. Pharmacology 2004; 71(4): 199-208.
7. Karazhiyan H, Razavi SMA, Phillips GO, Fang Y, Al-Assaf S, Nishinari K, et al.

Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. Food Hydrocoll 2009: 23(8): 2062-2068.

8. Stüven J, Pflugmacher S. Antioxidative stress response of *Lepidium sativum* due to exposure to cyanobacterial secondary metabolites. Toxicon 2007; 50(1): 85-93.
9. Ghante MH, Badole SL, Bodhankar SL. Health Benefits of Garden Cress (Lepidium sativum, Linn.) Seed Extracts. In: Preedy VR, Watson RR, Patel VB, (eds). Nuts & seeds in health and disease Prevention. 1st ed. United States of America: Elsevier Inc; 2011. p. 521-525.
10. Heidarian E, Soofiniya Y. Hypolipidemic and hypoglycemic effects of aerial part of *Cynara scolymus* in streptozotocin-induced diabetic rats. J Med Plant Res 2011; 5(13): 2717-2723.
11. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev 2000; 52(4): 673-751.
12. Jannu V, Baddam PG, Boorgula AK, Jambula SR. A review on hepatoprotective plants. Int J Drug Devel Res 2012; 4(3): 1-8.
13. Sidana J, Deswal G, Nain P, Arora K. Liver toxicity and hepatoprotective herbs. Int J Pharm Sci Rev Res 2011; 9(1): 116-121.
14. Saleem TSM, Chetty CM, Ramkanth S. Rajan VST, Kumar KM, Gauthaman K. Hepatoprotective Herbs-A Review. Int J Res Pharm Sci 2010; 1(1): 1-5.
15. Asgari S, Setorki M, Rafieian-kopaei M, Heidarian E, Shahinfard N, Ansari R, et al. Postprandial hypolipidemic and hypoglycemic effects of *Allium hertifolium* and *Sesamum indicum* on hypercholesterolemic rabbits. Afr J Pharm Pharmacol 2012; 6(15): 1131-1135.
16. Jafarian A, Ghannadi A, Elyasi A. The effects of *Allium hirtifolium* Boiss. on cell-mediated immune response in mice. Iran J Pharmaceutic Res 2003; 2(1): 51-55.
17. Yamaura K, Shimada M, Nakayama N, Ueno K. Protective effects of goldenseal (Hydrastis canadensis L.) on acetaminophen-induced hepatotoxicity through inhibition of CYP2E1 in rats. Pharmacognosy Res 2011; 3(4): 250-255.
18. Muriel P, Garciapiña T, Perez-Alvarez V, Mourelle M. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. J Appl Toxicol 1992; 12(6): 439-442.
19. Agarwal R, Chase SD. Rapid, fluorimetric–liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2002; 775(1): 121-126.
20. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol 1984; 105: 121-126.
21. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-254.
22. Gamal el-din AM, Mostafa AM, Al-Shabanah OA, Al-Bekairi AM, Nagi MN. Protective effect of Arabic gum against acetaminophen induced hepatotoxity in mice. Pharmacol Res 2003; 48(6): 631-635.
23. Khorsandi LS, Taheri mobarakeh M, Kalantari H. The protective effects of *Curcuma longa* extract on acetaminophen-induced acute hepatotoxicity in mice. J Rafsanjan Univ Med Sci 2007; 6(4): 219-226 (Persian).
24. Valenzuela A, Garrido A. Biochemical bases of

the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. Biol Res 1994; 27(2): 105-112.

25. Adewusi EA, Afolayan AJ. A review of natural products with hepatoprotective activity. J Med Plant Res 2010; 4(13): 1318-1334.
26. Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Seidkhani-Nahal A. Effect of garlic on liver phosphatidate phosphohydrolase and plasma lipid levels in hyperlipidemic rats. Food Chem Toxicol 2011; 49(5): 1110-1114.
27. Kim SH, Cheon HJ, Yun N, Oh ST, Shin E, Shim KS, et al. Protective effect of a mixture of *Aloe vera* and *Silybum marianum* against carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity and liver fibrosis. J Pharmacol Sci 2009; 109(1): 119-127.
28. Urquiaga I, Leighton F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biol Res 2000; 33(2): 55-64.
29. Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Seidkhani-Nahal A. Lipid-lowering effect of artichoke on liver phosphatidate phosphohydrolase and plasma lipids in hyperlipidemic rats. J Med Plant Res 2011; 5(19): 4918-4924.