بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) بر بافت کبد و عناصر خونی مس، آهن، روی و منیزیم در موش صحرایی نر بالغ

شهرزاد خاکپور[1]، مریم خسروی[2*]، معصومه میرزائی[2] ، محیا نجاری[2]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، گروه فیزیولوژی، تهران، ایران

۲ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: maryam.khosravi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲

چکیده

استرس اکسیداتیو بصورت تغییر در تعادل پرواکسیدان و آنتی‌اکسیدان به سمت تشکیل پرواکسیدان تعریف می‌شود که در نهایت باعث بروز بیماری‌های مختلف و آسیب بافتی می‌گردد. در این مطالعه از داروی ایزونیازید بعنوان یک اکسیدان به منظور تولید رادیکال آزاد استفاده شد و اثر عصاره گیاه مریم گلی بر عناصرخونی مس، آهن، روی و منیزیم مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از ٦٣ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در ۹ گروه ۷ تایی قرارگرفتند. گروه ۱(کنترل)، گروه ۲ (شاهد دریافت کننده حلال داروی ایزونیازید یا سرم فیزیولوژی)،گروه ۳ (دریافت کننده داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان) و گروه‌های ٤، ٥ و ٦ عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن حیوان بصورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه‌های ۷، ۸ و۹: داروی ایزونیازید را با دوز۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن حیوان به صورت خوراکی (گاواژ) و همزمان عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن حیوانات به روش تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. مدت تیمار حیوانات ٤ هفته بود.در آخرین روز، خونگیری از قلب حیوانات انجام شد و کبد جهت برش بافتی جدا گردید و میزان عناصر مس، آهن، روی و منیزیم مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی عصاره گیاه مریم گلی باعث افزایش سطح سرمی عنصر روی و مس گردید و کاهش معنی داری در سطح سرمی منیزیم نسبت به عنصرهای دیگر مشاهده شد. با دریافت دارو مقدار آهن افزایش یافت و با تجویز عصاره مریم گلی سطح آهن کاهش یافت. به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن اثر ترکیبات تانن و مواد تلخ گیاه را (با سمیت کم و محدود) بیشتر نشان داده است.

کلمات کلیدی: استرس اکسیداتیو، رادیکال آزاد، آنتی اکسیدان، گیاه مریم گلی، ایزونیازید

مقدمه

مصرف دخانیات یا مواد حاصل از متابولیسم داروها و قرارگرفتن در معرض تشعشات یونیزه و غیریونیزه، مواد اکسیدان در بدن تولید می‌کنند. همچنین سلول‌های بدن در طی متابولیسم تعدادی اکسیدان قوی تولید می‌کنند. اکسیدان‌های حاصل از فرآیندهای داخل بدن یا اندوژن در نتیجه تنفس هوازی نرمال و فرآیند التهاب ایجاد می‌شوند و رادیکال‌های آزاد اگزوژن از فاکتورهای محیطی مانند آلودگی هوا، نور خورشید، ورزش شدید، اشعه ایکس، سیگار، مصرف داروها و الکل ناشی می‌شوند [۵]. اکسیدان-های مهم شامل سوپراکساید ($O^{O}2^{-}$)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، رادیکال پراکسیل (ROO^{O}) و رادیکال هیدروکسیل(OH^{O}) می‌باشند [۵ و ٤]. آنتی‌اکسیدان‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

همانطور که از نامشان پیداست، موادی هستند که قادرند با اثرات مضر اما طبیعی فرآیندهای فیزیولوژیک بافت‌ها مقابله کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد فرآیند اکسیداسیون را متوقف می‌کنند. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان به دو گروه آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم می‌شود [٦]. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی شامل ویتامین‌های A، C، E، پلی‌فنل‌ها، بتاکاروتن‌ها و املاح معدنی از جمله مس، روی، منیزیم و... از بهترین و اصلی‌ترین عوامل تدافعی جهت تنظیم میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن و محافظت سلول تحت شرایط استرس می‌باشند. سیستم دفاعی آنتی-اکسیدان آنزیمی شامل آنزیم‌های سوپراکساید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشند [۷، ۸ و۹]. در واقع با افزایش پرواکسیدان‌ها و یا کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها، استرس اکسیداتیو اتفاق می‌افتد [۱۰]. تقریبا در اواسط قرن نوزدهم دانشمندان پی بردند که وجود بعضی از عناصر معدنی در بدن برای ادامه حیات و سلامتی انسان به مقدار مشخصی ضروری است. بطور کلی می‌توان مواد معدنی ضروری بدن را به دو دسته عناصر پرمقدار و کم-مقدار دسته‌بندی کرد. عناصر پرمقدار به عناصری نظیر کلسیم و فسفر گفته می‌شود که بیشتر از ۰/۰۰۵ درصد وزن بدن را تشکیل می‌دهند و عناصر کم مقدار عناصری نظیر آهن، مس، روی، منیزیم و.... را می‌توان نام برد که کمتر از ۰/۰۰۵ ٪ وزن بدن را تشکیل می‌دهند [۱۱]. فلز روی آنتی اکسیدانی است که در واکنش‌های استرس اکسیداتیو نقش مهمی دارد و عامل حفظ سلامتی و مبارزه با بیماری‌ها است. فلز روی در افزایش سطح سیستم ایمنی و کارکرد صحیح دستگاه ایمنی نقش مهمی را به عهده دارد. روی عوامل و فلزات سمی وارد شده به بدن را جذب و خنثی می‌کند. عنصر روی کوفاکتور آنزیم آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز است [١٤و١٣و١٢]. مس یک ماده غذایی ضروری در بدن انسان است. مس هم پرواکسیدان و هم آنتی‌اکسیدان است. در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشخصه‌ای در افزایش فعالیت روی/مس سوپراکسید دسموتاز (Cu/Zn SOD) وجود دارد. مس از گلبول‌های قرمز در برابر اکسیده شدن محافظت می‌نماید و بدن را در مقابل مواد اکسیدکننده و رادیکال‌های آزاد حفاظت می‌کند. از طرف دیگر یون‌های مس اضافی می‌توانند در رادیکال‌های غیرفعال سبب تبدیل سوپراکسید به هیدروژن پری اکسید و رادیکال‌های فعال هیدروکسیل گردند و در نهایت موجب کاتالیز LDL خون در دیواره‌های شریانی شوند. همچنین مس اضافی می‌تواند باعث افزایش آسیب ویژگی‌های اکسیداتیو در DNA شود [۱ و ۱۵]. کمبود فلز آهن از یک طرف و تجمع زیاد آهن در بافت‌ها از طرف دیگر با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است. بطوری که افزایش حضور آهن به عنوان یک منبع مهم تولید رادیکال آزاد شناخته شده است. از طرف دیگر مطالعات نشان داده است که در کم خونی فقر آهن میزان استرس اکسیداتیو و همچنین میزان ESOD (آنزیم سوپراکسید دسموتاز در گلبول قرمز) افزایش می‌یابد. علت افزایش استرس اکسیداتیو در کم خونی فقر آهن هنوز کاملا مشخص نیست. بطور کلی، آهن و فلزات واسطه باعث تحریک پراکسید اسیون چربی‌ها وآسیب غشای سلولی می-شوند [١٦، ١٧، ١٨]. گلوتاتیون ردوکتاز یک آنزیم آنتی اکسیدان مهم می‌باشد که در این بین نقش مواد معدنی به خصوص منیزیم در عملکرد این آنزیم حائز اهمیت است. منیزیم یک کوفاکتور برای گلوکز ٦-فسفات دهیدروژناز است. کمبود دریافت منیزیم موجب کاهش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز و در نتیجه تسریع در اکسیداسیون پروتئین‌ها در استرس اکسیداتیو می‌شود [۱۹ و ۲۰]. بنابر این آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و عناصر معدنی کم مقدار مانند روی، مس، آهن، منیزیم، سلنیوم و به دنبال آن کاهش یا افزایش این عناصر در بدن موجب بروز بیماری‌ها و عوارض مختلف از

Archive of SID

www.SID.ir

جمله ناباروری، عقب ماندگی ذهنی، سرطان، کاهش حمل ونقل اکسیژن در گلبول‌های قرمز، کاهش قدرت سیستم ایمنی بدن و غیره می‌شوند. امروزه درمان بیماری‌ها بیشتر از طریق مصرف داروهایی صورت می‌گیرد که منشاء صنعتی دارد و اختصاصاً در آزمایشگاه‌ها تهیه می‌شوند و اثرات آنها نیز در درمان بیماری‌ها موجب توسعه مصرف آنها گردیده است، با این حال چون با مصرف این داروها زیان‌هایی به بدن می‌رسد، روز به روز اهمیت گیاهان دارویی و فرآورده-های آنها بیشتر مورد توجه قرار گرفته و اعتقاد عمومی درباره استفاده از گیاهان پیوسته تقویت می‌گردد [۲]. یکی از انواع گیاهانی که همواره مورد توجه بوده، گیاه مریم‌گلی با نام علمی *Salvia officinalis* از خانواده نعناع است. از هزار گونه این گیاه حدود هفده گونه آن مختص ایران بوده و رویشگاه اصلی آن در ایران می‌باشد [۲]. مریم گلی گیاهی پرشاخه، به ارتفاع ۳۰ تا ٦۰ سانتی‌متر است که دارای ظاهری پرپشت می‌باشد. ریشه‌ای به رنگ مایل به قهوه‌ای و ساقه‌های متعدد، منشعب، چهارگوش و پوشیده از کرک دارد [۲]. از گذشته بسیار دور به دلیل خواص دارویی گیاه مریم گلی، مورد استفاده قرار می‌گرفته و در طب سنتی به عنوان ضداسپاسم، ضدعفونی کننده، آرام‌بخش، کاهش‌دهنده قندخون و ضدالتهاب استفاده می‌شده است [۲۲و۲۱]. در تحقیقات به عمل آمده وجود برخی از ترکیبات موجود در اسانس گیاه مریم گلی نظیر تویون، سینئول و کامفر را بعنوان ماده موثر در ایجاد خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و احتمالا ضدسرطان آن می‌دانند [۲٤و۲۳]. در این مطالعه اثرات احتمالی آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم گلی بر میزان عناصرمس، آهن، روی و منیزیم در موش بزرگ آزمایشگاهی نر مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روش کار

حیوانات: در این مطالعه تحقیقاتی از نوع تجربی از ٦۳ سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم خریداری شده از انستیتو پاستور تهران استفاده گردید. موش‌ها در اطاق حیوانات با دمای کنترل شده ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، واقع در حیوانخانه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران نگهداری شدند. آب و غذای کافی همواره در دسترس حیوانات قرار داشت.

دارو: داروی ایزونیازید برای درمان بیماری سل استفاده می-شود. دوز بالا و مصرف طولانی‌مدت داروی ایزونیازید باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد در بدن و به دنبال آن موجب استرس اکسیداتیو می‌شود. به منظور القای تولید رادیکال‌های آزاد قرص ۳۰۰ میلی‌گرمی دارو استفاده شد که پس از حل شدن در ٦۰ سی سی سرم فیزیولوژی با دوز۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن حیوانات بصورت خوراکی (گاواژ) به موش‌ها تجویز گشت.

عصاره گیاه مریم گلی: پس از تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به روش پرکولاسیون، عصاره این گیاه با سه دوز ۱۰۰، ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات بصورت تزریق داخل صفاقی (ip) مورد استفاده قرارگرفت.

گروه‌های موردآزمایش:

گروه ۱ (کنترل): حیواناتی که آب وغذای کافی دریافت نمودند.

گروه ۲ (شاهد): حیواناتی که سرم فیزیولوژی را به عنوان حلال دارو دریافت نمودند.

گروه ۳: حیواناتی که داروی ایزونیازید را با دوز ۵۰ میلی-گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه‌های ٤، ۵ و ٦: حیواناتی که عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

Archive of SID

www.SID.ir

گروه‌های ۷، ۸ و ۹: حیواناتی که داروی ایزونیازید را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و همزمان عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

عصاره گیاه مریم گلی به صورت تزریق داخل صفاقی و داروی ایزونیازید بصورت خوراکی (گاواژ) تجویز گشت.

روش خونگیری و برش بافتی: آزمایشات روی حیوانات به مدت ۲۸ روز به طول انجامید، تمام گروه‌ها در پایان روز بیست و هشتم توسط کلروفرم در دسیکاتور بیهوش شدند، پس از بیهوش شدن با سرعت و احتیاط از قلب حیوانات خونگیری انجام گرفت. سپس کبد حیوانات را جهت برش بافتی جدا کرده و پس از شستشو با نرمال سالین در فرمالین ۱۰٪ نگهداری شد. پس از دهیدراته کردن توسط الکل با استفاده از پارافین، قطعاتی باضخامت ٤ الی ٥ میکرون تهیه شد و برای بررسی پاتولوژیک توسط فتومیکروسکوپ مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون one –way Anova، تست Tukey تجزیه و تحلیل شده و نمودارهای هیستوگرام جهت مقایسه نتایج رسم و مورد بررسی قرار گرفتند. $p\leq 0/05$ از نظر آماری تفاوت معنی دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج حاصل از آزمون‌های عناصر خونی: نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که سطح سرمی روی در گروه دریافت-کننده داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و در گروه‌های تجربی دریافت کننده گیاه مریم گلی به ترتیب با سه دوز ۲۵۰،۱۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات نسبت به گروه کنترل و شاهد افزایش داشته است. سطح این عنصر در گروه تجربی دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با ایزونیازید با دوز۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه‌های کنترل و دریافت کننده داروی ایزونیازید کاهش نشان می‌دهد (نمودار ۱). نمودار ۲ نشان می‌دهد که سطح سرمی عنصر مس در گروه دریافت کننده ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل کاهش و در گروه‌های تجربی دریافت کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش داشته است.

سطح مس سرم در گروه دریافت کننده گیاه مریم گلی با دوز ٤۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن توام با ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن بیشترین افزایش معنی‌دار را نسبت به گروه کنترل و دریافت‌کننده ایزونیازید نشان می‌دهد.

نمودار ۳ افزایش در سطح منیزیم گروه دریافت‌کننده ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد و گروه دریافت کننده عصاره گیاه مریم گلی با دوز ٤۰۰ میلی گرم برکیلوگرم وزن بدن بیشترین کاهش سطح سرمی منیزیم را نسبت به کنترل و شاهد دارد. همچنین گروه‌های دریافت کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی ایزونیازید با دوز۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کمترین مقدار سطح منیزیم را نسبت به گروه‌های کنترل و ایزونیازید نشان می‌دهد.

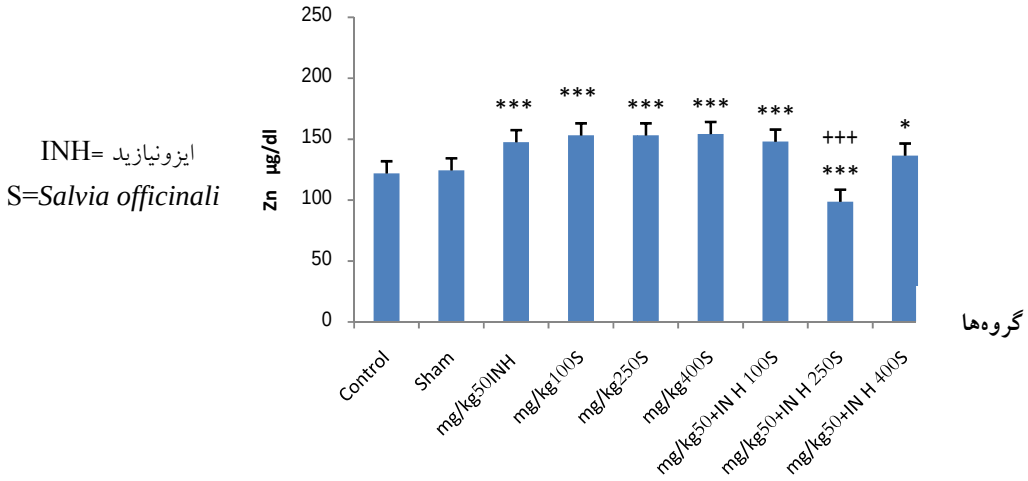
نمودار ٤ نشان می‌دهد که سطح آهن سرم در گروه دریافت کننده ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش و در گروه‌های تجربی دریافت کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۲۵۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است. سطح آهن سرم در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن همزمان با ایزونیازید با دوز ۵۰

Archive of SID

www.SID.ir

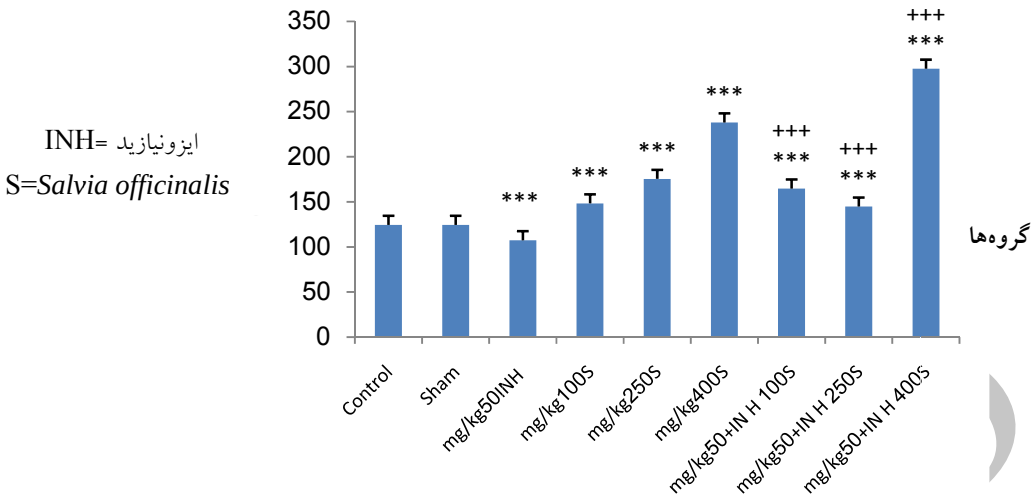
میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و دریافت کننده داروی ایزونیازید نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژی کبد: به منظور بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی روی کبد موش‌ها، پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، تغییرات آسیب شناسی مورد ارزیابی قرار گرفت و با کبد موش‌های سالم (شکل ۱) مقایسه گردید که نتایج آن بدین شرح است: در گروه تجربی که به مدت ۲۸ روز داروی ایزونیازید را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات دریافت نمودند، نکروز شدید در بافت و التهاب ورید مرکزی و لنفوسیت‌ها مشاهده شد (شکل ۲). در گروه تجربی که روزانه عصاره گیاه مریم گلی را با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند، اتساع ملایمی در ورید مرکزی و سینوزوئیدها دیده شد (شکل ۳). در گروه تجربی که دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات عصاره گیاه مریم گلی را همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان دریافت کردند، تغییرات آسیب شناسی کبد منحصر به اتساع بسیار کمی از سینوزوئیدها بود (شکل ٤، دوز موثر).

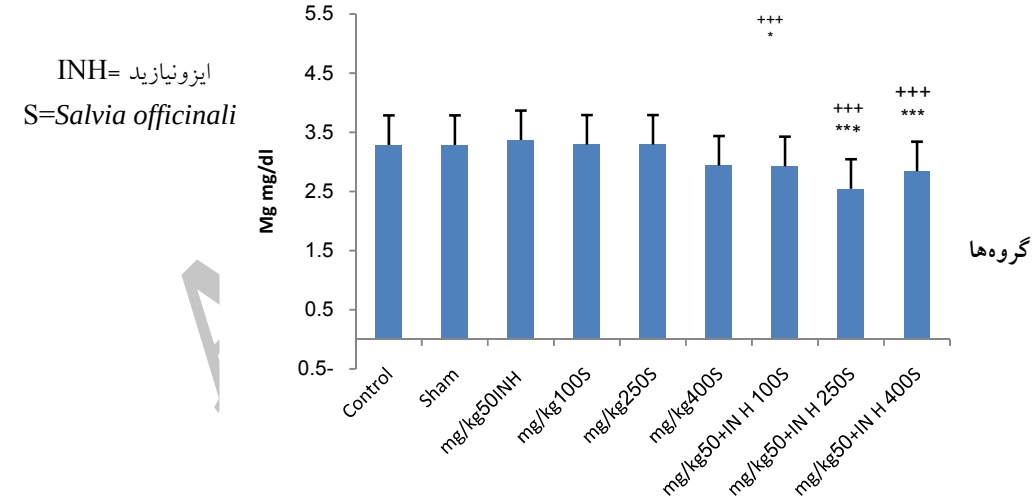


نمودار۱ـ نتایج میزان روی سرم خون، حاصل ازدریافت خوراکی داروی ایزونیازید بادوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای۱۰۰،۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه کنترل و شاهد. دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه دریافت کننده داروی ایزونیازید وگروه کنترل $n=7$ $p\leq 0/05$ * $p\leq 0/001$*** (علامت * برای مقایسه با گروه کنترل و علامت + برای مقایسه با گروه ایزونیازید می‌باشد).

www.SID.ir

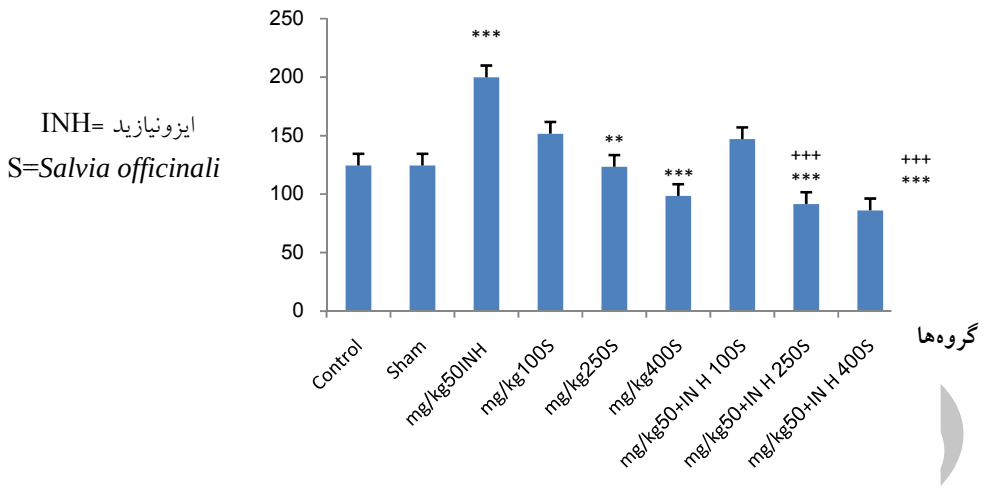


نمودار۲ـ نتایج میزان مس سرم خون، حاصل از دریافت خوراکی داروی ایزونیازید بادوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه کنترل و شاهد. دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه دریافت‌کننده داروی ایزونیازید و گروه کنترل
n=7 **p≤0/01 ***p≤0/001

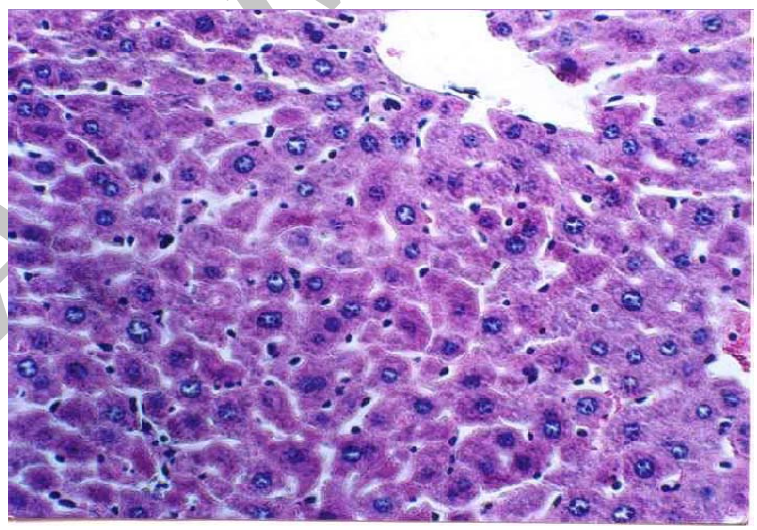


نمودار ۳ـ نتایج میزان منیزیم سرم خون، حاصل از دریافت خوراکی داروی ایزونیازید بادوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل و شاهد. و دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه دریافت کننده داروی ایزونیازید و گروه کنترل
n=7 *p≤0/05 ***p≤0/001

www.SID.ir

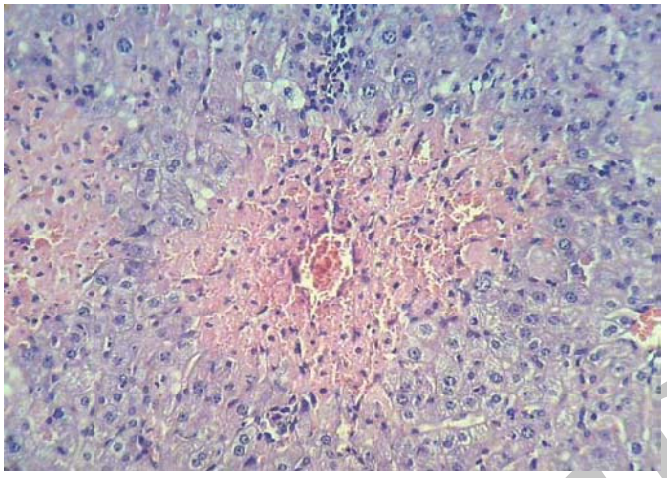


نمودار٤ـ نتایج میزان آهن سرم خون، حاصل از دریافت خوراکی داروی ایزونیازید بادوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای ۲۵۰،۱۰۰ و٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه کنترل وشاهد. دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۲۵۰،۱۰۰ و٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان باداروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه دریافت کننده داروی ایزونیازید و گروه کنترل n=7 ***p≤0/001 و **p≤0/01

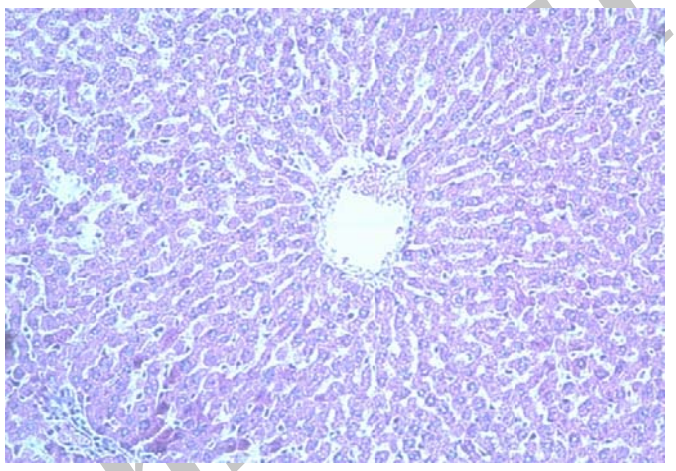


شکل ۱ـ نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های کنترل رنگ شده با H&E (بزرگنمایی٤۰۰ ×)

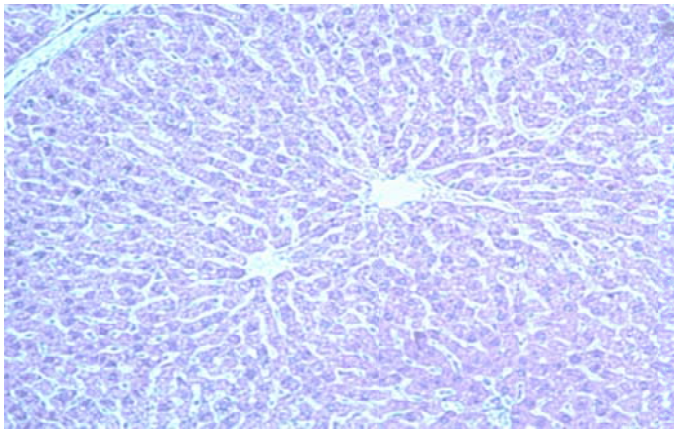
www.SID.ir



شکل ۲ـ نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های دریافت کننده داروی ایزونیازید رنگ شده با H&E (بزرگنمایی ۲۰۰ ×)



شکل ۳ـ نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های دریافت کننده عصاره مریم گلی با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رنگ شده با H&E (بزرگنمایی ۲۰۰ ×)



شکل ٤ـ نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های دریافت کننده داروی ایزونیازید + عصاره مریم گلی با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم رنگ شده با H&E (بزرگنمایی ۲۰۰ ×)

www.SID.ir

بحث

موجودات زنده سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده و گسترده‌ای جهت مقابله با گونه‌های فعال رادیکال آزاد و کاهش اثرات تخریبی آنها دارند. سیستم دفاعی آنزیمی سوپر اکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و سیستم دفاعی غیرآنزیمی ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در مواد غذایی نظیر ویتامین‌های A/E/C، پلی‌فنل‌ها، کاروتن‌ها و عناصر معدنی مس، روی، منیزیم می‌باشد که مهمترین و اصلی‌ترین سیستم‌های تدافعی بدن جهت تنظیم میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن و محافظت سلول تحت شرایط استرس اکسیداتیو می‌باشند [۷ و ۸]. بسیاری از داروهای شیمیایی دارای عوارض جانبی‌اند. داروی ایزونیازید (INH) که برای درمان سل مورد استفاده قرار می‌گیرد، آنزیم سیتوکروم P450 را مهار می‌کند. سیتوکروم P450 هموپروتئینی است که به فراوانی در بافت‌های گیاهی و جانوری یافت می‌شود و همانند اکسیداز انتهایی عمل می‌کند. با تجویز ایزونیازید کبد این دارو را استیله می‌نماید. متابولیت استیله ایزونیازید پس از آن که توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 کبدی متابولیزه می‌گردد به یک ماده واسطه تبدیل می‌شود که به صورت رادیکال آزاد عمل می‌کند. بر روی کبد اثر سمی می‌گذارد و موجب بروز آسیب کبدی و هپاتیت می‌گردد [۲۵]. در این مطالعه از داوری ایزونیازید برای القای استرس اکسیداتیو استفاده شد. رادیکال‌های آزاد فعال اکسیژن با اثرات سمی خود موجب اختلال در کارکرد صحیح سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و عناصر معدنی بدن می‌شوند و در نهایت این اختلالات موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و به دنبال آن تخریب سلولی می‌شود. با افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد و تخریب سلول‌ها آسیب‌های بافتی و بیماری‌ها اتفاق می افتد. عنصر روی آنتی اکسیدانی است که در واکنش‌های استرس اکسیداتیو نقش مهمی دارد و عوامل سمی وارد شده به بدن را جذب و خنثی می‌کند [۱۲]. همچنین فلزات مس و آهن دو عنصری هستند که هم بعنوان پرواکسیدان و هم آنتی‌اکسیدان در بدن شناخته شده‌اند. عنصر مس در فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان مس/روی سوپراکسید دسموتاز می‌گردد و از طرف دیگر یون‌های مس اضافی در بدن موجب تبدیل سوپر اکسید به هیدروژن پری اکسید و رادیکال‌های فعال هیدروکسیل می‌گردند که موجب پراکسیداسیون غشای سلولی و تخریب بافت می‌شوند [۱۵]. کمبود فلز آهن در کم خونی فقر آهن و افزایش آهن به عنوان یک منبع مهم تولید رادیکال آزاد شناخته شده است که هر دو عامل باعث آسیب و مرگ سلولی می‌شود [۱۸و۱۷]. عنصر منیزیم نیز یک کوفاکتور مهم برای آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. با کاهش و یا افزایش این عنصر، در سیستم دفاعی بدن اختلال ایجاد می‌گردد [۱۹]. دریافت مقدار مناسب عناصر معدنی در روز، عدم نقصان جذب هر یک به واسطه کاهش و یا افزایش عناصر دیگر در بدن واستفاده از مکمل‌های آنتی اکسیدان طبیعی به کارکرد صحیح سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن، جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن از بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان و هپاتیت کمک می‌کند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ایزونیازید موجب بروز اختلال در سطح سرمی عناصر شده است. بطوری که سبب افزایش سطح سرمی روی و آهن گردید و سطح سرمی مس و منیزیم را کاهش داد. بنابراین ممکن است افزایش آهن و روی خون سبب کاهش جذب و کمبود مس و منیزیم شده باشد. با اختلال در میزان عناصر فلزی خون به احتمال زیاد عملکردهای سیستم ایمنی، تکثیرسلولی، عملکردهای آنتی اکسیدانی آنزیم‌ها ازجمله سیتوکروم اکسیداز، سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، تعداد گلبول‌های قرمز و انرژی سلولی مختل می‌شود که نهایتاً موجب استرس اکسیداتیو می‌گردد. برهمکنش دو عنصرآهن و روی در مرحله جذب روده‌ای درحیوانات

Archive of SID

www.SID.ir

آزمایشگاهی با استفاده از عناصر رادیو ایزوتوپ وانتشار روده‌ای به اثبات رسیده است [۲۶]. دریافت اضافی مکمل آهن ممکن است در جذب روده‌ای یا انتقال پلاسمایی سایر عناصر دو ظرفیتی موجود در مواد غذایی از جمله روی دخالت داشته باشد. بنابراین افزایش آهن با نقصان جذب روی همراه می‌شود [۲۷و۲۶]. مس پس از آهن و روی، مهمترین ریز مغذی موجود در رژیم غذایی انسان محسوب می‌گردد. اصلی‌ترین عامل ارتباطی بین متابولیسم مس و آهن در انسان، سرولوپلاسمین است [۲۸].

سرولوپلاسمین مهمترین پروتئین حاوی مس بدن و یک فرواکسیداز است که جهت آزاد سازی آهن از بافت‌ها و انتقال آن ضروری است. عامل دیگر ارتباط بین آهن و مس وجود حاملان مشترک روده‌ای است. آهن و مس برای اتصال به حامل فلزات دو ظرفیتی، در لبه بروسی سلول‌های آنتروسیت روده، رقابت می‌کنند. به نظر می‌رسد در کم خونی فقر آهن، بیان این حامل مشترک و همچنین جذب روده‌ای مس و سرلوپلاسمین خون، افزایش می‌یابد [۲۸ و ۲۷]. مس و روی نقش مهمی در واکنش‌های متفاوت بیوشیمیایی بدن دارند و کوفاکتور سوپراکسید دسموتاز هستند. این فلزات از شروع و پیشرفت بیماری‌های مختلف از طریق محافظت سلول در برابر موادی که موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شوند، جلوگیری می‌کنند. از طرفی افزایش مصرف زیاد روی در روز سبب کمبود مس می‌شود [۱۵]. منیزیم نیز کوفاکتور آنزیم آنتی اکسیدان کاتالاز است و همانند روی با افزایش دریافت اضافی آهن در جذب منیزیم نقصان ایجاد می‌شود. بنابراین دریافت دوز مناسب هر یک از عناصر معدنی در روز به عمل جذب و واکنش‌های متابولیکی بدن کمک می‌کند، در غیر این صورت اختلال در یک عنصر ممکن است باعث نقصان جذب عنصر دیگر شود [۲۹]. در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به دلیل عوارض کمتر و دارا بودن ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی همواره مورد توجه بوده است. در این مطالعه از عصاره هیدروالکلی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinals*) در سه دوز ۱۰۰، ۲۵۰ و۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات استفاده شد تا اثرات احتمالی آنتی‌اکسیدانی این گیاه بر عناصر مس، روی، آهن و منیزیم مورد بررسی قرار گیرد.

به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثر ترکیبات تانن و مواد تلخ (با سمیت کم و محدود) بیشتر نشان داده است. مصرف طولانی مدت بیش از ۱۵ گرم در روز مریم گلی در انسان دارای اثرات سمی با عوارض جانبی مانند سردرد، سرگیجه، افزایش ضربان قلب و تهوع می‌باشد. محققین این تاثیر سمی را به تانن، مواد تلخ و تویون موجود در گیاه مریم گلی نسبت داده‌اند [۳]. به نظر می‌رسد مصرف تویون وابسته به دوز است، بطوری که در دوزهای کمتر از ۱۵ گرم دارای خواص آنتی اکسیدانی و در دوزهای بالای ۱۵گرم دارای خواص سمی می‌باشد. این گیاه به صورت دم کرده می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر از عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی استفاده شده است. بنابر این یک احتمال آن است که با افزایش و یا کاهش هریک از عناصر معدنی در جذب عناصر دیگر نقصان ایجاد شده است و دیگر این که احتمالاً غلظت مواد فنلی این گیاه در عصاره هیدروالکلی بیشتر از عصاره آبی آن می‌باشد و از آنجایی که تویون نیز یکی از مواد فنلی موجود در این عصاره است ممکن است با غلظت بیشتری نسبت به عصاره آبی در آزمایشات ما اثر داشته باشد. در نتیجه بجای خواص آنتی‌اکسیدانی، خواص سمی این ماده و سایر موادی که احتمالا هنوز خواص سمی آنها در عصاره هیدروالکلی شناسایی نشده‌اند، مشاهده گردیده است.

Archive of SID

www.SID.ir

در نهایت مشخص شد که ممکن است عصاره هیدروالکلی (۸۰ درصد الکل،۲۰ درصد آب) گیاه مریم گلی با دوزهای مذکور بر عناصر فلزی خون اثرات مضر داشته باشد. پیشنهاد می‌گردد که در تحقیقات بعدی برای مشاهده خواص آنتی-اکسیدانی ترکیبات فنلی (ماده موثر تویون) گیاه مریم گلی از عصاره هیدروالکلی با درجه الکل کمتر و یا دوزهای پائین‌تر استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- ثنائی، غ. ۱۳۵۸. سم شناسی صنعتی. جلد۱، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، صفحه۲٤٥.

۲- زرگری، ع. ۱۳٦۹. گیاهان دارویی. جلدچهارم، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، صفحات ٥۹-٦٤.

۳- امیری زاده، م.، مهرزادی س. ۱۳۸۸، بررسی خواص دارویی اثرات سمی و گیاه مریم گلی. [همایش دانشجویی دکتری-کاربرد گیاهان دارویی در ایران]. دانشگاه داروسازی جندی شاپور اهواز.

4- Goldberg D.M., R.J. Spooner, H.U. Bergmeyer (1983), Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, 3: 258-286.

5- Guemouri L.A., B. Herberth (1991), Biological variability of super oxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical Chemistry*, 37: 1932-1937.

6- Rodrigues B., D. Poucheret (1999), Streptozotocin induced induction mechanism and dose dependency. In: Mc Neills JH .Experimental models of diabetes Boca Raton: CRC Press; P: 3-14.

7- Murray R.K., DK. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell (1996), Harper's Biochemistry, 24 th Edition, California; Appleton and Lange, pp: 592-593.

8- Anderson H.R., J.B. Nielsen, F. Nielsen (1997), Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*, 43: 562-568.

9- Gutteridge J.M.C. (1994), Antioxidants, nutritional Supplements and life threatening disease. *British Journal of Biomedical Science*, 51: 288-295.

10- Halliwell B. (1994), Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, case of consequence. *The lancet*, 344: 721-724.

11- Gutbrie H. (1986), Introductory Nutrition. 6th ed. USA: Mosby, 1986: 184-87.

12- Sulgueiro M.J., Marcela B.Z., Lysionek A.E., Caro R.A. , Well R., Boccio J.R. (2002), The role of zinc in the growth and development of children. *Nutrition Journal*, 18: 510-519.

13- Ali H., M. Ahmed, M. Ali (2007), Relationship of zinc concentrations in blood and seminal plasma with various semen parameters in infertile subjects. *Pakistan Journal of Medicine*, 23(1): 111-114.

14- Chrapil M. (1973), New aspects in biological role of zinc; a stabilizer of macromolecules and biological membrance. *Life Science*, 13(8):1041-1049.

15- Saner G., S.V. Baysal, E. Unuvar (2000), Serum zinc, copper levels and copper/zinc ratios in infants with sepsis syndrome.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Trace Elements and Experimental Medicine, 13: 265-270.

16- Gotz M.E., G. Kuning, P. Riederer, M.B. Youdim (1994), Oxidative stress: Free radical production in neural degeneration. pharmacol ther; 63: 37-122.

17- Chen O., K.L. Schalinska, R.S. Eisenstein (1997), Dietary Iron intake Modulates the activity of iron regulatory proteins and the abundance of ferritin and mitochondrial aconites in rat. *Journal of Nutrition*, 127: 238-248.

18- Niki E. (1991), Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54:119-124.

19- Durlach J., V. Durlach Bacp, Y. Rayssiguier, M. Bara, A. Guiet–Bara (1993), Magnesium and ageing. II. Clinical data: aetiological mechanisms and pathophysiological consequences of magnesium deficit in the elderly. *Magnes Research*, 6: 379-394.

20- Dickens B.F., W.B. Weglicki, Y.S. Li, T. Maki (1992), Magnesium deficiency in vitro enhances free radical – induced in tracellular oxidation and cytotoxicity in endothelial cells. *FEBS letter*, 311: 187-191.

21- Bremness L. (1994), Herbs. Dorling Kindersley, UK, 304 p.

22- Ortiz E.L. (1996), Encyclopedia of Herbs, spices and Flavouring. Dorling Kindersley ,UK, 288 P.

23- Piccaglia R., M. Marotti, V. Dellacecca (1997), Effect of planting density and harvest date on yield and chemical composition of sage oil. *Journal of Essential Oil Research*, 9: 187-191.

24- Carta C.M., D. Moretti, A.T. Peana (1996), Activity of oil salvia officinalis Botrytis cinerea. *Journal of Essential Oil Research*, 8: 399-404.

25- Katzung G. (2002), Basic and clinical pharmacology. eighth Edition MC-GrawHil.

26- Tietz N., N.V. Bhagavan, W. Caraway, B.Conn Rex, J. kachmar, E. Praden (1999), editors. Textbook of clinical chemistry. 4th ed; united state of America. Saunders Company.

27- Tennat J., M. Stansfield, S. Yamaji, S.K. Svai, P. Sharp (2002), Effects of copper on the expression of metal transporters in human intestinal caco – 2 cells. *FEBS Letter*, 527(1-3): 239-44.

28- Arredondo M., P. Munoz, C.V. Mura, M.T. Nunez (2003), A physiologically relevant apical cu^{1+} transporter of intestinal cells. *American Journal of Physiology and Cell Physiology*, 284: c1525-c1530.

29- Vicario P.P., R. Saperstein, A. Benn (1988), Role of divalent metals in the activation, and regulation of insulin receptor tyrosine kinase. *Biosystems*, 22: 55-66.

Archive of SID

www.SID.ir