

## بررسی اثر محافظت کبدی روتین در سمیت ناشی از تتراکلرید کربن و استامینوفن در رت

دکتر امیر ضیایی<sup>۱،۲</sup>، دکتر فرزانه زمان سلطانی<sup>۳\*</sup>، دکتر مرجان نصیری اصل<sup>۴</sup>، طیبه هادی گل<sup>۳</sup>، مریم قاسمی<sup>۳</sup>  
 گروه اندوکرینولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران. <sup>۲</sup>مرکز تحقیقات بیماری های متابولیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران. <sup>۳</sup>گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران. <sup>۴</sup>گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۳۱، تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۳

### Study of the Hepatoprotective Effects of Rutin on Acetaminophen and Carbon Tetrachloride -Induced Liver Injury in Rats

Ziaee A.<sup>1,2</sup>, Zamansoltani F.<sup>3\*</sup>, Nassiri-Asl M.<sup>4,2</sup>, Hadigol T.<sup>3</sup>, Ghasemi M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran. <sup>2</sup>Qazvin Metabolic Disease Research Centre, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran. <sup>3</sup>Department of Anatomy, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran. <sup>4</sup>Department of Pharmacology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Received: 21 June 2010, Accepted: 23 Apr. 2011

**Objectives:** Rutin (3, 3, 4, 5, 7-pentahydroxyflavone-3-rhamnoglucoside) is a nutrient, classified as a bioflavonoid. This study was carried out to determine the potential protective effect of rutin on acetaminophen and carbon tetrachloride (CCL<sub>4</sub>) induced liver injury. **Methods:** For ccl<sub>4</sub>, adult male Wistar rats were divided into 5 groups (n=7/group). Group 1 was treated by 1 mg/kg ccl<sub>4</sub>, twice a week. Group 2 received olive oil. Experimental groups (groups 3-5) received rutin at the doses of 10, 20 and 40 mg/kg respectively (i.p.) once a day plus ccl<sub>4</sub>. For the acetaminophen study, another 5 groups (n=7/group) were assessed. Group 1 treated by 300 mg/kg acetaminophen, twice a week. Group 2 received saline. Experimental groups (groups 3-5) received rutin at the doses of 10, 20 and 40 mg/kg respectively (i.p.) once a day plus acetaminophen. After 8 weeks, liver functions were assessed by serum biochemistry of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). Liver sections were stained with H&E for histopathological assessment. **Results:** Serum levels of ALT and AST were reduced significantly after 8 weeks treatment by rutin at the doses of 20 and 40 mg/kg (p<0.05). Reduction was more prominent at the dose of 20 mg/kg. Histopathological assessment was shown a reduction in liver damage at the doses of 20 and 40 mg/kg of rutin for acetaminophen and 20 mg/kg for ccl<sub>4</sub>. **Conclusion:** Results suggest a potential hepatoprotective activity for rutin. Antioxidant and free radical scavenging properties, which has been shown by previous studies, may account for most of the protective effect of rutin.

**Key words:** Rutin, Acetaminophen, Carbon tetrachloride, Liver, Hepatoprotective

**زمینه و هدف:** روتین یک ماده مغذی و یک بیوفلاونوئید می باشد. در این مطالعه، اثرات محافظتی بالقوه روتین در آسیب کبدی ایجاد شده توسط تتراکلرید کربن (CCL<sub>4</sub>) و استامینوفن بررسی شد. **روش ها:** برای تتراکلرید کربن، ۵ گروه ۷ تایی از رت های مذکر بالغ، بررسی شدند. یک گروه به مدت ۸ هفته (دو روز در هفته) ۱ mg/kg تتراکلرید کربن و گروه دوم روغن زیتون دریافت نمود. گروه سوم تا پنجم علاوه بر CCL<sub>4</sub> به ترتیب یکی از دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ mg/kg روتین دریافت کردند. برای استامینوفن، ۵ گروه ۷ تایی دیگر بررسی شدند. یک گروه به مدت ۸ هفته (دو روز در هفته) ۳۰۰ mg/kg استامینوفن و گروه دوم سالیین دریافت نمود. گروه سوم تا پنجم علاوه بر استامینوفن به ترتیب یکی از دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ mg/kg روتین دریافت نمود. عملکرد کبدی با سنجش آلانین ترانس آمیناز (ALT) و اسپاراتات ترانس آمیناز (AST) سرم بررسی شد. جهت بررسی هیستوپاتولوژیک، مقاطع بافتی رنگ آمیزی شدند. **یافته ها:** سطوح ALT و AST پس از ۸ هفته درمان با روتین در دوزهای ۲۰ و ۴۰ mg/kg به میزان معنی داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). این کاهش در گروه دریافت کننده دوز ۲۰ mg/kg بیشتر بود (P<۰/۰۱) بررسی هیستوپاتولوژیک نشان دهنده کاهش آسیب کبدی در دوزهای ۲۰ و ۴۰ mg/kg روتین در استامینوفن و دوز ۲۰ mg/kg روتین برای ccl<sub>4</sub> بود. **نتیجه گیری:** روتین بصورت بالقوه اثر محافظتی بر کبد دارد. خاصیت آنتی اکسیدانی و حذف رادیکال های آزاد که در مطالعات قبلی تایید شده، می تواند از عوامل احتمالی موثر در اثر محافظتی روتین باشد.

**واژه های کلیدی:** روتین، استامینوفن، تتراکلرید کربن، کبد، محافظت کبدی

\*Corresponding author: Farzaneh Zaman soltani, Assistant Professor of Anatomical Sciences Department, Medical School, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran. Postal Code: 34197-59811, Tel +98-281-3336001

\*نویسنده مسئول: فرزانه زمان سلطانی، استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران. کد پستی ۳۴۱۹۷-۵۹۸۱۱  
 E-Mail: zamansoltani@gmail.com، ۰۲۸۱-۳۳۳۶۰۰۱ تلفن

## ۱- مقدمه

چرب اشباع نشده در غشا سلولی شده و باعث آسیب غشا سلولی میشوند، در نتیجه ترکیباتی که خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و رادیکال های آزاد را از بین می برند، می توانند خاصیت محافظت کبدی داشته باشند (۱۲).

با توجه به اینکه بررسی اثر محافظت کبدی روتین در آسیبهای کبدی به صورت مزمن همراه با مطالعه تغییرات بافت شناختی در مسمومیت های کبدی ایجاد شده با استامینوفن و تتراکلرید کربن تا کنون مورد بررسی قرار نگرفته است، این مطالعه انجام شد.

## ۲- مواد و روش ها

## ۲-۱: بررسی اثر محافظت کبدی روتین در سمیت

## کبدی ایجاد شده با تتراکلرید کربن

۵ گروه ۷ تایی از رت های مذکر با وزن بین ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم (نژاد ویستار) خریداری شده از موسسه سرم سازی رازی کرج، مورد بررسی قرار گرفتند.

کلیه حیوانات در شرایط استاندارد از نظر درجه حرارت ( $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد)، رطوبت ( $50 \pm 5$  درصد)، ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی متناوب و دسترسی آزاد به آب و غذا نگه داری شدند.

یک گروه به مدت ۸ هفته (دو روز در هفته) مقدار  $mg/kg$  ۱ تتراکلرید کربن (خریداری شده از شرکت Merck) به صورت i.p. دریافت کرد. تتراکلرید کربن به نسبت مساوی در روغن زیتون حل شد (گروه  $CCl_4$ ).

گروه دوم به عنوان کنترل با همین الگو فقط روغن زیتون دریافت نمود. گروه سوم تا پنجم علاوه بر دریافت تتراکلرید کربن به ترتیب یکی از دوزهای  $mg/kg$  ۱۰، ۲۰ و ۴۰ روتین (تهیه شده از شرکت Sigma) به صورت i.p. دریافت کردند (CR10, CR20, CR40). تزریق روتین به صورت یکبار در روز انجام گرفت.

پس از هشت هفته از دهلیز قلب حیوانات پس از بیهوشی با کتامین ( $60 mg/kg$ ) و زایلازین ( $6 mg/kg$ ) که به صورت i.p. تزریق گردید، نمونه خون جمع آوری و جهت بررسی آنزیم های آسپاراتات ترانس آمیناز (AST) و آلانین ترانس آمیناز (ALT) به آزمایشگاه ارسال شد و با استفاده از کیت های آنالیز بیوشیمیایی (شرکت پارس آزمون، ایران) میزان آنها سنجیده شد. نمونه بافت کبد نیز جهت بررسی تغییرات بافت شناختی در فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت فیکس شده و سپس کلیه مراحل معمول آماده سازی بافت شامل آب گیری در الکل های صعودی و شفاف سازی در گزلیل را طی نمودند و در نهایت بلوک های

بیماری های مزمن کبدی یکی از مشکلات بزرگ سلامتی است که هزینه سنگینی را بر جهان متحمل می سازد. به طور مثال سیروز کبدی نهمین علت مرگ در کشورهای غربی است. بیماری های مزمن ویروسی مثل هپاتیت B و C، کبد الکلی، کبد چرب غیر الکلی و کارسینومای هپاتوسلولار بیماری های اصلی کبدی هستند و مسائل بسیاری در رابطه با آنها لاینحل باقی مانده است (۱).

روتین به عنوان یکی از فلاونوئید های اولیه در بسیاری از گیاهان موجود است (۲). بیشترین مقدار آن در گندم سیاه گزارش گردیده است (۳). روتین همچنین در گیاهانی چون گل ساعتی، چای سیاه، سیب، مارچوبه به مقدار فراوان وجود دارد (۴). در مورد روتین خواص بیولوژیکی بسیار زیادی گزارش گردیده که برای سلامت انسان مفید می باشد؛ این خواص شامل خواص آنتی اکسیدانی، محافظت کبدی و ضد التهابی می باشد (۵،۶).

همچنین روتین اثر مشابهی در حفاظت سلول ها در تخریب های ناشی از استرس اکسیدانی دارد. تخریب سلولهای قرمز خون به دنبال استرس اکسیدانی در نتیجه دو فرآیند رخ می دهد: یکی حمله رادیکال های آزاد به غشای سلولی و دیگری اکسیداسیون هموگلوبین.

تخریب غشای سلولی به واسطه فعالیت لیپید پروکسیداز بر روی لیپید موجود در غشای سلولی رخ می دهد. روتین با غیر فعال کردن لیپید پروکسیداز قادر به پیشگیری از تخریب سلولی است، اما این توانایی در مقایسه با کوارستین کمتر بوده است (۷). همچنین روتین از اکسیداسیون LDL پیشگیری کرده و بنابراین در پیشگیری از روند آترواسکلروز مفید می باشد (۸).

اخیراً برخی پژوهش ها به بررسی اثرات روتین بر سیستم عصبی مرکزی و سلول های عصبی پرداخته اند. آستروسیت ها و سلول های میکروگلیال با تولید، ترشح و فعال کردن فاکتورهای نوروتروفیک و نوروتوکسیک، نقش مهمی را در سیستم اعصاب مرکزی بازی می کنند. روتین قادر به افزایش تولید نیتریک اکساید و  $TNF-\alpha$  در سلولهای فوق الذکر در نمونه های کشت سلولی بوده است (۹). روتین با افزایش سروتونین و نورآدرنالین در شکافهای سیناپسی، قادر به ایجاد اثرات ضد افسردگی می باشد (۱۰). در مطالعات اخیر اثرات ضد تشنجی روتین نیز گزارش شده است (۱۱، ۴).

رادیکال های آزاد نظیر رادیکال سوپراکساید، هیدروکسیل، هیدروژن پراکسید و لیپید پراکسید در بیماری های کبدی نقش دارند. این رادیکال ها باعث پراکسیداسیون اسیدهای

بررسی قرار گرفت و آسیب بافتی و دژنراسیون هپاتوسلولر در آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. از کلیه لام ها، تصاویر میکروسکوپی با استفاده از دوربین Nikon-Coolpix 4500 تهیه گردید.

یافته های خام با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایجی که دارای  $P < 0/05$  بود به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

### ۳- نتایج

#### ۳-۱: نتایج مربوط به اثر روتین در سمیت کبدی ایجاد شده با تتراکلرید کربن

نتایج آزمون های آماری در مقایسه میانگین آنزیم AST سرم در گروه های مختلف، نشان دهنده تفاوت معنی دار سطح این آنزیم کلیه گروه ها در مقایسه با گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن بود. میزان این آنزیم در گروه کنترل بسیار پایین تر بود ( $P < 0/001$ ). در میان گروه هایی که همراه با تتراکلرید کربن روتین نیز دریافت کرده بودند، دوز  $20 \text{ mg/kg}$  بهترین اثر محافظتی را از خود نشان داد ( $P < 0/01$ ) (نمودار ۱).

در نمودار ۲، میانگین آنزیم ALT در گروه های مختلف با هم مقایسه شده است. نتایج نشان داد که سطح این آنزیم در گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن بسیار بالاتر از گروه کنترل می باشد ( $P < 0/001$ ). در میان گروه های دریافت کننده تتراکلرید کربن و روتین به طور همزمان، فقط در گروهی که دوز  $20 \text{ mg/kg}$  روتین دریافت نموده است، کاهش معنی دار سطح این آنزیم مشاهده شد ( $P < 0/05$ ).

در شکل ۲ نیز تغییرات بافت شناختی نشان دهنده بروز فیبروز گسترده در بافت کبد در کلیه گروه های دریافت کننده تتراکلرید کربن بود.

از میزان این آسیب های بافتی در گروه دریافت کننده دوز  $20 \text{ mg/kg}$  روتین به میزان قابل ملاحظه ای کاسته شد. با این حال مشاهدات میکروسکوپی وجود مقداری فیبروز و همچنین التهاب بافتی در این گروه را نشان داد.

پارافینی تهیه شد. با استفاده از یک میکروتوم دوار (Rotary) برش های  $5 \text{ میکرومتری}$  از این بلوک ها تهیه شد. لام های تهیه شده با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد. از هر نمونه  $5 \text{ لام}$  با میکروسکپ نوری مدل Zeiss مورد بررسی قرار گرفت و میزان و شدت آسیب بافتی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

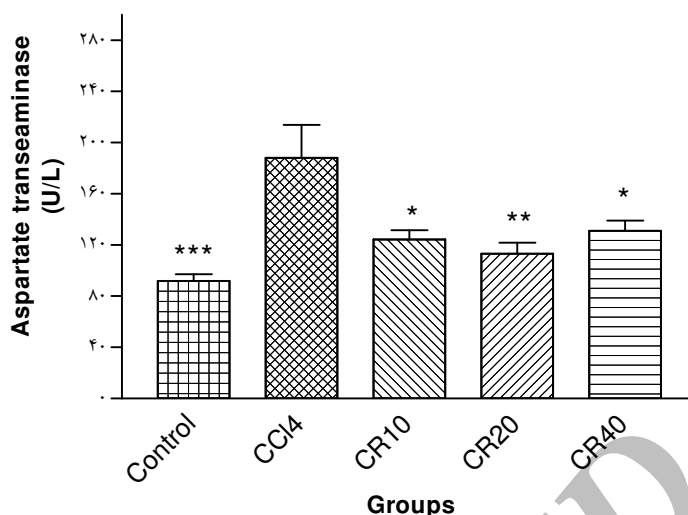
#### ۲-۲: بررسی اثر محافظت کبدی روتین در سمیت کبدی ایجاد شده با استامینوفن

از آنجایی که مقادیر مختلف از استامینوفن در منابع برای ایجاد نکروز هپاتوسولر کبدی مطرح شده است.

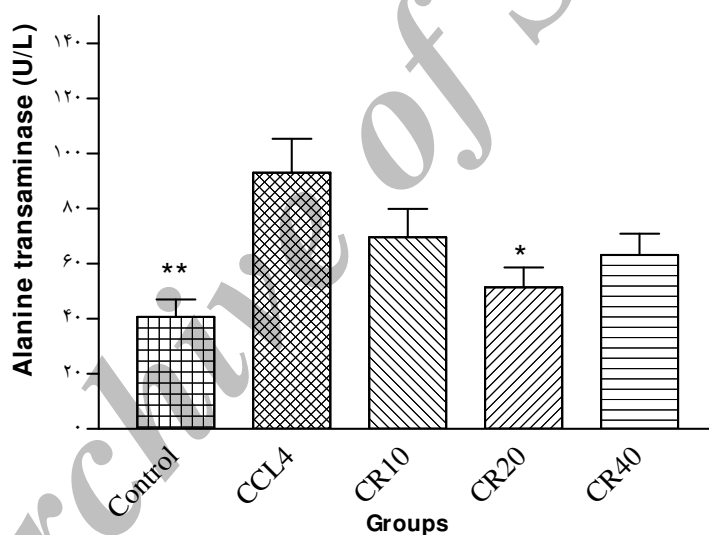
۵ گروه ۷ تایی از رت های مذکر با وزن بین  $100$  تا  $150$  گرم، از نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفتند. بگ گروه به مدت ۸ هفته (دو روز در هفته)  $300 \text{ mg/kg}$  استامینوفن محلول در سالین به صورت i.p. دریافت کردند (گروه A). گروه دوم به عنوان کنترل با همین الگو فقط سالین دریافت نمود. گروه سوم تا پنجم علاوه بر دریافت استامینوفن به ترتیب یکی از دوزهای  $10$ ،  $20$  و  $40 \text{ mg/kg}$  روتین به صورت i.p. دریافت نمود (AR10, AR20, AR40). تزریق روتین به صورت یکبار در روز انجام گرفت.

پس از هشت هفته ازدهلیز قلب حیوانات پس از بیهوشی با کتامین ( $60 \text{ mg/kg}$ ) و زایلازین ( $6 \text{ mg/kg}$ ) که به صورت i.p. تزریق گردید، نمونه خون جمع آوری و جهت بررسی آنزیم های AST و ALT به آزمایشگاه ارسال شد و با استفاده از کیت های آنالیز بیوشیمیایی (شرکت پارس آزمون، ایران) میزان آنها سنجیده شد. نمونه بافت کبد نیز جهت بررسی تغییرات بافت شناختی در فرمالین  $10\%$  در مدت  $48$  ساعت فیکس شده و سپس کلیه مراحل آب گیری در الکل های صعودی و شفاف سازی در گزلیل را طی نمود و در نهایت بلوک های پارافینی تهیه شد.

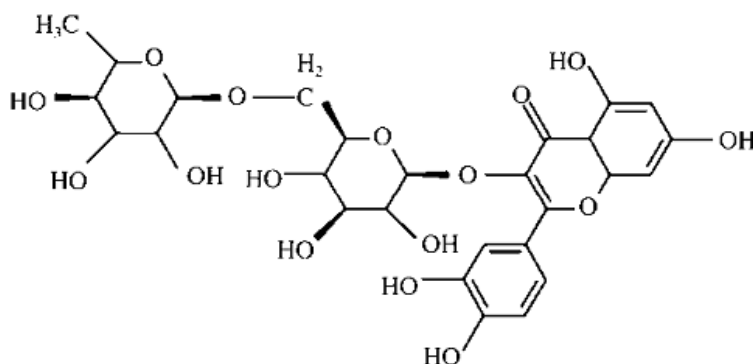
با استفاده از یک میکروتوم دوار (Rotary) برش های  $5 \text{ میکرومتری}$  از این بلوک ها تهیه شد. لام های بدست آمده از این بلوک ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد. از هر نمونه  $5 \text{ لام}$  با میکروسکپ نوری مدل Zeiss مورد



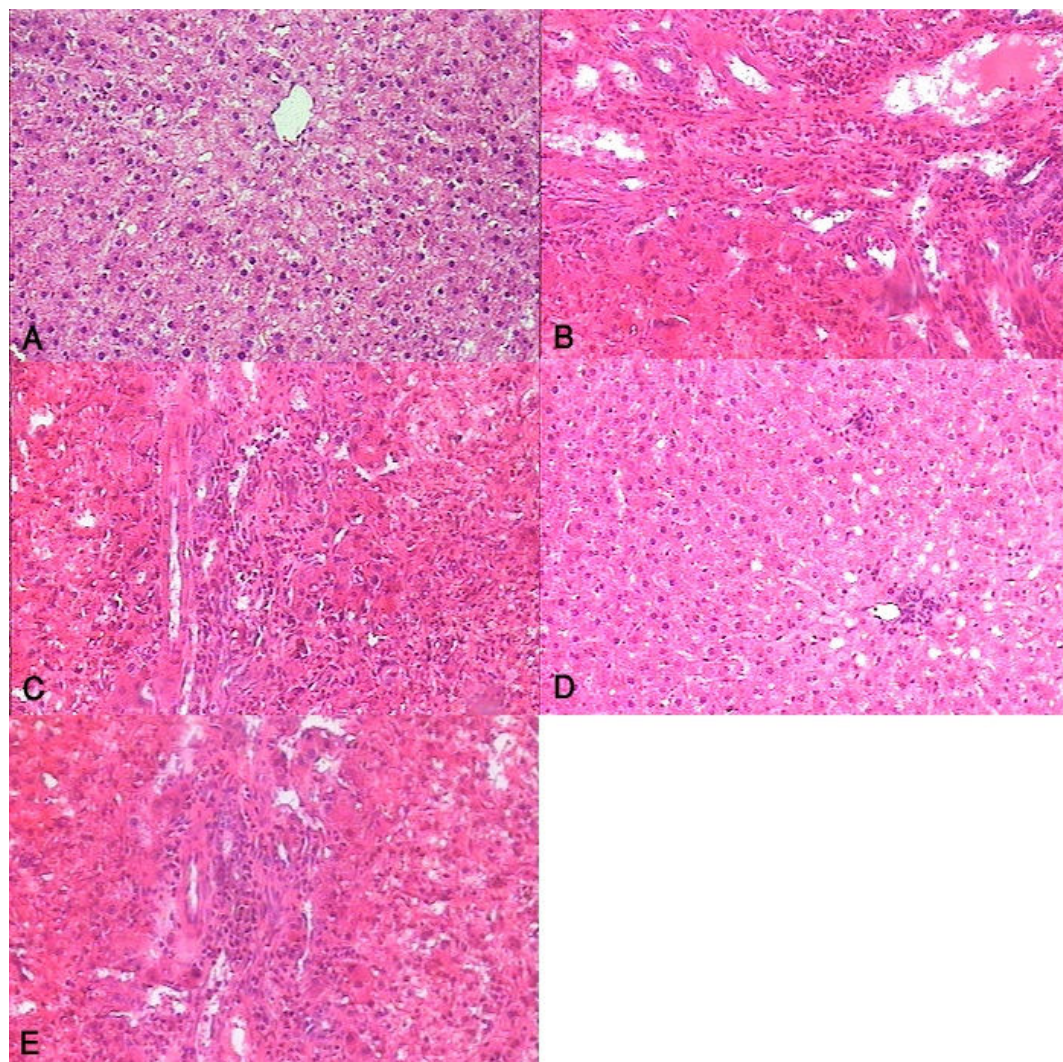
نمودار ۱. مقایسه میانگین آنزیم AST سرم در گروه های مختلف مورد بررسی. تفاوت معنی دار بین کلیه گروه ها در مقایسه با گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن مشاهده می شود. ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )



نمودار ۲. مقایسه میانگین آنزیم ALT سرم در گروه های مختلف مورد بررسی. میزان این آنزیم در گروه کنترل در مقایسه با گروه دریافت کننده ccl4 بسیار کمتر است. سطح آنزیم در گروه دریافت کننده ccl4 و روتین با دوز ۲۰ mg/kg (CR20) به میزان معنی داری در مقایسه با گروه دریافت کننده ccl4 به تنهایی کاهش نشان می دهد. ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )



شکل ۱. ساختار شیمیایی روتین



شکل ۲. مقاطع بافت کبد رنگ آمیزی شده با H&E. بافت طبیعی کبد در گروه کنترل (A)، فیروز، نکروز و التهاب گسترده در گروه تتراکلرید کربن (B) مشاهده می شود. بهبودی در گروه های روتین ۱۰ mg/kg (C) و ۴۰ mg/kg (E) مشاهده نمی شود. ولی از شدت ضایعات در گروه روتین ۲۰ mg/kg به مقدار قابل توجهی کاسته شده است (D). بزرگنمایی ۱۶۰×

### ۳-۲: نتایج مربوط به اثر روتین در سمیت کبدی ایجاد شده با استامینوفن

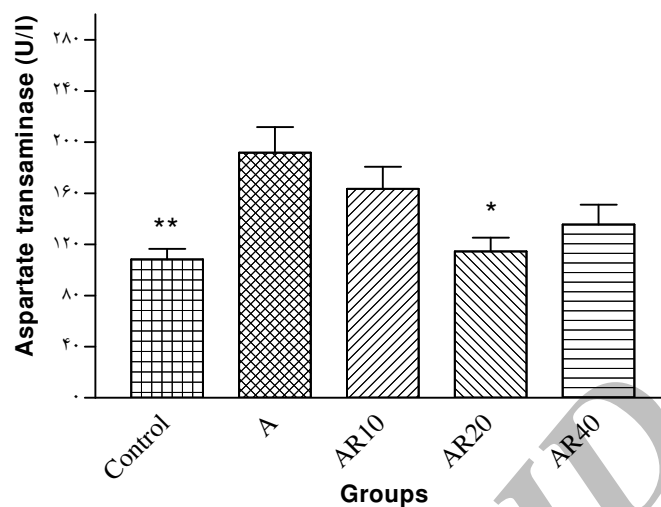
گروه دریافت کننده استامینوفن بسیار بالاتر از گروه کنترل می باشد ( $P < 0/001$ ). در میان گروه های دریافت کننده استامینوفن و روتین به طور همزمان، در دو گروهی که دوزهای ۲۰ mg/kg و ۴۰ mg/kg روتین را دریافت نموده بودند، کاهش معنی دار سطح این آنزیم مشاهده شد ( $P < 0/01$ ).

در شکل ۳ نیز تغییرات بافت شناختی نشان دهنده بروز نکروز گسترده در بافت کبد در کلیه گروه های دریافت کننده استامینوفن بود. از میزان این آسیب های بافتی در گروه های دریافت کننده دوز ۲۰ و ۴۰ mg/kg روتین به میزان قابل ملاحظه ای کاسته شد.

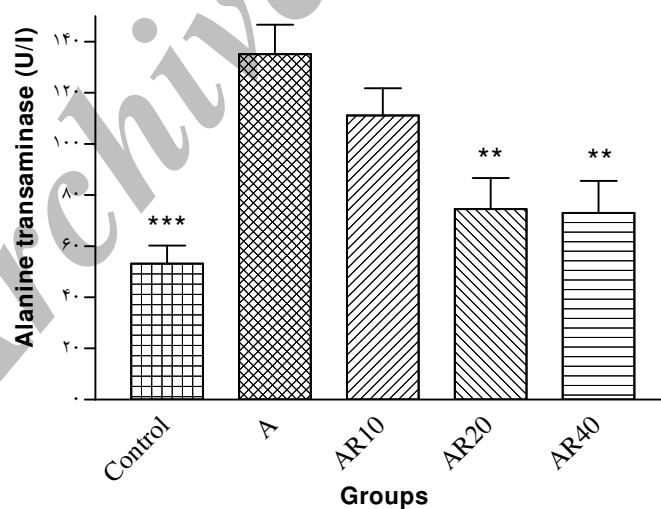
نتایج آزمون های آماری در مقایسه میانگین آنزیم AST سرم در گروه های مختلف، نشان دهنده تفاوت معنی دار سطح این آنزیم کلیه گروه ها در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن بود. میزان این آنزیم در گروه کنترل بسیار پایین تر بود ( $P < 0/01$ ).

در میان گروه هایی که همراه با استامینوفن روتین نیز دریافت کرده بودند، دوز ۲۰ mg/kg بهترین اثر محافظتی را از خود نشان داد ( $P < 0/05$ ) (نمودار ۳).

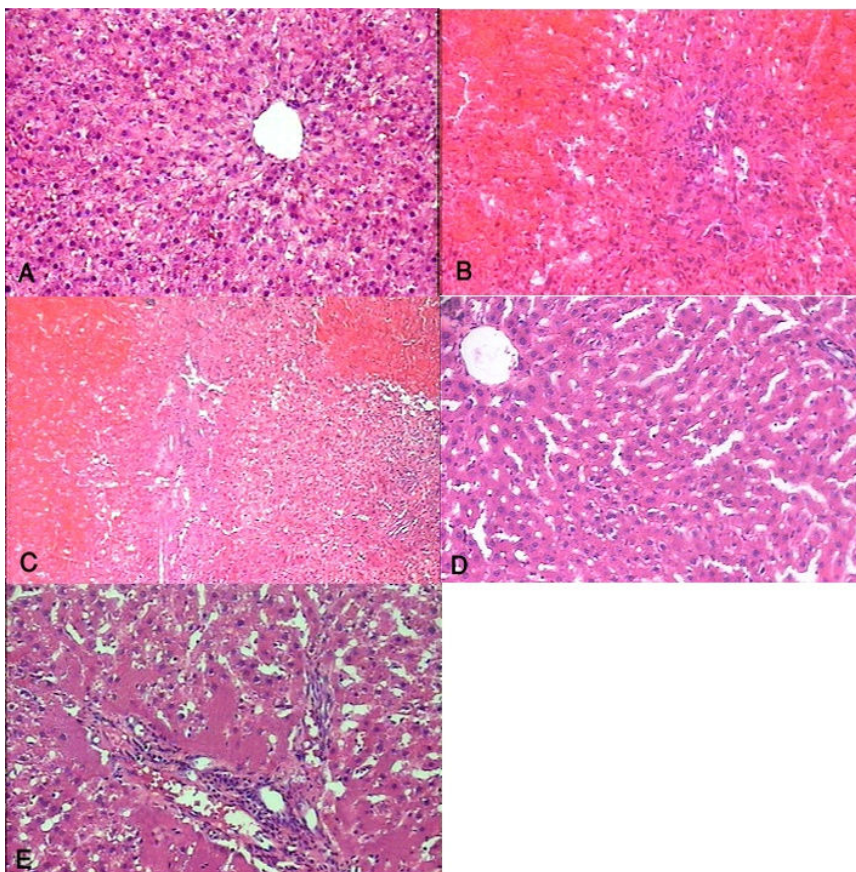
در نمودار ۴، میانگین آنزیم ALT در گروه های مختلف با هم مقایسه شده است. نتایج نشان داد که سطح این آنزیم در



نمودار ۳. مقایسه میانگین آنزیم AST سرم در گروه های مختلف مورد بررسی. میزان این آنزیم در گروه کنترل در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن بسیار کمتر است. سطح آنزیم در گروه دریافت کننده استامینوفن و روتین با دوز ۲۰ mg/kg (AR20) به میزان معنی داری در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن به تنهایی کاهش نشان می دهد. ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) (\*\*)



نمودار ۴. مقایسه میانگین آنزیم ALT سرم در گروه های مختلف مورد بررسی. میزان این آنزیم در گروه کنترل در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن بسیار کمتر است. سطح آنزیم در گروه دریافت کننده استامینوفن و روتین با دوز ۲۰ mg/kg (AR20) و ۴۰ mg/kg (AR40) به میزان معنی داری در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن به تنهایی کاهش نشان می دهد. ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) (\*\*\*)



شکل ۳. مقاطع بافت کبد رنگ آمیزی شده با H&E بافت طبیعی کبد در گروه کنترل (A)، نکروز و التهاب گسترده در گروه استامینوفن (B) مشاهده می شود. بهبودی در گروه روتین ۱۰ mg/kg (C) مشاهده نمی شود. ولی از شدت ضایعات در گروه روتین ۲۰ mg/kg (D) و ۴۰ mg/kg (E) به مقدار قابل توجهی کاسته شده است. بزرگنمایی ۱۶۰×

#### ۴- بحث

پروتئین های کبدی واکنش می دهد و باعث نکروز کبدی می شود. نقش انواع اکسیژن فعال در ایجاد سمیت کبدی در بسیاری از تحقیقات قبلی نشان داده شده است (۱۳).

سمیت  $CCl_4$  ناشی از دهالوژنه شدن آن به وسیله سیستم آنزیمی سیتوکروم P450 می باشد که آن را به یک رادیکال آزاد تری کلرومتیل که بشدت فعال است، تبدیل می کند (۱۴). آنزیم P450E1 بزرگترین عامل درگیر در سمیت زای  $CCl_4$  می باشد (۱۵). علاوه بر این شواهد نشان می دهند که سمیت ناشی از تترا کلرید کربن می تواند گونه های اکسیژن و نیتروژن فعال با منشاء درونی را فعال نماید. این گونه ها در ایجاد سمیت کبدی نقش مهمی دارند (۱۶). گزارشات اخیر نشان داده اند که در کبد رت هایی که  $CCl_4$  دریافت کرده اند و دچار آزار کبدی شده اند، میزان تولید نیتریک اکساید بسیار بالا بوده است (۱۸)، (۱۷). در این گزارشات iNOS به عنوان میانجی ایجاد سمیت کبدی شناخته شده است (۱۸، ۱۹).

روتین اثر محافظتی بر سلولها در تخریب های ناشی از استرس اکسیدانی دارد. تخریب سلولها به دنبال استرس اکسیدانی در نتیجه دو فرآیند رخ می دهد: یکی حمله

در این مطالعه اثر محافظت کبدی روتین در آسیب کبدی مزمن ایجاد شده به واسطه استامینوفن و تتراکلرید کربن بررسی شد. نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان دهنده کاهش سطح آنزیم های کبدی AST و ALT در گروههایی است که همزمان با دریافت استامینوفن یا تتراکلرید کربن، روتین نیز دریافت می کردند. همچنین نتایج نشان دهنده کاهش میزان نکروز و فیروز بافتی ناشی از مصرف استامینوفن و تتراکلریدکربن با تجویز همزمان روتین می باشد. با توجه به این یافته ها به نظر می رسد که روتین در سمیت ناشی از تتراکلرید کربن و استامینوفن نقش محافظت کبدی داشته باشد.

سمیت کبدی استامینوفن به علت تغییر شکل آن توسط سیستم سیتوکروم P450 در کبد به متابولیت فعالی به نام ان- استیل- بنزوکینون میباشد. این متابولیت به صورت طبیعی با کونژوگه شدن به گلوتاتیون اثر سمی خود را از دست می دهد. ولی در موارد مصرف دوزهای بسیار بالای استامینوفن میزان متابولیت فعال آن به قدری زیاد می شود که ذخیره گلوتاتیون موجود نمی تواند پاسخگوی تمام آن بوده و در نتیجه به جای گلوتاتیون با گروه های سولفیدریل

مواد هپاتوتوکسیک شناخته شده ای نظیر تتراکلرید کربن و استامینوفن می کاهد. استفاده از روتین علاوه بر بهبودی شاخص های عملکرد کبدی و کاهش سطح آنزیم های کبدی AST و ALT از میزان نکروز و سایر آسیب های بافت شناختی ایجاد شده توسط این مواد نیز می کاهد. این نتایج نشان می دهد که روتین بصورت بالقوه اثر محافظتی بر کبد دارد. خاصیت آنتی اکسیدانی روتین و حذف رادیکال های آزاد توسط آن می تواند از مهمترین عوامل موثر در اثر محافظتی آن باشد.

## ۶- تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات بیماری های متابولیک دانشگاه علوم پزشکی قزوین می باشد و بدینوسیله نویسندگان مقاله از حمایت مالی این مرکز در انجام این طرح تشکر می کنند.

## References:

1. Stickel F., Schuppan D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases, *Digestive and Liver Disease*, 2007, 39: 293-304.
2. Kim K.H., Lee K.W., Kim D.Y., Park H.H., Kwon I.B., Lee H.J. Optimal recovery of high-purity rutin crystals from the whole plant of *Fagopyrum esculentum* Moench (buckwheat) by extraction, fractionation, and recrystallization, *Bioresour Technol.*, 2005, 96: 1709-12.
3. Holasova M, Fiedlerova V, Smrcinova H, Orsak M, Lachman J., Vavreinova S. Buckwheat-the source of antioxidant activity in functional foods, *Food Res. Int.*, 2002, 35: 207-11.
4. Nassiri Asl M., Zamansoltani F., Shariati-Rad S. The possible role of GABA<sub>A</sub>-benzodiazepine receptor for anticonvulsant effects of Pasipay in rats, *Chin J. Altern Med.*, 2008, 6 (11): 1170-3.
5. Gao Z., Xu H., Chen X., Chen H. Antioxidant status and mineral contents in tissues of rutin and baicalin fed rats, *Life Sci* 2003, 73: 1599-607.
6. Morikawa K., Nonaka M., Narahara M., Torii I., Kawaguchi K., Yoshikawa T., et al. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats, *Life Sci.*, 2003, 74: 709-21.
7. Lopez-Revuelta A., Sánchez-Gallego J., Hernández-Hernández A., Sánchez-Yagüe J., Llanillo M. Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress, *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 161: 79-91.
8. Katsube T., Imawaka N., Kawano Y., Yamazaki Y., Shiwaku K, Yamane Y. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity, *Food Chemistry* 2006, 97: 25-31.
9. Garcia R. Stress, synaptic plasticity, and psychopathology, *Rev Neurosci.*, 2002, 13: 195-208.
10. Machado D.G., Bettio L.E., Cunha M.P., Santo A.R., Pizzolatti MG, Brighente Im et al. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems, *Eur. J. Pharmacol.*, 2008, 587: 163-8.

رادیکالهای آزاد به غشای سلولی و دیگری اکسیداسیون هموگلوبین. تخریب غشای سلولی به واسطه فعالیت لیپید پروکسیداز بر روی لیپید موجود در غشای سلولی رخ می دهد. روتین با غیر فعال کردن لیپید پروکسیداز قادر به پیشگیری از تخریب سلولی است (۷). نتایج بدست آمده در مطالعه انجام شده توسط Janbaz و همکاران در مورد کاهش سطح آنزیم های کبدی AST و ALT با نتایج بررسی ما همخوانی دارد. در مطالعه آنها که به بررسی اثر محافظت کبدی روتین بر آسیب کبدی حاد ایجاد شده توسط یک دوز واحد از تتراکلریدکربن و استامینوفن پرداخته شده بود، مطالعات بافت شناختی انجام نشد (۲۰).

## ۵- نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می دهد که تجویز روتین از میزان آسیب کبدی ایجاد شده در نتیجه استفاده از

11. Nassiri-Asl M., Shariati-Rad S., Zamansoltani F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats, *Prog. Neuro-Psychopharmacol., Biol. Psychiat.*, 2008, 32: 989-93.
12. Pradhan SC., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine, *Indian J. Med. Res.*, 2006, 124: 491-504.
13. Aniya Y., Yokomakura T., Yonamine M., Nagamine T., Nakanishi H. Prtective effect of the mold monacus anka against acetaminophen induced liver toxicity in rats, *Jpn. J. Pharmacol.* 1998; 78:79-82.
14. Lee TY, Mai LM, Wang GJ, Chiu JH, Lin YL, Lin HC. Protective mechanism of *Salvia miltiorrhiza* on carbon tetrachloride-Induced acute hepatotoxicity in rats. *J Pharmacol. Sci.*, 2003, 91: 202-10.
15. Wong F.W., Chan W.Y., Lee S.S. Resistance to carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice which lack CYP2E1 content, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1998, 153: 109 118.
16. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 1999, Oxford University Press, Inc, New York.
17. Zhu W. Fung P.C. The roles played by crucial free radicals like lipid free radicals, nitric oxide, and enzymes NOS and NADPH in CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury of mice, *Free Radical Biol. Med.*, 2000, 29: 870-80.
18. Al-Shabanah O.A., Alam K, Nagi MN, Al-Rikabi A.C. and Al-Bekairi A.M. Protective effect of aminoguanidine, a nitric oxide synthase inhibitor, against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice., *Life Sci.*, 2000, 66: 265-70.
19. Gardner C.R., Heck D.E., Yang C.S., Thomas P.E., Zhang X.J., DeGeorge G.L., Laskin J.D., Laskin D.L. Role of nitric oxide in acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat, *Hepatology*, 1998, 27: 748-54.
20. Janbaz K.H., Saeed S.A., Gilani A.H. Protective effect of rutin on pracetamol- and CCL<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in rodents, *Fitoterapia*, 2002, 73: 557-563.