Archive of SID

پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، صفحات ۸۷ تا ۹۲

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی اثرمحافظتی عصاره برگ درخت گردو(*Juglans regia L.*) در مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی نر بالغ

دکتر اکرم عیدی*[۱]، سمیه علمافر[۲]، دکتر جلال زرین‌قلم[۳]، دکتر شمسعلی رضازاده[۴]، دکتر مریم عیدی[۵]

[۱] دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی
[۲] کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی
[۳] استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی
[۴] استادیار، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی
[۵] دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی

چکیده

سابقه و هدف: *نه تنها دانه خشک درخت گردو، بلکه میوه سبز گردو، پوسته گوشت‌دار، پوست درخت، پوست سبز میوه و برگ‌های آن در صنایع آرایشی و دارویی کاربرد دارند. در تحقیق حاضر، اثر محافظتی عصاره اتانولی برگ گردو در مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *در این تحقیق تجربی، ۳۶ موش صحرایی نر بالغ در ۶ گروه در مدت ۲۸ روز به صورت خوراکی با دوزهای مختلف عصاره برگ گردو (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) روزانه تیمار شدند و هم‌زمان تتراکلریدکربن (۵۰٪ به نسبت ۱:۱ رقیق شده با روغن زیتون، ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی) را دو بار در هفته دریافت نمودند. سپس سطوح آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و پروتئین تام در سرم اندازه‌گیری گردید و با آزمون ANOVA مورد قضاوت آماری قرار گرفت.*

یافته‌ها: *تیمار تتراکلریدکربن سبب افزایش سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در موش‌ها گردید ($p<۰/۰۱$). تیمار با عصاره اتانولی برگ گردو موجب میزان کاهش شاخص‌های فوق گردید ($p<۰/۰۱$).*

نتیجه‌گیری: *عصاره الکلی برگ گردو می‌تواند کبد را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن محافظت نماید و این اثر حفاظتی کبدی احتمالا در برطرف نمودن تغییرات ایجاد شده در آنزیم‌های سمیت‌زدا و آنتی‌اکسیدان و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد مؤثر است.*

واژگان کلیدی: *گردو، Juglans regia L.، تتراکلریدکربن، سمیت کبدی، محافظت کبدی، موش صحرایی.*

مقدمه

کبد بزرگ‌ترین اندام بدن است که حدود ۵-۳ درصد توده بدن را تشکیل می‌دهد. کبد به دو لوب اصلی چپ و راست تقسیم می‌شود و دو لوب ضمیمه (مربعی، دمی) نیز دارد. یکی از مهم‌ترین اعمال کبد علاوه بر سوخت و ساز مواد مختلف، سم‌زدایی مواد آلوده کننده محیطی و داروهای شیمیایی می‌باشد (۱). در اکثر موارد در طی عمل سم‌زدایی، فعال‌سازی متابولیکی توسط آنزیم‌های سیتوکروم P_{450} میکروزوم‌های کبدی باعث ایجاد متابولیت‌های سمی و فعال می‌شود که این می‌تواند موجب آسیب بافت‌های مختلف از جمله کبد شود (۲). تیواستامید، تتراکلریدکربن، اتانول و استامینوفن از جمله موادی هستند که بعد از ورود به بدن توسط آنزیم‌های سیستم سم‌زدایی سیتوکروم

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، دکتر اکرم عیدی (**e-mail:** eidi@srbiau.ac.ir)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۹/۸
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۵/۱۷

www.SID.ir

Archive of SID

P_{450} متابولیزه می‌شوند (۳). رادیکال‌های آزاد، اتم یا مولکول‌های فعالی هستند که به دلیل وضعیت آخرین لایهٔ اتمی آنها میل ترکیبی شدیدی با سایرمولکول‌های اطراف خود دارند و در صورت عدم جلوگیری از فعالیت ترکیبی آنها می‌توانند منجر به تخریب بافتی و بروز اختلالاتی نظیر بیماری‌های قلبی و سرطان شوند (۵،۴).

یکی از مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد شروع پراکسیداسیون لیپیدها است که موجب آسیب غشای سلول می‌شود. اسیدهای چرب از اجزای اصلی غشای بیولوژیکی می‌باشند که به عنوان قالب‌های ساختمانی برای اجزای مهم تشکیل‌دهنده غشا مانند فسفولیپیدها، گلیکولیپیدها و تری‌آسیل‌گلیسریدها می‌باشند. اسیدهای چرب به ویژه خواص مطلوبی در سیالیت غشا دارند، اما این مولکول‌های غیراشباع منجر به کاهش سیالیت غشا و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن می‌شوند. این رادیکال‌ها می‌توانند با آلکیله کردن گروه‌های پروتئینی و دیگر ماکرومولکول‌های سلولی و به همان نسبت حمله به اسیدهای چرب اشباع نشده منجر به تولید لیپید پراکسیداز شوند که این منجر به صدمات کبدی می‌گردد. نکروز کبدی منجر به افزایش سطح سرمی آنزیم‌های شاخص شده که از کبد به خون آزاد می‌شوند. افزایش سطح آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و بیلی‌روبین به طور قراردادی نشانگر صدمات کبدی است(۸-۶). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش حیاتی و مهمی را در حفظ هومئوستازی سلول بازی می‌کنند. سیستم آنتی‌اکسیدانی بسیاری از موجودات دربردارنده آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسیددسموتاز (Superoxide dismutase , SOD)، کاتالاز (Catalase ,CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (Gluthatione peroxidase ,GPX) و گلوتاتیون ردوکتاز (Glutathione reductase ,GR) هستند که به عنوان خنثی کننده اشکال اکسیژنی عمل می‌کنند (۱،۹).

بسیاری از ترکیبات گیاهی از جمله پلی‌فنل‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (۵). ترکیبات پلی‌فنلی خصوصا فلاونوئیدها اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی و رادیکال‌های آزاد دارند (۱۰، ۱۱).

برگ گردو به طور گسترده در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مزمن استفاده می‌گردد. همچنین دارای خاصیت ضدسرطانی، تصفیه کنندگی خون و آنتی‌اکسیدانی است. برگ گردو دارای دو گروه عمده ترکیب‌های فنلی کافئوئیلوینیک اسید و کوماروئیلکوینیک اسید می‌باشد. مهم‌ترین فلاونوئیدهای موجود در برگ گردو ژوگلون، کوئرستین گالاکتوزید، مشتق‌های کوئرستین پنتوزید، کوئرستین آرابینوزید، کوئرستین گزیلوزید، کوئرستین رامنوزید و مشتق‌های کامپفرول پنتوزید می‌باشند (۱۲، ۱۳). تتراکلریدکربن (CCl_4) حلالی است که در شیمی و صنعت کاربرد دارد و به عنوان ماده سمی برای کبد محسوب می‌گردد. در طی متابولیسم تتراکلریدکربن دو ترکیب سمی شامل تری‌کلرومتیل (CCl_3) و پراکسی‌تتراکلرومتیل (OOCCl3) تولید می‌شوند که صدمات حاد کبدی از جمله سیروز و نکروز را منجر می‌شوند (۱۴). حالا سئوال این است که آیا واقعا عصاره برگ گردو، خاصیت محافظتی در مسمومیت کبدی دارد یا خیر؟ در تحقیق حاضر اثر عصاره الکلی برگ گردو بر درمان مسمومیت کبدی القا شده توسط تتراکلریدکربن (CCl_4) در موش‌های صحرایی نر بالغ بررسی گردید.

مواد و روشها

تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. تعداد ۳۶ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در اتاق حیوانات با درجه حرارت کنترل ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و آب و غذای کافی همواره در دسترس آن‌ها قرار داشت.

تمامی مراحل آزمایش برای تمامی گروه‌های مورد بررسی در شرایط کاملاً یکسان انجام پذیرفت. لازم به ذکراست که تمامی مراحل آزمایش با رعایت کامل موازین اخلاقی انجام گرفت.

حیوانات، تتراکلریدکربن ۵۰ درصد (به نسبت ۱:۱ رقیق شده با روغن زیتون) را به میزان ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن دو بار در هفته (شنبه و چهارشنبه) طی ۲۸ روز به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند.

عصاره برگ گردو روزانه به صورت خوراکی از طریق لوله intragastric (درون معده‌ای) تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر و مدت زمان تیمار، ۲۸ روز بود. حیوانات به ۶ گروه تقسیم شدند که هر گروه شامل ۶ سر بود.

گروه ۱: حیوانات سالم که روغن زیتون را به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر دوبار در هفته به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند. همچنین روزانه ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت خوراکی (درون معده‌ای) به آنها خورانده شد.

گروه ۲: حیوانات مسموم شاهد که تتراکلریدکربن ۵۰ درصد (با نسبت ۱:۱ رقیق شده با روغن زیتون) را به میزان ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن به مدت دوبار در هفته و به صورت درون

www.SID.ir

Archive of SID

صفاقی دریافت کردند. همچنین روزانه ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت خوراکی (درون معده‌ای) به آنها خورانده شد.

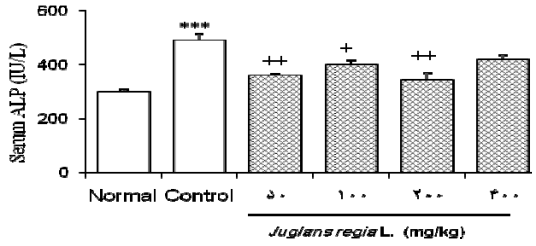
گروه‌های ۶-۳: حیوانات مسموم تجربی که تتراکلریدکربن ۵۰ درصد به میزان ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن، دو بار در هفته به صورت درون صفاقی به آنها تزریق شد. حیوانات به ترتیب عصاره الکلی برگ گردو را با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، روزانه و به صورت خوراکی دریافت نمودند.

۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار موش‌ها توسط اتر بیهوش شده و خون‌گیری از قلب آنها (بطن) انجام گرفت. خون جمع‌آوری شده به مدت ۲۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیده و سرم آنها جدا شد. فعالیت آمینوترانسفرازهای سرمی شامل آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و همچنین آلکالین فسفاتاز و پروتئین تام توسط کیت‌های تجاری مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج بدست آمده از این تحقیق توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) بررسی گردید.

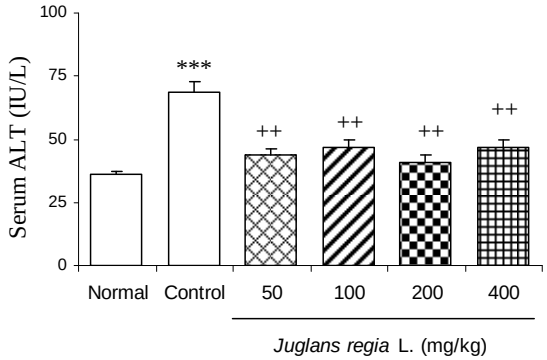
یافته‌ها

تحقیق روی تعداد ۳۶ موش در ۶ گروه انجام گرفت. میزان آنزیم ALP بر حسب گروه‌های مورد مطالعه در نمودار ۱ ارائه گردیده و نشان می‌دهد که میزان آنزیم ALP سرمی به صورت معنی‌داری در موش‌های گروه شاهد (مسموم شده با تتراکلریدکربن) در مقایسه با گروه سالم افزایش یافته است. تجویز همزمان عصاره الکلی برگ گردو در گروه‌هایی با مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به صورت معنی‌داری ($p<0/05$) موجب کاهش سطح سرمی آنزیم ALP، نسبت به گروه کنترل گردید.



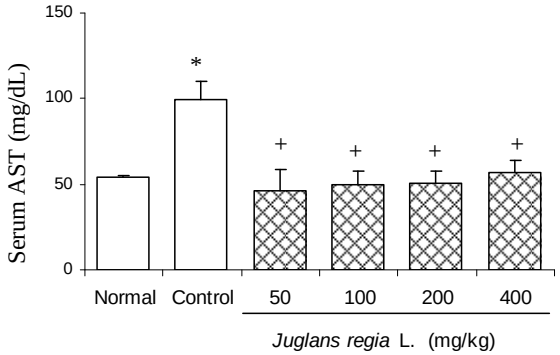
نمودار ۱- میزان آنزیم ALP در ۳۶ موش مسموم بر حسب گروه‌های مورد مطالعه. *** $p<0/001$ اختلاف از گروه شاهد سالم را نشان می‌دهد. + $p<0/05$ اختلاف از گروه شاهد مسموم را نشان می‌دهد. ++ $p<0/01$ اختلاف از گروه شاهد مسموم را نشان می‌دهد.

میزان ALT بر حسب گروه‌های مورد مطالعه در نمودار ۲ ارائه شده و نشان می‌دهد که تیمار با تتراکلریدکربن به صورت معنی‌داری سطح آنزیم ALT سرمی موش‌های گروه شاهد را در مقایسه با گروه سالم افزایش می‌دهد. تیمار با عصاره الکلی برگ گردو در گروه‌هایی با مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به صورت معنی‌داری ($p<0/05$) سبب کاهش سطح سرمی آنزیم ALT نسبت به گروه شاهد گردید.



نمودار ۲- میزان ALT در ۳۶ موش مسموم بر حسب گروه‌های مورد مطالعه. *** $p<0/05$ اختلاف از گروه شاهد سالم را نشان می‌دهد. ++ $p<0/05$ اختلاف از گروه شاهد مسموم را نشان می‌دهد.

میزان آنزیم AST بر حسب گروه‌های مورد مطالعه در نمودار ۳ ارائه گردیده و نشان می دهد که میزان آنزیمAST سرمی به صورت معنی‌داری در موش‌های گروه شاهد، در مقایسه با گروه سالم افزایش یافته است. تیمار با عصاره الکلی برگ گردو با مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت معنی‌داری ($p<0/05$) سبب کاهش سطح سرمی آنزیم AST نسبت به گروه شاهد شد.

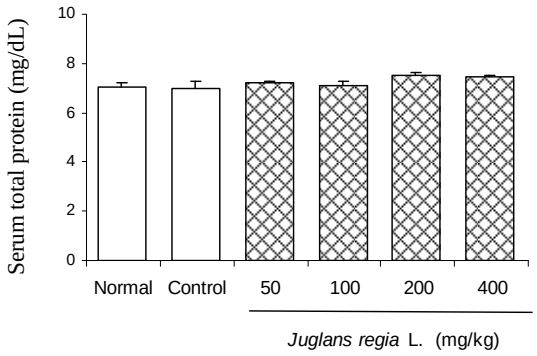


نمودار ۳- میزان AST در ۳۶ موش مسموم بر حسب گروه‌های مورد مطالعه. * $p<0/05$ اختلاف از گروه شاهد سالم را نشان می‌دهد. + $p<0/05$ اختلاف از گروه شاهد مسموم را نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

میزان پروتئین تام موش‌های مورد مطالعه بر حسب مقادیر مختلف عصاره برگ درخت گردو در نمودار ۴ ارائه شده است. سطح پروتئین تام سرم بین گروه شاهد و سالم و مقادیر مختلف عصاره برگ درخت گردو تقریبا مشابه بود و اختلاف کم بین آنها به لحاظ آماری معنی دار نبود ($p<۰/۶$).



نمودار ۴- میزان پروتئین تام در ۳۶ موش مسموم بر حسب گروه‌های مورد مطالعه.

بحث

بیماری‌های کبدی از مشکلات جهانی می‌باشند. داروهای شیمیایی مورد استفاده برای درمان این بیماری‌ها اغلب دارای عوارض جانبی هستند (۱۴). بنابراین، تحقیق برای یافتن داروهای مناسب گیاهی که بتوان جایگزین داروهای مورد استفاده در حال حاضر شوند، لازم و ضروری می‌باشد.

گیاهان بسیاری در درمان مسمومیت و بیماری‌های کبدی در طب سنتی مورد استفاده بوده‌اند که بسیاری از آنها حاوی ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوییدها می‌باشند (۱۴، ۱۵). گیاهان دارویی به دلیل سهولت دسترسی، عوارض جانبی کمتر، سمیت اندک و قیمت ارزان به عنوان جایگزین‌های شیمیایی همواره مورد توجه بوده‌اند (۱۴).

با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که CCl_4 قادر به تخریب سلول‌های کبدی است. محققین علت سمیت را شکسته شدن پیوند بین کربن – کلر دانسته که به دنبال آن رادیکال آزاد تری‌کلرومتیل ایجاد می‌شود. این رادیکال بسیار ناپایدار بوده و به سرعتً با ترکیبات غشای سلول واکنش می‌دهد و همچنین با اسیدهای چرب غیراشباع متصل می‌شود و یا یک اتم هیدروژن را از لیپیدهای غشا جدا می‌کند و تولید یک لیپید رادیکالی و کلروفرم می‌کند. لیپیدهای رادیکالی با مولکول اکسیژن واکنش می‌دهد و درنتیجه فسفولیپیدهای موجود در رتیکولوم اندوپلاسمیک تجزیه شده و باعث آزاد شدن آنزیم‌ها می‌شود و در نهایت این واکنش منجر به مرگ سلول و نکروز سلولی می‌گردد (۱۵، ۱۶).

نتایج تحقیق نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی تتراکلریدکربن مدل مسمومیت کبدی مناسبی ایجاد می‌کند، به طوری که میزان آنزیم‌های شاخص کبدی به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش می‌یابند. از آن جایی که این آنزیم‌ها درون سلولی هستند و درمواردی که آسیب سلولی رخ دهد به سرم وارد می‌شوند، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تتراکلریدکربن موجب آسیب سلول‌های کبدی شده است. قابل ذکر است که آنزیم های ALT و AST در میتوکندری قرار دارند (۱۷،۱۶).

Badrish Soni و همکارانش در سال ۲۰۰۸ مسمومیت کبدی توسط تتراکلرید کربن را اثبات کردند و به نتایج مشابه با تحقیق حاضر دست یافتند. آنها طی مطالعات خود با مسموم کردن موش‌های صحرایی با CCl_4 با دوز ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن (داخل صفاقی) دو بار در هفته در طی مدت ۲۸ روز به افزایش آنزیم‌های ALT، AST و ALP دست یافتند (۱۶).

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره بسیاری از گیاهان از جمله خارمریم، کاسنی، شیرین بیان، همیشه بهار و شاه‌تره اثبات شده است (۱۸). برخی عصاره‌های خام گیاهی مورد استفاده در طب سنتی، منبعی غنی از ترکیباتی با خواص پیشگیری کننده و حفاظت کننده به ویژه در کبد هستند (۱۴). Hinneburg و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از سبزی‌ها و ادویه‌ها (ریحان، برگ‌بو، جعفری، سروکوهی، تخم بادیان، رازیانه، زیره سبز، هل وزنجبیل) را بررسی کردند و گزارش نمودند که عصاره ریحان قدرت آنتی‌اکسیدانی قابل مقایسه تورولوکس (معادل ویتامینE) دارد (۱۸). این نتایج را می‌توان به برگ گردو نیز تعمیم داد، زیرا خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریال آن گزارش شده است.

برگ گردو غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیرترکیب‌های فنلی است. اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها دوگروه عمده ترکیب‌های فنلی موجود در برگ گردو می‌باشند. مهم‌ترین اسیدهای فنلی برگ گردو، کافئوئیلکوینیک اسید، کلروژنیک اسید و مهم‌ترین فلاونوئید آن کوئرستین است (۱۹،۱۲). Denyer و Stewart در سال ۱۹۹۸ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گردو را در جاروب نمودن رادیکال‌های آزاد با استفاده از ß- نفتوکینون غیراشباع اندازه‌گیری نموده و نشان دادند که برگ گردو فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد (۲۰). Wilms در سال ۲۰۰۵ گزارش کرد که در برگ گردو مقدار فراوانی کوئرستین وجود دارد. کوئرستین یکی از فلاونوئیدهاست که از آسیب ناشی از

www.SID.ir

Archive of SID

مواد شیمیایی در لنفوسیت‌های انسان محافظت می‌کند و توان آنتی‌اکسیدانی پلاسما را افزایش می‌دهد و سبب پایداری ژنومی در موش‌هایی با سیروز کبدی می‌شود. همچنین ترکیبات فلاونوئیدی برگ گردو سبب محافظت سلول از طریق جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد می‌گردد و از آسیب DNA و موتاسیون آن جلوگیری می‌کند (۱۳).

در مطالعه حاضر مشخص گردید که تیمار با عصاره پلی‌فنلی برگ گردو موجب حفاظت سلول‌های کبدی در برابر اثرات اکسیدانی CCl_4 می‌شود. احتمالاً این اثر به واسطه وجود ترکیبات فلاونوئیدی خصوصا کوئرستین می‌باشد.به نظر می‌رسد حضور دو گروه هیدروکسیل (OH) مجاور هم باعث افزایش قدرت احیاکنندگی و در نتیجه افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در کوئرستین شده است (۱۹، ۲۱).

این ترکیبات همچنین به واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی قادر به خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد موجود در محیط شده و جلوگیری از اثرات مخرب آنها می‌شود. ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدها، همچنین می‌توانند سلول را در برابر تخلیه گلوتاتیون احیاء، با افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (گلوتاتیون،گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسید و کاتالاز) محافظت نمایند (۲۳،۱۴).

از نتایج تحقیق حاضر نتیجه‌گیری می‌شود که تیمار با عصاره الکلی برگ گردو سبب کاهش فعالیت سرمی آنزیم‌های ALT ، AST و ALP می‌گردد. احتمالاً ترکیب کوئرستین با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی آن می‌تواند از تخریب بافت کبد توسط تتراکلریدکربن جلوگیری کرده و اثر محافظت کبدی خود را اعمال کند.

قدردانی و تشکر

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی واحد علوم وتحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی به دلیل حمایت مالی و ارائه امکانات وتجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد سپاسگزاری می‌گردد.

REFERENCES

1. Amad A, Pillari KK, Najimi AK, Pal SN. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. J Ethnopharmacol 2002; 79: 35-41.
2. Mitra SK, Venkataranganna MV, Sundaram R, Gopumadhavan S. Protective effect of HD-03, a herbal formulatin, against various hepato toxic agents in rats. J Ethnopharmacol 1998; 63: 181-86.
3. Columbano GM, Coni P, Curto M. Induction of tow different models of cell death, Apoptosis and necrosis in rat liver after a single dose of thioacetamide. Am J Pathol 1991; 139: 1099-109.
4. Bruck R, Shirin H, Aeed H, Matas Z. Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers. J Hepatol 2001; 35: 457-64.
5. Chen JW, Zhu ZQ, Hu TX, Zhu DY. Structure activity relationship of natural flavonoids in hydroxyl radical-scavenging effects. Acta Pharmacol Sin 2002; 23: 667-72.
6. Catherine A, Evans R, Nicholas JM, Geoge P. Structure antioxidante activity relationships of flavoniods and phenolic acids. Free Radic Biol Med 1996; 20: 933-56.
7. Chattopadahyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of Azadirachta indica leaf extract: Part II. J Ethnopharmacol 2003; 62: 31-39.
8. Buettener GR The pecking order of free radicals and antioxidant: lipid peroxidation, alpha– tocopheral and ascorbat. Arch Biophysic 1993; 300: 535-43.
9. Aquino R, Morelli S, Lauro MR, Abdo S, Saija A, Tomaino A. Phenolic constituents and antioxidant activity of an extract of Anthurium versicolor leaves. J Nat Prod 2001; 64: 1019-23.
10. Areias FM, Valentao P, Andrade PB, Ferreres F, Seabra RM. Phenolic fingerprint of peppermint leaves. Food Chem 2001; 73: 307-11.
11. Carreon JP, Iimenez GC, Vega JI. Genotoxic and antigenotoxic properties of Calendula officinalis extract in rat liver cell cultures tread with diethy initrosamin. Toxicol in vitro 2002; 16: 235-58.
12. Anderson KJ, Teuber SS, Gobeille A, Cremin P, Waterhouse AL, Steinberg FM. Walnut polyphenolics inhibit *in vitro* human plasma and LDL oxidation. J Nutr 2001; 131: 2837-42.
13. Wilms LC, Hollman PC, Boots AW, Kleinjans JC. Protection by quercetin and quercetin-rich fruit juice against induction of oxidative DNA damage and formation of BPDE-DNA adducts in human lymphocytes. Mutat Res 2005; 582: 155-62.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Janbaz K.H, Saeed S, Gilani A.H. Protective effect of rutin on Paracetamol and CCl_4- induced hepatotoxicity in rodents. Fitoterapia 2002; 73: 557-64.

15. Ahmed B, Alam T, Varshney M. Hepatoprotective of two plants belonging to the *Apiaceae* and the *Euphorbiaceae* family. J Ethnopharmacol 2005; 79: 313-6.

16. Badrish S, Nishant P. Ameliorative action of cyanobacterial phycoerythrin on CCl_4- induced toxicity in rats. Toxicol 2008; 248: 59-65.

17. Shiota G, Tsuchiya H, Hoshikawa Y. The liver as a target organ of retinoids. Hepatol Res 2006; 36: 248-54.

18. Hinneburg I, Damien Dorman HJ, Hiltunen R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chem 2006; 97: 122-29.

19. Cos P, Rajan P, Vedernikova I, Calomme M, Pietres L, Vlietinck AJ, et al. In vitro antioxidant profile of phenolic acid derivatives. Free Radic Res 2002; 36: 711-16.

20. Denyer SP, Stewart GSAB. Mechanisms of action of disinfectants. Int Biodeterior Biodegradation 1998; 41: 261-68.

21. Amaral JS, Seabra RS, Andrade PB, Valentao P, Pereira JA, Ferreres F. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. Food Chem 2004; 88: 373-79.

22. Ajith TA, Hema U, Aswathy MS. *Zingiber officinale Roscoe* prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. Food Chem Toxicol 2007; 45: 2267-72.

23. Chu Y, Sun J, Wu X, Liu RH. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. J Agric Food Chem 2002; 50: 6910-16.

www.SID.ir