مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۵، شماره ۱ / فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۲/ ۱۱۳-۱۰۳

مقاله پژوهشی

اثر مصرف خوراکی طولانی مدت عصاره آبی سیر بر تغییرات بافتی، پارامترهای خونی و آنزیمی موش های صحرایی نر

دکتر عبدالرسول نامجو[1]*، دکتر اسفندیار حیدریان[2]، دکتر محمود رفیعیان کوپایی[3]، دکتر محسن جعفریان دهکردی[1]

گروه پاتولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [2] مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. [3] مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۲ اصلاح نهایی: ۹۱/۸/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۳۰

چکیده:

زمینه و هدف: **سیر از قدیمی ترین گیاهانی است که به عنوان داروی گیاهی در درمان بیماری ها استفاده می شود. هدف از این مطالعه بررسی اثرات مزمن خوراکی عصاره سیر برتعدادی از پارامترهای بیوشیمیایی خون، پارامترهای خونی و تاثیرات پاتولوژیک آن بر بافت های کبد و کلیه موش های صحرایی نر بود.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی مداخله ای تعداد ۱۸ سر موش صحرایی نر در سه گروه شش تایی تقسیم شدند. به گروه اول، تحت عنوان گروه کنترل، آب مقطر و به گروه های دوم و سوم به ترتیب عصاره سیر با دوز ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴۰ روز به صورت خوراکی داده شد. در پایان دوره مطالعه حیوانات بیهوش و نمونه خون جهت مطالعات خون شناسی و فعالیت های آنزیمی و نمونه های بافت های کبد و کلیه برای بررسی آسیب های بافتی جمع آوری شدند. داده ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی دانکن در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند.**

یافته ها: **عصاره سیر تغییری در فعالیت سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، نیتروژن اوره خون، کراتینین، کراتین فسفوکیناز، لاکتات دهیدروژناز و شاخصه های هماتولوژیک نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد ($P>0/05$). یافته های میکروسکوپیک در گروه تیمار عصاره سیر با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تخریب گلومرول ها به همراه دژنراسیون توبول های کلیه و ریخته شدن پرزها بداخل لومن، دژنراسیون و نکروز هپاتوسیت ها و تراوش سلول های تک هسته ای در ناحیه فضای پورت را نشان داد.**

نتیجه گیری: **نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف سیر با دوز زیاد باعث تغییرات مورفولوژیک گلبول های قرمز خون، نفروتوکسیسیتی و هپاتوتوکسیسیتی می شود. بنابراین در انجام پروژه های تحقیقاتی می بایستی دوزهای مناسب سیر بصورت پایلوت تعیین شوند.**

واژه های کلیدی: سیر، شاخص های هماتولوژیک، کلیه، کبد، هیستوپاتولوژی.

مقدمه:

سیر با نام علمی *Allium Sativum* یکی از مهم ترین گونه های خانواده Alliaceae می باشد (۲،۱). سیر یک گیاه پیازدار است که پیاز آن دارای طعم، مزه و بوی تند مشخصی می باشد (۴-۲). بیش از ۵۰۰۰ سال است که سیر جهت مصارف غذایی، دارویی و مذهبی مورد استفاده قرار گرفته است (۵). امروزه اشکال دارویی سیر به شکل قرص، کپسول، شربت و روغـــن موجود می باشند (۶،۵). از مهم ترین خواص آن می‌توان به خاصیت ضد میکروبی، ضدترومبوزی، ضد سرطانی، ضد فشارخون، پادزهر مسمومیت با فلزات سنگین، تعدیل کننده سیستم ایمنی، محافظت کننده کبد، ضد آرتریت، کاهنده چربی و قند خون اشاره کرد (۸-۶). مهم‌ترین ترکیب شیمیایی سیر تازه، اسیدآمینه آلین می باشد، که یک آلکیل مشتق شده از

*نویسنده مسئول: شهرکرد ، رحمتیه،دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، گروه پاتولوژی، تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۶۱۰۶۰، E-mail: ar.namjo72 @iaushk.ac.ir

www.SID.ir

سولفوکسید سیستئین است و ۲ تا ۰/۲ درصد از وزن سیر را به خوداختصاص می دهد. سیر در اثر له شدن، جویدن، برش و یا عصاره گیری آنزیم آلیناز موجود در آن آزاد و به سرعت باعث لیز شدن آلین و تبدیل آن به یک سولفنیک اسید به نام آلیسین یا دی آلیل تیوسولفینات می شود. سیر حاوی حداقل ۱۰۰ نوع ترکیب سولفوردار است، که ۷۰ تا ۸۰ درصد از آنها را آلیسین تشکیل داده است. سایر ترکیبات سولفوردار مهم موجود در سیر آلیل متیل تیوسولفونات، ۱پروپینیل آلیل تیوسولفونات و گاما- ال-گلوتامیل-اس-آلکیل-ال-سیستئین می باشند (۹). اخیراً فعالیت های زیستی دیگر ترکیبات سولفور دار مشتق شده از سیر نظیر اس-آلیل-ال-سیستئین و اس-آلیل مرکاپتو-ال-سیستئین مورد توجه قرار گرفته‌اند، چرا که این ترکیبات پایدار و بدون بو هستند (۵). یکی دیگر از ترکیبات سولفوردار که در سیر تازه حضور دارد، گاما-گلوتامیل سیستئین است که پس از هیدرولیز شدن و اکسید شدن به آلین تبدیل می شود. اس آلیل سیستئین و اس پروپیل سیستئین در مسمومیت کبدی ناشی از استامینوفن دارای نقش محافظت کنندگی هستند (۱۰).

مصرف سیر سیاه فراوری شده فعالیت کاتالاز را افزایش می دهد (۱۱). مطالعات بر روی مدل های انسانی نشان داده است که مصرف طولانی و منظم پودر سیر با دوز ۳۰۰ میلی گرم در روز موجب محافظت سلول‌های آندوتلیال از آسیب های اکسیداتیو می شود. همچنین مصرف پودر سیر به مقدار ۸۰۰ میلی گرم در روز به مدت ۱۲ هفته در بیماران با انسداد سرخرگ محیطی درجه دو موثر بوده و کاهش معنی داری را در ویسکوزیته پلاسما نشان می دهد (۹). مطالعات بر روی موش های صحرایی نشان داده که مصرف طولانی مدت سیر همگون موجب محافظت قلب آنها از آسیب ایسکمی آزمایشگاهی و استرس اکسیداتیو القا شده توسط دوز منفرد آدریامایسین (Adriamycin) می شود (۹).

از عوارض جانبی سیر می توان به اختـــلالات معده و روده (نظیر سوء هضم، حالت تهوع، استفراغ و اسهال)، واکنش های ازدیاد حساسیت (تنگی نفس، التهاب تماسی پوست) و اختلالات انعقادی خون اشاره نمود (۱۲). هر چند خواص درمانی عصاره سیر مورد بررسی قرار گرفته است اما بر اساس اطلاعات موجود تاکنون بررسی هایی بر روی تغییرات مورفولوژیک گلبول های قرمز و تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد و کلیه در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش های صحرایی نر به عنوان مدل انسانی انجام نشده است. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثرات خوراکی عصاره سیر در دوزهای بالا بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون، پارامترهای خونی و تاثیرات پاتولوژیک آن بر دو ارگان حیاتی، کبد و کلیه موش های صحرایی نر طراحی و اجرا شد.

روش بررسی:

سیر (*Allium Sativum*) مورد استفاده در این مطالعه (سیر معروف همدان) از فروشگاه های میوه و تره بار (شهرکرد، ایران) تهیه گردید. برای آماده سازی آب سیر، حبه های سیر تازه به دقت پوست گرفته و شسته شدند، سپس با استفاده از اسکالپل به قطعات کوچک تر تقسیم شدند. ۱۰۰ گرم سیر تازه با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و در دستگاه مخلوط کن قرار داده شد تا مخلوط یکنواخت شیری رنگی به دست آید، سپس این مخلوط بمدت ۴۸ ساعت در محیط آزمایشگاه نگهداری و پس از آن از پارچه های صافی گذشته و آب سیر حاصل در ظروف شیشه ای آزمایشگاهی پهن تمیز ریخته (۱۳) و درانکوباتور با دمای ۳۸ درجه سانتیگراد قرار داده شد، تا آب همراه آن تبخیر شود و ماده جامد در کف ظروف پهن باقی بماند، و در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مورد استفاده قرار گیرد.

در این مطالعه تجربی با توجه به مطالعات مشابه در هر گروه از ۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۱۴) با وزن تقریبی ۲۰ ± ۲۱۰ گرم استفاده شد.

Archive of SID
www.SID.ir

حیوانات از انستیتوپاستور اهواز تهیه و در محل پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد درشرایط استاندارد (دمای۲ ± ۲۳ درجه سانتیگراد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) به صورت سه تایی در قفس های پلی کربنه نگهداری شدند. تغذیه توسط غذای پلت شده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام شد. بعد از یک هفته برای سازگاری با شرایط محیط، موش‌های صحرایی با ترازوی دیجیتال با دقت ۰۱/ گرم توزین، نشانه گذاری و به صورت تصادفی در سه گروه مساوی ۶ تایی تقسیم شدند. گروه یک (کنترل) آب مقطر، گروه دو و گروه سه به ترتیب دوز ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره دریافت کردند. برای این منظور عصاره آبی سیر بصورت روزانه با گاواژ در حجم های ۵ میلی لیتری بازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴۰ روز راس ساعت ۱۲ تا ۱۳ بعد از ظهر خورانده شد. تمام دستورالعمل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستورات کمیته اخلاق و مقررات محلی دانشگاه انجام گرفت. ۱۲ ساعت بعد از آخرین مصرف عصاره سیر و خارج ساختن غذا از دسترس آنها، موش های صحرایی با کلروفرم بیهوش و پس از باز کردن حفره صدری، خونگیری از قلب انجام شد. خون در داخل لوله های حاوی ماده ضد انعقاد اتیلین دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) و لوله های فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شد و سرم و پلاسما توسط سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد (۱۵). نمونه های بافتی کبد و کلیه جهت مطالعات آسیب شناسی در داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. مطابق روش‌های معمول بافت شناسی بلوک های پارافینی تهیه و پس از برش های با ضخامت ۵ میکرون با میکروتوم به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (۱۶).

آزمایشات هماتولوژیک شامل شمارش گلبول‌های قرمز (RBC)، شمارش گلبول‌های سفید (WBC)، میزان هموگلوبین خون (Hb)، درصد هماتوکریت (PCV) حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) توسط دستگاه سل کانتر Sysmex مدل KX21 (ساخت کشور ژاپن) پس از کالیبره نمودن با هموگلوبین موش صحرایی استاندارد انجام شد .میزان هماتوکریت به وسیله دستگاه سانتریفوژ پارس آزما ساخت ایران با دور۱۲۰۰۰، به مدت ۵ دقیقه اندازه گیری شد. تهیه گسترش خون و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا جهت تفریق سلول‌های سفید و بررسی مورفولوژیک گویچه های قرمز خونی با استفاده از میکروسکوپ Olympus مدل CX31 ساخت کشور فیلیپین انجام شد (۱۶،۱۵). سنجش فعالیت سرمی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) کراتینین، اوره و اسید اوریک، کراتین – فسفوکیناز (CPK)، لاکتات- دهیدروژناز (LDH) توسط دستگاه اتوآنالایزر مدل BT-3000 ساخت شرکت بیوتکنیکا کشور ایتالیا، با استفاده از کیت های پارس آزمون صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون های کلموگروف – اسمیرنوف، آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون تعقیبی دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ توسط نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت.

یافته ها:

دامنه تغییرات پارامترهای خونی بین گروه های کنترل و تیمار نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های مختلف بود (P>۰/۰۵) (جداول شماره ۱ و ۲). بررسی میکروسکوپیک مورفولوژیک سلول های خونی موش های صحرایی تحت درمان با عصاره آبی سیر در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن در رنگ آمیزی گیمسا شامل پلی کرومازی، آنیزوسیتوز، کاریولیزیز، بور سل و آکانتوسیت بود، که با افزایش دوز مصرفی عصاره سیر تغییرات مورفولوژیک از شدت بیشتری برخوردار بود (تصویر شماره ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره آبی سیر بر تعدادی از شاخص های بیوشیمیایی سرم موش های صحرایی نر نتایج نشان می‌دهد که آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و کراتین- فسفوکیناز به دنبال مصرف عصاره سیر نسبت به گروه کنترل کاهش اندکی یافته است اما این کاهش معنی دار نبوده است (P>۰/۰۵)، همچنین مصرف عصاره سیر با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش اوره، کراتینین و لاکتات دهیدروژناز نسبت به گروه کنترل شده که این افزایش معنی دار نبود (P>۰/۰۵). از طرفی تاثیر مصرف عصاره سیر بر تمام پارامترهای آنزیمی وابسته به دوز نمی باشد (جدول شماره ۳).

در بررسی میکروسکوپیک بافت کبد گروه کنترل، لبول های واضح و هپاتوسیت هایی که بطور منظم و شعاعی به اطراف کشیده شده بودند قابل مشاهده بود. در بین هپاتوسیت‌های کبد، سینوزوئیدهای کبد قرار داشتند و ماکروفاژهای کبدی بصورت هسته کشیده در دیواره سینوزوئیدها مشاهده شد. سلول های کبدی بصورت چند ضلعی با هسته وزیکولار، هستک مشخص و سیتوپلاسم صورتی رنگ قرار گرفته بودند (تصویر شماره ۲-A). ساختار و نظم هپاتوسیت های کبد در گروه عصاره سیر با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن تا حدی بهم ریخته بود. تعدادی از هپاتوسیت های اطراف ناحیه پورتال هسته متراکم و بازوفیلیک و سیتوپلاسم به شدت ائوزینوفیلیک و سینوزوئیدها بصورت نامنظم در بین سلول های کبدی مشاهده شدند. در ورید مرکز کبدی و ورید ناحیه پورت پرخونی دیده شد (تصویر شماره ۲-B). کلیه گروه کنترل، جسمک مالپیگی که خود از کلافه مویرگی و از اطراف توسط کپسول بومن که از سلول‌های سنگفرشی با هسته واضح پوشیده می شوند مشاهده شد. در اطراف کپسول بومن لوله های پیچیده نزدیک با اپی تلیوم مکعبی و حاشیه مسواکی، لوله پیچیده دور با اپی تلیوم مکعبی و هسته های نزدیک و لوله های جمع کننده با اپی تلیوم مکعبی نمایان بود(تصویر شماره ۳-A). مصرف عصاره آبی سیر با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث تغییرات دژتراسیون، تخریب و تغییر شکل گلومرول و لوله های پیچیده نزدیک و دور و ریخته شدن پرزهای حاشیه مسواکی لوله های پیچیده نزدیک به داخل لومن شده بود (تصویر شماره ۳-B). مصرف عصاره سیر با دوز ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن تغییرات مورفولوژیک خاصی در ساختار کبد و کلیه ایجاد نکرده بود.

جدول شماره ۱: مقایسه برخی شاخص های خونی در گروه کنترل و عصاره آبی سیر در موش های صحرایی نر

متغیرها / گروه ها	شمارش تام گلبول های قرمز (میلیون در میکرولیتر)	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر	هماتوکریت (درصد)	حجم متوسط سلولی (فمنولیتر)	هموگلوبین متوسط سلولی (پیکوگرم)	غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (گرم در دسی لیتر)	تعداد پلاکت ها (هزار در میلی لیتر)
کنترل	۸/۹۴ ± ۰/۷۸	۱۵/۲۵ ± ۰/۹۱	۵۱/۵۶ ± ۳/۴۸	۵۷/۷۶ ±۲/۷۵	۱۷/۰۸ ±۰/۷۵	۳۰/۶۶ ± ۳/۳۸	۷۷۹/۰۰ ±۱۶۷/۴۰
عصاره آبی سیر با دوز ۵۰۰mg/kg در روز	۸/۹۲ ± ۰/۵۶	۱۴/۶۶ ± ۰/۸۹	۴۹/۸۳ ± ۳/۹۳	۵۵/۸۵±۱/۹۵	۱۶/۴۵ ±۰/۵۵	۲۹/۴۶ ± ۰/۹۵	۷۶۹/۵۰± ۱۶۴ /۵۰
عصاره آبی سیر با دوز ۱۰۰۰mg/kg در روز	۸/۸۵ ± ۰/۹۰	۱۵/۱۷ ± ۱/۴۹	۵۰/۷۶ ± ۶/۲۲	۵۷/۳۰ ±۲/۳۱	۱۷/۱۷ ±۰/۸۱	۲۹/۹۶ ± ۰/۸۹	۷۹۰/۵۰ ±۱۲۸/۸۵

مقادیر به صورت "میانگین ± انحراف معیار" می باشند. تعداد نمونه های هر گروه = ٦، مدت مصرف عصاره ٤٠ روز بوده است. اختلاف آماری معنی داری در سطح ۰/۰۵ در مقایسه گروه ها با یکدیگر مشاهده نشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین گلبول‌های سفید و لکوسیت‌های شاخص در گروه های مختلف آزمایشی در موش های صحرایی نر

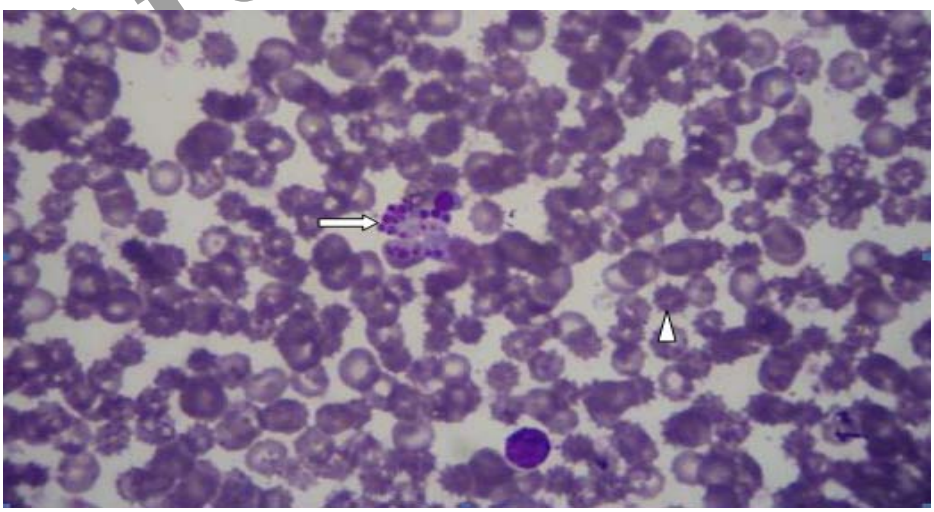
متغیرها / گروه ها	شمارش تام گلبول های سفید	نوتروفیل (٪)	لنفوسیت (٪)	منوسیت (٪)	ائوزینوفیل (٪)	بازوفیل (٪)	باند سل (٪)
کنترل	۱۰/۰۵ ± ۳/٦۷	۱۵/۰۰ ±۲	۷۸/۰۰ ± ۲/۰۰	۳/۱٦ ± ۰/۷۵	۱/٦٦ ± ۰/۱	۱/۸۳ ± ۰/۷۵	۰/۳۳ ± ۰/۵۱
عصاره آبی سیر با دوز ۵۰۰mg/kg در روز	۹/٦۳ ± ۲/۳۵	۲۰/۵۰±٤/۰۳	۷۰/٦۲ ± ۵/۱۸	۲/۸۷ ±۰/۹۹	۳/۸۷ ± ۱/۲٤	۱/۸۷ ± ۰/۸۳	۰/۲۵ ± ۰/٤٦
عصاره آبی سیر با دوز ۱۰۰۰mg/kg در روز	۸/۷۸ ± ٤/۵۵	۲۱/۰۰±۵/۳۱	۷۱/۳۷ ± ٤/۵٦	۲/۱۲ ± ۱/۳۵	٤/۳۷ ± ۱/۵۹	۱/۱ ± ۰/۹۹	۰/۱۳ ± ۰/۲۱

مقادیر به صوررت "میانگین ± انحراف معیار" می باشند. تعداد نمونه های هر گروه = ٦، مدت مصرف عصاره ٤۰ روز بوده است. اختلاف آماری معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد (P> ۰/۰۵).

جدول شماره ۳: اثر عصاره آبی سیر بر تعدادی ازپارامترهای بیوشیمیایی خون موش‌های صحرایی نر

پارامترهای بیوشیمیایی / گروه ها	کنترل	عصاره آبی سیر با دوز ۵۰۰ mg/ kg در روز	عصاره آبی سیر با دوز ۱۰۰۰ mg/ kg در روز
آلانین آمینوترانسفراز (U/L)	۷٤/۱٦ ± ۱۰/٦۲	٦۷/۵۰ ±۱٦/٤۱	٦٤/۰۰±۱٦/۳۵
آسپارتات آمینوترانسفراز (U/lit)	۱٤۵/۱٦ ± ۱۵/۲۳	۱۳۹/٦۲ ± ۲۳/۷۰	۱۳۷/۸۷ ± ۲۳/۷٤
کراتین-فسفوکیناز (UI/L)	۵۵۱/٦٦ ± ۱٤۱/۷۷	٤۲۳/٦۲ ± ۳۰۷/٦۷	۵۱۸/۰۰ ± ۳۱۸/۵۷
لاکتات-دهیدروژناز (U/L)	۲۷٦۸/۱٦ ± ۱۱۸٦/٦۵	۲٤۰۷/۲۵ ± ۱۸۰٤/۷٦	۲۸۲۵/۰۰ ± ۱۲۹۸/٦۷
آلکالین فسفاتاز (U/L)	۸۰٦/٦٦ ± ٤۱۱/۲۰	۵۵۵/٦۲ ± ۱۹۷/٤۰	۵٦۱/۲۵ ± ۱۱٦/٤٤
کراتینین (mg/dl)	۰/٦۳۳ ±۰/۰۵۱	۰/٤۳ ± ۰/۲٤	۰/٦٦ ± ۰/۰۷
اوره (mg/dl)	۳/۲۸ ± ۰/۸۹	۲/٦٦ ± ۱/۳۳	٤/۰۱ ± ۱/٤۰
نیتروژن اوره خون (mg/dl)	۲۷/۳۳ ± ۲/۵۰	۲۸/۳۷ ± ۷/۳	۲٤/۷۵ ± ۲/٦۰

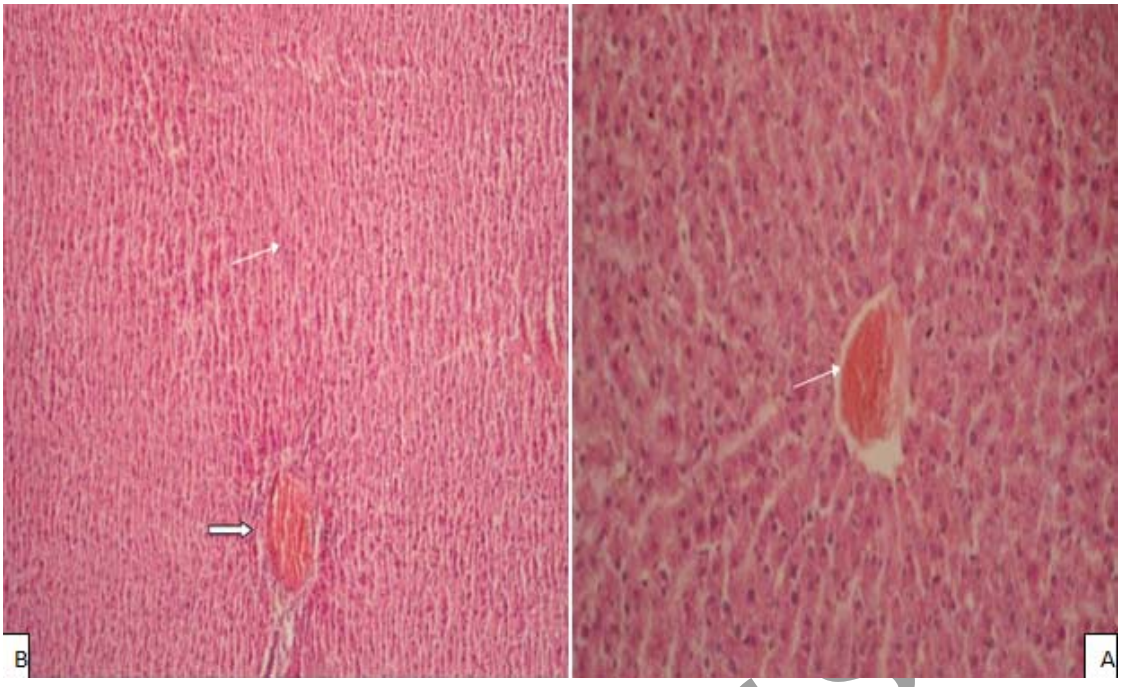
مقادیر به صوررت "میانگین ± انحراف معیار" می باشند. تعداد نمونه های هر گروه = ٦، مدت مصرف عصاره ٤۰ روز بوده است. اختلاف آماری معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد (P> ۰/۰۵).



تصویر شماره ۱: تصاویر میکروسکوپ سلول‌های خونی موش های صحرایی نر که عصاره آبی سیر با دوز ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را به مدت ٤۰ روز دریافت کردند.

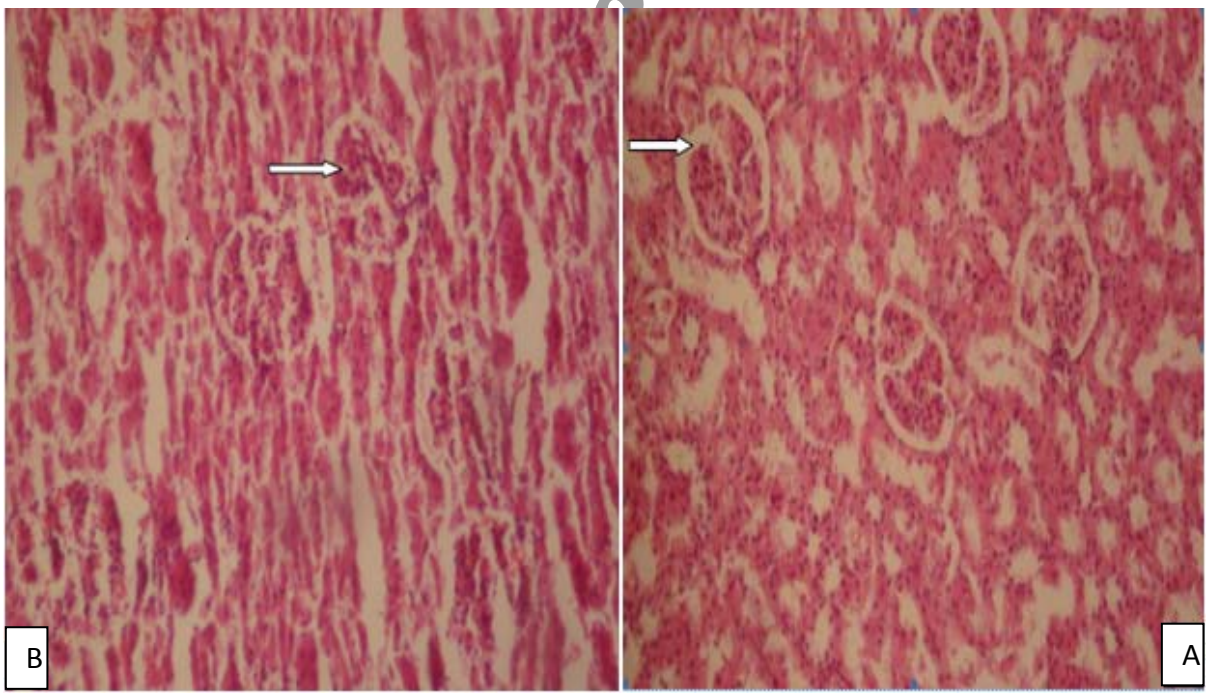
سلول های خونی تغیرات مورفولوژیک شامل پلی کرومازیا، آنیزوسیتوز، آکانتوسیت (سرپیکان) و کاریولیزیز(پیکان) را نشان دادند. رنگ آمیزی گیمسا با بزرگنمایی ۲۰۰۰X

www.SID.ir



تصویر شماره ۲: کبد موش‌های صحرایی گروه کنترل

A: ساختار طبیعی هپاتوسیت و ورید مرکز لبولی کبد (پیکان) (H&E × 400)، B: تغییرات دژنراسیون هپاتوسیت های اطراف ناحیه پورتال و ناحیه میدزونال کبد (پیکان باریک) و تراوش خفیف سلول های لنفوسیتیک (پیکان ضخیم) در گروه تیمار با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (H&E × 180)



تصویر شماره ۳: کلیه موش های صحرایی گروه کنترل

A: ساختار طبیعی گلومرول ها (پیکان) و توبول های کلیه (H&E × 400)، B: تغییرات دژنراتیو در گلومرول و فضای اداری (پیکان) و بهم خوردن ساختار توبولی کلیه در گروه تیمار با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (H&E ×330)

www.SID.ir

بحث:

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف روزانه عصاره آبی سیر با دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث تغییرات مورفولوژیک گلبول های قرمز، شامل گلبول های قرمز با اندازه متفاوت (آنیزوسیتوز) گلبول های قرمز مضرس (آکانتوسیت)، تخریب هسته گلبول‌های سفید (کاریولیزیز) و گلبول های قرمز با رنگ های مختلف (پلی کرومازیا) می شود که این نتایج با یافته های مطالعه Nakagawa و همکاران مطابقت دارد (۱۷) و این تغییرات مورفولوژیک گلبول های قرمز خونی می تواند بدلیل آسیب آلیسین عصاره سیر بر غشاء اریتروسیت ها باشد (۱۸). از سوی دیگر نتایج مطالعات Iranloye نشان داده است که میزان هموگلوبین و هماتوکریت با تغییرات گلبول های قرمز خون رابطه مستقیم دارد، به طوری که مصرف روانه عصاره سیر با دوز ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۳۰ روز باعث افزایش خفیف تعداد گلبول های قرمز، غلظت هموگلوبین و حجم فشرده گلبول های قرمز و افزایش تعداد گلبول های سفید (مونوسیت ها و لنفوسیت ها) نسبت به گروه کنترل شده بود (۱۲) که با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی ندارد و تنها افزایش تعداد نوتروفیل‌ها هم خوانی نشان داد. در این مطالعه از مهم ترین دلایل کاهش نسبی تعداد گلبول های سفید، احتمالاً تفاوت در دوز مصرفی و مدت زمان مصرف سیر می باشد. مطالعات نشان داده سیر در تثبیت غشاء سلولی گلبول های قرمز موثر بوده و این امر باعث بهبود بد شکلی های گلبول های قرمز (کم خونی داسی شکل) می شود. این خاصیت سیر، به خواص آنتی اکسیدانی آن نسبت داده می‌شود (۵) اما ممکن است آنتی اکسیدانت های با منشاء خارجی در دوزهای بالا باعث برهم خوردن تعادل کسیداسیون و احیا و آسیب سلولی شوند (۱۹). به نظر می رسد ترکیبات اصلی متابولیسم سیر در دوزهای پایین (۲۰۰ میلی گرم بـه ازای هر کیلوگرم وزن بدن) باعث تحریک مستقیم کلیه و ترشح اریتروپوئیتین (۱۲) و مصرف عصاره سیر در دوزهای بالاتر (۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن) می‌تواند موجب کاهش تعداد گلبول های قرمز، کاهش وزن و لیز گلبول های قرمز شود. لیز شدن گلبول های قرمز در دوزهای بالا و مدت زمان مصرف طولانی ممکن است به علت کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی با منشاء داخلی غشاء سلول های خونی باشد (۱۹). در زمان عفونت تعداد گلبول های سفید به عنوان اولین مکانیسم دفاعی افزایش می یابد، افزایش تعداد کل گلبول های سفید خون، نوتروفیل ها، لنفوسیت ها و منوسیت های خون بدنبال مصرف عصاره سیر با دوز ۲۰۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۳۰ روز تاییدی بر خواص سیر علیه عفونت ها می باشد. اما دوزهای بالاتر (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و مصرف طولانی تر با آسیب به آنتی اکسدانت های با منشاء داخلی در این روند اختلال ایجاد می‌کنند و از تحریک عملکرد سیستم ایمنی ممانعت به عمل می‌آورند. مصرف عصاره سیر با دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش تعداد لکوسیت ها شده هر چند این کاهش جزیی نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود اما این کاهش تعداد با افزایش دوز مصرفی عصاره سیر رابطه مستقیم داشت. کاهش نسبی تعداد لنفوسیت‌ها و افزایش تعداد نوتروفیل ها در گروه های تیمار نشان دهنده تاثیر این ماده بر افزایش استرس است. مطالعات نشان داده است که آجوان (Ajoene) یکی از ترکیبات طبیعی مشتق شده از سیر است که ممانعت کننده گلوتاتیون ردوکتاز و باعث افزایش استرس اکسیداتیو نسبی سلولی می شود (۲۰،۹). افزایش تعداد ائوزینوفیل‌های گروه های عصاره سیر نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود اما این افزایش تعداد می توانـــد به علت ازدیـــاد

www.SID.ir

Archive of SID

حساسیت نسبت به دوز بالای سیر باشد.

یکی از دلایل مسمومیت زایی سیر واکنش ترکیبات سیر با آنزیم هایی همچون آلکالین فسفاتاز (۹)، پاپائین (Papain) و الکل دهیدروژناز (۲۱) است. اس-آلیل سیستئین و دی آلیل دی سولفید موجود در روغن سیر موجب کاهش کلسترول و تری گلیسیریدهای سرم رت‌های هیپرلیپیدمیک می شوند، این ترکیبات موجود در روغن سیر از فعالیت آنزیم مونواکسیژناز و سنتز کلسترول جلوگیری می کنند، علاوه بر این سیر موجب سرکوب فعالیت لیپوژنیک کبد و آنزیم‌های کلستروژنیک همچون آنزیم مالیک، اسید چرب سنتاز، گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز و هیدروکسی متیل گلوتاریل کو آنزیم آردوکتاز (HMG- CoA) می گردد. همچنین سیر موجب بالا رفتن لیپوپروتئین های با چگالی بالا و کاهش لیپوپروتئین‌های با چگالی پائین می شود. کاهش معنی دار LDL توسط عصاره سیر به علت سرکوب اکسیداسیون LDL است (۲۲،۱۴). تحقیقات Metwally نشان داد که استفاده از جیره های غذایی حاوی عصاره سیر در ماهی تیلاپیا بمدت ۳ ماه باعث کاهش مـــرگ و میر، افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها (گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز) در مقایسه با گروه کنترل می شود. همچنین فعالیت مالونیل دی آلدئید، ALP، AST و ALT در پلاسما بطور معنی داری کاهش یافت، اما در مطالعه حاضر کاهش فعالیت های آنزیم سرمی موش های صحرایی گروه های سیر با گروه کنترل معنی‌دار نبود. در مطالعات صورت گرفته روی حیوانات آزمایشگاهی، اس-آلیل سیستئین موجود در سیر باعث کاهش قند خون و کاهش فعالیت برخی آنزیم های سرم نظیر AST، لاکتات دهیدروژناز، گلوکز ۶-فسفاتاز کبدی و آمیـــلاز شده است (۲۳). تغییـــر در فعالیت آمینوترانسفرازهای کبد، موجب تشویق راه نوسازی گلوکز از اسید های آمینه و تغییر در فعالیت AST و ALT پلاسما می شود. فعالیت این دو آنزیم ممکن است با انواع مواد شیمیایی، بیولوژیکی و عوامل فیزیولوژیک و یا اختلال در چرخه کربس تغییر کند. کاهش فعالیت چرخه کربس باعث کاهش ترکیبات حد واسط و در نهایت کاهش AST و ALT شود (۲۳).

اوره و کراتینین از محصولات زائد متابولیسم پروتئین ها می باشند که می بایست توسط کلیه ها دفع شـــوند، افـــزایش سطح سرمی اوره و کراتینن در موش های صحرایی که عصاره سیر با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند ناشی از دژنراسیون و نکروز گلومرول ها و کاهش تصفیه گلومرولی و اختلال در عملکرد توبول های طبیعی کلیه مرتبط دانست که بـــا تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کلیه موش های صحرایی گروه تیمار مطابقت داشت. به نظر می رسد کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان با منشاء داخلی در بافت های کبد و کلیه گروه های تیمـــار با دوز بـــالا مسئول آسیب های بافتی باشد (۲). در مطالعه حاضر هر چند آنزیم‌های AST، ALT در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی داری نداشت اما در مطالعات میکروسوپیک بافت کبد گروه تیمار با دوز بالای عصاره سیر، تغییرات دژنراسیون و نکروز هپاتوسیت های کبد در اطراف ورید مرکزی کبد و ناحیه میدزونال را نشان داد که دلیل افزایش نیافتن فعالیت آنزیمی در زمان نمونه برداری پایین بودن نیمه عمر آنزیم های کبدی و واکنش آنها با ترکیبات سیر است.

نتیجه گیری:

اگرچه مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده است که سیر بر روی سلول های مختلف بدن دارای اثرات محافظت کنندگی است اما مصرف زیاد و طولانی مدت آن می تواند دارای خاصیت سمی باشد و بر روی اندام های مختلف بدن تغییرات مورفولوژیک و بیوشیمیایی داشته باشد. پیشنهاد می‌شود با شناسایی ترکیبات اصلی سیرهای معروف کشور (همدان،

www.SID.ir
Archive of SID

لاهیجان و...)، در خصوص اثرات بیولوژیک آن ها و دوزهای استانداردی که برای درمان بیماری ها استفاده می شوند مطالعات جامع تری بعمل آید.

تشکر و قدر دانی:

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد. بدینوسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را ازآقای اسماعیل اکبریان و علیرضا کریمی طاقانکی و سرکار خانم زهرا نورمحمدیان کارشناسان مرکز تحقیقات بیوشیمی و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد اعلام می دارند.

منابع:

1. Lanzotti V. The analysis of onion and garlic. J Chromatogr A. 2006; 1112(1-2): 3-22.

2. Olaiya OG, Ailenosi SS, Adelaja A, Eniola K. Effects of aqueous extract of garlic and vitamin C on the kidney of albino rats. Asian J Exp Biol Sci. 2011; 2(3): 455-61.

3. Haciseferogullari H, Ozcan M, Demir F, Calisir S. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). J Food Eng. 2005; 68: 463-9.

4. Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. Intake of garlic and it's bioactive components. J Nutr. 2001; 131(3s): 955S-62S.

5. Tripathi K. A review –garlic, the spice of life-(Part –I). Asian J Res Chem. 2009; 2(1): 8-13.

6. El-Sabban F. Garlic as an antithrombotic and antiplatelet aggregation agent. East Mediter Health J. 2009; 4(5): 288-94.

7. Gorinsteina S, Leontowiczb M, Leontowiczb H, Najmanb K, Namiesnikc J, Parkd YS, et al. Supplementation of garlic lowers lipids and increases antioxidantcapacity in plasma of rats. Nut Res. 2006; 26(7): 362-8.

8. Mohamed MS, Abdel- Kader MM, Kassem SS. Effect of dietary garlic and onion on liver and tibial mineral concentrations in omega-3 fatty acids rich oil fed rats. Agric Biol J N Am. 2011; 2(5): 745-51.

9. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nut J. 2002; 1(4): 1-14.

10. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. Food Chem Toxicol. 2006 Mar; 44(3): 393-7.

11. Lee YM, Gweon OC, Seo YJ, Im J, Kang MJ, Kim MJ, et al. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. Nutr Res Pract. 2009; 3(2): 156-61.

12. Iranloye BO. Effect of chronic garlic feeding on some hematological parameters. African J Biomed Res. 2002; 5(1-2): 81-2.

13. El-Demerdash FM, Yousef MI, Abou El-Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. Food Chem Toxicol. 2005; 43(1): 57-63.

14. 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 May; 49(5): 1110-4.

15. Weber DK, Danielson K, Wright S, Foley JE. Hematology and serum biochemistry values of dusky-footed wood rat (neot Oma fuscipes). J Wildl Dis. 2002; 38(3): 576-82.

Archive of SID

www.SID.ir

16. Namjoo AR, Kargar A, Heidarian E, Ashje A, Malki S. The toxicity effect of methyl mercury chloride on newborn rat: enzymatic, histology change and mercury accumulation. J Shahrekord Univ Med Sci. 2012; 14(2): 101-11.

17. Nakagawa S, Masamoto K, Sumiyoshi H, Kunihiro K, Fuwa T. The effects of raw garlic juice and extracted-aged garlic juice on growth of young rats and their organs after peroral administration. J Toxicol Sci.1980; 5(1): 91-112.

18. Amagase H, Moriguchi T, Kasuga S. Comparison ofoxidative damage of garlic preparations including entericcoatedgarlic powder preparationand allicin-derived compounds onerythrocyte duodenum. Phytomed. 2000; 7(2): 118.

19. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants - Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses: Oxid Med Cell Longev. 2010 Jul; 3(4): 228-37.

20. Gallwitz H, Bonse S, Martinez-Cruz A, Schlichting I, Schumacher K, Krauth-Siege RL. Ajoene is an inhibitor and subversive substrate of human glutathione reductase and Trypanosoma cruzi trypanothione reductase: crystallographic, kinetic, and spectroscopic studies. J Med Chem. 1999; 42: 364-72.

21. Rabinkov A, Miron T, Mirelman D, Wilchek M, Glozman S, Yavin E, et al. Allylmercaptoglutathione: the reaction product of allicin with glutathione possesses SH-modifying and antioxidant properties. Biochim Biophys Acta. 2000; 1499(1-2): 144-53.

22. Alhamami-Omran MO, Al-Mayahb JY, Al-Mousawib NR, Al-Aoboodi AGH. Effects of garlic on haemostatic parameters and lipid profile in hyperlipidemic rats: antiatherogenic and antithrombotic effects. East J Med. 2006; 11: 13-18.

23. Metwally MAA. Effects of Garlic (*Allium sativum*) on Some Antioxidant Activities in *Tilapia Nilotica* (*Oreochromis niloticus*). World J Fish Mar Sci. 2009; 1(1): 56-64.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2013 Apr, May; 15(1): 103-113.

Original article

Effect of chronic oral administration of garlic aqueous extract on tissue changes, some blood and enzymatical parameters in male rats

Namjoo AR (PhD)*[1], Heidarian E (PhD)[2], Rafieian-Koupaei M (PhD)[3], Jafarian-Dehkordi M (Phd)[1]
[1]Pathology Dept., Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, I.R. Iran; [2]Clinical Biochemical Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [3]Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.
Received: 2/Sep/2012 Revised: 13/Nov/2012 Accepted: 20/Mar/2013

Background and aim: Garlic (Allium sativum) is among the oldest cultivated plants, which has been used as a medical agent for thousands of years. The aim of the present study is to evaluate the chronic effects of garlic aqueous extract intake on some hematological parameters, serum and tissue changes.
Methods: Eighteen male wistar rats were assigned into three groups, 6 in each group. Control group was treated with distilled water and groups two and three were treated with garlic aqueous extract (500, 1000 mg/kg respectively) by gavage for fourthy consecutive days. At the end of the study, rats were victimized and hematological, biochemical parameters and histopathological changes were investigated. Data were analyzed using one way ANOVA and Dunkann tests.
Results: The fidings revealed that garlic extract doesn't change the values of AST, ALT, ALP, and CPK compare to control group (P>0.05). Also, no significant changes were found in serum urea, creatinine, LDH and hematological indicators in garlic treated groups compare to control group (P>0.05). Microscopic findings in group treated with garlic extract (1000 mg/kg) showed glomeruli destruction, loss of brush border of proximal convoluted tubules, degeneration with necrosis of hepatocytes, and infiltration of mononuclear cell to portal space.
Conclusion: This study showed that garlic consumption with high dose might cause morphological change in the red blood cell, biochemical parameters and might cause renal and hepatic lesions. Therefore, the use of pilot study for determining the optimal dose of the garlic is necessary for research designs.

Keywords: **Garlic, Kidney, Liver, Hematological indicators, Histopathology.**

Cite this article as: Namjoo AR, Heidarian E, Rafieian-Koupaei M, Jafarian-Dehkordi M. Effect of chronic oral administration of garlic aqueous extract on tissue change, some blood and enzymatical parameters in male rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Apr, May; 15(1): 103-113.

***Corresponding author:**
Pathology Dept, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Rahmatieh, Shahrekord, I.R. Iran.
Tel: 00983813361060 , E-mail: ar.namjo72@iaushk.ac.ir

www.SID.ir