مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره شانزدهم، شمارهٔ ۷، تیر ۱۳۹۳، صفحه ۴۹-۴۱

اثر حفاظتی جوشانده قهوه بر آنزیم های کبدی AST و ALT وALP و بیلی روبین کل در رت تیمار شده با تیواستامید

نجمه ربانی حقیقی(MSc)[1*]، داوود مهربانی(PhD)[2]

۱- گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان
۲- مرکز تحقیقات سلولهای بنیادی و فناوری ترانسژنیک، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

دریافت: ۹۲/۸/۱۲، اصلاح: ۹۲/۱۰/۱۵، پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: گیاه قهوه فعالیت آنزیم های کبدی را تغییر می دهد و باعث کاهش آنزیم های کبدی می شود. با توجه به نقش مهم کبد در سم زدایی و نقش عوامل غذایی در بالا بردن توانایی بدن برای سم زدایی مواد شیمیایی و داروها این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی و پیش تیمار جوشانده قهوه بر آنزیم های کبدی (آلانین ترانس آمیناز) ALT و (آسپارتات ترانس آمیناز) AST و (آلکالین فسفاتاز) ALP و بیلی روبین کل در رات تیمار شده با تیواستامید انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۳۲ سر موش صحرائی نر که به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند، انجام گردید. حیوانات گروه اول (کنترل) آب و غذای عادی مخصوص رت ها، گروه دوم (شاهد) آب و غذای عادی، همراه با تزریق۱ سی سی نرمال سالین به عنوان حلال، گروه سوم هم آب و غذای عادی دریافت کردند و تیواستامید نیز با دوز ۱۰۰mg/Kg به صورت درون صفاقی تزریق شد، که این گروه تیمار شده بدون دریافت مداخله هستند. گروه چهارم که جوشانده قهوه با دوز ۴mg/Kg و به صورت خوراکی در رژیم غذایی آنها در طول (پیش درمان) ۶۸ روز به آنها خورانیده شد. مدت زمان تیمار برای طول مدت متوسط پیش تیمار ۱۰-۸ هفته در نظر گرفته شد. خونگیری در دو مرحله (مرحله اول پیش درمان) و (مرحله دوم پس از تزریق یک بار تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/Kg به صورت درون صفاقی) انجام و اندازه گیری AST و ALT و ALP و بیلی روبین کل سرم ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق، انجام گرفت.

یافته ها: نتایج حاکی از افزایش معنی دار میزان AST سرم در گروه تیمار شده با تیواستامید (۳۲۱±۲۶) نسبت به گروه شاهد (۱۶۲±۳) می باشد (P<۰/۰۵). جوشانده قهوه به صورت پیش تیمار دارای تاثیر محافظتی بر روی بافت کبد بوده است. این تاثیر با کاهش معنی دار میزان ALP سرم در این گروه به (۳۸۴±۳۹) رسیده است (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که جوشانده قهوه اثر حفاظتی بر آنزیم های کبدی دارد.

واژه های کلیدی: قهوه، تیواستامید، کبد، رات، آنزیم های کبدی.

مقدمه

مطالعات اخیر نشان داده اند که عوامل غذایی نقش مهمی در بالا بردن توانایی بدن برای سم زدایی مواد شیمیایی و داروها ایفا می نمایند (۱). یکی از مهمترین اعمال کبد علاوه بر سوخت و ساز مواد مختلف، سم زدایی گزنوبیوتیکها، مواد آلوده کننده محیطی داروهای شیمی درمانی می باشد (۲). در اکثر موارد در طی عمل سم زدایی فعال سازی متابولیکی توسط آنزیم های سیتوکروم P450 میکروزم های کبدی باعث ایجاد متابولیت های سمی و فعال می شود که این مواد می توانند موجب آسیب بافتهای مختلف از جمله کبد شوند (۳). کبد بزرگترین غده در بدن بوده و بعنوان یک منبع ذخیره خون عمل می کند. سیستم ماکروفاژ کبدی یک عمل پاک کننده خونی انجام می دهد، سلولهای کوپفر (Kupffer) که سینوسهای کبدی را مفروش می کنند می توانند خون را از سینوسها، با کارآیی زیادی تمیز و تصفیه کنند (۴). تیواستامید یک سم کبدی قوی می باشد که پس از ورود به بدن مشابه بسیاری از مواد از جمله استامینوفن، برخی آنتی بیوتیکها، اتانول و تتراکلرید کربن عمل کرده و توسط آنزیم های سیستم سم زدایی سیتوکروم P450 متابولیزه می شود (۵). متابولیسم تیواستامید منجر به تولید تیواستامید S- اکسید و متابولیت های دیگر می شود (۶). بنابراین تیواستامید S- اکسید یک ترکیب واسطه در مراحل اکسید اسیون تیواستامید توسط مناواکسیژنازهای با عملکرد مختلط (از جمله سیتوکروم P450 2B1) می باشد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول های کبدی می شود (۷). از سم

این مقاله حاصل پایان نامه نجمه ربانی حقیقی دانشجو کارشناسی ارشد زیست شناسی- علوم جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان می باشد.

* مسئول مقاله: نجمه ربانی حقیقی
آدرس: شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، گروه زیست شناسی علوم جانوری، تلفن: ۰۷۱۱-۲۲۲۹۰۵۰
e-mail: najmehrabani@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

تیواستامید برای القای سیروز کبدی و آنسفالوپاتی هپاتیک حاد استفاده میشود (۸). قهوه یک نوشیدنی محرک است و مورد استفاده اکثر مردم جهان می باشد. قهوه گیاهی از تیره Coffea و از خانواده Rubiaceac می باشد (۹). درخت قهوه در نواحی گرمسیری و در هوای گرم و مرطوب رشد می کند. معروفترین نوع قهوه، قهوه عربی Coffea Arabica است (۹). ماده موثر قهوه، کافئین است که دارای خواص آرامش بخشی، مسهل، کاهنده اشتها می باشد. قهوه حاوی ترکیبات پلی فنلی است و خاصیت آنتی اکسیدانی دارد و باعث کاهش رادیکالهای آزاد می شود (۱۰). ازجمله آنتی اکسیدانهای درون قهوه، کلروژنیک و توکوفرول و همچنین ماده ای به نام تریگونلینگ است، که باعث عطر و طعم تلخی در قهوه می شود (۱۱). مصرف طولانی مدت قهوه در درمان آسم، سیروز کبدی، پارکینسون و بیماریهای قلبی– عروقی موثر است و از تکثیر سلولهای سرطانی جلوگیری می کند (۱۲). درصد ابتلا به سرطان کبد و روده را کاهش می دهد. ترکیبات گزانتین دار درون قهوه مانند کافئین و تئوفیلین سبب گشاد عروق خونی می شود. قهوه باعث کاهش آنزیمهای کبدی و کلسترول سرم خون می شود (۱۳). Ruhl و همکاران، با مطالعه بر روی میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در افراد در معرض خطر آسیب کبدی و اثر مصرف قهوه و کافیین بر روی انسانها بیان می کنند که نه تنها نوشیدن متعادل قهوه خیلی خوب می باشد، حتی می تواند در عملکرد مناسب کبد نیز نقش مهمی ایفا کند (۱۴). Inoue و همکارانش Bergendi و همکاران نشان دادند که ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در قهوه عامل اصلی محافظت سلول های کبدی در برابر عوامل سمی و کارسینوژن می باشند (۱۶و۱۵).

تحقیقات ثابت کرده اند که چندین گونه گیاهی با حداقل اثرات جانبی در درمان بیماری های کبدی موثرند که در این راستا می توان به دانه گیاه قهوه اشاره کرد. از آنجاییکه AST، ALT، ALP، بیلی روبین کل منحصراً توسط هپاتوسیت های کبد سنتز می‌شود و اندازه گیری آن یکی از معیارهای اختصاصی عملکرد کبد می باشد و از طرفی سنجش این فاکتور خونی در گروههای پیش تیمار شده با قهوه متعاقب مسمومیت های خفیف و مزمن کبدی، تا به حال مورد بررسی قرار نگرفته است لذا در این تحقیق به بررسی تاثیر محافظتی جوشانده قهوه بر تغییرات AST، ALT، ALP، بیلی روبین کل سرم خون، در برابر مسمومیت کبدی ناشی از تیواستامید در موش صحرائی نر پرداخته شده است.

مواد و روشها

الف- روش تهیه جوشانده قهوه: برای تهیه کردن جوشانده قهوه، ابتدا حجم معینی دانه قهوه ار نوع عربی، از مراکز معتبر تهیه گردید و از نظر کارشناسان هرباریوم دانشگاه آزاد فلاورجان مورد تأیید قرار گرفت. (قهوه وارداتی شناسایی شده در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان) (کد شناسایی ۰۰۱، ۰۱۵، ۱۲۰). دانه های قهوه توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شد و با تهیه حجم معینی از حلال که ۱۰۰ سی سی آب دو بار تقطیر بود، توسط دستگاه Espresso ، جوشانده قهوه آماده گردید (۱۰و۹).

ب- حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه از موش های صحرایی نر از نژاد Wistar با وزن ۲۵±۲۰۰ استفاده شد. حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و در لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز تحت دوره نوری ۱۲ ساعت، دمای ۵±۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت کافی نگهداری شدند. تغذیه این موشهای صحرائی توسط غذاهای آماده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام گرفت. البته مقدار جوشانده قهوه تهیه شده توسط غذا به حیوانات خورانیده شد. پس از اتمام تهیه جوشانده قهوه، با خوراک مخصوص رت ها مخلوط و به مدت ۱۰ روز در هوای آزاد پهن شد تا تمام رطوبت آن از بین برود و خشک شوند، این عمل مانعی برای کپک زدن احتمالی این مواد بود. سپس این غذاها به جای غذای عادی مورد مصرف رت ها قرار گرفت (۱۰و۹). ۳۲ سر موش صحرائی در ۴ گروه ۸ تایی به طور تصادفی به داخل قفسهای مخصوص نگهداری رت ها، تقسیم شدند. پس از گروه بندی و پس از طی شدن دوره تطبیق حیوانات با حرارت و رطوبت محل نگهداری، آزمایشات شروع شد. در ضمن اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مراحل لحاظ گردید. (قابل ذکر می باشد که در طی مراحل کار و آزمایشات چند عدد از رت ها از بین رفتند).

ج)تیمار حیوانات: پس از آماده سازی تمام گروه ها، به گروه اول (کنترل) آب و غذای عادی مخصوص رت ها، به گروه دوم (شاهد) آب و غذای عادی و همراه با تزریق۱ سی سی نرمال سالین به عنوان حلال، به گروه سوم هم آب و غذای عادی داده شد و تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/Kg بصورت درون صفاقی تزریق شد که این گروه تیمار شده بدون دریافت مداخله هستند و به گروه چهارم جوشانده قهوه با دوز ۴ mg/Kg (به عنوان پیش درمان) در مدت ۶۸ روز خورانیده شد. مدت زمان تیمار برای طول مدت متوسط پیش تیمار ۱۰-۸ هفته در نظر گرفته شد. دوز های به کار رفته در این تحقیق با توجه به مطالعات قبلی و زیر دوز کشنده ۵۰ درصد LD50%(Letal dose50%) در نظر گرفته شد (۱۸و۱۷). خونگیری مرحله اول قبل از تزریق تیواستامید پس از ۱۲ ساعت گرسنگی از قلب رت ها انجام شد. بعد از جداسازی سرم نمونه ها، میزان AST، ALT، ALP و بیلی روبین کل توسط دستگاه اتوآنالیزور مدل RA1000 اندازه گیری شد. پس از ۲ روز استراحت به گروه های سوم و چهار، تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/Kg در طی یک روز و به صورت درون صفاتی تزریق شد. چون تاثیرات توکسیک تیواستامید معمولا حدود ۲ روز بعد از تزریق آشکار می گردد (۲۰و۱۹). لذا، ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق موش های صحرائی توسط ۱۰٪ Ketamine و ۲٪ Xylazine بی هوش و خونگیری دوم به طور مستقیم از قلب انجام گرفت و میزان سطوح آنزیمهای AST، ALT، ALP و بیلی روبین کل با استفاده از کیت های مخصوص بیوشیمیایی توسط دستگاه اتوآنالیزور مدل RA 1000 اندازه گیری شدند. به منظور مقایسه میانگین این فاکتور ها در گروههای مختلف، از آزمون ANOVA یک طرفه و تست Tukeyو به منظور مقایسه میزان این فاکتور ها در سرم، قبل و بعد از تزریق تیواستامید از آزمون T جفت شده استفاده و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در مرحله اول خونگیری (قبل از تزریق تیواستامید)، هرچند تجویز جوشانده قهوه باعث افزایش جزئی در میزان AST و ALT سرم در مقایسه با سایر گروهها گردید؛ اما تفاوت آماری معنی داری میان گروههای مختلف در میزان پارامترهای اندازه گیری شده، مشاهده نشد. در نمونه های مربوط به خونگیری

Archive of SID
www.SID.ir

دوم (بعد از تزریق تیواستامید)، تجویز تیواستامید در گروه ۳ موجب افزایش میزان AST سرم شد که این افزایش در مقایسه با گروه شاهد معنی دار بود (p=۰/۰۱). در ضمن هرچند میزان این پارامتر در گروه درمان شده با جوشانده قهوه کمتر از گروه ۳ بود، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. تجویز جوشانده قهوه موجب کاهش معنی دار میزان ALT سرمی در مقایسه با گروه ۳ شد (p=۰/۰۲) و توانست میزان آن را به سطح گروههای شاهد و کنترل برگرداند بطوریکه میزان این پارامتر در گروههای ۱، ۲ و ۴ از نظر آماری یکسان بود. اگرچه میزان ALP سرمی در گروه دریافت کننده جوشانده قهوه به نحو معنی داری کمتر از گروه شاهد بود (p=۰/۰۴)، اما این پارامتر تفاوت معنی داری میان گروههای ۳ و ۴ نشان نداد. در مورد سطح بیلی روبین کل سرم باید اشاره نمود که میزان این پارامتر در گروه ۳ به نحو محسوس و معنی داری بالاتر از گروه شاهد بود (p=۰/۰۳) و تجویز جوشانده قهوه موجب کاهش معنی دار در میزان آن در مقایسه با گروه ۳ شده (p=۰/۰۰۸) و توانست آن را به سطح گروه شاهد برگرداند. بعد از تزریق تیواستامید (۱۰۰ mg/kg) به گروه دریافت کننده جوشانده قهوه (۴ mg/kg)، به صورت پیش تیمار، میزان ALP و ALT سرم به ترتیب (۳۸۴±۳۹) و (۷۴±۶) نسبت به گروه بدون دریافت قهوه به ترتیب (۴۳۱±۳۷) و (۱۱۲±۹) کاهش معنی داری نشان دادند و همچنین در گروه شاهد بدون دریافت تیواستامید به ترتیب (۵۴۰±۲۴) و (۷۱±۹) بود.

میزان AST سرم در گروه ۳ در خونگیری دوم به نحو معنی داری بیشتر از خونگیری اول بود (p=۰/۰۰۹)؛ همچنین میزان ALP سرم در گروه ۴ تفاوت معنی داری بین خونگیری اول و دوم نشان داد (p=۰/۰۱). در سایر موارد اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه مقادیر AST،ALT،ALP و بیلی روبین کل سرم (میانگین±خطای معیار)، درخونگیری اول (قبل از تزریق تیواستامید) و خونگیری دوم (بعد از تزریق تیواستامید) در گروه های مختلف.

گروهها	AST (U/L)		ALT (U/L)		ALP (U/L)		بیلی روبین (mg/dl)	
	خونگیری اول	خونگیری دوم	خونگیری اول	خونگیری دوم	خونگیری اول	خونگیری دوم	خونگیری اول	خونگیری دوم
کنترل	^{a}۱۸۴±۲۵	^{abc}۲۷۱±۱۷	^{a}۷۳±۴	^{abc}۷۹±۳	^{a}۴۷۵±۵۵	^{abc}۴۵۷±۹۹	^{a}۰/۴۳±۰/۰۶	^{a}۰/۸۳±۰/۰۶
شاهد	^{a}۱۹۶±۲۶	^{b}۱۶۲±۳	^{a}۸۴±۶	^{abc}۷۱±۹	^{a}۵۶۲±۳۳	^{b}۵۴۰±۲۴	^{a}۰/۳۳±۰/۰۳	^{b}۰/۳۷±۰/۰۲
تیواستامید	^{a}۱۸۴±۲۵	^{c*}۳۲۱±۲۶	^{a}۸۰±۶	^{b}۱۱۲±۹	^{a}۵۱۵±۴۷	^{abc}۴۳۱±۳۷	^{a}۰/۵±۰/۰۴	^{ac}۰/۶۴±۰/۰۷
جوشانده قهوه	^{a}۲۴۸±۱۲	^{abc}۲۳۶±۳۴	^{a}۱۰۲±۱۰	^{c*}۷۴±۶	^{a}۵۰۷±۲۹	^{c*}۳۸۴±۳۹	^{a}۰/۴±۰/۰۴	^{bd}۰/۳۷±۰/۰۴

حروف لاتین غیرهمسان برای نشان دادن اختلاف معنی دار در یک ستون بکار رفته اند، در ضمن علامت ستاره نمایانگر وجود اختلاف معنی دار در هر پارامتر بین دو خونگیری در هر گروه می باشد (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می دهد، گروهی که با جوشانده قهوه در جیره غذایی، پیش تیمار شده بودند بعد از تزریق تیواستامید، کاهش معنی داری در میزان ALP و ALT سرم در مقایسه با گروه بدون دریافت قهوه نشان دادند و همچنین گروه شاهد بدون دریافت تیواستامید نشان داد، پیش تیمار با جوشانده قهوه توانسته است میزان پارامترهای شاخص آسیب کبد و ساختار بافتی آن را تا حد نرمال تغییر دهد و کبد را در مواجهه با سم تیواستامید محافظت نماید. بازگشت سطوح افزایش یافته آنزیمهای سرمی فوق به حالت طبیعی با مصرف جوشانده قهوه در موش های تیمار شده با تیواستامید، می تواند در اثر ممانعت از نشت آنزیمهای داخل سلولی به دلیل برقراری تمامیت و پایداری سلامت غشاء سلول و یا نو زایش سلولهای آسیب دیده کبد باشد (۲۱). کنترل موثر سطوح آنزیم ها، بهبود زود هنگام مکانیسمهای عملکردی و ترشحی سلولهای کبدی را نشان می دهد. در این بررسی، تجویز جوشانده قهوه در جیره مصرفی موش های تیمار شده با تیواستامید، اثرات جوشانده قهوه در مقابل عوارض کبدی ناشی از سموم را نشان می دهد.

یافته های به دست آمده از تحقیق فوق تا حدی مشابه با یافته های Kim و همکارانش بود. آنها نشان دادند که تیواستامید پس از ورود به بدن توسط آنزیمهای سیستم سمزدایی سیتوکروم P۴۵۰ متابولیزه می‌شود. متابولیسم تیواستامید، تیواستامید S–اکسید و متابولیت‌های دیگری را تولید می‌کند. نهایتاً تیواستامید S–اکسید یک ترکیب واسطه در مراحل اکسیداسیون تیواستامید توسط مونواکسیژنازهایی با اعمال متفاوت می‌باشد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول های کبد می‌شود (۲۲). همچنین، تیواستامید در دوزهای بالا موجب نکروز و آپوپتوز سلول های کبد می شود (۲۳و۲۲). تیواستامید علاوه بر اینکه یک ماده شیمیایی و سم کبدی است یک ماده پیش سرطانزا نیز می‌باشد و از آن برای القای سیروز کبدی و آنسفالوپاتی هپاتیک حاد استفاده می شود (۲۵و۲۴). بنابراین می توان نتیجه گرفت که تیواستامید موجب آسیب سلولهای کبدی شده است. Sallie و همکاران نشان دادند که ساز و کار آسیب تیواستامید به کبد به واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو می باشند (۲۶). از تیواستامید در صنایع مختلفی از جمله کاغذسازی، چرم سازی و در آزمایشگاه ها به عنوان معرف استفاده می‌شود (۲۷). تیواستامید را می‌توان در آب آشامیدنی (۲۸) یا از طریق تزریق داخل صفاقی استعمال نمود. البته تزریق داخل صفاقی نتایج ثابت تری را نشان می‌دهد (۲۹). از نظر پاتولوژیکی، نکروز کبدی بیشتر در ناحیه وریدی مرکزی ایجاد می‌شود. به علاوه سینوزوئیدهای مرکزی نیز متورم می شوند. نواحی نکروز شده مجاور در حالات شدید با ایجاد پل به هم می‌پیوندند و در نهایت با مرگ بیشتر از۶۰٪ سلولهای کبدی این عضو کاملاً از کار می‌افتد. آسیب کبدی ایجاد شده توسط تیواستامید به خوبی سمیت کبدی ایجاد شده توسط گزنوبیوتیکها را نشان می دهد، معمولاً ازآن به عنوان یک مدل مناسب برای مطالعه اثرات ضد سمیت کبدی و حفاظت کننده کبدی داروها و ترکیبات مختلف استفاده می شود (۳۰).

Archive of SID
www.SID.ir

در ارزیابی آسیب کبد، سنجش سطوح آنزیمهایی نظیر آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز(AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و بیلی روبین به طور وسیع مورد استفاده قرار می گیرد. تمام این آنزیم ها به طور طبیعی در سلولهای کبدی وجود دارند و در زمان آسیب دیدن این سلولها، به دلیل اختلال در غشای پلاسمایی و یا متلاشی شدن، سلولها به درون خود تخلیه شده و باعث افزایش سطوح سرمی این آنزیم ها می شوند. وقوع نکروز یا آسیب غشاء سلول باعث رها شدن آین آنزیمها به گردش خون می شود. در نتیجه افزایش غلظت این آنزیم ها، معیار مناسبی برای ارزیابی میزان آسیب سلول های کبدی می باشد. آسیب کبد نظیر هپاتیت های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان می دهد (۳۱). ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می کند، برای کبد اختصاصی تر بوده و پارامتر مناسبتری برای تشخیص آسیب کبد می باشد. سطوح افزایش یافته آنزیمهای سرمی فوق حاکی از نشت سلولی بوده و نشان گر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاءهای سلولی در کبد می باشد (۳۲). از سوی دیگر، سطح سرمیALP و بیلی روبین، با عملکرد سلولهای کبدی در ارتباط می باشد. افزایش سطح سرمی ALP به دلیل افزایش تولید در حضور فشار فزاینده صفراوی می باشد (۳۳). Drotman و همکاران بیان می‌کنند که در بیماریهای اکتسابی مزمن کبدی غلظت بیلی روبین سرم تا زمانی که به مقدار قابل توجهی آسیب کبدی اتفاق نیفتاده باشد و سیروز کبدی ظاهر نگردیده باشد معمولاً نرمال است (۳۴). در تحقیقی دیگر نیز Phol و همکارانش دریافتند که در بیماران سیروز کبدی افزایش نسبت AST به ALT به طور قابل توجهی با مرحله بیماری در ارتباط است. در مطالعه حاضر نیز مقدار AST نسبت به ALT افزایش بیشتری داشته است (۳۵). در مطالعه حاضر نتایج در زمان خونگیری دوم تغییرات خاصی را نشان داده اند و پس از تزریق تیواستامید و تأثیر آن بر سلول‌های کبدی و اثر بر آنزیم‌های کبدی، اختلاف معنی داری مشاهده گردید.

در این تحقیق، می توان به این نتیجه رسید که پیش تیمار با جوشانده قهوه دارای تاثیر محافظتی، به صورت پیش تیمار بر سلولهای کبدی در مواجهه با تیواستامید به عنوان یک سم کبدی بوده است، که این تغییر در هپاتوسیت ها، با کاهش میزان AST، ALT، ALP و بیلی روبین کل سرم ها در برابر آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط تیواستامید نمایان شده است. در تحقیقات قبلی بر روی میزان آنزیم های کبدی و بافت کبدی در اثر القا استرس اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تیو استامید بحث شده بود در حالی که بررسی تاثیرات پیش درمانی با جوشانده قهوه بر میزان AST، ALT، ALP و بیلی روبین کل پلاسمایی به عنوان یک فاکتور موثر عملکرد کبدی بررسی نشده بود، در تحقیق حاضر احتمالا ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره قهوه، رادیکال های آزاد حاصل از تیو استامید را خنثی نموده اند. از طرفی ترکیبات پلی فنلی در جوشانده قهوه باعث حفظ سلول های کبد می شوند. ترکیبات پلی فنلی و به ویژه فلاونوئیدها در مرحله نخست بر روی سیستم سیتوکروم P۴۵۰ اثر مهاری دارد و از متابولیسم بیشتر تیواستامید جلوگیری می کنند و در نتیجه تولید رادیکالهای آزاد کاهش می یابد، بنابراین جوشانده قهوه به تنهایی به عنوان یک پیش تیمار موثر در حفظ و نگهداری عملکرد هپاتوسیت ها و حتی کاهش غلظت این فاکتور های پلاسمایی کبدی حتی بعد از ورود فشار اکسیداتیو حاصل از تیواستامید موثر بوده است (۳۷و۳۶). در تحقیق حاضر با مصرف منظم جوشانده قهوه در مدت ۶۸ روز میزان میانگین ALP و درALT سرم کاهش معنی داری داشته است. این یافته ها مشابه با نتایج تحقیقات Casiglia و همکاران می باشد که بیان کردند کسانی که بیش از ۳ استکان قهوه در روز می نوشند، در مقایسه با کسانی که هیچ قهوه ای در روز نمی نوشند میزان کمتری از آنزیمهای کبدی دارند (۳۸). محققین بیان کردند که این اثر به دلیل خواص آنتی اکسیدانی این ماده می باشد (۳۹). در تحقیق دیگری، Osawa و همکاران نشان دادند که منابع گیاهی می توانند بافت را از آسیب ها و رادیکال های آزاد حفظ کنند. همچنین مکمل های غذایی همراه با آنتی اکسیدان های طبیعی مثل ویتامین‌ها و فلاونوئیدها می توانند آسیبهای استرس اکسایشی ناشی از مصرف الکل را به حداقل برسانند. ترکیبات فنلی به علت اینکه قادرند رادیکالهای آزاد را از محیط جاروب کنند به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی شناخته شده اند (۴۰). در مطالعه دیگری که توسط Madani و همکاران در سال ۱۳۸۳ بر روی رت های نر از نژاد ویستار انجام گرفت مشاهده کردند که در سنجش آنزیمی میزان فعالیت آنزیم های ALT، AST در گروه تیواستامید نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان داد و همچنین گروههای دریافت کننده عصاره گیاهان نسبت به گروه دریافت کننده تیواستامید، کاهش معنی داری در ALT و AST نشان دادند (۴۱).

کافئین به عنوان یک ماده آنتی اکسیدانی در این تحقیق استفاده شد تا اثرات احتمالی مهاری ناشی از سمیت تیواستامید و نیز اختلالات آنزیمی ناشی از آن و همچنین اثر جوشانده قهوه در کاهش عوارض مسمومیت کبدی ناشی از تیواستامید را مورد بررسی قرار دهد. ماده مؤثره قهوه کافئین است که در چای و کاکائو هم وجود دارد. کافئین خالص، شبیه به پودری سفید و ابریشمی است. گزارش های علمی زیادی در مورد احتمال ارتباط مستقیم بین مصرف قهوه و سلامتی موجود می باشد (۴۱). قهوه در سال ۸۵۰ میلادی کشف شد. اکنون قهوه از معروفترین و پرطرفدارترین نوشیدنی های جهان است. قهوه خطر ابتلا به سرطان کبد را می کاهد (۴۳). نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که در گروه تیمار شده به وسیله جوشانده قهوه، آنزیمهای کبدی کاهش می یابد. در برگها و در میوه آن، علاوه برکافئین، آلکالوئیدهای آدنین، کزانتین، هایپو گزانتین و همچنین ماده گوانین نیز وجود دارد. Caorrao و همکاران و Tverdal و همکاران بیان کردند که قهوه دارای کافئین می باشد، احتمال زیادی می دهند که این، عامل اصلی در جلوگیری از هر یک از نوع سیروز کبدی غیر الکلی و سیروز الکلی می باشد (۴۵و۴۴). Inoue و همکارانش و Bergaendi و همکارانش نشان دادند که ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در قهوه عامل اصلی محافظت سلول های کبدی در برابر عوامل سمی و کارسینوژن می باشند (۱۶و۱۵). ترکیبات پلی فنلی موجود در قهوه، باعث ترمیم سلولهای کبد و مهار گلوکورونیداز می شوند. در نهایت در تیمار طولانی مدت با این گیاهان، می توان آسیب های وارده سلول را ترمیم نمود. عملکرد جوشانده قهوه، در کاهش میزان خسارات وارده به سلول کبدی و حفاظت از این سلول ها در فاکتور های ALP و ALT و AST و بیلی روبین کل سرم، موثر بوده است (۴۷و۴۶). این نتایج نشان دهنده این است که قهوه دارای خاصیت آنتی اکسیدان بوده و سبب کاهش التهاب و آسیب‌های سلولی می‌شوند و رادیکال های آزاد اکسیژن را کاهش می دهد و تاثیرات درمانی بر کاهش میزان آنزیم ها و مهار آسیب کبدی و ترمیم سلولها دارد. با بررسی نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که جوشانده قهوه به علت ترکیبات آنتی اکسیدانی و پلی فنل های موجود در آن که تا حدی

Archive of SID
www.SID.ir

مشابه با ترکیبات چای سبز است و دارای قوی ترین اثر حفاظتی موثر در برابر سموم کبدی می باشد. با توجه به اینکه مصرف این گیاهان به عنوان نوشیدنی و چاشنی غذایی در کشور ما رایج می‌باشد، بررسی اثرات دوزهای متفاوت و عصاره های مختلفی از این گیاهان بر روی ترمیم بافت کبد در تحقیقات بعدی پیشنهاد می گردد. یعنی افرادی که به صورت پیش تیمار قهوه می نوشند، کبد مقاوم تری در مقایسه با افراد عادی در برابر مواجه با سموم کبدی دارند. بنابراین استفاده از این دم نوش گیاهی در انسان به عنوان یک داروهای گیاهی موثر در پیشگیری از بیماری‌های کبدی و مقاومت در برابر سموم کبدی پیشنهاد می گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

The Protective Effect of Boiled Coffee on Liver Enzymes AST, ALT, ALP and Total Bilirubin in Rats Treated with Thioacetamide

N. Rabbani Haghighi (MSc) [1*], D. Mehrabani (PhD) [2]

1. Department of Animal Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Fars, Iran
2. Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(7); Jul 2014; pp: 41-49

Received: Oct 19th 2013, Revised: Jan 5th 2013, Accepted: Mar 6th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Coffee plants can alter the activity of liver enzymes and reduce liver enzymes. Considering vital role of liver in the detoxification and the role of dietary factors in enhancing the body's ability to detoxify the chemicals and drugs, the present study was performed to determine the protective effect of boiled coffee on liver enzymes aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), and total bilirubin in rats treated with thioacetamide.

METHODS: In this experimental study, 32 male rats were divided into four groups of eight. Animals in the first group (control) received water and normal food for rats, group II (control) received water and normal food associated with the injection of 1 ml of normal saline as a solvent, and the third group received both normal food and water. For injecting thioacetamide (100mg/kg) the treated group received no intervention and the fourth group received boiled coffee (4mg/kg) orally in the diet of rats during 68 days (pretreatment). The average length of treatment time for pretreatment was considered from 8 to 10 weeks. Blood samples were taken at two stages: pretreatment and post injection of thioacetamide intraperitoneally at the dose of 100mg/kg. AST, ALT, ALP and total bilirubin were measured 48 hours after last injection.

FINDINGS: The results showed a significant increase of the rate of serum AST in treated group with thioacetamide (321±26) in compared to control group (162±3). Boiled coffee as pretreatment has protective effect on liver tissue. The rate of ALP in this group was 384±39 that significantly decreased ($p<0.05$).

CONCLUSION: In this study, boiled coffee has protective effect on liver enzymes.

KEY WORDS: *Coffee, Thioacetamide, Liver, Rat, Liver enzymes.*

Please cite this article as follows:

Rabbani Haghighi N, Mehrabani D. The protective effect of boiled coffee on liver enzymes AST, ALT, ALP and total bilirubin in rats treated with thioacetamide. J Babol Univ Med Sci 2014;16(7): 41-49.

* **Corresponding Author; N. Rabbani Haghighi (MSc)**

Address: Department of Animal Biology, Faculty of Science, Islamic Aazd University, Arsanjan Branch, Fars, Iran

Tel: + 98 711 2229050

E-mail: najmehrabani@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

References

1.Ahmad A, Pillai KK, Najmi AK, Ahmad SJ, Pal SN, Balani DK. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. J Ethnopharmacol 2002;79(1):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(3):181-6.

3.Kang JS, Wanibuchi H, Morimura K, et al. Role of CYP2E1 in thioacetamide-induced mouse hepatotoxicity. Toxicol Appl Pharmacol 2008;228(3):295-300.

4.Gayton A, Hall J. Physiology medicine. Translated by: Niavarani AR. 11th ed. Tehran: Samat Publications 2006; pp: 999-1006. [in Persian]

5.Sanz N, Díez-Fernández C, Fernández-Simón L, Alvarez A, Cascales M. Necrogenic and regenerative responses of liver of newly weaned rats against a sublethal dose of thioacetamide. Biochim Biophys Acta 1998;1384(1):66-78.

6.Masumi S, Moriyama M, Kannan Y, et al. Characteristics of nitrogen metabolism in rats with thioacetamide-induced liver cirrhosis. Toxicology 1999;132(2-3):155-66.

7.Natarajan SK, Thomas S, Ramamoorthy P, et al. Oxidative stress in the development of liver cirrhosis: a comparison of two different experimental models. J Gastroenterol Hepatol 2006;21(6):947-57.

8.Albrecht J, Hilgier W. Arginine in thioactamide induced hepatogenic encephalopathy in rats: activation of enzymes of arginine metabolism to glutmate. Acta Neurol Scand 1986;73(5):498- 501.

9.Mensink RP, Lebbrink WJ, Lobbezoo IE, Weusten-van der Wouw MP, Zock PL, Katan MD. Diterpene composition of oils from Arabica and Robusta coffee beans and their effects serum lipids in man. Intern Med 1995;237(6):543-50.

10.Lee KJ, Choi JH, Jeong HG. Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbon tetrachloride- induced liver damage in mice. Food Chem Toxicol 2007;45(11):2118–25.

11.Derasagayam TPA, Kamat JP, Mohan H, Ke savan PC. Caffeine as antioxidant: inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. Biochim Biophys Acta 1996;1282(1):63- 70.

12.Mukhopadhyay S, poddarr MK. Caffeine inhibits the development of Ehrlich ascites carcinoma cells in female mice. Indian J Exp Biol 2001;39(8):735- 47.

13.Sherman KE: Alanine aminotransferases in clinical practice. A review. Arch Intern Med 1991;151(2):260-5.

14.Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferease activity in the United States. Gastroentercology 2005;128(1):24-32.

15.Inoue M, Tajiama K, Hirose K, et al. Tea and coffee consumption and the risk of digestive tract cancers: data from a comparative case-referent study in Japan. Cancer Causes Control 1998;9(2):209-16.

16.Bergendi L, Benes L, Darackova Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. Life Sci 1999;65(18-19):1865-74.

17.Hasegawa R, Ogiso T, Imaida K, Shirai T, Ito N. Analysis of the potential carcinogenicity of coffee and its related compounds in a medium-term liver bioassay of rats. Food Chem Toxicol 1995;33(1):15-20.

18.Hosaka S, Kawa S, Aoki Y, et al. Hepatocarcinogenesis inhibition by caffeine in ACI rats treated with 2-acetylaminofluorene. Food Chem Toxicol 2001;39(6):557-61.

19.Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. Toxicology 2008;245(3):194-205

20.Lee KJ, Choi JH, Jeong HG. Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. Food Chem Toxicol 2007;45(11):2118-25.

21.Thabrew MI, Joice PD, Rajatissa W. A comparative study of the efficacy of Pavetta indica and Osbeckia octanda in the treatment of liver dysfunction. Planta Med 1987;53(3):239-41.

Archive of SID

www.SID.ir

22.Kim KH, Bae JH, Cha SW, Han SS, Park KH, Jeng TC. Role of metabolic activation by cytochrome P450 in thioacetamide-induced suppression of antibody response in male BALB/C mice. Toxicol Lett 2000;114(1-3):225-35.
23.La Vecchia C. Coffee, liver enzymes, cirrhosis and liver cancer. J Hepatol 2005;42(4):444-6.
24.Porter WR, Gudzinowcz MJ, Neal RA. Thioacetamide induced hepatic necrosis. II. Pharmacokinetics of thioacetamide and thioacetamide S-oxide in the rat. J Pharmacol Exp Ther1979;208(3):386-91.
25.Bruck R, Aeed H, Avni Y, et al. Melatonin inhibits nuclear factor kappa B activation and oxidative stress and protects against thioacetamide induced liver damage in rats. J Hepatol 2004;40(1):86-93.
26.Sallie R, Tredger JM, Williams R. Drugs and the liver. Part 1: Testing liver function. Biopharm Drug Dispos 1991;12(4):251-9.
27.Hunter AL, Holscher MA, Neal RA. Thioacetamide-induced hepatic necrosis.I. Involvement of the mixed-function oxidase-enzyme system. J Pharmacol Exp Ther1977;200(2):439-48.
28.Li X, Benjamin IS, Alexander B. Reproducible production of thioacetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality. J Hepatol 2002;36(4):488-93.
29.Popov Y, Patsenker E, Bauer M, Niedobitek E, Schulze-Krebs A, Schuppan D. Halofuginone induces matrix metalloproteinases in rat hepatic stellate cells via activation of p38 and NFkappaB. J Biol Chem 2006;281(22): 15090-8.
30.Ahmad A, Pillai KK, Najmi AK, Ahmad SJ, Pal SN, Balani DK. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. J Ethnopharmacol 2002;79(1):35-41.
31.Bacq Y, Zarka O, Bréchot JF, et al. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. Hepatology 1996;23(5):1030-4.
32.Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. Gastroenterology 2005;28(1):24-32.
33.Muriel P, Garcipina T, Perez-Alverez V, Mourelle M. Silymarin protects against paracetamol induced lipid peroxidation and liver damage. J Appl Toxicol 1992;12(6):439-42.
34.Drotman R, Lawhan G. Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. Drug Chem Toxicol 1978; 1(2): 163-71.
35.Pohl A, Behling C, Oliver D, Kilani M, Monson P, Hassanein T. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis chronic hepatitis C Virus infection. Am J Gastroenterol 2001;96(11):314-16.
36.Rossowska MJ, Nakamoto T. Effects of chronic caffeine feeding on the activities of oxygen free radical defense enzymes in the growing rat heart and liver. Experientia 1994;50(5):465-8.
37.Bruck R, Shirin H, Aeed H, et al. Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers. J Hepatol 2001;35(4):457-64.
38.Casiglia E, Spalaore P, Ginocchio G, Amrosio B. Unexpected effects of coffee consumption on liver enzymes. Eur J Epidemiol 1993;9(3):293-7.
39.Huber WW, Rossmanith W, Grusch M, et al. Effects of coffee and its chemopreventive components kahweol and cafestol on cytochrome P450 and sulfotransferase in rat liver. Food Chem Toxicol 2008;46(4):1230-8.
40.Osawa T, Kato Y. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. Ann N Y Acad Sci 2005;1043:440-51.
41.Madani H, Asgari S, Naderi GH, Talebalhosini M. The protective effect of polyphenolic extract of chicory plants on rat liver toxicity. J Herbal Drugs 2004;5(17):32-8. Available at: http://sid.ir/fa/ VEWSSID/J_pdf/ 54113841706. Pdf. [in Persian]
42.Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Stefanadis C. Associations between coffee consumption and inflammatory markers in healthy Persons: the ATTICA study. Am J Clin Nutr 2004;80(4):862-7.

Archive of SID
www.SID.ir

43.Richelle M, Tavazzi I, Offord E. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyohenolic beverages (coffee, cocoa, tea) prepared pre cup serving. J Aragic Food Chem 2001;49(7):3438-42.
44.Corrao G, Zambon A, Bagnardi V, D'Amicis A, Klatsky A; Collaborative SIDECIR Group. Coffee, caffeine and the risk of liver cirrhosis. Ann Epidemiol 2001;11(7):458-65.
45.Tverdal A, Skurtveit S. Coffee intake and mortality from liver cirrhosis. Ann Epidemiol 2003;13(6): 419-23.
46.Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. J Nutr 2003; 133(10): 3275-84.
47.Gupta M, Mazumder UK, Siva Kumar T, Sambath Kumar R, Gomathi P. Antioxidant and hepatoprotective effect of Bauhinia racemosa against paracetamol and carbon tetrachloride induced liver damage in rats. IJPT 2004; 3(3):12-20.

Archive of SID

www.SID.ir