مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۴، شماره۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۸(شماره پی در پی۱۳۴)

Archiv

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

بررسی اثر محافظت کبدی عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن دنایی(Thymus daenensis) بر سمیت کبدی القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی

راضیه انصاری نژاد[۱]، حبیب الله ناظم[۲]، نوید امیدی فر[۳]، هیبت الله صادقی [۴*]

[۱] گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران، [۲] گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور شهرضا، شهرضا، ایران، [۳]گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، [۴]مرکزتحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی، یاسوج، یاسوج، ایران،

تاریخ وصول:۱۳۹۷/۶/۲۲ تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۰۴/۲۹

چکیده :

زمینه و هدف: امروزه بیماری های کبدی یکی از مشکلات مهم جوامع بشری است. یافتن دارویی مؤثر در درمان این اختلالات مورد توجه محققین و پزشکان می باشد آویشن دنایی به واسطه داشتن ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند. هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات محافظت کبدی عصاره هیدروالکلی آویشن دنایی بر سمیت کبدی القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد۴۰ سر موش صحرایی‌نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم به صورت تصادفی به پنج گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان کنترل و در چهار گروه دیگر به وسیله تتراکلریدکربن سمیت کبدی(هپاتوتوکسیک) ایجاد شد. از این چهار گروه یک گروه به عنوان شاهد و در سه گروه دیگر روزانه به ترتیب ۴۰۰ و ۶۰۰، ۸۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش از عصاره پودر گیاه به صورت دهانی داده شد. ۴۵ روز بعد از شروع مطالعه در کلیه گروه‌ها آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز(ALT) آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) وآلکالین فسفاتاز(ALP) و هم‌چنین غلظت‌های سرمی‌پروتئین تام، آلبومین و بیلی‌روبین که از شاخص‌های آسیب‌های کبدی است اندازه‌گیری و با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: غلظت پروتئین تام، آلبومین و بیلی‌روبین تام و مستقیم در گروه کنترل منفی نسبت به گروه کنترل مثبت تفاوت معنی‌داری نداشت($p>0/05$)، ولی میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی تفاوت معنی‌داری را نشان داد($p<0/05$). فعالیت آنزیم‌های کبدی در گروه آزمون II و بیلی روبین در گروه آزمون III کاهش بهتری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد عصاره گیاه آویشن دنایی در برابر آسیب‌های کبدی ایجاد شده به وسیله تتراکلریدکربن دارای اثرات محافظتی است.

واژه‌های کلیدی : سمیت کبدی، آویشن دنایی، تتراکلریدکربن، آمینوترانسفراز، محافظت کبدی

***نویسنده مسئول: هیبت الله صادقی**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکزتحقیقات گیاهان دارویی
Email: hsadeghim@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

مقدمه

کبد در بسیاری از روندهای فیزیولوزیک ضروری نظیر؛ هموستاز گلوکز، ساختن پروتئین‌های ضروری پلاسما، ساخت لیپوپروتئین و لیپید، ساخت و ترشح اسیدهای صفراوی و ذخیره ویتامین‌ها نقش عمده‌ای دارد(۱). با این حال، عوامل متعددی که باعث عوارض کبدی متوسط تا شدید می‌شوند شناخته شده‌اند. الکلیسم مزمن یکی از علل بسیار شناخته شده آسیب‌های کبدی مانند؛ کبد چرب، هپاتومگال و سیروز است. از سوی دیگر، آلودگی محیط زیست و قرار گرفتن افراد در معرض مواد مختلف هپاتوتوکسیک نیز باعث مسمومیت کبدی می‌شود. علاوه بر این، ترکیبات از جمله داروهای بالینی مفید می‌توانند از طریق فعال‌سازی ترکیبات اولیه متابولیک به مواد شدیداً واکنش‌پذیر و هم‌چنین از طریق تحریک تولید رادیکال‌های آزاد مشتق از اکسیژن باعث آسیب کبدی شوند. اگر این داروها بیش از حد و یا به مدت طولانی مورد مصرف قرار بگیرند، کبد عملکرد ضعیف خواهد داشت و به شدت از این دارو آسیب خواهد دید که به علت مشکلات کبدی غیر قابل پیش‌بینی است. گزارش شده این داروها می‌توانند انواع مختلفی از آسیب‌های کبدی را باعث شوند(۲). امروزه به منظور بررسی اثرات حفاظت کبدی داروها و عصاره گیاهان اغلب از مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن استفاده می‌شود. تغییراتی که درآسیب کبدی ناشی از تتراکلریدکربن دیده می‌شود شبیه هپاتیت حاد ویروسی است(۳). آویشن دنایی (Thymus daenensis Celak.) از گیاهان دارویی تیره نعناعیان(Lamiaceae) وحاوی تانن، گلیکوزید، کافئیک و رزمارنیک اسید و غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به ویژه فلاونوئیدها می‌باشد(۴). در ایران ۱۴ گونه مختلف از این جنس در بخش‌های مختلف کشور رویش طبیعی دارد که در این میان 4 گونه(با دو زیر گونه T. daenensis subsp , T. carmanicus T. T daenensis و T. daenensis subsp. daenensis ایران T. trautvetteri و T. persicus) انحصاری هستند(۵). اثرات ضد قارچ، ضدانگل و ضدباکتری این گیاه و اثرات درمانی آن برای درمان آسم، سرفه‌های خشک و مکرر و برونشیت به اثبات رسیده است. از این گیاه داروهایی به شکل شربت، قرص مکیدنی، بخور، قرص خوراکی و عصاره تهیه شده است که از آن جمله می‌توان به شربت توسیان، قطره توسیگل، قطره توسیوین، قطره تیم آرتا، شربت تیمکس، شربت تیمیان و شربت برونکوتیدی اشاره کرد(۶). خواص دارویی گیاهان جنس آویشن باعث شده است تا این گیاهان از معروف‌ترین و متداول‌ترین گیاهان در بین مردم سراسر دنیا باشند. اعتقاد بر این است بخشی از خواص دارویی و اثرات بیولوژیک گیاهان جنس آویشن مربوط به ترکیبات فرار و اسانسی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

موجود در آنها است. از همین رو توجه خاص و روز افزونی به آنالیز ترکیبات فرار و اسانسی آنها شده است(۷) .

سر شاخه‌های آویشن دنایی حاوی؛ اسانس تانن، مواد اصلی تلخ، ساپونین و ضد عفونی کننده‌های گیاهی است. اسانس گیاه شامل مقادیر بسیار متغییری از ترکیب‌های فنلی(۲ تا ۸۰ درصد)، منوترپن‌های هیدروکربنی مانند؛ پاراسیمن، گاماترپینن و الکل‌هایی مانند؛ لینالول،آلفاترپینن و توجان می‌باشد که هر کدام می‌توانند ترکیب عمده اسانس باشند. معمولاً عمده‌ترین ترکیب‌های فنلی جنس آویشن تیمول و کارواکرول است(۸) .

احمد اکبری‌نیا و همکاران در تحقیقی با عنوان بررسی عملکرد، میزان و ترکیب‌های اصلی اسانس آویشن دنایی(Thymus daenensis Celak) کشت شده در قزوین، بر اساس یافته‌های این مطالعه، آویشن دنایی از میزان اسانس و تیمول بالایی برخوردار می‌باشد(۶).

تا به حال پژوهش‌های مختلف و متعددی در خصوص بررسی و تجزیه اسانس گونه‌های مختلف آویشن رویش یافته در نقاط مختلف جهان و از جمله گونه‌های روییده در ایران صورت گرفته است. سفیدکن و همکاران در طی دو مطالعه جداگانه به بررسی اسانس گونه T. kotschyanus پرداختند. بر اساس این پژوهش‌ها اسانس مذکور عمدتاً حاوی کارواکرول، تیمول، گاما ـ ترپینن، پارا سایمن و بورنئول بود(۱۰ و۹). روستاییان و همکاران اسانس سه گونه از آویشن‌های ایران شامل T. pubescens و T. carmanicus، T. kotschyanus را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس این مطالعه ترکیبات اصلی شناخته شده در این اسانس‌ها عبارت بودند از؛ تیمول(۴۰/۸ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸درصد)، گاما- ترپینن، پارا سایمن، بورنئول در اسانس T. carmanicus؛ تیمول(۳۸/ درصد)، کارواکرول(۱۴/۲ درصد)، ۱ـ ۸ سینئول(۱۳/۲درصد)، لینالول و پارا سایمن در اسانس T. kotschyanus و تیمول(۳۷/۹درصد)، کارواکرول(۱۴/۱ درصد)، پارا ـ سایمن(۱۳/۱درصد)، گاما ترپینن و لینالول در اسانس T. pubescens(۱۱). سفیدکن و همکاران در طی دو مطالعه به بررسی اسانس گونه‌های T. pubescens و T. Persicus پرداختند. بر اساس این پژوهش‌ها اسانس گونه T. pubescens غنی از کارواکرول(۴۸/۸ درصد) و تیمول(۱۳/۹ درصد) بود(۱۲). در حالی که اسانس گونه T. persicus عمدتاً حاوی تیمول(۲۷/۱ درصد) و ژرانیول(۹/۴درصد) بود(۱۳). میری و همکاران در طی مطالعه‌هایی که بر روی اسانس گونه T. transcaspicus در سال 2002 به انجام رساندند، نشان دادند این اسانس غنی از تیمول(۵۶/۴درصد)، گاما ترپینن(۷/۷ درصد)،

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

کارواکرول(۷/۶ درصد) و پارا سایمن(۶/۳درصد) می‌باشد(۱۴). نتایج این پژوهش‌ها و سایر بررسی‌های مشابه نشان می‌دهد، ترکیبات معطری چون تیمول، کارواکرول، پارا سایمن، گاما ترپینن از اجزای اصلی اکثر اسانس‌های جنس آویشن می‌باشند.

معیار فعالیت محافظت کبدی اندازه‌گیری متغییرهای بیوشیمیایی شامل گلوتات اگزالواستات ترانس آمیناز(SGOT) و گلوتات پیرووات ترانس آمیناز(SGPT) می‌باشد(۱۵)، لذا هدف از این تحقیق تعیین و اثرات محافظت کنندگی عصاره هیدروالکلی آویشن دنایی بر روی کبد در مقابل سمیت القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی از نژاد ویستار و با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و به حیوانخانه دانشکده پزشکی یاسوج منتقل گردید.

در مطالعه حاضر اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. حیوانات به صورت چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیده و از نظر رژیم غذایی و آب محدودیتی نداشتند. بعد از یک هفته سازگاری حیوانات با محیط شرایط جدید موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. گروه اول(گروه سالم) که روغن زیتون با دوز یک میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاق دریافت کردند، گروه دوم(گروه بیمار) و گروه‌های آزمون(گروه‌های آزمون۱، II و III) یک میلی‌لیتر محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون(به نسبت ۱به ۱) به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاقی هفته‌ای دوبار دریافت کردند . گروه‌های گروه‌های آزمون۱، II و III پس از تزریق محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون روزانه به ترتیب ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان از پودر عصاره آویشن دنایی به صورت محلول در آب مقطر از طریق دهانی دریافت کردند. درتمام گروه‌ها هر ده روز وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد(۱۶). ۴۵ روز بعد از شروع مطالعه، موش‌ها با دی‌اتیل اتر بیهوش و از قلب آنها خون‌گیری شد و پس از بیهوشی نخاعی در موش‌ها، کبد موش‌ها به صورت کامل از بدن جدا و بعد از اندازه گیری وزن آنها، لب چپ کبدی برای مطالعات هیستوپاتولوژی در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری گردید(۱۷). نمونه خون‌های به دست آمده۲۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاه نگهداری و بعد از لخته گیری به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سرم هر لوله جمع‌آوری گردید. با استفاده از کیت‌های تشخیص

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

طبی شرکت پارس آزمون آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز(ALT) آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز(ALP) و هم‌چنین غلظت‌های سرمی پروتئین تام، آلبومین و بیلی‌روبین که از شاخص‌های مهم ارزیابی آسیب‌های کبدی است اندازه‌گیری شد(۱۸ و۱۷).

برگ گیاه آویشن دنایی که مصرف خوراکی دارد در اوایل فصل بهار در سال ۱۳۹۵ از کوه‌های اطراف شهر یاسوج مرکز استان کهگیلویه وبویر احمد جمع‌آوری و در شرایط مناسب، دور از نور آفتاب خشک و سپس پودر شد.۲۵۰ گرم از پودر آویشن دنایی با ۲/۵ لیتر اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و سپس صاف گردید. این عمل طی دو مرحله انجام می‌گرفت. تحت شرایط خلاء و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تغلیظ در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم نهایی۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. عصاره به دست آمده در ویال‌های ۱۰ میلی‌لیتری تا زمان استفاده در فریزر ۲۰ــ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید(۱۹).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل گردید .

یافته‌ها

در جدول ۱ میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم های کبدی در گروه های مورد مطالعه نشان داده شده است که بر این اساس تغییرات میانگین سطح سرمی آنزیم ALP در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک که روزانه دورزهای ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ گیاه آویشن دریافت می‌نمودند تفاوت معنی‌داری با گروه بیمار و گروه سالم ندارد. تغییرات میانگین سطح سرمی آنزیم‌های ALT و AST در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک تحت تیمار دوزهای مذکور عصاره برگ گیاه آویشن تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد($p<۰/۰۵$). گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم عصاره میانگین عددی نزدیکی به گروه سالم دارد.

با توجه به جدول ۲ که وضعیت تعیین تأثیر عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه آویشن روی سطح سرمی غلظت بیلی‌روبین تام و مستقیم در موش‌های هپاتوکسیک را نشان می‌دهد، تغییرات میانگین سطح سرمی غلظت بیلی‌روبین تام و مستقیم در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک تحت تأثیر عصاره برگ گیاه آویشن تفاوت معنی‌داری با گروه بیمار و گروه سالم ندارد.

تغییرات میانگین سطح سرمی غلظت آلبومین در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک تحت تأثیر عصاره برگ گیاه آویشن تفاوت معنی‌داری با گروه بیمار و گروه سالم دارد، اما تغییرات پروتئین تام معنی‌دار نمی‌باشد. علاوه بر این، عصاره برگ گیاه آویشن دنایی سطح سرمی‌آلبومین و پروتئین تام در موش‌های هپاتونوکسیک را افزایش می‌دهد(جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

یافته‌ها نشان داد کـه میـزان سـرمیMDA بـین گروه سالم، گروه بیمـار و گـروه‌هـای آزمـون تفـاوت معنی‌داری را نشان می دهد(p>۰/۰۵)(جدول ۴).

نتایج بررسی‌هـای هیسـتوپاتولوژیکی کبـد در حیوان‌های سالم نشـان دهنـده سـلول‌هـای نرمـال بـا سیتوپلاسم سالم و هسته و رگ مرکزی برجسته بود. در حیوان‌های با مصـرف تتراکلریـدکربن سـلول‌هـای کبدی میزان بالای تخریب به صورت نکـروز و التهـاب پورتـــال را نشـــان دادنـــد. احتقـــان رگ مرکـــزی و سینوزوئیدهایی که سلول‌های التهابی حاد و مزمن بـه خصـوص در مرکـز آن تجمـع پیـدا کـرده بودنـد و سـاختمان طبیعـی کبـد کـاملاً تخریـب شـد، مشـاهده گردید. گروه آزمونII، تغییرات بسیار کم و سـاختمان تقریباً شبیه سلول‌های نرمال بود. مشاهدات نشـان داد که درمان با آویشن دنایی بـا دوز ۶۰۰ میلـی‌گـرم بـه ازای هر کیلوگرم وزن بدن بهبود قابل توجه در نکروز کبدی ناشی از تتراکلریدکربن ایجاد مـی‌کنـد و کـاهش التهاب سلول‌های پورتال را موجب می‌شود. در گـروه آزمون I تخریب و نکروز سلول‌هـا تـا انـدازه‌ای دیـده می‌شد و التهاب سلول‌های پورتال را موجب می‌شـود. تغییرات سلول‌های کبد تا حدی نرمـال بـود. در گـروه آزمون III، نکروز سلول‌ها و التهاب پورتـال کبـدی بـه میزان بیشتر دیده شد و بهبود کمتر از دو گروه دیگـر ایجاد شد، هم‌چنین تفاوت قابل توجهی بین این گروه و گروه آزمونII از نظر نکروز سلول‌های کبدی و التهاب سلول‌های پورتـال دیـده نشـد(p>۰/۰۵) در ایـن گـروه میزان تخریب کلی ساختمان کبد با گروه‌های آزمـون I و II تفاوت قابل توجهی داشت(p<۰/۰۵)(شکل ۱).

جدول ۱: تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی هیپاتوکسیک ناشی از تجویز تتراکلرید کربن

نام گروه	آنزیم آلکالن فسفاتازUA/L (میانگین±انحرف معیار)	آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز UA/L (میانگین±انحرف معیار)	آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز UA/L (میانگین±انحرف معیار)
سالم	۵۱۱/۷۱ ±۷٤/۵	۸۰/۷۱ ± ۱۰/۹	۱٦٦/۲۸± ۳۷/۰۲
بیمار	۵٤۷± ±٤٦/۰۹	۳۷۷± ۷٦/۲۲	۳۸۱±۸۲/۷۷
آزمون I	٦۳۷± ٤٤/۵۲	٤۹۸/۵۷±۱٦۷	٤۱۷± ۸٦/٦۹
آزمون II	۵۱۷/٦ ± ٦۱/۲۱	۲٤۰/٦ ± ۵۳/۹	۳۱۱ ± ۵۲،۵
آزمون III	٦۹۱/۵ ± ۱۳۷/٤	۹۵۰/۲۵ ± ۱۷۲/۲	۸۵۹ ± ۱۸۲/۰۱

UA/L واحد بین المللی در لیتر .آلانین آمینوترانسفرز=ALT . آسپارتات آمینوترانسفراز =AST . آلکالین فسفاتاز =ALP

p<۰/۰۰۱ * نسبت به گروه سالم، p<۰/۰۰۰۱** نسبت به گروه بیمار، p<۰/۰۰۱ بین گروه ۳ و ۴ و۵ در هر سه متغییر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

جدول ۲: تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان سطح سرمی بیلی‌روبین مستقیم و توتال در موش‌های هپاتوکسیک در مقایسه با گروه‌های سالم و بیمار

نام گروه	بیلی روبین مستقیم (میانگین±انحرف معیار)	بیلی روبین توتال (میانگین±انحرف معیار)
سالم	۰/۰۹۷ ± ۰/۰۰۵	۰/۲۸ ± ۰/۰۱۲
بیمار	۰/۱ ± ۰	۰/۲۸± ۰/۰۱
آزمون I	۰/۰۹۵ ±۰/۰۳	۰/۳۱ ± ۰/۰۱۵
آزمون II	۰/۰۹۶ ±۰/۰۳	۰/۲۷ ± ۰/۰۱۰
آزمون III	۰/۰۹۵ ± ۰/۰۰۵	۰/۲۶ ± ۰/۰۳

p<۰/۰۰۱ * نسبت به گروه سالم، p<۰/۰۰۰۱** نسبت به گروه بیمار، p<۰/۰۰۱ بین گروه ۳ و ۴ و۵ در هر سه متغییر

جدول ۳ : تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان سطح سرمی آلبومین و پروتئین تام در موش‌های هپاتوکسیک در مقایسه با گروه‌های سالم و بیمار

نام گروه	آلبومین (میانگین±انحرف معیار)	پروتئین تام (میانگین±انحرف معیار)
سالم	۳/۰٤ ± ۰/۱۹	٦/۸٤ ± ۰/٤۳
بیمار	۳/۱٦ ±۰/۱۱	٦/٦۹± ۰/٤٥
آزمون I	۳/۱۷ ±۰/۰۹	۷/۱٦ ± ۰/٤۲
آزمون II	۳/۳۲ ± ۰/۲۳	۷/۲۰ ± ۰/۳۷
آزمون III	۳/۳۳±۰/۰۳	٦/۸٥ ± ۰/٥۲

p<۰/۰۰۱ * نسبت به گروه سالم، p<۰/۰۰۰۱** نسبت به گروه بیمار، p<۰/۰۰۱ بین گروه ۳ و ۴ و۵ در هر سه متغییر

جدول ۴: تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان بر مالون‌دی‌آلدئید در سرم موش‌های هپاتونوکسیک در مقایسه با گروه‌های سالم و بیمار

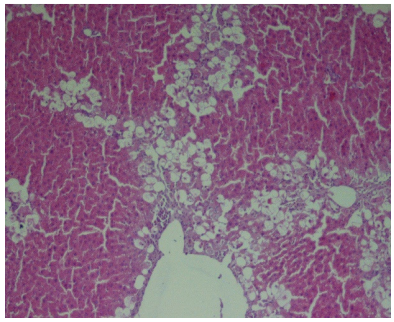
گروه	مالون دی آلدهئید (نانومول بر میلی‌لیتر) (میانگین±انحرف معیار)
سالم	۳/۸٥ ± ۰/٤٦
بیمار	٥/۲ ±۰/٦٦
آزمون I	٤/۷۳ ± ۰/۳۸
آزمون II	٤/۲ ± ۰/٤۹
آزمون III	۳/۳۷ ± ۰/٥٦

p<۰/۰۰۱ * نسبت به گروه سالم، p<۰/۰۰۰۱** نسبت به گروه بیمار، p<۰/۰۰۱ بین گروه ۳ و ۴ و۵ در هر سه متغییر

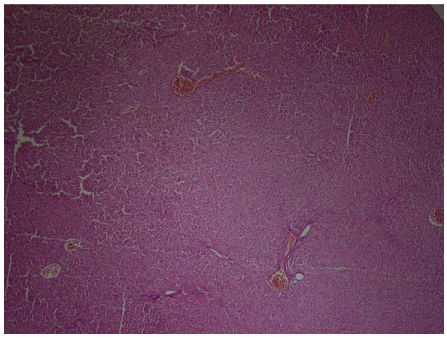
www.SID.ir

Archive of SID

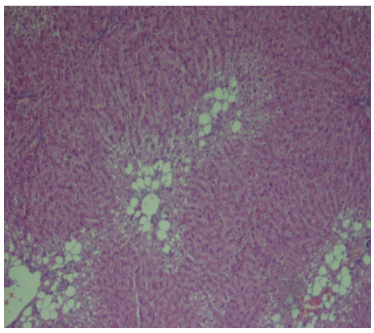
Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019



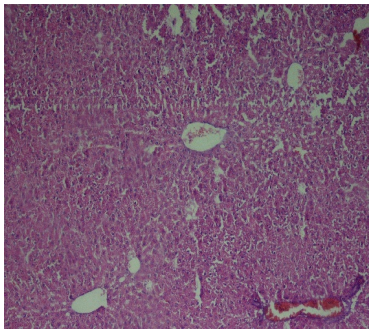
گروه کنترل بیمار



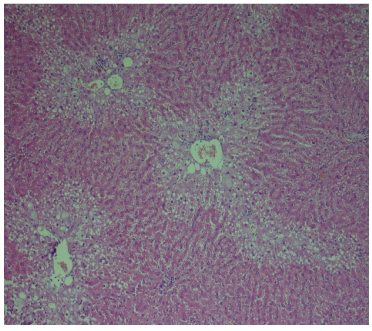
گروه کنترل سالم



گروه آزمونII



گروه آزمونI



گروه آزمونIII

شکل ۱: مطالعه هیستوپاتولوژیکی کبد(بزرگنمایی 10X، گروه سالم ،شاهد و آزمون I، II،III رنگ آمیزی H&E). درگروه سالم سلول‌های کبدی نرمال با سیتوپلاسم سالم و هسته و رگ مرکزی مشخص دیده می‌شود. در گروه بیمار، سلول‌های کبدی با میزان بالای تخریب به صورت نکروز و احتقان رگ مرکزی و سینوزوئیدهای واجد سلول‌های التهابی دیده می‌شود. در گروه‌های آزمون تغییراتی که بیانگر آسیب‌های کبدی باشد بسیار کم و ساختمان تقریباً شبیه سلول‌های نرمال است.

بحث

تغییرات ناشی از تتراکلریدکربن شبیه بیماری‌های کبدی مزمن ناشی از ویروس‌ها می‌باشد. تتراکلرید کربن به وسیله سیستم سیتوکروم P450 به رادیکال‌های آزاد تری کلرومتیل تبدیل می‌شود . رادیکال‌های آزاد تولید شده به طور کووالانی با غشاءهای سلولی و اندامک‌ها متصل می‌شود و باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و اختلال

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

در هموستاز کلسیم ودر نهایت مرگ سلول می‌گردد(۱۸-۱۶)، هدف از این تحقیق تعیین و اثرات محافظت کنندگی عصاره هیدروالکلی آویشن دنایی بر روی کبد در مقابل سمیت القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بود.

کبد اندام اصلی متابولیسم، ترشح و دفع مواد است و به طور مدام در معرض انواع مختلف ترکیب‌های درونی و بیرونی قرار می‌گیرد. شیوع بیماری‌های کبدی در جهان رو به گسترش است و داروهای شیمیایی مصنوعی علاوه بر این که کارآیی کاملاً مطمئنی در درمان این بیماری‌ها ندارند، اثرات جانبی ناخواسته‌ای را نیز به دنبال دارند، به همین دلیل ضرورت دارد که جایگزین واقعی برای درمان بیماری‌های کبدی به دنیای علم‌پزشکی وارد شود(۲۰). نتایج این مطالعه نشان داد که تغییرات میزان آنزیم‌های کبدی در گروه سالم در مقایسه با گروه بیمار افزایش معنی‌داری داشته است. در گروه آزمون دریافت کننده دوزهای ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم عصاره آویشن دنایی، میزان آنزیم‌های کبدی نسبت به گروه بیمار کاهش داشته و در گروه آزمون دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن این فاکتورها کاهش بهتری نسبت به سایر گروه‌ها نشان می‌دهد که بیانگر خاصیت محافظت کبدب عصاره گیاه آویشن دنایی در موش های هپاتوتوکسیک است.

اختلال در یکپارچگی غشا پلاسمایی سلول‌های کبدی باعث می‌شود آنزیم‌هایی که به طور طبیعی در داخل سیتوزل قرار دارند، وارد جریان خون شوند که بهترین شاخص برای مطالعه وضعیت کبدی است(۲۱). افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم خون از شاخص‌های اصلی آسیب‌های کبدی ناشی از توکسین می‌باشد. برگشت فعالیت آنزیم‌های کبدی به طرف حالت طبیعی و هم‌چنین کاهش غلظت بیلی‌روبین و افزایش پروتئین تام آلبومین سرم از شاخص‌های اصلی درمان کبد و بازیابی سلامت این ارگان مهم بدن است(۲۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغییرات غلظت بیلی‌روبین توتال و مستقیم در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری ندارد. هر چند مصرف عصاره گیاه آویشن سبب کاهش میزان سطح سرمی بیلی‌روبین در دوزهای ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرمی شده است. غلظت بیلی‌روبین در گروه آزمون I نسبت به گروه بیمار افزایش نشان داد که می‌تواند نشانگر تخریب سلول‌های کبدی و عدم وجود ماده حفاظتی باشد(جدول ۲).

در این مطالعه میانگین تغییرات غلظت آلبومین تفاوت معنی‌داری دارد، گرچه عصاره گیاه آویشن سطح سرمی پروتئین تام را در گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم کاهش داده است، ولی غلظت پروتئین تام در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج پژوهش‌های گذشته نیز نشان داده است که CCl_4 منجر به افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) و آسیب سلولی به ماکرومولکول‌های حیاتی نظیر پروتئین‌ها و لیپیدها در غشا سلولی می‌شود که

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

سمیت سلولی و به دنبال آن مرگ سلولی نکروزیس یا آپوپتوزیس را برای سلول رقم می‌زند. به علت خواص آنتی‌اکسیدانتی ترکیباتی نظیر؛ فلاوونوئیدها، کارتنوئیدها و دیگر ترکیبات طبیعی در گیاهان، پژوهش‌های زیادی برای مطالعه اثرات محافظتی چنین ترکیباتی طراحی شده است(۲۲). نتایج یک مطالعه نشان داد، عصاره گل گیاه وحشی Nymphea pubescens منجر به مهار سمیت ناشی از CCL4 در کبد موش‌های صحرایی می‌شود. این مطالعه نشان داد که نقش محافظتی عصاره گل مورد استفاده به علت حضور مقادیر نسبتاً بالای فلاوونوئیدها، فنول‌ها و ساپونین‌ها در عصاره گیاهی می‌باشد(۲۳).

نتایج بررسی هیستوپاتولوژی نشان داد که تفاوت قابل توجهی در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. مشاهدات نشان داد که درمان با آویشن دنایی با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بهبود قابل توجهی در نکروز کبدی ناشی از تتراکلریدکربن ایجاد می‌کند.

مطالعه پرورده و همکاران جهت بررسی اثر محافظت کبدی عصاره هیدروالکلی صمغ پسته که مانند آویشن دنایی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، نشان داد که عصاره گیاه صمغ پسته به علت داشتن ترکیبات فلاونویید باعث کاهش آنزیم کبدی در موش‌های سمی شده به وسیله تتراکلریدکربن، شد(۲۴). یافته‌های فوق از نظر کاهش سطح آنزیم‌های کبدی با مطالعه انجام شده هم سو می‌باشد.

با توجه به نتایج این مطالعه گرچه عصاره هیدروالکلی آویشن دنایی در دوزهای ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن هیچ تغییر معنی‌داری بر میزان سطح سرمی‌بیلی روبین نداشت، ولی عصاره این گیاه سبب کاهش میزان سطح سرمی‌بیلی روبین در دوزهای ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم شده که نشان دهنده حضور ماده حفاظتی می‌باشد. درمطالعه‌های نبوی‌زاده و همکاران تأثیر عصاره هیدرالکلی عناب را روی هیپربیلیروبینمی نوزادان بررسی نمودند، که نتایج آزمایش‌ها بیانگر عدم کاهش معنی‌دار غلظت بیلی‌روبین به وسیله این گیاه می‌باشد(۲۵). نتایج این مطالعه با توجه به این که گیاه آویشن دنایی همانند گیاه عناب خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد هم جهت و هم سو می‌باشد.

مهدیه هدایتی و همکاران جهت بررسی اثر گیاه گلدر از خانواده نعناعیان بر سطح سرمی‌گلوکز و لیپیدها در موش‌های صحرایی نشان داد که گیاه گلدر به خاطر نقش آنتی‌اکسیدانی در بهبود دیابت شیرین اثر کاهنده بر سطح سرمی لیپیدها دارد(۲۶)، همان‌طور که در این تحقیق آویشن دنایی از خانواده نعناعیان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و میزان مالون دی‌آلدئید را در گروه‌های آزمون نسبت به گروه کنترل بیمار کاهش داد و بیشترین کاهش را در گروه آزمون ۱۱ دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد(۲۷).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تتراکلریدکربن تغییرات بافت‌شناسی را در بافت کبد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

القا می‌کند که این تغییرات شامل نفوذ سموم و نکروز در هپاتوسیت‌ها می‌باشد، اما در گروه‌های آزمون به طور معنی‌داری کاهش پارامتری مورد بررسی ناشی از مهار سمیت تتراکلریدکربن می‌باشد. مطالعه سارهان و شاهاف نشان داد که دیازینون موجب پرخونی عروق خونی، نفوذ لوکوسیت‌ها در سلول‌های کبدی، نکروز هپاتوسیت‌ها، واکوئله شدن سیتوپلاسم و ذخیره چربی در هپاتوسیت‌ها شده است(۲۷). نتایج این مطالعه با نتایج گزارش شده به وسیله محققین دیگر در تغییرات بافت‌شناسی کبد در جانوران مطابقت دارد.

نتایج مطالعه آیت الهی و همکاران نشان داد که عصاره الکلی گیاه سیلی مارین در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تا حدزیادی از گسترش نکروز کبدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی ناشی از تزریق تتراکلریدکربن جلوگیری به عمل آورده و روند دژنزاسیون و ترمیم ضایعه‌های بافتی را به طور چشمگیری بهبود و تسریع می‌بخشد(۲۸).

پیشنهاد می شود در یک مطالعه جامع وضعیت فیتوشیمی گیاه آویشن دنایی و اثرات ترکیبات مهم آن در اختلالات کبدی مورد ارزیابی قرار گیرد. کمبود ویا فقدان دستگاهها و امکانات آنالیز فیتوشیمیایی از جمله محدودیت های مطالعات تکمیلی این تحقیق می باشد

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که آویشن دنایی در موش های صحرایی دارای خاصیت محافظت کبدی است. پژوهش‌های بیشتری بر روی ترکیب‌های مؤثره آویشن دنایی و چگونگی مکانیسم اثر حفاظتی آن بر روی سمیت سلول‌های کبدی ضروری به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بر گرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1395.72 دانشگاه پیام نور اصفهان می‌باشد، نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را بدین وسیله از عزیزالله جعفری، جهت همکاری در شناسایی علمی گیاه آویشن دنایی و هم‌چنین از اعضای مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و بخش بیوشیمی دانشگاه علوم‌پزشکی یاسوج که این تحقیق تحت حمایت نظر آنها انجام شد، اعلام نمایند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

REFERENCES

1.Androli T, Carpenter C, Griggs R, Benjamin I. Diseases of the Liver and Biliary System. in:Cecil's Essentials of Medicine. 7th ed. USA: WB Saunders Company; 2007; 23.

2.Chatterjee M, Sarkar K, Sil PC. Herbal(Phyllanthus niruri) protein isolate protects liver from nimesulide induced oxidative stress. Pathophysiology 2006; 13(2): 95-102.

3.Ramachandra Setty S, Quereshi AA, Viswanath Swamy A, Patil T, Prakash T, Prabhu K, et al. Hepatoprotective activity of Calotropis procera flowers against paracetamol-induced hepatic injury in rats. Fitoterapia 2007; 78(7): 451-4.

4.Ghasemi Pirbalouti A, Hashemi M, Ghah farokhi FT. Essentiol oil and chemical compositions of wild and cultivated thymus daenensis celak and thymus vulgavis L. Ind Corp Prod 2013; 48: 43-8.

5. Rechinger, K. H. 1982: Scutellaria in Rechinger, K. H. (ed.), Flora Iranica 150: 44-84. -Graz.

6.Akbarinia A, MirzaM. Identification of essential oil component of Thymus daenensis clack in field condition in qazvin. Research Center of Qazvin Agriculture and Natural Resourse 2010; 22: 1-8.

7.Stahl-Biskup E, Saez F. Thyme. The Genus Thymus: Taylor & Francis; 2002: 330.

8.Leung AY, Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients: Used in Food , Drugs and cosmetics. A Wily Interscience Publication 1996; 14: 688.

9.Sefidkon F, Jamzad Z, Yavari R, Nouri-Sharg D, Dabiri M. Essential oil composition of *Thymus kotschyanus* Boiss. et Hohen. from Iran. Journal of Essential Oil Research 1999; 11: 459-60.

10.Sefidkon F, Dabiri M. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of Thymus kotschyanus Boiss. Flavour Fragr J 1999; 14: 405-8.

11.Rustaiyan A, Masoudi SH, Monfared A, AndKomeilizadeh H. Volatile constituents of three Salvia species grown wild in Iran . Flavour and Fragrance Journal 1999; 4(5): 276-8.

12.Sefidkon F, Asgari F, Ghorbanli M. Essential oil composition of Thymus pubescens Boiss. et Kotschy ex Celak from Iran. J Essent Oil Res 2002; 14: 116-7.

13.Sefidkon F, Dabiri M, Mirmostafa SA. The essential oil of Thymus persicus (Ronniger ex Rech f) Jalas from Iran. J Essent Oil Res 2002; 14: 351-2.

14.Miri R, Ramezani M, Javidnia K, Ahmadi L. Composition of the volatile oil of Thymus transcaspicus Klokov from Iran. Flavour Fragr J 2002; 17: 245-6.

15.Wong CK, Ooi VEK, Ang PO. Protective effects ofsee weeds against liver injury caused by carbon tetrachloride in rats .Chemesphere 2000; 41: 173-6.

16.Venukumar MR, Latha MS. Hepatoprotective of the methanolic extract of *Curculigo orchioides* in CCl4-treated male rats. Indian J Pharmacol 2002; 34: 269-75.

17.Panahi Kokhdan E, Ahmadi K, Sadeghi H, Sadeghi H, Dadgary F, Danaei N, et al. Hepatoprotective effect of Stachys pilifera ethanol extract in carbon tetrachloride-induce hepatotoxicity in rats. Pharma Res Biol 2017; 55(1); 1389–93.

18. Sadeghi H, Hosseinzadeh S, Akbartabar M, Ghavamzadeh M, Jafari Barmak M, sayahi M, et al. Hepatoprotective effect of Rosa canina fruit extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. Avicenna J Phytomed 2016**;** 6(2): 181-8.

19.Ulican O, Greksak M, Vancova O, Zlatos L, Galbavy S, Bozek P, et al. Hepatoprotective effect of Roobos tea (*Aspalathus linearis*) on CCl4 –induced liver damage in rats. Physiol Res 2003; 52: 461-66.

20.Yang H, Lee MK, Kim YC. Protective activities of stilbene glycosides from Acer mono leaves against H2O2-induced oxidative damage in primary cultured rat hepatocytes. J Agric Food Chem 2005; 53: 4182-6.

21.Farzaei MH, Rahimi R, Attar F, Siavoshi F. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and extracts of Tragopogongraminifolius, a medicinal herb from Iran. Nat Prod Commun 2014; 9(1): 121-4

22.Debnath S, Ghosh S. Inhibitory effect of Nymphaea pubescens Willd. flower extract on carrageenaninduced inflammation and CC-linduced hepatotoxicity in rats. Food ChemToxicol 2013; 59(1): 485-91.

23.Parvardeh S, Nyapur M, Hosseinzadeh H. Hepatic protection effects of hydraulic extract of Pistachio gum on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in ratsMedicinal Plants. No IV Fall 2002; 1: 34.

24.Ebrahimi S, Sadegi H, Pourmahmoudi A, Askariyan SH, Askari S. Protective effect of zizphus vulgaris extract, on liver toxicity in laboratory rats. Journal Armaghan Danesh 2011; 16(2): 62.

www.SID.ir

Archive of SID

25.Hedayati M, Pouraboli I, Pouraboli B. Effect of methanolic extract of otostegia persica on serum levels of glucose and lipids in type i diabetic male rats. iranian journal of endocrinology and metabolism. 2010; 12 (4) :435-442
26.Shokrzadeh M, Ahangar N, Abdollahi M, Shadboorestan A, Omidi M, Hosseini Payam SS. Evaluating the effects of diazinon on hepatic glutathione levels in rats and protective roles of selenium and l-carnitine. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(91): 31-8.
27.Yaghmaii P. Investigating the anxiolytic effects of marine flint derived from marjoram thyme in Rat. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences1389: 15: 43-51.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

www.SID.ir

Arc

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:39 +0330 on Tuesday November 5th 2019

Evaluation of the Hepatoprotective Effect of Hydroalcoholic Extract of Thymus Daenensis on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats

Ansari Nejad R[1], Nazem HA[2], Omidifar N[3], Sadeghi H[4*]

[1]Department of Biochemistry, Isfahan Payam Noor University, Isfahan, Iran, [2]Department of Biochemistry, Payam Shahreza University, Shahreza, Iran, [3]Department of Pathology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, [4]Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 13 Sep 2018 Accepted: 20 July 2019

Abstract

Background & aim: Liver disease is one of the major problems in human societies today. Effective drug treatment for these disorders is of interest to researchers and physicians worldwide due to their polyphenolic and flavonoid compounds, they have high antioxidant properties. The aim of this study was to determine and investigate the hepatoprotective effects of hydroalcoholic extract of Thymus vulgaris on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats.

Methods: In this experimental study, 40 Wistar rats weighing 220-250 g were randomly divided into five groups of eight. One group was treated as control and the other four groups were induced by hepatotoxic carbon tetrachloride. Of these four groups, one group received orally 400 mg / kg, 800 mg / kg / day of rat powder in the other three groups, respectively. 45 days after study in all groups, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (ALP) enzymes, as well as serum total protein, albumin, and bilirubin concentrations were measured using aqueous acid test and data were analyzed using ANOVA.

Results: Total protein, total albumin and bilirubin concentration in the negative control group were not significantly different from the positive control group ($p > 0.05$), but the liver enzyme activity was significantly different ($p < 0.05$). Hepatic enzyme activity in group II and bilirubin in group III showed a better decrease.

Conclusion: The results of this study show that the extract of Thymus vulgaris has protective effects against carbon damages caused by carbon tetrachloride.

Keywords: Liver Toxicity, *Thymus daenensis*, Carbon Tetrachloride, Amino Transferase, Liver Protein

[*]**Corresponding Author: Sadeghi H,** Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email:

Please cite this article as follows:
Ansari Nejad R, Nazem HA, Omidifar N, Sadeghi H. Evaluation of the Hepatoprotective Effect of Hydroalcoholic Extract of Thymus Daenensis on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats. Armaghane-danesh 2019; 24(3): 413-426

www.SID.ir