

اثر هیپاتوپروتکتیو (حفاظت کبدی) عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان (*Oliveria decumbens*) در برابر مسمومیت کبدی القا شده با کلریدکادمیم در موش صحرائی نر بالغ

سمیه رحیمی کازرونی^۱، مختار مختاری^۲، مهرداد شریعتی^۳، مریم رحیمی کازرونی^۱

^۱ کارشناس ارشد علوم جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون

^۲ دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون

^۳ دانشیار، دکترای زیست شناسی تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون

چکیده

سابقه و هدف: کادمیم فلزی سمی است که استفاده‌های فراوانی در صنعت دارد. این عنصر بر روی اندام‌های مختلف بدن از جمله کبد اثرات سمی می‌گذارد. در این مطالعه، اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان بر میزان آنزیم‌های *AST*، *ALT*، *ALP* به دنبال مسمومیت ناشی از کلریدکادمیم در موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۸ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار به ۶ گروه ۸ تایی به صورت زیر تقسیم شدند: گروه کنترل بدون هیچ تیمار دارویی، گروه شاهد دریافت کننده آب مقطر، گروه تجربی ۱ تیمار شده با ۲ mg/kg کلریدکادمیم، گروه تجربی ۲ تیمار شده با ۵۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان و گروه‌های تجربی ۳ و ۴ که ابتدا ۲ mg/kg کلریدکادمیم و سپس به ترتیب ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg عصاره را به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش، از نمونه‌های خونی آماده شده برای اندازه گیری غلظت سرمی آنزیم‌های *AST*، *ALT*، *ALP* استفاده شد.

یافته‌ها: میزان آنزیم‌های *AST*، *ALT*، *ALP* در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد تفاوت معنی‌داری در میزان آنزیم‌ها مشاهده نشد. در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه تجربی ۱ تفاوت معنی‌داری در میزان آنزیم‌های *AST*، *ALT*، *ALP* مشاهده نشد. در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۱ کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم‌های *AST*، *ALT*، *ALP* مشاهده شد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد عصاره لعل کوهستان اثر حفاظتی در برابر مسمومیت کبدی ناشی از فلزات سنگینی مثل کادمیم دارد و باعث بهبود عملکرد کبد می‌شود.

واژگان کلیدی: *ALP*، *AST*، *ALT*، کلریدکادمیم، لعل کوهستان، موش صحرائی.

مقدمه

کادمیم یکی از عناصر سمی است که در محیط اطراف ما وجود دارد و با توجه به نیمه عمر طولانی آن، اثرات زیان‌باری

روی بدن انسان می‌گذارد. کادمیم در صنعت استفاده‌های فراوانی دارد، از جمله می‌توان به تولید باتری، تولید رنگ‌ها، آب‌کاری فلزات صنایع نظامی، کودها، مواد ثبات بخش در پلاستیک (PVC) اشاره نمود (۱). همچنین کادمیم می‌تواند از طریق آب، غذا، هوا و دخانیات وارد بدن انسان شود (۱،۲). کادمیم از آلاینده‌های صنعتی محیط زیست است که سبب آسیب بافتی در بدن انسان و حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد

آدرس نویسنده مسئول: کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه زیست شناسی، دکتر مختار

مختاری (email: Mokhtar_Mokhtary@Yahoo.Com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۱۱/۱۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۱/۱۷

های اصلی گیاه لعل کوهستان محسوب می‌شوند (۱۵) که همگی جزء آنتی‌اکسیدان‌ها به شمار می‌روند (۱۶). گاماترپینن و پاراسیمن پیش‌ساز سنتز تیمول و پاراسیمن پیش‌ساز سنتز تیمول و کارواکرول است و تیمول ایزومری از کارواکرول است. تیمول و کارواکرول اجزاء اصلی فنیل پروپانویید لعل کوهستان می‌باشند (۱۳). ترکیبات فنولیک در گیاهان دارای اثرات بیولوژیکی متعددی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد و اثرات ضد التهابی و ضد سرطانی هستند (۱۷). ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیاءکنندگی و ساختار شیمیایی آن‌هاست که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (۱۸). با توجه به اینکه تاکنون در مورد اثر حفاظتی لعل کوهستان مطالعاتی انجام نشده است، تاثیر عصاره هیدروالکلی این گیاه بر میزان آنزیم‌های کبدی شامل ALT، AST و ALP به دنبال مسمومیت ناشی از کلریدکادمیم در موش صحرایی نر بالغ بررسی شد.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، از ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۵-۲۰۰ g و سن ۳-۲/۵ ماه استفاده شد. حیوانات از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه شد. درجه حرارت محیط 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد در طول شبانه روز بود و در شرایط نوری به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. زمان آزمایش تیرماه ۱۳۹۲ و مکان آزمایش نیز مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون بود. آب آشامیدنی از آب لوله‌کشی شهری و تغذیه حیوانات به وسیله خوراک مخصوص موش (غذای فشرده) که از شرکت سهامی خوراک دام و طیور پارس تهیه شده بود، به طور آزادانه در اختیار حیوانات قرار داده شد. قفس‌های نگهداری حیوانات از جنس پلی‌کربنات بود که هفته‌ای دو بار ضد عفونی و خرده‌های چوب آن هر روز تعویض می‌شد. به منظور سازش حیوانات با محیط آزمایشگاه تمام آزمایش‌ها یک هفته پس از استقرار و سازش حیوانات در محیط آزمایش انجام شد. در کلیه مراحل تحقیق، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. به منظور القاء مسمومیت در موش‌های صحرایی از

(۳). تجمع کادمیم در بدن سبب مسمومیت و آسیب بافتی در اندام‌هایی نظیر کبد، ریه، کلیه و بیضه می‌شود. بیش‌ترین غلظت کادمیم در روده و سپس در کبد و کلیه تشخیص داده شده است (۴). کادمیم سبب آسیب بافتی و مرگ سلولی در بافت‌های مختلف می‌شود (۵) و خاصیت تراژونیک و کارسینوژنیک دارد (۲)، اما نقش تراژونیک آن در انسان کاملاً روشن نیست (۶). پیشنهاد شده است این ترکیب از طریق ایجاد پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجب اختلال در فعالیت بیولوژیکی سلول‌ها و در نتیجه باعث وقفه در سنتز پروتئین، اختلال در متابولیسم لیپیدها، کربوهیدرات و اسیدهای آمینه می‌شود (۷-۱۰). همچنین کادمیم با مهار آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز باعث تجمع رادیکال‌های آزاد، آسیب سلول‌ها و بیماری‌های مزمن می‌گردد (۱۱). مطالعات نشان داده است ترکیبات آنتی‌اکسیدان نقش قابل توجهی در کاهش آسیب‌های ناشی از کادمیم به عهده دارد (۷، ۱۲). کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن به شمار می‌آید که در تنظیم بسیاری از پدیده‌های فیزیولوژیک دارای اهمیت است و اختلال در عملکرد آن باعث می‌شود مجموعه‌ای از اختلالات فیزیولوژیک، آناتومیک و انواعی از بیماری‌های مختلف به وجود آید. با توجه به اینکه آنزیم‌ها در همه بافت‌ها از جمله کبد فعالیت دارند، با اندازه‌گیری آنزیم‌هایی مانند آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) می‌توان به آسیب‌های سلولی و اختلال در فعالیت‌های آندوکرینی و متابولیکی بدن پی برد. با کشف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی با استقبال خوبی روبه رو شده است. امروزه گیاهان تیره چتریان مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. در بین این گیاهان، می‌توان به لعل-کوهستان اشاره کرد که یکی از گیاهان بومی ایران می‌باشد و در بین عامه به نام "دن" یا "دنگ" یا "موشکورک" نامیده می‌شود. لعل کوهستان، گیاهی یک ساله، ایستاده و معطر به ارتفاع ۴۵-۲۰ سانتی‌متر است. ساقه آن محکم، دارای انشعابات دو شاخه و شاخه‌های فراوان ایستاده، گسترده، سفید بی‌کرک یا مانند ساقه کرکدار است. برگ‌ها به صورت بُن‌رُست و دمبرگ‌دار هستند (۱۴). در طب سنتی ایران از این گیاه در درمان سوء هاضمه، اسهال، دردهای شکمی و رفع تب استفاده می‌شود (۱۵). گزارش‌هایی از اثر آنتی‌باکتریایی و ضد قارچی برای این گیاه در دست است. تیمول (۴۷/۱٪)، کارواکرول (۲۳/۳٪)، گاماترپینن (۱۸/۹٪) و پاراسیمن (۸/۷٪) ترکیب

kinetic و روش توصیه شده انجمن شیمی بالینی و پزشکی آزمایشگاهی (IFCC) اندازه‌گیری شدند. برای تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و متعاقب آن تست Tukey و Duncan توسط نرم افزار SPSS استفاده شد. مرز استنتاج آماری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقایسه میانگین و انحراف معیار میزان آنزیم آلانین ترانسفراز (ALT) نشان داد بین گروه‌های کنترل (u/l $86/8 \pm 2/93$) و شاهد (u/l $86/6 \pm 0/56$) نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. میزان آنزیم ALT در گروه تجربی ۱ (u/l $116/8 \pm 2$) نسبت به گروه‌های کنترل (u/l $86/8 \pm 2/93$) و شاهد (u/l $86/6 \pm 0/56$) افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). در گروه تجربی ۲ (u/l $87 \pm 4/54$) نسبت به گروه‌های کنترل (u/l $86/8 \pm 2/93$) و شاهد (u/l $86/6 \pm 0/56$) تفاوت معنی‌داری در میزان آنزیم ALT مشاهده نشد. میزان سرمی آنزیم ALT در گروه تجربی ۳ (u/l $108/2 \pm 6/18$) نسبت به گروه تجربی ۱ (u/l $116/8 \pm 2$) کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). در گروه تجربی ۴ (u/l $84/5 \pm 1/95$) نسبت به گروه تجربی ۱ (u/l $116/8 \pm 2$) کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم ALT مشاهده شد (جدول ۱).

مقایسه میزان آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (AST) نشان داد بین گروه‌های کنترل (u/l $290 \pm 12/79$) و شاهد (u/l $285/2 \pm 26/81$) نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. میزان آنزیم AST در گروه تجربی ۱ (u/l $8/53$) و شاهد (u/l $408/5 \pm 25/15$) نسبت به گروه‌های کنترل (u/l $290 \pm 12/79$) و شاهد (u/l $285/2 \pm 26/81$) کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود. میزان آنزیم AST در گروه تجربی ۳ (u/l $408/5 \pm 8/53$) نسبت به گروه تجربی ۱ (u/l $8/53$) کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود. در گروه تجربی ۴ (u/l $312/5 \pm 9/01$) نسبت به گروه تجربی ۱ (u/l $8/53$) کاهش معنی‌داری در میزان آنزیم AST مشاهده شد ($p < 0.05$) (جدول ۱).

مقایسه میانگین کالکالین فسفاتاز (ALP) نشان داد بین گروه‌های کنترل (u/l $602/8 \pm 16/22$) و شاهد (u/l $592 \pm 14/44$) نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. میزان آنزیم ALP در گروه تجربی ۱ (u/l $874/7 \pm 9/86$) نسبت به گروه‌های کنترل (u/l $602/8 \pm 16/22$) و شاهد (u/l $592 \pm 14/44$) افزایش معنی‌داری را

کلریدکادمیم ساخت شرکت مرک آلمان استفاده شد. لعل کوهستان در اردیبهشت ماه ۹۲ از منطقه شهرستان کازرون در استان فارس جمع‌آوری گردید و در شرایط مناسب و دور از آفتاب خشک شد. سپس با استفاده از آسیاب برقی گل‌های گیاه را به صورت پودر درآورده و جهت تهیه عصاره، از روش پرکولاسیون استفاده شد. در این روش ۵۰ گرم از پودر حاصل را درون ظرف دستگاه پرکولاسیون ریخته شد. سپس به پودر موجود هیدروالکل ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت، شیر دستگاه پرکولاتور را باز کرده و قطره قطره عصاره را جمع‌آوری نموده و هم‌زمان از بالا بوسیله قیف جداکننده قطره قطره محلول هیدروالکل اضافه شد تا زمانی که عصاره به دست آمده دیگر رنگی از گیاه نداشته باشد. آن‌گاه عصاره به دست آمده را به وسیله دستگاه روتاری یا بن‌ماری در حرارت ۵۰-۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ کرده، در ادامه برای آن که عصاره کاملاً خشک گردد، به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه دسیکاتور قرار داده شد. در مرحله بعد مقادیر مورد نظر از عصاره خشک شده در آب‌مقطر حل شد تا غلظت‌های مختلف به‌دست آید (۱۹).

حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ تیمار دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد ۰/۲ میلی‌لیتر آب‌مقطر روزانه به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۱، ۲ mg/kg کلریدکادمیم روزانه به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۲، ۵۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان روزانه به صورت گاوژ به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. دوز مؤثر لعل کوهستان بر اساس مطالعات مقدماتی و دوز کلریدکادمیم بر اساس مطالعات قبل انتخاب گردید (۲۰). گروه‌های تجربی ۳ و ۴ ابتدا ۲ mg/kg کلریدکادمیم روزانه به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. بعد از مسمومیت با کلریدکادمیم، گروه‌های ۳ و ۴ عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان را به ترتیب با مقادیر ۲۵۰ mg/kg و ۵۰۰ mg/kg روزانه به صورت گاوژ به مدت ۲۱ روز دریافت کردند.

در پایان دوره آزمایش، پس از بیهوشی با اتر و باز کردن قفسه سینه، خون‌گیری از ناحیه بطنی قلب انجام گرفت. نمونه‌های خونی به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند تا سرم از لخته جدا شود. پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها تا زمان انجام سنجش‌های آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و نگهداری شدند. آنزیم‌های کبدی با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت پارس‌آزمون ایران و به وسیله دستگاه اتوآنالیزر تمام اتوماتیک (Technico RA-1000) ساخت آمریکا و به روش

در این تحقیق، اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان با مقادیر ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg در مدت ۲۱ روز بر میزان آنزیم های کبدی به دنبال مسمومیت مزمن با کلریدکادمیم به مقدار ۲ mg/kg (به مدت ۲۱ روز) در موش صحرایی نر بالغ مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. مقایسه نتایج به دست آمده نشان داد فعالیت آنزیم های ALT، AST و ALP در گروه دریافت کننده کلریدکادمیم به تنهایی افزایش معنی داری نسبت به گروه های کنترل و شاهد نشان می دهند. مقایسه میزان ALT، AST و ALP در گروه دریافت کننده کلریدکادمیم به همراه عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان به مقدار ۵۰۰ mg/kg نسبت به گروه دریافت کننده کلریدکادمیم به تنهایی کاهش معنی داری را نشان می دهد و به سطح گروه کنترل نزدیک شده است (جدول ۱).

ایجاد مسمومیت در اندام های بدن از جمله کبد به واسطه کادمیم به خوبی به اثبات رسیده است و حتی در مسمومیت مزمن تاثیرات کارسینوژنیک نیز مطرح می باشد (۲۷). تحقیقات نشان می دهد استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال های آزاد مانند گونه های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) که در حضور کادمیم تشکیل می گردند، مسئول اعمال تاثیرات سمی این فلز سنگین در بسیاری از اندام های بدن و سلول ها می باشند که می توانند به عنوان پیغام هایی جهت القای مرگ سلولی عمل نمایند (۳).

لذا کادمیم با مداخله در مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی و همچنین تولید ROS منجر به القای مرگ سلولی می گردد که براساس یافته ها مرگ سلولی از نوع آپوپتوز می باشد (۳). رادیکال های آزاد به علت ایجاد آسیب اکسیداتیو در لیبیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک منجر به بیماری های التهابی، دیابت، آترواسکلروز، سکت قلبی و مغزی، سرطان، نقص ایمنی و پیری در انسان می شوند (۲۸). شاخص بالینی آسیب دیدگی کبد، انجام آزمایش های عملکرد کبدی است، اگر چه اغلب آن ها برای کبد اختصاصی نیستند، ولی چنانچه مقادیر آن ها غیر طبیعی باشد، منشا اختلال کبدی محتمل است. از متداول ترین آنزیم هایی که به عنوان شاخص آسیب کبدی مورد سنجش قرار می گیرند، ترانس آمینازها شامل آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و الکالین فسفاتاز هستند.

Tandon و همکاران در سال ۱۹۹۲ گزارش کردند تزریق داخل صفاقی ۱ میلی گرم کادمیم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۷ روز متوالی موجب افزایش آنزیم های AST و ALT در کبد موش صحرایی می گردد (۱۰). رابرت و همکارانش نشان دادند تزریق ۳/۹ میلی گرم به ازای هر

نشان داد ($p < 0.05$). در گروه تجربی ۲ ($51/5 \pm 10/3$ u/l) نسبت به گروه های کنترل ($60/2 \pm 16/22$ u/l) و شاهد ($59/2 \pm 14/44$ u/l) میزان آنزیم ALP کاهش یافت، ولی این کاهش معنی دار نبود. میزان سرمی آنزیم ALP در گروه تجربی ۳ ($79/1 \pm 42/27$ u/l) نسبت به گروه تجربی ۱ ($87/4 \pm 9/86$ u/l) کاهش یافت، ولی این کاهش معنی دار نبود. در گروه تجربی ۴ ($619 \pm 28/78$ u/l) نسبت به گروه تجربی ۱ ($87/4 \pm 9/86$ u/l) کاهش معنی داری در میزان آنزیم ALP مشاهده شد ($p < 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین (\pm انحراف معیار) غلظت سرمی ALT (آلانین ترانسفراز)، AST (آلانین آمینوترانسفراز) و ALP (الکالین فسفاتاز) بین گروه های تجربی، کنترل و شاهد

	ALP(u/l)	AST(u/l)	ALT(u/l)
کنترل	60/2 ± 16/22	290 ± 12/79	86/8 ± 2/93
شاهد	59/2 ± 14/44	285/2 ± 26/81	86/6 ± 0/56
تجربی ۱	87/4 ± 9/86*	40/8 ± 5/53*	116/8 ± 2*
تجربی ۲	55/1 ± 10/3	259/1 ± 25/15	87 ± 4/54
تجربی ۳	79/1 ± 42/27	342/5 ± 4/13	10/8 ± 6/18
تجربی ۴	619 ± 28/78**	312/5 ± 9/01**	84/5 ± 1/95**

* اختلاف معنی دار با گروه کنترل و شاهد ($p < 0.05$). ** اختلاف معنی دار گروه های تجربی ۳ و ۴ با گروه تجربی ۱ ($p < 0.05$). گروه کنترل هیچ تیمار دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر روزانه به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۱، ۲ کلریدکادمیم روزانه به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۲، عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان روزانه به صورت گاوژ به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. دوز مؤثر لعل کوهستان بر اساس مطالعات مقدماتی و دوز کلریدکادمیم بر اساس مطالعات قبل انتخاب گردید (۲۰). گروه های تجربی ۳ و ۴ ابتدا ۲ mg/kg کلریدکادمیم روزانه به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. بعد از مسمومیت با کلریدکادمیم، گروه های ۳ و ۴ عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان را به ترتیب با مقادیر ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg روزانه به صورت گاوژ به مدت ۲۱ روز دریافت کردند.

بحث

بیماری های کبدی از مشکلات جهانی است. داروهای شیمیایی مورد استفاده برای درمان این بیماری ها اغلب دارای اثرات جانبی است (۲۱). بنابراین تحقیق برای یافتن داروهای مناسب گیاهی که بتوان جایگزین داروهای مورد استفاده در حال حاضر شوند، لازم و ضروری می باشد. بسیاری از مواد طبیعی با منشاء گیاهی در طب سنتی برای درمان و حفاظت کبد مورد استفاده بوده اند (۲۲، ۲۳). ترکیبات فنلی دسته ای از ترکیبات شیمیایی گیاهی هستند که اثرات درمانی و حفاظتی بسیاری به آن ها نسبت داده شده است و از جمله آنتی اکسیدان های شناخته شده می باشند. این ترکیبات در درمان و حفاظت سلول های کبدی در برابر آسیب های اکسیداتیو نیز مورد توجه می باشند (۲۴-۲۶).

همان طور که در مقدمه ذکر گردید گزارشاتی از اثرات آنتی باکتریایی و ضد قارچی این گیاه در دست است. ولی در مورد اثرات حفاظتی آن بر مسمومیت کبدی در موش صحرایی گزارش علمی ارائه نشده است، لذا امکان مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق با سایر گزارش‌ها وجود ندارد. در طب سنتی ایران از این گیاه در درمان سوء هاضمه، اسهال، دردهای شکمی و رفع تب استفاده می‌شود (۱۵). تحقیقات اخیر نشان داده است گیاه لعل کوهستان دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ترکیبات فنلی می‌باشد. مهم‌ترین ترکیبات فنلی لعل کوهستان، تیمول و کارواکرول است (۱۳) و اثرات بیولوژیکی مختلفی از جمله اثرات ضد التهابی، ضد لیشمانیایی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی را می‌توان به آن‌ها نسبت داد (۳۳). مطالعات نشان داده‌اند ترکیبات مذکور ممکن است پاسخ ایمنی و تغییرات متابولیکی را تحریک کنند و همچنین مانع از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو از طریق سرکوب سطح ROS، پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطح گلوتاتیون شوند (۳۴،۳۵). علاوه بر این، کارواکرول می‌تواند با سرکوب بیان ژن TNF و IL-6 باعث تضعیف فرآیندهای التهابی و در نتیجه کاهش آسیب بافت شود. این احتمال وجود دارد که اثرات حفاظتی عصاره لعل کوهستان به توانایی آن در جدا کردن کادمیم از طریق تشکیل کمپلکس‌های فنل-کادمیم باشد. ترکیبات فنلی از طریق اهدا الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کند. این موضوع بیانگر آن است که لعل کوهستان احتمالاً از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، منجر به غیرفعال ساختن رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط کلرید کادمیم شده و از آسیب به غشای سلول‌ها و القای نکروز و همچنین از آزاد شدن آنزیم‌های کبدی به سرم جلوگیری می‌کند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان کبد را در برابر مسمومیت کبدی ناشی از کلرید کادمیم محافظت می‌کند و اثرات مسمومیت‌زایی کلرید کادمیم را کاهش می‌دهد. احتمالاً اثرات حفاظتی این گیاه به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنلی آن وابسته است. البته بیان قطعی این نتایج مستلزم تحقیقات بیشتر است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون که موجبات انجام این تحقیق را فراهم نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

کیلوگرم وزن بدن کادمیم به فاصله هر ۱۰ ساعت باعث نکروز کبدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌شود (۲۹). همچنین مطالعات نشان می‌دهد تزریق داخل صفاقی کلرید کادمیم موجب افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع، تجمع رادیکال‌های آزاد و کاهش غلظت مس و روی، آهن، سلنیوم، گلوتاتیون و آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت‌های کبد و کلیه موش صحرایی می‌شود (۸). نتایج این تحقیق نشان داد تزریق داخل صفاقی کلرید کادمیم موجب افزایش آنزیم‌های کبدی از جمله ALT، AST و ALP می‌گردد که با تحقیقات گذشته همخوانی دارد. از آن جایی که این آنزیم‌ها درون سلولی هستند و در مواردی که آسیب سلولی رخ دهد به جریان خون وارد می‌شوند، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که کلرید کادمیم موجب آسیب سلول‌های کبدی شده است. قابل ذکر است که آنزیم‌های ALT و AST در میتوکندری قرار دارند (۳۰،۳۱). یکی از مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد شروع پراکسیداسیون لیپیدها است که موجب آسیب در غشای سلولی و تغییر فعالیت آنزیمی می‌شوند که در نهایت به آسیب سلولی و نکروز کبدی منجر می‌گردد. نکروز کبدی منجر به افزایش سطح سرمی آنزیم‌های شاخص می‌شود که در کبد به داخل خون، آزاد می‌شوند. به طور کلی، افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی به عنوان یک مارکر در شناسایی آسیب کبدی ناشی از داروها، الکل و ویروس‌ها شناخته می‌شود (۳۲). تحقیقات نشان داده است آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی می‌توانند از آثار سمی داروها روی کبد جلوگیری و باعث کاهش آزاد شدن آنزیم‌های کبدی به داخل خون شوند. نارینجینینگ (naringenin) آنتی‌اکسیدان موجود در مرکبات، استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیم را در کبد مهار می‌کند (۱۲) در تحقیق حاضر، موش‌هایی که علاوه بر کلرید کادمیم عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان دریافت کرده بودند، میزان آنزیم‌های ALT، AST و ALP در مقایسه با گروه مسموم شده با کلرید کادمیم، کاهش معنی‌داری را نشان دادند. برگشت آنزیم‌های فوق به حالت طبیعی توسط عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان، دلیل واضحی بر اثرات حفاظتی عصاره این گیاه است که احتمال دارد علت آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مؤثر لعل کوهستان باشد که با ایجاد ثبات غشایی در سلول‌ها، موجب حفاظت از سلول‌های کبدی در مقابل استرس اکسیداتیو می‌شود و از آزاد شدن آنزیم‌های کبدی به سرم جلوگیری می‌کند.

REFERENCES

1. Mantau H, Baudo R. Sources of cadmium, its distribution turnover in the freshwater environment. IARC Sci Publ 1992;118:133-48.
2. EFSA. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on cadmium in food. The EFSA Journal 2009;980: 1-139.
3. Pari L, Murugavel P, Sitasawad SL, Sandeep Kumar K. Cytoprotective and antioxidant role of diallyl triol tetrasulfide on cadmium induced renal injury: an in vivo and in vitro study. Life Sci 2007; 80:650-58.
4. Liu J, Qu W, Kadiiska MB. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. Toxicol Appl Pharmacol 2009;238:209-14.
5. Wang SH, Shih YL, Lee CC, Chen WL, Lin CJ, Lin YS, et.al. The role of endoplasmic reticulum in cadmium-induced mesangial cell apoptosis. Chem Biol Interact 2009;181:45-51.
6. Koksai M, Ilgaz C, Erdogan D, Ozogul C, Tong EK, Kalender H. Ultrastructure of rat pup's Purkinje neurons whose mothers were exposed to ethanol during pregnancy and lactation. Int J Neurosci 2005; 115: 1669-86.
7. Bobillier-Chaumont S, Maupoil Y, Berthelot A. Metallothionein induction in the liver, kidney, heart and aorta of cadmium and isoproterenol treated rats. J App Toxicol 2006; 26: 47-55.
8. Csalino E, Calzaetti G, Sblano C, Landriscina C. Molecular inhibitory mechanism of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. Toxicology 2002;179:37-50.
9. Yalin S, Comelekoglu U, Bagis S, Sahin NO, Ogenler O, Hatungil R. Acute effect of single-dose cadmium treatment on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in ovariectomized rats. Ecotoxicol Environ Saf 2006;65:140-44.
10. Tandon SK, Singh S, Dhawan M. Preventive effect of vitamin E in cadmium intoxication. Biomed Environ Sci 1992 ;5: 39-45.
11. Koyuturk M, Yanardag R, Blokent S, Tundi S. Influence of combined antioxidants against cadmium induced testicular damage. Environ Toxicol Pharmacol 2006;21:235-40.
12. Renugadevi J, Prabu SM. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. Exp Toxicol Pathol 2010;62:171-81.
13. Mahboubi M, Feizabadi M, Haghi G, Hosseini H. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from *Olivaria decumbens* Vent. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2008; 24: 56-65.
14. Amiri H, Lari Yazdi H, Dosti B, Samsamnia F. Essential oil composition and anatomical study of *Olivaria decumbens* Vent. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2011; 26: 513-20.
15. Amin Gh, Salehi Sourmaghi MH, Zahedi M, Khanavi M, Samadi N. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Olivaria decumbens*. Fitoterapia 2005;76:704-707.
16. Ruberto G, Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chemistry 2000;69: 167-74.
17. Huang WY, Cai YZ, Zhang Y. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. Nutr Cancer 2010;62:1-20.
18. Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. Food Chemistry 2007; 105: 57-64.
19. Shariat SH, ed. Herbal extract. 1st ed. Isfahan: Mani Publications; 2004. P.12-14.
20. Deveci E, Deveci S. The effects of cadmium chloride on the oesophagus of rats. Int J Morphol 2011; 29:678-80.
21. Germano MP, Sanogo R, Costa C. Hepatoprotective properties in the rat of *Mitracarpus scaber* (rubiacaceae). J Pharm Pharmacol 1999;51:729-34.
22. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: Part II. J Ethnopharmacol 2003; 89:217-19.
23. Yoshikawa M, Xu F, Morikawa T, Ninomya K, Matsuda H, Anaststins A and B, new skeletal flavonoids with hepatoprotective activities from the desert plant *Anastatica hierochuntica*. Bioorg Med Chem Lett 2003; 13: 1045-49.

24. Janbaz KH, Saeed SA, Gilani AH. Protective effect of rutin on paracetamol and CCl₄- induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia* 2002; 73: 557-64 .
25. Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 2002; 177:67- 80.
26. Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rosen RT. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chemistry* 2004; 85: 19-26.
27. Murugavel P, Pari L. Effects of diallyl tetrasulfide on cadmium- induced oxidative damage in the Liver of rats. *Hum Exp Toxicol* 2007;26:527-34 .
28. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* 2010;4:118- 26.
29. Robert E, Donald J. Acute exposure to cadmium cause severe liver injury in rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982;65: 302-13.
30. Badrish S, Nishant P. Ameliorative action of cyanobacterial phycoerythrin on CCl₄- induced toxicity in rats. *Toxicology* 2008; 248: 59–65.
31. Shiota G, Tsuchiya H, Hoshikawa Y. The liver as a target organ of retinoids. *Hepatol Res* 2006; 36: 248-54.
32. Sherlock S, Dooley J, eds. *Drugs and the liver, in diseases of liver biliary system*. 11th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 2002. P.322.
33. Nostro A, Sudano Roccaro A, Bisignano G, Marino A, Cannatelli MA, Pizzimenti FC, et.al. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Med Microbiol* 2007;56:519-23 .
34. Kim YS, Hwang JW, Kang SH, Kim EH, Jeon YJ, Jeong JH, et al. Thymol from *Thymus quinquecostatus* Celak. protects against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in Chang cells. *J Nat Med* 2014; 68:154-62.
35. Mehraein– Ghomi F, Basu HS, Chuch DR, Hoffmann FM, wilding G. Androgen receptor requires JunD as a coactivator to switch on an oxidative stress generation pathway in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2010; 70: 4560-68.