مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۶، خرداد ۱۳۹۶، ۲۳۸-۲۲۷

اثرات حفاظتی عصاره الکلی سورانه (*Allium saralicum R.M. Fritsch*) بر مسمومیت کبدی القاءشده با تتراکلریدکربن در موش سوری

نادرگودرزی[۱]، محمدمهدی زنگنه[۲]، اکرم زنگنه[۲]، فریبا نجفی[۳]، رضا تحویلیان[۴]

دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۹ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۶/۲/۱۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۶/۲/۳۰ پذیرش مقاله: ۹۶/۳/۱

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان دارویی به علت داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی می‌توانند از کبد در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی محافظت نمایند. هدف این مطالعه بررسی خصوصیات حفاظتی گیاه سورانه (*Allium saralicum R.M. Fritsch*) در برابر مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن در موش سوری بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر ۳۵ سر موش سوری نر به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند. گروه کنترل منفی ۱ میلی‌لیتر در هر کیلوگرم روغن زیتون و کنترل مثبت ۱ میلی‌لیتر در هر کیلوگرم محلول ۵۰٪-۵۰٪ تتراکلریدکربن و روغن زیتون را داخل صفاقی دریافت نمودند. سه گروه تیمار به ترتیب دوزهای ۲۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم عصاره اتانولی سورانه را به‌صورت گاواژ دریافت نمودند. تمامی تیمارها دو بار در هفته و به مدت ۴۵ روز انجام شد. در روز پایانی، سطوح سرمی آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) اندازه‌گیری شد. در مقاطع بافتی حجم تام کبد، سینوزوئیدها، هپاتوسیت‌ها، سیاهرگ مرکزی، سیاهرگ باب، سرخرگ کبدی، مجاری صفراوی در گروه‌ها تخمین زده شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تحلیل شدند.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه کنترل مثبت، عصاره اتانولی سورانه توانست سطوح افزایش‌یافته آنزیم‌های کبدی و حجم کبد، هپاتوسیت‌ها و سینوزوئیدها را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عصاره اتانولی سورانه در دوزهای پایین و متوسط می‌تواند کبد را در برابر تخریب‌های ناشی از سموم کبدی محافظت نماید.

واژه‌های کلیدی: سورانه، تتراکلریدکربن، موش سوری، مسمومیت کبدی، آنتی‌اکسیدانت

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی علوم پایه و پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
تلفن: ۰۸۳-۳۸۳۲۲۵۹۹، دورنگار: ۰۸۳-۳۸۳۲۰۰۴۱، پست الکترونیکی: n.goodarzi@razi.ac.ir
۲- دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۳- استادیار گروه آموزشی پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- استادیار مرکز تحقیقات دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

مقدمه

کبد به‌عنوان مهم‌ترین اندام متابولیسم بدن در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی ضروری مانند هموستاز گلوکز، تولید پروتئین‌های ضروری پلاسما، لیپوپروتئین و لیپیدها، ساخت و ترشح اسیدهای صفراوی و ذخیره ویتامین‌ها نقش کلیدی دارد [۱]. علاوه بر این، کبد به‌واسطه نقش اصلی که در سم‌زدایی مواد سمی با منشأ داخلی و خارجی دارد، به‌طور مداوم در معرض انواع مختلف سموم داخلی و خارجی با غلظت بالا قرار دارد [۲]. مستندات فراوانی نشان می‌دهد که رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال‌شده اکسیژن در آغاز و تنظیم مراحل مختلف بیماری‌های کبدی، صرف‌نظر از علت اصلی آن، نقشی کلیدی دارند [۳]. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در مواد غذایی و بدن، حتی در مقادیر ناچیز، می‌توانند بدن را در مقابل انواع مختلف آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت کنند [۵-۴].

گیاهان دارویی به علت سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و قیمت مناسب، به‌عنوان جایگزین‌های شایسته داروهای شیمیایی همواره مورد توجه بوده و در چند دهه اخیر به‌طور خاص مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند [۷-۶]. اغلب گیاهان دارویی به علت داشتن ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی از جمله ویتامین‌های B و C، کاروتنوئیدها، لیکوپن‌ها و فلاونوئیدها می‌توانند از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد جلوگیری نمایند [۱۰-۸]. برخی عصاره‌های خام گیاهی مورداستفاده در طب سنتی نظیر کاسنی، خار مریم و شاه‌تره، منبعی غنی از ترکیباتی با خواص پیشگیری‌کننده و حفاظت‌کننده به‌ویژه در کبد هستند [۱۳-۱۱]. تاکنون مطالعات مختلفی، اثرات حفاظت کبدی گیاهانی مانند عناب [۱۴]، پسته [۱۵]، فوماریا [۱۶]، سیلی‌مارین [۱۷] را نشان داده‌اند.

گیاه والک سوری با نام محلی سورانه و نام علمی *Allium saralicum R.M. Fritsch* از خانواده لاله-پیاز است. از لحاظ پراکندگی، این گیاه در استان‌های کرمانشاه، همدان و قزوین پراکنده شده است. گیاهان اعضای این خانواده مانند سیر، تره‌کوهی و والک با داشتن ترکیباتی مانند سولفوکسیدهای سیستئین، می‌توانند محافظت‌کننده پوست در برابر عوامل آسیب‌رسان باشند و کلسترول سرم را نیز کاهش دهند [۱۸]. علاوه بر این، عوامل آنتی‌اکسیدان و افزایش‌دهنده آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به مقادیر بالا در گیاهانی مانند والک گزارش شده است [۱۹]. در این مطالعه، برای نخستین بار اثرات حفاظت کبدی عصاره الکلی گیاه سورانه بر مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن از منظر تغییرات هستوپاتولوژیکی به روش استریولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های کبدی مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در گروه علوم پایه و پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی در بهار سال ۱۳۹۵ انجام شده است. گیاه سورانه از سطح استان کرمانشاه جمع‌آوری شده و به قسمت هرباریوم مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان کرمانشاه جهت شناسایی و تأیید جنس، گونه و زیرگونه ارسال شد (شماره هرباریوم: 2738RUH). به‌منظور تهیه عصاره الکلی، پس از خشک کردن کامل

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

گیاه در محل تاریک و بدون رطوبت به مدت یک هفته، برگ‌های جوان گیاه از سایر قسمت‌ها جدا و سپس کاملاً خرد گردید. مقدار ۱۵۰ گرم از پودر گیاه با دقت وزن شده و بر روی آن ۴۵۰ میلی‌لیتر (به نسبت یک‌به‌سه وزنی/ حجمی) اتانول مطلق ریخته، مخلوط را به مدت ۲ ساعت با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده و هم‌زمان به هم زده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط گذاشته شد و پس‌ازآن، عصاره توسط کاغذ واتمن شماره ۲ (Whatman, UK) صاف گردید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری با پمپ خلأ، Heidolph Collegiate, LABOROTA 4000, Germany) گردیده و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت‌زمان یک ساعت، حلال تبخیر شد و عصاره تغلیظ‌شده به دست آمد [۱۲].

در این مطالعه ۳۵ سر موش سوری نر بالغ و سالم از نژاد ویستار با میانگین وزن ۳±۳۶ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه خریداری و در محدوده دمایی ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. حیوانات به‌صورت نامحدود به آب و غذا دسترسی داشتند.

یک هفته پس از سازگاری با محیط، حیوانات به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند؛ گروه اول به‌عنوان گروه کنترل منفی (C_n) دو بار در هفته (روزهای شنبه و سه‌شنبه) روغن زیتون (۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، به‌صورت تزریق درون‌صفاقی، و هم‌زمان ۰/۵ سی‌سی آب مقطر به‌صورت گاواژ دریافت کردند. به گروه دوم به‌عنوان کنترل مثبت (C_p) دو بار در هفته (روزهای شنبه و سه‌شنبه) به‌صورت درون‌صفاقی محلول ۵۰٪-۵۰٪ روغن زیتون و تتراکلریدکربن به میزان یک میلی‌لیتر در هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد. گروه‌های تیمار سوم، چهارم و پنجم به‌طور هم‌زمان تزریق درون‌صفاقی محلول ۵۰٪-۵۰٪ روغن زیتون و تتراکلریدکربن به میزان ۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به ترتیب عصاره هیدروالکلی سورانه با دوزهای ۲۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن ($T_{۲۰۰}$، $T_{۸۰۰}$ و $T_{۱۶۰۰}$) به‌صورت گاواژ دریافت کردند.

پس از ۴۵ روز، حیوانات به‌وسیله کلروفرم بی‌هوش شدند و نمونه‌گیری خون به‌صورت مستقیم از قلب حیوانات صورت گرفت. سرم نمونه‌های خون به‌وسیله سانتریفیوژ (Hettich, EBA 20) ۱۰٫۰۰۰ دور در دقیقه جدا شده و برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز (Alkaline phosphatase; ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase; AST) و آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase; ALT) با کیت‌های پارس‌آزمون مورد استفاده قرار گرفت. پس از تشریح حیوانات، کبد از بدن خارج و با استفاده از ترازوی دیجیتال (Sartorius, TE212) با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ روز در ظروف مخصوص نمونه‌برداری حاوی مایع ثبوت فرمالین بافر ۱۰٪ منتقل شد. در این مطالعه، برای اندازه‌گیری کمی پارامترهای بافتی از روش‌های استریولوژیک استفاده گردید [۲۱]. ازآنجایی‌که حجم اندام متعاقب ثبوت، پردازش بافتی و رنگ‌آمیزی دچار چروکیدگی (Shrinkage) می‌شود، برای تخمین حجم نهایی اندام بایستی میزان چروکیدگی را محاسبه نمود. تخمین میزان چروکیدگی به مقاطع ایزوتروپیک یکنواخت و تصادفی نیاز دارد. این مقاطع با

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

استفاده از روش Orientator به دست آمد. در این روش، هر لوب کبد بر روی دایره‌ای که هر نیمه آن به ۱۰ قسمت برابر تقسیم شده است قرار گرفت. سپس یک عدد تصادفی بین ۰ تا ۱۰ انتخاب شد و لوب کبدی در جهت عدد انتخاب‌شده به دو نیمه برش داده شد. سطح برش هر نیمه موازی روی دایره دیگری که هر نیمه آن به ده قسمت نابرابر تقسیم شده بود، قرار داده شد و دوباره با انتخاب یک عدد تصادفی بین ۰ تا ۱۰ در جهت عدد انتخاب‌شده برش داده شد. سپس تمام بافت در جهت برش دوم به مقاطع دو میلی‌متری برش داده شد. به‌طورکلی، از هر کبد ۷ تا ۱۰ مقطع به‌طور تصادفی انتخاب گردید [۲۱-۲۰]. از یکی از مقاطع انتخاب‌شده، قطعه‌ای دایره‌ای‌شکل توسط یک تروکار برداشته شد و قطر آن توسط کولیس (Vernier caliper, 200 mm; Mitutoyo Corp, Kawasaki, Japan) اندازه‌گیری شد. سپس تمام مقاطع ایزوتروپیک به‌دست‌آمده و قطعه‌پانچ شده در یک بلوک، تحت پردازش معمول بافتی قرار گرفتند و مقاطع ۵ میکرونی از آنها تهیه و با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت، میزان چروکیدگی بافتی توسط فرمول زیر محاسبه گردید [۲۱]:

$$\text{Volume shrinkage} = 1 - \left(\frac{AA}{AB}\right)^{1.5}$$

در این فرمول AA و AB به ترتیب قطر قطعه دایره‌ای پانچ‌شده بعد و قبل از پردازش بافتی و رنگ‌آمیزی هستند. پس از تخمین میزان چروکیدگی، حجم نهایی (حجم مرجع) به کمک فرمول زیر محاسبه شد [۲۱]:

$$V_{final} = V_{primary}\ (1\text{- volume shrinkage})$$

برای محاسبه حجم نسبی (دانسیته حجم) ساختارهای موردمطالعه، از هر نمونه یک مقطع انتخاب و ۱۰ تا ۱۴ میدان دید به‌طور تصادفی توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, CX21FS, Japan) در بزرگنمایی ۱۰۰۰× در آن مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور محاسبه حجم نسبی از گرید (پروب) نقطه استفاده شد. در یک صفحه ترانسپرنت ۲۵ علامت + با فواصل طولی و عرضی ثابت (۵×۵) ترسیم و گرید بر روی مانیتور نصب شد. در بررسی میدان‌های دید، نقاط برخورد کرده با ساختارهای موردنظر که در پروب قرار داشتند مورد شمارش قرار می‌گرفتند و حجم نسبی ساختارها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (شکل ۱) [۲۱]:

$$V_v = \frac{\sum P_{structure}}{\sum P_{reference}}$$

که در آن $\sum P_{structure}$ و $\sum P_{reference}$ به ترتیب مجموع نقاط برخوردکرده با ساختار موردنظر و مجموع نقاط پروب در n میدان دید است. برای تعیین حجم تام ساختارهای موردنظر، حجم نسبی آنها در حجم مرجع (حجم کبد) ضرب شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این تحقیق از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. با توجه به کمی بودن داده‌ها، ابتدا طبیعی بودن توزیع فراوانی آنها توسط آزمون Kolmogorov- Smirnov تعیین شد ($p>۰/۰۵$). سپس میانگین پارامترها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصل به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند و سطح معناداری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج بیوشیمیایی این مطالعه نشان داد آنزیم‌های کبدی ALP، AST و ALT در گروه کنترل مثبت که

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

تتراکلریدکربن را دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل منفی و گروه‌های تیمار به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود (P<۰/۰۵). تجویز عصاره الکلی گیاه سورانه در گروه‌های تیمار، توانست سطوح افزایش‌یافته این آنزیم‌ها را به حالت طبیعی نزدیک نماید. این اثر به‌صورت وابسته به دوز بود اما اختلاف بین گروه‌های تیمار و گروه کنترل منفی از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱- مقادیر آنزیم‌های کبدی موش سوری (میلی‌گرم در دسی لیتر) در گروه دریافت‌کننده تتراکلریدکربن و گروه‌های تیمار که با دوزهای مختلف عصاره اتانولی سورانه درمان شده‌اند (n=۷)

گروه‌ها	آنزیم‌های کبدی (انحراف معیار± میانگین)		
	آلکالین فسفاتاز	آسپارتات آمینوترانسفراز	آلانین ترانسفراز
Cn	۲۷۶±۹۲	۲۱۲±۲۱/۶۲	۶۵/۴۱±۳/۵۲
Cp	۵۵۳±۵۱*	۳۸۹/۳۵±۲۴/۳۱*	۸۳/۶۴±۹/۵۵*
$T_{۲۰۰}$	۳۱۰/۶۱±۶۷/۶۸**	۲۶۰/۶۶±۲۲/۵۴**	۵۱/۶۱±۸/۵۶**
$T_{۸۰۰}$	۲۷۲/۵۳±۵۳**	۲۵۲±۱۷/۵۱**	۴۷/۵۹±۹/۳۷**
$T_{۱۶۰۰}$	۲۷۰/۵۶±۵۷**	۲۴۱±۲۱/۷۲ **	۴۵/۲۵±۱۲/۲۱**

Cn: کنترل منفی دریافت‌کننده روغن زیتون، Cp: کنترل مثبت دریافت‌کننده محلول ۵۰٪-۵۰٪ روغن زیتون و تتراکلریدکربن، $T_{۲۰۰}$: دریافت‌کننده ۲۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن عصاره سورانه، $T_{۸۰۰}$: دریافت‌کننده ۸۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن عصاره سورانه، $T_{۱۶۰۰}$: دریافت‌کننده ۱۶۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن عصاره سورانه

****p < ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل مثبت، **p < ۰/۰۵ در مقایسه با گروه تتراکلرید کربن. جهت مقایسه میانگین گروه‌های موردمطالعه از آزمون Tukey استفاده شد.***

بررسی‌های استریولوژیک نشان داد وزن و حجم کبد به دنبال مسمومیت با تتراکلریدکربن در گروه کنترل مثبت در مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). تجویز عصاره الکلی سورانه با دوز پایین (۲۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن) و دوز متوسط (۸۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن) در گروه‌های $T_{۲۰۰}$ و $T_{۸۰۰}$ توانست این تغییرات را به سمت مقادیر طبیعی نزدیک نماید؛ اما در گروهی که دوز بالا (۱۶۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن) عصاره الکلی سورانه را دریافت کرده بودند، وزن و حجم کبد کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت نشان نداد (P>۰/۰۵). هم‌چنین حجم سینوزوئیدها و هپاتوسیت‌ها در گروه $T_{۲۰۰}$ و $T_{۸۰۰}$ در مقایسه با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی‌دار داشت. (P>۰/۰۵). درحالی‌که این مقادیر در گروه $T_{۱۶۰۰}$ اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مثبت نداشت (P>۰/۰۵). حجم سیاهرگ باب، سیاهرگ مرکزی، سرخرگ کبدی و مجاری صفراوی در هیچ‌کدام از گروه‌های تجربی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

جدول ۲- وزن (میلی‌گرم) و حجم تام (میلی‌متر مکعب) کبد و ساختارهای کبدی موش سوری در گروه دریافت‌کننده تتراکلرید کربن و گروه‌های تیمار که با دوزهای مختلف عصاره اتانولی سورانه درمان شده‌اند (n=۷)

گروه‌ها	وزن کبد	کبد	هپاتوسیت‌ها	سینوزوئیدها	سیاهرگ مرکزی	سیاهرگ باب	سرخرگ کبدی	مجاری صفراوی
	حجم (انحراف معیار± میانگین)							
Cn	۱۳۳۰±۲۷۰	۱۳۰۹±۳۵۰	۹۷۵±۱۳۸	۷۵±۲۲	۱۶۱±۲۶	۶۵±۲۱	۸±۱/۱۵	۱۶±۵
Cp	۱۸۳۰±۲۷۰*	۱۷۸۵±۳۱۴*	۱۳۷۷±۲۵۶*	۱۲۴±۴۰	۱۷۱±۳۲	۷۴±۵۱۳	۷±۱/۲۶	۲۱±۱۱
$T_{۲۰۰}$	۱۴۸۰±۲۳۰**	۱۴۳۵±۴۲۸**	۱۰۸۱±۲۱۲**	۸۴±۱۸	۱۶۱±۴۴	۶۸±۳۵	۱۱±۲/۸۲	۱۸±۷
$T_{۸۰۰}$	۱۵۹۰±۲۴۰**	۱۴۹۱±۲۶۵**	۱۱۲۵±۴۲۶**	۸۵±۲۴	۱۶۵±۲۱	۶۲±۲۸	۷/۵۱±۲	۲۴±۶
$T_{۱۶۰۰}$	۱۶۵۰±۲۴۰*	۱۶۱۰±۲۱۲*	۱۲۵۱±۳۵۵*	۹۶±۴۵	۱۵۸±۵۲	۶۰±۱۵	۸/۵۴±۲	۲۲±۷

Cn: کنترل منفی دریافت‌کننده روغن زیتون، Cp: کنترل مثبت دریافت‌کننده محلول ۵۰٪-۵۰٪ روغن زیتون و تتراکلریدکربن، $T_{۲۰۰}$: دریافت‌کننده ۲۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن عصاره سورانه، $T_{۸۰۰}$: دریافت‌کننده ۸۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن عصاره سورانه، $T_{۱۶۰۰}$: دریافت‌کننده ۱۶۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن عصاره سورانه

****$p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل مثبت، **$p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه تتراکلرید کربن. جهت مقایسه میانگین گروه‌های موردمطالعه از آزمون Tukey استفاده شد.***

بحث

آسیب‌های کبدی ناشی از تتراکلریدکربن بهترین مدل مسمومیت کبدی القاءشده توسط زنوبیوتیک‌ها است. از این تکنیک به‌طور معمول برای بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و محافظتی داروها استفاده می‌شود [۲۳-۲۲]. طبق مطالعات انجام‌شده بر روی مکانیسم مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن، آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن مانند گلوتاتیون نقشی محوری در سم‌زدایی متابولیت‌های سمی و بازفعال‌شده تتراکلریدکربن و هم‌چنین جلوگیری از آغاز نکروز کبد پس از تخلیه ذخایر آنتی‌اکسیدانی دارد. علاوه بر این، یکی از عوامل اصلی آسیب کبدی ناشی از تتراکلریدکربن، پراکسیداسیون لیپیدی است که توسط مشتقات رادیکال آزاد آن ایجاد می‌گردد [۲۴]. ازآنجایی‌که رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش اصلی در پاتوژنز و پیشروی بیماری‌های کبد ایفا می‌کنند، آنتی‌اکسیدان‌های خوراکی به‌عنوان عوامل درمانی در آسیب‌های کبدی می‌توانند مؤثر واقع شوند [۲۵].

در این مطالعه اثر محافظتی عصاره اتانولی سورانه بر روی مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن بررسی گردید. نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره اتانولی سورانه، افزایش ترانس‌آمینازهای کبدی ناشی از مسمومیت حاد با تتراکلریدکربن را کاهش می‌دهد. این آنزیم‌ها که به‌طور طبیعی در سلول‌های کبدی ساخته می‌شوند، با آسیب سلول‌ها به دلیل اختلال در غشاء پلاسمایی وارد جریان خون شده و سطوح سرمی آنها افزایش می‌یابد. به همین علت، افزایش این آنزیم‌ها را می‌توان به آسیب در یکپارچگی ساختار کبد نسبت داد. بنابراین اندازه‌گیری این آنزیم‌ها و هم‌چنین بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی معیارهای مناسبی برای ارزیابی عملکرد کبد محسوب می‌گردند [۲۶].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

مقایسه گروه‌های مختلف تیمار که دوزهای پایین (۲۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن)، متوسط (۸۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن) و بالای (۱۶۰۰ میکروگرم در هر کیلوگرم وزن بدن) عصاره اتانولی سورانه را دریافت کرده بودند، نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در میزان آنزیم‌های کبدی گروه‌ها وجود ندارد و هر سه دوز کارایی یکسانی در بهبود آنزیم‌های کبدی داشته‌اند.

نتایج حاصل از این مطالعه با یافته‌های مطالعات متعددی که بر روی گیاهان مختلف و اثرات بهبودبخش آنها بر آسیب کبدی ناشی از تتراکلریدکربن گزارش شده است، مطابقت دارد. Park و همکاران که اثرات مهاری کورکومین (عصاره زردچوبه) بر مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن را مطالعه کردند، نتایج مشابهی را برای کورکومین گزارش نمودند [۲۷]. گزارش شده است که تزریق عصاره گیاه *Ginkgo biloba*، نکروز و فیبروز کبدی ناشی از تتراکلریدکربن را مهار می‌نماید و آنزیم‌های کبدی و پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد [۲۸]. نتایج مشابهی نیز برای عصاره آبی گیاه *Vitex trifolia* [۲۹]، عصاره آبی-الکلی ساقه گیاه *Capparis decidua* [۳۰] و عصاره متانولی برگ گیاه *Carissa opaca* [۳۱] به دست آمده است. این گیاهان دارای ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها و استرول‌ها هستند که می‌توانند با خواص آنتی‌اکسیدانی خود، کبد و سلول‌های کبدی را در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی از جمله تتراکلریدکربن محافظت نمایند.

بر اساس آنالیز گازکروماتوگرافی/اسپکترومتری (GC/MS) مطالعات گذشته، مشخص شده است که اسید لینولنیک بیشترین ماده مؤثره عصاره الکلی سورانه را تشکیل می‌دهد [۳۲]. مطالعات نشان داده است که مصرف خوراکی آلفا لینولنیک اسید در بهبود کولیت تجربی، انفارکتوس میوکارد، ترومبوز عروقی و اوستئوپروز مؤثر بوده است. هم‌چنین شواهدی وجود دارد که اثرات محافظتی اسید لینولنیک را در مسمومیت کلیوی ناشی از جنتامایسین تأیید می‌نماید [۳۳]. طبق مطالعات موجود، این ماده که به امگا ۳ گیاهی شهرت دارد، دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است. این اسید چرب اثر مهاری نیرومندی بر روی بیان ژن‌های No، iNOS و TNF-α دارد. هم‌چنین اثرات مهاری آلفا لینولنیک اسید را می‌توان به توانایی آن در تنظیم بیان فاکتور نکروز تومور و اینترلوکین‌های التهابی نسبت داد [۳۴]. علاوه بر این، سایر ترکیباتی که در عصاره الکلی سورانه وجود دارند مانند ویتامین E، فیتول و نئوفیتادئین از عوامل آنتی‌اکسیدانت و ضدالتهاب بالقوه محسوب می‌گردند [۳۲].

در این مطالعه هر سه دوز عصاره اتانولی سورانه عملکردی یکسان و وابسته به دوز در بهبود آنزیم‌های کبدی داشتند؛ اما دوزهای پائین و متوسط عصاره الکلی سورانه بهترین تأثیر را بر روی بهبود حجم هپاتوسیت‌ها و سینوزوئیدها نشان دادند؛ هرچند که اختلاف بین دوزهای مختلف درترمیم ساختار کبد معنی‌دار نبود. در این مطالعه به تغییرات حجم انفرادی در هپاتوسیت‌ها و هسته‌های آنها و همچنین تعداد هپاتوسیت‌ها پرداخته نشد؛ بنابراین پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده اثرات این گیاه بر روی تعداد و حجم سلول‌های کبدی به کمک روش‌های استریولوژیکی نیز بررسی گردد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر که مؤید اثرات محافظتی و بهبودبخشی عصاره اتانولی گیاه سورانه بر مسمومیت کبدی است، به نظر می‌رسد دوزهای پایین و متوسط این گیاه به‌واسطه دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی می‌تواند با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی از تخریب بافت کبد و افزایش آنزیم‌های کبدی ناشی از آن جلوگیری نماید.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات و همکاری‌های ارزشمند کارکنان بخش علوم پایه دانشکده دامپزشکی و دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در تهیه نمونه‌های سرمی و اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی تشکر و سپاسگزاری نمایند.

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; PP: 23.

[2] Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radical Biol Med* 2003; 34: 1–10.

[3] Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Forum – mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2002; 65: 166–76.

[4] Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease. *Altern Med Rev* 1998; 3: 40-2.

[5] Sabzali S. Hepatic protection effects of plant Chicorium intybus on liver toxicity induced by carbon tetrachloride in rats. Medical Doctoral Thesis 2005; PP:10-26.

[6] Barcelo S, Gardiner JM, Gesher A, Chipman JK. CYP2E1-mediated mechanism of antigenotoxity of the broccoli constituent sulforaphane. *Carcinogenesis* 1996; 17: 277-82.

[7] Yuspa SH. Overview of carcinogenesis: past present and future. *Carcinogenesis* 2002; 1:341-4.

[8] Mitra SK, Venkataranganna M, Sundaram R, Gopumadhavan S. Protective effect of HD-03, a herbal formulatin, against various hepatotoxic agents in rats. *J Ethnopharmacol* 1998; 63: 181-6.

[9] Sun F. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000; 1500: 181-5.

[10] Yang ChS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Ann Rev Nut* 2001; 21: 381-406.

[11] Ahmad A, Pillai KK, Najmi AK, Pal SN. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. *J Ethnopharmacol* 2002; 79: 35- 41.

[12] Ahmed B, Alam T, Varshney M. Hepatoprotective of two plants belonging to the Apiaceae and the Euphorbiaceae family. *J Ethnopharmacol* 2002; 79: 313-6.

[13] Germano MP, Sanogo R, Costa C. Hepatoprotective properties in the rat of *Mitracarpus scaber* (rubiaceae). *J Pharm Pharmacol* 1999; 51: 729-34.

[14] Nabavizadeh SH, Safari M, Khoshnevisan F. Direct ex vivo effects of herbal extracts on serumbilirubin in neonatal blood samples. *Iran J Pediatr* 2005; 15(2): 133-8.

[15] Parvardeh S, Nyapur M, Hosseinzadeh H. Hepatic protection effects of hydraulic extract of Pistachio gum on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in rats. *J Med Plants* 2002; 4(4): 27-34.

[16] Jamshid Nejad A, Nick nahad H. Hepatic protection effects of plant Fumaria officinalison livertoxicity induced by carbon tetrachloride in rats. *J Med Plants* 2006; 19(5): 34-9.

[17] Ayatollahi H, Abbasali O, Kasebi M. Hepatic protection effects of plant Silybum marianum on liver toxicity induced by carbon tetrachloride in mice. *J Gorgan Uni Med Sci* 2007; 4: 11-7. [Farsi]

[18] Nguansangiam S, Angsubhakorn S, Bhamarapravati S, Suksamrarn A. Effects of elephant garlic volatile oil (*Allium ampeloprasum*) and T-2 toxin on murine skin. *South east Asian J Trop Med Public Health* 2003; 34: 899-905.

[19] Liu CT, Sheen LY, Lii CK. Does garlic have a role as an antidiabetic agent? *Mol Nutr Food Res* 2007; 51(11): 1353-64.

[20] Altunkaynak BZ, Onger ME, Altunkaynak ME, Ayranci E, Canan S. A brief introduction to stereology and sampling strategies; basic concepts of stereology. *NeuroQuantology* 2012; 10: 31-43.

[21] Karbalay-Doust S, Noorafshan A. Stereological study on the effects of nandrolone

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

decoanate on the mouse liver. Micron 2009; 40:471-75.

[22] Brautbar N, Williams J 2nd. Industrial solvents and liver toxicity: risk assessment, risk factors and mechanisms. *Int J Hyg Environ Health* 2002; 205: 479–91.

[23] Bilgin HM, Atmaca M, Obay BD, Ozekinci S, Tasdemir E, Ketani A. Protective effects of coumarin and coumarin derivatives against carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. 2011; *Exp Toxicol Pathol* 63: 3325-30.

[24] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J* 2012; 5(1): 9–19.

[25] Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radical Biol Med* 2003; 34: 1–10.

[26] Becq ME, Zarca O, Brechot GE. Liver function tests. *J Hepatol* 1996; 23(1): 1030.

[27] Park EG, Jeon CH, Ko G, Kim J, Sohn DH. Protective effect of curcumin in rat liver injury induced bycarbon tetrachloride. *J Pharm Pharmacol* 2000; 52(4): 437-40.

[28] Zekrizadeh Z, Farokhy F. The Effect ofHydroalcoholic Extract of Ginger (HEG) on

Histological and Biochemical Parameters of Kidneyin Epileptic Rats Treated with Lamotrigin. *QomUniv Med Sci J* 2014; 8(5): 54-62. [Farsi]

[29] Manjunatha BK, Vidya SM. Hepatoprotective activity of *Vitex trifolia* against carbon tetrachloride-induced hepatic damage. *Ind J Pharm Sci* 2008; 70(2): 241.

[30] Ali S, Al-Amin T, Mohamed A, Gameel A.Hepatoprotective activity of aqueous and methanolic extracts of *Capparis decidua* stemsagainst carbon tetrachloride induced liver damagein rats. *J Pharm Toxicol* 2009; 4(4): 167-72.

[31] Sahreen S, Khan MR, Khan RA. Hepatoprotective effects of methanol extract of *Carissaopaca* leaves on CCl_4-induced damage in rat.*BMC Complement Altern Med* 2011; 11(1): 48.

[32] Sherkatolabbasieh H, Hagh-Nazari L, Shafiezadeh S, Goodarzi N, Zangeneh MM, Zangeneh A. Ameliorative effects of the ethanolic extract of *Allium saralicum* R.M. Fritsch on CCl4-induced nephrotoxicity in

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

mice: A stereological examination. *Arch Biol Sci* 2016; DOI: 10.2298/ABS160914129S.

[33] Priyadarshini M, Aatif M, Bano B. Alpha-linolenic acid protects against gentamicin induced toxicity. *Res Report Biochem* 2012; 2: 25-9.

[34] Ren J, Chung SH. Anti-inflammatory effect of α-linolenic acid and its mode of action through the inhibition of nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression via NF-κB and mitogen-activated protein kinase pathways. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 5073-80.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]

Protective Effects of Ethanolic Extract of *Allium Saralicum R.M. Fritsch* on CCl_4- Induced Hepatotoxicity in Mice

N. Goodarzi[1], M. M. Zangeneh[2], A. Zangeneh[2], F. Najafi[3], R. Tahvilian[4]

Received: 27/02/2017 Sent for Revision: 02/05/2017 Received Revised Manuscript: 20/05/2017 Accepted: 22/05/2017

Background and Objective: Due to their anti-oxidant and anti-inflammatory compounds, medicinal plants can protect the liver against hepatotoxicant induced injuries. The aim of this study was to evaluate the protective effects of *Allium Saralicum R.M. Fritsch* (ASRMF) on CCl_4- induced hepatotoxicity in mice.

Materials and Methods: In the present experimental study, 35 male mice were divided into 5 equal groups. The negative control received 1ml/kg of olive oil and positive controls received 1 ml/kg of 50%-50% solution of olive oil and CCl_4, intraperitoneally. Three treatment groups received 200, 800, and 1600 µg/kg of ethanolic extract of *ASRMF* in addition to CCl_4 through gavage. All administrations were done twice a week for 45 days. On the last day, serum levels of samples of ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate aminotransferase), and ALP (Alkaline-phosphatase) enzymes were measured. Total volume of the liver, hepatocytes, sinusoids, portal veins, central veins, hepatic arteries, and bile ducts were estimated in histological sections. The data were analyzed using one-way ANOVA and post-hoc Tukeys' tests.

Results: As compared to the CCl_4 - treated group, ethanolic extract of *ASRMF* could significantly decrease the rised levels of liver and also volume of the liver, hepatocytes, and sinusoids ($P<0.05$).

Conclusion: It seems that ethanolic extract of *ASRMF* at low and intermediate doses can protect the liver against hepatotoxicants induced injuries.

Key words: *Allium Saralicum R.M. Fritsch*, CCl_4, Mice, Hepatotoxicity, Antioxidant

Funding: There was no fund for this study.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Razi University approved the study.

How to cite this article: Goodarzi N, Zangeneh MM, Zangeneh A, Najafi F, Tahvilian R. Protective Effects of Ethanolic Extract of *Allium Saralicum R.M. Fritsch* on CCl_4- Induced Hepatotoxicity in Mice. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2017; 16(3): 227-38. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Basic and Pathobiological Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran (Corresponding Author) Tel: (083)38322599, Fax: (083)38320041 E-mail: n.goodarzi@razi.ac.ir
2- D.V.M Student, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
3- Assistant Prof., Dept. of Dermatology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- Assistant Prof., Research Pharmaceutical Center, School of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1396.16.3.6.2]