

بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه کلوس (Keluissia odoratissima Mozaff)

برآسیب‌های کبدی ناشی از تراکلریدکربن در موش‌های کوچک آزمایشگاهی

حسین سازگار^{*}^۱، احسان بلای^۱، فاطمه صادقی سامانی^۱

(۱) گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۷

چکیده

مقدمه: امروزه یکی از مشکلات جوامع بشری بیماری‌های کبدی و استفاده از داروهای شیمیایی با عوارض جانبی می‌باشد که باعث تغییر روبیکرد محققین به سمت منابع داروی گیاهی جدید شده است. کلوس دارای خواص دارویی از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد. در این تحقیق اثر عصاره هیدروالکلی بخش‌های هوایی (برگ و ساق) این گیاه بر آسیب‌های کبدی ناشی از تراکلریدکربن در موش سوری بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۳۶ سر موش سوری نر استفاده شد. یک گروه به عنوان کنترل و دو گروه به عنوان شاهد مثبت (آب مقطر، روغن زیتون و تراکلریدکربن) و شاهد منفی (آب مقطر و روغن زیتون) و ۳ گروه به عنوان گروه‌های آزمایشی دریافت کننده عصاره (غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در نظر گرفته شدند. عصاره کلوس به مدت ۳ روز گاواز و از روز ۳ به بعد به مدت ۵ روز به همراه گاواز، مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم روغن زیتون و تراکلریدکربن به نسبت مساوی تزریق داخل صفاقی گردید.

یافته‌های پژوهش: یافته‌های پاتولوژیک در بافت کبد نشان داد، این بافت در تمام گروه‌ها به جزء گروه‌های کنترل و شاهد منفی، دارای درجات مختلفی از نکروز کبدی در اطراف ورید مرکزی و به طور شدید در گروه شاهد مثبت است. بررسی فاکتورهای خونی نشان دهنده کاهش معنی دار این فاکتورها در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد مثبت می‌باشد. هم چنین مشخص شد با افزایش مقدار دوز مصرفی عصاره، از میزان آنزیم‌های کبدی ALP، ALT، AST، بیلی روین تام و مستقیم و آسیب‌های پاتولوژیکی کبد کاسته شده است.

بحث و نتیجه گیری: با بررسی نتایج چنین به نظر می‌رسد وجود ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی در گیاه کلوس می‌تواند منجر به کاهش اثرات سمی القاء شده توسط تراکلریدکربن در بافت کبد موش شود.

واژه‌های کلیدی: کلوس، تراکلریدکربن، آنزیم‌های کبدی، موش سوری

* نویسنده مسئول: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

Email:hoseinsazgar@yahoo.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی در گیاهان عمدهاً ناشی از قدرت اجیاکنندگی و ساختار شیمیایی آن‌ها است که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون را مهار می‌کنند(۷).

گیاه معطر و دارویی کرفس بختیاری (کلوس) با نام علمی *Keluissia odoratissima Mozaff* گیاهی علفی، چند ساله، از خانواده چتریان (Apiaceae) دارای ساقه منشعب، توخالی شیاردار به ارتفاع ۲۰ تا ۶۰ سانتی متر می‌باشد. مهم‌ترین رویشگاه‌های این گیاه در جنوب غربی ایران و ارتفاعات کوه‌های زاگرس بختیاری می‌باشد(۸). تاکنون وجود ترکیباتی مثل فتالید، فلاونوئید و ترپنوتئید در این گیاه گزارش شده است(۹).

کلوس دارای اثرات ضد درد و التهاب، آرام‌بخش، ضد انعقاد، کاهنده اسید و پیسین معده و تقویت کننده حافظه می‌باشد. هم چنین بر طبق مطالعات انجام شده، این گیاه دارای فلاونوئید، ترکیبات فتالیدی، اسیدهای چرب و مواد فنلی می‌باشد که اثرات پیشگیری کننده از سرطان و محافظت از کبد به آن‌ها نسبت داده شده است. هم چنین به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، این گیاه دارای خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد و اثرات آنتی اکسیدانی است(۱۰). از آن جایی که کبد یکی از ارگان‌های کلیدی در اعمال متابولیکی و ترشحی است و هم چنین خارج کردن سموم از بدن به عهده کبد می‌باشد لذا این موضوع بر اهمیت استفاده از گیاهان دارویی در درمان کبد می‌افزاید بنا بر این مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی گیاه کلوس بر آسیب‌های کبدی ناشی از تتراکلریدکربن در موش‌های سوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

استخراج عصاره هیدروالکلی کلوس: گیاه کلوس پس از جمع آوری از منطقه بازفت استان چهارمحال و بختیاری با استفاده از کتب فلورگیاهی ایران شناسایی شد. مقدار ۳ کیلوگرم گیاه کلوس تازه در فصل بهار

کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن انسان است که عمل سم زدایی ترکیبات خارجی، داروها، سموم و... را انجام می‌دهد. در اکثر موارد، طی عمل سم زدایی، فعال سازی متابولیکی توسط آنزیم‌های سیتوکروم P₄₅₀ میکروزوم‌های کبدی باعث ایجاد متابولیت‌های ثانویه و فعال می‌شود که این مواد می‌توانند موجب آسیب به بافت‌های مختلف از جمله کبد شود(۱).

تتراکلریدکربن (CCL₄) از جمله موادی است که بعد از ورود به بدن توسط آنزیم‌های سیستم سم زدایی سیتوکروم P₄₅₀ متابولیزه می‌شود، متابولیسم تتراکلریدکربن باعث تولید رادیکال‌های آزاد از طریق آنزیم‌های متابولیزه کننده داروها در رتیکولوم اندوپلاسمیک می‌شود. در طی متابولیسم تتراکلریدکربن دو ترکیب سمی شامل تری کلرو متیل (CCL₃) و پراکسی تتراکلرومتیل (OOCCL₃) تولید می‌شوند که موجب صدمات کبدی می‌شود(۲،۳). اتصال رادیکال‌های آزاد به غشای هپاتوسیت‌ها سبب آسیب غشا و نکروز می‌شود. در نتیجه آن آنزیم‌هایی مانند ALP، ALT که در حالت طبیعی درون سیتوزول سلول هستند آزاد شده و میزان این فاکتورها در خون افزایش می‌یابد. بنا بر این می‌توان این آنزیم‌ها را در خون به عنوان شاخصی جهت بررسی آسیب‌های کبدی مور استفاده قرار داد(۴).

با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی بر روی بعضی از بافت‌های بدن به خصوص کبد، مسئله بازگشت به استفاده از داروهای گیاهی و طبیعی مدنظر قرار گرفته است. یکی از مهم ترین منابع آنتی اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی یا پلی فنلی است که به طور گسترده در گیاهان وجود دارند(۵). این ترکیبات آنتی اکسیدانی در گیاهان است که موجب جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شوند(۶).

فلاونوئیدها نیز دارای قوی ترین قدرت آنتی اکسیدانی در بین ترکیبات فنلی می‌باشند و دارای خواص ضد التهابی، ضد اسپاسمی، ضد سرطان و آنتی اکسیدانی، فعال کردن آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پاکسازی مستقیم رادیکال‌های آزاد هستند(۵). فعالیت

گروه ۶ (گروه تیمار عصاره ۳): عصاره با غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۳ روز گاواز گردید و از روز ۳ به بعد به مدت ۵ روز به همراه گاواز، مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم روغن زیتون و تتراکلریدکربن به نسبت مساوی تزریق داخل صفاقی گردید(۱۲،۱۴). پس از پایان آخرین تزریق و گاواز موش ها به وسیله تزریق داخل صفاقی کتابمین وزایالزین بیهوش شده و به طور مستقیم از قلب آن ها خونگیری شد و کبد آن ها برداشته و داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت فرمالین، ظرف ها تعویض شد. نمونه های خون پس از لخته شدن در دمای اتاق به مدت ده دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و پس از جداسازی سرم، سرم ها برای اندازه گیری آنزیم های کبدی در ظرف حاوی بخ به آزمایشگاه ارسال شدند(۴).

غلظت آنزیم های کبدی در آزمایشگاه با استفاده از کیت های تشخیصی شرکت پارس آزمون و به روش فتوتریک و با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه گیری شد.

نمونه های بافتی قبل از فیکاسیون جهت تهیه برش بافتی ابتدا با آب مقطر شستشو شدند و سپس به وسیله الكل اتیلیک(اتانول) آب گیری بعد از آن به وسیله تولوئن شفاف گردیدند و سپس مرحله نفوذ پارافین و قالب گیری بافت به وسیله پارافین و در مرحله بعد تهیه برش بافتی و بعد از آن ذوب پارافین و جداسازی برش بافتی و مرحله آبدھی و در نهایت بافت توسط هماتوکسیلین و اوزین رنگ آمیزی شدند.

روش تجزیه داده ها: داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با استفاده از آزمون توکی وجود اختلاف میانگین در بین گروه ها در سطح $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

در گروه کنترل و شاهد منفی اختلاف معنی دار در میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز مشاهده نگردید. در گروه شاهد مثبت اختلاف معنی دار($u/1$) (715.67 ± 82.00) در میزان افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز با دیگر گروه ها مشاهده گردید($P<0.05$). در گروه های دریافت کننده

تهیه گردید و پس از شستن به مدت ۵ الی ۶ روز در سایه خشک و به وسیله هاون به قطعات ۵/۰ تا ۱ سانتی متر خرد شدند. عصاره گیری به روش پرکولاسیون صورت گرفت. در این روش مقدار ۵۰۰ سی سی اتانول ۹۰ درصد بر روی تکه های کلوس خرد شده ریخته شد و در آون ۴۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد و پس از آن با استفاده از دستگاه روتاری در خلا(امدل STRIKE202)، در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد عمل تقلیل انجام گرفت(۱۱).

بررسی محافظت کبدی: در این آزمایش از ۳۶ سر موش سوری نر(Balb/C) که در ۶ گروه ۶ تابی به صورت تصادفی قرار گرفتند استفاده گردید. موش ها در قفس های مخصوص نگهداری موش های آزمایشگاهی و با سیکل نوردهی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. خوراک آن ها از کارخانه خوراک دام فرادانه تهیه شد.

گروه بندی حیوانات

گروه ۱ (گروه کنترل): که هیچ گونه تیماری را دریافت نمی کردند.

گروه ۲ (گروه شاهد منفی): آب مقطر به مدت ۳ روز گاواز گردید و از روز ۳ به بعد به مدت ۵ روز به همراه گاواز، مقدار ۵/۰ میلی گرم بر کیلوگرم روغن زیتون و تتراکلریدکربن به زیتون به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه ۳ (شاهد مثبت): آب مقطر به مدت ۳ روز گاواز گردید و از روز ۳ به بعد به همراه گاواز، مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم روغن زیتون و تتراکلریدکربن به نسبت مساوی تزریق داخل صفاقی گردید.

گروه ۴ (گروه تیمار عصاره ۱): عصاره با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۳ روز گاواز گردید و از روز ۳ به بعد به مدت ۵ روز به همراه گاواز، مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم روغن زیتون و تتراکلریدکربن به نسبت مساوی به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه ۵ (گروه تیمار عصاره ۲): عصاره با غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۳ روز گاواز و از روز ۳ به بعد به مدت ۵ روز به همراه گاواز، مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم روغن زیتون و تتراکلریدکربن به نسبت مساوی تزریق داخل صفاقی گردید.

کیلوگرم می باشد و کمترین آن مربوط به غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد(جدول ۱).

عصاره، میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز نسبت به گروه شاهد مثبت کاهش یافت که بیشترین کاهش مربوط به غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر

جدول شماره ۱. تأثیر غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی کلوس بر میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز

در کبد موش سوری تیمار شده با تراکلریدکربن

گروه های آزمایش	ALP	
کنترل	351.67±23.56	c
شاهد منفی	380.00±15.87	c
شاهد مثبت	715.67±82.00	a
200 mg/kg عصاره	541.76±35.13	b
400 mg/kg عصاره	469.00±42.53	bc
800 mg/kg عصاره	377.00±12.53	c

a: تفاوت با دیگر گروه ها در $P<0.05$ معنی دار است. b: تفاوت با گروه های ۲، ۳، ۴ در $P<0.05$ معنی دار است.

c: تفاوت با گروه های ۵ در $P<0.05$ معنی دار است. bc: تفاوت با گروه ۳ در $P<0.05$ معنی دار است.

نسبت به گروه شاهد مثبت کاهش یافت که بیشترین کاهش مربوط به غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد و کمترین آن مربوط به غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد(جدول شماره ۲).

در گروه کنترل و شاهد منفی اختلاف معنی دار در میزان آنزیم ALT مشاهده نگردید. در گروه شاهد مثبت اختلاف معنی دار در میزان افزایش آنزیم ALT با دیگر گروه ها مشاهده گردید($P<0.05$). در گروه های دریافت کننده عصاره از میزان آنزیم ALT

جدول شماره ۲. تأثیر غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی کلوس بر میزان آنزیم ALT

در کبد موش سوری تیمار شده با تراکلریدکربن

گروه های آزمایش	ALT	
کنترل	49.00±2.00	c
شاهد منفی	50.00±5.56	c
شاهد مثبت	137.00±77.64	a
200 mg/kg عصاره	86.00±5.19	b
400 mg/kg عصاره	70.67±3.05	bc
800 mg/kg عصاره	57.67±5.50	bc

a: تفاوت با دیگر گروه ها در $P<0.05$ معنی دار است. b: تفاوت با گروه های ۲، ۳ در $P<0.05$ معنی دار است.

c: تفاوت با گروه های ۳ و ۴ در $P<0.05$ معنی دار است. bc: تفاوت با گروه ۳ در $P<0.05$ معنی دار است.

دریافت کننده عصاره از میزان آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز نسبت به گروه شاهد مثبت کاهش یافت که بیشترین کاهش مربوط به غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد و کمترین آن مربوط به غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد(جدول شماره ۳).

در گروه کنترل و شاهد منفی اختلاف معنی دار در میزان آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز مشاهده نگردید. در گروه شاهد مثبت ($314.00±15.52$ u/l) اختلاف معنی دار در میزان افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز با دیگر گروه ها مشاهده گردید($P<0.05$). در گروه های

جدول شماره ۳. تاثیر غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی کلوس بر میزان آنزیم آسپارتات

آمینو ترانسفراز در کبد موش سوری تیمار شده با تتراکلریدکربن

گروه های آزمایش	AST	
کنترل	123.67±9.018	c
شاهد منفی	154.67±7.02	c
شاهد مثبت	314.00±15.52	a
200 mg/kg عصاره	244.00±22.65	b
400 mg/kg عصاره	201.33±20.00	d
800 mg/kg عصاره	134.00±8.185	c

a: تفاوت با دیگر گروه ها در $P<0.05$ معنی دار است.b: تفاوت با دیگر گروه ها در $P<0.05$ معنی دار است.c: تفاوت با گروه های ۳، ۴ و ۵ در $P<0.05$ معنی دار است.d: تفاوت با گروه های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۶ در $P<0.05$ معنی دار است.

بیلی روین تام در ($P<0.05$) دیده می شود. در گروه های دریافت کننده عصاره مربوط به غلظت ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی دار دیده نشد و از میزان سطح بیلی روین تام در این گروه ها در اثر عصاره کاسته گردیده است(جدول شماره ۴).

بین گروه کنترل و گروه شاهد منفی هیچ تفاوت معنی دار مشاهده نگردید. در گروه شاهد مثبت و گروه دریافت کننده عصاره غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی دار وجود ندارد ولی بین این دو گروه با دیگر گروه ها تفاوت معنی دار در میزان افزایش

جدول شماره ۴. تاثیر غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی کلوس بر میزان بیلی روین تام

در کبد موش سوری تیمار شده با تتراکلریدکربن

گروه های آزمایش	TOTAL BILI	
کنترل	.3200±0.080	b
شاهد منفی	.4133±.208	b
شاهد مثبت	4.1000±.6000	a
200 mg/kg عصاره	3.2666±1.1015	a
400 mg/kg عصاره	1.3666±.2081	b
800 mg/kg عصاره	.5666±.1527	b

a: تفاوت با گروه های ۱، ۲، ۳ و ۶ در $P<0.05$ معنی دار است.b: تفاوت با گروه های ۳ و ۴ در $P<0.05$ معنی دار است.

وجود دارد($P<0.05$). بین گروه های دریافت کننده عصاره با گروه شاهد مثبت اختلاف معنی دار وجود دارد($P<0.05$). در این گروه ها عصاره باعث کاهش سطح بیلی روین مستقیم گردیده است (جدول شماره ۵).

بین گروه کنترل و گروه شاهد منفی اختلاف معنی دار از لحاظ میزان بیلی روین مستقیم مشاهده نگردید. بین گروه شاهد مثبت (1.566±0.4041mg/ml) با دیگر گروه ها از لحاظ افزایش میزان بیلی روین مستقیم اختلاف معنی دار

جدول شماره ۵. تاثیر غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی کلوس بر میزان بیلی رویین مستقیم

در کبد موش سوری تیمار شده با تتراکلرید کربن

گروه های آزمایش	DIRECT BILI	
کنترل	0.1833±0.0288	c
شاهد منفی	0.2000±0.000	c
شاهد مثبت	1.566±0.4041	a
200 mg/kg عصاره	0.9667±0.0577	b
400 mg/kg عصاره	0.8833±0.0763	b
800 mg/kg عصاره	0.5333±0.1527	bc

a: تفاوت با گروه های ۱، ۴، ۵ و ۶ در $P<0.05$ معنی دار است.

b: تفاوت با گروه های ۱، ۲ و ۳ در $P<0.05$ معنی دار است.

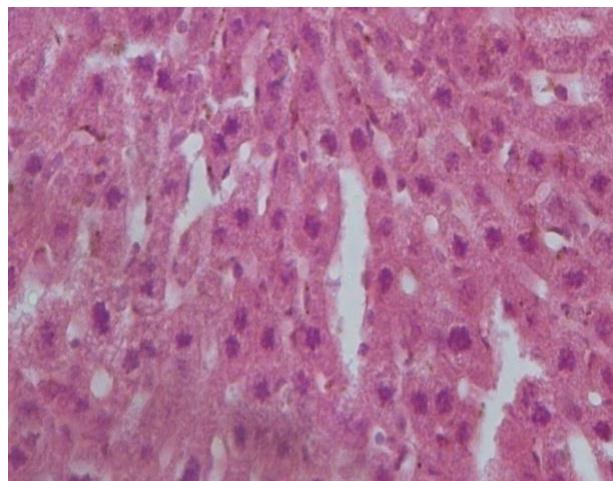
c: تفاوت با گروه های ۴ و ۵ در $P<0.05$ معنی دار است.

اطراف ورید مرکزی و به طور شدید در گروه شاهد مثبت مشاهده گردید. سلول های نکروز شده کبدی دارای هسته کوچک و چروکیه بوده و در بعضی نیز هسته ها در حال از بین رفتن بودند هم چنین در این ناحیه در داخل سلول ها واکوئل های سفید رنگ مشاهده شد که به احتمال زیاد تجمع چربی بوده است(شکل شماره ۲ و ۳).

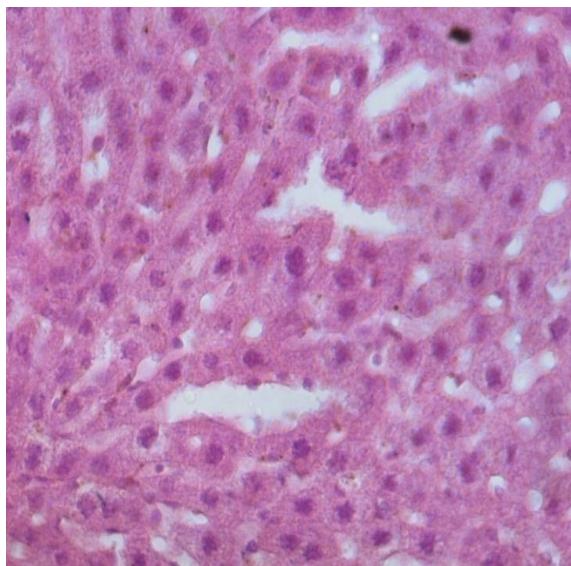
یافته های پاتولوژیک

الف-یافته های ماکروسکوپیک: در تمام گروه ها به جز پرخونی و در گروه شاهد مثبت تورم و گردشدن لبه های کبد یافته دیگری در کبد قابل مشاهده نبود.

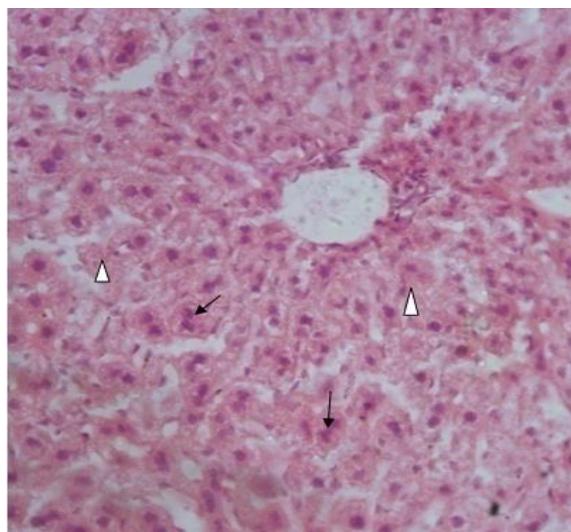
ب-یافته های میکروسکوپیک: بافت کبد در تمام گروه ها به جز گروه های کنترل(شکل شماره ۱) و شاهد منفی دارای درجات مختلفی از نکروز کبدی در



شکل شماره ۱. بافت کبد موش سوری(گروه کنترل)



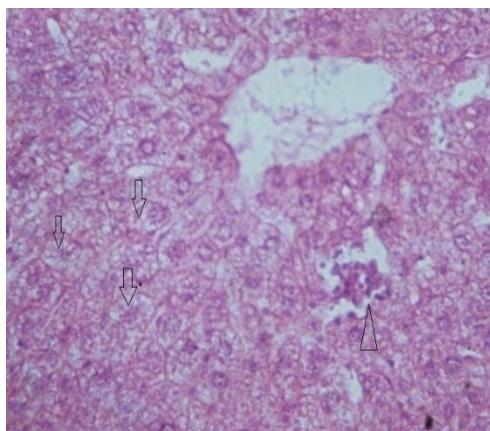
شکل شماره ۲. بافت کبد موش سوری- گروه شاهد منفی(آب مقطر و روغن زیتون)
هیبرکروم شدن هسته برخی از هپاتوسیت ها(بیکان) رنگ آمیزی H & E $\times 400$



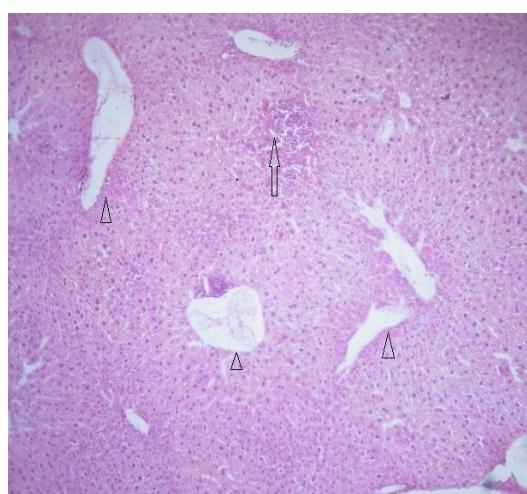
شکل شماره ۳. بافت کبد موش سوری گروه شاهد مثبت(آب مقطر، روغن زیتون و تترالکریدکربن)
مشاهده هپاتوسیت با دو هسته در کبد(بیکان) و دُز نه شدن هپاتوسیت های کبد(سرپیکان) رنگ آمیزی H & E $\times 400$

اثر تزریق تترالکریدکربن، به طور کاملاً مشخص کاسته شده است (شکل شماره ۴، ۵، ۶).

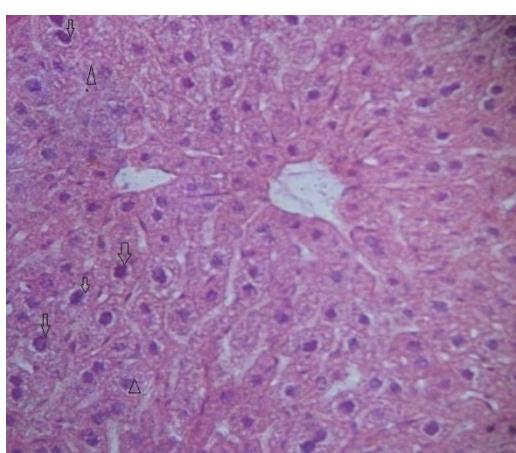
در گروه های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی کلوس با افزایش غلظت عصاره از میزان آسیب های پاتولوژیکی سلول های کبدی موش سوری در



شکل شماره ۴. بافت کبد موش سوری-گروه دریافت کننده عصاره با غلظت (200 ml/kg) هیدروپیک واکوئلشن سیتوپلاسم (پیکان) و نکروز کانونی هپاتوسیت‌ها (سر پیکان) رنگ آمیزی H & E $\times 400$



شکل شماره ۵. بافت کبد موش سوری-گروه دریافت کننده عصاره با غلظت (400 ml/kg) نکروز کانونی هپاتوسیت‌ها و تراوش سلول‌های آماسی (پیکان) و اتساع غیر طبیعی سیاهرگ‌های کبدی (سر پیکان) رنگ آمیزی H & E $\times 100$



شکل شماره ۶. بافت کبد موش سوری گروه دریافت کننده عصاره با غلظت (800 ml/kg) مشاهده هیبرکروم شدن هسته هپاتوسیت کبد (پیکان) و دُزنه شدن هپاتوسیت‌های کبد (سر پیکان) رنگ آمیزی H & E $\times 400$

آسیب های پارانشیمی کبد توسط عصاره گیاه کلوس، فعالیت سرمی آنزیم های کبدی نیز به طبع آن کاهش یافته است و نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که عصاره هیدروالکلی گیاه کلوس احتمالاً می تواند کبد را در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن محافظت نماید و این اثر حفاظتی کبدی در برطرف نمودن تغییرات ایجاد شده توسط آنزیم های سمیت زدا و آنتی اکسیدان و جاروب کردن رادیکال های آزاد موثر است.

در همین راستا قاسمی و همکاران در سال (۱۳۸۹) طی مطالعاتی دریافتند که عصاره کاسنی (Cichoriumintybus) و اسانس کرفس بختیاری (Kelussia odoratissima Mozaff) بر رفع مسمومیت ناشی از سموم ارگانوفسفره در موش صحرایی، به دلیل وجود ترکیبات فنلی در این گیاهان باعث بهبودی کبد به خصوص در غلظت ۴۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره می شود(۱۱) هم چنین تحقیقات رحمانی و همکاران در سال ۱۳۹۲، نشان داد تجویز خوارکی عصاره عدس قرمز در موش سفید کوچک به دلیل داشتن ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی، اثر اکسیداسیون و آسیب ناشی از تزریق تتراکلریدکربن را به طور قابل ملاحظه ای کاهش داده است(۱) که نتایج حاصل از این تحقیقات با نتایج پژوهش حاضر هم خوانی داشته و بیانگر این مطلب می باشد که عصاره هیدروالکلی گیاه کلوس به علت دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها احتمالاً نقش مهمی را در جلوگیری از آسیب دیدگی کبد بر اثر اکسیداسیون ایفا می کند.

این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی کلوس احتمالاً قادر است که آنزیم های کبدی شاخص در رابطه با آسیب های کبدی کاهش دهد در همین راستا میرزایی و همکاران در سال (۱۳۹۰) نشان دادند که ترکیبات فنلی یا پلی فنول های موجود در عصاره هیدروالکلی هسته انگور و جفت(میوه بلوط) احتمالاً بر سمیت ناشی از تتراکلریدکربن تاثیر داشته و قادر به کاهش فعالیت های آنزیم های کبدی در کبد موش های صحرایی شده است(۱۴). نتایج

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که تزریق درون صفاقی تتراکلریدکربن، مسمومیت کبدی ایجاد می کند، به طوری که میزان آنزیم های شاخص کبدی یعنی ALT، ALP، AST در خون بالا رفته است(گروه شاهد مشتب) اما در گروه هایی که عصاره هیدروالکلی کلوس به صورت گواژ در غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت نموده اند از میزان آسیب غشاء سلول های کبدی کاسته شده که بیشترین کاهش مربوط به عصاره ۸۰۰ میلی گرم/کیلوگرم می باشد که به سبب این فرآیند از میزان آنزیم های AST، ALP، ALT در خون گروه های دریافت کننده عصاره کاسته شده است. در بررسی های انجام شده نیز افزایش میزان بیلی روین تام و بیلی روین مستقیم در گروه شاهد مشتب مشاهده گردید و کاهش میزان بیلی روین تام و بیلی روین مستقیم در گروه های دریافت کننده عصاره مشاهده شد که بیشترین کاهش مربوط به غلظت ۸۰۰ میلی گرم از عصاره و کمترین آن مربوط به غلظت ۲۰۰ میلی گرم از عصاره می باشد که بیانگر خاصیت آنتی اکسیدانی و محافظت کننده کلوس در برابر آسیب های ناشی از تتراکلریدکربن می باشد. مطالعات هیستوپاتولوژیکی بیانگر این مطلب است که بیشترین ضایعات کبدی در مقایسه با گروه کنترل مربوط به گروه شاهد مشتب می باشد و به ترتیب با افزایش غلظت مصرفی عصاره هیدروالکلی کلوس از میزان ضایعات کبدی کاسته شده است.

نتایج تحقیقات جمشیدی و همکاران، نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان به میزان مواد فنلی موجود در آن ها مانند فنل ها و فلاونوئیدها بستگی دارد که با افزایش این ترکیبات در گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش می یابد(۱۳).

گیاه کلوس نیز به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، دارای خاصیت مهار رادیکال های آزاد و اثرات آنتی اکسیدانی می باشد بنا بر این منجر به غیر فعال ساختن رادیکال های آزاد تولید شده توسط تتراکلریدکربن شده و از آسیب به غشاء سلول ها و القای نکروز در کبد جلوگیری نموده است. با کاهش

بر اساس نتایج این مطالعه عصاره هیدروالکلی کلوس به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی ناشی از حضور این ترکیبات می تواند کبد را در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلرید کربن محافظت نماید و این اثر حفاظتی کبدی احتمالاً در برطرف نمودن تغییرات ایجاد شده در آنزیم های سمیت زدا و غیر فعال ساختن رادیکال های آزاد موثر است.

تعارض منافع: نویسنندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر حسین سازگار از جناب آقای دکتر عبدالرسول نامجو جهت بررسی اسلامیدهای برش بافتی و جناب آقای دکتر عبدالله قاسمی پیر بلوطی جهت راهنمایی در بخش های گیاهی کمال تشکر و قدردانی را داریم.

حاصل از این تحقیق نیز هم خوانی بسیار نزدیکی با نتایج حاصل از پژوهش حاضر دارد.

گرچه مکانیسم های محافظتی درون سلولی به میزان زیادی آسیب های ناشی از Ros را کاهش می دهند اما به علت فراوانی تولید این رادیکال های آزاد وجود راه های محافظتی دیگری به ویژه آنتی اکسیدان های مواد غذایی برای سلامتی انسان بسیار مهم می باشد از آن جا که استرس اکسیداتیو و التهاب القا شده توسط آن عامل آسیب زننده به بافت کبدی هستند و در ایجاد بسیاری از بیماری های حاد کبدی نقش مهمی دارند، از این رو آنتی اکسیدان ها قادرند با کاهش اکسیداسیون لیپیدی و نکروز هپاتوسیتی تا حد زیادی کبد را در مقابل آسیب ها محافظت کنند به همین دلیل است که اهمیت جستجوی آنتی اکسیدان های طبیعی در سال های اخیر افزایش قابل توجهی یافته است(۱).

References

- 1.Rahmani AH, Goudarzi M, Rashidinooshabadi MR, Houshmand Gh, Khademhaghigian H. [Protective effect of red Lentil (*Lens Culinaris*) extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Mice]. J Babol Uni Med Sci 2014;16: 49-55. (Persian)
- 2.Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes carbon tetrachloride as a toxicological model. Cri Rev Toxicol 2003;33:105-36. doi: 10.1080/713611034
3. Recknagel RO, Glende Jr EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. Pharmacol Ther 1989;43:139-54. doi.org/10.1016/0163-7258(89)90050-8
4. Shukitt Hale B, Carey A, Simon L, Mark DA, Joseph JA. Effects of concord grapejuice on cognitive and motor deficits in aging. Nutrition 2006; 22: 295-302. doi: 10.1016/j.nut.2005.07.016
5. Talebanpourbayat Z, Aghababa H, Shojaeifard M. [Protective effects of hydro alcoholic extract of apiumgraveolens on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Sprague dawley male Rats]. J Fasa Uni Med Sci 2015 ;5: 102-110. (Persian)
6. Kabiri N, Ahangardarabi M, Mahzooni P. [Effect of Kombucha tea on rat liver histopathological alterations due to Thioacetamide]. J Gorgan Uni Med Sci 2014; 15: 35-41. (Persian).
7. Shun YM, Wen YH, Yong CY, Jian GS. Two Benzyl dihydroflavones from *PhellinusI gniarius*. Chinese Chem Let 2003; 14: 810-13.
8. Shakerian A, Sohrabi M, Ghasemipirbalouti A. [Effect of *Keluissiaodoratissima* Mozaff oil essential in sensory properties and shelf life of set yogurt]. JHD 2012; 3: 41-8. (Persian)
9. Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of *Keluissiaodoratissima* Mozaff in model and food systems. Food Chem 2007; 105: 57-64. doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.056
10. Etebari M, Sajjadi SE, Jafarian-Dehkordi A, Panahi M. Antigenotoxic Effects of Methanolic and Aqueous Extracts of *Keluissiaodoratissima* Mozaff against Damage Induced by Methyl Methanesulfonate. J Isfahan Med Sch 2013; 30: 2062-2071.[Persian]
11. Ghasemipirbalouti A , Shahvali A , Saghaee F , Azizi S , Hamedi

- B, Shahgholian L. [Effect of Cichoriumintybus L. extracts and Kelussiaoderatassima Mozaff essential oil on toxic of organophosphouros insecticides in Rat]. JHD 2010; 1:30-5. (Persian)
12. Hsiao G, Teng CM, Sheu JR, Cheng YW, Lam KK, Lee YM et al. Cinnamophilin as a novel antiperoxidative cytoprotectant and free radical scavenger. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1525: 77-88. doi.org/10.1016/S0304-4165(00)00173-2
13. Jamshidi M, Ahmadiashtiani H, Rezazadeh S, Fathiazad F, Mazandarani M, Khaki A. [Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of mazandaran province]. JMP2010;2:177-182. (Persian)
14. Mirzaei A, Mirzaei N, Mirzaei M, Delaviz H. [Hepatoprotectivte effect of Iranian grape seed and Jaft (a part of oak fruit) extracts against CCL4 induced-liver toxicity in Rats]. ISMJ 2011; 14:230-23. (Persian)

Effects of *Keluissia odoratissima* Mozaff Hydroalcoholic Extract on Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Mice

Sazegar H^{*}, Balali E^l, Sadeghisamani F^l

(Received: December 27, 2016)

Accepted: August 29, 2017)

Abstract

Introduction: Regarding the importance of liver injuries in modern societies, researchers have paid great attention to safer therapeutic products due to the side effects of chemical medicine. *Keluissia odoratissima* Mozaff is a herb with medicinal properties, such as antioxidant effects. This paper aimed to investigate the effect of hydroalcoholic extracts of the aerial parts of this plant (leaves and stems) on liver injury induced by carbon tetrachloride in mice.

Materials and Methods: This study was conducted on 36 male mice divide into 6 groups, including a control group, a positive control (distilled water, olive oil and carbon tetrachloride), a negative control (distilled water and olive oil), and 3 experimental groups, which received the extract (concentrations of 200, 400, and 800 mg/kg). At first, the *Keluissia odoratissima* Mozaff extract was administered to mice by gavage for 3 days. Afterwards, the equal proportions of olive oil and carbon tetrachloride (1 mg/kg) was administered intraperitoneally to male mice for 5 days by gavage.

Findings: Pathological findings in liver tissue indicated that apart from the control and negative control groups, there were different degrees of liver necrosis around the in all groups, more specifically in the positive control group. Study of the blood factors revealed a significant decrease of these factors in experimental groups compared to the positive control group. In addition, it was also found that the increase in the dose of extract could decrease the level of liver enzymes ALT-AST-ALP, total and direct bilirubin, and pathological damages.

Discussion & Conclusions: According to the findings of the current study it can concluded that flavonoid compounds and phenolic in *Keluissia odoratissima* Mozaff can decrease the toxic effects induced by carbon tetrachloride in liver tissues of mice.

Keywords: *Keluissia odoratissima* Mozaff, Carbon tetrachloride, Liver enzymes, Mice

1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
* Corresponding author Email: hoseinsazgar@yahoo.com