جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فصلنامهٔ علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۲ شمارهٔ ۲ ، صفحهٔ ۷۹ - ۸٤ ، (۱۳۸۵)

تأثير عصاره‌هاي آبي و هيدروالكلي زنجبيل و خار مريم بر هپاتوتوكسيسيتي ناشي از تيواستاميد در موش صحرايي

سید حسین مدنی[۱]، غلامعلی نادری[۲]، صدیقه عسگری[۲]، داریوش خاکسار[۱] و ملیحه طالب‌الحسینی[۱]
۱- گروه زيست شناسي ـ دانشگاه اصفهان, e-mail: h.madani@biol.ui.ac.ir
۲- مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان

چکیده

تحقیقات نشان داده است که عصاره بعضی از گیاهان اثر حفاظتی مؤثری برروی سلول‌های کبد رات در برابر سموم و عوامل اکسیدان دارد. در این تحقیق اثر عصاره آبی و هیدروالکلی زنجبیل و عصاره هیدروالکلی خار مریم در برابر مسمومیت کبدی ناشی از تیواستامید در موش صحرایی نر و ماده بالغ مورد بررسی قرارگرفت. برای ارزیابی خسارات وارده به کبد رات تیمار شده با تیواستامید و همچنین بررسی اثر حفاظتی ترکیبهای فنلی عصاره خار مریم و عصاره هیدروالکلی و آبی زنجبیل، بر میزان ترانس آمینازها سرمی SGPT ، SGOT همچنین بیلی‌روبین، آلکالین فسفاتاز، سدیم و پتاسیم سرم تعیین گردید. رات‌ها به ۱۰ گروه ۵ تایی تقسیم شده، بعد تیواستامید با دوز ۵۰ mg/kg (وزن بدن) و عصاره‌ها با دوز ۱۰۰ mg/kg (وزن بدن) به‌صورت (درون صفاقی) توأم در سه روز متوالی تزریق شد. ٤۸ ساعت بعد از آخرین تزریق، خون‌گیری مستقیماً از قلب انجام گرفته و سرم آن جدا گردید. عوامل ذکر شده اندازه‌گیری و نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی و هیدروالکلی زنجبیل و عصاره هیدروالکلی خارمریم بر روی کبد رات‌های تیمار شده با تیواستامید، تأثیر معنی‌داری می‌گذارند ($P < ۰/۰۵$). در حالی که تفاوت معنی‌داری بین عوامل در موش نر و ماده مشاهده نشد. با مقایسه نتایج مشخص گردید که اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی خارمریم بیشتر از عصاره آبی زنجبیل و عصاره آبی زنجبیل بیشتر از عصاره هیدروالکلی زنجبیل است. اثر حفاظتی این عصاره‌ها به‌واسطه ترکیبهای پلی‌فنلی موجود در آن‌ها می‌باشد که این ترکیبها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: تیواستامید، سمیت کبدی، ترکیبهای فنلی، عصاره زنجبیل، عصاره خارمریم، رات.

مقدمه

امروزه اکثر مردم با مقادیر بسیار زیادی از مواد شیمیایی و سموم مختلف به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در تماس هستند (Devlin، ۲۰۰۲). کبد به‌عنوان یک عضو مهم علاوه بر اعمال متابولیک و ترشحی، در خنثی‌کردن سموم نیز نقش دارد. عمل سم‌زدایی در کبد توسط سیتوکروم P450 موجود در شبکه آندوپلاسمی صورت می‌گیرد. به‌همین علت سلولهای کبدی بیشتر در معرض خطر این سموم می‌باشند (Lupp *et al.*, 2001; Singh & Handa, 1995). در حال حاضر برای حفاظت از سلولهای کبدی از داروهای شیمیایی استفاده می‌شود که خود نیز عملکرد کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهند، ولی استفاده از ترکیبهای آنتی‌اکسیدان و گیاهانی که حاوی ترکیبهای فنلی می‌باشند، می‌تواند مفید بوده و بدون اثرات جانبی اثر حفاظتی داشته باشد (Delactive & Bonnefont-Rousselate, 1998 ; Vinson & Dabbagh, 1998). یک‌دسته از ترکیبهای گیاهی پلی‌فنل‌ها هستند که قادرند با دادن الکترون به رادیکال آزاد (اکسیدان)، آن را خنثی نمایند (Lin *et al.*, 1997; Robards *et al.*, 1999).

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

از مهمترین عصاره‌های گیاهی که عمل حفاظتی آن در سلولهای کبدی به اثبات رسیده است، عصاره خارمریم می‌باشد (Ahmad *et al.*, 2002) که در این تحقیق به‌عنوان شاهد مثبت بکار رفته است. به‌طور کلی برای سنجش آسیب‌های کبدی میزان ترانس آمینازهای سرمی SGOT و SGPT ، بیلی‌روبین، آلکالین فسفاتاز، سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری می‌شود (Germano *et al.*, 1999; Singh & Handa, 1995). به‌علت این‌که تا کنون مطالعات انجام شده در مورد اثر حفاظتی ترکیبهای فنلی گیاهی بیشتر در مورد عصاره هیدروالکلی، برروی موش‌های نر صورت گرفته و استفاده از عصاره آبی و واکنش رات‌های ماده کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، در این تحقیق اثر حفاظتی ترکیبهای عصاره هیدروالکلی خارمریم و عصاره آبی و هیدروالکلی زنجبیل برروی رات‌های نر و ماده به‌صورت هم‌زمان بررسی شده است.

مواد و روشها

بذر خارمریم از ایستگاه تحقیقاتی جهاد سازندگی تهیه گردید. ریزوم زنجبیل نیز تحت نظر کارشناسان از عطاری جمع‌آوری شد. نمونه‌های تهیه شده توسط استادان بخش علوم گیاهی دانشگاه اصفهان شناسایی گردید. به‌منظور استخراج ترکیبهای فنلی گیاهان از حلال‌های آلی استفاده شد. برای تهیه عصاره آبی زنجبیل روش خیساندن بکاربرده شد و به ۵۰ گرم پودر زنجبیل ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و بعد از ٤٨ ساعت محلول صاف گردید. عصاره هیدروالکلی نیز با استفاده از خیساندن در الکل‌های ٩٦ و ۷۰ درجه بدست آمد و در نهایت محلول‌های بدست آمده تا ۱/۳ حجم اولیه و در خلأ تغلیظ گردید.

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر و ماده بالغ از نژاد Wistat با وزن ۲۰ ± ۲۲۰ و ۲۰ ± ۲۰۰ به‌ترتیب، استفاده شد. حیوانات از انستیتو پاستور تهران تهیه و در لانه حیوانات دانشکده داروسازی اصفهان تحت دوره نوری ۱۲ ساعت، دمای ۵ ± ۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت کافی نگه‌داری شدند. تغذیه موش‌های صحرایی توسط غذاهای آماده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام گرفت.

۵۰ عدد موش صحرایی در ۱۰ گروه ۵تایی شامل ۵ گروه نر و ۵ گروه ماده به‌طور تصادفی تقسیم‌بندی شدند. پس از گروه‌بندی و سپری شدن دوره تطبیق با حرارت و رطوبت محل نگه‌داری، این نکته که موش‌های صحرایی ماده در زمان قاعدگی نباشند نیز رعایت گردید.

تیمار حیوانات

با انجام آزمایشهای مقدماتی و با استفاده از منابع موجود دوز تزریق برای عصاره و تیواستامید انتخاب شد. یک گروه نر و یک گروه ماده به‌عنوان گروه کنترل منظور گردید و در هر بار تزریق تنها سرم فیزیولوژی به‌منظور ایجاد شوک حاصل از تزریق دریافت کرد. به گروه‌های نر و ماده دوم تیواستامید با دوز mg/kg ۵۰ وزن بدن به‌صورت درون صفاقی و در سه روز متوالی تزریق گردید. به گروههای سوم، چهارم و پنجم به‌ترتیب عصاره آبی زنجبیل، عصاره هیدروالکلی زنجبیل و عصاره هیدروالکلی خارمریم با دوز mg/kg ۵۰ وزن بدن به‌صورت درون صفاقی و در سه روز متوالی تزریق گردید. به گروههای سوم، چهارم و پنجم به‌ترتیب عصاره آبی زنجبیل، عصاره هیدروالکلی زنجبیل و عصاره هیدروالکلی خارمریم با دوز mg/kg ۱۰۰ وزن بدن همراه با تیواستامید با دوز mg/kg ۵۰ در سه روز متوالی به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. ٤٨ ساعت پس از آخرین تزریق موش‌های صحرایی توسط کلروفرم بی‌هوش و خون‌گیری به‌طور مستقیم از قلب به‌عمل آمد. پس از خون‌گیری و جداسازی سرم میزان SGOT ، SGPT، آلکالین فسفاتاز و بیلی‌روبین سرم توسط

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کیت‌های مخصوص دستی (کیت زیست شیمی و درمان‌کاو) برپایه روش آنزیماتیک، اندازه‌گیری شد. نتایج برحسب واحد آنزیم در لیتر (u/L) محاسبه گردید. میزان یون پتاسیم نیز توسط دستگاه فیلم فتومتر برحسب میلی‌اکی‌والان در لیتر تعیین گردید.

نتایج

تیواستامید با دوز mg/kg ۵۰ در سه روز متوالی در مقایسه با گروه شاهد باعث افزایش معنی‌داری در میانگین میزان فعالیت SGOT ، SGPT و آلکالین فسفاتاز در هر دو گروه نر و ماده شد ($P < ۰/۵۱$). ولی تغییرات بیلی‌روبین و پتاسیم معنی‌دار نمی‌باشد ($P > ۰/۰۵$) (نمودار های ۱، ۲، ۳ و ٤).

تزریق عصاره هیدروالکلی خارمریم و زنجبیل و عصاره آبی زنجبیل موجب کاهش معنی‌دار SGOT و SGPT و آلکالین فسفاتاز در مقایسه با گروه دریافت کننده تیواستامید گردید (نمودار های ۱، ۲، ۳ و ٤).

در مقایسه گروههای نر و ماده میزان SGOT و SGPT ، آلکالین فسفاتاز و بیلی روبین مقایسه گردید. نتایج نشان می‌دهند که عصاره‌ها در هر دو جنس تأثیر معنی‌داری دارند، گرچه میانگین آن‌ها و در بین گروههای نر و ماده تفاوت‌هایی را نشان می‌دهند، ولی این تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشند (نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ٤).

بحث

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که میزان فعالیت SGOT و SGPT و ALP در گروههای تیمار شده با تیواستامید نسبت به گروههای شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داده است. از آن‌جایی که این آنزیم‌ها شاخص‌هایی برای بررسی آسیب بافت کبد می‌باشند پس می‌توان نتیجه گرفت که تیواستامید موجب آسیب سلولهای کبدی شده است. سازوکار آسیب تیواستامید به کبد به‌واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشند.

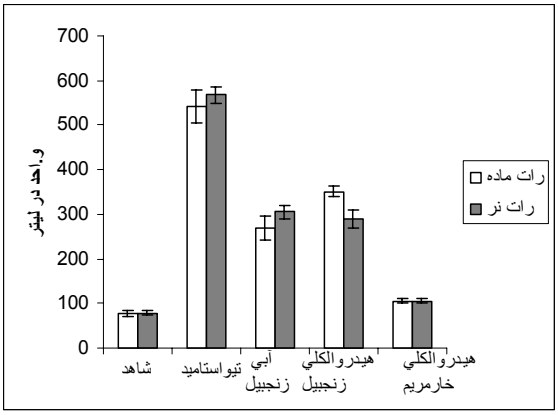
تیواستامید یک ماده شیمیایی است که در صنایع مختلف از جمله چرم سازی، کاغذسازی و در آزمایشگاه به‌عنوان معرف بکار می‌رود (http://ntp-server.niehs.gov). این ماده سمی در سلولهای کبد ایجاد متابولیت S- اکسید می‌کند که یک رادیکال آزاد بوده و قادر است به اسیدهای چرب غشاء سلول، پروتئین‌ها و DNA حمله کند (*Sanz et al.*, 1998; Singh & Handa, 1995). علاوه بر آن می‌تواند موجب نکروز و مرگ برنامه‌ریزی شده یا آپوتپوز سلولهای کبد گردد (Ledda *Columbano et al.*, 1997). در اثر حمله رادیکال‌های آزاد به غشاء سلولی، پراکسیداسیون لیپیدی صورت می‌گیرد که باعث کاهش سیالیت غشاء، تغییر در نفوذپذیری آن، رهاسازی مواد داخل سلولی (یون‌ها و آنزیم‌ها) به مایع میان بافتی می‌شود (*Bergendi et al.*, 1999; Latha & Babu, 2001; Miki, 1989). تزریق هم‌زمان عصاره‌های هیدروالکلی و آبی زنجبیل و عصاره هیدروالکلی خارمریم همراه با تیواستامید موجب کاهش SGOT ، SGPT و ALP در مقایسه با گروه تیواستامید گردید که این به‌دین معنی می‌باشد که این عصاره‌ها دارای اثرات حفاظتی مؤثری در سلولهای کبدی در برابر آسیب ایجاد شده توسط تیواستامید می‌باشند.

این عصاره‌ها حاوی ترکیبهای پلی‌فنلی می‌باشند که اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبهای پلی‌فنلی در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است. از سازوکار هایی که ترکیبهای پلی‌فنلی موجود در عصاره‌ها باعث حفاظت سلولهای کبدی می‌شوند می‌توان به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، مهارسیتوکروم P450 ، تحریک ترمیم سلولهای کبد و مهار گلوکورونیداز اشاره نمود. عصاره‌های پلی‌فنلی با استفاده از این سازوکارها از تبدیل تیواستامید به متابولیت سمی تیواستامید د- اکسید جلوگیری کرده و همچنین در صورت تولید این ماده به‌واسطه خواص آنتی‌اکسیدانی از عملکرد آن ممانعت

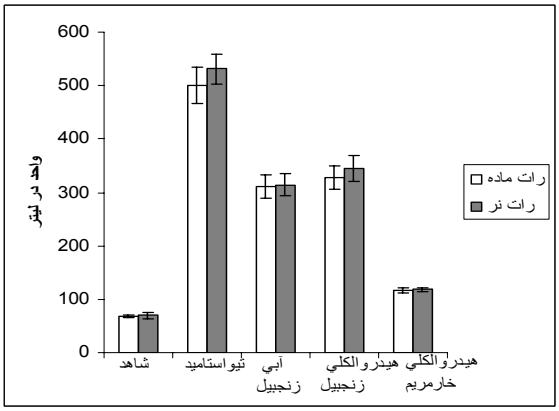
می‌کنند. در نهایت در تیمار طولانی مدت با این عصاره‌ها می‌توان آسیب‌های وارده به سلول را ترمیم نمود.

همان‌طور که اشاره گردید تفاوت در بین گروههای نر و ماده معنی‌دار نمی‌باشد. پس می‌توان چنین عنوان نمود که عمل‌کرد این عصاره‌ها وابسته به تفاوت‌های ساختاری نر و ماده نیست.

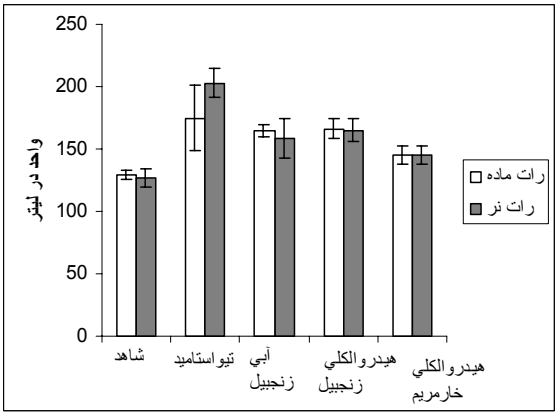
در بررسی عملکرد عصاره‌ها، عصاره هیدروالکلی خارمریم در مقایسه با عصاره هیدروالکلی و آبی زنجبیل به‌صورت مؤثرتری عملکرده است و در کاهش میزان خسارات وارده به سلولهای کبدی و حفاظت از این سلول‌ها عملکرد بهتری داشته است. در مقایسه عصاره هیدروالکلی و آبی زنجبیل عصاره آبی اثر محافظتی مؤثرتری را نسبت به عصاره هیدروالکلی نشان داد. این نتایج نشان‌دهنده استخراج بهتر مواد مؤثر زنجبیل توسط روش آبی می‌باشد.



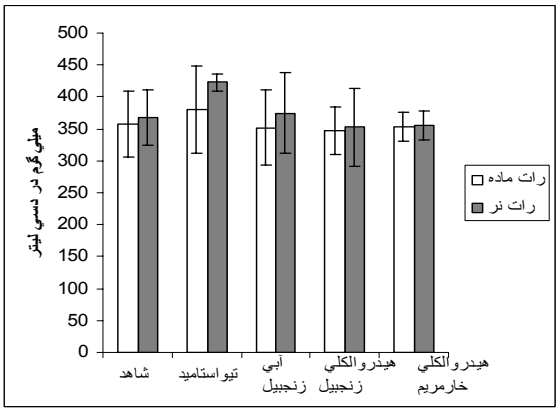
نمودار ۱ـ مقایسه SGOT در موش نر و ماده (واحد آنزیمی U/L)



نمودار۲ ـ مقایسه SGPT در موش نر وماده (واحد آنزیمی U/L)



نمودار ۳ـ مقایسه آلکالین فسفاتاز در موش نر و ماده (واحد آنزیمی U/L)



نمودار ٤ـ مقایسه بیلی‌روبین کل در موش نر و ماده (×۱۰۰۰)

منابع مورد استفاده

- Ahmad, B., Alam, T., Vrshney, M. and Khan, S.S., 2002. Hepatoprotective activity of two plants belonging to the Apiaceae and the Euphorbiaceae family. J. Eth., 79: 313-316.
- An IARC working group reported. IARC V.7, 1974. http://ntp-server.niehs.gov/htdocs/8-roc/rac/thioactamid. Html.
- Bergendi, L., Benes, L., Darackova, Z. and Ferencik, M., 1999. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. Life Sciences. 18: 1865-1874.
- Delactive, j. and Bonnefont-Rousselate, D., 1998. Oxidativestress, free radicals and ageing. Biotech. Lab. International, 21-23.
- Devlin, T. M., 2002. Text book of Biochemistry. Wiley-liss., 5: 466-485.
- Garner-wizard, M., 2001. A spice odyssey. Food technology, 55: 36-44.
- Germano, M.P., Sanogo, R., Costa, C., Fulco, R., Angelo, V.D., Torre, E.A., Viscomi, M.G. and Depasgualo, R., 1999. Hepatoprotective properties in the rat of mitra carpus scaber (Rubiaceae). J. Pharm. Pharmacol., 51: 729-734.
- Kim, K.H., Bae, J.H., Cha, S.W. and Han, S.S., 2000. Role of metabolic activation by cytochorome P450 in thioacetamide-induced suppression of antibody response in male BALA/C mice. Toxicoloy Letters, 114: 225-235.
- Latha, B. and Babu, M., 2001. The involvement of free radicals in burn injury. Burns 27: 309-317.
- Ledda Columbano, G.M., Coni, P., Curto, M., Giacomini, L., Faa, G., Oliverio, S., Lin, C.C., Shieh, D.E. and Yen, M.H., 1997. Hepatoprotective effect of the fractions of Ban-zhilian on experimental liver injuries in rats. J. Enthn. Pharmocol., 56: 193-200.
- Leng-Peschlow, E. and Madause, A.G., 1996. Properties and medical use of flavonolignans from silybum marianum. Phytotherapy Res., 1: 25-26.
- Lin, C.C., Shieh, D.E. and Yen, M.H., 1997. Hepatoprotective effect of the fractions of Ban-zhilian on experimental liver injuries in rats. J. Enthn. Pharmocol., 56: 193-200.
- Lupp, A., Tralss, M., Fuchs, U. and Klinger, W., 2001. Trasplantation of fetal liver tissue suspension in to the spleens of adult syngenic rats effects of cytotoxins on cytochrome P450 mediated monooxygenase functions and on oxidative state. Exp. Toxicol. Pathol., 52(6): 529-538.
- Michael, J., 2000. The role of free radicals and antioxidants. Nutrition, 6: 716-719.
- Miki, M., 1989. Free radical chain oxidated of rat red blood cell by molecular oxygen and its inhibition by α-tochopherol. Arch. Biochem. Biophys., 252: 373-380.
- Reading, G., 1995. Zingiber officianale. Atoms., 1: 9-15.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tueker, G., Swatsitang, P. and Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chemistry, 66: 401- 436.
- Sanz, N., Fernandez, C.D., Simon, L.F., Alvarez, A. and Cascales, M., 1998. Necrogenic and regenerative responses of liver newly weaned rats against a sublethal dose of thioacetamide. Biochemica et Biophysica Acta., 1384: 66-78.
- Schwars, K., Bertelsen, G. and Nissen, L.R., 2001. Investigation of plant extracts for the protection of processed food against lipid. Oxidation coparsion of antioxidant assay based on radical scavenging lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compound. Eur. F. Res. Tech., 212: 319-328.
- Singh, A. and Handa, S.S., 1995. Hepatoprotective activity of Apium graveolons and Hygrophila auriculata against paracetamol and thioacetamide intoxication in rats. J. Enthn Pharmacology, 4(3): 126-131.
- Vinson, J.A. and Dabbagh, Y.A., 1998. Tea phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteinsrition Research, 18(6): 1067-1075.
- Wilkinson, J.M., 1999. Ginger-Areview of its medicinal uses. Biomedical Research, 1: 23-32.

Effects of Aqueous and Hydro-alcoholic Extracts of Ginger and Silybum on Hepatotoxicity Induced by Thioacetamide in Rats

S.H. Madani[1], Gh. Naderi[2], S. Asgari[2], D. Khaksar[1] and M. Talebalhoseini[1]

1- Biology Groups, Esfahan Univerisity, e-mail: h.madani@biol.ui.ac.ir
2- Esfahan Research Centre of Cardiovascular

Abstract

The researches have shown that some plants extracts has protective effects on rats hepatocytes. Most plants have different phenol compounds that for eliciting of them solvents such as ethanol, ethylacetate and water are used. These phenol compounds are able to neutralize free radicals by giving them electrons. Thioacetamide as a destructive toxin in hepatocytes is changed into S-oxide metabolic which is a dangerous free radical and can lead to necrosis and apoptosis of hepatocytes. For evaluation of hepatocytes damages on the treated rats by thioacetamide and also the study of the effects of protective phenol compounds of silymbum extract and hydro-alcoholic, aqueous ginger extract, the value of serum transaminesis of GPT, GOT, bilirubin, alkaline phosphatase, sodium and potassium has been determined. In this research, the male and female of wistar rats have been used. Rats were divided into ten group of five, then thioacetamide with a dose of 50 mg/kg and the extracts with a dose of 100 mg/kg were both injected (I.P) in a sequence of three days. 48 hours after the last injection, blood was directly taken from heart and its serum was prepared. The above mentioned factors were measured and the results have shown that ginger hydro-alcoholic and aqueous extract and silybum extract would have a positive effect on hepatocytes of rats treateds by thioacetamide ($P<0/05$). A significant difference was not seen among the factors in the male and female rat. Comparatively, the results have determined that the protective effect of silybum extract was higher than the ginger aqueous extract and ginger aqueous extract higher than ginger hydro-alcoholic extract. The protective effect of these extracts is due to the existence of polyphenol substances in the plants, these substances have an antioxydant function.

Key words: Thioacetamide, phenol compounds, Hepatoprotective, Ginger, Silymbum extract.