زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۲۱۰- ۱۹۹

مقاله پژوهشی

اثرات آنتی‌اکسیدانی ٦-جینجرول بر سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو القا شده با نانوذرات طلا در بافت کبد موش‌های صحرایی

بی‌بی فاطمه فاطمی[۱]، غلامحسن واعظی[۱*]، شهرام شرفی[۱]، راهله رهباریان[۲]

۱-گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، **ایران**

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[*]مسئول مکاتبات: gh.vaezi@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2021.687845

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۲۰

چکیده

نانوذرات طلا با تاثیر بر سیستم‌های بیولوژیکی بدن افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن داخل سلولی و نیز با افزایش حدواسطهای التهابی سبب آسیب و اختلال در فرایندهای فیزیولوژیک بافت کبد می‌شوند. زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* از جمله گیاهان دارویی می‌باشد که در طب سنتی کاربرد وسیع دارد. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی ٦- جینجیرول موجود در گیاه زنجبیل، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر این ماده بر سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو در بافت کبد موش‌های صحرایی که در معرض نانوذرات طلا قرار گرفته بودند انجام گرفته است. در این مطالعه تجربی ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار بصورت تصادفی به چهار گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل، گروه دریافت کننده نانوذرات طلا به صورت داخل صفاقی، گروه دریافت کننده نانوذرات طلا + جینجرول با دوز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و گروه دریافت کننده نانوذرات طلا+جینجرول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم. در پایان دوره ۳۰ روزه درمان، سطوح سرمی آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز (GGT) برای ارزیابی آسیب کبدی و همچنین مالون دی آلدهید (MDA) و ۸- هیدروکسی داکسی‌گوانوزین (HOdG-8) جهت ارزیابی وضعیت استرس اکسیداتیو کبد، و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) جهت وضعیت آنتی اکسیدانی کبد در سرم به روش الایزا اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که ٦-جینجرول سبب افزایش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم-های SOD و CAT کبد در مقایسه با گروه دریافت کننده نانوذرات طلا گردید. به علاوه ٦-جینجرول سبب کاهش معنی‌داری سطح سرمی ALT، AST، GGT و ALP و همچنین کاهش میزان MDA و (HOdG-8) کبد در مقایسه با گروه دریافت کننده نانوذرات طلا گردید. نتایج مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که جینجرول قادر است بواسطه خواص آنتی اکسیداتیو خود سبب محافظت از بافت کبدی در برابر آسیب‌های ناشی از نانوذرات طلا گردد.

کلمات کلیدی: ٦-جینجرول، نانوذرات طلا، آنتی اکسیدانت، استرس‌اکسیداتیو.

مقدمه

نانوذره، ذره‌ای است که ابعاد آن در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشد. استفاده از نانوذرات در سال‌های اخیر در زیست فناوری، پزشکی، داروسازی، صنایع غذایی و صنایع شیمیایی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته

است (۱۳، ١٤، ۳۵). با این وجود، مواجهه با نانوذرات می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلف در کبد، ریه، کلیه و خون انسان گردد (۱۳، ۳۱، ۲۱). از بین نانو ذرات، نانوذرات طلا دارای خصوصیات منحصر به فردی است از قبیل اندازه‌ی هسته، پایداری بسیار بالا، مقاوم به گرما، توانایی بالا در جذب و انتشار نور، آسان بودن عملکردی کردن آن‌ها با هر نوع مولکول زیستی و نسبت بالای سطح به حجم می‌باشد که باعث افزایش فعالیت‌های شیمیایی و بیولوژیکی، انحلال‌پذیری، تحرک بسیار زیاد در بدن انسان و توانایی نفوذ به غشای سلول شده است (۱۵). مطالعات انجام شده ثابت کرده است، نانوذرات طلا ۱۵ نانومتری می‌توانند به راحتی در بدن جا به جا شوند. مکانیسم‌های دفاعی بدن ممکن است نتوانند با این مواد ریز مقابله کنند و از طرفی نانوذرات با تغییر مورفولوژی و نفوذپذیری غشا قابلیت عبور از سد خونی مغزی را داشته (١٦) و منجر به آسیب DNA و توقف سیکل سلولی و تخریب سلول‌ها و بافت‌ها (۷) و در نهایت منجر به آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شود (۳۰). از جمله اثرات نانوذرات در تعامل با سیستم‌های بیولوژیکی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که می‌تواند سبب استرس-اکسیداتیو، التهاب و در نهایت آپوپتوز سلولی شود (۱۱). همچنین مواد سمی نظیر نانومواد باعث افزایش تولید آنیون سوپراکسید و در نهایت منجر به مهار زنجیره تنفسی و کاهش ATP_S می‌شوند (۲۳).

از بین بازهای پورینی و پیرمیدینی گوانین دارای تمایل بیشتری به اکسیداسیون می‌باشد به طوری که در نتیجه حمله رادیکال‌های هیدرکسیل به موقعیت هشتم مولکول گوانین، ترکیبی به نام ۸- هیدروکسی داکسی‌گوانوزین (8-HOdG) تولید می‌شود (۹)

کبد یکی از اندام‌های مهم بدن است که مسئول تنظیم بسیاری از فرایندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی، تولید صفرا، سم‌زدایی، دفع مواد زاید، سنتز و تنظیم برخی از هورمون‌های ضروری بدن می‌باشد (۵). مهم‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد، آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز و آلکالین فسفاتاز می‌باشد که افزایش سطح این آنزیم ها در خون نشانه آسیب کبدی و به‌عنوان معیار اختصاصی تشخیص نکروز هپاتوسلولار در نظر گرفته می‌شود (۲۷). این آنزیم‌ها در صورت آسیب غشای سلولی هپاتوسیت‌ها در خون آزاد می‌شوند. از اینرو، اندازه‌گیری سطوح آنزیم‌های ALT، AST و ALP دارای اهمیت کلینیکی و توکسیکولوژیکی می‌باشد. تغییر در میزان فعالیت این آنزیم‌ها نشان دهنده آسیب بافت ناشی از سموم و یا بیماری است. به‌طوری که افزایش ALT و AST به‌عنوان شاخص آسیب سلول-های کبدی و افزایش ALP به‌عنوان شاخص نقص در جریان و دفع صفرا در نظر گرفته می‌شود (۱۷).

آنتی اکسیدان‌ها با گرفتن الکترون‌های آزاد اکسید شده، اثر رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند، لذا بدن دائما به منابع آنتی اکسیدانی جدید نیاز دارد (٣٤). اخیرا گیاهان و ادویه‌جات به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند.زنجبیل یکی از گیاهان دارویی است که دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی فراوان است. فعالیت فارماکولوژیکی زنجبیل مربوط به اجزاء فعال آن شامل: جینجرول‌ها و شوگال می‌باشد. اصلی ترین جینجرول، ٦–جینجرول است که بیشترین فراوانی را دربین جینجرول‌ها دارد (۳۲). ٦–جینجرول یک مهاجم علیه رادیکال‌های پروکسیل است. فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات زنجبیل شامل مهار رادیکال-های آزاد، سرکوب پراکسیداسیون لیپید، افزایش مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت‌ها و تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی است (۱۹). گزارش شده است که خوردن زنجبیل سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۸). همچنین اثرات

مفید زنجبیل بر روی استرس اکسیداتیو در قشر مغزی، مخچه، هیپوکامپ و هیپوتالاموس در موش-های دیابتی بررسی شده است. تحقیقات حاکی از آن است که ترکیبات فعال زنجبیل اثر به سزایی در محافظت نوروپاتیک از طریق تسریع در مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز و تنظیم مقادیر MDA به سطوح نرمال در موش‌های دیابتی داشته است (۹). باتوجه به روند رو به رشد استفاده از گیاهان دارویی و خواص آنتی اکسیدانی جینجرول، پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر جینجرول بر میزان آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو در بافت کبد موش‌های صحرایی در معرض نانوذرات طلا انجام گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. تعداد ۳۲ سر موش صحرایی با محدوده سنی ۵±۱۴۰ روز و محدوده وزنی ۶±۱۷۰ گرم در دمای محیطی ۴±۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۳۵ درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف قرار داشتند و آب به مقدار کافی در اختیار آن‌ها قرار داده شد. همچنین از غذای فشرده مخصوص موش با فرمول استاندارد تغذیه نمودند. به‌منظور حصول سازش با محیط، آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز بعد از استقرار حیوانات به انجام رسید. موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۴ گروه (در هر گروه ۸ سر موش صحرایی) تقسیم شدند.

گروه اول: گروه کنترل به مدت ۳۰ روز و به‌صورت داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین به‌عنوان حلال دارو دریافت کردند.

گروه دوم: یک‌بار ۰/۵ میلی‌لیتر نانوذرات طلا (سیگما- آلدریچ؛ آلمان) ۲۰۰ ppm و اندازه ۶۰ نانومتر دریافت کردند و به مدت ۳۰ روز و به‌صورت داخل صفاقی، ۰/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین به‌عنوان حلال دارو دریافت کردند.

گروه سوم: یک‌بار ۰/۵ میلی‌لیتر نانوذرات طلا ۲۰۰ ppm و اندازه ۶۰ نانومتر دریافت کردند و به مدت ۳۰ روز و به‌صورت داخل صفاقی با ۰/۵ میلی‌لیتر ۶- جینجرول با غلظت mg/kgBW ۵۰ تحت تیمار قرار گرفتند.

گروه چهارم: یک‌بار ۰/۵ میلی‌لیتر نانوذرات طلا ۲۰۰ ppm و اندازه ۶۰ نانومتر دریافت کردند و به مدت ۳۰ روز و به‌صورت داخل صفاقی با ۰/۵ میلی‌لیتر ۶- جینجرول با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تحت تیمار قرار گرفتند.

در پایان دوره درمان بافت کبد از بدن موش‌های صحرایی خارج شد. پس از شستشو با محلول سالین به همراه بافر تریس (سیگما- آلدریچ؛ آلمان) به مدت ۵ دقیقه با دستگاه هموژنایزر مدل T25 digital ULTRA-TURRAX (IKA؛ آلمان) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار مدل Z366 (Hermle؛ آلمان) سانتریفوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی مراحل توسط سانتریفوژ در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد و از محلول ۰/۵ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (سیگما- آلدریچ؛ آلمان) به‌عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بخش زیرین رسوب کرده تفکیک و جهت سنجش پارامترهای SOD، GGT، CAT، MDA و HOdG-8 استفاده شد. پارامترهای پژوهش حاضر توسط روش ELISA، دستگاه الایزاریدر (Stat Fax-2100, USA) و کیت‌های ساخت شرکت فاین تست (China) سنجش شد. کیت SOD دارای حساسیت > ۹/۳۷۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۱۰۰۰-۱۵/۶ پیکوگرم

بر میلی‌لیتر، کیت GST دارای حساسیت > ۱۸/۷۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۲۰۰۰-۳۱/۲۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، کیت CAT دارای حساسیت > ۱۸/۷۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۲۰۰۰-۳۱/۲ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بر میلی‌لیتر، کیت MDA دارای حساسیت > ۱۸/۷۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۲۰۰۰-۳۱/۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و کیت HOdG-8 با حساسیت > ۰/۹۳۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۱۰۰-۱/۵۶۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

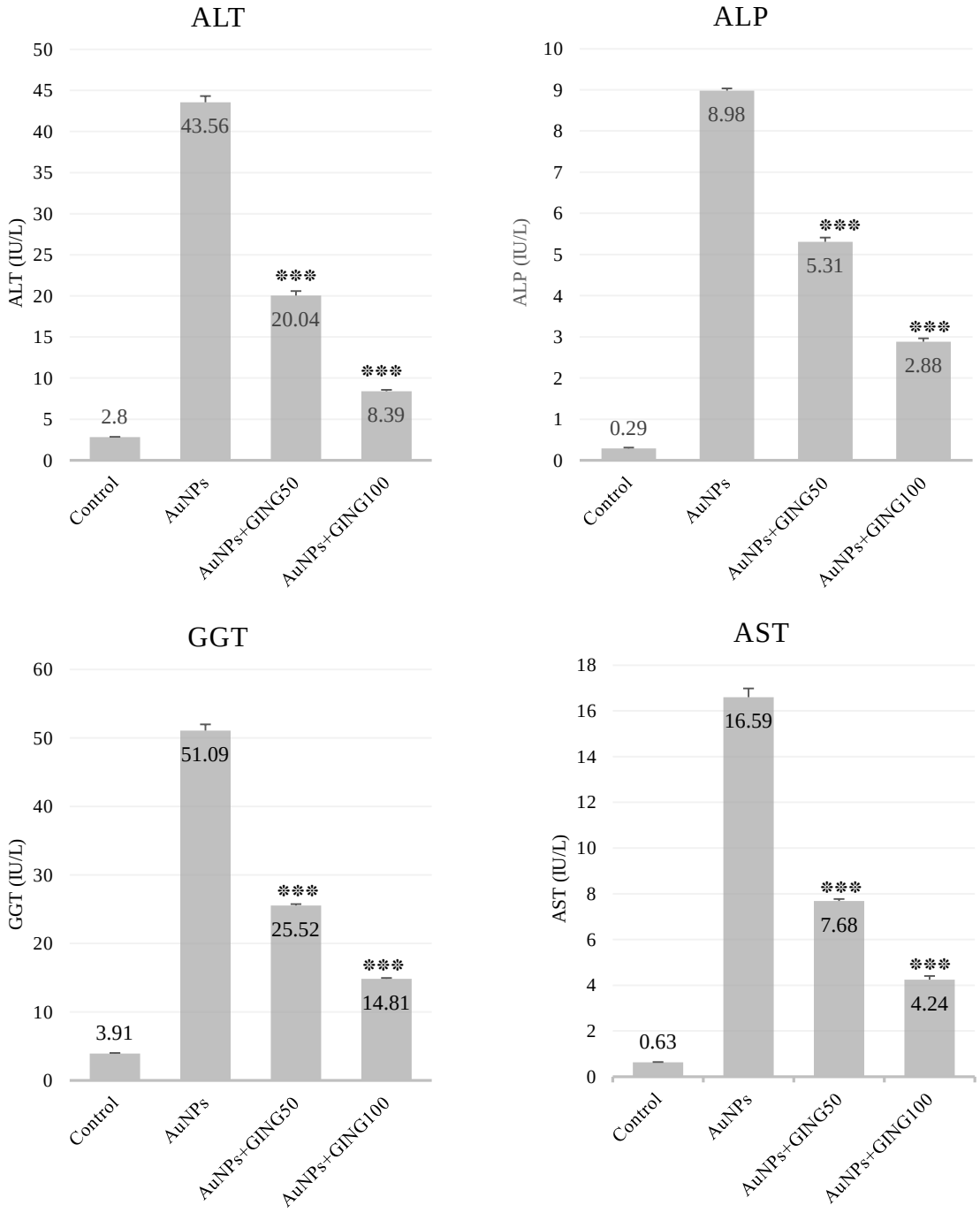
سپس خونگیری از بطن چپ، بدون ماده ضد انعقاد به لوله آزمایش منتقل گردید و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور مدل INB400 (Memmert, Germany) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله‌ها در دستگاه سانتریفیوژ مدل EBA280 (Hettich, Germany) به مدت ۱۲ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس سرم خون روی بخش لخته شده جدا و به لوله آزمایش دیگری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سطح سرمی آنزیم‌های کبدی ALT، AST، GGT ، ALP توسط روش ELISA، دستگاه الایزاریدر مدل 2100(Stat Fax؛ امریکا) و کیت‌های شرکت Finetest (Finetest؛ چین) سنجش شد. کیت ALT دارای حساسیت >۰/۴۶۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۵۰-۰/۷۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر، کیت AST دارای حساسیت > ۰/۱۸۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۲۰-۰/۳۱۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر، کیت GGT دارای حساسیت > ۰/۰۹۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۱۰-۰/۱۵۶ نانوگرم بر میلی‌لیتر و کیت ALP دارای حساسیت > ۰/۳۷۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده ۴۰-۰/۶۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

آنالیز آماری: آنالیز آماری دیتاها توسط نرم افزار SPSS-22 انجام گردید و دیتاها نیز بصورت میانگین ± خطای معیار (mean ± SEM) نشان داده شدند. با توجه به این‌که نتایج به‌دست آمده کمی است، توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov فرض طبیعی بودن توزیع فراوانی داده‌ها برقرار شد ($p > ۰/۰۰۱$). داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تحلیل شد. سطح معنی‌داری داده‌ها $p < ۰/۰۰۱$ در نظر گرفته شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که سطح سرمی آنزیم‌های ALP، ALT، AST و GGT در گروه دریافت کننده AuNPs بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت ($p > ۰/۰۰۱$). تجویز جینجرول سبب کاهش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم‌های ALP، ALT، AST و GGT در گروه‌های AuNPs+GING50 و AuNPs+GING100 نسبت به گروه AuNPs گردید (شکل ۱) (برای هرسه پارمتر $p > ۰/۰۰۱$). از طرف دیگر سطح سرمی آنزیم‌های SOD، GPX و CAT در موش‌های دریافت کننده AuNPs بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ($p > ۰/۰۰۱$). بکارگیری جینجرول سبب افزایش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم‌های SOD، GPX و CAT در گروه‌های AuNPs+GING50 و AuNPs+GING100 در مقایسه با گروه AuNPs گردید (شکل ۲) (برای هرسه پارمتر $p > ۰/۰۰۱$). همچنین میزان MDA و HOdG-8 در گروه دریافت کننده AuNPs نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت ($p > ۰/۰۰۱$). تجویز جینجرول با هر دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کیلوگرم وزن بدن رت سبب کاهش میزان MDA و HOdG-8 در مقایسه با گروه AuNPs گردید (شکل ۳) ($p<۰/۰۰۱$)

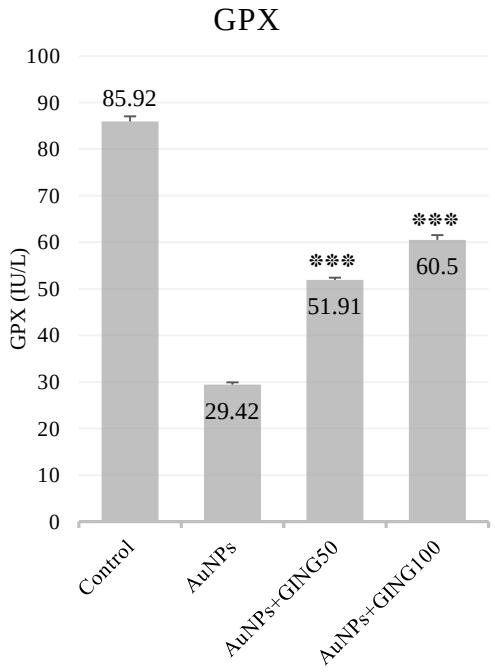
۲۰۲

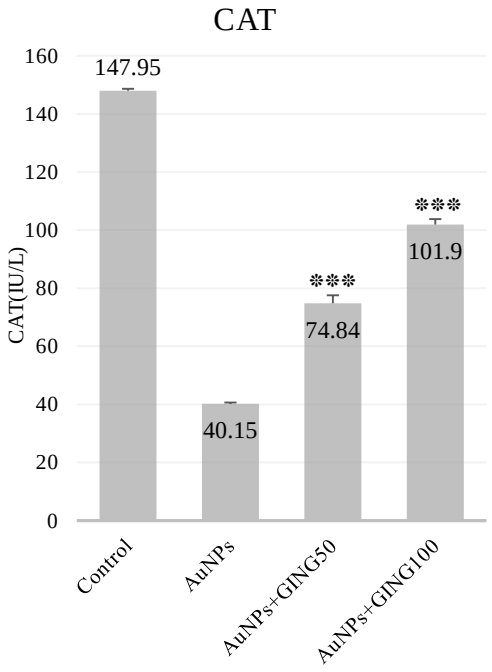


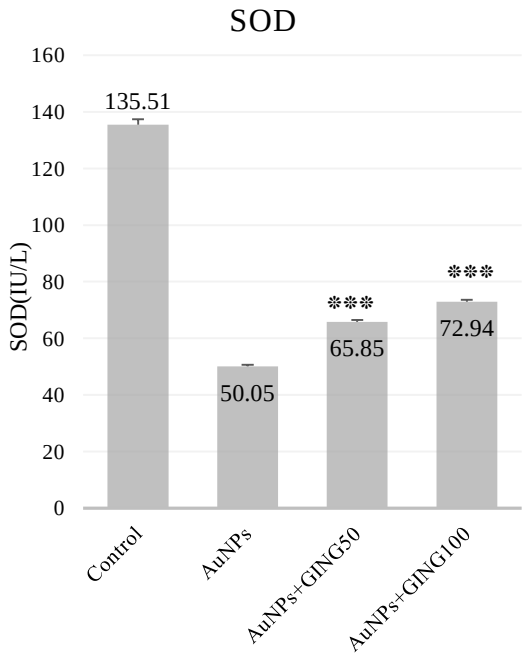
شکل ۱- سطح سرمی آنزیم‌های کبدی ALP، AST ALT ، GGT در رت‌هایی دریافت کننده نانوذرات طلا (گروه AuNPs)، دریافت کننده جینجیرول ۵۰ و ۱۰۰میلیگرم/کیلوگرم (گروه‌های AuNPS+GING50 و AuNPs+GING100)

در مقایسه با گروه کنترل. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار (n = ۸) نشان داده شده است.

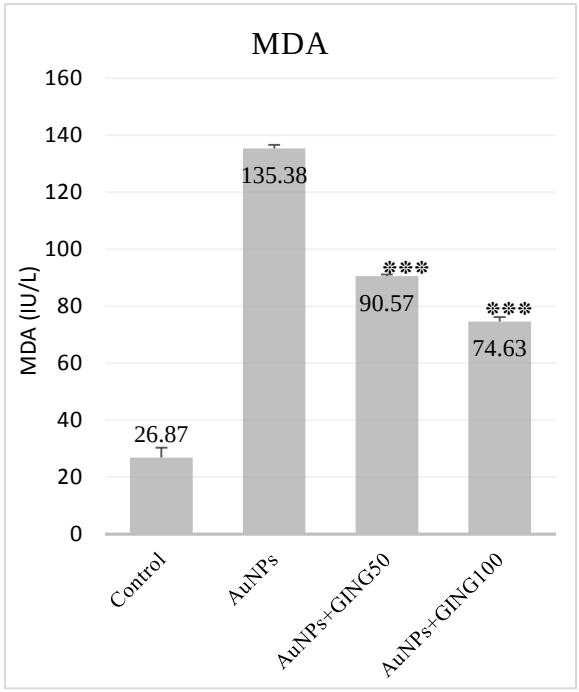
***: معنی داری با $p <$ ۰/۰۰۱

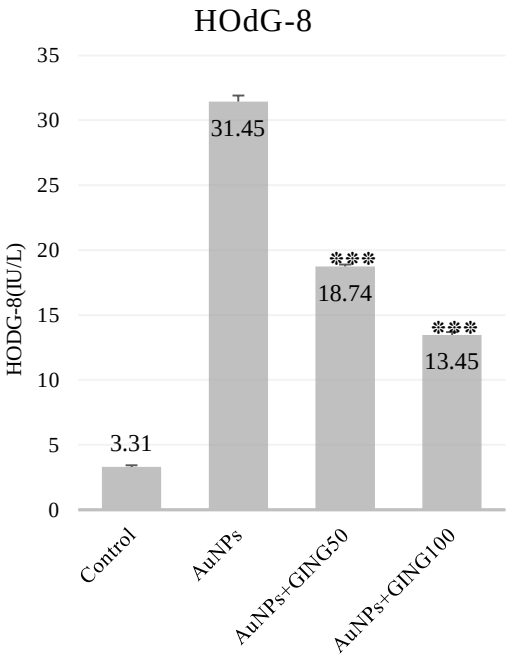






شکل ۲- سطح سرمی CAT، GPX و SOD در رت‌های دریافت‌کننده نانوذرات طلا (گروه AuNPs)، دریافت کننده جینجرول ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (گروه‌های AuNPs + GING100 و AuNPs + GING50) در مقایسه با گروه کنترل. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار (n = ۸) نشان داده شده است. ***: معنی‌داری با $p <$ ۰/۰۰۱





شکل ۳- سطح سرمی HOdG-8 و MDA در رت‌هایی دریافت کننده نانوذرات طلا (گروه AuNPs)، جینجرول با ۱۰۰ و ۵۰ میلی-گرم/کیلوگرم (گروه‌های AuNPs + GING100 و AuNPs + GING50) در مقایسه با گروه کنترل. مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار (n = ۸) نشان داده شده است. ***: معنی داری با $p <$ ۰/۰۰۱

بحث

در پژوهش حاضر اثر جینجرول بر میزان آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو در بافت کبد موش‌های صحرایی در معرض نانوذرات طلا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد تزریق داخل صفاقی نانوذرات طلا موجب افزایش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم‌های کبدی ALT، AST، GGTو ALP در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین سطح بافتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، GST و CAT در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش و نیز میزان MDA و HOdG-8 در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تحقیقات پیشین نشان می‌دهد نانوذرات طلا می‌تواند اثرات سمی بر روی کبد داشته باشد و موجب افزایش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی شود. با توجه به محل قرارگیری آنزیم‌های کبدی در داخل میتوکندری، دلیل افزایش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی در معرض نانوذرات طلا آسیب اکسیداتیو میتوکندری است و این امر با دوز نانوذرات رابطه مستقیم دارد (۲۸). از سوی دیگر با توجه به بررسی-های انجام شده در بافت کبد موش‌های صحرایی دریافت کننده دوزهای مختلف نانوذرات طلا به این نتیجه رسیدند که افزایش دوز نانوذرات طلا سبب افزایش پرولیفراسیون مجاری صفراوی شده و این امر عاملی برای افزایش میزان سطح سرمی آنزیم‌های کبدی به ویژه ALP می‌باشد (۳۳). مطالعه‌ای سمیت نانوذرات طلا را بر بافت کبد موش‌های صحرایی بررسی نمود و مشخص شد این نانوذرات با آسیب سلول‌های کبدی سبب افزایش سطح سرمی آنزیم‌های

کبدی می‌شود. از سوی دیگر گزارش شده است نانوذرات طلا از طریق ایجاد استرس‌اکسیداتیو سبب آسیب سلول‌های کبدی و آزادسازی آنزیم‌های کبدی در خون می‌شود (۲۶). پژوهشی دیگر نشان داده است نانوذرات طلا با تخریب بافت کبد سبب اختلال در ترشح آنزیم‌های کبدی می‌شود. بدیهی است که نوع، قطر و غلظت نانوذرات اثرات متفاوتی در میزان آسیب سلول‌ها و میزان ترشح آنزیم‌های کبدی دارد (۲). طی پژوهشی اثر تزریق داخل صفاقی نانوذرات طلا را طی مدت ۷ روز بر کبد موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار داده‌اند و نتایج شامل تغییر شکل هسته و غشای هپاتوسیت‌ها و آسیب اکسیداتیو DNA می‌باشد. همچنین مشخص شده است نانوذرات طلا با کاهش فعالیت درون سلولی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب القا استرس‌اکسیداتیو به واسطه تولید رادیکال آزاد می‌شود (۳۶). محققین نشان داده‌اند سطح سرمی آنزیم‌های کبدی ALT و AST در گروه‌های تیمار شده با ۵۰ و ۱۰۰ ppm نانوذرات طلا در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد و گزارش شده است تماس پوستی با نانوذرات طلا بر بافت کبد موش‌های سوری نر اثر سمی داشته است و در اثر برهم خوردن تعادل آنتی‌اکسیدانی آسیب بافتی ایجاد می‌کند. بنابراین افزایش حضور آنزیم‌های شاخص کبدی در خون بیانگر آسیب به بافت کبد است (۳). مطالعه‌ای به بررسی اثر سمیت نانوذرات طلا بر کبد پرداخت و نتایج گویای افزایش غلظت سرمی آنزیم-های کبدی ALT، AST و ALP می‌باشد. همچنین گزارش شده افزایش سطح سرمی ALT و AST در اثر از بین رفتن سلول‌های کبدی و افزایش ALP در اثر انسداد و یا تغییر شکل مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی است (۲۵) .بر اساس مطالعات انجام شده نانوذرات طلا با تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن (هم در محیط زنده و هم در شرایط آزمایشگاهی) و نیز تولید رادیکال‌های آزاد با افزایش استرس‌اکسیداتیو سبب آسیب غشا سلولی، کاهش عملکرد میتوکندری و آسیب اکسیداتیو DNA می‌شود (۲۰). همسو با نتایج پژوهش حاضر مشخص شده است نانوذرات طلا با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و القا استرس‌اکسیداتیو منجر به آسیب اکسیداتیو DNA می-شود (۲۰). طبق تحقیقات انجام شده در گروه تیمار شده با نانوذرات طلا افزایش معنی‌داری در غلظت مالون دی‌آلدئید و کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های CAT و GPX صورت گرفته است. همچنین مشخص شده است آسیب اکسیداتیو DNA افزایش می‌یابد. مکانیسم احتمالی در مورد کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تجمع رادیکال‌های آزاد و عدم تعادل سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در اثر استرس‌اکسیداتیو است (۱). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که استرس‌اکسیداتیو و نیز پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از نانوذرات طلا می‌تواند سبب کاهش عملکرد کبد و آسیب به سلول‌های کبدی شود. با توجه به نقش نانوذرات طلا در تولید و افزایش رادیکال‌های آزاد، حساسیت بیش از حد سلول‌های کبدی نسبت به اثرات پاتولوژیک رادیکال‌های آزاد و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌های سیتوپلاسمی سلول‌های کبدی، احتمال می‌رود که نانوذرات طلا سبب پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و در پی آن تخریب سلول‌های کبدی شود که یکی از نشانه این امر افزایش سطح بافتی مالون دی‌آلدئید است (۱۸).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داده است تیمار موش‌های صحرایی دریافت‌کننده نانوذرات طلا با جینجرول موجب کاهش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم-های کبدی ALT، AST، GGT و ALP شد. همچنین سطح بافتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، GST و CAT به‌طور معنی‌داری افزایش و نیز میزان MDA و HOdG-8 در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری

کاهش یافت. محققین نشان داده‌اند عصاره ریزوم زنجبیل با داشتن ترکیبات فلاونوئیدی نظیرجینجرول‌ها و سرکویی ترپن‌ها باعث بهبود عملکرد کبد و کاهش میزان سرمی آنزیم‌های AST، ALT و ALP می‌شود (۲٤). مشخص شده است زنجبیل به دلیل داشتن جینجرول دارای خواص فارماکولوژیک و بیوشیمیایی شامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشد. از سوی دیگر گزارش شده است ترکیبات فلاونوئیدی نظیر جینجرول دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند و از استرس‌اکسیداتیو سلول‌های بدن جلوگیری می‌کنند (۲٤).

عصاره زنجبیل با داشتن خواص ضداکسیدانی و با کاهش میزان ROS سبب کاهش اثرات منفی رادیکال-های آزاد بر آسیب سلول‌های کبدی می‌شود. از سوی دیگر مشخص شده است استفاده از پودر زنجبیل به دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ازجمله گلوتاتیون اس- ترانسفرازها در کبد، ریه و روده می‌شود (۲۹). مطالعات نشان داده‌اند جینجرول‌های موجود در زنجبیل خاصیت آنتی-اکسیدانی دارد و موجب حذف رادیکال‌های آزاد و حذف متابولیت‌های فعال در بدن می‌شود. این امر سبب کاهش آسیب اکسیداتیو DNA و ترمیم DNA آسیب دیده می‌شود. از سوی دیگر گزارش شده است ۱۲ هفته پس از استفاده از زنجبیل سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی آلانین آمینو ترانسفراز، گاما گلوتامیل ترانسفراز و نیز میزان نکروز کبدی در گروه دریافت کننده زنجبیل نسبت به دارونما به طور معنی‌داری کاهش یافت (۲۲). مطالعات حیوانی که با هدف بررسی تأثیر عصاره زنجبیل بر روی مسیرهای آسیب کبدی انجام شده است بیانگر این موضوع است که ترکیبات فعال موجو در زنجبیل سبب تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ترانسفراز و کاهش محصولات حاصل از اکسیداسیون اسیدهای چرب مانند مالون دی‌آلدئید می‌شود (۲٤).

در پژوهشی به بررسی اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل در برابر مسمومیت کبدی ناشی از تیواستامید در موش صحرایی نر و ماده بالغ پرداخت، نتایج حاکی از کاهش آسیب‌های وارده به سلول‌های کبدی و بهبود سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در اثر تزریق سه روز متوالی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی زنجبیل می‌باشد. این اثرات به ترکیب‌های پلی فنلی موجود در عصاره زنجبیل نسبت داده شد و عنوان شده است می‌تواند سبب خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، مهار سیتوکروم P450، تحریک ترمیم سلول‌های کبدی و مهار گلوکورونیداز شود (٤).

همسو با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر گزارش شده است پودر زنجبیل سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی درون سلولی و مهار رادیکال‌های آزاد می‌شود (٦).

با توجه به اثر القایی نانوذرات طلا بر راه‌اندازی فرایندهای التهابی (۱۰)، مشخص شده است جینجرول توانایی قوی در مهار پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها به‌عنوان مهم‌ترین واسطه‌های التهابی دارد. از اینرو موید خوبی برای نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر می‌باشد. زیرا علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی، گزارش شده است عصاره گیاه زنجبیل توانایی مهار IL-1β، TNF-α و مهار آزادسازی انواع سیتوکین‌های التهابی را دارد . همچنین مشخص شده است جینجرول می‌تواند سبب کاهش NF-κB به‌عنوان ماده القاء شده در فرایندهای التهابی به‌وسیله اینترلوکین‌ها شود (۱۲). از اینرو کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی قابل توجیه می‌باشد. زیرا جینجرول توانسته است با کاهش التهاب سبب بهبود عملکرد کبد و کاهش تخریب سلول‌های کبدی شود.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد جینجرول به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی شاخص‌های استرس-اکسیداتیو بافت کبد را بهبود می‌بخشد و موجب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی می‌شود. همچنین سبب کاهش آسیب اکسیداتیو DNA و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد می‌شود. اثرات مفید فوق را می-توان به خواص آنتی‌اکسیدانی جینجرول و توانایی آن در پاکسازی رادیکال‌های آزاد ناشی از نانوذرات طلا نسبت داد.

منابع

1. Abdelhalim M.A.K., Jarrar B.M. 2011. Gold nanoparticles administration induced prominent inflammatory, central vein intima disruption, fatty change and Kupffer cells hyperplasia. *Lipids in Health and Disease*, 10(1): 1-6.

2. Abdelhalim MAK, Jarrar BM. 2012. Histological alterations in the liver of rats induced by different gold nanoparticle sizes, doses and exposure duration. *Journal of Nanobiotechnology*, 10(1): 1-9.

3. Abdelhalim M.A.K., Moussa S.A.A. 2013. The gold nanoparticle size and exposure duration effect on the liver and kidney function of rats: In vivo. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2): 177-181.

4. Abdulaziz Bardi D., Halabi M.F., Abdullah N.A., Rouhollahi E., Hajrezaie M., Abdulla M.A. 2013. In vivo evaluation of ethanolic extract of Zingiber officinale rhizomes for its protective effect against liver cirrhosis. *BioMed Research International*, 2013: 918460.

5. Ahmadieh H., Azar S.T. 2014. Liver disease and diabetes: association, pathophysiology, and management. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 104(1): 53-62. [In Persian]

6. Ajith T., Hema U., Aswathy M. 2007. Zingiber officinale Roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food and chemical Toxicology*, 45(11): 2267-2272.

7. Asweto C.O., Wu J., Alzain M.A., Hu H., Andrea S., Feng L. 2017. Cellular pathways involved in silica nanoparticles induced apoptosis: A systematic review of in vitro studies. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 56: 191-197.

8. Baliga M.S., Haniadka R., Pereira M.M., D'Souza J.J., Pallaty P.L., Bhat H.P. 2011. Update on the chemopreventive effects of ginger and its phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(6): 499-523.

9. Carretero A., León Z., García-Cañaveras J.C., Zaragoza Á., Gómez-Lechón M.J., Donato M.T. 2014. In vitro/in vivo screening of oxidative, homeostasis and damage to DNA, protein, and lipids using UPLC/MS-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(22): 5465-5476.

10. Chen H., Dorrigan A., Saad S., Hare D.J., Cortie M.B., Valenzuela S.M. 2013. In vivo study of spherical gold nanoparticles: inflammatory effects and distribution in mice. *PloS one*, 8(2): e58208.

11. Chompoosor A., Saha K., Ghosh P.S., Macarthy D.J., Miranda O.R., Zhu Z.J. 2010. The role of surface functionality on acute cytotoxicity, ROS generation and DNA damage by cationic gold nanoparticles. *Small*, 6(20): 2246-2249.

12. Dugasani S., Pichika M.R., Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN. 2010. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol,[8]-gingerol,[10]-gingerol and [6]-shogaol. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(2): 515-520

13. Durán N., Silveira C.P., Durán M.., Martinez D.S.T. 2015. Silver nanoparticle protein corona and toxicity: a mini-review. *Journal of Nanobiotechnology*, 13(1): 1-17.

14. Echegoyen Y., Nerín C. 2013. Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food and Chemical Toxicology*, 62: 16-22.

15. Gade A, Ingle A, Whiteley C, Rai M. 2010. Mycogenic metal nanoparticles: progress and applications. *Biotechnology Letters*, 32(5): 593-600.

16. Häffner SM, Malmsten M. 2017. Membrane interactions and antimicrobial effects of inorganic nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 248: 105-128

17. Hasan F.A., Owyed S. 2003. Interpretation of liver chemistry tests. *Bulletin of the Kuwait Institute for Medical Specialization*, 2(1): 27-31.

18. Hosseini S., Khosrofard M., Mehrabani D., Rafieirad M. 2015. Perinatal and neonatal effects of rhizome extract of ginger on levels of insulin and ALT, AST, ALP on adult children of first-generation female rats. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*, 7(2): 299-307. [In Persian]

19. Khaki A., Khaki A.A., Hajhosseini L., Golzar F.S., Ainehchi N. 2014. The anti-oxidant effects of ginger and cinnamon on spermatogenesis dys-function of diabetes rats. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 11(4): 1-8. [In Persian]

20. Li J.J., Hartono D., Ong C.N., Bay B.H, Yung L-YL. 2010. Autophagy and oxidative stress associated with gold nanoparticles. *Biomaterials*, 31(23): 5996-6003.

21. Liu S, Hou W, Yao P, Zhang B, Sun S, Nüssler AK, et al. 2010. Quercetin protects against ethanol-induced oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 24(2): 516-522.

22. Mohamed O.I., El-Nahas A.F., El-Sayed Y.S., Ashry K.M. 2016. Ginger extract modulates Pb-induced hepatic oxidative stress and expression of antioxidant gene transcripts in rat liver. Pharmaceutical biology, 54(7):1164-72.

23. Nel A.E., Mädler L., Velegol D., Xia T., Hoek E.M., Somasundaran P. 2009. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature Materials*, 8(7): 543-557.

24. Nwozo S.O., Osunmadewa D.A., Oyinloye B.E. 2014. Anti-fatty liver effects of oils from Zingiber officinale and Curcuma longa on ethanol-induced fatty liver in rats. *Journal of Integrative Medicine*, 12(1): 59-65.

25. Pan Y., Leifert A., Ruau D., Neuss S., Bornemann J., Schmid G. 2009. Gold nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage. *Small*, 5(18): 2067-2076.

26. Rahimzadeh Torabi L., Doudi M., Noori A. 2016. Antibacterial Effects of Gold Nanoparticles on Multi-sdrug Resistant Klebsiella Pneumoniae and Escherichia Coli and Its Effect on the Liver of Balb/C mice. *SSU Journals*, 23(10): 1001-17. [In Persian]

27. Rezaei A., ShekarForoush S., Ashtiyani S.C., Aqababa H., Zarei A., Azizi M. 2013. The effects of Artemisia aucheri extract on hepatotoxicity induced by thioacetamide in male rats. Avicenna journal of phytomedicine, 3(4): 293. [In Persian]

28. Sadauskas E., Danscher G., Stoltenberg M., Vogel U., Larsen A., Wallin H. 2009. Protracted elimination of gold nanoparticles from mouse liver . Nanomedicine: Nanotechnology, *Biology and Medicine*, 5(2): 162-169.

29. Sakr S.A., Saber A. 2007. Ameliorative effect of ginger (Zingiber officinale) on mancozeb fungicide induced

liver injury in albino rats. *Australian Journal of Basic Applied Sciences*, 1(4): 650-656.

30. Scarfo L., Ghia P. 2013. Reprogramming cell death: BCL2 family inhibition in hematological malignancies. *Immunology Letters*, 155(1-2): 36-39.

31. Shrivastava R., Kushwaha P., Bhutia Y.C., Flora S. 2016. Oxidative stress following exposure to silver and gold nanoparticles in mice. *Toxicology and Industrial Health*, 32(8): 1391-1404.

32. Srinivasan K. 2017. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. *Pharma Nutrition*, 5(1): 18-28.

33. Tlotleng N., Vetten M.A., Keter F.K., Skepu A., Tshikhudo R., Gulumian M. 2016. Cytotoxicity, intracellular localization and exocytosis of citrate capped and PEG functionalized gold nanoparticles in human hepatocyte and kidney cells. *Cell Biology and Toxicology*, 32(4): 305-321.

34. Vilela D., González M.C., Escarpa A. 2015. Nanoparticles as analytical tools for in-vitro antioxidant-capacity assessment and beyond. *Trends in Analytical Chemistry*, 64: 1-16.

35. Young S.W.S., Stenzel M., Jia-Lin Y. 2016. Nanoparticle-siRNA: a potential cancer therapy?. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 98: 159-169.

36. Ziaee Ghahnavieh M., Ziaee Ghahnavieh M., Naghsh N., Dorostkar E. 2014. Skin Touch Effects of Gold Nanoparticles in Male Mice. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 23(1): 225-32. [In Persian]