

اثرات محافظتی تجویز همزمان عصاره سیر و هیدروکورتیزون در برابر ضایعات ریوی ناشی از

سپسیس در رت

بیتا وزیر^{۱*} راستین صفری^۲

۱- گروه علوم پایه دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: bvazir@srbiau.ac.ir

چکیده

التهاب کنترل نشده در مراحل اولیه سپسیس می تواند منجر به آسیب حاد ریه شود. هدف از این مطالعه، مشاهده اثر محافظتی و ترمیمی عصاره گیاه سیر همراه هیدروکورتیزون بر ریه ها در یک مدل سپسیس تجربی بود. گروه ها شامل گروه سپسیس (بدون پیش درمان) و گروه های ۲۰ و ۴۰ که هر روز به مدت دو هفته بترتیب دریافت کننده ۲۰ و ۴۰ میلی گرم برکیلوگرم عصاره سیر همراه یک تزریق ۸ میلی گرم برکیلوگرم هیدروکورتیزون در روز ۱۴ (پس از ایجاد سپسیس) بودند. سپسیس به روش CLP در روز ۱۴ ایجاد و رت ها ۲۴ ساعت بعد به وسیله پنتوباربتال (۲۵۰ mg/kg-IP) کشته شدند. ابتدا نسبت وزن مرطوب به خشک ریه محاسبه شد. ارزیابی تعداد نوتروفیل های مایع برونکوسی-آلوئولی (bronchoalveolar lavage) انجام شد. نیمی از بافت ریه برای هیستوپاتولوژی و نیم دیگر به منظور بررسی پارامترهای مالون دی آلدیاید (MDA) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) اختصاص یافت. مشخص شد که نسبت وزن مرطوب به خشک ریه در گروه سپسیس از بقیه گروه ها بیشتر بود ($P < 0.01$). با بررسی میزان مالون دی آلدیاید MDA به صورت معنی داری در گروه سپسیس نسبت به دو گروه دیگر بالاتر بود ($P < 0.001$). اما ذخیره آنتی اکسیدانی در گروه ۴۰ به شکل معنی داری نسبت به گروه سپسیس و گروه ۲۰ بالاتر بود ($P < 0.01$). درجات ضایعات هیستوپاتولوژی (اکسودای داخل آلوئولی و مجاری هوایی) نیز بترتیب در گروه های سپسیس، ۲۰ و ۴۰ کاهش معنی دار نشان داد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره سیر در کاهش التهاب ناشی از بیماری سپسیس نقش دارد.

کلیدواژگان: سیر، هیدروکورتیزون، سپسیس، ضایعات ریوی

مقدمه

بر این، ساختار شیمیایی و روش های استاندارد سازی سیر، قدرت آنتی اکسیدانی را تعیین می کند (۳).

یکی از روش های ایجاد التهاب حاد سپتیک روش CLP (Sepsis Cecal Ligation and Puncture) است در این روش جراح با بستن سکوم و سوراخ کردن آن منجر به آلوده کردن حفره شکمی با باکتری های موجود در روده شده که این کار در نهایت سبب التهاب صفاق، انقلاب سایتوکایینی و طیف وسیعی از پاسخ های سیستمیک می شود. این روش به عنوان استاندارد در مطالعات مرتبط با سپسیس در نظر گرفته می شود. سپسیس از طریق ورود میکروارگانیسم ها و باکتری های گرم مثبت و گرم منفی از لومن روده ای به جریان خون ایجاد می شود. افزایش بار میکروبی از طریق فعال سازی مسیرهای دخیل در استرس اکسیداتیو در سپسیس منجر به القاء استرس اکسیداتیو گردیده که در نهایت منجر به آسیب ارگان های بدن می گردد (۴). بنابراین با توجه به عوامل تاثیر گذار در سپسیس می توان راهکارهای درمانی را تعیین کرد که یکی از بهترین آن ها کاهش سطح بار میکروبی و کاهش عوامل اکسیداتیو و التهابی است.

درمان های رایج سپسیس شامل استفاده از آنتی بیوتیک ها برای کاهش بار میکروبی، همچنین تقویت سیستم آنتی اکسیدانی توسط داروهای مختلف می باشد. به علاوه داروهای ضد التهابی قوی و سریع با کاهش واکنش های ناشی از سپسیس می تواند باعث کاهش ضایعات یا کمک به درمان بیماری گردد (۵).

گیاهان دارویی و محصولات طبیعی منبع ارزشمندی از عوامل درمانی بوده و امروزه هنوز هم یک موضوع مهم برای شناسایی داروهای جدید هستند. در واقع امروزه داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی نقش بسیار مهمی را در درمان سپسیس ایفا می کنند. ولی با توجه به عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای ضد التهابی، امروزه استفاده از ترکیبات طبیعی در

التهاب حاد ریوی از عوارضی است که با مرگ بیماران مبتلا به سپسیس ارتباط دارد. به همین دلیل کنترل نسبی عوارض آن بویژه آسیب ریوی حاصل از سپسیس اهمیت حیاتی دارد (۱). سپسیس عارضه ای است که مشکلات بالینی و اقتصادی فراوانی را در پی دارد و تحقیقات وسیعی در بخش های مختلف آن صورت گرفته است. با وجود پیشرفت های درمانی در زمینه سپسیس، این بیماری و عواقب ناشی از آن مهمترین عامل مرگ و میر در بیماران مراقبت های ویژه می باشد. یکی از عوارض و مشکلات ناشی از سپسیس به هم خوردن تعادل سیستم استرس اکسیداتیو بدن است (۲).

سیر از طریق محتوای بالای ترکیبات گوگردی بیواکتیو فرار، غیرفرار و محلول در آب دارای اثرات ضد سرطان، مهار رادیکال های آزاد، تعدیل کننده سیستم ایمنی، ضد عفونت، ضد فشار خون، ضد چربی خون و ضد دیابت از قبیل آلیسین (allicin)، دی آلیل سولفید (diallyl sulfide)، ال سیستئین (L-cysteines)، آلیین (alliin)، ال آلیل سیستئین (S-allyl cysteines)، آجوئن (ajoene) است. سیر یکی از پرمصرف ترین گیاهان دارویی سنتی در جهان برای مدیریت بیماری ها است. سیر دارای اثرات ضد سرطانی، مهار رادیکال های آزاد، تعدیل کننده سیستم ایمنی، ضد عفونت، ضد فشار خون، ضد چربی خون، ضد دیابت است و از طریق محتوای بالای ترکیبات سولفور بیواکتیو فرار، غیرفرار و محلول در آب مانند آلیسین، دی آلیل، سولفید، ال سیستئین، آلیین، اس آلیل سیستئین (SAC) و آجوئن است. غلظت این ترکیبات سولفور فعال زیستی از سیر خام تا سیر فرآوری شده متفاوت است. در جایی که عصاره سیر دارای مقادیر بیشتری از ترکیبات سولفور آلی محلول در آب نسبت به سیر تازه و سایر فرآورده های سیر است. فعالیت بیولوژیکی فرآورده های سیر عمدتاً به محتوای ترکیبات آلی گوگرد بستگی دارد. علاوه

در روز چهاردهم. ۰ سپس تک دوز ۸ میلی گرم بر کیلوگرم هیدروکورتیزون (۸) بصورت داخل صفاقی تزریق شد.

در حیوانات سپسیس به روش جراحی CLP در روز ۱۴ ایجاد شد و رت‌ها ۲۴ ساعت بعد از CLP به وسیله اوردوز پنتوباربتال کشته شدند.

۳-۲- بررسی ظاهر و نسبت وزن مرطوب به خشک ریه

ابعاد ریه‌ها بر اساس سانتیمتر اندازه گیری شد. پس از بدست آمدن وزن مرطوب ریه‌ها درون آون قرار داده شدند تا طی مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلیسیوس خشک شوند. پس از خشک شدن، ریه‌ها دوباره وزن شده و نسبت به وزن مرطوب به وزن خشک محاسبه گردید.

۴-۲- شمارش نوتروفیل‌های مایع برونکوسی-آلوئولی (bronchoalveolar lavage)

ریه‌ها برای اولین بار با حجم ۸ میلی لیتر سرم سالین شستشو داده شده و مایع لاواژ برونکوآلوئولار حاصل در یک لوله جداگانه نگهداری شد. سپس، ریه‌ها سه بار دیگر با حجم ۸ میلی لیتر سرم سالین شستشو داده شدند. تمام نمونه‌ها در ۲۵۰ دور به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند، مایع رویی خارج شد رسوب سلولی حاصل از شستشوی اول با سلول‌های شستشوی بعدی ترکیب و در ۱ میلی لیتر بافر حل شد. بعد از آماده سازی، نمونه‌ها با رنگ گیمسا Giemsa رنگ‌آمیزی و سپس در زیر میکروسکوپ درصد تعداد نوتروفیل‌ها نسبت به درصد کل سلول‌ها مشخص شد. برای کمی کردن داده‌ها از هر لام پنج میدان دید به صورت تصادفی شمرده شد.

۵-۲- سنجش مالون دی آلد‌هاید (MDA)

فعالیت MDA با ظهور رنگ زرد ناشی از واکنش نمک تترازولیوم با آنیون سوپراکسید ارزیابی شد. ارزیابی این دو

درمان سپسیس و التهاب اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده‌اند (۶). با توجه به نرخ بالای مرگ و میر مرتبط با سپسیس و به منظور دستیابی به داروهای کم خطر در این مطالعه اثر عصاره سیر به عنوان یک گیاه با پیشینه موثر بهداشتی در درمان بیماری ریوی ناشی از سپسیس مورد بررسی قرار گرفت و هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثر محافظتی سیر بر آسیب ریه ناشی از سپسیس در روش CLP در رت بود.

۲- مواد و روش‌ها

۱-۲- تهیه عصاره سیر

محصول استاندارد شده عصاره سیر از شرکت داروسازی مروارید غرب خراسان با پروانه بهداشتی خریداری شد.

۲-۲- حیوانات و گروه‌های تحقیق

در این مطالعه ۱۵ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۵۰ گرم خریداری شد و خوراک حیوانات به صورت پلت با فرمول استاندارد از کارخانجات فرآورده‌های غذایی تهران تهیه شد. حیوانات بالغ دسترسی آزاد به غذا و آب و آشامیدنی داشتند. سپس حیوانات به سه گروه (۵ سری) تحقیق تجربی زیر تقسیم شدند.

۱- گروه CLP: ایجاد مدل سپسیس بوسیله عمل CLP در روز چهاردهم بدون دریافت هیچ دارویی در روزهای قبل

۲- گروه ۲۰: عصاره سیر با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی (۷) روزانه به مدت دو هفته و ایجاد مدل CLP در روز چهاردهم. سپس تک دوز ۸ میلی گرم بر کیلوگرم هیدروکورتیزون (۸) بصورت داخل صفاقی تزریق شد.

۳- گروه ۴۰: عصاره سیر با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی روزانه به مدت دو هفته و ایجاد مدل CLP

همه موارد شامل هجوم لکوسیت + نکروز + اکسودای سروزی- فیبرینی + درصد درگیری ریه تجمیع شد (۹). حداکثر امتیاز حاصل ۱۲ و حداقل آن صفر بود. امتیاز بیشتر نشانه درجات جراحات بافتی بیشتر بود (شکل ۱).

۸-۲- تجزیه و تحلیل آماری

داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی برای فراسنجه‌های سرمی، و آزمون‌های آماری کروسکال والیس برای هیستوپاتولوژی (One Way ANOVA, Kruskal-Wallis) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۳- نتایج

۱-۳- میزان بقا در طول پژوهش

در طول این پژوهش، همه‌ی رت‌های گروه سپسیس و یک موش از گروه ۲۰ و یک موش از گروه ۴۰ قبل از ۲۴ ساعت از بین رفتند و همان لحظه کالبدگشایی شدند.

۲-۳- بررسی ابعاد و نسبت وزن مرطوب به خشک ریه

ریه‌های گروه سپسیس بطور معنی داری بزرگتر از گروه‌های تیمار ۲۰ و ۴۰ بود ($P < 0.0001$). ریه‌های گروه ۲۰ اما با گروه ۴۰ تفاوت معنی دار نداشت ($P < 0.05$). در مورد نسبت وزن ریه‌ها مشاهده شد که ریه‌های گروه ۲۰ ($P < 0.01$) و ریه‌های گروه ۴۰ ($P < 0.0001$) هر دو با گروه سپسیس اختلاف معنی دار داشتند. بین گروه‌های ۲۰ و ۴۰ نیز تفاوت معنی دار ($P < 0.01$) دیده شد.

نشانگر با روش فتومتریک در طول موج ۵۳۰-۵۴۰ نانومتر انجام شد. MDA همچنین با اسید تیوباربیتریک واکنش نشان داد و یک ترکیب اضافی تولید کرد که می‌توان آن را با روش فلورومتری ($Ex/Em=532/553nm$) اندازه‌گیری کرد.

۶-۲- سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)

حدود ۱۰۰ میلی گرم بافت مرطوب ریه در ۰/۵ میلی لیتر یخ سرد (X Assay Buffer) همگن گردید و در ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی جمع آوری و به لوله‌های تازه منتقل شد. لوله‌ها روی یخ قرار داده شد. سپس روش کار مطابق دستورالعمل کیت کیازیست خریداری شده اجرا شد.

۷-۲- هیستوپاتولوژی ریه‌ها بصورت نمونه ۰/۵ × ۰/۵

سانتی‌متری جهت ارزیابی هیستوپاتولوژی در فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده و با همتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شدند. داده‌های مشاهده شده در متوسط ۵ زمینه با بزرگنمایی ۲۰ برابر بررسی و نتایج با آزمون آماری تفسیر گردید. هجوم لکوسیت، نکروز و اکسودای سروزی-فیبرینی از ۰ تا ۳ امتیازدهی شدند که در آن ۰ = عدم وجود، ۱ = خفیف، ۲ = متوسط و ۳ = شدید لحاظ شد. از طرفی درصد پارانشیم ریه آسیب دیده نیز بصورت ۰ = عدم وجود ناحیه آسیب دیده، ۱ = کمتر از ۱۰٪، ۲ = ۱۰-۳۰٪، و ۳ = ۳۰٪ از سطح ریه درجه بندی شد. امتیاز نهایی آسیب شناسی با لحاظ کردن

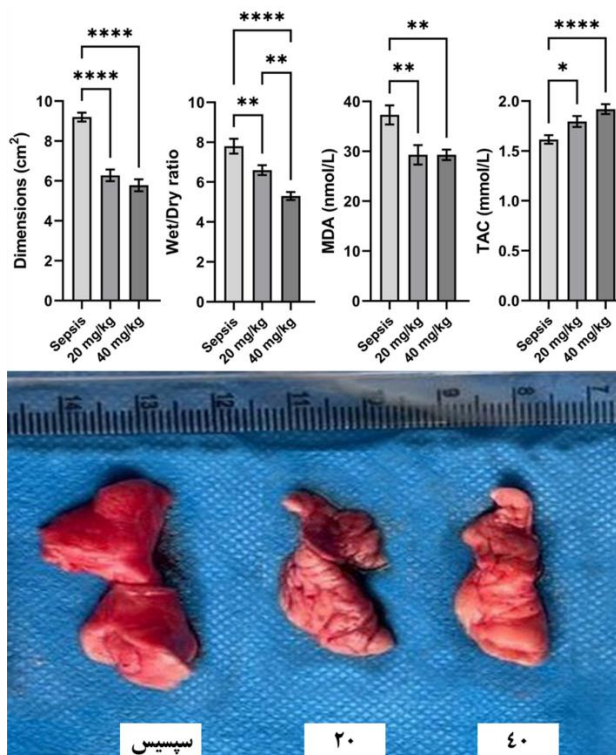
سپسیس در مقایسه با هر دو گروه تیمار ۲۰ ($P<0/05$) و ۴۰ ($P<0/0001$) تفاوت معنی دار نشان داد.

۵-۳- نوتروفیل‌های مایع برونکوسی-آلوئولی

در ساعات پس از جراحی CLP، افزایش درصد نوتروفیل‌ها در رت‌های گروه سپسیس، بیشتر از موش‌های گروه‌های تیمار ۲۰ و ۴۰ ($P<0/0001$) بود. بین دو گروه تیمار ۲۰ و ۴۰ تفاوت معنی دار نشد (شکل ۲).

۶-۳- بررسی تغییرات میکروسکوپی

همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، موش‌های گروه ۴۰ دارای بافت با اکسودای فیبرینی کم‌تری بودند در حالی که ریه‌های رت‌های سپسیس تغییرات التهابی شدیدی را نشان دادند که با اکسودای سروزی-فیبرینی زیاد ریه و افزایش لکوسیت‌ها مشخص می‌شد. بهبود پاتولوژی در گروه درمان با عصاره سیر با دوز ۴۰ ($P<0/0001$) چهره بارزتری نسبت به گروه ۲۰ ($P<0/05$) نشان داد، چراکه سیر-هیدروکورتیزون بسیاری از علائم جراحی حاد ریوی را کاهش داد.



شکل ۱- مقایسه‌ی ابعاد، درصد نسبت وزن مرطوب به خشک، میزان MDA و TAC بافت ریه گروه‌های مختلف تحقیق اثرات سیر-هیدروکورتیزون روی جراحات ناشی از سپسیس در رت. ابعاد و نسبت وزن در گروه ۴۰ بهترین حالت را نسبت به گروه‌های سپسیس و ۲۰ نشان داد. کاهش MDA و افزایش TAC در گروه‌های تیمار نشان داده شده است. ($P<0/05$), ($P<0/0001$), ($P<0/0001$).

۳-۳- سنجش مالون‌دی‌آلدهاید MDA

با توجه به شکل ۱ مشخص شد که سطح مالون‌دی‌آلدهاید در گروه سپسیس نسبت به دو گروه ۲۰ و ۴۰ دارای تفاوت معنی دار بود ($P<0/0001$).

۴-۳- ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC)

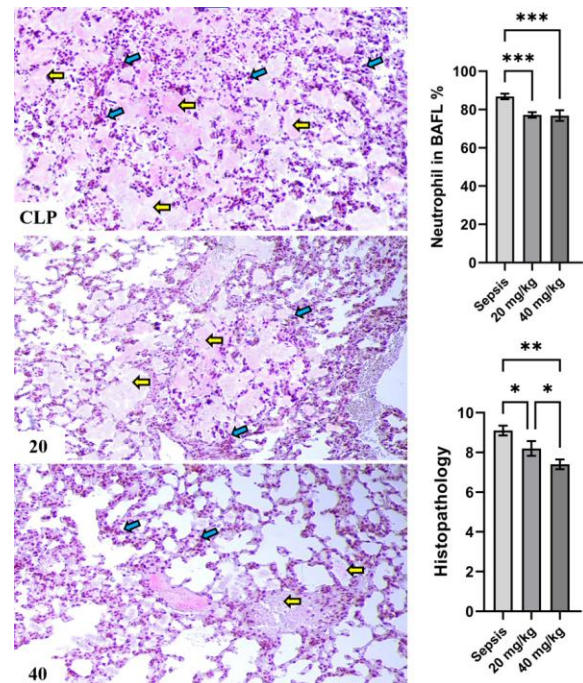
در شکل ۱، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در بافت ریه گروه‌های سپسیس و تیمار شده به وسیله سیر-هیدروکورتیزون مورد ارزیابی قرار گرفت. ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در گروه

سرکوب ایمنی ارگان‌های عدم عمل کننده و حساسیت به عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد (۱۰).

در سپسیس، مهاجرت بسیار قوی نوتروفیل‌ها به ریه‌ها منجر به آسیب سلول‌های اندوتلیال و ایجاد اکسودای سروزی فیبرینی پایدار داخل آلوئولی fibrinous intra-alveolar exudate خطرناک می‌شود. بیماران مبتلا به زجر حاد تنفسی (ARDS) هنگام سپسیس، نفوذ زیادی از نوتروفیل‌ها را در بافت‌های ریه نشان می‌دهند که با شدت آسیب ریه در نتیجه آزاد شدن مقادیر زیادی آنزیم‌های پروتئولیتیک و سایتوکاین‌های التهابی از نوتروفیل‌های نفوذ یافته به بسترهای بافت ریه مرتبط است (۱۱).

Legras و همکاران در سال ۲۰۰۰ ضمن یک مطالعه مورد-شاهدی چند مرکزی در مورد داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی عنوان کردند که NSAIDs ها زمان درمان آنتی‌بیوتیکی مؤثرا طولانی‌تر کرده و یک عامل خطر برای سپسیس شدید و شوک سپتیک هستند (۶). این در حالیست که Tongyoo و همکارانش در سال ۲۰۰۰ به این نتیجه رسیدند که درمان ARDS مرتبط با سپسیس بوسیله هیدروکورتیزون موجب بهبود قابل توجهی در فیزیولوژی و بافت آسیب دیده ریوی می‌شود اما تاثیری روی میزان زنده ماندن حیوانات درگیر سپسیس تاثیری ندارد (۱۲). در تحقیق حاضر نیز درجات ضایعات هیستوپاتولوژی در گروه‌های تیمار ۲۰ و ۴۰ سیر-هیدروکورتیزون بطورمعنی داری کمتر شده بود.

شروع آسیب حاد ریه ناشی از سپسیس در ارتباط مستقیم با فعال شدن آبشارهای پیچیده سایتوکاین‌ها و میانجی‌های التهابی است. اقدامات درمانی مبتنی بر مکانیسم سایتوکاین‌ها شامل گلوکوکورتیکوئید، مهارکننده سایتوکاین و مهارکننده فسفودی‌استراز-۴ است. بنابراین استفاده از گلوکوکورتیکوئید



شکل ۲- مقایسه درصد نوتروفیل‌های مایع برونکوسی-آلوئولی و درجات ضایعات هیستوپاتولوژی ریه در تحقیق اثرات حمایتی سیر-هیدروکورتیزون بر ریه رت‌های دچار سپسیس در ۲۴ ساعت پس از چالش CLP. ضایعات میکروسکوپی در گروه ۴۰ بهترین حالت را نسبت به گروه‌های سپسیس و ۲۰ نشان داد. ستاره زرد: اکسودای سروزی-فیبرینی و ستاره آبی: افزایش جمعیت سلولی (رنگ آمیزی H&E؛ خط معیار: ۱۰۰ میکرومتر). ($P < 0.05$: *; $P < 0.01$: **)

بحث

در ایجاد سپسیس بوسیله عمل جراحی مدل CLP (بستن دریچه سکوم و سوراخ کردن آن) میکروارگانیزم‌های روده‌ای به داخل جریان خون نفوذ پیدا می‌کنند. سپسیس با التهاب حاد ریوی همراه است و این یکی از عوارض این بیماری می‌باشد و این التهاب حاد سبب مرگ بیماران می‌شود از این در جلوگیری از بیماری سپسیس و عوارض ناشی از آن اهمیت بسیار زیادی دارد. سپسیس پاسخ مرتب به عفونت پس از حمله پاتوژن‌های میکروبی به جریان خون است که به دنبال

می‌تواند نقش حیات‌بخش برای بیماران گرفتار سپسیس حاد داشته باشد (۱۳).

Aziz و Wang در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که مقاومت به گلوکوکورتیکوئید منجر به هایپرلاکتاتی می‌شود و این ترکیب موجب افزایش کشندگی سپسیس می‌شود. در واقع مقاومت به گلوکوکورتیکوئید اغلب اثربخشی درمانی گلوکوکورتیکوئید را در سپسیس کاهش می‌دهد. با این حال، مکانیسم آن به طور کامل شناخته نشده است (۱۴).

Park و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان دادند که درمان زودهنگام با ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم دگزامتازون، وضعیت بدنی و جراحات ریوی موش‌ها را در مدل سپسیس شدید بهبود بخشید (۱۳).

در تحقیق حاضر نیز برای کنترل طوفان سایتوکاینی کشنده در سپسیس از هیدروکورتیزون استفاده شد تا بتوان در کنار آن اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی سیر را نیز در ریه‌ها بررسی کرد.

Chen و همکارانش در سال ۲۰۲۴ اثر محافظتی زنجبیل در برابر آسیب حاد ریه ناشی از سپسیس و مکانیسم‌های اساسی آن را ارزیابی کردند. آنها با استفاده از بررسی‌های بافت‌شناسی دریافتند که زنجبیل آسیب حاد ریه ناشی از سپسیس را به میزان زیادی کاهش می‌دهد. همچنین، درمان با زنجبیل غلظت سایتوکاین التهابی ناشی از سپسیس و همچنین تعداد سلول‌های التهابی نفوذی در مایع برونکوآلوئولار را در مقایسه با حیوانات سپسیس درمان نشده کاهش داد. گروه‌های سپسیس پیش درمان شده با زنجبیل، فعالیت میلوپراکسیداز ریوی (MPO) کمتری نسبت به گروه‌های سپسیس داشتند. علاوه بر این، Chen بیان کرد مکانیسم اساسی اثر محافظتی زنجبیل بر سپسیس با فعال شدن ژن‌های آنتی‌اکسیدانی مانند نیتریک اکسید سنتاز (iNOS)، سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و هم اکسیژناز ۱ (HO-1)

(1) انجام می‌شود. نتایج به‌دست‌آمده Chen نشان داد که زنجبیل آسیب حاد ریه ناشی از سپسیس را از طریق فعالیت ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی خود از طریق مهار مسیر NF-κB و فعال‌سازی مسیر HO-1 مهار می‌کند. یافته‌های ما نشان می‌دهد که پیش درمانی با زنجبیل، آسیب حاد ریه ناشی از سپسیس را از طریق فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی سرکوب می‌کند، که نشان می‌دهد زنجبیل می‌تواند یک عامل پیشگیرانه مناسب برای آسیب حاد ریه ناشی از سپسیس باشد (۱۵).

در سال ۲۰۱۸ Aziz و همکاران اثبات کردند که حضور زیاد لنفوسیت B-1a نقش ارزنده ای در کاهش سایتوکاین‌های التهابی و نیز ضایعات بافتی ناشی از سپسیس دارند. Aziz در تصاویر بافت‌شناسی بافت ریه کاهش سطح احتقان آلوئولی، ترشحات، نفوذ سلولی بینابینی و آلوئولی، خونریزی مویرگی داخل آلوئولی و آسیب به ساختار اپیتلیال را در موش‌های CLP تحت درمان با سلول B-1a در مقایسه با موش‌های CLP تحت درمان با PBS نشان داد. این تغییرات بافت‌شناسی کاهش قابل توجه نمره آسیب بافت ریه در موش‌های تحت درمان با سلول B-1a در مقایسه با موش‌های CLP تحت درمان با PBS با میانگین ۵۴٪ بهبود را منعکس کرد (۱۶).

در تحقیق حاضر کاهش معنی‌دار ضایعات پاتولوژی نظیر ادم و اکسودای داخل آلوئول‌های ریه و نیز کاهش جمعیت سلول‌های التهابی مشاهده شد. میزان ضایعات پاتولوژی در گروه سپسیس به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های ۲۰ و ۴۰ دیده شد ($P < 0/01$). همچنین گروه ۴۰ به طور معنی‌داری کاهش ضایعات بیشتری را نسبت به گروه ۲۰ نشان داد ($P < 0/05$). این واقعیت که عصاره سیر می‌تواند موجب کاهش ضایعات پاتولوژی ریه مبتلا به سپسیس شود در تحقیق حاضر مشهود بود.

در مطالعه Sharifi-Rad و همکاران در سال ۲۰۱۸ بیان شد که عصاره‌های گیاه سیر به طور سنتی به عنوان التیام‌دهنده زخم برای بهبود سیستم ایمنی و درمان علائم تنفسی ناشی از عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. عصاره‌های سیر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی نشان داده و بی‌خطر هستند (۱۸).

Duan و همکارانش در سال ۲۰۲۴ نشان دادند که شیرین بیان با مهار مسیرهای سیگنالینگ NF- κ B و MEK/ERK، سپسیس ناشی از CLP را کاهش می‌دهد. نکته قابل توجه این است که شیرین بیان نه در شرایط آزمایشگاهی و نه در شرایط درون تنی، در رشد باکتری‌ها اختلال ایجاد نکرد. التهاب سیستمیک و تولید بیش از حد ROS از ویژگی‌های اصلی سپسیس هستند. یافته‌های Duan افزایش سطح TNF- α ، IL-1 β و IL-6 را در طول سپسیس و التهاب ناشی از LPS نشان داد در حالی که درمان با شیرین بیان این آبشار التهابی را مهار کرد. در نتیجه، کاهش تولید فاکتورهای التهابی و ROS به عنوان یک استراتژی حیاتی در مدیریت سپسیس ظهور کرده است (۱۹).

در مطالعه حاضر با بررسی هیستوپاتولوژی موش‌های گروه ۴۰ دارای بافت طبیعی‌تر بودند در حالی که ریه‌های رت‌هایی که در معرض چالش CLP قرار گرفتند، تغییرات التهابی معنی‌داری را نشان دادند که با ادم ریه و ارتشاح نوتروفیل مشخص شد. بهبود پاتولوژی در گروه درمان با سیر مشاهده شد، زیرا سیر بسیاری از علائم جراحی حاد ریوی را کاهش داد.

مطالعاتی که در گذشته انجام شده است حاکی از این موضوع می‌باشد سپسیس با نوتروفیلی شدید همراه است (۲۰). افزایش میزان نوتروفیل ناشی از سپسیس چه در مطالعات حیوانی و چه مطالعات انسانی رخ داده است، در مطالعه Gharebaghi و همکاران در سال ۲۰۱۹ به منظور ارزیابی

استرس اکسیداتیو و برهم خوردن تعادل بین رادیکال‌های آزاد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، یکی از عوامل مهم در زمان مبتلا شدن به سپسیس است و با بررسی عوامل مؤثر و تاثیر گذار بر آن می‌توان خواص دارویی و درمانی گیاه سیر را بر کاهش میزان التهاب سنجید. یکی از فراسنجه‌های مهم در برآورد استرس اکسیداتیو بافت، مالون‌دی‌آلدهاید (MDA) است که در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه مشخص شد که سطح مالون‌دی‌آلدهاید بافت ریه در تحقیق اثرات حمایتی عصاره سیر-هیدروکورتیزون بر ریه‌های دچار سپسیس در ۲۴ ساعت پس از چالش CLP در گروه سپسیس بطور معنی‌داری بالاتر است و تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت کننده عصاره سیر با دوز ۲۰ و گروه ۴۰ نشان داد ($P < 0.01$).

با توجه به عوامل تأثیر گذار دیگر در ایجاد سپسیس راهکارهای زیادی برای کنترل آن وجود دارد دیرباز استفاده از آنتی بیوتیک‌ها مرسوم بود و از آنتی بیوتیک‌ها برای کاهش بار ویروسی، همچنین بهتر کردن عملکرد سیستم دفاعی بدن استفاده می‌شد. اما روز به روز استفاده از گیاهان دارویی برای جایگزین کردن با آنتی‌بیوتیک‌ها در نظر گرفته شده است و دلایل استفاده از آن خاصیت ضد التهابی و ضد اکسیدانی آن بوده است (۱۷). در این مطالعه به بررسی درمانی گیاه سیر همزمان با تجویز هیدروکورتیزون بعنوان یک ضد التهاب قوی بر التهاب ناشی از سپسیس پرداخته شده است. البته اثرات سیر علاوه بر ضد التهاب بودن شامل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی نیز می‌باشد. در سال‌های اخیر مطالعاتی درباره اثر ضد میکروبی انواع اسانس‌ها و عصاره‌ها صورت گرفته و نتایج نشان دهنده این موضوع است که این گیاهان دارویی اثرات مطلوب بسیار بر خاصیت میکروب‌زایی و ضدباکتریایی دارند.

نسبت نوتروفیل به لنفوسیت مشخص شد که میزان نوتروفیل در گروه افرادی که فوت شدند نسبت ترخیص شدگان بیشتر می‌باشد (۲۱). در مطالعه حاضر مشخص شد که میزان نوتروفیل در گروه CLP نسبت به دو گروه دریافت کننده عصاره عصاره سیر با دوز ۲۰ و ۴۰ بیشتر بود.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثربخشی ضد التهابی عصاره سیر در رت‌ها انجام شد، در این مطالعه رت‌ها به سه گروه تقسیم شدند، گروه ۴۰، گروه CLP و گروه ۲۰، در این مطالعه مشخص شد که ظاهر ریه در گروه CLP ملتهب‌تر و پرآب‌تر و ریه پر خون‌تر و بزرگ‌تر بوده است. با بررسی وزن مرطوب به وزن خشک و سطح نوتروفیلی و سطح مالون‌دی‌آلدهاید مشخص شد که این میزان نسبت در گروه CLP نسبت به گروه ۲۰ و ۴۰ بسیار بیشتر بود اما ذخایر

آنتی‌اکسیدانی در گروه ۴۰ نسبت به گروه دریافت کننده ۲۰ گرم سیر بیشتر بوده و دریافت کننده ۲۰ گرم عصاره سیر نسبت به گروه CLP بیشتر می‌باشد. نتایج نهایی مطالعه حاضر حاکی از این موضوع بوده است که مصرف عصاره عصاره سیر به حد مطلوب و معنی‌داری از التهاب ناشی از سپسیس می‌کاهد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دکتر سعید حصارکی برای تفسیر موضوعات پاتولوژی تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌نمایند که در این پژوهش هیچگونه تعارض منافی ندارند.

منابع

- 1.Kumar V. Pulmonary innate immune response determines the outcome of inflammation during pneumonia and sepsis-associated acute lung injury. *Frontiers in immunology*. 2020;11:1722.
- 2.Prauchner CA. Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. *Burns*. 2017;43(3):471-85.
- 3.Arreola R, Quintero-Fabián S, López-Roa RI, Flores-Gutiérrez EO, Reyes-Grajeda JP, Carrera-Quintanar L, Ortuño-Sahagún D. Immunomodulation and anti-inflammatory effects of garlic compounds. *J Immunol Res*. 2015;2015:401630.
- 4.Hubbard WJ, Choudhry M, Schwacha MG, Kerby JD, Rue III LW, Bland KI, Chaudry IH. Cecal ligation and puncture. *Shock*. 2005;24:52-7.
- 5.Deng Z, He M, Hu H, Zhang W, Zhang Y, Ge Y, et al. Melatonin attenuates sepsis-induced acute kidney injury by promoting mitophagy through SIRT3-mediated TFAM deacetylation. *Autophagy*. 2024;20(1):151-65.
- 6.Legras A, Giraudeau B, Jonville-Bera AP, Camus C, François B, Runge I, et al. A multicentre case-control study of nonsteroidal anti-inflammatory drugs as a risk factor for severe sepsis and septic shock. *Crit Care*. 2009;13(2):R43.
- 7.Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H. Efficacy of Co-administration of Garlic Extract and Metformin for Prevention of Gentamicin-Renal Toxicity in Wistar Rats: A Biochemical Study. *Int J Prev Med*. 2013;4(3):258-64.
- 8.Tsai MS, Huang CH, Wang CH, Cheng HJ, Wu SN, Chang WT, Chen WJ. Post-Cardiac Arrest Hydrocortisone Use Ameliorates Cardiac Mitochondrial Injury in a Male Rat Model of Ventricular Fibrillation Cardiac Arrest. *J Am Heart Assoc*. 2021;10(10):e019837.
- 9.Moorthy AN, Rai P, Jiao H, Wang S, Tan KB, Qin L, et al. Capsules of virulent pneumococcal serotypes enhance formation of neutrophil extracellular traps during in vivo pathogenesis of pneumonia. *Oncotarget*. 2016;7(15):19327-40.
- 10.Czermak BJ, Breckwoldt M, Ravage ZB, Huber-Lang M, Schmal H, Bless NM, et al. Mechanisms of enhanced lung injury during sepsis. *Am J Pathol*. 1999;154(4):1057-65.
- 11.Fein AM, Calalang-Colucci MG. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in sepsis and septic shock. *Crit Care Clin*. 2000;16(2):289-317.
- 12.Tongyoo S, Permpikul C, Mongkolpun W, Vattanavanit V, Udompanturak S, Kocak M, Meduri GU. Hydrocortisone treatment in early sepsis-associated acute respiratory distress syndrome: results of a randomized controlled trial. *Crit Care*. 2016;20(1):329.
- 13.Park YJ, Lee MJ, Bae J, Lee JH, Lee HAR, Mun S, et al. Effects of Glucocorticoid Therapy on Sepsis Depend Both on the Dose of Steroids and on the Severity and Phase of the Animal Sepsis Model. *Life (Basel)*. 2022;12(3).

14. Aziz M, Wang P. Glucocorticoid resistance and hyperlactatemia: A tag team to worsen sepsis. *Cell Metab.* 2021;33(9):1717-8.
15. Chen J, Zhou L, Li X, Wu X, Li Y, Si L, Deng Y. Protective effect of zerumbone on sepsis-induced acute lung injury through anti-inflammatory and antioxidative activity via NF- κ B pathway inhibition and HO-1 activation. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology.* 2024;397(4):2241-55.
16. Aziz M, Ode Y, Zhou M, Ochani M, Holodick NE, Rothstein TL, Wang P. B-1a cells protect mice from sepsis-induced acute lung injury. *Molecular Medicine.* 2018;24(1):26.
17. Bittner Fialová S, Rendeková K, Mučaji P, Nagy M, Slobodníková L. Antibacterial Activity of Medicinal Plants and Their Constituents in the Context of Skin and Wound Infections, Considering European Legislation and Folk Medicine-A Review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19).
18. Percival SS. Aged Garlic Extract Modifies Human Immunity. *J Nutr.* 2016;146(2):433s-6s.
19. Duan M, Jie J, Li C, Bai X, Hua S, Tang M, Li D. Echinatin alleviates sepsis severity through modulation of the NF- κ B and MEK/ERK signaling pathways. *Biomed Pharmacother.* 2024;179:117359.
20. Li W, Wu AH, Zhu S, Li J, Wu R, D'Angelo J, Wang H. EGCG induces G-CSF expression and neutrophilia in experimental sepsis. *Immunol Res.* 2015;63(1-3):144-52.
21. Gharebaghi N, Hasanloei MA, Khalifani A, Pakzad S, Lahooti D. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with gram-negative sepsis admitted to intensive care unit. *Anaesthesiology Intensive Therapy.* 2019;51(1):11-6.

Protective effects of Garlic extract and hydrocortisone coadministration against sepsis-induced pulmonary lesions in rats

Bitā Vazir^{*1}, Rastin Safari²

1- Department of Basic Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-Doctor of Veterinary Medicine student, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

***Corresponding author: bvazir@srbiau.ac.ir**

Abstract

Uncontrolled inflammation in the early stages of sepsis can lead to acute lung injury. This study aimed to observe the protective and reparative effect of garlic extract combined with hydrocortisone on the lungs in an experimental sepsis model. The groups included the sepsis group (without pretreatment) and groups 20 and 40, which received 20 and 40 mg/kg garlic extract daily for two weeks, along with an injection of 8 mg/kg hydrocortisone on day 14 (after sepsis induction). Sepsis was induced by CLP on day 14, and the rats were killed 24 hours later by pentobarbital (250mg/kg-IP). First, the wet-to-dry lung weight ratio was calculated. Bronchoalveolar lavage fluid neutrophil count was assessed. Half of the lung tissue was allocated for histopathology, and the other half was assigned to evaluate malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) parameters. The wet to dry weight ratio of the lungs in the sepsis group was found to be higher than the other groups ($P<0.01$). When examining the amount of malondialdehyde (MDA), it was significantly higher in the sepsis group than in the other two groups ($P<0.001$). However, the antioxidant reserve in the 40 group was significantly higher than in the sepsis and 20 groups ($P<0.01$). The grades of histopathological lesions (intra-alveolar and airway exudate) also showed a significant decrease in the sepsis, 20 and 40 groups, respectively. The present study showed that garlic extract plays a role in reducing inflammation caused by sepsis.

Keywords: Garlic, Hydrocortisone, Sepsis, Pulmonary lesions