فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۷، جلد ۱۰، شماره ۲، بهار ۹۶، صفحه ۵۳ تا ۶۳

اثر محافظتی سیلیمارین بر روی آسیب کبدی ناشی از امواج تلفن همراه در موش های صحرایی

امیر اشکان مهجور
۱- گروه علوم پایه ، واحد زاهدشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، زاهد شهر. ایران.mahjoor@shirazu.ac.ir
تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲ تاریخ پذیرش:۹۶/۱/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات متعدد آزمایشگاهی و اپیدمیولوژیک تاثیرات امواج الکترو مغناطیس ناشی از تلفن همراه را بر روی تکثیر سلولی، یک پارچگی دیواره سلول، القا آپپتوز، انتقال کلسیم، اختلال در انتقال پیام های سلولی و تنظیمات آنزیمی در اندام های مختلف مانند کبد را نشان می دهد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر سیلیمارین بر پیشگیری از این آسیب ها بر روی کبد می باشد.

روش کار: ۷۰ سر موش صحرائی بالغ به صورت تصادفی در پنج گروه چهارده تایی کنترل، شاهد مثبت، تجربی(تیمار شده با دوز ۱۰۰، ۱۵۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیمارین) تقسیم شدند. گروه های شاهد مثبت و تجربی به مدت سی روز، هر روز ۵ بار و هر بار به مدت ده دقیقه درمعرض امواج گوشی تلفن همراه قرار داده می شدند. در پایان آزمایش از موش ها خون‌گیری شده و میزان AST, ALT و ALP پروتئین تام سرم،آلبومین و بیلی روبین اندازه گیری گردید. نمونه های بافتی پس از تثبیت جهت تهیه اسلاید به آزمایشگاه ارسال شد.

یافته ها: میزان AST،ALT، ALP و بیلی روبین تام در گروه شاهد افزایش معنی دار($p\leq ۰/۰۵$) و پروتئین تام سرم و آلبومین کاهش معنا داری($p\leq ۰/۰۵$) یافته بود. در گروه های تیمار شده با سیلیمارین میزان فاکتورهای مذکور به صورت معناداری تغییر کرده و به حالت طبیعی نزدیک شده بود. نتایج آسیب شناسی با نتایج بیوشیمیائی مطابقت داشت.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه تاثیر مثبت سیلیمارین را در محافظت از کبد احتمالاً از طریق از بین بردن رادیکال های آزاد و تقویت فاکتورهای آنتی اکسیدانی در کبد نشان داد.

واژه های کلیدی: سیلیمارین، امواج الکترومغناطیس، تلفن همراه، آسیب کبدی،موش صحرائی.

مقدمه

گسترش روزافزون استفاده از امواج الکترومغناطیس در زمینه های ارتباطات و مخابرات باعث شده است که اثر آن ها بر روی سلامت موجودات زنده مورد توجه روز افزونی قرار بگیرد. امواج الکترومغناطیس دارای طیف گسترده ای از امواج با فرکانس ۱۰ هرتز تا امواج کیهانی می‌باشند. به طور کلی دامنه امواج میدان الکترومغناطیس به دو دسته یونیزه کننده و غیر یونیزه کننده تقسیم بندی می شوند(۸، ۴، ۲). امواج یونیزه کننده به طور مستقیم و غیر مستقیم اثرات بیولوژیکی و آسیب به DNA سلول را ایجاد نموده و برای سلامتی موجودات زنده بسیار خطرناک می باشند(۲۹). تابش های غیر یونیزه کننده فرکانس پایین، طول موج بلند و قدرت نفوذ کم دارند. امواج ساطع شده از تلفن های همراه با فرکانس متوسط ۹۰۰ مگاهرتز تا ۱ گیگاهرتز جزئ امواج مایکروویو طبقه بندی می‌شوند که در دسته امواج الکترومغناطیس غیره یونیزه کننده قرار می گیرند. این امواج توانائی کافی برای شکستن باندهای شیمیائی یا آسیب به DNA در انسان بالغ را ندارند ولی با تغییرات جدید در تکنولوژی ارتباطات موبایلی و گسترش میزان و زمان استفاده از تلفن همراه نگرانی از اثرات استفاده از

آن ها گسترش یافته است(۲۲). امواج مایکروویو بسته به شدت فرکانس، نوع موج ومدت مواجه شدن اثرات مختلف بیولوژیکی ایجاد می نمایند(۲۰). اثرات بیولوژیک امواج الکترومغناطیس ناشی از تلفن همراه را می توان در دو دسته اثرات حرارتی و غیر حرارتی طبقه بندی نمود. قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیس با فرکانس‌های بیشتر از ۱۰۰ کیلوهرتز می تواند منجر به جذب معنی دار انرژی و افزایش حرارت به صورت موضعی شود که این اثر حرارتی به عنوان معیار پایه برای برای ارزیابی خطر امواج برای موجودات زنده در نظر گرفته می شود(۲۷). اثرات غیر حرارتی میدان‌های الکترومغناطیس نیز به طور مستقیم بافت های زیستی بدن را تحت تاثیر قرار می دهند. این امواج درهنگام عبور از بدن موجودات زنده ایجاد انرژی نموده و این انرژی باعث تولید رادیکال آزاد می شود که می تواند به نوبه خود باندهای شیمیایی موجود در پیوند مولکول‌های موجود زنده را بشکنند و باعث ایجاد زنجیره ای از وقایع زیستی از جمله موتاسیون وآسیب در غشاهای سلولی شود(۸). مطالعات متعددی نشان می دهند که میدان های الکترومغناطیسی با تغییر در عملکرد و یا مراحل عملکردی سلول ها، پاسخ های متنوعی را در موجودات زنده القاء می کنند که از آن جمله می توان به تاثیر بر روی تکثیر و تمایز سلولی، اختلال در چرخه سلولی، القا مرگ برنامه ریزی شده، اختلال در ارتباطات بین سلولی، رونویسی دزوکسی ریبونوکلئیک، تولید رادیکال های آزاد و افزایش طول عمرآن ها، افزایش بروز تخریب DNA و تغییر در فعالیت های آنزیمی آنتی اکسیدانی اشاره نمود(۲). ارتباط بین میدان های مغناطیسی ناشی از امواج الکترومغناطیس و مشکلاتی مانند لوکمی، انواع سرطان و مشکلات قلبی عروقی در انسان نیز مشخص گردیده است(۱۴). کبد نقش های عملکردی مهمی مانند شرکت در متابولیسم، ترشح صفرا و دفع سموم در بدن را دارد و به این خاطر سلامت آن در حفظ سلامت کل بدن از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. میدان‌های الکترومغناطیس باعث ایجاد رادیکال های آزاد در سلول‌های کبدی می شوند. میزان رادیکال های آزاد داخل سلول با توازن میان تولید رادیکال‌های آزاد وآنتی-اکسیدان های داخل سلول مشخص می شود(۲۵). لیپیدها هدف اصلی تخریب آنتی اکسیدان ها هستند که در نتیجه باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشائ سلولی و ایجاد مواد ثانویه مانند مالون دی آلدئید می شود که به نوبه خود باعث تضعیف مکانیسم های تدافعی آنتی اکسیدانی و افزایش آسیب اکسیداتیو می گردد(۱۴). هم چنین رادیکال های آزاد به آسانی می توانند واکنش های زنجیره ای را در مولکول های زنده ایجاد کنند که نتیجه آن تولید رادیکال های آزاد جدید و افزایش میزان این رادیکال ها می باشد(۳۰). رادیکال های آزاد با اتصال به پروتئین یا لیپید غشا و جدا نمودن یک اتم هیدروژن از لیپید به غشا لیپید نفوذ کرده و باعث احیا غشا و سرانجام نکروز دیواره سلول کبدی می شود(۵). چائو هان و همکاران(۲۰۱۶) گزارش کردند که قرار گرفتن موش ها در معرض میدان الکترومغناطیس به مدت ۲ ساعت به مدت ۳۵ روز باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در کبد، مغز و طحال می گردد(۱۰). در مطالعه دیگری افزایش معنی‌داری در میزان مالون دی آلدئید و نیتریک اکساید و هم چنین کاهش سوپراکساید دسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون ترانسفراز و میلوپراکسیداز در کبد خوکچه هندی متعاقب قرار گرفتن در معرض امواج موبایل گزارش شده است(۲۶، ۲۴). اندازه گیری میزان آنزیم های ALT و AST معیار مهمی برای شناسائی آسیب کبدی می باشد میزان سرمی آنزیم های ALT، AST متعاقب از بین رفتن یک پارچگی غشا سلول های کبدی و نشت آنزیم ها به خارج سلول افزایش پیدا می کند. ALT یک آنزیم سیتوزولی می-

باشد که برای کبد اختصاصی است، در حالی که AST در ایزو آنزیم های میتوکندریایی و سیتوزولی وجود دارد و در آسیب های ماهیچه ای و انفارکت قلبی نیز افزایش می یابد(۵). سیلیمارین یک ترکیب فلاوونوئید طبیعی است که از دانه های گیاه خار مریم *Silybummarinum* استخراج می شود. گیاه خار مریم اصالتاً بومی منطقه مدیترانه است و امروزه در سرتاسر دنیا یافت می شود. سیلیمارین حاوی چهار فلاوونوئید ایزومریک شامل سیلی کریستین، ایزوسیلیبین، سیلی دیانین و سیلیبین می-باشد(۱۱). بیش از دوهزار سال است که بشر به اثرات درمانی سیلیمارین پی برده واز آن در درمان بیماری ها استفاده می کند(۱۶). امروزه از سیلیمارین در درمان طیف وسیعی از بیماری ها شامل نارسائی های کبدی، سرطان ها، بیماری های عصبی، بیماری های انگلی و عفونی و متابولیک استفاده می کنند(۲۳). هم چنین سیلیمارین برای درمان نارسائی‌های مختلف کبدی مانند کبد چرب، هپاتیت، یرقان، سوئ مصرف الکل، ایسکمی، مسمومیت های دارویی و محیطی و حتی فیبروز کبدی استفاده می‌شود(۳۱، ۲۸، ۷). سیلیمارین می تواند از طریق کاهش میزان رادیکال‌های آزاد مانند هیدروکسیل، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن و افزایش تحریک تولید گلوتاتیون وتحریک فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دسموتاز باعث جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ یک پارچگی غشا سلول و ممانعت از خارج شدن آنزیم های داخل سلولی و در نتیجه باعث کاهش آسیب به بافت کبد می گردد. ضمن این که سیلیمارین با مهار ژن NF-κB و به دنبال آن کاهش تولید سیتوکین های پیش التهابی از کبد در برابر آسیب محافظت می کند(۳۱، ۲۱، ۱۶). علاوه بر این سیلیمارین از طریق جلوگیری از سنتز فسفوتیدیل کولین و شبیه سازی پروتئین وRNA با جلوگیری از آسیب کبدی مرتبط می باشد(۱۷). در این مطالعه اثر احتمالی سیلیمارین بر روی آسیب کبدی ناشی از تلفن همراه مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

این مطالعه آزمایشگاهی با رعایت کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل های آزمایشگاهی نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتو ملی سلامت انجام پذیرفت. به منظور انجام این مطالعه از هفتاد سر موش صحرایی بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی۲۰ ± ۲۱۰گرم و سن یکسان استفاده شد. درطول دوره مطالعه همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخوردار بوده با شرایط نوری۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در درجه حرارت ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰-۶۰ درصد نگهداری شدند. تهیه دارو به صورت روزانه وکمی قبل از هر بار مصرف انجام می-گرفت. مقادیر لازم پودر سیلیمارین(شرکت سیگما-آلدریچ) با دقت توزین گردید. برای گروه هایی که دارو دریافت می کنند به ازای هر موش ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال دارو اضافه شد. موش های تحت آزمایش محلول را از طریق گاواژ را به صورت هم زمان در طول آزمایش دریافت کردند. موش ها به صورت تصادفی در پنج گروه چهارده تایی به شرح زیر تقسیم بندی شدند. گروه کنترل: در این گروه موش ها امواج در یافت نکردند وآب و غذا به صورت آزاد در اختیارشان قرار داده شد. در گروه های شاهد مثبت و تجربی گوشی تلفن همراه روشن و در حال مکالمه به مدت سی روز، هر روز ۵ بار و هر بار به مدت ده دقیقه(بر اساس مطالعه قائدی و همکاران ۲۰۱۳) در کف قفس این حیوانات قرار داده و به صورت آزاد غذا در اختیار موش ها قرار گرفت. به موش های گروه شاهد مثبت وکنترل تنها حلال دارو(آب مقطر) از طریق گاواژ خورانده شد. به موش های گروه تجربی ۱ سیلیمارین به میزان ۱۰۰ میلی-گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به موش های گروه

تجربی ۲ سیلیمارین به میزان ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به گروه تجربی ۳ با دوز بالای سیلیمارین به میزان ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن یک بار در روز و به صورت خوراکی از طریق گاواژ معده داده شد(دوزهای مصرفی بر اساس تحقیق دهقان و همکاران ۲۰۱۰ انتخاب شده است)(۱۲). قبل از نمونه گیری ها موش ها وزن کشی می شدند. سی روز پس از شروع آزمایش، موش ها با اتر بیهوش شده و پس از باز کردن قفسه سینه آن ها از بطن راست خون گیری انجام شد. جهت انجام فرآیند آگلوتیناسیون نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. پس از ایجاد لخته برای جدا کردن سرم، نمونه ها درون دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده تا سرم جدا و در لوله-های ویژه ریخته شود. لوله ها تا زمان اندازه گیری فاکتورهای مورد نظر در سرمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. نمونه های سرمی حاصل برای اندازه-گیری های آنزیمی در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال می-شوند. آنزیم هایAST، ALP و ALT و بیلی روبین تام سرم توسط کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون با استفاده از دستورالعمل موجود در هر کیت اندازه گیری-گردیدند. برای اندازه گیری پروتئین تام سرم از روش بیوره و برای اندازه گیری آلبومین از روش برومو کرزول گرین استفاده شد(۱۸). برای تهیه نمونه های هیستوپاتولوژی، پس از آسان کشی موش ها سریعاً کبد به طور کامل از بدن خارج و نمونه های مورد نظر در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت شد، بر روی نمونه ها با روش رایج تهیه نمونه های بافتی آبگیری و قالب گیری انجام شده و برش های سریال با ضخامت پنج میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین -ائوزین هاریس رنگ آمیزی گردید. نتایج حاصل از این تحقیق در مورد اندازه‌گیری های سرمی و نمونه های بافتی با استفاده از روش های آماری مناسب شامل تست ANOVA و آزمون تکمیلی TUKEY در بین گروه های تجربی و کنترل مورد ارزیابی قرار گرفتند. سطح معنی کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته و مقادیر به دست آمده به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شدند.

نتایج

کاهش معنی داری در وزن بدن موش های گروه‌های ۱ و۲ نسبت به کنترل مشاهده گردید. وزن کبد گروه‌های تیماری نسبت گروه شاهد افزایش معنی داری داشت(جدول ۱).

جدول ۱-اثر سیلیمارین بر روی میانگین وزن بدن و کبد موش های مورد مطالعه در گروه های مختلف

وزن(گرم)	کنترل	شاهد	گروه تجربی ۱	گروه تجربی ۲	گروه تجربی۳
بدن	۲۲۶±۸/۷ ^{a}	۱۹۳±۲/۳ ^{bc}	۲۰۲±۷/۲ ^{b}	۲۰۹±۴/۵ ^{b}	۲۱۹±۱/۳ ^{a}
کبد	۸/۷±۰/۱۹ ^{a}	۷/۹±۰/۰۳ ^{d}	۸/۳±۰/۱۶ ^{ab}	۸/۲±۰/۱۱ ^{c}	۸/۴±۰/۰۵ ^{b}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهده اختلاف آماری معنادار در سطح۰/۰۵ >P می باشد.

در این مطالعه اثر سیلیمارین بر روی آسیب کبدی ناشی از امواج تلفن همراه مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه هم زمان با این تحقیق تغییرات معنی داری در آنزیم های کبدی و هیستولوژی موش هائی که تنها سیلیمارین دریافت کرده بودند مشاهده نشد(جدول ۲ و۳). در موش های گروه شاهد که به مدت ۶۰ روز در معرض امواج ناشی از تلفن همراه قرار گرفتند سطح سرمی آنزیم های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و هم چنین بیلی روبین تام در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنادار در سطح P<۰/۰۵ افزایش پیدا کرده بود، در حالی که میزان پروتئین تام سرم و آلبومین سرم کاهش معناداری(P<۰/۰۵) داشت. تیمار گروه های تجربی با سیلیمارین به میزان ۱۰۰، ۱۵۰ و ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم

آنزیم‌های شاخص کبدی و بیلی روبین تام سرم را به نسبت گروه کنترل، به صورت معنا داری(P<۰/۰۵) کاهش داد. از سوی دیگر میزان پروتئین تام سرم و آلبومین سرم افزایش معناداری را نسبت به گروه کنترل داشت. در گروه تجربی ۱(امواج تلفن همراه + سیلیمارین با دوز ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و بیلی روبین تام به نسبت گروه شاهد کاهش و میزان پروتئین تام سرم افزایش معناداری(P<۰/۰۵) یافته بود، اما آلبومین به نسبت گروه کنترل و بیلی‌روبین تام سرم نیز به نسبت گروه شاهد تغییر معنا داری را نشان نداد. در گروه تجربی ۲(امواج تلفن همراه + سیلیمارین در دوز۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) آنزیم های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و بیلی روبین تام سرم، آلبومین، پروتئین تام سرم افزایش معناداری به نسبت گروه تجربی ۱ نشان داد. در حالی که میزان آلکالین فسفاتاز تغییر معناداری را نسبت به گروه تجربی ۱ و کنترل نشان نمی نداد(۰/۰۵ >P) در گروه تجربی ۳(امواج تلفن همراه + سیلیمارین در دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) سطوح افزایش یافته آنزیم های شاخص کبدی و بیلی روبین تام سرم را نسبت به دو گروه در معرض امواج الکترومغناطیس + سیلیمارین ، بیشتر و حتی میزان آسپارتات آمینوترانسفراز سرم را تا نزدیکی حد طبیعی کاهش داد(۰/۰۵ >P). آلبومین و پروتئین تام سرم هم به نسبت گروه شاهد و گروه های تجربی افزایش یافته بود ولی با گروه کنترل تفاوت معناداری داشت(۰/۰۵ >P).

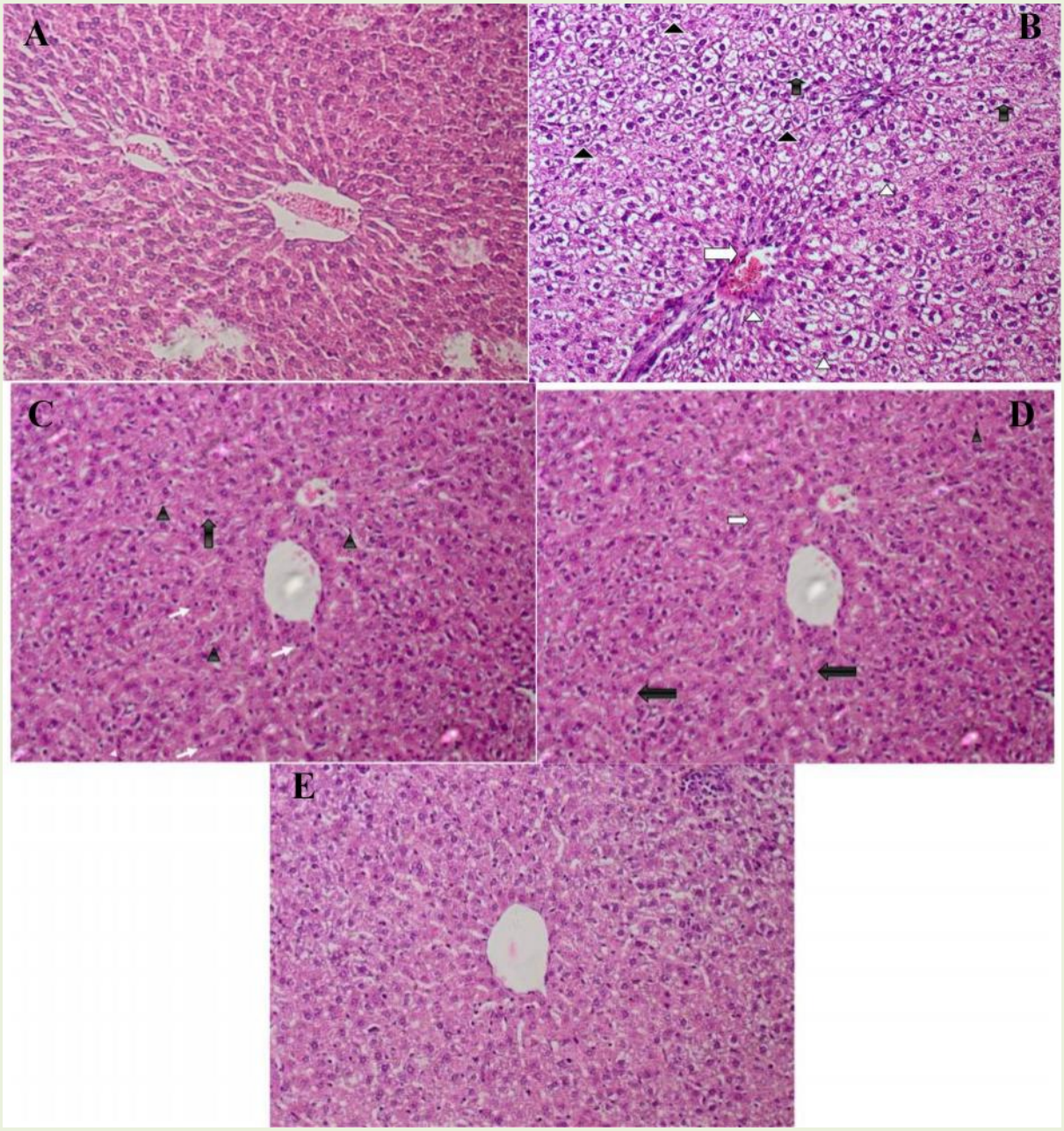
جدول ۲-اثر سیلیمارین بر روی پارامترهای بیوشیمیائی سرم موش صحرائی متعاقب آسیب کبدی ناشی از امواج تلفن همراه

	کنترل	گروه شاهد	گروه تجربی۱	گروه تجربی ۲	گروه تجربی ۳
AST(U/L)	۶۷/۳۲±۶/۵۴ [a]	۱۱۴/۹۵±۷/۱۲ [d]	۱۰۰/۶۶±۵/۹۵ [c]	۸۲/۲۲±۶/۹۹ [b]	۷۴/۸۲ ± ۸ [ab]
ALT(U/L)	۹۴/۳۰±۵/۴۵ [a]	۱۳۶/۷۴±۶/۰۲ [c]	۱۱۶/۱۲±۷/۴۴ [b]	۱۱۶/۵±۸/۰۴ [b]	۱۰۷/۴±۶/۷۸
ALP(U/L)	۱۲۸/۴۰±۵/۷۵ [b]	۱۴۹/۸۷±۵/۳۹ [d]	۱۳۹/۲۴±۴/۸۲ [c]	۱۳۰/۳۵±۵/۳۳ [bc]	۱۱۴/۸±۵/۳۶ [a]
بیلی روبین تام سرم(mg/dl)	۰/۸۹±۰/۱ [a]	۱/۴۶±۰/۰۹ [c]	۰/۹۵±۰/۱۱ [a]	۱/۱۲±۰/۱ [b]	۰/۹۴±۰/۱ [ab]
آلبومین(g/dl)	۴/۴۶±۰/۱۴ [c]	۴/۴۹±۰/۱۷ [a]	۳/۰۷±۰/۱۲ [a]	۳/۴۷±۰/۱۴ [b]	۳/۳۹±۰/۰۹ [b]
پروتئین تام سرم (g/dl)	۸/۲۸±۰/۲۱ [e]	۴/۹۴±۰/۱۵ [a]	۵/۲۲±۰/۰۹ [b]	۵/۵۲±۰/۰۷ [c]	۵/۸۷±۰/۱۶ [d]

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری معنادار در سطح۰/۰۵ >P می باشد.

تغییرات هیستوپاتولوژی بافت کبد

در گروه کنترل ساختار میکروسکوپی بافت کبد طبیعی بود. سلول های کبدی(هپاتوسیت ها) در ردیف-های منظم قرار داشتند شکل و ساختار هپاتوسیت ها و فضاهای پرتال کاملاً طبیعی به نظر رسیدند. درگروه شاهد مثبت آرایش و ساختار سلول های کبد به هم ریخته شده بود. پرخونی، دژنراسیون و تورم سلولی به همراه بزرگ شدن و کروماتولیز هسته ها، افزایش سلول-های کوپفر و ارتشاح سلول های تک هسته ای در اطراف ورید مرکزی مشخص بود. افزایش اندازه سلول های کبدی باعث بسته شدن و ناپدید شدن کانالیکول های کبدی شده بود. میزان کمی نکروز خفیف پراکنده در سلول های کبدی نیز مشاهده شد. در گروه های تیمار با دوز ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیمارین پرولیفراسیون سلول های کوپفر و ارتشاح میزان کمی سلول تک هسته ای مشخص بود. میزان نکروز، تورم سلولی و انسداد مجاری صفراوی نسبت به گروه شاهد مثبت کمتر بود. در گروه تیمار با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیمارین تا حدودی آرایش سلول ها به حالت طبیعی برگشته و از تورم سلولی کاسته شده بود. تکثیر سلول های ایتو(ito cell) و سلول های کوپفر مشخص است(شکل ۱).



شکل ۱- اثر سیلیمارین بر روی بافت کبد موش صحرائی متعاقب آسیب کبدی ناشی از امواج تلفن همراه

A-گروه کنترل، به آرایش منظم سلول های کبدی، وجود کانالیکول های صفراوی مشخص و ساختار سالم بافت کبدی توجه شود.B-گروه شاهد، پرخونی(پیکان بزرگ توخالی)، نکروز پیکنوزه شدن هسته ها(پیکان تیره)، به همراه افزایش تعداد هستک ها وجود آپوپتوز(سر پیکان توخالی)، افزایش میزان میتوز(سر پیکان تیره)، افزایش سلول های کوپفر(سر پیکان های سفید). C-گروه تجربی ۱، نکروز، افزایش سلول های کوپفر(پیکان های توخالی)، افزایش سلول‌های ایتو(سر پیکان ها)، افزایش تکثیر سلولی(پیکان تیره) به گرانولر بودن سیتوپلاسم سلول ها توجه شود. D-گروه تجربی ۲، تورم ابری، هیدروپیگ دژنراسیون، پیکنوزه شدن هسته ها(سر پیکان)، افزایش سلول های کوپفر، وجود اجسام مالوری(پیکان توخالی)، وجود آپوپتوز(پیکان های تیره). E- گروه تجربی۳، کبد تا حدودی ساختار طبیعی خود را حفظ کرده است، تکثیر سلول های کوپفر نسبت به گروه کنترل.

بحث ونتیجه گیری

تغییرات وزن کبد موش ها می تواند به علت تغییرات بافتی ایجاد شده در آن ها است. اضافه وزن در گروه کنترل می تواند به علت عدم استرس ناشی از قرار گرفتن در معرض امواج تلفن همراه باشد. جلودار و همکاران(۱۳۸۹) با قرار دادن روزانه ۳۰ دقیقه موش های سوری به مدت دو ماه در مجاورت مایکروفر ۲۹٪ کاهش میانگین وزن را در این موش ها گزارش

کردند(۳). نتایج هیستوپاتولوژی و بیوشیمیائی این مطالعه تاثیر مخرب امواج الکترومغناطیس ناشی از تلفن همراه را بر روی بافت کبد نشان می دهد. تحقیقات مختلف بیان-گر تأثیر امواج الکترومغناطیسی بر شاخص های آسیب کبدی شامل کاهش آنزیم های کبدی و آلبومین و افزایش بیلی روبین تام در افرادی که مواجهه شغلی با میدان های الکترومغناطیسی دارند، می باشد(۱۹، ۴). آسیب به بافت کبد حیوانات آزمایشگاهی متعاقب قرار گرفتن در معرض امواج الکترو مغناطیس در مطالعات مختلف گزارش شده است(۳۱، ۲۸، ۹). اردال و همکاران(۲۰۰۸) بیان کرده اند که میدان الکترومغناطیس در طولانی مدت باعث ایجاد آسیب اکسیداتیو / نیتروستاتیو بر روی پروتئین های سلول های کبدی در کبد موش می شود(۱۴). میزان تغییرات سلولی و مولکولی القایی تابش های این امواج به طول مدت تابش، میزان نفوذپذیری آن در بافت ها و تولید گرما بستگی دارد که این عوامل نیز خود به شدت و فرکانس امواج وابسته اند(۲). در ارزیابی آسیب های کبدی سنجش آنزیم های کبدی به طور وسیع مورد استفاده قرار می گیرد. آسیب غشاء سلول باعث رها شدن این آنزیم ها در خون می شود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد دوز ۴۰۰ میلی گرم برکیلوگرم سیلیمارین نسبت به دو گروه دیگر تیمار بادوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیمارین اثرمحافظتی بهتری بر روی بهبود شاخص های آسیب کبدی ناشی از امواج ساطع شده داشته است، به طوری که حتی میزان AST و بیلی روبین تام سرم را به حدود میزان طبیعی برگردانده بود. هم چنین مصرف دوز ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیمارین اثرات بهتری نسبت به دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم داشته و نشان می دهد که اثر سیلیمارین در محافظت کبدی در برابر میدان الکترومغناطیس ناشی از تلفن همراه وابسته به دوز می باشد. در موش هائی که در معرض امواج تلفن همراه قرار گرفتند، میزان ALT,AST,ALP و میزان بیلی روبین تام سرم افزایش معناداری داشته و میزان آلبومین و پروتئین تام سرم کاهش معناداری یافته است. ال اشعری و همکاران(۲۰۰۸) افزایش میزان آلبومین و پروتئین تام سرم موش های تحت آزمایش را متعاقب قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی ۵۰ هرتز(با شدت ۰/۲، ۰/۴، ۱ و ۱/۲ میلی تسلا) به مدت هفت روز را گزارش کردند و آن را مرتبط به آسیب سلول های کبدی دانسته اند(۳۱). تفاوت نتایج این محققین با نتایج ما می تواند مرتبط با زمان و شدت کم میدان مغناطیسی استفاده شده در آزمایش این محققان باشد. این محققین افزایش ALT,AST را نیز گزارش کرده اند که با نتایج ما هم خوانی داشت. کان سون و همکاران(۲۰۰۸) گزارش کردند که شدت و مدت زمان در معرض امواج الکترومغناطیس قرار گرفتن در تولید رادیکال های آزاد و عملکرد آنتی اکسیدانی آنزیم ها مهم است(۹). دیندیچ و همکاران(۲۰۱۰) به مدت نود روز موش های آزمایشگاهی را در معرض امواج موبایل قرار دادند. این محققین بیان کردند که امواج الکترو مغناطیس باعث ایجاد آسیب اکسیداتیو بر روی هپاتوسیت ها از طریق پراکسیداسیون چربی ها می شود(۱۳). آی و همکاران(۱۳۸۹) با ارزیابی اثرات میدان الکترومغناطیس با شدت ۱/۵ تسلا بر عملکرد و هیستومتری کبد در موش‌های صحرایی نر بالغ نشان دادند که این امواج باعث افزایش معنادار HDL، بیلی روبین تام، بیلی روبین مستقیم،ALT، AST و آنزیم فسفاتاز قلیایی و کاهش آلبومین سرم و پروتئین تام، می شود(۱). بازگشت سطوح افزایش یافته آنزیم های سرمی به حالت طبیعی توسط سیلیمارین، متعاقب آسیب کبدی در اثر اشعه، می‌تواند به علت اثر آن بر روی ممانعت از نشت آنزیم های داخل سلولی به دلیل ابقاء تمامیت و پایداری یک پارچگی غشاء سلول و یا نو زایش سلول های آسیب دیده کبد که

در مطالعه سایر محققین گزارش شده است، باشد(۳۱، ۳۰، ۲۲، ۱۶، ۲). گوا و همکاران(۲۰۱۶) بیان نمودند که سیلیمارین از طریق کاهش فاکتورهای التهابی شامل(TNF-α, IL-1β and IL-6) باعث کاهش التهاب در کبد موش ها و در نتیجه کاهش ALT و AST در کبد متعاقب آسیب ناشی از فقر غذائی شده است(۱۵). در تمام اندام ها بدن ALP یافت می شود اما آزاد شدن آن بیشتر در آسیب به کبد، مجاری صفراوی، کلیه ها و استخوان مشاهده می گردد. آنزیم ALP به طور معمول در غشای سلول های کبدی وجود دارد و در هنگام آسیب سلولی به راحتی آزاد نمی شود و در مراحل اولیه آسیب کبدی افزایش می یابند و زمانی که کبد دچار آسیب می شود. سلول های کبدی آنزیم ها را وارد جریان خون می کنند(۱۷). افزایشALP در گروه شاهد می تواند به علت خصوصیات سایتوتوکسیک امواج غیر یونیزه کننده و القائ آپوپتوز و نکروز در هپاتوسیت ها باشد. هم چنین انسداد مجاری صفراوی باعث افزایش غلظت سرمی آنزیم ALP می‌گردد. تاثیر مثبت سیلیمارین بر روی کانالیکولی های صفراوی می‌تواند یکی از دلالیل تاثیر مثبت سیلیمارین بر سطح آنزیمی ALP باشد. کنترل موثر ALP بهبود زود هنگام مکانیسم-های، عملکردی و ترشحی سلول های کبدی را نشان می‌دهد و می تواند به خواص آنتی اکسیدانی سیلیمارین و تاثیر مثبت آن بر روی تورم سلول ها و آسیب های ثانویه سلول های کبدی باشد. سیلیمارین خصوصیات ضد انسداد مجاری صفراوی را دارد و احتمالاً با این مکانیسم هم در کاهش میزانALP موثر است(۱۶،۳۱). کنترل موثر سطوح بیلی روبین، آلبومین و پروتئین تام سرم، نشان از بهبود مکانیسم های عملکردی و ترشحی سلول های کبدی دارد. مطالعات مختلف نشان داده است که امواج الکترومغناطیس باعث افزایش سلول‌های کوپفر در کبد می شود. سلول های کوپفر در تجزیه گلبول های قرمز و تبدیل آن ها به بیلی روبین نقش دارند، بنابر این افزایش در تعداد سلول های کوپفر در پی مواجهه با میدان می تواند با افزایش تولید بیلی‌روبین مرتبط باشد(۴). در حالت طبیعی بیلی روبین از شکسته شدن هموگلوبولین ایجاد می شود و کبد آن را از جریان خون پاکسازی می کند و از طریق صفرا دفع می‌کند. کاهش توده ی فعال کبدی ناشی از نکروز یا فیبروز از علل معمولی افزایش بیلی روبین خون می باشد. هم چنین تورم سلول های کبدی ممکن است به انسداد کانیکول های کبدی منجر شده و باعث افزایش بیلی روبین می گردد(۱۷). بازگشت بیلی روبین به مقادیر طبیعی خود توسط سیلیمارین، متعاقب آسیب کبدی ناشی از امواج تلفن همراه می تواند به علت ممانعت از نشت آنزیم های داخل سلولی به دلیل محافظت از غشاء سلول و یا نوزایش سلول های آسیب دیده کبد باشد(۶). علاوه بر اینTNF-α و IL-6 نقش مهمی در ایجاد انسداد مجاری صفراوی دارند(۷)، که سیلیمارین تولید این فاکتورهای التهابی در سلول را سرکوب می کند. آلبومین ۳۵ تا۵۰ درصد غلظت پروتئین تام سرم را در حیوانات تشکیل می‌دهد(۱۶). آلبومین به وسیله کبد ساخته می شود و میزان آن به وسیله انترلوکین یک و دیگر سایتوکین ها تنظیم می شود. غلظت سرمی آلبومین می تواند متعاقب آسیب گلومرول کلیوی کاهش یابد(۶). در مطالعه موازی با این مطالعه آسیب گلومرولی در گروه شاهد مثبت نیز مشاهده شد. اثر سیلیمارین برکاهش میزان سایتو کین ها می تواند دلیل بهبود این فاکتورها در مطالعه ما باشد.

هیستولوژی

امواج تلفن همراه باعث ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد موش های تحت آزمایش شده بود که با مطالعه محققین قبلی مشابه می باشد(۱،۳،۲۸). در مطالعات سایر محققین نکروز مشاهده نشد که می-

تواند به این علت باشد که موش ها در این مطالعه مدت زمان بیشتری در معرض امواج تلفن با شدت بیشتر قرار داشتند. در گروه های که از سیلیمارین مصرف کرده بودند میزان کمتری نکروز مشاهده گردید که می تواند دلیل بر اثر محافظتی سیلیمارین باشد. در مطالعه حاضر هیپرپلازی سلول های کوپفر می تواند به دلیل نیاز به برداشته شدن سلول های آسیب دیده وافزایش ایتو سل ها به دلیل نوزایش سلول های کبدی باشد. افزایش آپوپتوز درمطالعات محققین دیگر نیز نشان داده شده است. دیندیچ بیان کرده است که امواج ماکروویو در بلند مدت باعث افزایش آپوپتوز و ایجاد مشکلات عملکردی کبدی می گردد. آسیب سلولی می تواند نتیجه پراکسیداسیون چربی ها ناشی از استرس اکسیداتیو اسیدهای چرب غیر اشباع و متعاقب آن اختلال در غشا سلول حاوی لیپیدها شود، به دنبال این واکنش تولید میزان بالائی رادیکال های آزاد و اکسیداسیون خود به خود پروتئین غشا نیز ایجاد می شود(۱۳). میزان کمتر مشاهده آپوپتوز در گروه های تیمارمطالعه ما می تواند مربوط به مراقبت سیلیمارین در برابر پراکسیداسیون چربی باشد. افزایش تجمع چربی ها که در مطالعه زارع و همکاران(۲۹) نیز مشاهده شده است می تواند مربوط به این موضوع باشد.

منابع

۱-آی، ج.، سرکار، س.، عقابیان، م.ع. ۱۳۸۹. ارزیابی اثرات میدان الکترومغناطیس با شدت ۱/۵ تسلا بر شـــاخص‌های آزمون عملکرد و هیستومتری کبد در موش‌های صحرایی نر بالغ. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، ۴(۲)، ص ۱۶۱-۱۶۶.

۲-بهارآرا،ج.، زاهدی فروز، ز. ۱۳۹۱. اثر میدان های الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر روی برخی از فعالیت های زیستی جانوران. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، ۷ (۶۶)؛ ۸۰-۹۳.

۳-جلودار، غ.، بیضایی، م. ۱۳۸۹. تاثیر امواج نشتی اجاق مایکروویو بر وزن بدن، هورمون های تیروئید،کورتیزول و لیپیدهای سرم در موش سوری نابالغ. مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۶۸ (۳)؛۱۴۱-۱۴۶

٤-رجایی، ف.، محمدیان، آ. ۱۳۹۱. بررسی اثر میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر روی هیستولوژی کبد موش سوری. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، ۶(۴)؛ ۸-۱۳.

۵-مختاری، م.،شریعتی، م.، اژدری، د. ۱۳۹۲.اثر عصاره الکلی زعفران بر میزان آنزیم های کبدی(ALT,ALP, AST) به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف ویتامین A در موش صحرایی نر. مجله علوم پزشکی سبزوار،۲۰(۲)؛۱۳۳-۱۴۰.

٦-مهاجری، د.، دوستار، ی. ۱۳۹۰. اثرات حفاظتی عصاره الکلی کلاله زعفران در مقابل سمیت کبدی سیسپلاتین درموش صحرایی. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲۱(۴)؛ ۲۵۱ – ۲۶۱.

7.Al-Rasheed, N., Faddah, L., Al-Rasheed, N., Bassiouni, Y.A., Hasan,I.A., Ayman M. (2016). Protective effects of silymarin, alone or in combination with chlorogenic acid and/or melatonin, against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Pharmacogn Mag, 12(Suppl 3); 337–345.

8.Boerma, M, .Sxutte-Bart, C.J., Wedekind, L.E., Beekhuizen, H. (2003). Effects of multiple doses of ionizing radiation on cytokine expression in rat and human cells. Int J Adiat Biol, 79; 889-896.

9.Canseven, A.G., Coskun, S., Seyhan, N. (2008). Effects of various extremely low frequency magnetic fields on the free radical processes, natural antioxidant system and respiratory burst system activities in the heart and liver tissues. Indian J Biochem Biophys, 45(5); 326-31.

10. Chauhan, P., Verma, H.N., Sisodia, R., Kesari, K.K. (2016). Microwave radiation (2.45 GHz)-induced oxidative stress: Whole-body exposure effect on histopathology of Wistar rats. Electromagn Biol Med, 36(1); 20-30.

11. Csupor, D., Csorba, A., Hohmann, J. (2016). Recent advances in the analysis of flavono lignans of *Silybum marianum*. J Pharm Biomed Anal, 25(130); 301-317.

12. Dehghan, A., Mahjoor, A.A., Bazyar, H., Zangili, K. (2010). Effects of Silymarin and food restriction on hepatic and pancreatic functions in wistar rats. Asian J. Anim. Vet. Adv., 5; 136-142.

13-Đinđić, B., Sokolović, D., Krstić, D., Petković, D., Jovanović, J, Muratović, M. (2010). Biochemical and histopathological effects of mobile phone exposure on rat hepatocytes and brain. Acta Medica Medianae, 49(1). 54-63.

14. Erdal, N., Gurgal S., Tumar, L., Ayaz, L. (2008). Effect of long term exposure of extremely low frequency magnetic field on oxidative/nitrostative strees in rat liver. J Radiat Research, 49;181-187.

15. Ghaedi, S., Kargar Jahromi, H., Farzam, M., Azhdari, S., Mahmoudi Teimourabad, S., Bathaee, H. (2013). Effects of mobile phone radiation on the liver of immature rats. Adv. Environ. Biol., 7(6); 1127-1132.

16. Guo, Y., Wang, S., Wang. Y., Zhu, T. (2016). Silymarin improved diet-induced liver damage and insulin resistance by decreasing inflammation in mice. Pharm Biol, 54(12); 2995-3000.

17. Hoda. A., Megahed, H.A., Zahran, H.A., Arbid, M.A. (2010). Comparative study on the protective effect of biphenyl dimethyl dicarboxylate(DDB) and Silymarin in hepatitis induced by carbontetrachloride(CCl4) in rats. New York Sci. J,. 3(9); 1-11.

18. Kenneth, S., Latimer,M. (2011). Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 5th Edition ., Wiley-Blackwell.

19. Khayyat, L.A. (2011). The histopathological effects of an electromagnetic field on the kidney and testis of mice. Eurasia J Biosci, 5; 103-109

20. Liu, X., Zhao, L.Y., Chen, H.L., Liu, C., Liu, X.D., Ma, S.M. (2013). Effect of exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields on liver function of workers. Zho. Don. Wei Shen., 31(8);599-601.

21. Mahjoor, A.A., Dehghan, A. (2008). Effect of Silymarin on metabolic factors of food-restricted over conditioned Wistar rats. Pak J Biol Sci., 15(14);1835-9.

22. Meena, J.K., Verma, A., Kohli, C., Ingle, G.K. (2016). Mobile phone use and possible cancer risk: Current perspectives in India. Indian J Occup Environ Med,, 20(1); 5-9.

23. Mshiemish-Saad, B.A.R., Hussain, A. R., Suliman, A.A. (2011). Induction of microsomal liver enzymes by Silymarin in experimental animals. Fac Med Baghdad, 53(2); 233-235.

24. Neha, Jaggi, A.S., Singh, N. (2016). Silymarin and its role in chronic diseases. Adv Exp Med Biol, 929; 25-44.

25. Ozgur, E., Güler, G., Seyhan, N. (2015). The effects of N-acetylcysteine and epigallocatechin -3- gallate on liver tissue protein oxidation and antioxidant enzyme levels after the exposure to radiofrequency radiation. Int J Radiat Biol, 91(2); 187-193.

26. Safian, F., Khalili, A., Khoradmehr, M.A., Anbari, F., Soltani, S., Halvaei, I. (2016). Survival assessment of mouse preimplantation embryos after exposure to cell phone radiation. J Reprod Infertil, 17(3); 138-43.

27. Sienkiewiez, Z.J., Kowallezuak, C.J. (2005). A summary of recent reports on mobile phone and health. National Radiological Board Chilton, 1-34.

28. Xunjun, N., Wang, H. (2016). Silymarin attenuated hepatic steatosis through regulation of lipid metabolism and oxidative stress in a mouse model of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Am J Transl Res, 8(2); 1073–1081.

29. Zare, S., Alivandi, S., Ebadi, A. (2007). Histological studies of the low frequency electromagnetic fields effect on liver, testes and kidney inguinea pig. World App Sci. J, 2(5); 509-11.

30. Zakieh Tohidi, F.Z., Fardid, R., Arian Rad, S., Tohidi, M., Hosein Bahrayni Toosi, M., Kianosh, T. (2016). The effect of cellphone radiation on hematological blood cell factors in balb/c mice. Iranian J. of Med. Phy, 13(1); 58-64.

31. Zhang, W., Hong, R., Tian, T. (2013). Silymarin's protective effects and possible mechanisms on alcoholic fatty liver. Pharm.Biol, 50(10); 2100-2110..

32.YEl-Ashry, M., Ibrahim, M., Ali, E. (2008). The influence of 50 hz magnetic field on liver enzymes. Suez Canal Univ Med J, 11(1);59-64.

Protective effects of Silymarin on Cell-Phone Induced Liver Damage in Rats

A.A. Mahjour

1. Department of Biology, Zahed Shahr Branch, Islamic Azad University, Farce. Iran. **mahjoor@shirazu.ac.ir**

Received:2017.21. 2 **Accepted: 2017.14. 4**

Abstract

Inroduction & Objective: Different studies have demonstrated the effects of cell phone induced electromagnetic field on hepatic cells. The aim of this study was to investigate the hrpatoprotective effects of silymarin on this kind of damages

Material and Methods Seventy rats were divided in five groups. One control group and four exposure groups that were exposed to cell phone radiation 5 times a day for 30 days each time 10 minutes. At the end of the study all of the rats were sacrificed and Alanine Aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and Alkaline Phosphatase (ALP), total proptein, total bilirubin and albumin were measured. Liver samples were obtained for histopathological studies.

Results: Cell phone radiation significantly (P≤005) increased levels of ALT, AST, ALP, total bilirubin and decreased levels of total protein and albumin. In groups treated with silymarin improve in biochemical factors were noted. Histopathological findings were consistent with biochemical findings.

Conclusion: Our results suggest that silymarin has hepatoprotective effects on cell phone induced liver damaged due to free radical scavenger and antioxidant

Keywords: Silymarin, Electromagnetic,Cell-Phone, Liver Damage, Rat.