# اثر آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیاتوسه (Rhamnus frangula) بر سمیت ناشی از بنزوپیرن در موش

پوریا قنبری کهیانی[۱]، مریم کریمی دهکردی*[۲]، محسن جعفریان دهکردی[۲]


## چکیده

بنزوپیرن به عنوان یک ترکیب کارسینوژن و اکسیداتیو شناخته شده است. سیاتوسه حاوی فلاوونوئیدها با فعالیت آنتی اکسیدانی قوی است که از سلول ها در برابر استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی محافظت می کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات آنتی اکسیدانی سیاتوسه در برابر عوارض حاصل از مواجهه با بنزوپیرن در مقایسه با ویتامین E در موش بود. موش های سوری نر به طور تصادفی به ۱۱ گروه کنترل، دریافت کننده روغن زیتون (حلال بنزوپیرن)، ویتامین E، بنزوپیرن، سیاتوسه در سه دوز، بنزوپیرن همراه دوزهای مختلف سیاتوسه و بنزوپیرن به همراه ویتامین E تقسیم شدند. به منظور مقایسه میانگین داده ها از آزمونهای آماری ANOVA و Tukey استفاده شد. بنزوپیرن باعث کاهش آنتی اکسیدانها و افزایش MDA در خون می شود. این تغییرات به طور قابل توجهی در گروه مواجهه یافته با دوزهای بالای سیاتوسه بهبود یافت، درحالیکه تیمار ویتامین E قادر به کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن نشد. نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی سیاتوسه با بهبود پارامترهای آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، نقش مهمی در برابر سمیت اکسیداتیو بنزوپیرن ایفا می کند که حتی می تواند در حیوانات آزمایشگاهی بهتر از ویتامین E عمل کند.


***واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان ها، استرس اکسیداتیو، بنزوپیرن، سیاتوسه، موش، ویتامین E***

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

### مقدمه

هیدروکربنهای آروماتیک چندحلقه ای (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; PAH)، از آلاینده های آلی محیطی محسوب می شوند و در اثر سوختن ناقص مواد آلی یا احتراق ناقص سوخت های فسیلی مانند ذغال سنگ، چوب، نفت و بنزین و درنتیجه گرم کردن خانه ها، سوزاندن زباله و مصرف سوخت وسایل نقلیه به وجود می آیند. صنایع درگیر در تولید آلومینیوم، گرافیت، زغال سنگ و آسفالت نیز به میزان قابل توجهی به سطوح PAH در جو و تجمع آنها در هوا، آب و خاک محیط کمک می کنند. بنزوپیرن (B(a)P)، یکی از شایع‌ترین و خطرناک‌ترین مواد شیمیایی در بین ترکیبات هیدروکربنی چند حلقه‌ای می‌باشد که در محیط و غذا یافت می شود. قرار گرفتن انسان در معرض B(a)P اساساً از طریق خوردن غذا و آب آلوده یا با استنشاق ذرات موجود در هوای محیط رخ می دهد (۱).

چندین مطالعه نشان داده اند که قرار گرفتن در معرض بنزوپیرن باعث آسیب به DNA در انسان می شود (۲, ۳). بسیاری از مطالعات سم شناسی نشان دادند که اثرات نامطلوب و شدید بنزوپیرن بر سلامتی با استرس اکسیداتیو و التهاب تقویت شده مرتبط است (٤-۷). مواجهه با B[a]P به مدت کوتاه ممکن است باعث تغییر در سطح آنتی‌اکسیدان‌ها شود، که یک مرحله اولیه در اختلالات تعادل اکسیداتیو سلولی محسوب می‌شود. در نهایت، این تغییرات ممکن است به آغاز مشکلات سلامتی و حتی ایجاد سرطان منجر شود.

از آنجائیکه حذف مستقیم این آلاینده‌ها از محیط زیست به طور عملی ناممکن است، بنابراین، کشف رویکردهای مفید

۱. دانش آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲ دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
ma_karimivet58@yahoo.com

و موثر برای کاهش عوارض ناشی از BaP ارزشمند است (۸). با توجه به اینکه بنزوپیرن یک آلاینده زیست محیطی است که تماس انسان با آن اجتناب ناپذیر است می‌توان با سرمایه‌گذاری بر رویکردهای گیاهان دارویی همچون استفاده از گیاهان دارویی در تغذیه انسان و همچنین جیره غذایی دام، به کاهش ریسک اثرات مخرب و سرطان‌زای این آلاینده اقدام کرد.

اخیراً استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها و مسمومیت‌های مختلف در اولویت هستند (۹). در این زمینه، استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی برای کاهش آسیب های اکسیداتیو بافتی و تقویت سیستم های آنتی اکسیدانی درون زا (۱۰) و در واقع، دریافت خارجی آنتی اکسیدان ها برای کاهش آسیب اکسیداتیو گزارش شده است. علاوه بر این، فراوانی ترکیبات فنلی در گیاهان، نقش آنتی اکسیدانی محافظتی موثری در برابر آسیب های اکسیداتیو ایفا می کند (۱۱, ۱۲).

گیاه سیاه توسه (سیاه اربه، سیاه توسکا) با نام علمی Rhamnus frangula، گیاهی از خانواده‌ی عنابیان (Rhamnaceae) است. ارزش درمانی انواع مهم این خانواده به علت دارا بودن گلوکوزیدهای آنتراکینونیک است که اثر مسهلی و یا ملین دارند. از پوست ساقه رامنوس فرانگولا که به بوردن (Bourdaine) موسوم است، فرانگولوزید (Franguloside) و گلوکوزیدهای (Glucosid) مختلف دارویی به دست می آورند (۱۳, ۱٤). گیاه *Rhamnus alaternus* که یکی دیگر از اعضای خانواده عنابیان است، می تواند باعث کاهش اثرات نامطلوب ناشی از کلرید آلومینیوم و بهبود پارامترهای خونی و بیوشیمیایی/آنتی اکسیدانی کلیه ها گردد (۱۵). علاوه بر این، در سلول های انسانی، عصاره برگ های *R. alaternus* بیان ژن های دخیل در ترمیم DNA و سیستم های دفاع اکسیداتیو را تعدیل می کند. این عصاره دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی، مهار رادیکال های آزاد، فعالیت های ضد جهش زا و آنتی ژنوتوکسیک می باشد. همچنین فعالیت ضد تکثیری و پیش آپوپتوز در رده های سلولی سرطان انسان نیز دارند. تعدادی ترکیب آنتی اکسیدانی از گیاه *Rhamnus alaternus* به عنوان آنتراکینون‌ها شناسایی شده اند که شامل امودین (emodin)، کریزوفانول (chrysophano) و فلاونوئیدها نظیر کامپفرول (Kaempferol) می باشند. علاوه بر این، گزارشها نشان داده اند که این گیاه دارای فعالیت های آنتی رادیکال، آنتی پرولیفراتیو، سیتوتوکسیک و آنتی باکتریال موثر است (۱٦).

با توجه به بررسی های نویسندگان مطالعه حاضر، تاکنون گزارشی مبنی بر بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و محافظتی گیاه *Rhamnus frangula* در مدل حیوانی به ثبت نرسیده است. همچنین خواص پیشگیری کننده این عصاره در برابر برخی آلاینده های محیطی مثل سمیت بنزوپیرن هنوز به طور کامل مشخص نشده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات محافظتی آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی سیاتوسه در مسمومیت با بنزوپیرن در موش سوری بود تا بتوان در مورد اثرات محافظتی مصرف این گیاه در دوز های متداول اظهار نظر علمی گردد. در این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه برای اولین بار در مدل حیوانی ارزیابی و با اثرات آنتی اکسیدانی ویتامین E مقایسه می گردد. امید است نتایجی راه گشا جهت بررسیهای بیولوژیک آینده در این مورد به دست آید.

**مواد و روش‌کار**

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه آزمایشگاهی ۵۵ حیوان مورد استفاده در این تحقیق شامل موش نر نژاد C57 با بازه وزنی ۱۵ تا ۲۰ گرم در سن ٦ هفتگی از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. موش های مورد مطالعه به صورت تصادفی در ۱۱ گروه پنج تایی ( ۷ گروه کنترل و٤ گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی

سیاتوسه) تقسیم بندی شدند. موش ها تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای محیطی ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند که در این بازه زمانی آب و غذا کافی و مناسب برای آنها فراهم گردید.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی سیاه توسه:

جهت انجام این تحقیق ساقه گیاه سیاه توسه ( *Rhamnus frangula*) به صورت تازه از لاهیجان جهت تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفت. جنس و گونه گیاه سیاتوسه در واحد پژوهش های گیاهی موسسه تحقیقات جهاد کشاورزی لاهیجان تایید گردید. به همین منظور ساقه گیاه سیاه توسه را در ابتدا خشک کرده و توسط دستگاه آسیاب برقی (هاون) خرد کرده واز پودر به دست آمده جهت تهیه عصاره استفاده شد. پودر حاصل را در محلول آب والکل (اتانول ۷۰ درصد) به مدت ٤٨ ساعت بر روی شیکر خیسانده و سپس آن را با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف کرده و محلول صاف شده با دستگاه تبخیر تحت خلاء (روتاری) خشک گردید و در شیشه های تیره تا زمان استفاده در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از این مدت عصاره ی حاصل از گیاه بر اساس غلظت های مورد نیاز ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت مستقل با استفاده از نرمال سالین رقیق گردید.

گروه های مورد مطالعه

حیوانات به طور تصادفی به ۱۱ گروه ۵ تایی تقسیم شدند.

گروه ۱: گروه کنترل منفی (دریافت جیره غذایی نرمال)

گروه ۲: گروه روغن زیتون (۰/۰٤ میلی‌لیتر روغن زیتون به صورت گاواژ به مدت ٤ هفته روزانه دریافت کردند).

گروه ۳: گروه بنزوپیرن (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به مدت ٤ هفته از طریق گاواژ با روغن زیتون)

گروه ٤: گروه ویتامین E (۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت گاواژ به مدت٤ هفته روزانه)

گروه ۵: گروه ویتامین E (۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن + بنزوپیرن با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به مدت ٤ هفته از طریق گاواژ با روغن زیتون )

گروه ۸-٦: عصاره هیدروالکلی سیاتوسه در دوز های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز

گروه ۱۱-۹: عصاره هیدروالکلی سیاتوسه در دوز های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز + بنزوپیرن با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم

داروهای شیمیایی:

بنزوپیرن به شکل پودر از شرکت سیگما ( CAS Number 50-32-8, Sigma-Aldrich) خریداری و قبل از استفاده در روغن زیتون حل شد و به شکل تازه مورد استفاده قرار گرفت. ویتامین E ازشرکت سیگما ( CAS Number 10191-41-0, Sigma-Aldrich) تهیه شد. همه موارد به صورت گاواژ به حیوان داده شد. خونگیری از قلب بعد از ۱ ماه، تحت تاثیر بی هوشی با کتامین ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند. نمونه های خونی به دست آمده ۲۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند و به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سرم هر لوله جمع آوری شد. پس از جداسازی سرم، نمونه های سرم جمع آوری شده تا زمان انجام سنجش پارامتر های بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل سرم

ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم با استفاده از روش فرپ اندازه گیری شد. اساس این روش توانایی سرم در احیای یون‌های آهن ($Fe^{+3}$) به یون‌های آهن ($Fe^{+2}$) در حضور تری‌پیریدیل‌تریازین ( Tripyridyl-s-triazine; TPTZ) (CAS Number 3682-35-7, Sigma, Germany) است. در این روش واکنش $Fe^{+2}$ با معرف TPTZ یک کمپلکس $Fe^{+2}$-TPTZ آبی رنگ با حداکثر خاصیت جذب

نور در طول موج ۵۹۳ نانومتر ایجاد می کند که با افزایش غلظت موارد ذکر شده قابل اندازه گیری است. مجتمع توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ( UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) اندازه گیری می شود (۱۷).

ارزیابی آنزیم مالون دی آلدئید سرم:

برای اندازه گیری مالون دی آلدئید سرم، محلول کاری حاوی ۰/۵ گرم تیوباربیتوریک اسید (CAS-Number 504-17-6, Merk, Germany) و ۸۰ میلی لیتر اسید استیک ۲۰ درصد (CAS-Number 64-19-7, Merck, Germany) مورد استفاده قرار گرفت. pH این محلول با استفاده از هیدروکسید سدیم (NaOH) ( CAS-Number 1310-73-2, Merck, Germany) روی ۳/۵ تنظیم و با افزودن اسید استیک ۲۰ درصد حجم نهایی آن به ۱۰۰ میلی لیتر تنظیم شد. در مرحله بعد، ۲.۵ میلی لیتر از این محلول کاری به همراه ۱۰۰ میکرولیتر سرم و ۱۰۰ میکرولیتر SDS (سدیم دودسیل سولفات) (۱/۸ درصد) در یک لوله آزمایش شیشه ای ریخته شد ( CAS-number 151-21-3, Merck, Germany) و لوله ها با درپوش آلومینیومی بسته شده بودند. لوله ها به مدت یک ساعت در یک حمام آب گرم قرار داده شدند و پس از سرد شدن با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه (Poland Mpw 260r) سانتریفیوژ شدند. سپس جذب نوری محلول رویی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۵۲۳ نانومتر ثبت شد (۱۸).

ارزیابی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم:

برای تعیین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از کیت شرکت زلبیو (ZB-SOD96) طبق پروتکل موجود در کیت استفاده شد. برای این منظور از هر سرم ۱۰ میکرولیتر استفاده شد و پس از افزودن محلول ها به کیت، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ( UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه گیری شد (۱۹).

ارزیابی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم:

برای تعیین میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، از کیت شرکت زلبیو (ZB-GPX96) طبق پروتکل کیت استفاده شد. برای این منظور از هر سرم ۱۰ میکرولیتر استفاده شد و پس از افزودن محلول ها به کیت، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ( UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری شد (۲۰).

روش آنالیز آماری:

پس از جمع آوری داده ها تجزیه و تحلیل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین ها از آزمون توکی استفاده شد و $P< 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی مدنظر قرار گرفته است. کلیه مراحل کار مطابق با دستور کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1402.035 انجام شد.

## نتایج

در این مطالعه، میانگین پروفایل استرس اکسیداتیو در گروه های کنترل منفی، روغن زیتون به عنوان حلال بنزوپیرن، بنزوپیرن به عنوان کنترل مثبت، ویتامین E، تیمار بنزوپیرن با ویتامین E، سیاتوسه با سه دوز مختلف و گروه های تیمار بنزوپیرن با دوزهای مختلف سیاتوسه در نمودار ۴-۱ آورده شده است. پروفایل استرس اکسیداتیو شامل ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (۲۱)، سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و مالون دی آلدئید (MDA) می باشد.

روغن زیتون (حلال بنزوپیرن) نسبت به گروه کنترل منفی تغییرات قابل توجه و معنی‌داری در پارامترهای استرس اکسیداتیو ایجاد نکرد. این نشان می‌دهد که تغییراتی که در اثر مصرف بنزوپیرن دیده می‌شود مربوط به خود بنزوپیرن است و ارتباطی به حلالش ندارد. مصرف بنزوپیرن باعث کاهش معنی‌دار TAC، SOD، افزایش معنی دار MDA و کاهش غیرمعنی دار GPx نسبت به گروه کنترل گردید.

عصاره‌ها در هر سه دوز، تغییر معنی داری در پارامترهای آنتی اکسیدانی نسبت به گروه کنترل منفی نداشتند. این نشان می دهد که عصاره سیاتوسه در هر سه دوز تاثیر منفی و سمی بر پارامترهای اکسیداتیو ندارد و آسیب اکسیداتیو ایجاد نمی کند. دوز ۱۰۰۰ سیاتوسه سبب کاهش معنی‌دار MDA نسبت به گروه کنترل منفی گردید در حالیکه در دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میانگین MDA نسبت به کنترل، تغییر معنی‌داری دیده نشد.

مصرف عصاره ها به تنهایی باعث افزایش وابسته به دوز معنی دار TAC نسبت به مصرف بنزوپیرن به تنهایی گردیدند، ولی تفاوت معنی دار بین دوزهای مختلف دیده نشد. در مورد SOD، افزایش وابسته به دوز دیده شد یعنی با افزایش دوز عصاره، غلظت SOD افزایش یافت. این افزایش فقط در دوز ۱۰۰۰ نسبت به گروه بنزوپیرن معنی دار بود. غلظت GPx در هر سه گروه مصرف کننده ی دوزهای سیاتوسه کاملاً مشابه بود و تغییر قابل گزارشی دیده نشد. در غلظت MDA، مصرف عصاره ها باعث کاهش وابسته به دوز معنی دار نسبت به گروه بنزوپیرن گردید و در دوز ۱۰۰۰ میزان این پارامتر به طور معنی دار کمتر از میزانش در گروه سیاتوسه با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ بود.

در گروه تیمار بنزوپیرن با سیاتوسه، افزایش وابسته به دوز سیاتوسه در غلظت TAC نسبت به گروه بنزوپیرن (کنترل بیمار) دیده شد که فقط در دوز ۱۰۰۰ سیاتوسه این افزایش نسبت به گروه بنزوپیرن معنی دار بود. در مقایسه دوزهای مختلف سیاتوسه با هم، اختلاف معنی دار دیده شد به طوریکه بیشترین میزان TAC مربوط به بالاترین دوز سیاتوسه بود.

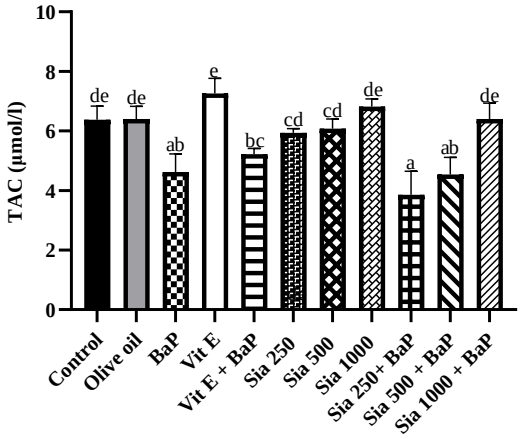
همراهی سیاتوسه با بتزوپیرن سبب افزایش وابسته به دوز در میزان SOD نسبت به بنزوپیرن تنها گردید ولی این افزایش در هیچ کدام از دوزها نسبت به گروه بنزوپیرن معنی دار نبود. در مقایسه بین دوزهای مختلف سیاتوسه با هم، اختلاف معنی دار دیده نشد. غلظت GPx بین تمامی گروه های کنتزل و تیمار مشابه بود و هیچ اختلاف قابل توجهی بین گروه ها دیده نشد.

مصرف سیاتوسه به همراه بنزوپیرن، سبب کاهش وابسته به دوز در غلظت MDA نسبت به گروه بنزوپیرن شد ولی این کاهش فقط در دوز ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نسبت به بنزوپیرن معنی دار بود. در مقایسه بین دوزهای مختلف سیاتوسه با هم، اختلاف معنی دار در غلظت MDA دیده نشد. به طور خلاصه، تیمار بنزوپیرن با سیاتوسه سبب افزایش معنی دار TAC (دوز ۱۰۰۰) و کاهش معنی دار MDA (دوز ۵۰۰ و ۱۰۰۰) نسبت به گروه بنزوپیرن گردید.

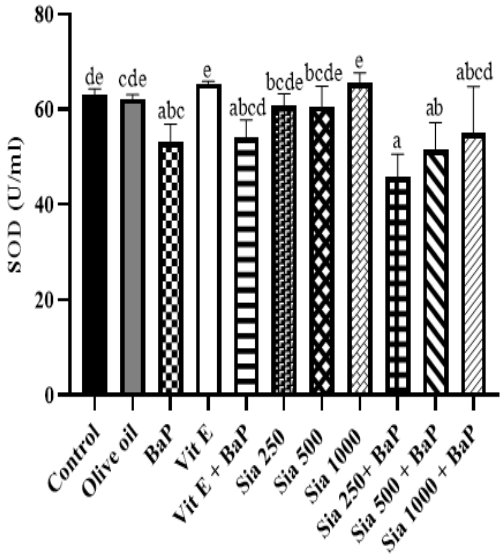
ویتامین E به تنهایی تغییر قبل توجهی در پارامترهای استرس اکسیداتیو نسبت به گروه کنترل منفی ایجاد نکرد در حالیکه در مقایسه با گروه بنزوپیرن، ویتامین E سبب افزایش معنی دار TAC و SOD و افزایش غیرمعنی دار GPX و همچنین کاهش معنی دار MDA گردید. مصرف ویتامین E همراه با بنزوپیرن، تغییر معنی دار و قابل توجهی در پارامترهای استرس اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن ایجاد نکرد.

نمودار ۱- مقایسه میانگین ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (۲۱) در گروه های مورد مطالعه

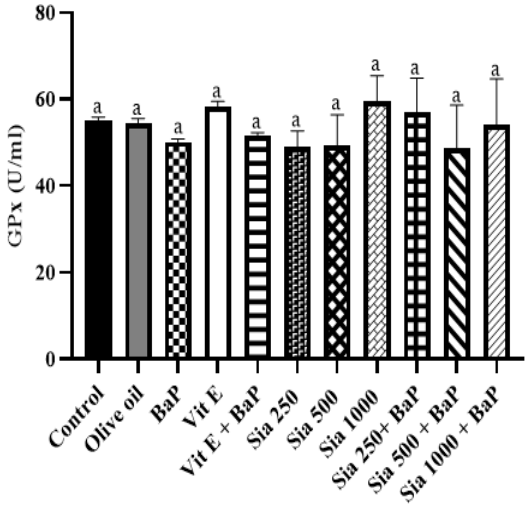
حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است ($p>۰/۰۵$).



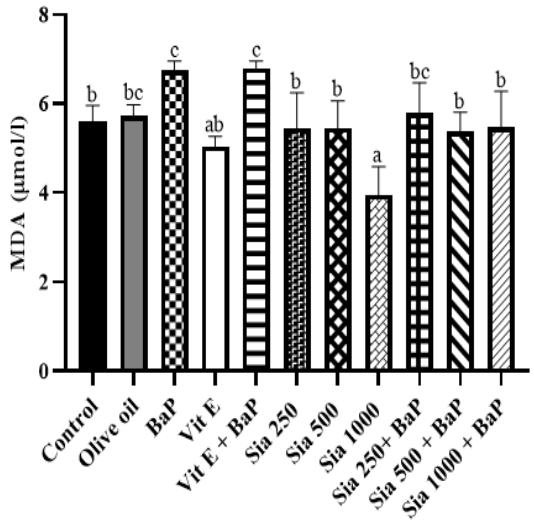

نمودار ۱- مقایسه میانگین ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (۲۱) در گروه های مورد مطالعه. حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است ($p$>۰/۰۵).




نمودار۲- مقایسه میانگین سوپراکسیددسموتاز (SOD) در گروه های مورد مطالعه. حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است ($p$>۰/۰۵).




نمودار ۳- مقایسه میانگین گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در گروه های مورد مطالعه. حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است ($p$>۰/۰۵).




نمودار ٤- مقایسه میانگین مالون دی آلدئید (MDA) در گروه های مورد مطالعه. حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است ($p$>۰/۰۵).

**بحث**

مطالعه حاضر به منظور بررسی و مقایسه اثر محافظتی احتمالی عصاره هیدروالکلی سیاتوسه (*Rhamnus frangula L.*) با ویتامین E، در برابر سمیت اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن (BaP) در موش‌های سوری انجام شد. به همین دلیل آزمایشات آنتی اکسیدانی در شرایط مدل حیوانی بر روی عصاره هیدروالکلی گیاه سیاتوسه برای برآورد اثرات مفید احتمالی انجام شد.

اگر چه ویتامین E به تنهایی سبب افزایش قابل توجه مقادیر آنتی اکسیدانها و کاهش قابل توجه پراکسیداسیون لیپیدی نسبت به گروه بنزوپیرن شد ولی زمانیکه همراه با بنزوپیرن استفاده شد، نتوانست تاثیرات منفی ناشی از از بنزوپیرن بر روی پروفایل استرس اکسیداتیو را خنثی کند و بهبود بخشد.

سیاتوسه به تنهایی در هر سه دوز توانست سبب افزایش معنی دار TAC و کاهش معنی دار MDA نسبت به گروه بنزوپیرن شود ولی زمانیکه همراه بنزوپیرن استفاده شد، فقط در دوز ۱۰۰۰ که بالاترین دوز بود، سبب افزایش معنی دار TAC و در دوز ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قادر به کاهش معنی دار MDA افزایشی ناشی از بنزوپیرن شد. به عبارت دیگر، فقط در دوزهای بالا توانست تغییرات TAC (دوز ۱۰۰۰) و MDA (دوز ۵۰۰ و ۱۰۰۰) ناشی از بنزوپیرن را بهبود بخشد.

سیاتوسه فقط در دوز ۱۰۰۰ قادر به افزایش معنی دار SOD نسبت به گروه بنزوپیرن تنها شد و زمانیکه همراه با بنزوپیرن استفاده شد، حتی در بالاترین دوز هم نتوانست تغییرات اکسیداتیو و منفی ناشی از بنزوپیرن را روی این پارامتر خنثی کند.

نتایج این مطالعه در ارتباط با مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی سیاتوسه با ویتامین E نشان داد که سیاتوسه نسبت به ویتامین E قدرت آنتی اکسیدانی بالاتری در مسمومیت ناشی از بنزوپیرن دارد. سیاتوسه قادر به محافظت در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن است در حالیکه ویتامین E نتوانست تغییرات اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن را خنثی کند.

Tichati و همکاران در سال ۲۰۲۲، با اندازه گیری کمی ترکیبات فنلی عصاره آبی گیاه Rhamnus alaternus L.، گیاهی هم خانواده سیاتوسه، نشان دادند که این گیاه حاوی سطوح مشخصی از توتال فلاونوئیدها، فنل ها و تانن ها است (۱۵) و این با یافته های قبلی مطابقت دارد (۲۲, ۲۳). این اجزای زیست فعال، که در طبقات فیتوشیمیایی اصلی قرار دارند، مسئول ایجاد خواص آنتی اکسیدانی در گیاهان می‌باشند (۲٤). این خواص نیز توسط مدل حیوانی موش در مطالعه حاضر تایید شد. این مطالعه برای اولین بار گزارش داد که عصاره هیدروالکلی سیاتوسه (*Rhamnus frangula L.*) خواص آنتی اکسیدانی بالایی نسبت به ویتامین E در مقابل سمیت اکسیداتیو بنزوپیرن دارد، به طوریکه در موشهای تیمار شده با سیاتوسه افزایش معنی دار TAC و کاهش معنی دار MDA نسبت به گروه کنترل بیمار (بنزوپیرن به تنهایی) دیده شد. در حالیکه تیمار با ویتامین E تغییر قابل توجهی در میزان این پارامترها ایجاد نکرد.

شرایط استرس اکسیداتیو اغلب باعث پراکسیداسیون لیپیدی می شود که با افزایش غلظت MDA نشان داده می شود. متابولیت بنزوپیرن به عنوان یک عامل تخلیه کننده مخزن گلوتاتیون سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن شناخته شده است. تجویز عصاره سیاتوسه پتانسیل پر کردن گلوتاتیون را دارد، بنابراین، از تولید رادیکال های آزاد به دنبال مصرف بیش از حد بنزوپیرن جلوگیری می کند.

یافته ها نشان داد که عصاره سیاتوسه می‌تواند به عنوان یک جاذب رادیکال و یک قدرت احیاکنندگی، همراه با فعالیت بازدارنده در برابر پراکسیداسیون لیپیدی، به دلیل توانایی آن

در اهدای اتم‌ها یا الکترون‌های هیدروژن عمل کند. با این حال، تا حد بررسی های نویسنده تا کنون هیچ مطالعه ای بر روی این جنس از خانواده نعناعیان گزارش نشده است، بنابراین مقایسه یافته های این مطالعه از طریق مطالعات قبلی دشوار است.

نتایج مشابهی توسط Boussahel و همکاران (23) و Ammar و همکاران (۱۶) گزارش شده است، که ثابت کردند ظرفیت آنتی اکسیدانی *Rhamnus alaternus* به دلیل غنی بودن آن از ترکیبات فنلی مانند اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها است. داده‌های آزمایشگاهی کلی ما استفاده احتمالی از عصاره گیاه سیاتوسه را برای جلوگیری از آسیب سمی ناشی از رژیم‌های غذایی آلوده به بنزوپیرن نشان می‌دهد. اثرات مفید عصاره سیاتوسه در بازگرداندن اثر سمی بنزوپیرن را می توان به ترکیبات زیست فعال موجود در سیاتوسه، از جمله فلاونوئیدهایی مانند کورستین و کامفرول نسبت داد (۲۳).

بنزوپیرن فعالیت سمی خود را از طریق تولید گونه های اکسیژن فعال اعمال می کند که منجر به اختلال در وضعیت ردوکس می شود (۲۵). در مطالعه ما، درمان با بنزوپیرن تعادل پرواکسیدانی/آنتی اکسیدانی را از بین برد، همانطور که با افزایش سرعت پراکسیداسیون لیپیدی از طریق بیان بیش از حد سطح بالای MDA، کاهش TAC، SOD و GPx آشکار شد. SOD، GPx و CAT در آسیب بافتی دخیل هستند (۲۶). کاهش فعالیت SOD در خون را می توان با استفاده بیش از حد از این آنزیم توضیح داد که در نتیجه به حذف ناکافی رادیکال های آنیون سوپراکسید از محیط سلولی کمک می کند و در نتیجه منجر به افزایش ROS می شود. تولید بیش از حد این رادیکال‌ها اثر مهاری بر آنزیم‌های مسئول حذف ROS مانند GPx و CAT دارد (۲۶). بنابراین افزودن سیاتوسه از عارضه جانبی بنزوپیرن جلوگیری یا بازیابی کرد. در واقع، موش‌های تحت درمان با عصاره هیدروالکلی سیاتوسه بازیابی فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدانی را توسط SOD، GPx و TAC و کاهش غلظت MDA نشان دادند. بنابراین یافته‌های ما توانایی عصاره هیدروالکلی سیاتوسه برای بازگرداندن عدم تعادل ناشی از بنزوپیرن را تایید می‌کند. این اثرات ممکن است تا حدی به دلیل ترکیبات فنلی باشد که قادر به تعامل با سیستم های بیولوژیکی هستند که نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو را کاهش داده و احتمالاً اکسیداسیون لیپیدها را از طریق مهار مستقیم رادیکال های آزاد، کیلاسیون فلزی، فعال شدن آنزیم های آنتی اکسیدان و مهار آنزیم های مرتبط با تولید رادیکال آزاد مهار می کنند (۲۷). علاوه بر این، متابولیت‌های حاصل از متابولیسم بنزوپیرن گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌کنند که بسیار واکنش پذیر هستند و می توانند پروتئین ها، لیپیدها و DNA سلول را اکسید کنند (۲۸, ۲۹)

نتایج این مطالعه نشان داد که بنزوپیرن باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در موش های سوری می شود. تجویز همزمان عصاره هیدروالکلی سیاتوسه اثرات نامطلوب بنزوپیرن را کاهش داد و منجر به بهبود پارامترهای آنتی اکسیدانی شد. مکانیسم این اثر محافظتی به دلیل فعالیت آن در مهار پراکسیداسیون لیپیدی و فعال شدن آنزیم های آنتی اکسیدانی است. ترکیبات زیست فعال عصاره هیدروالکلی سیاتوسه که مسئول این اثرات هستند در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار نگرفتند. بنابراین، مطالعات تکمیلی برای شناسایی این ترکیبات فعال باید انجام شود.

## فهرست منابع

1. Barnwal P, Vafa A, Afzal S, Shahid A, Hasan S, Alpashree, et al. Benzo (a) pyrene induces lung toxicity and inflammation in mice: prevention by carvacrol. Human & Experimental Toxicology. 2018;37(7):752-61.
2.

AL G. Cytochrome P450-dependent binding of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) and benzo [a] pyrene (B [a] P) in murine heart, lung and liver. Arch Toxicol. 2000;74:593-601.
3. Mu G, Fan L, Zhou Y, Liu Y, Ma J, Yang S, et al. Personal exposure to PM2. 5-bound polycyclic aromatic hydrocarbons and lung function alteration: Results of a panel study in China. Science of the Total Environment. 2019;684:458-65.
4. Dhatwalia SK, Kumar M, Bhardwaj P, Dhawan D. White tea-a cost effective alternative to EGCG in fight against benzo (a) pyrene (BaP) induced lung toxicity in SD rats. Food and Chemical Toxicology. 2019;131:110551.
5. Jiang J, Xu H, Wang H, Zhang Y, Ya P, Yang C, et al. Protective effects of lemongrass essential oil against benzo (a) pyrene-induced oxidative stress and DNA damage in human embryonic lung fibroblast cells. Toxicology mechanisms and methods. 2017;27(2):121-7.
6. Shahid A, Ali R, Ali N, Kazim Hasan S, Barnwal P, Mohammad Afzal S, et al. Methanolic bark extract of Acacia catechu ameliorates benzo (a) pyrene induced lung toxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in mice. Environmental toxicology. 2017;32(5):1566-77.
7. Shi Q, Fijten R, Spina D, Vasquez YR, Arlt V, Godschalk R, et al. Altered gene expression profiles in the lungs of benzo [a] pyrene-exposed mice in the presence of lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation. Toxicology and applied pharmacology. 2017;336:8-19.
8. Lin T, Yang M. Benzo [a] pyrene-induced elevation of GSH level protects against oxidative stress and enhances xenobiotic detoxification in human HepG2 cells. Toxicology. 2007;235(1-2):1-10.
9. El-Demerdash FM, Tousson EM, Kurzepa J, Habib SL. Xenobiotics, oxidative stress, and antioxidants. Hindawi; 2018.
10. Hong Y, Lee H, Tran Q, Bayarmunkh C, Boldbaatar D, Kwon SH, et al. Beneficial effects of Diplectria barbata (Wall. Ex CB Clarke) Franken et Roos extract on aging and antioxidants in vitro and in vivo. Toxicological Research. 2021;37:71-83.
11. Balgoon MJ. Assessment of the protective effect of Lepidium sativum against aluminum-induced liver and kidney effects in albino rat. BioMed research international. 2019;2019.
12. Tahari FZ, Lablack M, Hamadouche NA, Tahari Z, Aoues A. Protective effect of Haloxylon salicornicum on hepatic and renal functions of Wistar rats exposed to aluminium. African Journal of Biotechnology. 2016;15(9):293-302.
13. Đurendić Brenesel M, Pilija V, Popović T, Arsić A, Milić M, Kojić D, et al. Antihyperlipidemic, antioxidant and weightlowering effects of "Vitalplant". Open Life Sciences. 2015;10(1).
14. Mišan A, Mimica-Dukić N, Sakač M, Mandić A, Sedej I, Šimurina O, et al. Antioxidant activity of medicinal plant extracts in cookies. Journal of food science. 2011;76(9):C1239-C44.
15. Tichati L, Benzaid C, Trea F, Mahmoud R, Kheireddine O. Ameliorating effects of Rhamnus alaternus L. aqueous extract on aluminum chloride-induced nephrotoxicity via attenuation of oxidative stress in male Wistar rats. Comparative Clinical Pathology. 2022;31(6):1025-36.
16. Ammar RB, Bhouri W, Sghaier MB, Boubaker J, Skandrani I, Neffati A, et al. Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of Rhamnus alaternus L.(Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. Food Chemistry. 2009;116(1):258-64.
17. Karimi Dehkordi M, Ghasemian SO. Assessment of oxidative stress indexes and BCS in clinical mastitis cows in comparison with healthy cows. Veterinary Clinical

Pathology The Quarterly Scientific Journal. 2022;16(61):29-42.
18. Karimi-Dehkordi M, Molavi Pordanjani M, Gholami-Ahangaran M, Mousavi Khaneghah A. The detoxification of cadmium in Japanese quail by pomegranate peel powder. International Journal of Environmental Health Research. 2023:1-11.
19. Mousavi Tashar N, Karimi Dehkordi M, Nazem M. The effect of serum catalase and superoxide dismutase activity on subclinical ketosis and conception rate at first service in Holstein dairy cows. Iranian Veterinary Journal. 2022;17(4):111-20.
20. Karimi Dehkordi M, Salehi N, BaniMehdi P. Comparison of serum oxidative status in healthy Arabian and Dareshoor horses. Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal. 2021;15(57):29-39.
21. Tacherfiout M, Petrov PD, Mattonai M, Ribechini E, Ribot J, Bonet ML, et al. Antihyperlipidemic effect of a Rhamnus alaternus leaf extract in Triton-induced hyperlipidemic rats and human HepG2 cells. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2018;101:501-9.
22. Boussahel S, Dahamna S, Ruberto G, Siracusa L, Harzallah D. Phytochemical Study and Antioxidant Activities of Leaves Extracts from Rhamnus alaternus L. Pharmacognosy Communications. 2013;3(1):46.
23. Boussahel S, Speciale A, Dahamna S, Amar Y, Bonaccorsi I, Cacciola F, et al. Flavonoid profile, antioxidant and cytotoxic activity of different extracts from Algerian Rhamnus alaternus L. bark. Pharmacognosy magazine. 2015;11(Suppl 1):S102.
24. Tichati L, Trea F, Ouali K. The antioxidant study proprieties of Thymus munbyanus aqueous extract and its beneficial effect on 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid-induced hepatic oxidative stress in albino Wistar rats. Toxicology Mechanisms and Methods. 2021;31(3):212-23.
25. Chakravarti D, Venugopal D, Mailander PC, Meza JL, Higginbotham S, Cavalieri EL, et al. The role of polycyclic aromatic hydrocarbon–DNA adducts in inducing mutations in mouse skin. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2008;649(1-2):161-78.
26. Saber TM, Elgaml SA, Ali HA, Saleh AA. Protective effect of Spirulina platensis against aluminium-induced nephrotoxicity and DNA damage in rats. Toxicological & Environmental Chemistry. 2015;97(8):1113-23.
27. Omidian K, Rafiei H, Bandy B. Polyphenol inhibition of benzo [a] pyrene-induced oxidative stress and neoplastic transformation in an in vitro model of carcinogenesis. Food and Chemical Toxicology. 2017;106:165-74.
28. Miller KP, Ramos KS. Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo [a] pyrene and related hydrocarbons. Drug metabolism reviews. 2001;33(1):1-35.
29. Wang S, Zang W, Yang Y, Zhang Q, Zhao M, Gao Z, et al. Tanshinone IIA and Baicalin inhibiting the formation of benzo [a] pyrene and benzo [a] pyrene induced cytotoxicity: Correlation with scavenging free radical. Environmental toxicology and pharmacology. 2013;36(2):403-10.