فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۴، جلد ۹، شماره ۳، تابستان۹۵، صفحه ۶۵ تا ۷۳

بررسی اثرات محافظت کبدی تمرین اختیاری و عصاره گیاه مریم گلی بر سمیت القا شده توسط دیازینون در موش های صحرایی

اسماعیل فتاحی[۱]، اکبر حاجی زاده مقدم[۲]، طاهره باقری[۳]
۱– گروه زیست شناسی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل. ایران. esmail_fattahy@yahoo.com
۲–گروه زیست شناسی، دانشگاه مازندران، بابلسر. ایران.
۳– گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل. ایران.
تاریخ دریافت: ۹٤/۲/۲٤ تاریخ پذیرش: ۹۵/٤/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: دیازینون یک سم ارگانوفسفره است که به عنوان آلاینده محیطی موجب استرس اکسیداتیو می شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر حفاظتی دوره برنامه تمرینی همراه با عصاره مریم گلی بر آسیب های بافت کبد حاصل از دیازینون انجام شد.

روش کار: در این مطالعه ۳۵ سر موش صحرایی نژاد ویستار به طور تصادفی به پنج گروه مساوی شامل گروه کنترل، دیازینون، دیازینون–عصاره، تمرین–دیازینون، تمرین– عصاره– دیازینون تقسیم شدند. عصاره مریم گلی با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ٤ هفته و دیازینون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برای یک بار به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. ۲٤ ساعت بعد از آخرین تزریق موش ها کشته شد. پس از خون گیری از قلب سرم خون برای ارزیابی آنزیم های ASTو ALT به روش رادیو ایمونواسی مورد استفاده قرار گرفت. بافت کبد برای مطالعات بافت شناسی از بدن خارج و نمونه برداری گردید. داده ها با آنالیز واریانس و آزمون دانکن تحلیل شدند.

یافته ها: تعداد هپاتوسیت ها و مویرگ های سینوزوئیدی در گروه دیازینون نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد(P<۰/۰۵) و تعداد سلول های کوپفر و میزان آنزیم های ALT و AST سرم خون افزایش معنی داری داشت. اما در تیمار عصاره و تمرین به طور معناداری تعداد هپاتوسیت و مویرگ های سینوزوئیدی افزایش و افزایش سلول های کوپفر و میزان ALT و AST القا شده توسط دیازینون مهار شد(P<۰/۰۵). هم چنین تغییرات بافت شناسی در گروه دیازینون مشاهده گردید ولی در گروه های عصاره، تمرین و ترکیبی از آنان تغییرات بافتی قابل ملاحظه ای مشاهده نگردید.

نتیجه گیری: عصاره مریم گلی و تمرین سبب بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی بدن، کاهش استرس اکسیداتیو در برابر دیازینون می-شود.

واژه های کلیدی: مریم گلی، تمرین، هپاتوسیت ها، کبد، دیازینون.

مقدمه

آفت کش ها ترکیبات شیمیایی هستند که موجب القای استرس اکسیداتیو در موجودات می شوند. استرس اکسیداتیو در اثر عدم تعادل بین تولید و حذف رادیکال-های آزاد و گونه فعال اکسیژن به وجود می آید و یکی از چالش های مهم در موجودات زنده می باشد. دو سیستم آنتی اکسیدانی قوی برای مقابله با استرس اکسیداتیو در موجودات هوازی به صورت آنزیمی و غیر آنزیمی وجود دارد که می تواند رادیکال های آزاد را از بین برده و اثر مخرب آن ها را کاهش دهد(۲۰،۲۶،۲۸). یکی از ترکیباتی که در محیط می تواند استرس اکسیداتیو را القا کند سم دیازینون می باشد. دیازینون یک سم ارگانوفسفره است که به عنوان حشره کش علیه آفات نباتی و حشرات منازل استفاده می شود. مکانیسم اصلی این ترکیب مهار فعالیت آنزیم استیل کولین استراز می باشد(۱۲،۲۸). مطالعات نشان می دهد که این سم با تولید رادیکال های آزاد و اکسیژن های واکنش پذیر سبب تغییر فعالیت آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدها می شود(۶). زمانی که در سلول استرس اکسیداتیو رخ می دهد عملکرد ماکرومولکول های سلول همانند

پروتئین ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک مختل و با پراکسیداسیون لیپیدی سبب از بین رفتن غشاء سلولی و نهایتاً مرگ سلولی می شود(۱۰، ۴). دیازینون با تخریب مستقیم بر بافت ها و یا با اثر بر غدد درون ریز و محور هیپوفیز- گناد و محور هیپوفیز تیروئید سبب اثرات منفی بر اندام های بدن می گردد(۱۹، ۲). آسیب های اکسایشی ناشی از سم دیازینون با متابولیت های فعال، دوز و زمان مصرف و نوع بافت ارتباط مستقیمی دارد(۲۴، ۱۲). برخی از محققین گزارش دادند دیازینون سطح آنزیم-های آلانین آمینوترانسفراز(ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) و آلکالین فسفاتاز(ALP) را افزایش داده و باعث تسریع در مرگ هپاتوسیت ها و از دست دادن ATP می شود(۲۴). بدیهی است عوامل بی-شماری در تقویت و تضعیف اندام های بدن نقش دارند. در میان این عوامل ورزش و مواد طبیعی موجود در گیاهان دارویی از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند(۱۳). تاثیر ورزش بر اندام ها به شدت، مدت و تکرار مرحله-های تمرینی مرتبط است. مطالعات نشان می دهد که تمرین بر عملکرد جسمانی و فیزیولوژیکی، اثرات مطلوبی برجای می گذارد(۱۵، ۹، ۴). برخی از محققین بر این باورند که استفاده هم زمان از تمرینات اختیاری و عصاره مریم گلی بر بافت بدن منجمله پانکراس و بیضه اثرات اکسایشی ناشی از سم دیازینون را کاهش می دهد(۱۴، ۱۳). در سالیان اخیر با توجه به خطرات ناشی از مصرف آنتی اکسیدان های سنتزی از یک سوء و هم چنین مقرون به صرفه بودن اثرات درمانی مناسب و خطر کمتر گیاهان دارویی از سوء دیگر سبب شده، استفاده از آنتی اکسیدان طبیعی بالاخص متابولیت های ثانویه در گیاهان مورد توجه بیشتر قرار بگیرد(۲۴). گیاه مریم گلی(*Salvia officinalis* L.) از تیره نعناعیان دارای هفده گونه بومی در ایران می باشد(۲۲). این گیاه در طب سنتی به عنوان تسهیل کننده هضم، مدر، ضد تشنج، تب بر، ضد عفونی کننده، کاهش دهنده قند خون استفاده می گردد(۱۱). امروزه از گیاه مریم گلی در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده استفاده می شود و وجود ترکیبات فنلی تویون، سینئول و کامفر، ترپنی، فلاونوئیدی و تانن در اسانس و عصاره آن، خاصیت آنتی اکسیدانی به این گیاه داده است(۲۳). ترکیبات آنتی اکسیدانی نقش مهمی در حفاظت از بافت ها در مقابل اثرات اکسایشی ناشی از ترکیبات مختلف دارا هستند. خواص آنتی اکسیدانی گیاهان به میزان و نوع متابولیت های ثانویه بستگی دارد به همین دلیل قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان متفاوت می-باشد(۲۷، ۷). کبد اولین اندامی است که در متابولیسم ترکیبات خارجی وارد شده به بدن دخالت و در خنثی سازی این ترکیبات نقش اساسی دارد. البته باید در نظر داشت که توانایی کبد در تغییرات متابولیکی ترکیبات مختلف محدود می باشد. لذا ورود بیش از حد یک ماده به ویژه سموم به بدن و عدم دفع آن لاجرم سبب آسیب بافت کبد می شود(۱۸). با توجه به آثار زیان بار این سم و مصرف گسترده آن در کشاورزی، راه های مختلف برای مقابله با آثار تخریبی آن مورد توجه قرار گرفته است. عواملی از قبیل فعالیت‌های ورزشی و مصرف ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی اکسیدانی می توانند در بهبود و کاهش آسیب های استرس اکسایشی نقش مهمی داشته باشند(۱۱). لذا در این مطالعه اثرات حفاظتی تمرین اختیاری همراه با عصاره مریم گلی بر آسیب های بافت کبد موش های آزمایشگاهی مسموم شده با دیازینون مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین سنی ۱۰تا ۱۲ هفته و وزن ۲۰±۲۵۰ گرم از مرکز پرورش و نگه داری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور شمال کشور تهیه گردید. این حیوانات

جهت سازگاری با محیط جدید دو هفته قبل از شروع آزمایش در اتاق حیوانات دانشگاه مازندران نگه داری شدند. حیوانات در قفس های پلی کربنات و تحت شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۵-۵۰ درصد و دوره نوری، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگه داری و مراقبت شدند. برای انجام این تحقیق کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی مد نظر قرار گرفته و مورد تائید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی بودند.

تهیه عصاره

پس از برداشت گیاه و شناسایی توسط گیاه شناس، برگ گیاه در سایه خشک و با آسیاب به پودر تبدیل شد. ۱۰۰ گرم از پودر آماده شده با ۴۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد مخلوط و به مدت ۷۲ ساعت غوطه ور گردید. محلول حاصله پس از صاف شدن جهت حلال زدایی در دستگاه روتاری قرار گرفت. عصاره تغلیظ شده در آون در دمای ۴۰-۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفته و عصاره خشک به دست آمده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد(۱).

طراحی مطالعه

موش ها به پنج گروه ۷ تایی شامل کنترل، دیازینون، عصاره- دیازینون، تمرین-دیازینون، تمرین- عصاره- دیازینون تقسیم شدند.

گروه ۱(کنترل): موش ها هیچ سم و عصاره ای دریافت نکردند و تمرینی انجام ندادند و در طی انجام آزمایش دسترسی آزاد به غذا و آب داشتند.

گروه ۲(دیازینون): موش ها سم دیازینون بادوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برای یک بار به صورت داخل صفاقی دریافت کردند(۱۴).

گروه ۳(گروه عصاره- دیازینون): دراین گروه به موش ها ابتدا به مدت چهار هفته عصاره مریم گلی با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم(۱) به صورت داخل صفاقی تزریق و سپس دیازینون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برای یک بار تزریق شد.

گروه ٤(تمرین - دیازینون): قبل از اجرای پروتکل تمرینی، آزمودنی ها به مدت چند روز با نحوه انجام فعالیت روی چرخ دوار آشنا شدند. موش ها در قفس-های مجهز به چرخ دوار به طور انفرادی نگه داری شدند. این دستگاه دارای شمار انداز دیجیتالی بوده که مسافت طی شده در شبانه روز و مسافت طی شده در یک ساعت مشخص از روز توسط محقق ثبت گردید. موش ها به مدت چهار هفته بر روی چرخ دوار به تمرین پرداخته(۱۳) و سپس سم دیازینون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برای یک بار تزریق شد.

گروه پنج(تمرین- عصاره- دیازینون): حیوانات به مدت چهار هفته بر روی چرخ دوار به تمرین پرداخته و به صورت روزانه در یک ساعت مشخصی عصاره مریم گلی را با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند. سپس سم دیازینون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی برای یک بار تزریق گردید.

حیوانات۲۴ ساعت پس از تزریق سم دیازینون با اتر کشته و بافت های کبد از بدن خارج و در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند. پس از انجام مراحل تهیه بافت، برش هایی سریالی و به ضخامت ۵ میکرون با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی گردیدند. برای هر گروه ۱۰۰ برش که تمام قسمت های کبد را در بر می‌گرفت مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد سلول های هپاتوسیت و کوپفر سنجیده و برش های بافتی از لحاظ بافت شناسی مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور بررسی آزمون فرضیه های تحقیق از آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه تفاوت میانگین بین گروه ها از آزمون توکی استفاده گردید و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

سنجش بیوشیمیایی

برای سنجش آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) از قلب خون گیری به عمل آمد. نمونه های خون جمع آوری شده با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵دقیقه سانتریفوژ و سرم آن جدا و با استفاده از روش رادیو ایمونواسی(RIA) و کیت تهیه شده از پارس آزمون میزان آنزیم های کبدی مورد سنجش قرار گرفت.

تحلیل داده ها

نتایج حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه۲۰ و برای بررسی اختلاف میانگین داده ها از آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه و برای تعیین معنی داری بین گروه ها از آزمون دانکن استفاده گردید. سپس نمودارها در نرم افزار Excel رسم شد. اختلافات در سطح P<۰/۰۵ معنی دار شناخته شدند.

نتایج

تعداد هپاتوسیت

بررسی میکروسکوپی نشان داد که تعداد هپاتوسیت همه گروه ها نسبت به گروه دیازینون(۴/۰۹± ۲۳/۰۵) افزایش معنی داری پیدا نموده است (P<۰/۰۵) (جدول ۴-۱).

تعداد سلول های کوپفر

تعداد سلول های کوپفر در گروه های دیازینون و تمرین – دیازینون،(۲/۲۱± ۴۲/۳، ۲/۸۴± ۳۳/۳۰) به ترتیب نسبت به گروه کنترل(۳/۷۹± ۲۹/۰۵) افزایش معنی داری نشان داده است(P<۰/۰۵). اما تعداد این سلول ها بین گروه های عصاره–دیاینون و تمرین– عصاره–دیازینون(۲/۹۷± ۳۱/۳۰، ۲/۶۵± ۳۰/۴۵) به ترتیب با گروه کنترل(۳/۷۹± ۲۹/۰۵) اختلاف معنی داری نشان نداده است(جدول ۴-۱).

قطر ورید

قطر ورید در گروه های دیازینون(۴/۶۸± ۲۹/۰۵) و تمرین– دیازینون(۳/۴۷± ۳۴/۳۵) نسبت به گروه کنترل(۴/۷۲± ۴۱/۶۳) کاهش نشان داده است(P<۰/۰۵).

اما در گروه های عصاره– دیازینون(۴/۰۰± ۳۹/۴۵) و تمرین– عصاره–دیازینون(۵/۰۱± ۳۹/۶۷) در مقایسه با گروه کنترل(۴/۷۲± ۴۱/۶۳) اختلاف معنی داری نشان نداده است(جدول ۴-۱).

تعداد مویرگ های سینوزوئید

تعداد مویرگ های سینوزوئیدی در گروه های دیازینون(۰/۸۴± ۴/۶۰) و تمرین– دیازینون(۰/۴۱± ۶/۳۸) نسبت به گروه کنترل(۰/۵۸± ۹/۷۳) کاهش معنی‌داری یافته است(P<۰/۰۵). اما در تجزیه و تحلیل آماری تعداد مویرگ ها در گروه عصاره– دیازینون(۰/۹۱± ۸/۴۷) و تمرین– عصاره– دیازینون (۰/۶۸± ۸/۷۵) در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نگردید(P<۰/۰۵، جدول ۴-۱).

اندازه گیری آنزیم های کبدی

نتایج سنجش پارامترهای بیوشیمیایی نشان داد که میزان آنزیم های ALT و AST گروه دریافت کننده دیازینون(به ترتیب۵/۴۱±۷۹/۶۴ و ۴/۳۵±۶۵/۵۹) نسبت به گروه کنترل(به ترتیب ۴/۳۲±۳۵/۵۸، ۲/۸۷±۲۸/۷۶) افزایش چشم گیری یافته است(P<۰/۰۵، جدول۲). اما عصاره، تمرین و ترکیب از این دو، مانع از افزایش آنزیم‌های کبدی ALT و AST ناشی از دیازینون شده است(P<۰/۰۵، نمودار۱).

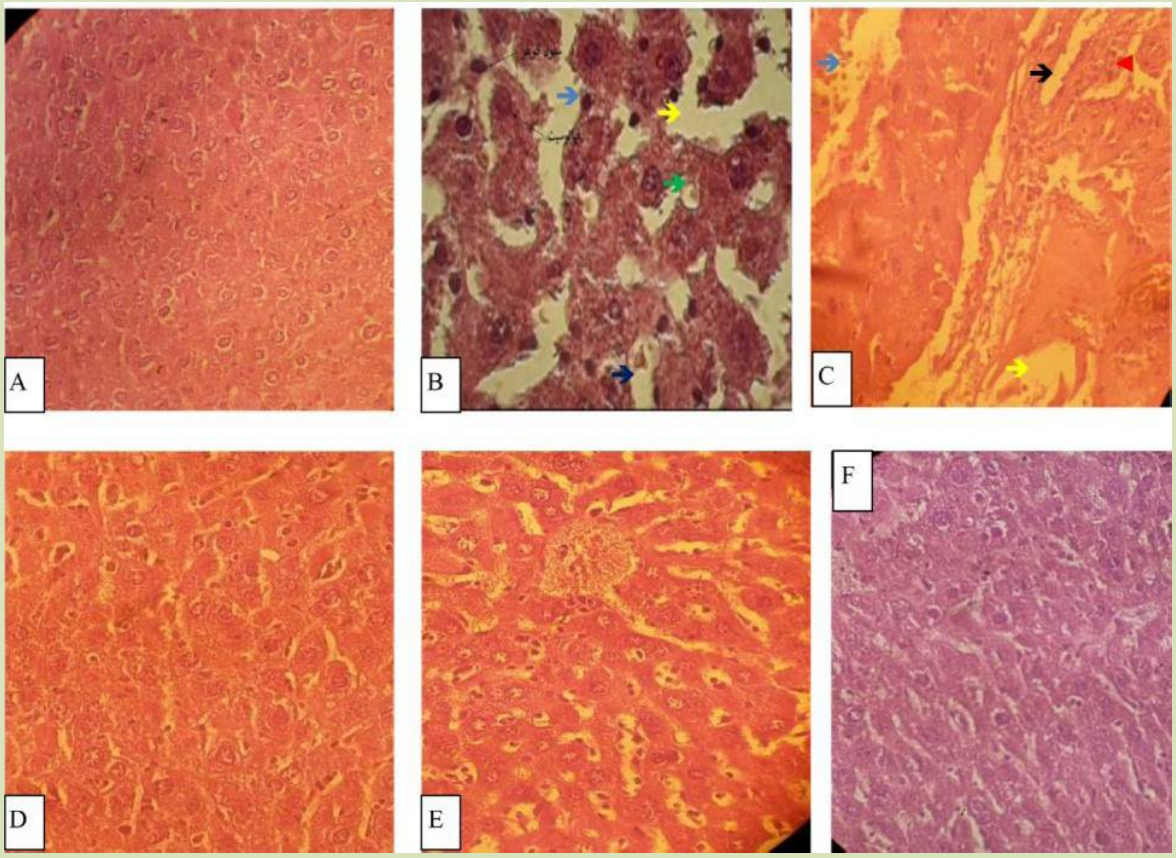
مطالعات بافت شناسی

نتایج بررسی بافت کبد در گروه دریافت کننده سم دیازینون با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی بیان گر تغییرات بافت شناسی در کبد می-باشد. تغییرات به صورت نفوذ سلول های آماسی، دژنرسانس آبکی سلول ها، هیپرپلازی مجاری صفراوی، نکروز در هپاتوسیت ها و فیبروز مشاهده گردید(شکل 1B). تغییرات بافت شناسی در گروه های عصاره و تمرین مشاهده نگردید(شکل1C-E).

جدول۱- مقایسه اثرات تمرین اختیاری و عصاره مریم گلی بر بافت کبد تیمار شده با دیازینون بر میانگین تعداد سلول ها، عروق خونی، قطر، مسافت دویدن آن ها در گروه های مختلف بافت کبد موش.

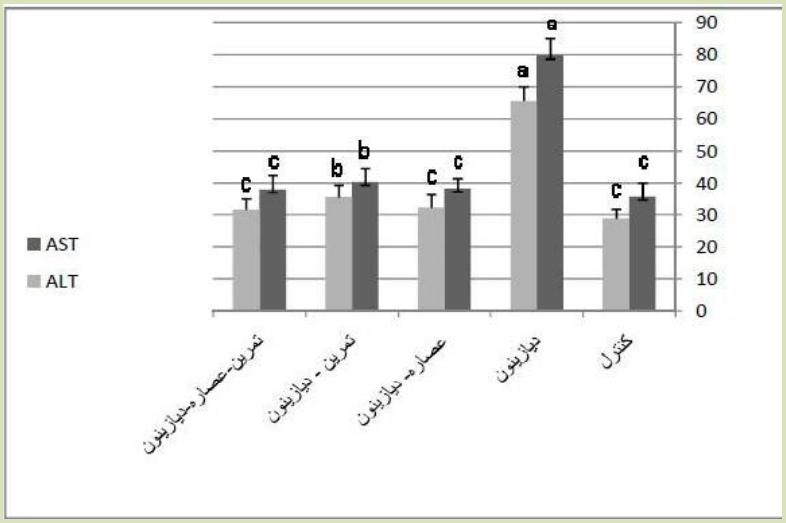
پارامتر / گروه	تعداد سلول های هپاتوسیت	تعداد سلول های کوپفر	قطر ورید	تعداد مویرگ- های سینوزوئید	مسافت دویدن(متر)
کنترل	۴۳/۰۵ ±۵/۹۴^{a}	۲۹/۰۵ ±۳/۷۹^{c}	۴۱/۶۳ ±۴/۷۲^{a}	۹/۷۳ ±۰/۵۸^{a}	-
دیازینون	۲۳/۰۵ ±۴/۰۹^{d}	۴۲/۳ ±۲/۲۱^{a}	۲۹/۰۵ ±۴/۶۸^{c}	۴/۶۰ ±۰/۸۴^{c}	-
عصاره- دیازینون	۳۸/۹۰ ±۴/۷۹^{b}	۳۱/۳۰ ±۲/۹۷^{c}	۳۹/۴۵ ±۴/۰۰^{a}	۸/۴۷ ±۰/۹۱^{a}	-
تمرین- دیازینون	۳۵/۷۸ ±۵/۶۴^{c}	۳۳/۳۰ ±۲/۸۴^{b}	۳۴/۳۵ ±۳/۴۷^{b}	۶/۳۸ ±۰/۴۱^{b}	۵۰۲/۱۴ ±۷۹
تمرین- عصاره- دیازینون	۴۱/۸۹ ±۴/۴۹^{a}	۳۰/۴۵ ±۲/۶۵^{c}	۳۹/۶۷ ±۵/۰۱^{a}	۸/۷۵ ±۰/۶۸^{a}	۵۷۰/۳۷ ±۹۵

حروف مشابه عدم تفاوت معنی داری و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی داری بین گروه ها می باشد.



شکل۱- اثرات تمرین اختیاری و عصاره مریم گلی بر بافت کبد موش صحرایی تیمار شده با دیازینون رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین(بزرگ نمایی برابر۴۰۰).

A: گروه کنترل؛ شرایط کامل نرمال بافتی B: گروه دیازینون، نکروز هپاتوسیت‌ها(پیکان سبز)، واکوئله شدن سیتوپلاسم(پیکان مشکی)، سلول های کوپفر(پیکان آبی)، افزایش فضای پورت(پیکان زرد) C: گروه تیمار شده با دیازینون. نکروز هپاتوسیت ها(پیکان آبی)، مجرای صفراوی(پیکان مشکی)، نفوذ سلول های آماسی(پیکان قرمز). افزایش فضای پورت(پیکان زرد). D: گروه تمرین- دیازینون E: گروه عصاره - دیازینون. F: گروه تمرین-عصاره-دیازینون.



نمودار۱- مقایسه اثرات تمرین اختیاری و عصاره مریم گلی بر بافت کبد موش صحرایی تیمار شده با دیازینون بر میانگین میزان آنزیم های ALT و AST

حروف مشابه عدم تفاوت معنی داری و حروف متفاوت بیان گر تفاوت معنی داری بین گروه ها می باشد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دیازینون سبب کاهش تعداد هپاتوسیت، فضای پورت، مویرگ های سینوزوئیدی و قطر ورید شده است. اما تعداد سلول-های کوپفر و سطح آنزیم های ALT و AST افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داده است. هم چنین نتایج این مطالعات نشان می دهد که دیازینون تغییرات بافت شناسی را در بافت کبد القا می کند که این تغییرات شامل نفوذ سلول های آماسی، دژنرسانس آبکی سلول ها، هیپرپلازی مجاری صفراوی، نکروز در هپاتوسیت ها، فیبروز و نفوذ سلول های تک هسته ای آماسی می باشد. اما در گروه های عصاره-دیازینون و تمرین- عصاره- دیازینون به طور معنا داری کاهش و افزایش پارامترهای مورد بررسی ناشی از سم دیازینون مهار شد. مطالعه سارهان و شاهاف نشان داد که دیازینون موجب پرخونی عروق خونی، نفوذ لوکوسیت در پارانشیم کبد، نکروز هپاتوسیت ها، واکوئله شدن سیتوپلاسم، دژنره شدن چربی و پیکنوتیک هسته در هپاتوسیت ها شده است(۲۵). در مطالعه ای دیگر تغییرات بافت شناسی ایجاد شده نکروز در هپاتوسیت ها، فیبروز، واکوئله شدن و نفوذ سلول های آماسی بود(۵). نتایج این مطالعه با نتایج گزارش شده توسط محققین دیگر در تغییرات بافت‌شناسی کبد در جانوران مطابقت دارد. کبد اولین اندامی است که در متابولیسم ترکیبات خارجی وارد شده به بدن درگیر می شود و اندام هدف بسیاری از ترکیبات شیمیایی و دارویی می باشد، زیرا بافت کبد موجب خنثی سازی این ترکیبات می گردد. باید در نظر داشت که توانایی کبد در تغییرات متابولیکی ترکیبات مختلف محدود می باشد. لذا ورود بیش از حد یک ماده به ویژه سموم به بدن دفع نشده و لاجرم سبب آسیب بافت کبد می گردد(۱۸). مطالعات نشان می دهد که سموم ارگانوفسفره و به ویژه سم دیازینون از طریق تولید رادیکال های آزاد و اکسیژن های واکنش پذیر منجر به مرگ سلولی می‌شود(۲۷، ۱۶). هم چنین دیازینون با پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدهای سلول پیوند شیمیایی برقرار کرده و موجب از بین رفتن غشائ سلول و نهایتاً مرگ سلول می شود(۱۸، ۳). برخی دیگر از

محققین گزارش دادند که دیازینون باعث افزایش میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز(ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) در جانوران می شود(۲۱). با توجه به این که این آنزیم ها از حساس ترین و پرمصرف ترین آنزیم های کبدی بوده و جایگاه اصلی قرار گیری آن ها در داخل سلول های کبدی است و آسیب به غشاء و وقوع مرگ سلولی باعث رها شدن این آنزیم ها به گردش خون می شوند، افزایش سطح این آنزیم ها در خون می تواند نشانه ی از بین رفتن سلول های کبدی و آسیب پذیری بافت کبدی باشد. لذا به نظر می رسد کاهش در تعداد هپاتوسیت ها و پارامترهای دیگر در این مطالعه طبق همین تغییرات در سطح آنزیم ها و تولید رادیکال های آزاد و القای استرس اکسیداتیو صورت گرفته باشد. از دیگر نتایج اثر دیازینون بر کبد افزایش در سلول های کوپفر می‌باشد که با نتایج مطالعات Cakici و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطابقت دارد(۸). اگر افزایش این سلول ها ناشی از اثر سم دیازینون فرض گردد، به نظر می رسد که افزایش سلول های کوپفر با توجه به نقش بیگانه خواری آن ها، ممکن است با هضم آن گروه از سلول های کبدی که در اثر دیازینون از بین رفته اند، ارتباط داشته باشد. از نتایج دیگر این مطالعه اثر حفاظتی عصاره گیاه مریم گلی بر آسیب های ناشی از سم دیازینون بر بافت کبد می باشد که در گروه های حاوی عصاره مانع از ایجاد تغییرات بافت شناسی و تغییر در تعداد هپاتوسیت ها، کوپفر و قطر ورید شده است. مطالعات نشان می دهد که آنتی اکسیدان ها نقش اصلی در جلوگیری از شروع و ادامه واکنش های زنجیره اکسایشی سلول ایفا می کنند و این عمل را از طریق جلوگیری از تولید رادیکال های آزاد و یا جاروب کردن این ترکیبات انجام می دهند. گیاهان سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند و از سالیان دور از متابولیت های ثانویه این گیاهان برای درمان بیماری ها استفاده شده است. گیاه مریم گلی حاوی ترکیبات فنلی تویون ، سینئو و کامفرمی، باشد که خاصیت آنتی اکسیدانی به این گیاه داده است. به دلیل این که عصاره این گیاه دارای فلاونوئیدهای زیادی است می تواند از اثرات استرس اکسیداتیو سم دیازینون در بافت کبد جلوگیری به عمل آورد. هم چنین محققین اعتقاد دارند که متابولیت های ثانویه گیاهان موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می شوند و آثار مطلوبی در جهت کاهش فعالیت اکسیدانی ایفا می‌کنند(۱۷، ۸). با افزایش آنتی اکسیدان ها منجمله ترکیبات گلوکوزیدی و فلاونوئیدی در سلول های کبدی می توان از احتمال کاهش تعداد هپاتوسیت ها در گروه های دریافت کننده دیازینون جلوگیری نمود. در گروه های دریافت کننده عصاره تغییرات بافت شناسی مشاهده نگردید. لذا به نظر می رسد مواد موثره موجود با خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره گیاه مریم گلی مانع از تغییرات بافت شناسی در بافت کبد شده است. لذا به نظر می رسد گیاه مریم گلی با دارا بودن ترکیبات فنلی که یکی از ترکیبات آنتی اکسیدان می باشد با جلوگیری از تولید رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو نقش آنتی اکسیدانی و حفاظتی را در برابر آسیب های ناشی از سم دیازینون در بافت کبد ایفا کند. از نتایج دیگر این مطالعه افزایش معنی دار فاکتورهای مورد بررسی در گروه های تمرینی نسبت به گروه دیازینون می باشد. برخی از محققین بر این باورند که تمرین و ورزش با شدت متوسط با کاهش اکسیژن های واکنش پذیر و رادیکال های آزاد سطح سیستم دفاعی آنتی اکسیدان را ارتقاء می دهد(۲۹). از این رو به نظر می رسد نتایجی که در این مطالعه برای گروه های تمرینی به دست آمد، در همین راستا باشد

که تمرین نقش حفاظتی برای سلول ها در برابر استرس اکسیداتیو دارد و سیستم آنتی اکسیدانی را در بدن موجودات زنده تقویت می کند. برخی از مطالعات نشان می دهد که سیستم آنتی اکسیدانی موجود در بدن گاهی اوقات به تنهایی نمی تواند اثرات حاصل از استرس اکسیداتیو را خنثی نماید لذا به نظر می رسد ترکیبات فعال موجود در گیاهان می تواند در تقویت سیستم آنتی اکسیدانی نقش داشته باشد(۱۴، ۹). با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه به نظر می رسد که عصاره و تمرین به تنهایی و یا به صورت ترکیبی باعث ارتقا سیستم آنتی اکسیدانی در بدن می شود. هم چنین از نتایج چنین استنباط می شود که عصاره و تمرین به صورت ترکیب، اثر مهاری بیشتری بر آسیب های ناشی از دیازینون دارند. لذا به نظر می رسد مواد موثره موجود در عصاره و تمرین باعث بهبود و تقویت سیستم آنتی اکسیدانی بدن می شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام کسانی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند سپاسگزاری می گردد.

منابع

۱–شاه محمدی، ش.، خسروی، م.، حاجی زاده مقدم، ا. ۱۳۹۲. اثر عصاره گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) بر غلظت مالون دی آلدئید در مواجهه با استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی مغزی استرپتوزو توسین در موش-های صحرایی نر. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. دوره ۲۳. شماره۴. ص ۲۲۹–۲۲۵.

۲–فتاحی، ا.، پریور، ک.، جورسرایی، س.غ.، مقدم نیا، ع ا. ۱۳۸۶. بررسی اثر دیازینون بر روی فرآیند اسپرماتوژنزیس درموش سفید کوچک. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان - جلد ۹. شماره ۱(پیاپی ۲۵). ص ۸۲–۷۵.

۳–فتاحی، ا.، جورسرایی، س.غ.، پریور، ک.، مقدم نیا، ع ا. ۱۳۸۶. تاثیر دیازینون بر روی سلول های لایدیگ و سطح هورمون های جنسی در موش سفید کوچک. مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل. دوره ۹. شمارهٔ ۴. ص ۲۲–۱۵.

٤–میردار، ش.م.، رمضان نژاد، ع.ا.، ارزانی، ا.، علی نژاد، م.، حاجی زاده، ا. (۱۳۹۳). اثر یک دوره برنامه تمرینی و کورکومین بر سطح سرمی ایمنوگلوبین A موش های صحرایی در معرض استات سرب. مجله علوم پزشکی گرگان. دوره۱۶. شماره۱(پی در پی ۴۹).ص ۵۴–۴۹.

5.Abdel-Tawab H, M., Tarek MH,H., Enayat Abdel, A.Z. (2012). Physiological and histopathological changes in the liver of male rats exposed to paracetamol and diazinon. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(3); S1683-S1690.

6.Altuntas, I.,Kilinc, I., Orhan, H., Demirel, R., Koylu, H., Delibas, N. (2014). The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. Hum Exp Toxicol, 23(1); 9-13.

7.Ames, B.M., Shigena, M.K., Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Science, 90; 7915-7922.

8.Ozlem, C., Esra., A. (2013). Effects of oral exposure to diazinon on mice liver and kidney tissues: biometric analyses of histopathologic changes. Anal Quant Cytopathol Histpathol, 35(1); 7-16.

9.Cieslak, T.J., Frost, G., Klentrou, P. (2003). Effects of physical activity, body fat and salivary cortisol on mucosal immunity in children. J Appl Physiol, 95(6); 2315-20.

10. olovi , M.B., Vasi , V.M., Avramovi , N.S., Gaji , M.M., Djuri , D.M., Krsti , D.Z. (2015). In vitro evaluation of neurotoxicity potential and oxidative stress responses of diazinon and its degradation products in rat brain synaptosomes.Toxicol Lett, 233(1); 29-37.

11. Esmaeili, M.A., Sonbol, A., Kanani, M.R., Sadeghi, H. , Karimian pour, N. (2010). Evaluation of the effect of *Salvia sahendica* on tissue damages induced by alcohol in oxidative stress conditions in the rat: Effect on liver and kidney oxidative parameters. Pharmaceutical Sciences, 15(4); 315- 322.

12. Fattahi, E., Parivar, K., Jorsaraei, S.G.A., Moghadamnia, A.A. (2009). The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels

and testicular tissue in mice. Iranian Journal of Reproductive Medicine, 7(2); 59-64.
13. Fattahi, E., khoshkafa, A. (2015). Effects of voluntary exercise and *Salvia officinalis* extracton damages of pancreatic tissue inratspois one dwithdiazinon. J Babol Univ Med Sci, 17(8); 48-54.
14. Fattahi, E., Vaseghi, M. (2015). Protective Effect of *Salvia officinalis* on testes tissue damages of rats intoxicated by diazinon. Journal of Medicinal Plants and By-products, 1; 39-43.
15. Gleeson, M., Nieman, D.C., Pedersen, B.K. (2004). Exercise, nutrition and immune function. J Sports Sci, 22(1); 115-25.
16. Gomes, J., Dawodu, A.H., Lloyd, O., Revitt, D.M., Anilal, S.V. (1999). Hepatic injury and disturbed amino acid metabolism in mice following prolonged exposure to organo phosphorus pesticides. Hum ExpToxicol, 18; 33-7.
17. Hohmann, J., Zupkó, I., Rédei, D., Csányi, M., Falkay, G., Máthé, I., Janicsák, G. (1999). Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation. Planta Med, 65(6); 576-8.
18. Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Acikgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y., Kalender, Y. (2005). Diazinon–induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. Toxicology, 211(3); 197-206.
19. Lacasaña, M., López-Flores, I., Rodríguez-Barranco, M., Aguilar-Garduño, C., Blanco-Muñoz, J. (2010). Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. Toxicol Appl Pharmacol, 243(1); 19-26.
20. Limon-Pacheco, J., Gonsebatt, M.E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environ mentally induced oxidative stress. Mutat Res, 674(1-2); 137-47.
21. Abdel-Tawab, H. M., Amel, A. R., Amal, R. (2011). Effect of exposure to mixture of four organophosphate insecticides at No Observed Adverse EffectLevel(NOAEL)dose on rat liver: the protective role of vitamin C. Res.J. nvir. Toxicol, 5; 323-5.
22. Mozafarian, V. (1996). A dictionary of Iranian plant names(Latin English Persian). Tehran: Farhang Moaser Publication, 477- 479.
23. Nicola, E., Durling Owen, J., Catchpole, J.B., Webby, F. (2007). Extraction of phenolics andessential oil from dried sage(*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. Food Chem, 101(4); 1417-24.
24. Osawa, T., Kato, Y. (2007). Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. Ann. NY. Acad. Sci,1043; 440-451.
25. Sarhan, O.M.M., Al-Sahhaf, Z.Y. (2011). Histological and biochemical effects of diazinon on liver and kidney of rabbits. Life Science Journal, 8(4); 1183-1189.
26. Sleven, H., Gibbs, J.E., Heales, S., Thom, M., Cock, H.R. (2006). Depletion of reduced glutathione precedes inactivation of mitochondrial enzymes following limbic status epilepticus in the rat hippocampus. Neurochem Int, 48(2); 75–82.
27. Stadtman, E.R. (2006). Protein oxidation and aging. Free Radic Res, 40(12); 1250-8.
28. Wu, B.J., Kathir, K., Witting, P.K., Beck, K., Choy, K., Li, C., Croft, K.D., Mori, T.A. (2006). Antioxidants protect from atherosclerosis by a hemeoxygenase -1 pathway that is independent of free radical scavenging. J EXP Med, 203(4); 1117-27.
29. Zupkó, I., Hohmann, J., Rédei, D., Falkay, G., Janicsák, G., Máthé, I. (2001). Antioxidant activity of leaves of Salvia species in enzyme-dependent and enzyme-independent systems of lipid peroxidation and their phenolic constituents. Planta Med, 67(4); 366-8.