



بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) بر بافت کبد و عناصر خونی مس، آهن، روی و منیزیم در موش صحرایی نر بالغ

شهرزاد خاکپور^۱، مریم خسروی^{۲*}، معصومه میرزائی^۲، محیا نجاری^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، گروه فیزیولوژی، تهران، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: maryam.khosravi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۶

چکیده

استرس اکسیداتیو بصورت تغییر در تعادل پرواکسیدان و آنتی‌اکسیدان به سمت تشکیل پرواکسیدان تعریف می‌شود که در نهایت باعث بروز بیماری‌های مختلف و آسیب بافتی می‌گردد. در این مطالعه از داروی ایزونیاژید بعنوان یک اکسیدان به منظور تولید رادیکال آزاد استفاده شد و اثر عصاره گیاه مریم گلی بر عناصر خونی مس، آهن، روی و منیزیم مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از ۶۳ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در ۹ گروه ۷ تایی قرار گرفتند. گروه ۱ (کنترل)، گروه ۲ (شاهد دریافت کننده حلال داروی ایزونیاژید یا سرم فیزیولوژی)، گروه ۳ (دریافت کننده داروی ایزونیاژید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان) و گروه‌های ۴، ۵ و ۶ عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان بصورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه‌های ۷، ۸ و ۹: داروی ایزونیاژید را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان به صورت خوراکی (گاواژ) و همزمان عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات به روش تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. مدت تیمار حیوانات ۴ هفته بود. در آخرین روز، خونگیری از قلب حیوانات انجام شد و کبد جهت برش بافتی جدا گردید و میزان عناصر مس، آهن، روی و منیزیم مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی عصاره گیاه مریم گلی باعث افزایش سطح سرمی عنصر روی و مس گردید و کاهش معنی داری در سطح سرمی منیزیم نسبت به عنصرهای دیگر مشاهده شد. با دریافت دارو مقدار آهن افزایش یافت و با تجویز عصاره گیاه مریم گلی سطح آهن کاهش یافت. به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثر ترکیبات تانن و مواد تلخ گیاه را (با سمیت کم و محدود) بیشتر نشان داده است.

کلمات کلیدی: استرس اکسیداتیو، رادیکال آزاد، آنتی‌اکسیدان، گیاه مریم گلی، ایزونیاژید

مقدمه

رادیکال‌های آزاد اگزوزن از فاکتورهای محیطی مانند آلودگی هوا، نور خورشید، ورزش شدید، اشعه ایکس، سیگار، مصرف داروها و الکل ناشی می‌شوند [۵]. اکسیدان‌های مهم شامل سوپراکساید (O_2^-)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، رادیکال پراکسیل (ROO^0) و رادیکال هیدروکسیل (OH^0) می‌باشند [۴ و ۵]. آنتی‌اکسیدان‌ها

مصرف دخانیات یا مواد حاصل از متابولیسم داروها و قرارگرفتن در معرض تشعشعات یونیزه و غیر یونیزه، مواد اکسیدان در بدن تولید می‌کنند. همچنین سلول‌های بدن در طی متابولیسم تعدادی اکسیدان قوی تولید می‌کنند. اکسیدان‌های حاصل از فرآیندهای داخل بدن یا اندوزن در نتیجه تنفس هوازی نرمال و فرآیند التهاب ایجاد می‌شوند و



است. در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشخصه‌ای در افزایش فعالیت روی/مس سوپراکسید دسموتاز (Cu/Zn SOD) وجود دارد. مس از گلبول‌های قرمز در برابر اکسیده شدن محافظت می‌نماید و بدن را در مقابل مواد اکسیدکننده و رادیکال‌های آزاد حفاظت می‌کند. از طرف دیگر یون‌های مس اضافی می‌توانند در رادیکال‌های غیرفعال سبب تبدیل سوپراکسید به هیدروژن پری اکسید و رادیکال‌های فعال هیدروکسیل گردند و در نهایت موجب کاتالیز LDL خون در دیواره‌های شریانی شوند. همچنین مس اضافی می‌تواند باعث افزایش آسیب و ویژگی‌های اکسیداتیو در DNA شود [۱ و ۱۵]. کمبود فلز آهن از یک طرف و تجمع زیاد آهن در بافت‌ها از طرف دیگر با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است. بطوری که افزایش حضور آهن به عنوان یک منبع مهم تولید رادیکال آزاد شناخته شده است. از طرف دیگر مطالعات نشان داده است که در کم خونی فقر آهن میزان استرس اکسیداتیو و همچنین میزان ESOD (آنزیم سوپراکسید دسموتاز در گلبول قرمز) افزایش می‌یابد. علت افزایش استرس اکسیداتیو در کم خونی فقر آهن هنوز کاملاً مشخص نیست. بطور کلی، آهن و فلزات واسطه باعث تحریک پراکسید اسیون چربی‌ها و آسیب غشای سلولی می‌شوند [۱۶، ۱۷، ۱۸]. گلوتاتیون ردوکتاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدان مهم می‌باشد که در این بین نقش مواد معدنی به خصوص منیزیم در عملکرد این آنزیم حائز اهمیت است. منیزیم یک کوفاکتور برای گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز است. کمبود دریافت منیزیم موجب کاهش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز و در نتیجه تسریع در اکسیداسیون پروتئین‌ها در استرس اکسیداتیو می‌شود [۱۹ و ۲۰]. بنابراین این آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و عناصر معدنی کم مقدار مانند روی، مس، آهن، منیزیم، سلنیوم و به دنبال آن کاهش یا افزایش این عناصر در بدن موجب بروز بیماری‌ها و عوارض مختلف از

همانطور که از نامشان پیداست، موادی هستند که قادرند با اثرات مضر اما طبیعی فرآیندهای فیزیولوژیک بافت‌ها مقابله کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد فرآیند اکسیداسیون را متوقف می‌کنند. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان به دو گروه آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم می‌شود [۶]. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی شامل ویتامین‌های A، C، E، پلی‌فنل‌ها، بتاکاروتن‌ها و املاح معدنی از جمله مس، روی، منیزیم و... از بهترین و اصلی‌ترین عوامل تدافعی جهت تنظیم میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن و محافظت سلول تحت شرایط استرس می‌باشند. سیستم دفاعی آنتی-اکسیدان آنزیمی شامل آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشند [۷، ۸ و ۹]. در واقع با افزایش پرواکسیدان‌ها و یا کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها، استرس اکسیداتیو اتفاق می‌افتد [۱۰]. تقریباً در اواسط قرن نوزدهم دانشمندان پی بردند که وجود بعضی از عناصر معدنی در بدن برای ادامه حیات و سلامتی انسان به مقدار مشخصی ضروری است. بطور کلی می‌توان مواد معدنی ضروری بدن را به دو دسته عناصر پرمقدار و کم-مقدار دسته‌بندی کرد. عناصر پرمقدار به عناصری نظیر کلسیم و فسفر گفته می‌شود که بیشتر از ۰/۰۰۵ درصد وزن بدن را تشکیل می‌دهند و عناصر کم مقدار عناصری نظیر آهن، مس، روی، منیزیم و... را می‌توان نام برد که کمتر از ۰/۰۰۵٪ وزن بدن را تشکیل می‌دهند [۱۱]. فلز روی آنتی‌اکسیدانی است که در واکنش‌های استرس اکسیداتیو نقش مهمی دارد و عامل حفظ سلامتی و مبارزه با بیماری‌ها است. فلز روی در افزایش سطح سیستم ایمنی و کارکرد صحیح دستگاه ایمنی نقش مهمی را به عهده دارد. روی عوامل و فلزات سمی وارد شده به بدن را جذب و خنثی می‌کند. عنصر روی کوفاکتور آنزیم آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز است [۱۲ و ۱۳ و ۱۴]. مس یک ماده غذایی ضروری در بدن انسان است. مس هم پرواکسیدان و هم آنتی‌اکسیدان



مواد و روش کار

حیوانات: در این مطالعه تحقیقاتی از نوع تجربی از ۶۳ سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۸۰-۲۲۰ گرم خریداری شده از انستیتو پاستور تهران استفاده گردید. موش‌ها در اطاق حیوانات با دمای کنترل شده 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، واقع در حیوانخانه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران نگهداری شدند. آب و غذای کافی همواره در دسترس حیوانات قرار داشت.

دارو: داروی ایزونیازید برای درمان بیماری سل استفاده می‌شود. دوز بالا و مصرف طولانی‌مدت داروی ایزونیازید باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد در بدن و به دنبال آن موجب استرس اکسیداتیو می‌شود. به منظور القای تولید رادیکال‌های آزاد قرص ۳۰۰ میلی‌گرمی دارو استفاده شد که پس از حل شدن در ۶۰ سی سی سرم فیزیولوژی با دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن حیوانات بصورت خوراکی (گاواژ) به موش‌ها تجویز گشت.

عصاره گیاه مریم گلی: پس از تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به روش پرکولاسیون، عصاره این گیاه با سه دوز ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات بصورت تزریق داخل صفاقی (ip) مورد استفاده قرار گرفت.

گروه‌های مورد آزمایش:

گروه ۱ (کنترل): حیواناتی که آب و غذای کافی دریافت نمودند.

گروه ۲ (شاهد): حیواناتی که سرم فیزیولوژی را به عنوان حلال دارو دریافت نمودند.

گروه ۳: حیواناتی که داروی ایزونیازید را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه‌های ۴، ۵ و ۶: حیواناتی که عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

جمله ناباروری، عقب ماندگی ذهنی، سرطان، کاهش حمل و نقل اکسیژن در گلبول‌های قرمز، کاهش قدرت سیستم ایمنی بدن و غیره می‌شوند. امروزه درمان بیماری‌ها بیشتر از طریق مصرف داروهایی صورت می‌گیرد که منشاء صنعتی دارد و اختصاصاً در آزمایشگاه‌ها تهیه می‌شوند و اثرات آنها نیز در درمان بیماری‌ها موجب توسعه مصرف آنها گردیده است، با این حال چون با مصرف این داروها زیان‌هایی به بدن می‌رسد، روز به روز اهمیت گیاهان دارویی و فرآورده‌های آنها بیشتر مورد توجه قرار گرفته و اعتقاد عمومی درباره استفاده از گیاهان پیوسته تقویت می‌گردد [۲]. یکی از انواع گیاهانی که همواره مورد توجه بوده، گیاه مریم‌گلی با نام علمی *Salvia officinalis* از خانواده نعناع است. از هزار گونه این گیاه حدود هفده گونه آن مختص ایران بوده و رویشگاه اصلی آن در ایران می‌باشد [۲]. مریم گلی گیاهی پرشاخه، به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر است که دارای ظاهری پرپشت می‌باشد. ریشه‌ای به رنگ مایل به قهوه‌ای و ساقه‌های متعدد، منشعب، چهارگوش و پوشیده از کرک دارد [۲]. از گذشته بسیار دور به دلیل خواص دارویی گیاه مریم گلی، مورد استفاده قرار می‌گرفته و در طب سنتی به عنوان ضداسپاسم، ضدعفونی کننده، آرام‌بخش، کاهش‌دهنده قندخون و ضدالتهاب استفاده می‌شده است [۲۱ و ۲۲]. در تحقیقات به عمل آمده وجود برخی از ترکیبات موجود در اسانس گیاه مریم گلی نظیر تویون، سینئول و کامفر را بعنوان ماده موثر در ایجاد خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و احتمالاً ضدسرطان آن می‌دانند [۲۳ و ۲۴]. در این مطالعه اثرات احتمالی آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم گلی بر میزان عناصر مس، آهن، روی و منیزیم در موش بزرگ آزمایشگاهی نر مورد بررسی قرار گرفت.



گروه‌های ۷، ۸ و ۹: حیواناتی که داروی ایزونیازید را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و همزمان عصاره گیاه مریم گلی را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. عصاره گیاه مریم گلی به صورت تزریق داخل صفاقی و داروی ایزونیازید بصورت خوراکی (گاواژ) تجویز گشت. روش خونگیری و برش بافتی: آزمایشات روی حیوانات به مدت ۲۸ روز به طول انجامید، تمام گروه‌ها در پایان روز بیست و هشتم توسط کلروفرم در دسیکاتور بیهوش شدند، پس از بیهوش شدن با سرعت و احتیاط از قلب حیوانات خونگیری انجام گرفت. سپس کبد حیوانات را جهت برش بافتی جدا کرده و پس از شستشو با نرمال سالین در فرمالین ۱۰٪ نگهداری شد. پس از دهیدراته کردن توسط الکل با استفاده از پارافین، قطعاتی با ضخامت ۴ الی ۵ میکرون تهیه شد و برای بررسی پاتولوژیک توسط فتومیکروسکوپ مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون one-way Anova، تست Tukey تجزیه و تحلیل شده و نمودارهای هیستوگرام جهت مقایسه نتایج رسم و مورد بررسی قرار گرفتند. $p \leq 0/05$ از نظر آماری تفاوت معنی دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج حاصل از آزمون‌های عناصر خونی: نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که سطح سرمی روی در گروه دریافت‌کننده داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده گیاه مریم گلی به ترتیب با سه دوز ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات نسبت به گروه کنترل و شاهد افزایش داشته است. سطح این عنصر در گروه تجربی دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان

با ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده داروی ایزونیازید کاهش نشان می‌دهد (نمودار ۱). نمودار ۲ نشان می‌دهد که سطح سرمی عنصر مس در گروه دریافت‌کننده ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل کاهش و در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش داشته است.

سطح مس سرم در گروه دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن توام با ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیشترین افزایش معنی‌دار را نسبت به گروه کنترل و دریافت‌کننده ایزونیازید نشان می‌دهد.

نمودار ۳ افزایش در سطح منیزیم گروه دریافت‌کننده ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد و گروه دریافت‌کننده عصاره گیاه مریم گلی با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیشترین کاهش سطح سرمی منیزیم را نسبت به کنترل و شاهد دارد. همچنین گروه‌های دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کمترین مقدار سطح منیزیم را نسبت به گروه‌های کنترل و ایزونیازید نشان می‌دهد.

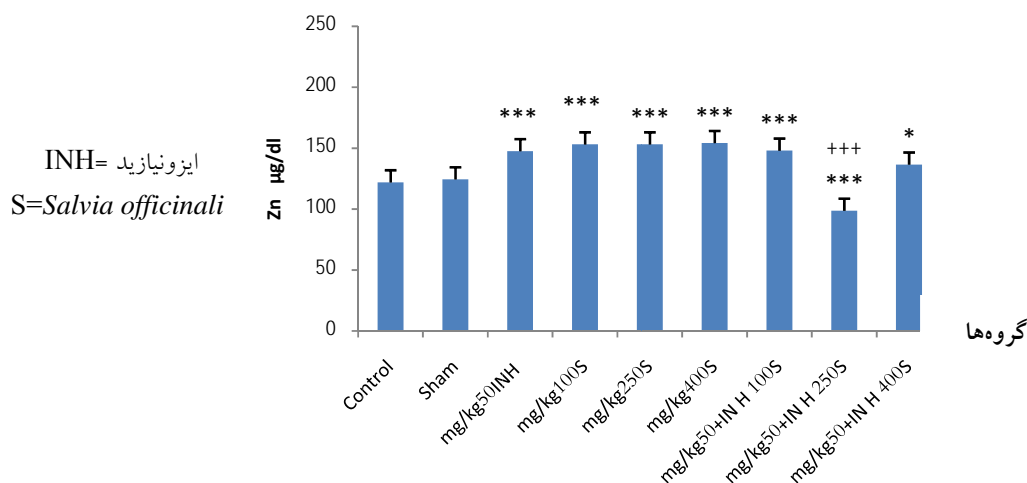
نمودار ۴ نشان می‌دهد که سطح آهن سرم در گروه دریافت‌کننده ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش و در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است. سطح آهن سرم در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده گیاه مریم گلی با دوزهای ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با ایزونیازید با دوز ۵۰



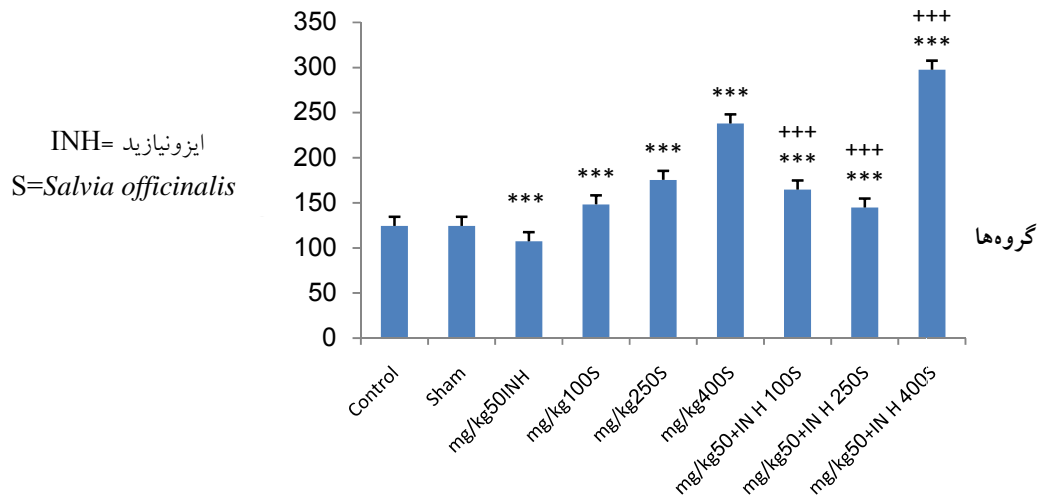
نمودند، نکرز شدید در بافت و التهاب ورید مرکزی و لنفوسیت‌ها مشاهده شد (شکل ۲). در گروه تجربی که روزانه عصاره گیاه مریم گلی را با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند، اتساع ملایمی در ورید مرکزی و سینوزوئیدها دیده شد (شکل ۳). در گروه تجربی که دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات عصاره گیاه مریم گلی را همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان دریافت کردند، تغییرات آسیب‌شناسی کبد منحصر به اتساع بسیار کمی از سینوزوئیدها بود (شکل ۴، دوز موثر).

میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده داروی ایزونیازید نشان می‌دهد.

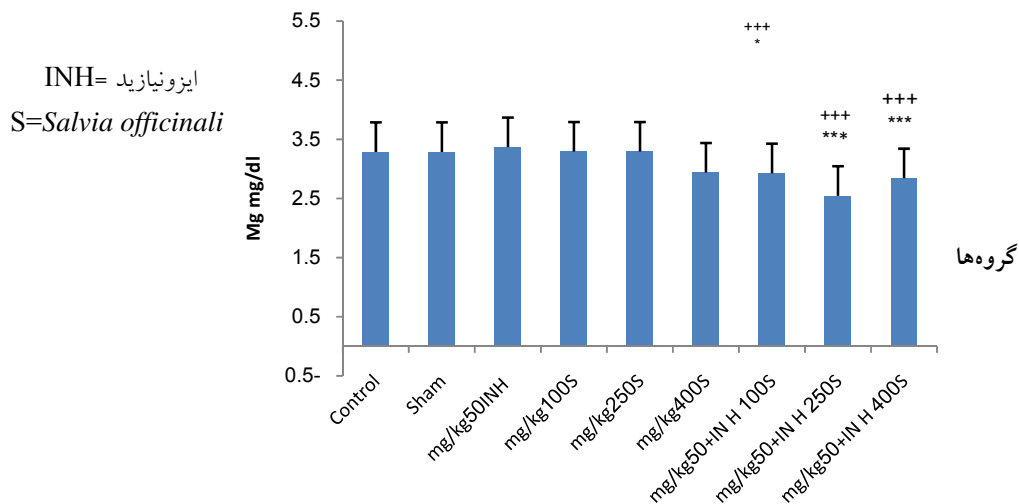
نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژی کبد: به منظور بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی روی کبد موش‌ها، پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، تغییرات آسیب‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفت و با کبد موش‌های سالم (شکل ۱) مقایسه گردید که نتایج آن بدین شرح است: در گروه تجربی که به مدت ۲۸ روز داروی ایزونیازید را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات دریافت



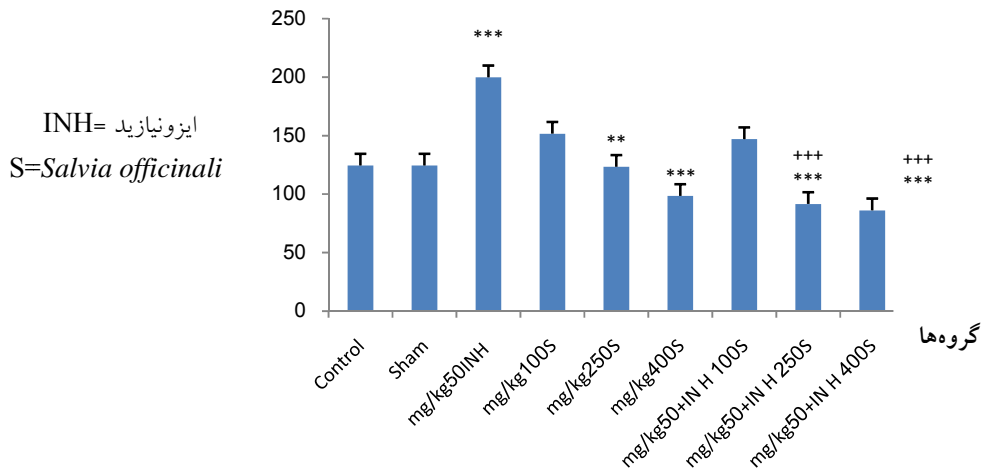
نمودار ۱- نتایج میزان روی سرم خون، حاصل از دریافت خوراکی داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل و شاهد. دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه دریافت‌کننده داروی ایزونیازید و گروه کنترل (علامت * برای مقایسه با گروه کنترل و علامت + برای مقایسه با گروه ایزونیازید می‌باشد). $n=7$ $p \leq 0/05$ $p \leq 0/001$ ***



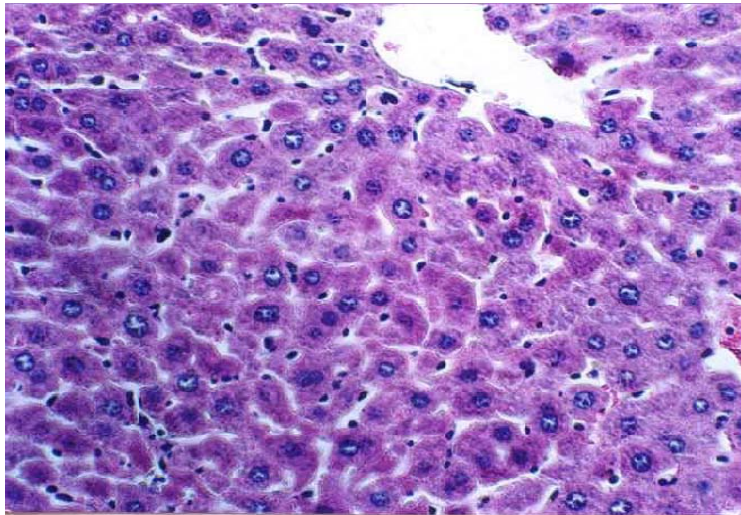
نمودار ۲- نتایج میزان مس سرم خون، حاصل از دریافت خوراکی داروی اینونیاژید با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل و شاهد. دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی اینونیاژید با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه دریافت کننده داروی اینونیاژید و گروه کنترل
***p≤0/001 **p≤0/01 n=7



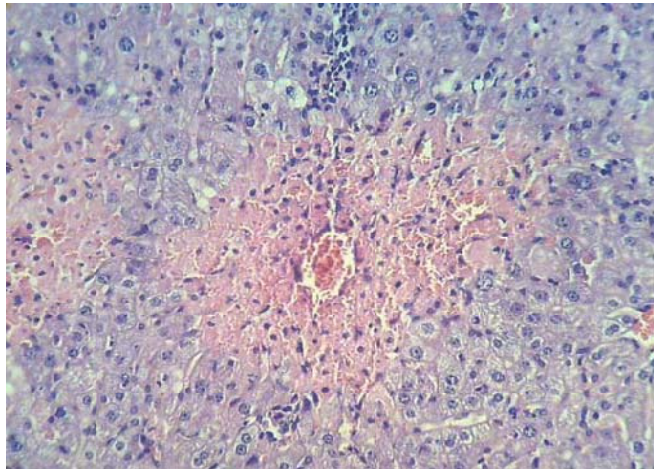
نمودار ۳- نتایج میزان منیزیم سرم خون، حاصل از دریافت خوراکی داروی اینونیاژید با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل و شاهد. و دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی اینونیاژید با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه دریافت کننده داروی اینونیاژید و گروه کنترل
*p≤0/05 ***p≤0/001 n=7



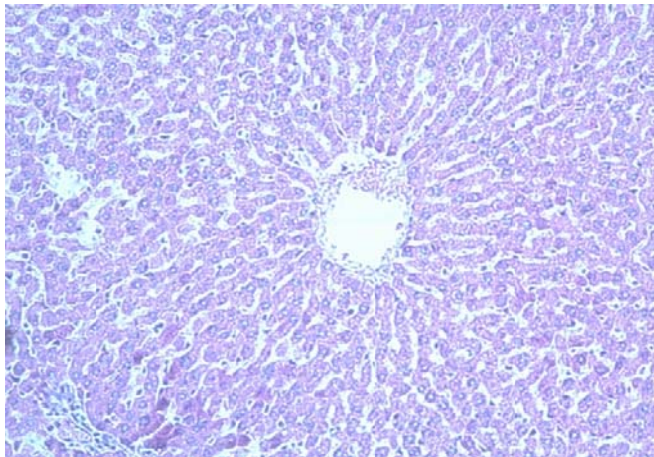
نمودار ۱- نتایج میزان آهن سرم خون، حاصل از دریافت خوراکی داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه کنترل و شاهد. دریافت عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به ترتیب با دوزهای ۲۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همزمان با داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه دریافت کننده داروی ایزونیازید و گروه کنترل $**p \leq 0/01$ و $***p \leq 0/001$ n=7



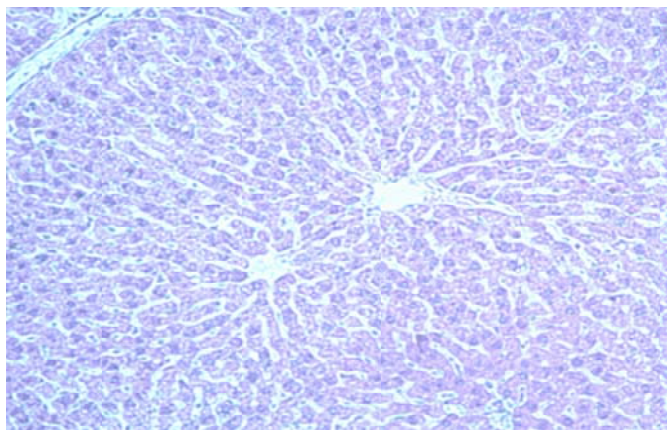
شکل ۱- نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های کنترل رنگ شده با H&E (بزرگنمایی ۴۰۰×)



شکل ۲- نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های دریافت کننده داروی ایزونیاژید رنگ شده با H&E (بزرگنمایی ۲۰۰×)



شکل ۳- نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های دریافت کننده عصاره مریم گلی با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم رنگ شده با H&E (بزرگنمایی ۲۰۰×)



شکل ۴- نمای هیستوپاتولوژی کبد رت‌های دریافت کننده داروی ایزونیاژید + عصاره مریم گلی با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم رنگ شده با H&E (بزرگنمایی ۲۰۰×)



بحث

و آهن دو عنصری هستند که هم بعنوان پرواکسیدان و هم آنتی‌اکسیدان در بدن شناخته شده‌اند. عنصر مس در فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان مس/روی سوپراکسید دسموتاز می‌گردد و از طرف دیگر یون‌های مس اضافی در بدن موجب تبدیل سوپر اکسید به هیدروژن پری اکسید و رادیکال‌های فعال هیدروکسیل می‌گردند که موجب پراکسیداسیون غشای سلولی و تخریب بافت می‌شوند [۱۵]. کمبود فلز آهن در کم خونی فقر آهن و افزایش آهن به عنوان یک منبع مهم تولید رادیکال آزاد شناخته شده است که هر دو عامل باعث آسیب و مرگ سلولی می‌شود [۱۷ و ۱۸]. عنصر منیزیم نیز یک کوفاکتور مهم برای آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. با کاهش و یا افزایش این عنصر، در سیستم دفاعی بدن اختلال ایجاد می‌گردد [۱۹]. دریافت مقدار مناسب عناصر معدنی در روز، عدم نقصان جذب هر یک به واسطه کاهش و یا افزایش عناصر دیگر در بدن و استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدان طبیعی به کارکرد صحیح سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن، جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن از بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان و هپاتیت کمک می‌کند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ایزونیازید موجب بروز اختلال در سطح سرمی عناصر شده است. بطوری که سبب افزایش سطح سرمی روی و آهن گردید و سطح سرمی مس و منیزیم را کاهش داد. بنابراین ممکن است افزایش آهن و روی خون سبب کاهش جذب و کمبود مس و منیزیم شده باشد. با اختلال در میزان عناصر فلزی خون به احتمال زیاد عملکردهای سیستم ایمنی، تکثیر سلولی، عملکردهای آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها از جمله سیتوکروم اکسیداز، سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، تعداد گلبول‌های قرمز و انرژی سلولی مختل می‌شود که نهایتاً موجب استرس اکسیداتیو می‌گردد. برهمکنش دو عنصر آهن و روی در مرحله جذب روده‌ای در حیوانات

موجودات زنده سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده و گسترده‌ای جهت مقابله با گونه‌های فعال رادیکال آزاد و کاهش اثرات تخریبی آنها دارند. سیستم دفاعی آنزیمی سوپر اکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و سیستم دفاعی غیرآنزیمی ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در مواد غذایی نظیر ویتامین‌های A/E/C، پلی‌فنل‌ها، کاروتن‌ها و عناصر معدنی مس، روی، منیزیم می‌باشد که مهمترین و اصلی‌ترین سیستم‌های تدافعی بدن جهت تنظیم میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن و محافظت سلول تحت شرایط استرس اکسیداتیو می‌باشند [۷ و ۸]. بسیاری از داروهای شیمیایی دارای عوارض جانبی‌اند. داروی ایزونیازید (INH) که برای درمان سل مورد استفاده قرار می‌گیرد، آنزیم سیتوکروم P450 را مهار می‌کند. سیتوکروم P450 هموپروتئینی است که به فراوانی در بافت‌های گیاهی و جانوری یافت می‌شود و همانند اکسیداز انتهایی عمل می‌کند. با تجویز ایزونیازید کبد این دارو را استیله می‌نماید. متابولیت استیله ایزونیازید پس از آن که توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 کبدی متابولیزه می‌گردد به یک ماده واسطه تبدیل می‌شود که به صورت رادیکال آزاد عمل می‌کند. بر روی کبد اثر سمی می‌گذارد و موجب بروز آسیب کبدی و هپاتیت می‌گردد [۲۵]. در این مطالعه از داور ایزونیازید برای القای استرس اکسیداتیو استفاده شد. رادیکال‌های آزاد فعال اکسیژن با اثرات سمی خود موجب اختلال در کارکرد صحیح سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و عناصر معدنی بدن می‌شوند و در نهایت این اختلالات موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و به دنبال آن تخریب سلولی می‌شود. با افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد و تخریب سلول‌ها آسیب‌های بافتی و بیماری‌ها اتفاق می‌افتد. عنصر روی آنتی‌اکسیدانی است که در واکنش‌های استرس اکسیداتیو نقش مهمی دارد و عوامل سمی وارد شده به بدن را جذب و خنثی می‌کند [۱۲]. همچنین فلزات مس



همواره مورد توجه بوده است. در این مطالعه از عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) در سه دوز ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات استفاده شد تا اثرات احتمالی آنتی اکسیدانی این گیاه بر عناصر مس، روی، آهن و منیزیم مورد بررسی قرار گیرد.

به نظر می رسد در تحقیق حاضر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثر ترکیبات تانن و مواد تلخ (با سمیت کم و محدود) بیشتر نشان داده است. مصرف طولانی مدت بیش از ۱۵ گرم در روز مریم گلی در انسان دارای اثرات سمی با عوارض جانبی مانند سردرد، سرگیجه، افزایش ضربان قلب و تهوع می باشد. محققین این تاثیر سمی را به تانن، مواد تلخ و توپون موجود در گیاه مریم گلی نسبت داده اند [۳]. به نظر می رسد مصرف توپون وابسته به دوز است، بطوری که در دوزهای کمتر از ۱۵ گرم دارای خواص آنتی اکسیدانی و در دوزهای بالای ۱۵ گرم دارای خواص سمی می باشد. این گیاه به صورت دم کرده می باشد.

نتیجه گیری

در تحقیق حاضر از عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی استفاده شده است. بنابر این یک احتمال آن است که با افزایش و یا کاهش هریک از عناصر معدنی در جذب عناصر دیگر نقصان ایجاد شده است و دیگر این که احتمالاً غلظت مواد فنلی این گیاه در عصاره هیدروالکلی بیشتر از عصاره آبی آن می باشد و از آنجایی که توپون نیز یکی از مواد فنلی موجود در این عصاره است ممکن است با غلظت بیشتری نسبت به عصاره آبی در آزمایشات ما اثر داشته باشد. در نتیجه بجای خواص آنتی اکسیدانی، خواص سمی این ماده و سایر موادی که احتمالاً هنوز خواص سمی آنها در عصاره هیدروالکلی شناسایی نشده اند، مشاهده گردیده است.

آزمایشگاهی با استفاده از عناصر رادیو ایزوتوپ و انتشار روده ای به اثبات رسیده است [۲۶]. دریافت اضافی مکمل آهن ممکن است در جذب روده ای یا انتقال پلاسمایی سایر عناصر دو ظرفیتی موجود در مواد غذایی از جمله روی دخالت داشته باشد. بنابراین افزایش آهن با نقصان جذب روی همراه می شود [۲۶ و ۲۷]. مس پس از آهن و روی، مهمترین ریز مغذی موجود در رژیم غذایی انسان محسوب می گردد. اصلی ترین عامل ارتباطی بین متابولیسم مس و آهن در انسان، سرولوپلاسمین است [۲۸].

سرولوپلاسمین مهمترین پروتئین حاوی مس بدن و یک فرواکسیداز است که جهت آزاد سازی آهن از بافت ها و انتقال آن ضروری است. عامل دیگر ارتباط بین آهن و مس وجود حاملان مشترک روده ای است. آهن و مس برای اتصال به حامل فلزات دو ظرفیتی، در لبه بروسی سلول های آنتروسیت روده، رقابت می کنند. به نظر می رسد در کم خونی فقر آهن، بیان این حامل مشترک و همچنین جذب روده ای مس و سرولوپلاسمین خون، افزایش می یابد [۲۸ و ۲۷]. مس و روی نقش مهمی در واکنش های متفاوت بیوشیمیایی بدن دارند و کوفاکتور سوپراکسید دسموتاز هستند. این فلزات از شروع و پیشرفت بیماری های مختلف از طریق محافظت سلول در برابر موادی که موجب تشکیل رادیکال های آزاد می شوند، جلوگیری می کنند. از طرفی افزایش مصرف زیاد روی در روز سبب کمبود مس می شود [۱۵]. منیزیم نیز کوفاکتور آنزیم آنتی اکسیدان کاتالاز است و همانند روی با افزایش دریافت اضافی آهن در جذب منیزیم نقصان ایجاد می شود. بنابراین دریافت دوز مناسب هر یک از عناصر معدنی در روز به عمل جذب و واکنش های متابولیکی بدن کمک می کند، در غیر این صورت اختلال در یک عنصر ممکن است باعث نقصان جذب عنصر دیگر شود [۲۹]. در سال های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به دلیل عوارض کمتر و دارا بودن ترکیبات فعال آنتی اکسیدانی



.Experimental models of diabetes Boca Raton: CRC Press; P: 3-14.

7- Murray R.K., DK. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell (1996), Harper's Biochemistry, 24 th Edition, California; Appleton and Lange, pp: 592-593.

8- Anderson H.R., J.B. Nielsen, F. Nielsen (1997), Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*, 43: 562-568.

9- Gutteridge J.M.C. (1994), Antioxidants, nutritional Supplements and life threatening disease. *British Journal of Biomedical Science*, 51: 288-295.

10- Halliwell B. (1994), Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, case of consequence. *The lancet*, 344: 721-724.

11- Gutbrie H. (1986), Introductory Nutrition. 6th ed. USA: Mosby, 1986: 184-87.

12- Sulgueiro M.J., Marcela B.Z., Lysionek A.E., Caro R.A. , Well R., Boccio J.R. (2002), The role of zinc in the growth and development of children. *Nutrition Journal*, 18: 510-519.

13- Ali H., M. Ahmed, M. Ali (2007), Relationship of zinc concentrations in blood and seminal plasma with various semen parameters in infertile subjects. *Pakistan Journal of Medicine*, 23(1): 111-114.

14- Chrapil M. (1973), New aspects in biological role of zinc; a stabilizer of macromolecules and biological membrane. *Life Science*, 13(8):1041-1049.

15- Saner G., S.V. Baysal, E. Unuvar (2000), Serum zinc, copper levels and copper/zinc ratios in infants with sepsis syndrome.

در نهایت مشخص شد که ممکن است عصاره هیدروالکلی (۸۰ درصد الکل، ۲۰ درصد آب) گیاه مریم گلی با دوزهای مذکور بر عناصر فلزی خون اثرات مضر داشته باشد. پیشنهاد می‌گردد که در تحقیقات بعدی برای مشاهده خواص آنتی-اکسیدانی ترکیبات فنلی (ماده موثر تیون) گیاه مریم گلی از عصاره هیدروالکلی با درجه الکل کمتر و یا دوزهای پائین‌تر استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- ثنائی، غ. ۱۳۵۸. سم شناسی صنعتی. جلد ۱، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، صفحه ۲۴۵.

۲- زرگری، ع. ۱۳۶۹. گیاهان دارویی. جلد چهارم، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، صفحات ۵۹-۶۴.

۳- امیری زاده، م.، مهرزادی س. ۱۳۸۸، بررسی خواص دارویی اثرات سمی و گیاه مریم گلی. [همایش دانشجویی دکتری-کاربرد گیاهان دارویی در ایران]. دانشگاه داروسازی جندی شاپور اهواز.

4- Goldberg D.M., R.J. Spooner, H.U. Bergmeyer (1983), Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, 3: 258-286.

5- Guemouri L.A., B. Herberth (1991), Biological variability of super oxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical Chemistry*, 37: 1932-1937.

6- Rodrigues B., D. Poucheret (1999), Streptozotocin induced induction mechanism and dose dependency. In: Mc Neills JH



- 23- Piccaglia R., M. Marotti, V. Dellacecca (1997), Effect of planting density and harvest date on yield and chemical composition of sage oil. *Journal of Essential Oil Research*, 9: 187-191.
- 24- Carta C.M., D. Moretti, A.T. Peana (1996), Activity of oil salvia officinalis Botrytis cinerea. *Journal of Essential Oil Research*, 8: 399-404.
- 25- Katzung G. (2002), Basic and clinical pharmacology. eighth Edition MC-GrawHil.
- 26- Tietz N., N.V. Bhagavan, W. Caraway, B.Conn Rex, J. kachmar, E. Praden (1999), editors. Textbook of clinical chemistry. 4th ed; united state of America. Saunders Company.
- 27- Tennat J., M. Stansfield, S. Yamaji, S.K. Svai, P. Sharp (2002), Effects of copper on the expression of metal transporters in human intestinal caco – 2 cells. *FEBS Letter*, 527(1-3): 239-44.
- 28- Arredondo M., P. Munoz, C.V. Mura, M.T. Nunez (2003), A physiologically relevant apical cu¹⁺ transporter of intestinal cells. *American Journal of Physiology and Cell Physiology*, 284: c1525-c1530.
- 29- Vicario P.P., R. Saperstein, A. Benn (1988), Role of divalent metals in the activation, and regulation of insulin receptor tyrosine kinase. *Biosystems*, 22: 55-66.
- Journal of Trace Elements and Experimental Medicine*, 13: 265-270.
- 16- Gotz M.E., G. Kuning, P. Riederer, M.B. Youdim (1994), Oxidative stress: Free radical production in neural degeneration. *pharmacol ther*; 63: 37-122.
- 17- Chen O., K.L. Schalinska, R.S. Eisenstein (1997), Dietary Iron intake Modulates the activity of iron regulatory proteins and the abundance of ferritin and mitochondrial aconites in rat. *Journal of Nutrition*, 127: 238-248.
- 18- Niki E. (1991), Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54:119-124.
- 19- Durlach J., V. Durlach Bacp, Y. Rayssiguier, M. Bara, A. Guiet–Bara (1993), Magnesium and ageing. II. Clinical data: aetiological mechanisms and pathophysiological consequences of magnesium deficit in the elderly. *Magnes Research*, 6: 379-394.
- 20- Dickens B.F., W.B. Weglicki, Y.S. Li, T. Maki (1992), Magnesium deficiency in vitro enhances free radical – induced in tracellular oxidation and cytotoxicity in endothelial cells. *FEBS letter*, 311: 187-191.
- 21- Bremness L. (1994), Herbs. Dorling Kindersley, UK, 304 p.
- 22- Ortiz E.L. (1996), Encyclopedia of Herbs, spices and Flavouring. Dorling Kindersley ,UK, 288 P.