"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2020.670355

Protective effect of *Descurainia sophia* ethanolic extract on antioxidant enzyme levels in carbon tetrachloride induced liver damage of Wistar rats

Mahlouji, M.[1], Eidi, A.[2*], Mortazavi, P. [3], Oryan, Sh.[4]

1- MSc of Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3- Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4- Professor, Faculty of Biological Science, Kharazmi University, Tehran, Iran.
*Corresponding author's email: eidi@srbiau.ac.ir
(Received: 2022\10\12 Accepted: 2023\2\20)

Abstract
Various studies have shown the anti-inflammatory and anti-oxidant effects of *Descorainia sophia*. The purpose of this study was to evaluate the hepatoprotective ability of *Descorainia sophia* ethanolic extract in liver damage induced by carbon tetrachloride in male Wistar rats. In this experimental study, 60 male Wistar rats were randomly divided into 10 groups of 6 consisting of normal control, intoxified control (intraperitoneal injection of 0.5 ml/kg of carbon tetrachloride), normal experimental (*Descorainia sophia* ethanolic extract at doses of 10, 50, 100 and 200 mg/kg via intragastric gavage) and intoxified experimental (intraperitoneal injection of 0.5 ml/kg of carbon tetrachloride and *Descorainia sophia* ethanolic extract at doses of 10, 50, 100 and 200 mg/kg via intragastric gavage). After 28 days, the levels of antioxidant enzymes viz. superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and level of malondialdehyde in liver homogenate were evaluated. Data were analyzed using one-way ANOVA and the Tukey post hoc test with statistical significance defined as $p<0.05$. Our results showed that administration of carbon tetrachloride significantly decreased the levels of antioxidant enzymes and increased the level of malondialdehyde in the intoxified control group in comparison to normal control group ($p<0.001$). Also, the administration of *Descorainia sophia* ethanolic extract significantly increased the levels of antioxidant enzymes and decreased the level of malondialdehyde in the liver of intoxified experimental groups in comparison with the intoxified control group ($p<0.05$) in a dose dependent manner. The results of the study indicated that *Descorainia sophia* removes free radicals and reduces oxidative stress caused by carbon tetrachloride in hepatic tissue of rats probably due to its flavonoid compounds.
Conflict of interest: None declared.
Keywords: Carbon tetrachloride, *Descorainia sophia*, Hepatoprotection, Liver toxication, Rat.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2020.670355

اثر محافظتی عصاره اتانولی خاکشیر (*Descurainia sophia*) بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مسمومیت کبدی القاءشده توسط تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی

محبوبه محلوجی[۱]، اکرم عیدی[۲*]، سیدپژمان مرتضوی[۳]، شهربانو عریان[۴]

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳- دانشیار گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴-استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: eidi@srbiau.ac.ir
(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۷/۲۰ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۲/۱)

چکیده

در مطالعات گوناگون اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی گیاه خاکشیر اثبات شده است. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی اثرات محافظتی عصاره خاکشیر در آسیب کبدی ناشی از تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بود. در این مطالعه تجربی، تعداد ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۱۰ گروه ۶تایی تقسیم شدند که شامل گروه‌های: کنترل سالم، کنترل مسموم (تزریق داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن تتراکلریدکربن)، تجربی سالم (گاواژ عصاره اتانولی خاکشیر با دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، تجربی مسموم (تزریق داخل صفاقی تتراکلریدکربن ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن و گاواژ عصاره اتانولی خاکشیر ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بودند. در پایان ۲۸ روز (مدت زمان آزمایش)، سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز و میزان مالوندی‌آلدئید در هموزنات کبدی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی بررسی و ملاک اختلاف آماری معنی‌دار، $p< ۰/۰۵$ بود. تتراکلریدکربن باعث کاهش معنی‌دار میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش معنی‌دار میزان مالوندی‌آلدئید در بافت کبد گروه کنترل مسموم نسبت به گروه کنترل سالم شد ($p<۰/۰۰۱$). همچنین تیمار با عصاره خاکشیر به‌صورت وابسته به دوز، باعث افزایش معنی‌دار سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش معنی‌دار میزان مالوندی‌آلدئید در بافت کبد گروه تجربی مسموم نسبت به گروه کنترل مسموم گردید ($p<۰/۰۵$). نتایج مطالعه نشان داد گیاه خاکشیر احتمالاً به‌واسطه ترکیبات فلاونوئیدی خود باعث حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن در بافت کبد موش صحرایی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تتراکلریدکربن، مسمومیت کبدی، خاکشیر، حفاظت کبدی، موش صحرایی.

مقدمه

کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن است که در تنظیم بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک دخیل می‌باشد. هرگونه اختلال در عملکرد کبد باعث ایجاد مجموعه‌ای از مشکلات می‌شود که می‌تواند صدمات جبران‌ناپذیری را به این عضو وارد نماید. عواملی مثل استرس اکسیداتیو، رادیکال‌های آزاد، الکل، مواد شیمیایی، ویروس‌ها و داروها می‌توانند باعث تخریب بافت کبدی شوند (Mokhtari *et al*., 2008). بیماری کبدی به وضعیتی اطلاق می‌شود که منجر به القای آسیب یا التهاب در بافت کبد شده و عملکرد کبد را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Zakim and Boyer, 1990). یکی از اختلالات کبدی فیبروز است که در اثر تجمع بیش از اندازه پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی مثل کلاژن اتفاق می‌افتد و در اکثر بیماری‌های مزمن کبدی دیده می‌شود (Ginès *et al*., 2004). همچنین هنگامی که سلول‌های پارانشیمی کبد از بین می‌روند، بافت فیبروزی جایگزین شده و دور عروق خونی را فرا می‌گیرد و بدین ترتیب جریان خون باب از طریق کبد را به شدت کاهش می‌دهد که به این اختلال، سیروز کبدی (cirrhosis of the liver) می‌گویند. در واقع بیماری سیروز کبدی، مقاومت در مقابل جریان خون را به شدت افزایش می‌دهد (Guyton and Hall, 2016).

رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌هایی هستند که حاوی یک یا چند الکترون جفت نشده هستند. این حالت فعالیت شیمیایی یک اتم یا مولکول را تغییر داده و آن را فعال‌تر می‌سازد. رادیکال‌های آزاد به علت وجود الکترون تک دائماً در بدن در حال گردش هستند و آسیب‌های فراوانی را به ماکرومولکول‌های بدن جانداران همانند DNA، پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها وارد می‌سازند (Ranjbar *et al*., 2007; Halliwell, 2012).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش حیاتی و مهمی را در حفظ هومئوستازی سلول بازی می‌کنند. سیستم آنتی‌اکسیدانی بسیاری از موجودات دربردارنده آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase; SOD)، کاتالاز (catalase; CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase; GPX) می‌باشد که به عنوان خنثی‌کننده اشکال اکسیژنی عمل می‌کنند (Aquino *et al*., 2001; Ahmad *et al*., 2002). همچنین مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde; MDA) به عنوان نشانگر اصلی برای ارزیابی سطوح پراکسیداسیون لیپید در سلول مطرح می‌باشد (Cho *et al*., 2013). تیواستامید، تتراکلرید کربن، اتانول و استامینوفن از جمله موادی هستند که بعد از ورود به بدن توسط آنزیم‌های سیستم سم‌زدایی سیتوکروم P_{450} متابولیزه می‌شوند (Ledda- Columbano *et al*., 1991). تتراکلریدکربن در شیمی و صنعت به عنوان حلال صنعتی، ماده پاک‌کننده روغنی و ماده تمیزکننده کاربرد فراوان دارد و از طرف دیگر به عنوان ماده سمی قوی برای کبد محسوب می‌شود (Soni *et al*., 2008). در طی متابولیسم تتراکلرید کربن، دو ترکیب سمی تری‌کلرومتیل (CCl_3^o) و پراکسی‌تری‌کلرومتیل ($OOCCl_3^o$) تولید می‌شود که موجب بروز صدمات حاد کبدی ازجمله سیروز و نکروز می‌گردند (Ahmed *et al*., 2002).

خاکشیر (*Descuriania sophia*) گیاه علفی یکساله یا دوساله و از تیره شب‌بو (Brassicaceae)

می‌باشد. خاکشیر معمولی دارای ریشه‌های مستقیم و شاخه‌های زیاد به طول بین بیست تا یک‌صد سانتی‌متر و دارای دانه‌های قرمز رنگ و مستطیل شکل می‌باشد. یک سطح آن محدب و سطح دیگر آن شیاردار است. وقتی دانه‌های خاکشیر در آب قرار می‌گیرند، توسط یک لایه موکوسی شفاف احاطه می‌شوند (Zargari, 1990; Barnes *et al*., 2007).

این گیاه حاوی مقداری گلوکز اینولات در قسمت‌های مختلف، فلاونوئید و بتاسیتوسترول می‌باشد. بررسی‌های فیتوشیمیایی خاکشیر، حضور اسیدهای چرب، آلکان‌های مختلف، برخی ترکیبات فنلی و همچنین ترکیبات حاصله از هیدرولیز آنزیمی و گلوکز اینولات‌ها را نشان می‌دهد. همچنین گیاه خاکشیر منبعی غنی از عناصر کمیاب آهن، روی، منگنز و مس می‌باشد (Zhongfeng, 2007). آثار درمانی گسترده‌ای از جمله خلط‌آوری، محرک و نیروبخش‌بودن، تقویت‌کننده قلب و اثرات ضد انگلی برای این گیاه ذکر شده است (Duke, 1985; Williams *et al*., 1999). جزء فلاونوئیدی خاکشیر دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، زداینده رادیکال آزاد، پیشگیری از بیماری مزمن عروق کرونری و فعالیت ضدسرطانی می‌باشد (Yao *et al*., 2004).

فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات فنلی هستند که به طور مستقیم می‌توانند گونه‌های مولکولی اکسیژن فعال شامل سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل، اکسیژن مجزا یا رادیکال پراکسید را از بین ببرند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مذکور عمدتاً مربوط به توانایی آن‌ها در ارائه الکترون‌ها یا اتم‌های هیدروژن می‌باشد (Michalak, 2006). فلاونوئیدهای پلی‌فنل در تمام قسمت‌های گیاهان دارویی حضور دارند (Rajesh *et al*., 2013)، که بسیاری از این ترکیبات به عنوان جاذب قوی گونه‌های اکسیژن فعال، با توجه به حضور گروه‌های فنلی هیدروکسیلی در آن‌ها گزارش شده‌اند (Wojtaszek, 1997).

بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره اتانولی دانه گیاه خاکشیر بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) در بافت کبد موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار سالم و مسموم شده توسط تتراکلریدکربن بود.

مواد و روش‌ها

- **تهیه عصاره دانه گیاه خاکشیر**: دانه خاکشیر از عطاری در تهران به مقدار لازم خریداری شده و پس از شستشو و خشک کردن کامل آن در شرایط سایه، به وسیله آسیاب (IKA، آلمان) کاملاً پودر گردید. پودر خاکشیر با اتانول ۸۰ درجه مخلوط و در ظرفی مناسب به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه شیکر (IKA، آلمان) قرار گرفت. در ادامه مخلوط حاصله پس از عبور از صافی، به داخل بالن مخصوص روتاری منتقل و به مدت حدود یک ساعت در دستگاه روتاری (Heidolph، آلمان) قرار داده شد. سپس عصاره حاصله در پلیت‌های وزن‌شده ریخته شد و در دستگاه انکوباتور خشک گردید (Mehrparvar *et al*., 2018). در نهایت توسط مخلوط کردن عصاره خشک خاکشیر با آب مقطر، دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره مذکور تهیه گردید (Moshaie-Nezhad et al., 2018).

- **حیوانات مورد آزمایش**: به منظور انجام این مطالعه تجربی، تعداد ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار

با وزن حدود ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری و به محل نگه‌داری حیوانات در آزمایشگاه رازی واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی در تابستان ۱۳۹۷ منتقل گردید. موش‌ها به طور تصادفی به ۱۰ گروه ۶تایی تقسیم شدند و در شرایط مناسب با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد نگه‌داری شدند. آب و مواد غذایی مخصوص موش‌ها به صورت برابر در دسترس تمامی گروه‌های مورد آزمایش قرار گرفت. همچنین تمام مراحل آزمایش برای همه گروه‌ها، با رعایت کامل موازین اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

- **گروه‌بندی و نحوه تیمار حیوانات مورد آزمایش:** حیوانات به صورت تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند:

گروه اول (کنترل سالم): بر روی موش‌های این گروه هیچ تیماری صورت نگرفت.

گروه دوم (کنترل مسموم): در مورد موش‌های این گروه دو بار در هفته تزریق داخل صفاقی تتراکلریدکربن (Merck، آلمان) ۵۰ درصد (رقیق شده با روغن (لادن طلایی، شرکت صنعتی بهشهر، ایران) به نسبت ۱:۱ با دوز ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن (در مجموع ۸ بار تزریق) انجام شد (Suzek *et al.*, 2016).

گروه‌های سوم تا ششم (تجربی سالم): موش‌های این گروه‌ها روزانه عصاره اتانولی خاکشیر را به‌ترتیب در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌شکل گاواژ دریافت کردند (Moshaie-Nezhad *et al.*, 2018).

گروه‌های هفتم تا دهم (تجربی مسموم): در این گروه‌ها تزریق داخل صفاقی تتراکلریدکربن ۵۰ درصد (رقیق شده با روغن به نسبت ۱:۱) به صورت ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن دو بار در هفته انجام شد و همراه با آن موش‌ها عصاره اتانولی خاکشیر را به ترتیب در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت روزانه از طریق گاواژ دریافت کردند. لازم به ذکر است که مدت زمان تیمار حیوانات ۲۸ روز انجام شد.

- **جمع‌آوری هموژنات بافتی:** پس از پایان دوره آزمایش و ناشتا نگه داشتن به مدت ۱۲ ساعت پس از آخرین تیمار، موش‌ها در داخل دسیکاتور به وسیله اتر (پارس شیمی، ایران) بیهوش شدند. پس از کالبدگشائی بدن حیوان، کبد خارج گردیده و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک (داروسازی ثامن، مشهد، ایران) ۴ گرم از بافت کبد توسط دستگاه هموژنایزر (Heidolph، آلمان) در دمای ۴- درجه سلسیوس هموژن گردید. محلول هموژن حاصله به داخل چند لوله فالکون (Brand، آلمان) با حجم‌های برابر منتقل شده و به وسیله دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (Heidolph، آلمان) در دمای ۴ درجه سلسیوس و دور ۹۰۰۰ در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی شیری رنگ حاصله جمع‌آوری و به لوله‌های اپندرف (Brand، آلمان) منتقل و تا زمان انجام آزمایشات لازم، در داخل فریزر ۷۵- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. در ادامه لوله‌های مذکور از فریزر خارج شده و پس رسیدن دمای محتویات آن‌ها به دمای اتاق، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX و مقدار شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) بافت کبد به

وسیله کیت‌های تشخیصی (Zellbio-Germany) مورد سنجش قرار گرفت.

- **تحلیل آماری داده‌ها**: تمامی داده‌ها از نظر آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-19 و به‌وسیله آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و آزمون تکمیلی توکی (Tukey) ارزیابی شدند. نتایج حاصله به صورت میانگین± انحراف معیار (mean±SEM) ارائه و ملاک استنتاج آماری معنی‌دار، $p< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطح آنزیم SOD بافت کبد در گروه کنترل مسموم توسط ترا کلریدکربن نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). همچنین عصاره اتانولی خاکشیر با دوزهای ۵۰ ($p<۰/۰۵$)، ۱۰۰ ($p<۰/۰۱$) و ۲۰۰ ($p<۰/۰۰۱$) میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سبب افزایش معنی‌دار سطح SOD در بافت کبد گروه‌های تجربی مسموم نسبت به گروه کنترل مسموم شد. تیمار خوراکی عصاره اتانولی خاکشیر در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در گروه‌های تجربی سالم نسبت به کنترل سالم باعث تغییر معنی‌داری در سطح آنزیم SOD در بافت کبد نگردید (نمودار ۱).

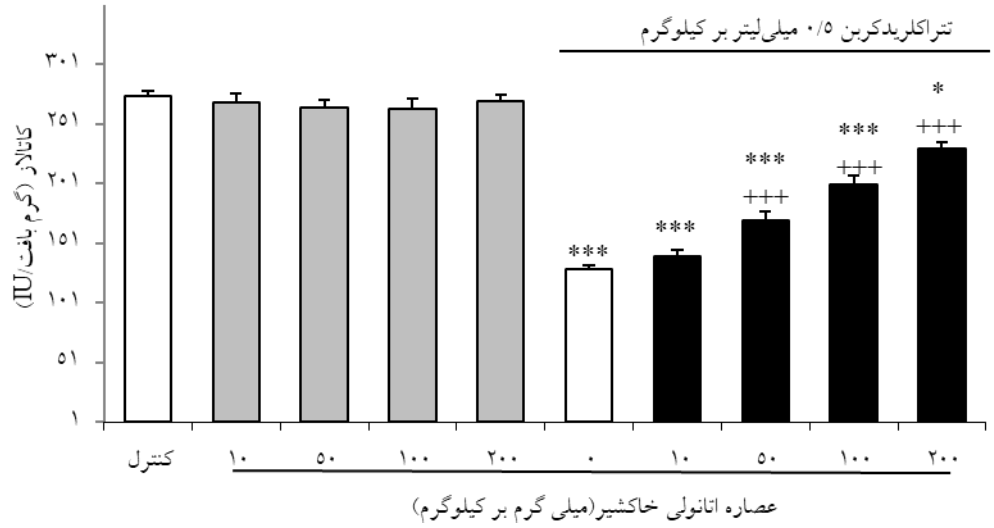
تتراکلریدکربن موجب کاهش معنی‌دار سطح آنزیم CAT در بافت کبد در گروه کنترل مسموم نسبت به گروه کنترل سالم گردید ($p<۰/۰۰۱$). تیمار عصاره اتانولی خاکشیر با دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش معنی‌دار سطح آنزیم CAT کبدی در گروه‌های تجربی مسموم نسبت به گروه کنترل مسموم ($p<۰/۰۰۱$). اما تیمار خوراکی عصاره اتانولی خاکشیر در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تغییر معنی‌داری در سطح آنزیم CAT کبدی موش‌های گروه تجربی سالم نسبت به سطح آنزیم مذکور در موش‌های گروه کنترل سالم، ایجاد نکرد (نمودار ۲).

در عین حال تتراکلریدکربن سطح آنزیم GPX بافت کبد را در موش‌های گروه کنترل مسموم نسبت به میزان آنزیم مذکور در موش‌های گروه کنترل سالم به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($p<۰/۰۰۱$). همچنین تیمار عصاره اتانولی خاکشیر با دوزهای ۱۰۰ ($p<۰/۰۱$) و ۲۰۰ ($p<۰/۰۰۱$) میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش معنی‌دار سطح آنزیم GPX کبدی در گروه تجربی مسموم نسبت به گروه کنترل مسموم شد ولی تیمار عصاره اتانولی خاکشیر در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تغییر معنی‌داری در سطح آنزیم GPX بافت کبد موش‌های گروه تجربی سالم نسبت به سطح آنزیم مذکور در موش‌های گروه کنترل سالم ایجاد نکرد (نمودار ۳).

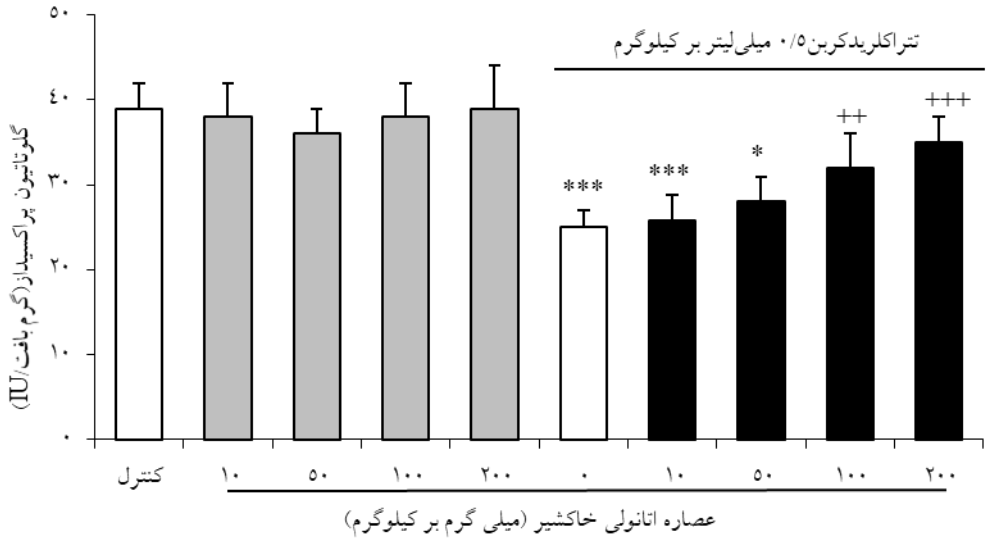
از طرف دیگر، تتراکلریدکربن باعث افزایش معنی‌دار میزان MDA در بافت کبد موش‌های گروه کنترل مسموم نسبت به سطح آن در بافت کبد موش‌های گروه کنترل سالم گردید ($p<۰/۰۰۱$). همچنین حیوانات گروه‌های تجربی مسموم تیمارشده با عصاره اتانولی خاکشیر با دوزهای ۱۰۰ ($p<۰/۰۱$) و ۲۰۰ ($p<۰/۰۰۱$) میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل مسموم کاهش معنی‌دار میزان MDA کبدی را نشان دادند. البته میزان MDA در بافت کبد

موش‌های گروه‌های تجربی سالم تیمارشده با عصاره اتانولی خاکشیر در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به سطح آن در بافت کبد موش‌های گروه کنترل سالم تغییر معنی‌داری نداشت (نمودار ۴).

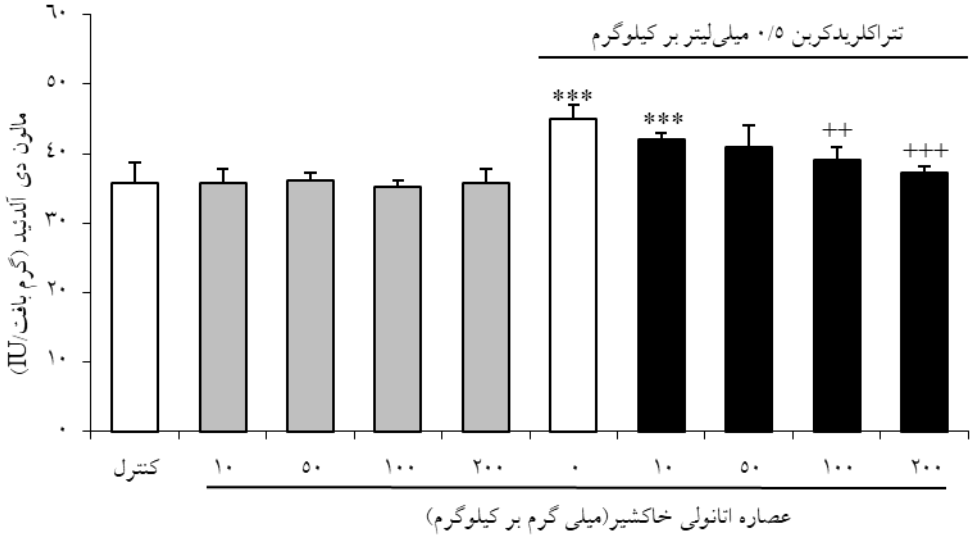
نمودار ۱- مقایسه سطح سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بافت کبد موش‌ها بین گروه‌های مختلف مورد آزمایش.***: $p<۰/۰۰۱$ اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. +++: $p<۰/۰۰۱$ و +: $p<۰/۰۵$ اختلاف از گروه کنترل مسموم را نشان می‌دهد.



نمودار ۲- مقایسه سطح کاتالاز (CAT) بافت کبد موش‌ها بین گروه‌های مختلف مورد آزمایش.***:$p<۰/۰۰۱$، *: $p<۰/۰۵$ اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. +++: $p<۰/۰۰۱$ اختلاف از گروه کنترل مسموم را نشان می‌دهد.



نمودار ۳- مقایسه سطح گلوتاتیون پراکسیداز (GGT) بافت کبد موش‌ها بین گروه‌های مختلف مورد آزمایش. ***: $p<۰/۰۰۱$، *: $p<۰/۰۵$ اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. +++: $p<۰/۰۰۱$، ++: $p<۰/۰۱$ اختلاف از گروه کنترل مسموم را نشان می‌دهد.



نمودار ۴- میزان مالوندی‌آلدئید (MDA) بافت کبد موش‌های گروه‌های مختلف مورد آزمایش. ***: $p<۰/۰۰۱$ اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. +++: $p<۰/۰۰۱$، ++: $p<۰/۰۱$ اختلاف از گروه کنترل مسموم را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تتراکلریدکربن در موش‌های مسموم باعث کاهش معنی‌دار سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX می‌گردد (نمودارهای ۳-۱). احتمالاً رادیکال‌های آزاد ناشی تتراکلریدکربن باعث افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. گزارش شده است که مهم‌ترین عوامل آنتی‌اکسیدانی در درون سلول‌ها، آنزیم‌هایی همچون SOD، CAT و GPX می‌باشند (Abdollahi *et al.*, 2004). MDA هم یک محصول ثانویه از پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده است (Amat *et al.*, 2010). تتراکلریدکربن با تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد پراکسیداسیون لیپیدها در سمیت کبدی دخالت می‌کند. علاوه بر این، سطح پراکسیداسیون لیپیدی سلول‌ها، نشان‌دهنده میزان آسیب غشاء سلولی است و در واقع تغییر ساختار و عملکرد غشای سلولی را بیان می‌کند (Kepekçi *et al.*, 2013). رادیکال‌های آزاد مشتق‌شده از تتراکلریدکربن باعث تجمع MDA می‌شود که این امر در نهایت باعث غیرفعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX می‌گردد (Ha and Lee, 2003).

مطالعات متعددی در این زمینه صورت گرفته که نتایج آن‌ها با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد. لی و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تتراکلریدکربن باعث کاهش آنزیم‌های SOD و GPX در موش‌های مسموم می‌شود. نامبردگان اعلام کردند که SOD و GPX آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد و لیپیدپراکسیدازها را از بین ببرند، ولی تتراکلریدکربن باعث کاهش میزان آن‌ها می‌گردد (Li *et al.*, 2014). پارادیپا و همکاران نیز در سال۲۰۱۴ با بررسی اثر تتراکلریدکربن بر روی موش‌های صحرایی، کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX را درموش‌های مسموم توسط تتراکلریدکربن اثبات کردند. نامبردگان نیز دلیل این کاهش را وجود استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن در کبد دانستند، چراکه آنزیم‌هایSOD، CAT و GPX از جمله نشانگرهای استرس اکسیداتیو در کبد هستند (Pradeepa *et al.*, 2014). از طرف دیگر نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار سطح MDA در گروه کنترل مسموم با تتراکلریدکربن نسبت به گروه کنترل سالم بود ($p<۰/۰۰۱$). مطالعاتی در توافق با نتیجه به‌دست آمده مذکور در تحقیق حاضر وجود دارد. سوزک و همکاران در سال ۲۰۱۶ در مطالعه‌ایی مشابه دریافتند که تتراکلریدکربن سبب افزایش قابل‌توجهی در میزان MDA در موش‌های مسموم نسبت به گروه سالم می‌گردد و دلیل افزایش سطح MDA را هم وجود استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن در بافت کبد اعلام کردند (Suzek *et al.*, 2016). اکبرتبار و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ در مطالعه خود دریافتند که تتراکلریدکربن باعث افزایش سطح MDA در موش‌های گروه کنترل مسموم نسبت به کنترل سالم می‌شود (Akbartabar Toori *et al.*, 2015). در سال‌های اخیر دستیابی به انواع آنتی‌اکسیدان‌ها با منشأ گیاهی به منظور غلبه بر آسیب‌های ناشی از عوامل شیمیایی توکسیک به طور جدی مورد توجه پژوهشگران بوده است. بر این اساس استفاده از داروهای گیاهی در کشورهای در حال توسعه و توسعه‌یافته به علت فعالیت‌های بیولوژیک متعدد از

جمله اثر بخشی بالا، عوارض جانبی کمتر، ایمنی نسبی و قیمت ارزان، در دهه‌های اخیر افزایش یافته است. همچنین اثرات ترکیبات فعال بیولوژیک برخی از گونه‌های گیاهی بر سلامت انسان مشخص شده است (Ahmad *et al*., 2002; Chen *et al*., 2002).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تیمار عصاره اتانولی خاکشیر در موش‌های مسموم با تتراکلریدکربن باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX می‌گردد (نمودارهای ۱ تا ۳). در تأیید و توجیه علت یافته مذکور، گزارش شده است که جزء فنلی عصاره مذکور، دارای اثرات قوی آنتی‌اکسیدانی است (Hollman, 2001). همچنین نشان داده شده که ترکیبات پلی‌فنلی مخصوصاً فلاونوئیدها، اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی و رادیکال‌های آزاد را دارند (Jan, 1999). در مطالعه‌ای با بررسی فعالیت بیولوژیکی عصاره الکلی گیاه خاکشیر، آثار ضددرد، ضدتب و ضدالتهاب آن نشان داده شده است (Mohamed and Mahrous, 2009). شاه و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ با بررسی اثر محافظتی عصاره برگ سرخس شمشیری (*Nephrolepis biserrata*) در مورد موش‌های صحرایی مسموم با تتراکلریدکربن به این نتیجه رسیدند که تیمار با این عصاره باعث افزایش آنزیم‌های CAT و GPX می‌گردد. نامبردگان اعلام کردند که فعالیت محافظت کبدی و آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ سرخس شمشیری ممکن است به دلیل حضور مواد زیستی منحصر به فرد با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و پلی‌فنل‌ها باشد (Shah *et al*., 2015). دبانت و همکاران هم در سال ۲۰۱۳ با مطالعه اثر عصاره گل گیاه وحشی نیلوفر آبی (*Nymphe pubescens*) بر روی موش‌های صحرایی مسموم با تتراکلریدکربن دریافتند که تیمار این عصاره باعث افزایش SOD و GPX می‌شود و احتمال دادند که این اثر محافظتی عصاره مذکور به دلیل حضور مقادیر نسبتاً بالای فلاونوئیدها، فنول‌ها و ساپونین‌ها در عصاره گیاهی می‌باشد (Debnath *et al*., 2013). محمدی ملایری و همکاران در سال ۱۳۹۳ گزارش نمودند که سیلیمارین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود قادر به پیشگیری از بروز مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن در جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

از طرف دیگر نتایج تحقیق حاضر اثر تیمار عصاره اتانولی خاکشیر را در کاهش سطح MDA در مسمومیت به‌وسیله تتراکلریدکربن نشان می‌دهد (نمودار ۴). در این ارتباط رفیعی و همکاران نیز در سال۲۰۱۳ با مطالعه بر روی اثر محافظتی عصاره میوه زرشک زرافشانی در موش‌های صحرایی مسموم با تتراکلریدکربن دریافتند که سطح آنزیم MDA در گروه مسموم با تتراکلریدکربن و تیمارشده با عصاره زرشک نسبت به گروه مسموم بدون تیمار با عصاره مذکور، کاهش معنی‌داری داشته - است. نامبردگان اعلام کردند که احتمالاً عصاره میوه زرشک زرافشانی، به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و از طریق ترکیبات پلی‌فنولی موجود در خود، توانسته است اثرات حفاظت از کبدی را در برابر مسمومیت ناشی از تتراکلریدکربن اعمال نماید (Rafiee *et al*., 2013). همچنین یاکوت و همکاران در سال۲۰۱۲ با مطالعه بر روی اثر محافظتی عصاره ریحان (*Ocimum basilicum* L.) دریافتند که تیمار با این عصاره باعث کاهش معنی‌دار سطح آنزیم MDA در گروه مسموم و تیمارشده با عصاره ریحان نسبت به گروه کنترل مسموم

می‌گردد. در تفسیر نتایج تحقیق مذکور هم اعلام شد که این کاهش سطح ممکن است به دلیل حضور ترکیبات متعدد با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا باشد که موجب حذف آنیون‌سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌گردد. بر این اساس گزارش شده است که گیاه ریحان یک منبع غنی از فلاونوئیدها است و دارای خواص بیولوژیکی مختلف مربوط به مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Yacout *et al*., 2012). خداداد و همکاران در سال ۱۳۹۷ گزارش نمودند که عصاره ریشه شلغم با خواص آنتی‌اکسیدانی خود، کبد موش‌های صحرایی را در برابر سمیت ناشی از متوترکسات محافظت می‌نماید (Khodadad *et al*., 2018). مهاجری و همکاران در سال ۱۳۹۵ گزارش نمودند که نارینژین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از بروز آسیب‌های زود هنگام دیابتی کبد در موش‌های صحرایی جلوگیری می‌کند (Mohajeri *et al*., 2016).

نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده اثر محافظت کبدی عصاره اتانولی گیاه خاکشیر در مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن می‌باشد، به‌طوری‌که بهبود سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX و نیز کاهش میزان MDA (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) این امر را به خوبی نشان می‌دهد. براساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان احتمال داد که عصاره گیاه خاکشیر با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی قادر به حذف رادیکال‌های آزاد ناشی از تیمار تتراکلریدکربن گردیده و بدین ترتیب از اثرات آسیب کبدی تتراکلریدکربن محافظت نموده است.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی به دلیل حمایت مالی از مطالعه حاضر قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافع ندارند.

منابع

- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S. and Rezaiee, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. Medical Science Monitor, 10(6): 141-147.
- Ahmad, A., Pillai, K.K., Najmi, A.K., Ahmad, S.J., Pal, S.N. and Balani, D.K. (2002). Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine posttreatment against thioacetamide induced hepatic damage. Journal of Ethnopharmacology, 79(1):35-41.
- Ahmed, B., Alam, T., Varshney, M. and Khan, S.A. (2002). Hepatoprotective of two plants belonging to the Apiaceae and the Euphorbiaceae family. Journal of Ethnopharmacology, 79(3): 313-316.
- Akbartabar Toori, M., Joodi, B., Sadeghi, H., Sadeghi, H., Jafari, M., Talebianpoor, M.S., *et al*. (2015). Hepatoprotective activity of aerial parts of Otostegia persica against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. Avicenna Journal of Phytomedicine, 5(3): 238-246.

• Amat, N., Upur, H. and Blazeković, B. (2010). In vivo hepatoprotective activity of the aqueous extract of Artemisia absinthium L. against chemically and immunologically induced liver injuries in mice. Journal of Ethnopharmacology, 131(2): 478-484.
• Androli, T., Carpenter, C., Griggs, R. and Benjamin, I. (2007). Diseases of the Liver and Biliary System. In: Cecil's Essentials of Medicine. 7th ed., USA: WB Saunders Company, pp:23.
• Aquino, R., Morelli, S., Lauro, M.R., Abdo, S., Saija, A. and Tomaino, A. (2001). Phenolic constituents and antioxidant activity of an extract of Anthurium versicolor leaves. Journal of Natural Products, 64(8): 1019-1023.
• Barnes, J., Anderson, L.A. and Phillipson, J.D. (2007). Herbal Medicines. 3th ed., Pharmaceutical Press, pp: 176-213.
• Chen, J.W., Zhu, Z.Q., Hu, T.X. and Zhu, D.Y. (2002). Structure activity relationship of natural flavonoids in hydroxyl radical scavenging effects. Acta Pharmacologica Sinica, 23(7): 667-672.
• Cho, B.O., Ryu, H.W., So, Y., Jin, C.H., Baek, J.Y., Park, K.H., *et al*. (2013). Hepatoprotective effect of 2,3-dehydrosilybin on carbon tetrachloride induced liver injury in rats. Food Chemistry, 138(1): 107-115.
• Debnath, S., Ghosh, S. and Hazra, B. (2013). Inhibitory effect of Nymphaea pubescens Wild. Flower extract on carrageenan induced inflammation and CCl4 induced hepatotoxicity in rats. Food and Chemical Toxicology, 59(1): 485-491.
• Duke, J.A. (1985). Medicinal plants. Science, 229(4718): 1036-1038.
• Ginès, P., Cárdenas, A., Arroyo, V. and Rodés, J. (2004). Management of cirrhosis and ascites. New England Journal of Medicine, 350(16): 1646-1654.
• Guyton, A. and Hall, J.E. (2016). Textbook of Medical Physiology. 13th ed., Sepehri, H., Ghasemi, K., Rastgarfarajzadeh, A., editors. translators. Iran: Tehran Andisheh Rafee, pp: 1094-1095. [In Persian]
• Ha, B.J. and Lee, J.Y. (2003). The effect of chonderitin sulfate against CCl4 induced hepatotoxicity. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 26(5): 622-626.
• Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutrition Reviews, 70(5): 257-65.
• Hollman, P.C.H. (2001). Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? Journal of the Science of Food and Agriculture, 81(9): 842-852.
• Jan, L. (1999). Pharmaceutical Botanic. 4th ed. Qoqnus Publication. pp: 235. [In Persian]
• Kepekçi, R.A., Polat, S., Çelik, A., Bayat, N. and Saygideger, S.D. (2013). Protective effect of Spirulina platensis enriched in phenolic compounds against hepatotoxicity induced by CCl4. Food Chemistry, 141(3): 1972-1979.
• Khodadad, S., and Kaffashi Elahi, R. (2018). The effect of hydroalcoholic extract of Brasscia rapa. L root on methotrexate induced hepatotoxicity in the rat. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 12(2): 167-178 [In Persian].
• Ledda-Columbano, G.M., Coni, P., Curto, M., Giacomini, L., Faa, G., Oliverio, S., *et al*. (1991). Induction of two different models of cell death, apoptosis and necrosis in rat liver after a single dose of thioacetamide. The American Journal of Pathology, 139(5): 1099-1109.
• Li, G.Y., Gao, H.Y., Huang, J., Lu, J., Gu, J.K. and Wang, J.H. (2014). Hepatoprotective effect of Cichorium intybus L., a traditional Uighur medicine, against carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. World Journal of Gastroenterology, 20(16): 4753-4760.
• Mehrparvar, P., Eidi, A., Mortazavi, P. and Oryan, S. (2018). Effects of Apium graveolens extract on serum calcium and oxalate in ethylene glycol-induced kidney injury in male Wistar rats. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 12(46): 133-144.
• Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies, 15(4): 523-530.
• Mohajeri, D., Mousavi, G., Kaffashielahi, R., and Neshatgharamaleki, M. (2016). Study on protective effect of Naringenin (Citrus flavonone) on incipient diabetic hepatopathy in alloxan-induced diabetic rats. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 10(1): 39-52 [In Persian].

• Mohamed, N.H. and Mahrous, A.E. (2009).Chemical constituents of Descurainia sophia L. and its biological activity. Records of Natural Products, 3(1): 58-67.
• Mohammadi Malayeri, M., Dadkhah Tehrani, A. and Rezaei, A. (2014). Preventive effects of silymarin extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in broilers. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 8(2): 445-459 [In Persian].
• Mokhtari, M., Shariati, M. and Khodaparast, L. (2008). Hepatoprotective effect of Mentha pulegium aquaethanolic leaf extract in rats. Journal of Sabzevar University of Medical of Sciences, 15(2): 73-78. [In Persian]
• Moshaie-Nezhad P., Iman M., Faed Maleki F. and Khamesipour A. (2018). Hepatoprotective effect of Descurainia sophia seed extract against paracetamol-induced oxidative stress and hepatic damage in mice. Journal of Herb Medical Pharmacology, 7(4): 267-272.
• Pradeepa, K., Krishna, V., Venkatesh, R., Santosh Kumar, S.R. and Rajesh Kashi, P.G. (2014). Antioxidant and prophylactic effects of Delonix elata L., stem bark extracts, and flavonoid isolated quercetin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. BioMed Research International, 14.
• Rafiee, F., Heidari, R., Ashraf, H. and Rafiee, P. (2013). Protective effect of Berberis integerrima fruit extract on carbon-tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 3(3):179-187. [In Persian]
• Rajesh, K.P., Manjunatha, H., Krishna, V. and Swamy, K.B.E. (2013). Potential in vitro antioxidant and protective effects of Mesua ferrea Linn. bark extracts on induced oxidative damage. Industrial Crops and Products, 47: 186-198.
• Ranjbar, A., Ghaseminejhad, S., Takalu, H., Rahimi, F. and Abdollahi, M. (2007). Antioxidative stress potential of Cinnamon (Cinnamomun zelanicum) in operating room personnel: a before/after cross sectional clinical trial. International Journal of Pharmacology, 3(6):482-486.
• Shah, M.D., Gnanaraj, C., Emdadul Haque, A.T.M. and Iqbal, M. (2015). Antioxidative and chemopreventive effects of Nephrolepis biserrata against carbon tetrachloride (CCl4)-induced oxidative stress and hepatic dysfunction in rats. Pharmaceutical Biology, 53(1): 31-39,
• Soni, B., Visavadiya, N.P. and Madamwar, D. (2008). Ameliorative action of cyanobacterial phycoerythrin on CCl4-induced toxicity in rats. Journal of Toxicology, 248(1): 59-65.
• Suzek, H., Celik, I., Dogan, A. and Yildirim, S. (2016). Protective effect and antioxidant role of sweetgum (Liquidambar orientalis) oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. Journal of Pharmaceutical Biology,54(3): 451-457.
• Williams, G.M., Iatropoulos, M.J. and Whysner, J. (1999). Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. Food and Chemical Toxicology, 37(9-10): 1027-1038.
• Wojtaszek, P. (1997). Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. Biochemical Journal, 322(3): 681-692.
• Yacout, G.A., Elguindy, N.M. and El Azab, E.F. (2012). Hepatoprotective effect of basil (*Ocimum basilicum* L.) on CCl4-induced liver fibrosis in rats. African Journal of Biotechnology, 11(90): 15702-15711.
• Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., *et al*. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. Plant Foods for Human Nutrition, 59(3): 113-122.
• Zakim, D. and Boyer, T.D. (1990). Hepatology: A Textbook of Liver Disease. 2th ed., The University of Michigan: Saunders, Inc., pp: 750.
• Zargari, A. (1990). Medicinal Plants. 4th ed., Iran: Tehran University Press, pp: 28-42. [In Persian]
• Zhongfeng, X. (2007). Determination of trace elements in Descurainia sophia by FAAS. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 35(33): 10575.