اثر پیشگیری‌کننده و درمانی عصاره آبی شاه تره (*Fumaria officinalis*) در برابر آسیب مزمن کبدی القا شده توسط استامینوفن در موش‌های صحرایی

مریم غلامی: کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران. maryam.gholami90@gmail.com
مرضیه واسعی: دانشجوی رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران. dr.marziyeh_91@yahoo.com
سهیلا عرفانی: دانشجوی رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران. s.erfani1373@gmail.com
مسعود نجارزاده: دانشجوی رشته علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران. masoudnajjarzadeh72@gmail.com
* **مینا همتی**: استادیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران (*نویسنده مسئول). minahemmati@bums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: اثرات حفاظت کبدی گیاهان دارای خواص آنتی‌اکسیدانی به اثبات رسیده است. با توجه به اهمیت سمیت کبدی ناشی از مصرف دارو به‌عنوان یکی از عوامل اصلی آسیب کبدی، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثرات محافظتی و درمانی عصاره آبی گیاه شاه تره در برابر آسیب کبدی القا شده توسط استامینوفن در موش‌های صحرایی انجام شد.

روش کار: در این مطالعه تحلیلی، ۳۵ موش صحرایی نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند: (۱) شاهد سالم، (۲) کنترل مثبت [تزریق درون صفاقی استامینوفن ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (۳) موش‌های هپاتوتوکسیک دریافت‌کننده سیلیمارین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) یک بار در روز، (۴) و (۵) موش‌های هپاتوتوکسیک دریافت‌کننده عصاره آبی شاه تره به‌طور روزانه و به ترتیب در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت دو هفته همزمان با تزریق استامینوفن، (۶) و (۷) گروه‌های پیشگیری: دریافت عصاره آبی شاه تره به‌طور روزانه به ترتیب در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت دو هفته قبل از تزریق استامینوفن، سپس تزریق استامینوفن و ادامه درمان خوراکی به مدت دو هفته دیگر. در پایان دوره درمان، سطح سرمی شاخص‌های کبدی (آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH) پروفایل لیپید، مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما اندازه‌گیری شد. نتایج توسط آزمون ANOVA تجزیه وتحلیل شد.

یافته‌ها: شاه تره سطوح افزایش یافته آنزیم‌های کبدی ناشی از تزریق استامینوفن را کاهش داد و پروفایل لیپیدی را بهبود بخشید. همچنین این گیاه به‌صورت وابسته به دوز، سطوح پراکسیداسیون لیپید را کاهش و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد. اثرات حفاظتی شاه تره در گروه پیشگیری نسبت به گروه درمانی به مراتب بهتر بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد گیاه شاه تره دارای اثرات محافظتی و درمانی در برابر آسیب کبدی ایجادشده توسط استامینوفن در موش صحرایی می‌باشد. این اثرات حفاظتی به‌واسطه حضور فلاونوئیدهای مختلف در منابع گیاهی می‌باشد که در هنگام طراحی داروهای محافظ کبدی بایستی موردتوجه قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: آسیب کبدی، شاه تره، آنزیم‌های کبدی، پروفایل چربی، آنتی‌اکسیدان‌ها

مقدمه

کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن است که نقش بسیار مهمی در متابولیسم مواد، سم‌زدایی داروها و دفع مواد مضر از بدن را دارد (۱ و ۲). نارسایی‌های کبدی به‌عنوان یکی از خطرات جدی سلامتی بشر محسوب می‌شوند. استامینوفن (پاراستومول) دارویی است که به‌وفور در کودکان و بزرگسالان برای اثرات ضد درد و ضدتب مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳). مکانیسم اثر این دارو مهار مسیر سیکلو اکسیژناز و وقفه بیوسنتز پروستاگلاندین از آراشیدونیک اسید است. استامینوفن در کبد متابولیزه می‌شود و بخش عمده‌ای از متابولیت‌های آن از طریق ادرار دفع می‌شود. بخشی از دارو توسط آنزیم‌های سیتوکروم p450 به ترکیب حد واسط فعال NAPQI (N-acetyl-p-benzoquinoneimine)که با اتصال به گلوتاتیون به سرعت سم‌زدایی می‌شود (۴). دوز های بالای استامینوفن باعث تولید متابولیت‌های فعالی می‌شود که باعث کاهش گلوتاتیون کبدی شده و به پروتئین‌های سلول متصل می‌شوند (۸-۵)؛

بنابراین مصرف بیش از حد این دارو از طریق تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش مهمی در ایجاد آسیب‌های کبدی دارد (۹). در چند دهه اخیر گیاهان دارویی به علت سهولت دسترسی، سازگاری بیشتر با بدن و عوارض جانبی کمتر، مورد توجه قرار گرفته‌اند. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در این گیاهان می‌توانند بدن را در مقابل انواع مختلف آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت کنند.

شاه تره (*Fumaria*) گیاهی متعلق به خانواده Papaveraceae بوده که هشت گونه آن در ایران یافت شده و استفاده وسیعی در طب سنتی دارد (۱۰). این گیاه صفرابر و اشتهاآور بوده و باعث تصفیه خون می‌شود، اما به‌طورکلی در طب سنتی از آن بیشتر در درمان بیمارهای کبدی استفاده می‌شود (۱۱). این گیاه شامل اسید آلی قابل تبلور به نام فوماریک اسید و آلکالوییدی به نام فومارین است که دارای خاصیت حفاظت کبدی می‌باشد (۱۲). مطالعات انجام شده روی این گیاه نشان داده که آلکالوییدهای موجود در شاه تره خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۱۳). رائو و همکاران نشان دادند مونو متیل فومارات جدا شده از عصاره متانولی نوعی شاه تره دارای خاصیت آنتی هپاتوتوکسیک است (۱۴). یافته‌های آلکاسومی و همکاران نشان داد که مخلوط عصاره شاه تره و کارلا (*Momordica balsamina*) اثر محافظتی خوبی در برابر آسیب کبدی ایجاد شده در موش توسط تتراکلرید کربن دارد (۱۵). اتصال رادیکال‌های آزاد به غشای سلول‌های کبدی باعث آسیب غشای این سلول‌ها شده و بنابراین باعث آزاد شدن آنزیم‌های داخل سیتوپلاسمی به جریان خون می‌گردد (۱۶). لذا، جهت تشخیص آسیب کبدی سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز (Aspartate Transaminase-AST)، آلانین ترانس آمیناز (Alanine Transaminase ALT)، آلکالین فسفاتاز (Alkaline Phosphatase-ALP) و لاکتات دهیدرژناز (Lactate Dehhdrogenase-LDH) اندازه‌گیری می‌شود (۱۷). افزایش سطح سرمی این آنزیم‌ها می‌تواند نشان از آسیب‌دیدگی بافت کبد باشد (۱۶).

بنابراین با توجه به شواهد موجود در طب سنتی و مطالعات صورت گرفته مبنی بر اثربخشی این گیاه در اختلالات کبدی، هدف از انجام این مطالعه بررسی خاصیت حفاظت کبدی شاه تره در برابر اثرات سمی ایجادشده توسط داروی استامینوفن در مدل حیوانی می‌باشد.

روش کار

آماده‌سازی عصاره: برای تهیه عصاره، از برگ گیاه شاه تره استفاده شد. برگ گیاه، در دمای محیط و دور از تابش مستقیم خورشید خشک شد و با استفاده از آسیاب، پودر گردید .برای تهیه عصاره آبی، پودر برگ شاه تره با نسبت ۱ به ۹، با آب مقطر مخلوط (۵۰ گرم پودر در ۴۵۰ سی‌سی آب مقطر) و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه جوشانده شد. پس از ۳ دقیقه سانتریفیوژ با ۲۰۰۰ دور در دقیقه، عصاره، با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک,GEHealthcare) (UK فیلتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و تا زمان مصرف، در شیشه‌های رنگی و دور از رطوبت نگهداری شد (۱۸).

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه تعداد ۳۵ موش صحرایی نر نژاد ویستار (در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم) با رعایت کلیه ملاحظات اخلاقی مورد استفاده قرار گرفتند. موش‌ها در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی بیرجند تحت شرایط استاندارد، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و نگهداری شدند و دسترسی مداوم به آب و غذای کافی داشتند.

گروه‌بندی حیوانات: موش‌ها به‌طور تصادفی در ۷ گروه ۵ رأسی مطابق جدول ۱ تقسیم‌بندی شدند. در این مطالعه از گروه دریافت‌کننده سیلیمارین به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. سیلیمارین (Silybum marianum) دارویی است که به‌طور وسیع برای درمان بیماری‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹).

خون‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی: پس از اتمام دوره تیمار حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگهداری شدند. پس از آن توسط دی اتیل

جدول ۱- گروه‌های آزمایشی و درمان‌های مختلف به‌کاررفته در این مطالعه

گروه	گروه‌های آزمایشی	
۱	کنترل سالم	دریافت روزانه ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر
۲	کنترل هپاتوتوکسیک	تزریق درون صفاقی استامینوفن با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (انجام چهار تزریق در فاصله زمانی ۲۱ روز)
۳	شاهد مثبت	تزریق درون صفاقی استامینوفن با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جهت ایجاد آسیب کبدی و تیمار روزانه موش‌ها توسط سیلیمارین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز.
۴	گروه درمانی اول	تزریق درون صفاقی استامینوفن با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیمار روزانه موش‌ها با عصاره گیاه شاه تره با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز.
۵	گروه درمانی دوم	تزریق درون صفاقی استامینوفن با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیمار روزانه موش‌ها با عصاره گیاه شاه تره با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز.
۶	گروه پیشگیری اول	تیمار روزانه با عصاره گیاه شاه تره به‌صورت خوراکی به میزان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت دو هفته، تزریق درون صفاقی استامینوفن با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جهت القای آسیب کبدی و ادامه تیمار به مدت ۲۱ روز.
۷	گروه پیشگیری دوم	تیمار روزانه با عصاره گیاه شاه تره به‌صورت خوراکی به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت دو هفته، تزریق درون صفاقی استامینوفن با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جهت القای آسیب کبدی و ادامه تیمار به مدت ۲۱ روز.

اتر بی‌هوش شدند. سپس قفسه سینه‌باز و خون‌گیری از قلب به عمل آمد. سرم در گروه‌های مختلف جدا و به‌منظور سنجش آنزیم‌های کبدی و فاکتورهای بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدرژناز (LDH) بر حسب واحد بر لیتر (U/L) و پروفایل لیپید شامل اندازه‌گیری سطح سرمی کلسترول تام، HDL (High Density Lipoprotein-HDL) و LDL (Low Density Lipoprotein-HDL) و تری گلیسرید برحسب میلی‌گرم بر دسی لیتر، با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی شرکت پارس آزمون طبق دستورالعمل موجود در هر کیت اندازه‌گیری شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما توسط روش FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power assay-FRAP) سنجیده شد (۲۰). مالون دی آلدئید که محصول پراکسیداسیون لیپید می‌باشد به‌عنوان مارکر استرس اکسیداتیو با استفاده از کیت مربوطه (Zellbio, Germany) بر اساس روش الایزا اندازه‌گیری شد.

جهت تحلیل داده‌ها از برنامه آماری SPSS (ویرایش شانزدهم) استفاده شد. داده‌های به دست آمده، به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) (آزمون متعاقب توکی) مورد ارزیابی قرار گرفت. اختلافات در سطح $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شدند.

یافته‌ها

بررسی حاضر نشان داد در موش‌های هپاتوتوکسیک شده با استامینوفن سطوح میانگین کلسترول تام، کلسترول-LDL و تری گلیسرید افزایش و کلسترول-HDL کاهش می‌یابد ($p<۰/۰۵$). تیمار دو گروه موش‌های هپاتوتوکسیک توسط عصاره آبی گیاه شاه تره در دو دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم و موش‌های هپاتوتوکسیکی که با سیلیمارین درمان شده‌اند، باعث کاهش معنی‌دار سطوح میانگین کلسترول تام، کلسترول-LDL وتری گلیسرید و افزایش معنی‌دار میزان کلسترول-HDL می‌شود. این تغییرات در گروه درمانی با دو دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم عصاره و گروه درمانی با سیلیمارین تقریباً مشابه بود.

سطوح سرمی میانگین کلسترول تام، کلسترول-LDL وتری گلیسرید در موش‌هایی که دو هفته قبل از القای هپاتوتوکسیسیتی تحت تیمار روزانه با عصاره آبی گیاه شاه تره با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم قرارگرفته بودند به‌طور معناداری کاهش پیدا کرده و به سطح گروه کنترل سالم رسید.

جدول ۲- بررسی اثر عصاره‌ی آبی گیاه شاه تره بر پروفایل لیپید* در موش‌های هپاتوتوکسیک القا شده با استامینوفن

گروه‌های آزمایشی	کلسترول تام	کلسترول ـ HDL	کلسترول ـ LDL	تری گلیسرید
کنترل سالم	۸۰/۶±۳/۲†	۴۳/۲±۲/۲†	۲۱/۱±۵/۳†	۴۴±۳/۲†
کنترل هپاتوتوکسیک	۱۰۸/۹±۶/۳	۲۳/۵±۴/۳	۷۱±۲/۳	۱۵۰±۲/۳
شاهد مثبت	۷۸/۵±۵/۲†	۴۵±۴/۵†	۳۱±۴/۳†	۴۸±۶/۳†
گروه درمانی اول	۸۹/۷±۵/۲†	۳۷±۳/۲†	۴۵±۴/۲†	۶۵±۴/۱†
گروه درمانی دوم	۸۶/۶±۳/۹†	۳۹±۴/۵†	۴۲±۲/۳†	۶۲±۳/۵†
گروه پیشگیری اول	۷۹/۶±۳/۵†	۴۷±۱/۳†	۲۵±۴/۳†	۵۴±۳/۴†
گروه پیشگیری دوم	۷۶/۵±۴/۲†	۴۹±۵/۳†	۲۳±۴/۲†	۵۱±۲/۵†

* داده‌ها به‌صورت میانگین (با معیار میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)± انحراف معیار برای ۵ سر موش در هر گروه بیان شده است.

†در هر ستون اختلاف معنی‌دار هر گروه (p<۰/۰۵) با گروه کنترل هپاتوتوکسیک نشان داده شده است.

جدول ۳- بررسی اثر عصاره‌ی آبی گیاه شاه تره بر سطح مالون دی آلدئید و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی* در موش‌های هپاتوتوکسیک القا شده با استامینوفن

گروه‌های آزمایشی	مالون دی آلدئید	ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی
کنترل سالم	۱/۲±۰/۱†	۸۶۰±۱۸/۹†
کنترل هپاتوتوکسیک	۴/۵±۰/۴	۵۶۰±۱۰/۹
شاهد مثبت	۱/۵±۰/۱۱†	۷۸۰±۱۲/۵†
گروه درمانی اول	۳/۱±۰/۱۲	۶۲۰±۱۰/۲
گروه درمانی دوم	۲/۹±۰/۲	۶۳۵±۱۲/۳
گروه پیشگیری اول	۱/۹±۰/۱۱†	۷۳۵±۱۱/۵†
گروه پیشگیری دوم	۱/۶±۰/۱۳†	۷۸۵±۱۰†

* داده‌ها به‌صورت میانگین (با معیار میکروگرم بر لیتر)± انحراف معیار برای ۵ سر موش در هر گروه بیان شده است.

†در هر ستون اختلاف معنی‌دار هر گروه (p<۰/۰۵) با گروه کنترل هپاتوتوکسیک نشان داده شده است.

نتایج حاصله در جدول ۲ آورده شده است.

همچنین در گروه هپاتوتوکسیک شده توسط استامینوفن در مقایسه با گروه شاهد سالم سطح مالون دی آلدئید افزایش و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما کاهش یافت (p<۰/۰۵). تیمار گروه هپاتوتوکسیک با عصاره آبی شاه تره در دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم باعث کاهش سطح مالون دی آلدئید و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد اما این تغییرات معنی‌دار نبود. با این حال سطح مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌هایی که دو هفته قبل از القای هپاتوتوکسیسیتی تحت تیمار روزانه با عصاره آبی گیاه شاه تره قرارگرفته بودند به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری نشان داد. تغییرات در هر دو گروه پیشگیری با دو دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ عصاره با گروه درمانی با سیلیمارین مشابه بود. این نتایج در جدول ۳ ارائه شده است.

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، در موش‌های هپاتوتوکسیک توسط استامینوفن سطح سرمی آنزیم‌های شاخص کبدی (آسپارتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدرژناز) در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌صورت معنی‌دار (p<۰/۰۵) افزایش یافت. تیمار دو گروه هپاتوتوکسیک با عصاره آبی گیاه شاه تره با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم سطوح افزایش یافته آنزیم‌های کبدی را کاهش داد. این کاهش معنی‌دار نبود. همچنین میزان آنزیم‌ها به سطح گروه مسموم درمان شده با سیلی مارین نرسید. سطح آنزیم‌های کبدی موش‌هایی که دو هفته قبل از القای هپاتوتوکسیسیتی تحت تیمار روزانه با عصاره آبی گیاه شاه تره با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم قرار گرفته بودند به‌طور معنادار و تا حد گروه مسموم درمان شده با سیلیمارین، کاهش یافت (p<۰/۰۵). تیمار با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم نسبت به تیمار با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم کاهش بیشتری در میزان آنزیم‌های شاخص کبدی نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر گیاهان دارویی به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی مورد توجه بسیار قرار

جدول ۴- بررسی اثر عصاره‌ی آبی گیاه شاه تره بر سطح آنزیم‌های کبدی* در موش‌های هپاتوتوکسیک القا شده با استامینوفن

گروه‌های آزمایشی	آلانین ترانس آمیناز	آسپارتات ترانس آمیناز	آلکالین فسفاتاز	لاکتات دهیدرژناز
کنترل سالم	†۴۵±۱۱/۱	†۷۵±۵/۲	†۱۱۰±۱۲	†۳۵۰±۱۵
کنترل هپاتوتوکسیک	۲۲۵±۱۲/۲	۳۷۰±۴/۷	۹۸۰±۲۲	۱۱۲۰±۱۷
شاهد مثبت	†۱۰۲±۱۳/۲	†۱۹۰±۵/۶	†۴۱۰±۱۳	†۴۷۰±۹/۵
گروه درمانی اول	۱۷۲±۱۱	۲۳۵±۱۱	۶۷۵±۹/۷	۸۱۰±۱۳
گروه درمانی دوم	۱۶۷±۱۰/۵	۲۲۰±۱۳	۶۳۰±۵/۸	۷۹۵±۲۱
گروه پیشگیری اول	†۱۲۰±۸/۹	†۱۷۰±۸/۷	†۴۲۶±۱۱	†۵۹۵±۱۶
گروه پیشگیری دوم	†۹۸±۶/۵	†۱۳۵±۱۱	†۳۹۰±۲۳	†۵۲۰±۹/۸

* داده‌ها به‌صورت میانگین (با معیار واحد بین‌المللی بر لیتر)± انحراف معیار برای ۵ سر موش در هر گروه بیان شده است.

†در هر ستون اختلاف معنی‌دار هر گروه ($p<۰/۰۵$) با گروه کنترل هپاتوتوکسیک نشان داده شده است.

گرفته‌اند. از این رو در مطالعه حاضر خواص محافظتی گیاه شاه تره در سمیت کبدی القا شده توسط استامینوفن مورد مطالعه قرار گرفت.

اتصال رادیکال‌های آزاد ناشی از استامینوفن به غشای سلول‌های کبدی باعث وقوع نکروز یا آسیب غشای این سلول‌ها شده و بنابراین باعث نشت آنزیم‌های سیتوزول کبدی به جریان خون می‌گردد (۱۶). لذا، جهت تشخیص آسیب کبدی سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز اندازه‌گیری می‌شود (۱۷). نتایج حاصل از پژوهش اخیر نشان داد که استامینوفن باعث ایجاد هپاتوتوکسیسیتی در موش شده و سطح سرمی آنزیم‌های شاخص کبدی را در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش می‌دهد. تیمار موش‌های هپاتوتوکسیک توسط عصاره شاه تره توانست سطوح افزایش یافته آنزیم‌های کبدی را در این موش‌ها کاهش دهد که با یافته‌های زمانی مقدم و همکاران در سال ۲۰۱۲ مطابقت دارد (۲۱)، اما سطوح آنزیم‌ها در این گروه به سطح گروه هپاتوتوکسیک درمان شده با سیلیمارین نرسید. در صورتی که سطح آنزیم‌های کبدی موش‌هایی که دو هفته قبل از القای هپاتوتوکسیسیتی تحت تیمار روزانه با عصاره آبی گیاه شاه تره قرار گرفتند تا حد گروه هپاتوتوکسیک درمان شده با سیلیمارین، کاهش یافت. یافته‌ها نشان از کاهش بیشتر آنزیم‌های شاخص کبدی در گروه تیمار شده با دوز بالاتر داشت و نتیجه مطلوب‌تری عاید شد. همچنین یافته‌های به دست آمده از مطالعه حاضر در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی سیلیمارین با مطالعات پیشین مطابقت داشت (۲۲ و ۲۳).

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر عصاره آبی شاه تره از لحاظ حفاظت کبدی در برابر استامینوفن وابسته به دوز و زمان است. بازگشت سطوح افزایش یافته آنزیم‌های سرمی فوق به حالت طبیعی در موش‌های گروه پیشگیری را می‌توان به برقراری تمامیت و پایداری غشای سلول یا تکثیر مجدد سلول‌های کبدی نسبت داد (۲۴). همچنین می‌توان این اثر را به خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه نسبت داد که با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید باعث تثبیت غشاهای سلولی شده و بدین ترتیب از نشت آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند (۲۵).

در این پژوهش مالون دی آلدئید (Malondialdehyde-MDA) که یکی از محصولات استرس اکسیداتیو بوده و در طول فرآیند پراکسیداسیون لیپید تولید می‌شود به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی Total Antioxidant Capacity-(TAC) به‌عنوان برآوردی از ترکیب پتانسیلی آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در بدن اندازه‌گیری شدند. مطالعه حاضر نشان داد که با تزریق استامینوفن میزان MDA نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. این افزایش می‌تواند به علت تخلیه گلوتاتیون کبدی ناشی از تزریق استامینوفن باشد (۲۶ و ۲۷). تیمار گروه هپاتوتوکسیک با عصاره آبی شاه تره در هر دو دوز باعث کاهش سطح مالون دی آلدئید و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

شد اما این تغییرات معنی‌دار نبود. با این حال سطح مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌هایی که دو هفته قبل از القای هپاتوتوکسیسیتی تحت تیمار روزانه با عصاره آبی گیاه شاه تره قرارگرفته بودند، به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری نشان داد. تغییرات در هر دو گروه پیشگیری توسط هر دو دوز عصاره با گروه درمانی با سیلیمارین مشابه بود. نتایج حاصل با مطالعه زمانی مقدم و همکاران همخوانی دارد (۲۱). اثرات محافظتی این گیاه را می‌توان به مقابله آن در برابر تشکیل متابولیت‌های فعال توسط احیای آنزیم‌های دخیل در متابولیسم دارو مانند سیتوکروم P450 نسبت داد (۱۴). از آن جا که فلاوونوئیدها می‌توانند مانع پراکسیداسیون آنزیمی اسیدهای چرب شوند، این اثرات می‌تواند به دلیل وجود مقادیر بالای فلاوونوئید موجود در این گیاه باشد (۲۸).

یکی از نتایج آسیب کبدی افزایش میزان تری گلیسرید و کاهش کلسترول-HDL خون می‌باشد. عصاره‌ها توانستند میزان تری گلیسرید را کاهش و کلسترول-HDL را افزایش دهند. گروه پیشگیری این تغییر را تا حد نرمال نشان داد. تأثیر شاه تره بر روی میزان کلسترول-HDL را می‌توان به حضور اسیدهای چرب ضروری موجود در گیاه نسبت داد (۱۰ و ۲۹).

بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که گیاه شاه تره با خواص آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره خود از طریق مکانیسم‌های اشاره شده باعث حفاظت کبد می‌شود. از نتایج مطالعه اخیر در تحقیقات دارویی می‌توان سود جست و در طراحی داروهای محافظت‌کننده کبدی مدنظر قرار داد.

تقدیر و تشکر

این مقاله، حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد ۲۶/۹۳ است. بدین‌وسیله از همکاری مرکز تحقیقات طب تجربی و معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه، کمال تشکر را داریم.

منابع

1. Bell AW. Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals.Prog Lipid Res; 1979. 18(3):117-64.
2. Wolf PL. Biochemical diagnosis of liver disease. Indian J Clin Biochem; 1999. 14(1):59-90.
3. DalyFF, Fountain JS, Murray L, Graudins A, Buckley NA. Guidelines for the management of paracetamol poisoning in Australia and NewZealand explanation and elaboration. A consensus statement from clinical toxicologists consulting to the Australasian poisons information centres. Med J Aust; 2008. 188(5):296-301.
4. Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. Semin Liver Dis; 1990. 10(4):267-78.
5. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. J Pharmacol Exp Ther; 1973. 187(1):211-7.
6. Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalentbinding in vivo. J Pharmacol Exp Ther; 1973. 187(1):195-202.
7. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drugmetabolism. J Pharmacol Exp Ther; 1973. 187(1):185-94.
8. Potter WZ, Davis DC, Mitchell JR, Jollow DJ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. 3. Cytochrome P-450-mediated covalent binding in vitro. J Pharmacol Exp Ther; 1973. 187(1):203-10.
9. Lee WM.Acetaminophen-related acute liver failure in the United States. Hepatol Res 2008;38 Suppl 1:S3-8.
10. Habibi Tirtash F, Keshavarzi M, Afzali M. Antioxidant components of *Fumaria* species. World Acad Sci Eng Technol; 2011. 5(5):25.
11. Shams Ardakani, MR, Moatar F. Herbal Therapy guidance. Tehran; Academy of Medical Sciences Islamic republic of Iran; 1999.
12. Zargari A. Medical Plants.Tehran; University of Tehran Press;1992. 3:212-8.
13. Sharma UR, Prakash T, Surendra V, Roopakarki Divakar Goli N. Hepatoprotective activity of Fumaria officinalis against ccl4-induced liver damage in rat. Pharmacologia; 2012. 3(1):9-14.
14. Rao KS, Mishra SH. Antihepatotoxic activity of monomethyl fumarate isolated from Fumaria indica. J Ethnopharmacol; 1998. 60(3):207-13.
15. Alqasoumi SI, Al-Dosari MS, Al Sheikh AM, Abdel-kader M. Evaluation of the hepatoprotective effect of Fumaria parviflora and Momordica balsamina from Saudi folk medicine against experimentally induced liver injury in rats. Res J Med Plant; 2009. 3(1):9-15.

16. Ahmad A1, Pillai KK, Najmi AK, Ahmad SJ, Pal SN, Balani DK. Evaluation of hepatoprotective potential of Jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. J Ethnopharmacol; 2002. 79(1):35-41.

17. Drotman R, Lawhan G. Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. Drug Chem Toxicol; 1978. 1(2):163-71.

18. Shahrdad M, Nasri S, Kamalinejhad M, Noori AS. Antinociceptive & anti-inflammatory effects of Berberis vulgaris L. root's hydro alcoholic extract and determination of it's possible antinociceptive mechanism in male mice. J Paramed Sci; 2011. 2(4):12-8.

19. Vargas-Mendoza N, Madrigal-Santillán E, Morales-González A, Esquivel-Soto J, Esquivel-Chirino C, García-Luna Y, et al. Hepatoprotective effect of silymarin. World J Hepatol; 2014. 6(3):144-9.

20. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem; 1996. 239(1):70-6.

21. Zamani Moghaddm E, Azami K, Minaei Zangi B. Protective activity of Fumaria vaillantii extract and mono methyl fumarate on acetaminophen induced hepatotoxicity on mice. Int J Pharmacol; 2012. 8(3):177-84.

22. Pradeep K, Mohan CV, Gobianand K, Karthikeyan S. Silymarin modulates the oxidant-antioxidant imbalance during diethyl nitrosamine induced oxidative stress in rats. Eur J Pharmacol; 2007. 560(2-3):110-6.

23. Kabiri N, Ahangar-Darabi M, Setorki M, Rafieian-kopaei M. The effect of silymarin on liver injury induced by Thioacetamide in rats. J Herb Med Pharmacol; 2013. 2(2):29-33.

24. Thabrew MI, Joice PD, Rajatissa W.A comparative study of the efficacy of Pavetta indica and Osbeckia octandra in the treatment of liver dysfunction. Planta Med; 1987. 53(3):239-41.

25. Yousef MI, Saad AA, El-Shennawy LK. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. Food Chem Toxicol; 2009. 47(6):1176-83.

26. Masella R, Di Benedetto R, Varì R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. J Nutr Biochem; 2005. 16(10):577-86.

27. Winkler BS, Orselli SM, Rex TS.The redox couple between glutathione and ascorbic acid: a chemical and physiological perspective. Free Radic Biol Med; 1994. 17(4):333-49.

28. Iranshahi M, Khoshangosht M, Mohammad-khani Z, Karimi GH. Protective effects of aqueous and ethanolic extract of Saffron Stigma and Petal on liver toxicity induced by carbon tetrachloride in mice. Pharmacol Online; 2011. 1:203-12.

29. French MA, Sundram K, Clandinin MT. Cholesterolaemic effect of palmitic acid in relation to other dietary fatty acids. Asia Pac J Clin Nutr; 2002. 11 Suppl 7:S401-7.

Protective and therapeutic effects of *Fumaria officinalis* aqueous extract against acetaminophen- induced chronic hepatotoxicity in rats

Maryam Gholami, MSc in Genetics, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran. maryam.gholami90@gmail.com
Marzieh Vaseie, Medical Student, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Science, Birjand, Iran. dr.marziyeh_91@yahoo.com
Soheila Erfani, Medical Student, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Science, Birjand, Iran. s.erfani1373@gmail.com
Masoud Najjarzadeh, Paramedical Student, Faculty of Para Medical Sciences, Birjand University of Medical Science, Birjand, Iran. masoudnajjarzadeh72@gmail.com
***Mina Hemmati**, Assistant Professor in Clinical Biochemistry, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Science, Birjand, Iran (*Corresponding author). minahemmati@bums.ac.ir

Abstract

Background: Hepatoprotective effects of plants with antioxidant properties have been demonstrated. Considering the importance of drug-induced hepatotoxicity as a major cause of liver damage, the present study carried out to investigate the protective and therapeutic effects of *Fumaria officinalis* extract against hepatotoxicity induced by acetaminophen in rats.

Methods: 35 adult male Wistar Albino rats randomly were divided into 7 groups: (1) healthy control, (2) positive control rats [intraperitoneal injection of acetaminophen (150mg/kg)], (3) hepatotoxic rats treated with silybum marianum (100mg/kg) once daily, (4) and (5) hepatotoxic rats treated with *Fumaria* aqueous extract once daily at doses 250 and 500mg/kg, respectively for 2 weeks at the time of acetaminophen injection and (6) and (7) protective experimental rats that were treated with aqueous extract of *Fumaria* once daily at doses 250 and 500mg/kg, respectively, before drug injection. For groups 6 and 7, after 2 weeks of oral treatment, acetaminophen was injected and treatment continued for 2 weeks. At the end of treatment period serum level of functional liver markers (ALT, AST, ALP, and LDH), lipid profile, malondialdehyde and total antioxidant capacity were measured. The data was analyzed by one way ANOVA test.

Results: *Fumaria* reduced the elevated liver enzymes levels and also improved lipid profile. Furthermore this plant reduced lipid peroxidation and increased total antioxidant capacity. Protective effects of *Fumaria* in prevention groups were notable compared with therapeutic groups.

Conclusion: Our results demonstrated that *Fumaria* have protective and therapeutic effect on experimentally acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. This protective effect might be due to various flavonoids in different plants and it should be considered when designing new drugs for liver toxicity treatment.

Keywords: Hepatotoxicity, *Fumaria officinalis*, Liver enzymes, Lipid profile, Antioxidants