فصلنامه علمی - پژوهشی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۳ ، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹

اثرات محافظتی عصاره‌ی الکلی گل ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر آسیب کبدی القاشده توسط دیازینون در همستر نر بالغ

مجید مروتی شریف آباد*[1]، زهرا لطفی [2]، الهام صالحی [3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۷

چکیده

دیازینون یکی از پرکاربردترین حشره‌کش‌های ارگانوفسفره است که به‌طور وسیعی برای کنترل آفات نباتی در مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به عنوان یک آلاینده‌ی زیست‌محیطی مضر در دنیا شناخته شده است. از این رو مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره‌ی الکلی گل ختمی در حفاظت از کبد آسیب دیده توسط دیازینون در همسترهای بالغ نر انجام شد. برای انجام این مطالعه ۴۲ سر همستر نر به شش گروه تقسیم شدند: گروه کنترل مثبت، آب مقطر دریافت کردند،گروه کنترل منفی، سم دیازینون دریافت کردند، گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg) و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را به ترتیب با دوزهای ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg وزن بدن دریافت کردند، گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg) و گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، ابتدا سم دیازینون و سپس عصاره‌ی الکلی گل ختمی را به ترتیب با دوزهای ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg وزن بدن دریافت کردند. همسترها به مدت ۱۵ روز به صورت خوراکی روزانه تیمار شدند. در پایان آزمایش نمونه‌ی خون حیوانات اخذ گردید و سطوح آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز، کل (Total) بیلی‌روبین، کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی به کمک نرم‌افزار SPSS تحلیل شد. داده‌ها حاکی از آن بود که گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون افزایش قابل توجهی در سطوح سرمی آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات-آمینوترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز، کل (Total) بیلی‌روبین و کاهش قابل توجهی در سطوح سرمی کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم در مقایسه با گروه کنترل مثبت داشت. عصاره‌ی الکلی گل ختمی باعث کاهش معنی‌دار و متناسب با دوز سطوح آنزیم‌های کبدی و کل (Total) بیلی‌روبین و افزایش معنی‌دار در سطوح کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم گردید. نتایج این مطالعه نشان داد گل ختمی دارای اثرات حفاظتی و درمانی در برابر مسمومیت کبدی ناشی از دیازینون در همستر است.

۱- استادیار،گروه علوم پایه، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران
*(نویسنده مسئول: mmorovati@ardakan.ac.ir)
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی جانوری گرایش سلولی و تکوینی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران
۳- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

واژه‌های کلیدی: ***آنزیم‌های کبدی، ارگانو فسفره، گل ختمی، مسمومیت کبدی***

مقدمه

کبد بزرگ‌ترین غده‌ی داخلی بدن است که واکنش‌های بیوشیمیایی وسیعی را انجام می‌دهد. کبد در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، لیپیدها، داروها، همچنین سم‌زدایی، تولید صفرا، سنتز پروتئین‌های سرم و جذب مواد غذایی نقش دارد (Mitra & Metcalf, 2012). هرگونه اختلال در عملکرد کبد سبب ایجاد صدمات جبران‌ناپذیری در این عضو می‌شود. عواملی مثل استرس اکسیداتیو، رادیکال‌های آزاد، الکل سفید، ویروس‌ها، مواد شیمیایی و داروها می‌توانند باعث تخریب بافت کبدی شوند (Mitra & Metcalf, 2012). حشره‌کش‌های ارگانوفسفره به‌طور گسترده برای کنترل حشرات در محیط انسان، در امور کشاورزی، دامپروری و صنعت استفاده می‌شوند. تماس مستقیم با این حشره‌کش‌ها و تماس غیرمستقیم از طریق مصرف بقایای این حشره‌کش‌ها در فرآورده‌های کشاورزی و دامی، افراد زیادی از جمله کارگران و کشاورزان و خانواده‌های آن‌ها را درگیر می‌کند (Yassa *et al*., 2011) .

دیازینون یکی از شناخته‌شده‌ترین سموم حشره‌کش فسفره‌ی آلی است که در اوایل دهه‌ی ۱۹۵۰ به بازار معرفی گردید. دیری نگذشت که استفاده از این حشره‌کش فسفره در فضاهای عمومی، مزارع کشاورزی به ویژه شالیزارها، باغ‌های میوه و نیز کنترل برخی از انگل‌های خارجی حیوانات اهلی مرسوم گردید. دیازینون به طور گسترده در مزارع برنج گیلان، مازندران، گلستان و سایر مناطق ایران استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر از این سم به‌طور وسیع برای کنترل کرم ساقه‌خوار برنج نیز استفاده شده است (Yassa *et al*., 2011). این حشره‌کش غالبا پس از استفاده، در پی آبیاری بیش از حد و یا پس از بارش باران‌های فصلی، از سطح گیاهان و خاک شسته شده و وارد آب‌های سطحی و حتی زیرزمینی می‌گردد. تا به حال گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود این سم و متابولیت‌های آن، در آب‌های سطحی و زیرزمینی، حتی پس از گذشت ۳ تا ۵ ماه از زمان سم‌پاشی، در مناطق مختلف جهان صورت گرفته است (Bernstein *et al*., 1997). ارگانوفسفره‌ها با فسفریلاسیون اسیدهای آمینه‌ی سرین در جایگاه فعال آنزیم استیل‌کولین‌استراز باعث مهار این آنزیم می‌شود، در نتیجه تجمع استیل‌کولین در سیناپس‌های کولینرژیک و وقوع بحران کولینرژیک سبب تشنج و در موارد حاد رخداد ضایعه‌ی مغزی می‌شود (Saulsbury *et al*., 2009). این حشره‌کش از طریق سیستم گوارش، پوست و مسیر هوایی (در صورت تبخیر) جذب و عمدتاً از راه کلیه دفع می‌شود. آنزیم‌های میکروزومی کبد، دیازینون را اکسید می‌کنند و ترکیبات مهارکننده استیل‌کولین‌استراز قوی‌تری نظیر دیازوکسون، هیدروکسی دیازوکسون و هیدروکسی دیازینون را تولید می‌کنند (Saulsbury *et al*., 2009). در معرض قرارگیری حاد و تحت حاد با بعضی از ارگانوفسفره‌ها علاوه بر مهار استیل‌کولین‌استراز، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد. مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع روند پراکسیداسیون لیپیدی است که منجر به تخریب غشای سلول‌ها می‌شود. همچنین این ترکیبات به سایر مولکول‌های زیستی

همانند اسیدهای نوکلوئیک و پروتئین‌ها صدمه وارد می‌کند و منجر به موتاسیون در ژن‌ها می‌شوند. مهم‌ترین عامل دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. نقش فیزیولوژیکی آنتی‌اکسیدان‌ها در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد است. این ترکیبات، رادیکال‌های آزاد به ویژه آنیون‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را جمع‌آوری می‌کنند. عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان در بدن باعث استرس اکسیداتیو می‌شود که علت ایجاد بسیاری از بیماری‌ها است (Saulsbury *et al*., 2009).

بسیاری از گیاهان دارویی برای مقابله با آسیب‌های کبدی ناشی از مسمومیت کبدی، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در سالیان اخیر خطرات ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از یک‌سو و همچنین مقرون به صرفه بودن اثرات درمانی مناسب و خطر کمتر گیاهان دارویی از سوی دیگر موجب شده است، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بالاخص متابولیت‌های ثانویه در گیاهان بیشتر مورد توجه قرار بگیرد (Osawa & Kato, 2005). گیاه ختمی با نام علمی *Althaea officinalis* L. از خانواده‌ی Malvaceae که با نام Marshmallow هم از آن یاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده‌ی مالواسه است که منشأ آن را نواحی مختلف آسیا و اروپا می‌دانند. نام این گیاه از لغت یونانی Altho به معنی التیام‌دهنده‌ی زخم گرفته شده است. مصرف گیاه ختمی قرن‌هاست که در مواردی از جمله التهاب، برونشیت، سرفه‌های شدید، ورم و درد معده، سنگ کلیه و بیماری‌های مثانه توصیه شده است (Mosihuzzaman & Choudhary, 2008; Šutovská *et al*., 2009). این گیاه به دلیل داشتن پلی‌ساکاریدهای مختلف، موسیلاژ، آنتی‌اکسیدان‌ها، فلاونوئیدها، ترپن و ترپنوئیدهای مختلف، استرول‌های گیاهی، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع و نیز ترکیبات فنولیک و فرار دارای ویژگی‌های ضد قارچی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی و نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Šutovská *et al*., 2009).

بنابراین، تجویز عصاره‌ی ختمی ممکن است در پیشگیری از بروز استرس اکسیداتیو مؤثر باشد. باتوجه به ترکیبات موجود در گل ختمی، تحقیق حاضر به منظور مطالعه‌ی اثر عصاره‌ی الکلی گیاه ختمی در درمان مسمومیت کبدی القا شده به وسیله‌ی سم دیازینون در همستر بالغ نر پایه‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی حیوانات

در این تحقیق از ۴۲ سر همستر نر بالغ در محدوده‌ی وزنی g ۹۰-۱۱۰ استفاده شد، که این حیوانات از مؤسسه‌ی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات به منظور سازگاری با شرایط محیط در دمای حدود ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت ۵±۵۰ درصد همچنین آب و غذا به صورت روزانه و آزاد، به مدت یک هفته در اتاق حیوانات نگه‌داری شدند.

تهیه‌ی عصاره

پس از تهیه‌ی گیاه ختمی، گونه‌ی مذکور توسط کارشناس آزمایشگاه هرباریوم دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی یزد شناسایی شد. گلبرگ‌های گیاه جمع‌آوری شده در سایه قرار گرفت تا کاملا خشک شـود. پودر از آن تهیه شد و به مدت ۲۴ ساعت در الکل ۹۶ درصد قرار گرفت تا تمام مواد مؤثره‌ی آن خارج و در الکل حل گردد. سپس آن را صاف نمودیم و توسـط دستگاه روتاری اقدام به تهیه‌ی عصاره‌ی تقریبا خالص کردیم.

گروه‌بندی حیوانات

در این بررسی، حیوانات به‌طور تصادفی به شش گروه کنترل مثبت، کنترل منفی، دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg)، دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg) و دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg) تقسیم شدند (n=7). گروه کنترل مثبت، آب مقطر را به میزان ۲ ml/kg وزن بدن به مدت ۱۵ روز به صورت تک‌دوز و خوراکی دریافت کرد. گروه کنترل منفی، سم دیازینون (شرکت Supelco-USA) را به میزان ۱۵۰ mg/kg وزن بدن (Jouhari *et al.*, 2010) به صورت تک‌دوز و درون‌صفاقی دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg)، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را با دوز ۳۰۰ mg/kg وزن بدن (Ashtiyani *et al.*, 2015) به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاواژ دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را با دوز ۶۰۰ mg/kg وزن بدن (Ashtiyani *et al.*, 2015) به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاواژ دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۳۰۰ mg/kg)، ابتدا دیازینون را به میزان ۱۵۰ mg/kg وزن بدن به صورت تک‌دوز دریافت نمودند. بعد از دو ساعت، عصاره‌ی الکلی گل ختمی را با دوز mg/kg ۳۰۰ وزن بدن به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاواژ دریافت کرد. گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و عصاره‌ی گل ختمی (۶۰۰ mg/kg)، ابتدا دیازینون را به میزان ۱۵۰ mg/kg وزن بدن به صورت تک‌دوز دریافت نمود. بعد از دو ساعت، عصاره‌ی الکلی گل ختمی با دوز ۶۰۰ mg/kg وزن بدن به صورت دهانی و از طریق لوله‌ی گاواژ دریافت کرد.

ارزیابی آنزیم‌های کبدی

حیوانات پس از هر نوبت تزریق، از نظر میزان آب و غذای مصرفی، سلامت، نحوه‌ی اثر عصاره و میزان مرگ و میر مـورد ارزیابی قرار گرفتند. در پایان روز پانزدهم، با رعایت اصول اخلاقی، پس از بی‌هوشی توسط اتر، خون‌گیری مستقیم از قلب از گروه‌های مختلف انجام شد. نمونه‌های خون به دست آمده از حیوانات گروه‌های مختلف سانتریفیوژ و سرم آن‌ها جدا شد. سرم‌های به دست آمده را به آرامی بـا سمپلر برداشته و به میکروتیوب‌های مخصوص منتقل شد. نمونه‌های سرم، برای اندازه‌گیری و سنجش آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین‌فسفاتاز (ALP) و همچنین کل (Total)

پروتئین، کل (Total) بیلی‌روبین و آلبومین بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. سنجش آنزیم‌های کبدی با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی (شرکت پارس آزمون؛ ایران) و دستورالعمل‌های مربوطه‌ی موجود در هر کیت توسط دستگاه اتوآنالیزور مدل RA1000 ساخت شرکت Technicon آمریکا انجام شد.

سپس برای سنجش القای مسمومیت کبدی بافت کبد از ناحیه‌ی ناف جدا و پس از شستشو بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس تا زمان هموژنیزه شدن در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شد. برای سنجش غلظت آنزیم‌های ALT، AST و ALP بافت کبد، ابتدا بافت کبد با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس ۰,۱ گرم (۱۰۰ میلی‌گرم) از پودر ساخته شده با ۱ میلی‌لیتر بافر حاوی ۱۳۷ میلی‌مول NaCl، ۲۰ میلی‌مول (pH ۸) tris-HCl، ۱٪ NP۴۰، ۱۰٪ گلیسرول، ۱ میلی‌مول PMSF، ۱ میکروگرم لپتین، ۰,۵ میلی‌مول سدیم‌وانادایت و ۱۰۰ میلی‌گرم AEBSF هموژنیزه شد و سپس محلول به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و برای سنجش شاخص‌های مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. برای تعیین مقادیر غلظت آنزیم‌های ALT، AST و ALP از روش الایزا و کیت کمپانی Zellbio chemical (campany, Germany) استفاده شد (جمالی و همکاران، ۱۳۹۵).

آنالیز آماری

در این مطالعه نرم‌افزار SPSS Version 25 برای آنالیز داده‌های کمی به دست آمده مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از تست کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. داده‌های مورد بررسی همه نرمال بودند. در صورت عدم نرمال بودن توزیع داده‌ها، تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از تست آماری کوریسکال-والیس تعیین می‌شود. آزمون مورد استفاده آنوا یک‌طرفه بود و تست توکی برای آنالیز تفاوت بین دو گروه به کار گرفته شد (ندایی و میرازی، ۱۳۹۵). تمام نتایج به دست آمده به صورت Mean±SEM محاسبه گردید و در تمامی موارد $p<0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از این پژوهش به دو شکل جدول و نمودارها به شرح زیر می‌باشد:

مقایسه‌ی آنزیم‌های کبدی، کل پروتئین، کل بیلی‌روبین و آلبومین

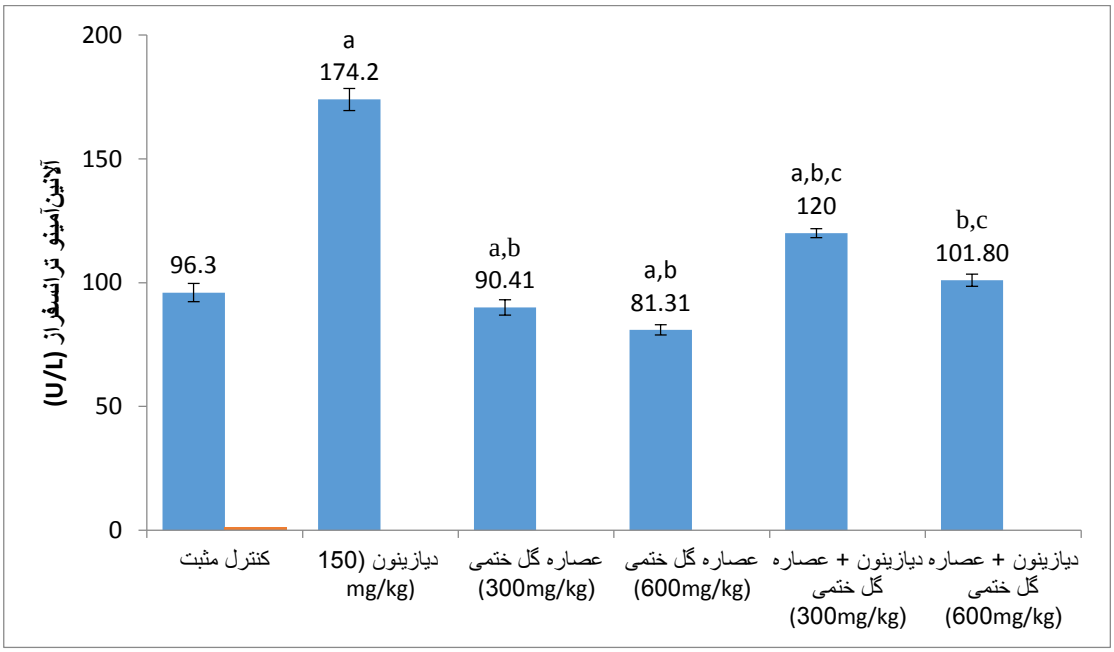
جدول۱: مقایسه آنزیم‌های (آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز، کل پروتئین، کل بیلی‌روبین و آلبومین در گروه‌های مختلف)

پارامترها/ گروه‌ها	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	کل بیلی‌روبین (mg/dl)	کل پروتئین (mg/dl)	آلبومین سرم (mg/dl)
کنترل مثبت	96/3 ± 3/66	86/8 ± 2/88	108/8 ± 3/2	0/91 ± 0/05	8/55 ± 0/20	4/88 ± 0/15
کنترل منفی	174/2 ± 4/5	141/01 ± 3/5	189/01 ± 1/02	3/9 ± 0/09	4/1 ± 0/15	2/6 ± 0/16
تیمار ۱	90/41 ± 3/1	79 ± 1/8	101/1 ± 2/01	0/6 ± 0/01	9/1 ± 0/1	5/3 ± 0/1
تیمار ۲	81/31 ± 2/05	70 ± 1/04	95 ± 3/1	0/4 ± 0/05	9/75 ± 0/2	5/8 ± 0/1
تیمار ۳	120 ± 1/76	118/1 ± 4/5	142/5 ± 4/37	1/43 ± 0/06	4/85 ± 0/16	3/1 ± 0/22
تیمار ۴	101/80 ± 2/4	97/40 ± 2/4	118/2 ± 5/84	1/11 ± 0/06	5/05 ± 0/12	3/41 ± 0/08

طبق نتایج نشان داده شده در جدول ۱ در همسترهای گروه مسموم شده توسط دیازینون سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و همچنین کل بیلی‌روبین در مقایسه با گروه کنترل مثبت افزایش و سطح کل پروتئین و آلبومین سرم کاهش یافت. تیمار دو گروه از همسترها با عصاره‌ی الکلی گل ختمی در دو دوز ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg وزن بدن، سطوح افزایش یافته‌ی آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین تام سرم را تا حد نرمال کاهش داد و سطوح کاهش‌یافته‌ی کل پروتئین و آلبومین را تا حد نرمال افزایش داد. تیمار دو گروه همسترهای مسموم شده با دیازینون با عصاره‌ی گل ختمی در دو دوز ۳۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg موجب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی و کل بیلی‌روبین و افزایش سطح کل پروتئین و آلبومین نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون شد (جدول ۱).

آلانین‌آمینو ترانسفراز (ALT)

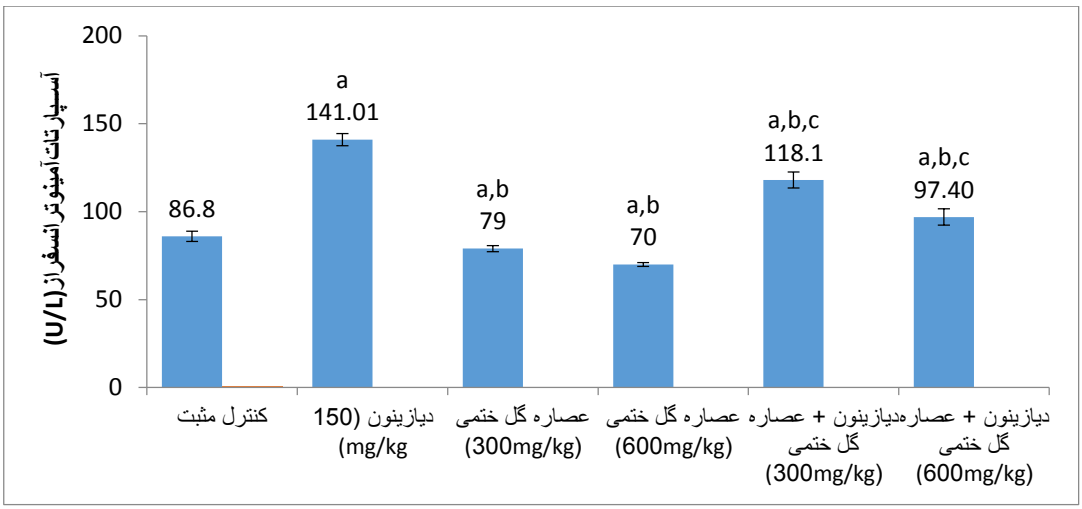
با توجه به نتایج مندرج در نمودار ۱ دیده شده است که سطح سرمی آلانین‌آمینو ترانسفراز (ALT) در همسترهای نر در گروه مسموم شده توسط دیازینون در مقایسه با گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌دار افزایش یافت. در دو گروه تیمار ۱ و ۲ عصاره‌ی گل ختمی باعث کاهش سطح سرمی آلانین‌آمینو ترانسفراز (ALT) در مقایسه با دو گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون و کنترل مثبت به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز گردید. همچنین در دو گروه تیمار ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز شاهد کاهش سطح سرمی آلانین‌آمینو ترانسفراز (ALT) نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون هستیم. سطح سرمی آلانین-آمینو ترانسفراز (ALT) در دو گروه تیمار ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش داشته است که این افزایش در گروه تیمار ۳ معنی‌دار می باشد (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p<0.05$)

آسپارتات‌آمینو ترانسفراز (AST)

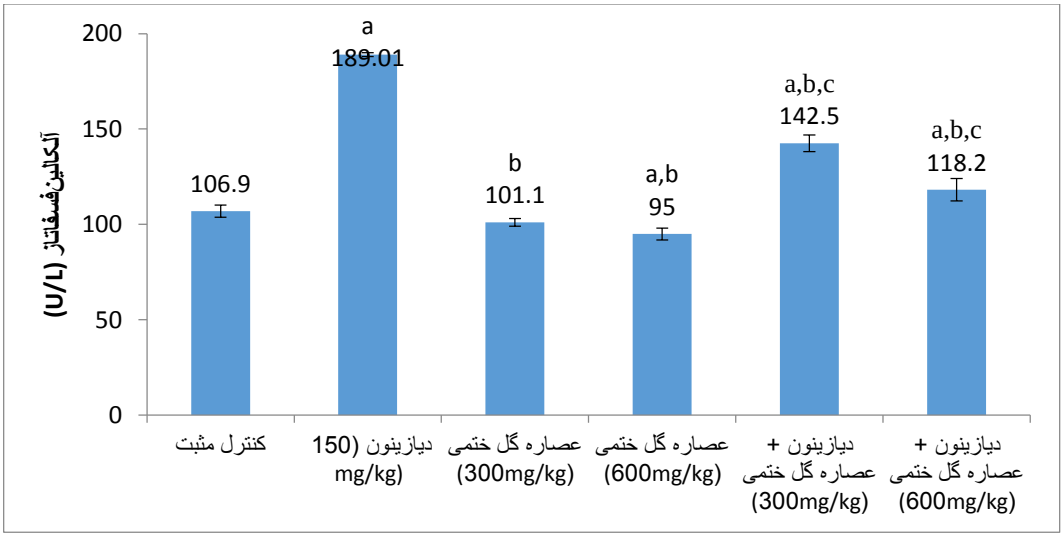
مقایسه‌ی بین گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت اختلاف معنی‌داری را در سطح سرمی آسپارتات‌آمینو ترانسفراز (AST) نشان می‌دهد. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز کاهش سطح سرمی آسپارتات‌آمینو ترانسفراز (AST) را در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان می‌دهند. گروه‌های تیمار ۳ و ۴ افزایش سطح سرمی آسپارتات‌آمینو ترانسفراز (AST) را در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان می‌دهند. نمودار ۲ بیان‌کننده‌ی این مطلب است که گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و گروه‌های تیمار ۳ و ۴ دارای کاهش معنی‌دار و وابسته به دوز در میزان سرمی آسپارتات‌آمینو ترانسفراز (AST) نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون است. همچنین یک افزایش معنی‌دار در میزان آسپارتات‌آمینو ترانسفراز (AST) سرم در گروه‌های تیمار ۳ و ۴ نسبت به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت دیده می‌شود (نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p<0.05$)

آلکالین‌فسفاتاز (ALP)

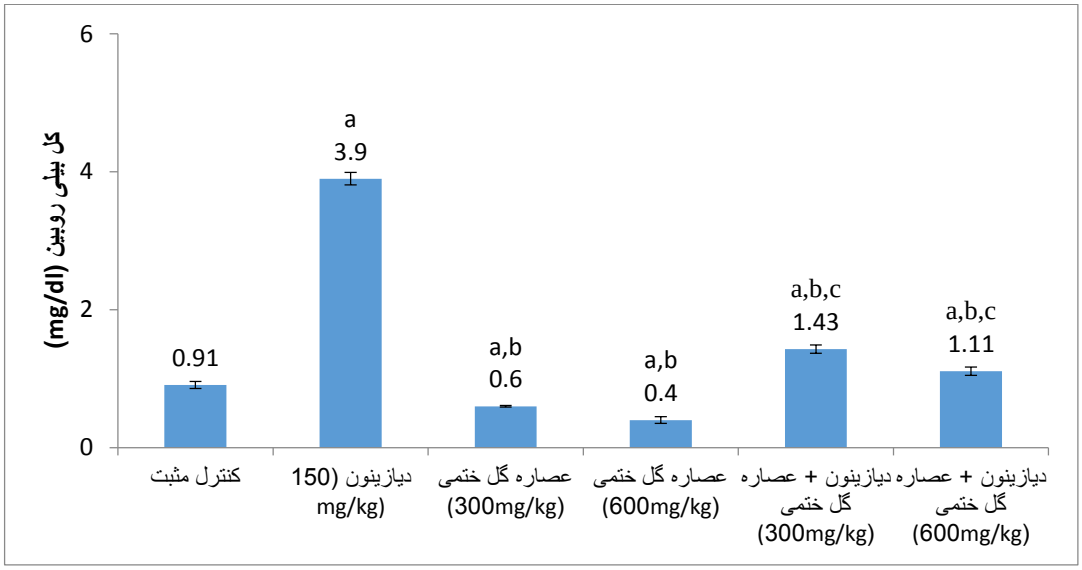
نتایج موجود در نمودار ۳ بیان‌کننده‌ی این مطلب است که سطح سرمی آلکالین‌فسفاتاز (ALP) در گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌داری افزایش داشته است. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز، کاهش سطح سرمی آلکالین‌فسفاتاز (ALP) را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نشان می‌دهند. گروه‌های تیمار ۳ و ۴ افزایش معنی‌دار در سطح سرمی آلکالین‌فسفاتاز (ALP) نسبت به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت نشان می‌دهند (نمودار ۳).



نمودار ۳: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آلکالین‌فسفاتاز (ALP) در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت-کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p<0.05$)

کل(Total) بیلی‌روبین

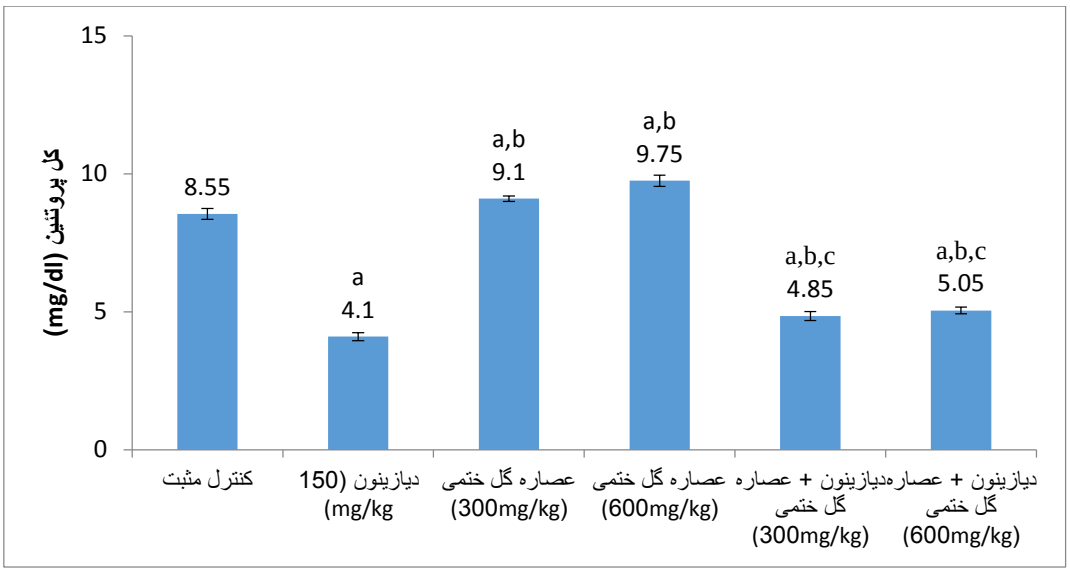
مقدار کل(Total) بیلی‌روبین سرم در همسترهای گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت از افزایش معنی‌داری برخوردار بود. بر اساس نمودار ۴ گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز کاهش سطح کل(Total) بیلی‌روبین سرم را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نشان می‌دهند. این پارامتر در گروه‌های تیمار ۳ و ۴ به صورت وابسته به دوز نسبت به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت افزایش نشان می‌دهند (نمودار ۴).



نمودار ۴: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش کل (Total) بیلی‌روبین در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت-کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p<0.05$)

کل(Total) پروتئین

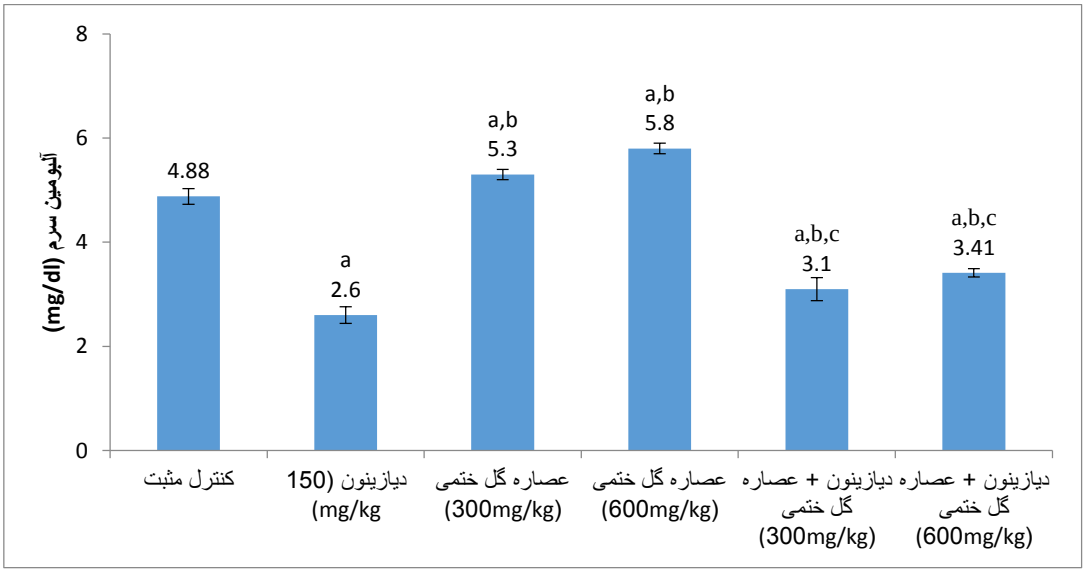
نتایج مندرج در نمودار ۵ بیان‌کننده‌ی این مطلب است که سطح سرمی کل(Total) پروتئین در گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌داری کاهش داشته است. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌دار افزایش نشان دادند. در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز شاهد افزایش سطح سرمی کل(Total) پروتئین نسبت به گروه کنترل منفی هستیم. گروه‌های تیمار ۳ و ۴ کاهش معنی‌داری در سطح سرمی کل(Total) پروتئین نسبت به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و کنترل مثبت نشان می‌دهند (نمودار ۵).



نمودار ۵: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش کل (Total) پروتئین در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت-کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p<0.05$)

آلبومین

سطح سرمی آلبومین همسترهای مورد آزمایش در گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون نسبت به گروه کنترل مثبت و گروه‌های تیمار کاهش معنی‌داری نشان داد. گروه‌های تیمار ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل مثبت و گروه‌های تیمار ۳ و ۴ به صورت معنی‌دار افزایش نشان دادند. در گروه‌های تیمار ۳ و ۴ نیز شاهد کاهش سطح سرمی این پارامتر به صورت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت هستیم (نمودار ۶).



نمودار ۶: مقایسه‌ی داده‌های حاصل از سنجش آلبومین سرم در گروه‌های مورد آزمون. a بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل. b بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون. c بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره (آزمون آنوا یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی؛ $p<0.05$)

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد، ۱۵ روز تیمار با دیازینون با دوز mg/kg ۱۵۰ به‌طور معنی‌دار باعث افزایش سطح آنزیم‌های ALT، AST و ALP و کل (Total) بیلی‌روبین و کاهش سطح کل (Total) پروتئین و آلبومین در مقایسه با گروه کنترل گردید. بر اساس نتایج به دست آمده، عصاره‌ی گل ختمی به صورت معنی‌دار و وابسته به دوز موجب کاهش میزان آنزیم‌های کبدی و کل (Total) بیلی‌روبین و افزایش میزان کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی دیازینون شد.

کبد یکی از حیاتی‌ترین و مهم‌ترین ارگان‌هـای بدن می‌باشد که در تولید صفرا، پـروتئین‌های دخیل در سیستم انعقاد، متابولیسم مواد سه‌گانه و بخصوص در سم‌زدایی سموم و داروها و گزنوبیوتیک‌ها نقش دارد. کبد با استفاده از سیستم سیتوکروم P450 موجود در شبکه‌ی اندوپلاسمی، طی دو فاز که در فاز اول اکسیداسیون و احیا و در فاز دوم کونژوگاسیون (گلوکرونیداسیون) انجام می‌شود، می‌تواند سموم و داروها را به موادی با سمیت پایین و قابل حل در آب تبدیل و دفع کند (Mitra & Metcalf, 2012). دیازینون پس از جذب توسط کبد ممکن است به متابولیت‌های دی‌اکسان و تترااتیل‌مونوپیروفسفات شکسته شود و این ترکیبات، استیل‌کولین‌استراز را مهار می‌کنند. دیازینون بر روی حمل و نقل مواد از غشاء میتوکندری تاثیر می‌گذارد، فعالیت سیستم سیتوکروم P450 را در سلول‌های کبدی مختل می‌کند و به علت حمله‌ی الکترونی به اجزای درون سلول تولید رادیکال آزاد می‌کند. سیتوکروم P450 ها، آنزیم‌های مونو اکسیژنازی هستند که با اضافه نمودن یک اتم اکسیژن مولکولی به یک سوبسترا (از قبیل ارگانوفسفره‌ها) موجب اکسیداسیون آن‌ها و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند.

بنابراین ارگانوفسفره‌ها هومئوستاز نرمال آنتی‌اکسیدانی را تغییر می‌دهند که این امر در صورت تأمین نشدن آنتی-اکسیدان مورد نیاز سبب تخلیه‌ی آنتی‌اکسیدانی بدن خواهد شد (Shah & Iqbal, 2010). Gockcimen و همکاران که در سال ۲۰۱۰ اثر دیازینون بر کبد موش‌های صحرایی را مورد مطالعه قرار دادند، آثار پاتولوژیک شامل نکروز هپاتوسیت‌ها و نفوذ سلول‌های آماسی را گزارش کردند و علت آن را به فعالیت سم‌زدایی کبد نسبت دادند که باعث تجمع سم در کبد می‌گردد و همچنین تولید میزان زیاد رادیکال آزاد در سلول‌های کبدی را ذکر نموده‌اند (Gockcimen *et al*., 2010). این نتایج توسط محققین دیگری نیز تأیید شده است (Kalender *et al*., 2005; Rebl *et al*., 2012).

چربی دوست بودن مولکول‌های دیازینون منجر به عبور آن‌ها از غشاء فسفولیپیدی سلول و در نتیجه آشفتگی و اختلال در ساختار غشاهای سلولی می‌شود (Shah & Iqbal, 2010). در ارزیابی آسیب کبد سنجش سطوح آنزیم‌های AST، ALT و ALP به‌طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکروز یا آسیب غشاء سلول باعث رها شدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود. افزایش سطح AST در سرم، آسیب کبد ناشی از هپاتیت‌های ویروسی، آنفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان

می‌دهد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند، برای کبد اختصاصی‌تر بوده و پارامتر مناسب‌تری برای تشخیص آسیب کبد می‌باشد. این دو آنزیم غالبا در داخل میتوکندری سلول‌ها، به ویژه در سلول‌های کبدی قرار دارند. سطوح افـزایش یافته‌ی این آنزیم‌های سرمی حاکی از نشت سلولی است و نشانگر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می‌باشد. افزایش سطح سرمی ALP به دلیل افزایش تولید در حضور فشار فزاینده‌ی صفراوی می‌باشد (Banaee *et al.*, 2008). تغییر در سنتز پروتئین یکی از متداول‌ترین پاسخ‌ها به آسیب سلولی می‌باشد، لذا با سنجش میزان پروتئین می‌توان به میزان آسیب سلولی پی برد. با توجه به این که اکثر پروتئین‌ها در کبد سنتز می‌شوند کاهش پروتئین در پلاسمای خون را می‌توان به نقص کبد ارتباط داد (Canli, 1996). آلبومین مهم‌ترین و بیش‌ترین بخش پروتئین‌های موجود در پلاسما است که در کبد سنتز می‌شود؛ از این رو شاخص مناسبی برای بررسی عملکرد کبد محسوب می‌گردد. بیلی‌روبین از رنگدانه‌های صفراوی است. بیلی‌روبین غیرکنژوگه (non conjugate) به وسیله‌ی کبد گرفته، کنژوگه و دفع می‌شود؛ بنابراین میزان طبیعی بیلی‌روبین بیان‌گر سلامت سیستم ترشحی کبد است (Stockham & Scott, 2008). مطالعات انجام شده تأیید کننده‌ی این نکته است که مسمومیت با ارگانوفسفره‌ها مانند دیازینون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آلکالین‌فسفاتاز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلانین-آمینوترانسفراز می‌گردند (Gomes *et al*., 1999; Morowati, 1997). Kalender و همکاران در سال ۲۰۰۵ افزایش فعالیت آنزیم-های آلکالین‌فسفاتاز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلانین‌آمینوترانسفراز را در موش‌های صحرایی که با دیازینون مسموم شده بودند گزارش کردند و علت آن را آسیب به بافت کبد موش‌ها اعلام کردند (Kalender *et al*., 2005). سموم ارگانوفسفره از جمله دیازینون باعث کاهش تولید پروتئین‌ها و تخریب چربی‌ها می‌شوند (Kalender *et al*., 2005). در مطالعه‌ای دیگر، کاهش متابولیسم پروتئین‌ها، متعاقب مسمومیت با سموم ارگانوفسفره مورد تأیید قرار گرفت (Ashgar *et al*., 1994). در بین گیاهان دارویی که خواص و کاربرد مختلف آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است، گل ختمی از جمله گیاهانی است که خواص آنتی‌اکسیدانی آن شناسایی شده و در جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در جیره، منجر به افزایش بهینه‌ی مقاومت بدن شده است. خواص آنتی‌اکسیدانی گل ختمی به حضور ترکیباتی از قبیل فلاونوئید و موسیلاژ نسبت داده شده است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی فلاونوئیدها بـه دلیل وجود گـروه‌هـای هیدروکسیل و فنـولی در ساختمان آن‌ها است. یکی از فعالیت‌هـای آنتـی‌اکسیدانی این ترکیبات بـه دام انـداختن و حـذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد. فلاونوئیدها همچنین دارای فعالیت آنتـی‌فسـفودی‌اسـترازی هستند و از این رو می‌توانند سطح نوکلئوتیدهای حلقـوی درون سـلولی را افـزایش دهنـد. این نوکلئوتیدها (cAMP و cGMP) کاهنده‌ی استرس اکسیداتیو در بسیاری از سیستم‌هـای بیولوژیک و بیماری‌ها می‌باشند (Mosihuzzaman & Choudhary, 2008; Šutovská *et al*., 2009). گیاه ختمی همچنین دارای خاصیت ضدالتهابی است. بیش‌ترین خواص ضدالتهابی این گیاه مربوط به موسیلاژ آن است (Al-Snafi, 2013). مواد مؤثره‌ی گل ختمی به ویژه موسیلاژ، از طریق مهار آزادسازی اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز تومور (TNF) اثر ضدالتهابی خود را اعمال می‌کنند (Sweetman, 2011).

در مطالعه‌ای که بر روی موش‌های صحرایی انجام گرفت، محققان مشاهده کردند که تجویز عصاره‌ی هیدروالکلی یونجه سطوح سرمی آنزیم‌های ALT و AST را کاهش داد که در اثر تجویز نیکوتین و القای آسیب کبدی افزایش یافته بودند و به سطحی مشابه با سطح گروه کنترل رسید. این کنترل آسیب کبدی به آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی موجود در یونجه نظیر ویتامین C، ویتامین E و فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی نسبت داده شد (بهشتی‌پور و همکاران، ۱۳۹۶). فلاونوئیدها بزرگ‌ترین گروه پلی‌فنول هستند که دارای اثر ضدالتهابی و حفاظت کبدی می‌باشند (Šutovská *et al*., 2009). در مطالعه‌ای که توسط غلامی و میرازی در سال ۱۳۹۴ بر روی اثر محافظتی برگ گیاه حرا در سمیت کبدی ناشی از تتراکلرید کربن انجام شده بود مشاهده کردند که القاء تتراکلریدکربن به موش‌های صحرایی به‌طور معنی‌دار موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و کاهش کل (Total) پروتئین و آلبومین می‌شود که در اثر تجویز عصاره‌ی هیدروالکلی برگ گیاه حرا آنزیم‌های کبدی و کل (Total) پروتئین و آلبومین به صورت وابسته به دوز به سطحی مشابه با سطح گروه کنترل رسیدند. این کنترل آسیب کبدی به حضور فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، موسیلاژ و تانن‌ها نسبت داده شد (غلامی و میرازی، ۱۳۹۵) که با مطالعات ما همخوانی داشت. مطالعه‌ی فتاحی و همکاران در سال ۱۳۹۴ نشان داد که گیاه مریم‌گلی با دارا بودن ترکیبات فنلی موجب جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌شود و نقش آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی را در برابر آسیب‌های ناشی از سم دیازینون در بافت کبد ایفا می‌کند (فتاحی و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه‌ای نقش N-استیل‌سیستئین (NAC) در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در کبد و کلیه‌ی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته شد. نتایج این ارزیابی نشان داد که دیازینون با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت گلوتاتیون و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در بافت‌های کبد و کلیه باعث تولید رادیکال‌های آزاد و وقوع استرس اکسیداتیو می‌شود. NAC به عنوان آنتی‌اکسیدان از طریق حذف رادیکال‌های آزاد و افزایش سنتز گلوتاتیون تا حدی باعث کاهش سمیت دیازینون می‌شود (ایزدی و همکاران، ۱۳۹۲).

تأثیر عصاره‌ی گیاه ختمی بر بهبود توان فیزیولوژیکی ماهی کپور معمولی در مواجهه با سرب و کادمیوم نیز بررسی شده است. در این مطالعه، در گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گل ختمی بعد از آلوده‌سازی با فلزات سنگین، در میزان آنزیم‌های LDH، AST و ALP، کلسترول، کل پروتئین و گلوکز تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. میزان این فاکتورها در گروهی که گل ختمی دریافت نکردند بعد از آلوده‌سازی، تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. طبق نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد که استفاده از عصاره‌ی گیاه گل ختمی می‌تواند موجب افزایش توان فیزیولوژیک ماهی در مقابل اثرات منفی آلاینده‌های زیست محیطی گردد (آقابابایی و همکاران، ۱۳۹۳). عدم تغییر سطح آنزیم‌های کبدی ماهیان کپور تحت تأثیر نسبت‌های مختلف عصاره‌ی گل ختمی نیز ممکن است ناشی از تأثیر فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره‌ی گل ختمی بر عملکرد فیزیولوژیکی غشای سلول‌ها در بافت کبد، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و افزایش پایداری غشای سلولی باشد (آقابابایی و همکاران، ۱۳۹۳). در تحقیقی با موضوع اثر محافظت کبدی گیاه ختمی در برابر سمیت

کبدی ناشی از استامینوفن، محققان مشاهده کردند که استامینوفن به‌طور معنی‌داری سطح سرمی مارکرهای آنزیم کبدی را افزایش داد و عصاره‌ی گل ختمی باعث کاهش معنی‌دار در سطح سرمی مارکرهای آنزیم کبدی، به صورت وابسته به دوز، در مقایسه با گروه موش‌های تحت درمان با استامینوفن شد (Hussain *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای دیگر، محققان با انجام آزمایشاتی از قبیل دناتوراسیون پروتئین و تثبیت غشای RBC و آزمایش‌هایی برای ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از بافت کبد و روش LPO (lipid peroxidation) خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدآرتریتی و مهارکننده‌ی پراکسیداسیون لیپیدی گیاه *Hibiscus rosa sinensis* یا ختمی چینی را مورد ارزیابی و تأیید قرار دادند (Singh *et al.*,2018). در مطالعه‌ای اثرات محافظتی عصاره‌ی گیاه *Malva sylvestris L.* از خانواده‌ی مالواسه بر آسیب‌های کلیوی ناشی از ایسکمی و آسیب‌دیدگی کبد مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، عصاره‌ی گیاه پنیرک باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی (کاهش MDA) و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کلیه (افزایش FRAP) شد. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، آسیب حاد کلیوی ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و افزایش آسیب‌های سلولی در بافت کبد موش‌های صحرایی شد و عصاره‌ی گیاه ختمی از طریق کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو باعث حفاظت کبد در برابر آسیب حاد کلیوی شد (Najafi *et al.*, 2017). در تحقیق دیگری با موضوع اثر محافظتی گیاه پنیرک بر آسیب کبدی القا شده توسط تتراکلرید کربن، نتایج نشان داد که تیمار با عصاره‌ی گیاه پنیرک موجب کاهش سطح آنزیم‌های کبدی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی تتراکلرید کربن شد و به‌صورت معنی‌داری تمامی شاخص‌های آسیب بافتی را بهبود بخشید. محققان اذعان داشتند که عصاره‌ی گیاه پنیرک احتمالا با مهار برهم‌کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های آزاد ناشی از تتراکلریدکربن که آغازکننده‌ی استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات مولکولی هستند و همچنین با سرکوب روند التهاب بافتی در کبد، اثر حفاظت‌کنندگی خود در کبد را اعمال می‌کند (تروهید و همکاران، ۱۳۹۴). در مطالعه‌ای دیگر محققان نشان دادند که عصاره‌ی گیاه پنیرک با کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، موجب تخفیف آسیب‌های کلیوی و کبدی القا شده به وسیله‌ی جنتامایسین می‌شود و به صورت معنی‌داری شاخص‌های آسیب بافتی را بهبود می‌بخشد (Yarijani *et al.*, 2019). نتایج فوق با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد. اسانس گل ختمی شامل مخلوطی از ترپن‌ها و ترپنوئیدهای طبیعی است که در دیگر گیاهان دارویی نیز یافت می‌شود. این ترکیبات نظیر کارواکرول، تیمول، لینالول، بتا بیسابولن، ترپینن دارای ویژگی‌های درمانی متعددی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Šutovská *et al.*, 2009). تیمول و کارواکرول پاسخ ایمنی و تغییرات متابولیکی را تحریک می‌کنند و همچنین مانع از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو از طریق سرکوب سطح ROS، پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطح گلوتاتیون می‌شوند. علاوه بر این، کارواکرول می‌تواند با سرکوب بیان ژن TNF و IL-6 باعث تضعیف فرآیندهای التهابی و در نتیجه کاهش آسیب بافت شود (Kim *et al.*, 2014). به‌طور مشابهی، Ramos و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که پس از تجویز کارواکرول افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز ناشی از تغذیه با جیره‌ی غنی از چربی به‌طور معنی‌داری تا رسیدن به سطح نرمال کاهش یافت

(Ramos *et al*., 2014). تجویز خوراکی تیمول و کارواکرول منجر به فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محافظت از سلول‌های کبدی در برابر آسیب‌های شدید می‌شود (Hashemipour *et al*., 2013). مکمل کارواکرول به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های AST، ALT، ALP و LDH در پلاسمای موش‌های تحت تیمار دی-گلوکزآمین را کاهش داد (Jayakumar *et al*., 2012). در مطالعه‌ای که رحیمی و همکاران در سال ۱۳۹۴ بر روی اثر حفاظت کبدی گیاه لعل کوهستان در مسمومیت کبدی القا شده با تتراکلرید کربن انجام دادند مشاهده کردند که با تجویز عصاره‌ی هیدروالکلی لعل کوهستان سطوح سرمی آنزیم‌های AST، ALP و ALT که در اثر تجویز کلرید کادمیوم به‌طور معنی‌دار افزایش یافته بودند کاهش یافت و به سطحی مشابه با گروه کنترل رسید. آن‌ها اثر حفاظتی عصاره‌ی لعل کوهستان را به توانایی آن در جدا کردن کادمیم از طریق تشکیل کمپلکس‌های فنل-کادمیم نسبت دادند. مهم‌ترین ترکیبات فنلی گیاه لعل کوهستان تیمول و کارواکرول است. ترکیبات فنلی از طریق اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کند. بنابراین لعل کوهستان احتمالا از طریق تقویت سیستم آنتی-اکسیدانی، منجر به غیر فعال ساختن رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط کلریدکادمیم می‌شود و از آسیب به غشای سلول‌ها و القای نکروز و همچنین از آزاد شدن آنزیم‌های کبدی به سرم جلوگیری می‌کند (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۴). بنابر این احتمال می‌رود عصاره‌ی گل ختمی به واسطه‌ی دارا بودن فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی، موسیلاژ، آلکالوئید و تانن، اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و مهارکننده‌ی پراکسیداسیون لیپیدی را از خود بروز می‌دهد و اثرات حفاظت‌کنندگی خود را در کبد اعمال می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تیمار با عصاره‌ی گل ختمی می‌تواند در بهبود آسیب کبدی ناشی از دیازینون مؤثر باشد. القاء سمیت کبدی توسط دیازینون موجب افزایش آنزیم‌های کبدی و میزان کل (Total) بیلی‌روبین و کاهش سطوح سرمی کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم شد. تیمار با عصاره‌ی گل ختمی با دوزهای به کار رفته، موجب کاهش معنی‌دار در آنزیم‌های کبدی و کل (Total) بیلی‌روبین و افزایش معنی‌دار در میزان کل (Total) پروتئین و آلبومین سرم گردید که نشان-دهنده‌ی اثرگذاری مؤثر ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ی فوق بر کاهش سمیت کبدی ایجاد شده است. از آن جایی که اثرات حفاظتی این گیاه بیش‌تر به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی آن نسبت داده شده است، لذا بررسی اختصاصی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مؤثره‌ی موجود در گیاه و همچنین مکانیسم دقیق تأثیر آن‌ها در این اثر حفاظتی، توصیه می‌گردد.

منابع

آقابابایی، ز.، محسنی، م.، بنایی، م.، نعمت‌دوست حقی، ب. و شوکت، پ. (۱۳۹۳). ارزیابی تأثیر عصاره گیاه ختمی (*Althaea officinalis*) بر بهبود توان فیزیولوژیکی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با سرب و کادمیوم. مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۳(۳): ۶۶-۵۳.

ایزدی، ف.، جعفری، م.، بهادران، ح.، عسگری، ع.، دیوسالار، ع. و صالحی، م. (۱۳۹۲). بررسی نقش N-استیل سیستئین در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیازینون در کبد و کلیه موش صحرایی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۱۲(۱۱): ۸۹۵-۹۰۶.

بهشتی‌پور، ج.، رئیس‌زاده، م.، جمالی، ر. و سیستانی، س. (۱۳۹۶). بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی یونجه بر آسیب کبدی ناشی از نیکوتین در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. ماهنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۲۵(۱۰): ۷۵۹-۷۶۹.

تروهید، ف.، میرازی، ن. و صریحی، ع. (۱۳۹۴). بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ پنیرک (*Malva neglecta* L.) بر آسیب کبدی القا شده توسط تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی نر. مجله سلول و بافت، ۶(۱): ۳۱-۴۲.

جمالی، ن.، دبیدی روشن، و. و سادات حسینی، ک. (۱۳۹۵). آسیب و استرس اکسیداتیو کبدی ناشی از القای حاد دوزهای مختلف دوکسوروبیسین: اثر پیش‌درمان شش هفته تمرین منظم هوازی. مجله پزشکی ارومیه، ۲۷(۴): ۳۲۰-۳۱۰.

رحیمی، س.، مختاری، م.، شریعتی، م. و رحیمی، م. (۱۳۹۴). اثر هپاتوپروتکتیو (حفاظت کبدی) عصاره هیدروالکلی لعل کوهستان (*Oliveria decumbens*)در برابر مسمومیت کبدی القا شده با کلرید کادمیوم در موش صحرایی نر بالغ. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲۵(۲): ۱۰۵-۱۱۱.

غلامی، م. و میرازی، ن. (۱۳۹۴). اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina* L.) بر کبد موش صحرایی نر القاء شده با تتراکلرید کربن. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ۲۰(۱۰): ۱۰۵.

فتاحی، ا.، حاجی‌زاده مقدم، ا. و باقری، ط. (۱۳۹۵). بررسی اثرات محافظت کبدی تمرین اختیاری و عصاره گیاه مریم‌گلی بر سمیت القا شده توسط دیازینون در موش های صحرایی. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۹(۳): ۶۵-۷۳.

ندایی، ل. و میرازی، ن. (۱۳۹۵). اثرات محافظت کبدی عصاره هیدرواتانولی *Tragopogon graminifolius* L. در بهبود آسیب کبدی موش‌های صحرایی نر تحت مسمومیت حاد با تتراکلرید. مجله سلول و بافت، ۷(۲).

Hussain, L., Akash, M. S. H., Tahir, M., Rehman, K., & Ahmed, K. Z. (2014). Hepatoprotective effects of methanolic extract of Alcea rosea against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. Bangladesh Journal of Pharmacology, 9(3), 322-327.

Al-Snafi, A. E. (2013). The pharmaceutical importance of Althaea officinalis and Althaea rosea: A review. Int J Pharm Tech Res, 5(3), 1387-1385.

Ashgar, M., Sheikh, A.M. and Hashmi, A. (1994). Effects of orally fed methyl parathion on some hematochemical parameters of rabbits. Pakistan. Vet. J, 14: 34-36.

Ashtiyani, C., Yarmohammady, P., Hosseini, N., & Ramazani, M. (2015). The Effect of Althaea officinalis. L Root Alcoholic Extract on Blood Sugar Level and Lipid Profiles of Streptozotocin Induced-Diabetic Rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism, 17(3), 238-250.

Banaee, M., Mirvaghefei, A.R., Rafiee, G.R. and Mojazi Amiri, B. (2008). Effect of sublethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmenalt Research, 2(2), 189-198.

Bernstein R.M., Schluter S.F. and Marchalonis J.J. (1997). Immunity In: "The Physiology of Fish". (2nd ed) Evans, D. H (Ed). New York .CRC Press. 215-242.

Canli, M. (1996). Effects of Mercury, Chromium and Nickel on Glycogen Reserves and Protein Levels in Tissues of Cyprinus caprio. Turkish Journal of Zoology, 20, 161-168.

Shah, M. D., & Iqbal, M. (2010). Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food and chemical toxicology, 48(12), 3345-3353.

Gokcimen, A., Gulle, K., Demirin, H., Bayram, D., Kocak, A., & Altuntas, I. (2007). Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. Pesticide biochemistry and physiology, 87(2), 103-108.

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 organophosphorus pesticides. Human & experimental toxicology, 18(1), 33-37.

Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A. & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. Poultry Science, 92(8): 2059-2069.

Jayakumar, S., Madankumar, A., Asokkumar, S., Raqhunandhakumar, S. & Gokula dhas, K. (2012). Potential preventive effect of carvacrol against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats. Molecular and Cellular Biochemistry, 360(1): 51-60.

Jouhari, H. E., Shariati, M., Abbasi, S., Sharifi, E., & Askari, H. R. (2010). The effects of diazinon on pituitary-gonad axis and ovarian histological changes in rats.

Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Açikgoz, 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.

Kim, Y. S., Hwang, J. W., Kang, S. H., Kim, E. H., Jeon, Y. J., Jeong, J. H., ... & Park, P. J. (2014). Thymol from Thymus quinquecostatus Celak. protects against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in Chang cells. Journal of natural medicines, 68(1), 154-162.

Mitra, V., & Metcalf, J. (2012). Metabolic functions of the liver. Anaesthesia & Intensive Care Medicine, 13(2), 54-55.

Morowati, M. (1997). Inhalation toxicity studies of thimet (phorate) in male Swiss albino mouse, Mus musculus: I. Hepatotoxicity. Environmental pollution, 96(3), 283-288.

Mosihuzzaman, M., & Choudhary, M. I. (2008). Protocols on safety, efficacy, standardization, and documentation of herbal medicine (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry, 80(10), 2195-2230.

Najafi, H., Mohamadi Yarijani, Z., Changizi-Ashtiyani, S., Mansouri, K., Modarresi, M., Madani, S. H., & Bastani, B. (2017). Protective effect of Malva sylvestris L. extract in ischemia-reperfusion induced acute kidney and remote liver injury. PloS one, 12(11), e0188270.

Osawa, T., & Kato, Y. (2005). Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. Annals of the New York Academy of Sciences, 1043(1), 440-451.

Ramos, M., Beltrán, A., Peltzer, M., Valente, A.J.M. & del Carmen Garrigós, M. (2014). Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. LWT-Food Science and Technology, 58(2), 470-477.

Rebl, A., Verleih, M., Korytář, T., Kühn, C., Wimmers, K., Köllner, B., & Goldammer, T. (2012). Identification of differentially expressed protective genes in liver of two rainbow trout strains. Veterinary Immunology and Immunopathology, 145(1-2), 305-315.

Saulsbury, M. D., Heyliger, S. O., Wang, K., & Johnson, D. J. (2009). Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. Toxicology, 259(1-2), 1-9.

Singh, K.G., Sonia, S., & Konsoor, N. (2018). In-vitro and ex-vivo studies on the antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic properties of Camellia sinensis, Hibiscus rosa sinensis, Matricaria chamomilla, Rosa SP., Zingiber officinale tea extracts. inflammation, 49, 50.

Stockham, S.L. and Scott, M. (2008). Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2nd ed. Blackwell publishing. PP:437-438,649-652,655-659,664665,676-690.

Šutovská, M., Nosáľová, G., Šutovský, J., Fraňová, S., Prisenžňáková, L., & Capek, P. (2009). Possible mechanisms of dose-dependent cough suppressive effect of Althaea officinalis rhamnogalacturonan in guinea pigs test system. International Journal of Biological Macromolecules, 45(1), 27-32.

Sweetman, S.C. (2011). Martindale: The Complete Drug Reference 37th ed. Pharmaceutical Press.

Yarijani, Z.M., Najafi, H., Shackebaei, D., Madani, S.H., Modarresi, M., & Jassemi, S.V. (2019). Amelioration of renal and hepatic function, oxidative stress, inflammation and histopathologic damages by Malva sylvestris extract in gentamicin induced renal toxicity. Biomedicine & Pharmacotherapy, 112, 108635.

Yassa, V.F., Girgis, S.M. & Abumourad, I.M.K. (2011). Potential protective effects of vitamin E on diazinon-induced DNA damage and some haematological and biochemical alterations in rats. Journal of Mediterranean Ecology, 11, 31-39.

Protective Effects of Alcoholic Extract of *Althaea officinalis* on Diazinone-Induced liver toxicity in Adult male hamster

M. Morovati-sharifabad[1]*, Z. Lotfi[2], E. Salehi[3]

Received: 2019.11.28

Accepted: 2020.6.27

Abstract

Diazinon is one of the most widely used organophosphorus insecticides, to control plant pests in agricultural fields and is known to be a harmful environmental pollutant in the world. Therefore, the study aimed to investigate the hepatoprotective effects of alcoholic extract of Althaea officinalis against Diazinon-induced liver damage in adult male hamsters. 42 male hamsters were divided into six groups: The positive control group received distilled water, The negative control group received Diazinon poison, The group receiving the Althaea officinalis extract (300 mg/kg) and the group receiving the Althaea officinalis extract (600 mg/kg) received alcoholic extract of *Althaea officinalis* at doses of 300 mg/kg and 600 mg/kg of body weight, The group receiving Diazinon and the Althaea officinalis extract (300 mg/kg) and the group receiving Diazinon and the Althaea officinalis extract (600 mg/kg) received Diazinon toxin first and then alcoholic extract of *Althaea officinalis* at doses of 300 mg/kg and 600 mg/kg of body weight. Daily the hamsters were treated orally for 15 days. At the end of the experiment, blood samples were taken and serum levels of Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Alkaline phosphatase, the whole (total) Bilirubin, the whole (total) protein and serum Albumin were measured. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test using SPSS software. In Diazinon group, there was a significant increase in serum levels of Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Alkaline phosphatase, the whole (total) Bilirubin and a significant decrease in serum (total) protein and Albumin levels compared with the positive control group. Alcoholic extract of *Althaea officinalis* caused a significant and dose-dependent decrease in the levels of hepatic enzymes and the whole (total) Bilirubin and significant increase in the whole (total) protein and serum Albumin levels. The result of this study showed that *Althaea officinalis* has a protective and therapeutic effect against Diazinon-induced hepatotoxicity in hamster.

Keywords: ***Althaea officinalis*, Hepatotoxicity, Liver enzymes, Organophosphate**

1-Assistant professor, Department of Basic sciences, faculty of Veterinary medicine, Ardakan university, Ardakan, Iran
*(Corresponding Author: mmorovati@ardakan.ac.ir)
2-M.Sc of cell and developmental biology, Department of Basic sciences, Ardakan university, Ardakan, Iran
3-Assistant professor, Department of Basic sciences, faculty of Veterinary medicine, Ardakan university, Ardakan, Iran