

The Effect of *Humulus lupulus* Extract on Serum Biochemical Parameters in Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity in Rats

Fouladi H¹, Rezagholizadeh L¹, Mahdavi Fard S¹, Ojarudi M², Khalafi A³, Mazani M^{*1}

1. Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

2. Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

3. Department of cell and molecular biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

* **Corresponding author.** Tel: +984533514357, Fax: +9804533510057, E-mail: mohammad.mazani@gmail.com

Received: Oct 4, 2020

Accepted: Dec 20, 2020

ABSTRACT

Background & objectives: The liver is one of the most important organs in the body and plays an essential role in the metabolism of drugs and toxins. Therefore, any damage to the liver can disrupt its function and cause various diseases. On the other hand, due to the increasing use of the medicinal herbs, in this study, the effects of hepatic protection of aqueous extracts of *Humulus lupulus* on liver damage induced by carbon tetrachloride in rats were investigated.

Methods: In this experimental study, 36 male Wistar rats were divided into 6 groups (n=6). Group 1 (normal control) and Group 2 (control CCl₄): administered with distilled water orally for 14 days. Groups 3, 4, and 5 received 50, 100, and 200 mg/kg of *Humulus lupulus* extract for 14 days respectively. Group 6: administered with silymarin (as standard drug) 100 mg/kg orally for 14 days. All of the groups except group 1 received 1 ml CCl₄ (1:1 v/v dissolved in olive oil) on 14th day. All animals were sacrificed and blood samples were collected to determine the biochemical parameters.

Results: Pretreatment with a *Humulus lupulus* extract significantly reduced the serum levels of ALT, AST, ALP, TG, and increased the serum HDL levels, but did not have a significant effect on GGT and LDL levels.

Conclusion: The results of this study showed that the *Humulus lupulus* extract can protect the liver from damage caused by carbon tetrachloride and have beneficial effects on lipid profile.

Keywords: Liver Damage; Carbon Tetrachloride; *Humulus lupulus*

اثر عصاره رازک بر پارامترهای بیوشیمیایی کبد در موش‌های صحرایی آسیب دیده با تتراکلرید کربن

حامد فولادی^۱، لطف‌اله رضاقلی‌زاده^۱، سینا مهدوی فرد^۱، مسعود اجارودی^۲، امیر خلفی^۳، محمد مازنی^{۱*}

۱. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. گروه بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور واحد تهران شرق، تهران، ایران

۳. گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۳۴۶۸۲ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۱۰۰۵۷ پست الکترونیک: mohammad.mazani@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: کبد یکی از بافت‌های مهم بدن و محل متابولیسم اکثر داروها و سموم می‌باشد. بنابراین هرگونه آسیب به کبد باعث اختلال در عملکرد آن و بوجود آمدن بیماری‌های مختلفی می‌شود. از طرفی با توجه به گرایش روزافزون به مصرف گیاهان دارویی، در این مطالعه اثرات محافظت کبدی ترکیب عصاره آبی گیاه رازک (*Humulus lupulus*) بر آسیب کبدی القا شده توسط تتراکلرید کربن در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: ۳۶ سر موش صحرایی نژاد ویستار انتخاب و به ۶ گروه ۶ تایی به شکل تصادفی تقسیم شدند. گروه‌های ۱ و ۲ به مدت ۱۴ روز سرم فیزیولوژی و گروه ۳، ۴ و ۵ به ترتیب دوز ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره رازک را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. گروه ۶: به مدت ۱۴ روز دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلی‌مارین (داروی استاندارد) به شکل خوراکی دریافت نمود. همه گروه‌ها بجز گروه ۱ در روز ۱۴، ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم تتراکلرید کربن دریافت کردند. پس از بیهوشی حیوانات، نمونه خون آنها به منظور آزمایشات بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: پیش درمان با عصاره گیاه رازک به طور معنی‌دار فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی و نیز سطح تری‌گلیسیرید را کاهش و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) را افزایش داد ($p < 0.05$) اما تأثیر قابل توجهی بر روی آنزیم گاما‌گلوتامیل ترانسفراز، کلسترول تام و لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه رازک می‌تواند کبد را از آسیب‌های ناشی از عوامل دارویی و سمی حفظ کرده و اثرات مفید بر پروفایل لیپیدی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آسیب کبدی، تتراکلرید کربن، گیاه رازک

دریافت: ۱۳۹۹/۷/۱۳ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۳۰

مقدمه

متابولیسم اکثر داروها و سموم در کبد می‌باشد. بسیاری از سموم یا داروها توسط سیتوکروم P450 متابولیزه شده و باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند. اگر مقدار این رادیکال‌ها بیشتر از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باشد، موجب آسیب به بیومولکول‌هایی

کبد به عنوان بزرگترین اندام داخلی بدن نقش مهمی در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی داشته و به انواع مختلفی از سموم و میکروب‌ها حساس بوده و در مقابل آنها آسیب‌پذیر است [۱]. همچنین محل

مانند لیپیدهای غشای سلول‌های کبدی می‌شوند و همچنین می‌توانند با اتصال به پروتئین‌ها و حتی DNA آسیب گسترده‌تری را به سلول وارد کنند [۲].

امروزه مشخص شده است که تغییر و تجمع چربی‌ها و فیبروز زمینه‌ساز بروز سیروز کبدی کشنده در انسان است. اگرچه پاتوژنز فیبروز کبدی کاملاً مشخص نشده است اما بدون شک گونه‌های واکنشگر اکسیژن نقش مهمی در این نوع تغییرات پاتولوژیک ایفا می‌کنند [۳]. همچنین کبد یکی از بافت‌های حیاتی و مهم بدن می‌باشد که در ساخت پروتئین‌های سرمی، برخی هورمون‌ها (اریتروپوئیتین)، ساخت اوره، ساخت صفرا نقش دارد و مهم‌تر از همه اولین سد دفاعی در برابر میکروارگانیسم‌ها بوده [۴، ۵] و محل متابولیسم اکثر داروها و سموم می‌باشد. بنابراین کبد با تهدیدهای زیادی از طرف داروها و سموم روبرو است. برای نمونه ترکیباتی مثل تیواستامید، تتراکلریدکربن، اتانول و استامینوفن بعد از ورود به کبد توسط سیتوکروم P450 موجود در رتیکیلوم اندوپلاسمیک، متابولیزه شده و در طی این عمل رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند.

تتراکلریدکربن یکی از قدیمی‌ترین و پراستفاده‌ترین ماده سمی جهت ایجاد آسیب‌های کبدی در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. در مواردی که شغل افراد مرتبط با این ترکیبات است به علت تماس شغلی و یا تماس طولانی با این ترکیبات (بدون محافظت در اتاقهای کوچک و عدم تهویه مناسب) رخ داده است. به دلیل اثرات مضر آن، اکنون این موارد ممنوع است و فقط در برخی از کاربردهای صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مسیرهای اصلی مواجهه بالقوه انسان با تتراکلریدکربن، استنشاق، بلع و تماس پوستی است. قرار گرفتن زیاد در معرض تتراکلریدکربن، می‌تواند باعث آسیب کبدی، کلیوی و سیستم عصبی مرکزی شود و به ویژه کبد به دلیل نقش آن به عنوان محل اصلی سوخت و ساز بدن به تتراکلریدکربن حساس است. گزارش‌های آزمایشگاهی ثابت کرده‌اند که

تتراکلریدکربن، هپاتوتوکسیک قوی محیطی است [۶]. این ترکیب پس از ورود به بدن توسط کبد تجزیه شده و تولید رادیکال‌های آزاد تری‌کلرومتیل و پراکسی‌تتراکلرومتیل می‌کند که می‌توانند به ماکرومولکول‌های زیستی متصل شده و باعث اختلال در عملکرد آنها و در نهایت آسیب به سلول شوند [۷، ۸]. پس با توجه به عملکرد حیاتی کبد در متابولیسم مواد سه‌گانه و تولید پروتئین‌های سرمی از جمله فاکتورهای دخیل در انعقاد، سم‌زدایی و تولید صفرا یافتن یک ماده دارویی که بتواند جلوی این آسیب‌ها را بگیرد لازم و ضروری است.

بنابراین امروزه تلاش‌هایی در جهت استفاده از گیاهان دارویی برای کاهش علائم ناشی از مواد اکسیدان انجام می‌شود. گیاهان برای محافظت خود در برابر آسیب‌های اکسیدانی ناشی از فتوسنتز، مواد پلی‌فنولی و فلاونوئیدی تولید می‌کنند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند و می‌توانند اثرات حفاظتی در برابر رادیکال‌های آزاد داشته باشند [۹].

گیاه رازک (*Humulus lupulus*) دارای مواد تلخ از جمله اسیل فلوروگلسیدهای موجود در رزین، اسانس به میزان ۱ تا ۳ درصد که حاوی میرسن^۱، لینالول^۲، فارنزن^۳ و کاریوفیلن^۴ است. از جمله مواد دیگر تانن به میزان ۲ تا ۴ درصد، فلاونوئیدها و مقدار کمی فنل کربوکسیلیک اسید از جمله اسید فرولیک و اسید کلروژنیک می‌باشد [۱۰]. مواد موثره گل‌های رازک شامل مواد و ترکیبات رزینی (۱۲ تا ۲۲ درصد)، تانن‌ها (۴ تا ۸ درصد)، اسانس (۲ تا ۵ درصد) و فلاونوئیدها و پرنیل نارنجین می‌باشد [۱۱]. مهمترین این ترکیبات «هومولون» است. این ماده در صنایع تولید ماء‌الشعیر از اهمیت خاصی برخوردار است. مهمترین مواد تشکیل‌دهنده هومولون را «آلفا و بتا اسیدهای تلخ» تشکیل می‌دهند. مهمترین اثرات رازک

^۱ Myrcene

^۲ Linalool

^۳ Farnesene

^۴ Caryophyllene

عبارتند از: آلرژی‌زا، ضددرد، ضدباکتری، ضدعفونی‌کننده، ضداسپاسم، ضدتومور، معرق، هضم‌کننده، ادرارآور، قاعده‌آور، استروژنیک، ملین، خلط‌آور، قارچ‌کش، خواب‌آور، شیرافزا، مسهل، مقوی اعصاب، مقوی معده، آرام‌بخش، مقوی رحم، ضدکرم و کاهش‌دهنده میل جنسی [۱۲، ۱۳]. زانتوهمول^۱ ماده مؤثره دیگر گیاه رازک می‌باشد که فعالیت ضد ایدز دارد و برای تهیه داروهای ضد ایدز می‌توان از عصاره این گیاه استفاده نمود [۱۰، ۱۴-۱۶]. مطالعاتی در زمینه اثرات تعدادی از ترکیبات موجود در عصاره رازک انجام گرفته، اما یافته‌های خیلی کمی در خصوص اثرات عصاره تام این گیاه بر آسیب‌های شیمیایی یا دارویی موجود می‌باشد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره آبی رازک بر پارامترهای بیوشیمیایی کبد در موش‌های صحرایی آسیب دیده با تتراکلرید کربن می‌باشد.

روش کار

این تحقیق از نظر رعایت موازین اخلاقی، مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل با کد اخلاق IR.ARUMS.REC.1398.477 می‌باشد.

جمع‌آوری و تشخیص گیاه

نمونه‌های گیاهی از آذربایجان شرقی منطقه ارسباران، کلیبر و شهرستان خداآفرین، حاشیه رودخانه ارس و ارتفاع ۴۵۰ متری در ماه‌های خرداد و تیر جمع‌آوری شد. قسمت‌های هوایی گیاه پس از تایید جنس و گونه گیاهی با استفاده از کلیدهای تشخیص معتبر در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی با کد هرباریومی ۴۱۹۳، برای استخراج عصاره آماده شد.

آماده‌سازی عصاره

اندام‌هایی هوایی گیاه رازک جدا و در سایه و در دمای محیط (۲۵-۲۰ درجه) خشک شدند. گیاه خشک‌شده، پودر و در آب مقطر به مدت هفت روز

خیسانده شد. سپس عصاره به دست آمده صاف شد تا عصاره خالص‌تر بدست آید. بعد از اینکه عصاره به‌طور کامل صاف شد، این عصاره توسط دستگاه تبخیر^۲ تغلیظ شده و جهت تهیه غلظت‌های مورد نیاز برای آزمایش استفاده گردید.

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه، ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، با میانگین وزنی 20 ± 20 گرم خریداری و جهت تطبیق با محیط و شرایط جدید به مدت یک هفته بدون هیچ مداخله تحقیقاتی نگهداری شدند. شرایط نگهداری حیوانات از نظر فیزیکی شامل دمای 23 ± 2 درجه سانتیگراد، ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی و در بستری از پوشال و بدون آلودگی صوتی بوده، تغذیه رت‌ها بدون محدودیت، با آب شهری و غذای مخصوص موش انجام گرفت. برای ایجاد آسیب کبدی، ترکیب تتراکلرید کربن با روغن زیتون با نسبت برابر (1:1 V/V) استفاده گردید و از مخلوط حاصل، ۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت‌ها به شکل داخل صفاقی تزریق شد [۱۷].

نحوه تیمار

۳۶ سر از رت‌ها به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم‌بندی شدند و ۶ سر باقی‌مانده جهت تعیین سمیت عصاره انتخاب شدند.

- گروه اول و دوم: به مدت ۱۴ روز سرم فیزیولوژی به شکل گاوآژ دریافت کردند.

- گروه سوم و چهارم و پنجم: به ترتیب دوز ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند.

- گروه ششم: به مدت ۱۴ روز دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلی‌مارین (داروی استاندارد) به شکل خوراکی دریافت کردند. همه گروه‌ها بجز گروه ۱ در روز ۱۴، ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم از ترکیب مساوی تتراکلرید کربن و روغن زیتون دریافت کردند. به

² Rotary Evaporator

¹ Xanthohumol

گروه ۱ بجای تتراکلریدکربن، ۱ میلی لیتر بر کیلو گرم روغن زیتون تزریق شد.

مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی

۴۸ ساعت بعد از تزریق تتراکلریدکربن، موش‌ها برای نمونه‌گیری آماده شدند. در این روش، خونگیری مستقیماً از قلب انجام شد، این روش برای پایان دوره که رت‌ها یوتانایز (مرگ بدون درد) می‌شوند مناسب است. در این روش ابتدا رت‌ها با تزریق ۲۰۰ میکرولیتر از ترکیب کتامین (۱۶۰ میکرولیتر) و زایلانین ۱۰ درصد (۴۰ میکرولیتر) بی‌هوش شدند و سپس از ناحیه پشت روی تخت تشریح خوابانیده شده و سپس با استفاده از یک سرنگ که بصورت عمودی وارد بطن گردید خونگیری انجام شد. این عمل باید خیلی سریع انجام گیرد تا خون لخته نشود. پس از جمع‌آوری خون برای جلوگیری از لخته و یا همولیز شدن سر سرنگ را جدا کرده و لبه سرنگ را به جدار داخلی لوله لخته تماس داده و عمل انتقال خون به آرامی انجام گرفت. پس از خونگیری، نمونه‌های خون به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه نگهداری شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. در مرحله بعد سرم به دقت جداسازی و درون میکروتیوپ‌های اپندورف ریخته شد. سرم‌ها تا قبل از انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی در یخچال نگهداری و برای مدت زمان نگهداری طولانی به فریزر منتقل شدند. آزمایشات بیوشیمیایی شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT)، تری گلیسیرید، کلسترول تام، LDL و HDL بر روی این سرم‌ها انجام شد. این آزمایشات با استفاده از کیت تشخیصی پارس آزمون متناسب با دستورالعمل مشخص شده در هر کیت آزمایشگاهی و با استفاده از روش‌های دستی و با استفاده از فتومتر (Ependorf, Ecom-E6125) انجام شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 انجام گرفت. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد و با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه^۱ و با تست تکمیلی پست‌هوک^۲ آنالیز شد. همچنین میزان معنی‌داری به صورت $p < 0.05$ گزارش گردید.

یافته‌ها

جدول ۱ مربوط به تغییرات سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی و جدول ۲ مربوط به تغییرات سطوح سرمی پروفایل لیپیدی می‌باشد.

تاثیر پیش درمان عصاره‌ها بر روی آنزیم کبدی

تزریق تتراکلریدکربن در رت‌ها باعث افزایش در سطح سرمی AST، ALT با معنی‌داری ($p < 0.001$) و افزایش AST با معنی‌داری ($p < 0.05$) گردید. پیش‌درمان با هر سه دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم از عصاره گیاه رازک توانست به شکل معنی‌داری ($p < 0.001$) سطح آنزیم AST را کاهش دهد. همچنین دوزهای مورد استفاده عصاره سطح فعالیت آنزیم‌های ALT و ALP را با سطح معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه آسیب کاهش داد. تغییرات در میزان فعالیت GGT معنی‌دار نبود.

تاثیر پیش درمان عصاره‌ها بر پروفایل لیپیدی

تزریق تتراکلریدکربن در رت‌ها باعث افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) در سطح سرمی TG نسبت به گروه کنترل نرمال گردید. پیش‌درمان با دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ عصاره گیاه توانست به شکل معنی‌داری ($p < 0.05$) سطح سرمی تری گلیسیرید را کاهش دهد. هر چند در دوز ۱۰۰ میلی گرم عصاره کاهش نسبی نسبت به گروه کنترل آسیب مشاهده گردید ولی این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود.

¹ One Way ANOVA

² Post Hoc

۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره رازک توانست به شکل معنی داری ($p < 0.05$) سطح سرمی این لیپوپروتئین را افزایش دهد. به نظر می رسد تاثیر عصاره بر میزان این فاکتور وابسته به دوز عصاره می باشد.

ایجاد آسیب با تتراکلرید کربن و همچنین درمان با دوزهای مختلف عصاره تغییرات معنی داری در میزان کلسترول و نیز سطح LDL سرم ایجاد نکرد. تزریق تتراکلرید کربن در رت ها موجب کاهش معنی دار ($p < 0.05$) در سطح سرمی HDL نسبت به گروه کنترل نرمال گردید. پیش درمان با دوزهای

جدول ۱. تاثیر تتراکلرید کربن و دوزهای مختلف عصاره رازک بر آنزیم های کبدی

متغیرها	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	GGT (U/L)	گروه ها
کنترل نرمال (NC)	۱۶۱/۳±۳۲/۱	۴۴±۶/۷	۴۲۷±۴۴	۶/۳±۰/۵	کنترل نرمال
گروه آسیب (CCl ₄)	۱۵۴۳/۶±۱۸۵/۱**	۳۱۵±۶۸/۴**	۵۳۹±۲۴۲ *	۶/۷±۰/۵	گروه آسیب
دوز ۵۰ mg/kg عصاره	۴۱۰/۷±۴۵/۶ ††	۱۴۹±۳۱ †	۴۰۷±۴۳ †	۶/۳±۰/۴	دوز ۵۰ mg/kg عصاره
دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره	۲۸۳±۶۳ ††	۱۵۳±۴۱ †	۳۵۲±۲۲ †	۶/۳±۰/۵	دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره
دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره	۲۱۶±۳۶ ††	۱۲۱±۱۰ †	۳۴۸±۴۰ †	۶/۱±۰/۱	دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره
دوز ۱۰۰ mg/kg سیلی مارین	۱۶۳±۲۷ ††	۱۱۶±۵۱ †	۴۰۷±۵۸ †	۶/۰±۰/۴	دوز ۱۰۰ mg/kg سیلی مارین

اعداد به انحراف معیار± صورت میانگین گزارش شده است. * نشان دهنده معنادار بودن ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل نرمال. ** نشان دهنده معنادار بودن ($p < 0.001$) نسبت به گروه آسیب. † نشان دهنده معنادار بودن ($p < 0.05$) نسبت به گروه آسیب. †† نشان دهنده معنادار بودن ($p < 0.001$) نسبت به گروه آسیب می باشد.

جدول ۲. تاثیر تتراکلرید کربن و دوزهای مختلف عصاره رازک بر پروفایل لیپیدی

متغیرها	تری گلیسرید (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	گروه ها
کنترل نرمال (NC)	۴۸±۴/۲	۷۶/۷±۱/۹	۴۲±۴/۹	۲۹±۵/۱	کنترل نرمال
گروه آسیب (CCl ₄)	۱۴۵±۲۸/۴ *	۹۸±۹/۹	۳۰/۵±۲/۶ *	۳۶±۵/۱	گروه آسیب
دوز ۵۰ mg/kg عصاره	۹۹±۵/۵ †	۸۴±۵/۹	۴۵±۳/۷ †	۳۵±۲/۴	دوز ۵۰ mg/kg عصاره
دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره	۱۱۲/۷±۸/۶	۹۷±۰/۹	۴۹/۷±۸/۲ †	۳۰±۴/۱	دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره
دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره	۵۶±۱۶/۷ †	۸۰±۴/۱	۵۱/۷±۶/۲ †	۲۹±۵/۹	دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره
دوز ۱۰۰ mg/kg سیلی مارین	۸۹±۵/۰ †	۷۸±۸/۸	۴۳±۱۲/۹ †	۳۰±۶/۳	دوز ۱۰۰ mg/kg سیلی مارین

اعداد به صورت انحراف معیار± میانگین گزارش شده است. * نشان دهنده معنادار بودن ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل نرمال. † نشان دهنده معنادار بودن ($p < 0.05$) نسبت به گروه آسیب می باشد.

بحث

گیاهان دارویی به خاطر اثرات آنتی اکسیدانی و عوارض کمتر، در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته اند. در این مطالعه اثرات عصاره رازک بر پارامترهای بیوشیمیایی کبدی در سمیت کبدی القاشده با تتراکلرید کربن مورد بررسی قرار گرفته است. تتراکلرید کربن با تغییر متابولیسم باعث ایجاد تغییرات پاتولوژیکی از جمله واکنش های زنجیره ای پراکسیداسیون لیپیدی و همچنین آسیب غشای

سلول های کبدی، اختلال در نفوذپذیری هپاتوسیت ها و تراوش آنزیم های سیتوزولی به محیط برون سلولی می شود [۱۸]. به همین منظور برای ارزیابی آسیب کبدی، میزان فعالیت آنزیم های ALT، AST، ALP و GGT مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج این پژوهش نشان داد که تتراکلرید کربن باعث ایجاد آسیب کبدی در موش های صحرایی شده و فعالیت آنزیم های کبدی را در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش داد که مطابق با یافته های سایر محققین

بود [۱۹،۲۰]. پیش‌درمان با عصاره گیاه رازک توانست سطوح آنزیم‌های کبدی را به طور معنی‌دار نسبت به گروه کنترل آسیب کاهش دهد. این اثر را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه رازک نسبت داد که با حفظ لیپیدهای غشایی در برابر اکسیداسیون، باعث تثبیت غشای سلول شده و از خروج آنزیم‌ها از هپاتوسیت‌ها جلوگیری می‌کند [۲۱]. همچنین این گیاه با داشتن ترکیباتی مانند زانتوهومول^۱ می‌تواند مانع از التهاب هپاتوسیت‌ها شده یا از تخریب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کبد جلوگیری کند [۲۲،۲۳].

کبد محل اصلی متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین است و عملکرد آن شامل بیوسنتز لیپید، لیپوپروتئین، دسته‌بندی، انتقال، ترشح جذب و تجزیه لیپوپروتئین‌ها می‌باشد. از آنجایی که لیپیدها در پلاسما بصورت نامحلول هستند، آنها معمولاً در ترکیب با پروتئین به شکل کمپلکس‌های محلول به نام لیپوپروتئین می‌باشند [۲۴]. تزریق تتراکلرید کربن سبب افزایش معنی‌دار میزان تری‌گلیسرید و کاهش در سطح سرمی HDL شد. اسیدهای چرب درونی و خارجی (اندوژن و اگزوژن) توسط فرایند β -اکسیداسیون در کبد متابولیزه می‌شوند. در حالی که این فرایند به خوبی در یک کبد سالم متعادل است، آسیب کبد می‌تواند منجر به مهار فرایند اکسیداسیون شود [۶].

در مطالعه حاضر، پیش‌درمان با عصاره‌های گیاه رازک باعث کاهش معنی‌دار مقدار تری‌گلیسرید و افزایش HDL شدند. تغییرات پروفایل لیپیدی از جمله افزایش تری‌گلیسرید و کاهش HDL می‌تواند توسط استرس اکسیداتیو از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تسریع شود [۲۵]. پیش‌درمان با عصاره رازک باعث کاهش معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید و افزایش HDL شد.

^۱ Xanthohumol

تاکاهاشی^۲ و همکاران نشان دادند که عصاره رازک به خاطر داشتن درصد بالایی از ترکیب زانتوهومول دارای قدرت کاهندگی سطح تری‌گلیسرید بوده و به این ترتیب می‌تواند توده چربی را در موش‌های آزمایشگاهی چاق کمتر کند [۲۶]. همچنین لیپوپروتئین HDL به علت دارا بودن پاراکسوناز و آریل استراز که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و نقش مخرب آن‌ها تأثیر بسزایی دارد [۲۷]. به نظر می‌رسد که بخشی از قدرت حفاظتی عصاره از طریق افزایش سطح لیپوپروتئین HDL در خون باشد.

نتیجه‌گیری

نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که گیاه رازک مانع از تجمع تری‌گلیسریدها و اسیدهای چرب در کبد شده و می‌تواند این بافت را از آسیب‌های حاصل از تتراکلرید کربن محافظت کند. با توسعه این پژوهش می‌توان از این گیاه در پیشگیری از آسیب ناشی از داروها و سموم یا درمان کبد چرب استفاده کرد. از محدودیت‌های این مطالعه، مدت زمان کوتاه تحقیق و عدم اندازه‌گیری آسیب بافتی و مارکرهای مربوط به استرس اکسیداتیو بود. پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیشتری در زمینه اثر عصاره این گیاه بر عوارض کبدی ناشی از سایر سموم و داروها صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل بوده و نویسندگان مقاله از زحمات کارشناسان و اعضای هیئت علمی دانشکده پزشکی و پیراپزشکی این دانشگاه که زمینه انجام این پژوهش را فراهم نمودند تشکر می‌نمایند.

^۲ Takahashi

References

- 1- Mazani M, Rezagholizadeh L, Shamsi S, Mahdavi-fard S, Ojarudi M, Salimnejad R, et al. Protection of CCl₄-induced hepatic and renal damage by linalool. *Drug Chem Toxicol*. 2020 Jul;13:1-9.
- 2- Guengerich FP. A history of the roles of cytochrome P450 enzymes in the toxicity of drugs. *Toxicol Res*. 2020 Aug;37(1):1-23.
- 3- García-Sánchez A, Miranda-Díaz AG, Cardona-Muñoz EG. The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro- and antioxidant properties in chronic diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Jul;23:1-16.
- 4-Danladi J, Abdusalam A, Timbuak J, Miriga A, Dahiru A. Hepatoprotective effect of black seed (*Nigella sativa*) oil on carbon tetrachloride (CCL₄) induced liver toxicity in adult wistar rats. *J Dental Med Sci*. 2013 Jan; 4(3):56-62.
- 5- Kumar CH, Ramesh A, Kumar JS, Ishaq BM. A review on hepatoprotective activity of medicinal plants. *Int J Pharm Sci Res*. 2011 Mar;2(3):501-515.
- 6- Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*. 2003;33(2):105-36.
- 7- Cheng N, Ren N, Gao H, Lei X, Zheng J, Cao W. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Schisandra chinensis* pollen extract on CCl₄-induced acute liver damage in mice. *Food Chem Toxicol*. 2013 May;55:234-40.
- 8- Sahreen S, Khan MR, Khan RA. Hepatoprotective effects of methanol extract of *Carissa opaca* leaves on CCl₄-induced damage in rat. *BMC complement Altern Med*. 2011 Jun;11(1):48.
- 9- Rubió L, Motilva MJ, Romero MP. Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2013 Jan;53(9):943-53.
- 10- Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Humulus lupulus* L., flos. European Medicine Agency. 2014 May;1-38.
- 11- Kobus-Cisowska J, Szymanowska-Powalowska D, Szczepaniak O, Kmiecik D, Przeor M, Gramza-Michałowska A, et al. Composition and in vitro effects of cultivars of *Humulus lupulus* L. Hops on cholinesterase activity and microbial growth. *Nutrients*. 2019 Jun;11(6):1-14.
- 12- Srećec S, Krpan V, Petravić-Tominac V, Kosir I, Cerenak A. Importance of medical effects of Xanthohumol, Hop (*Humulus lupulus* L.) bioflavonoid in restructuring of World Hop Industry. *Agric Conspec Sci*. 2012 Jan;77(2):61-67.
- 13- Naiman R, Rakel D. Chapter 9 – Insomnia. *Integrative Medicine*. 2017 Mar;74-85.e3.
- 14- Karimi G, Vahabzadeh M, Lari P, Rashedinia M, Moshiri M. "Silymarin", a promising pharmacological agent for treatment of diseases. *Iran J Basic Med Sci*. 2011 Jul;14(4):308-17.
- 15- Tavakkoli KH, Hosseini SE, Shariati M. The effect of hops (*Humulus lupulus* L.) ethanol extracts on the sexual hormones levels and sexual dynastic cells of Syrian adult male mice. *J Sabzevar Uni Med Sci*. 2014 Jul;21(3):514-21. [Full text in Persian].
- 16- Yousofvand R. Effects of perinatal exposure to alcoholic extract of hops (*Humulus lupulus*) flowers on sexual puberty and some reproductive parameters in female mice. *Razi J Med Sci*. 2018 Apr-May;25(2):10-20. [Full text in Persian].
- 17- Vuda M, D'Souza R, Upadhy S, Kumar V, Rao N, Kumar V, et al. Hepatoprotective and antioxidant activity of aqueous extract of *Hybanthus enneaspermus* against CCl₄-induced liver injury in rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2012 Nov;64(7-8):855-9.
- 18- Sun J, Zhou B, Tang C, Gou Y, Chen H, Wang Y, et al. Characterization, antioxidant activity and hepatoprotective effect of purple sweetpotato polysaccharides. *Inter Jo Biol Macromol*. 2018 Aug;115:69-76.
- 19- Liu Y, Zheng D, Su L, Wang Q, Li Y. Protective effect of polysaccharide from *Agaricus bisporus* in Tibet area of China against tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Inter J Biol Macromol*. 2018 Oct;118(Pt B):1488-93.
- 20- Sokar SS, El-Sayad MES, Ghoneim MES, Shebl AM. Combination of sitagliptin and silymarin ameliorates liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Biomed Pharmacother*. 2017 May;89:98-107.

- 21- Zhou D, Wang C, Li X, Zhao Y, Jing J, Ma Y, et al. Dietary functional flavonoids as natural hepatoprotective agents against acute liver injury from hop (*Humulus lupulus L.*). J Funct Foods. 2018 Jun;45:471-79.
- 22- Pinto C, Duque AL, Rodríguez-Galdón B, Cestero JJ, Macías P. Xanthohumol prevents carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. Food Chem Toxicol. 2012 Oct;50(10):3405-12.
- 23- Dorn C, Heilmann J, Hellerbrand C. Protective effect of xanthohumol on toxin-induced liver inflammation and fibrosis. Z Gastroenterol. 2012;5(1):29-36.
- 24- Trieb M, Horvath A, Birner-Gruenberger R, Spindelboeck W, Stadlbauer V, Taschler U, et al. Liver disease alters high-density lipoprotein composition, metabolism and function. Biochim Biophys Acta. 2016 Jul;1861(7):630-8.
- 25- Ojarudi M, Mazani M, Hajihosseini R, Moradi A, Rezagholizadeh L. The synergistic effects of hydroalcoholic extracts of Cinnamon and Ginger on the biochemical parameters of CCl4-intoxicated rats. J Ardabil Univ Med Sci. Winter 2019;18(4):429-439. [Full text in Persian].
- 26- Takahashi K, Osada K. Effect of dietary purified xanthohumol from Hop (*Humulus lupulus L.*) pomace on adipose tissue mass, fasting blood glucose level, and lipid metabolism in KK-Ay mice. J Oleo Sci. 2017 May;66(5):531-41.
- 27- Brites F, Martin M, Guillas I, Kontush A. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. BBA Clin. 2017 Aug;19(8):66-77.