مطالعه اثر محافظتی و آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی قارچ‌های صدفی درختی و صدفی صورتی بر آسیب کبدی القاء شده توسط تتراکلرید کربن در موش رت

حلیمه مبارک[1]، فرزاد نیازپور[2]، رضی‌الله جعفری‌جوزانی[3*]

۱- دانشجوی دکتری حرفه‌ای، بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲- مربی، دکتری حرفه‌ای پزشکی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
* آدرس مکاتبه: تبریز، جاده تبریز، بلوار غواصان، روبروی شهرک خاوران، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی
صندوق‌پستی: ۱۶۴۷۱-۵۱۶۶۶، تلفن: ۰۹۱۲۴۲۵۱۵۸۱، نمابر: ۳۹۷-۶۳۷۸۷۳۴ (۰۴۱)
پست الکترونیک: rjoozani@tabrizu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۷ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۱۱/۱۴

چکیده

مقدمه: آسیب کبدی ناشی از مواد شیمیایی سمی و برخی داروها اثرات سوئی بر متابولیسم بدن دارد. تتراکلرید کربن (CCL4) قادر به ایجاد آسیب کبدی در انسان و حیوانات است. در نبود داروهایی که قادر به محافظت کبد در برابر این آسیب‌ها باشند، طب رایج نیازمند استفاده از توان احتمالی داروهایی گیاهی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این زمینه می‌باشند.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی عصاره گیاهی قارچ‌های صدفی درختی (Pleurotus Osteratus) و صدفی صورتی (Pleurotus Djamor) بر آسیب‌های کبدی القاشده توسط تتراکلرید کربن در موش صحرایی (رت) بود.

روش بررسی: در این مطالعه، ۳۵ رأس موش نر به هفت گروه تقسیم شدند که به گروه‌های مربوطه تتراکلرید کربن، عصاره‌های قارچی و سیلیمارین (به عنوان گروه کنترل مثبت) تزریق شدند. سپس برای بررسی اثر ترکیبات تزریق شده، آزمایش‌های بیوشیمیایی مورد نظر انجام گرفته شدند.

نتایج: سطوح بالای آنزیم‌های سرمی (serum glutamate pyruvate transaminase) SGPT (Alanine Aminotransferase) (ALT)، (Serum glutamate oxaloacetate transaminase) SGOT (Aspartate Aminotransferase) (AST)، ALP (alkaline phosphatase) و ACP (Acyl carrier protein) دال بر نشت سلولی و از دست رفتن تمامیت غشای هپاتوسیت‌ها به دنبال تزریق تتراکلریدکربن می‌باشد. در گروه‌هایی که تحت درمان با عصاره‌ها بودند، مقادیر سرمی آنزیم‌های ذکر شده در مقایسه با گروه درمان شده با تتراکلریدکربن کاهش یافت. همچنین می‌توان با مقایسه گروه‌های دریافت‌کننده عصاره‌ها با گروه دریافت‌کننده سیلیمارین این احتمال را مطرح نمود که اثر محافظتی این عصاره‌ها بر روی هپاتوسیت‌ها، قابل مقایسه با سیلیمارین باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که عصاره‌های مورداستفاده در این مطالعه با حفظ ساختار و تمامیت غشا هپاتوسیت‌ها یا ترمیم سلول‌های آسیب‌دیده موجب کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی و اثر حفاظت کبدی متعاقب تجویز تتراکلریدکربن می‌شوند.

گل‌واژگان: آسیب کبدی، آنتی‌اکسیدان، تتراکلریدکربن، قارچ صدفی و درختی

مقدمه

کبد بزرگ‌ترین عضو در بدن مهره‌داران بوده و دارای فعالیت‌های شدید متابولیکی می‌باشد. آسیب کبدی ناشی از مواد شیمیایی سمی و برخی داروها اثرات سوئی بر متابولیسم بدن دارد. در این میان داروهای گیاهی می‌توانند نقش مهمی در مبارزه با این آسیب‌ها داشته باشند. ظهور مجدد علاقه به مصرف داروهای گیاهی برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های کبدی قابل‌توجه می‌باشد. این مسأله بویژه در کشورهای آسیایی با تمدن کهن همچون کشورهای چین، هند و ایران دارای اهمیت زیادی می‌باشد [۳۱].

اثرات سمی مواد شیمیایی و داروها موجب آسیب کبدی می‌شود. این آسیب کبدی احتمالاً به دلیل اتصال کووالان متابولیت‌های سمی به ارگانل‌های هپاتوسیت‌ها و بروز نکروز مرکز لوبولی رخ می‌دهد [۱۴]. بیماری‌های کبدی از جمله مهم‌ترین مشکلات بهداشتی دنیای امروز محسوب می‌شوند. در نبود داروهایی که قادر به محافظت کبد در برابر این آسیب‌ها باشند، طب رایج نیازمند استفاده از توان احتمالی داروهای گیاهی در این زمینه می‌باشند [۲۹].

تتراکلرید کربن (CCL4) قادر به ایجاد آسیب کبدی در انسان و حیوانات است [۹]. تصور می‌شود که یکی از علل اصلی آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن ناشی از رادیکال‌های آزاد تولید شده بر اثر تتراکلرید کربن و پراکسیداسیون چربی هپاتوسیت‌ها باشد. بر این اساس فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد و یا مهار تولید رادیکال‌های آزاد در حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از تتراکلرید کربن نقش مهمی دارند [۱۰].

رادیکال‌های اکسیژن توسط نور خورشید، پرتو ماورا بنفش، پرتوهای یونیزان، واکنش‌های شیمیایی و سوخت‌وساز بدن تولید می‌شوند و می‌توانند طیف گسترده‌ای از آسیب‌های سلولی را ایجاد نمایند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها تسریع روند پیرشدگی سلولی است. علاوه بر این، رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، عوامل اکسیدان با انرژی بالا مانند پراکسی نیتریت به‌عنوان واسطه التهاب، شوک و ایسکمی نقش ایفا می‌کنند [۱۱].

در طب سنتی کشور چین، بسیاری از محصولات منتج از گیاهان دارویی در درمان طیف وسیعی از اختلالات از جمله سرطان استفاده می‌شود [۱۹]؛ علاوه بر این، تحقیق بر روی مواد فعال زیستی این گیاهان و بررسی سازوکار عملکردی این مواد به شکل فزاینده‌ای رو به افزایش است. توان محافظت کبد در برابر آسیب‌های اکسیداتیو توسط گیاهان مختلفی گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به *Curcuma longa*، *Solanum nigrum*، *Ganoderma formosanum*، *Boehmeria nivea* var. Nivea و *Sirulina maxima* [۳۰، ۲۸، ۲۱، ۲۰، ۱۳].

با در نظر گرفتن اینکه تمدن‌های کهن شرقی همواره از گیاهان دارویی برای درمان امراض استفاده می‌کرده‌اند، برخی از محققین از عصاره قارچ‌های مختلف برای تحریک سیستم ایمنی و بهره برده‌اند [۲۳، ۳۲]. بر این اساس بر آن شدیم تا اثر محافظتی عصاره قارچ‌های صدفی درختی (Pleurotus Osteratus) و صدفی صورتی (Pleurotus Djamor) که از جمله قارچ‌های خوراکی چتردار هستند را بر آسیب‌های کبدی القاشده توسط تتراکلریدکربن در موش صحرایی مطالعه نماییم.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره قارچ‌ها

قارچ‌های صدفی صورتی و صدفی درختی از مزرعه گل بهار واقع در شهریار تهران تهیه شد. قارچ‌ها پس از خشک شدن در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی‌گراد) توسط هاون به شکل پودر درآمدند. جهت استخراج عصاره اتانولی از اتانول ۷۰ درجه و روش پرکولاسیون استفاده شد؛ حلال (اتانول) با استفاده از روتاری و با روش تقطیر در خلأ خارج شد [۴۵].

حیوانات مورد آزمایش

۳۵ سر موش نر با وزن بیست و پنج تا پنجاه گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. حیوانات یک هفته قبل از شروع آزمایش‌های به خانه حیوانات منتقل شدند تا با محیط جدید هماهنگ شوند. آب و غذا آزادانه در اختیار موش‌ها قرار گرفت.

برنامه درمانی

هفت گروه آزمایش طراحی شد، بدین‌صورت که در هر گروه پنج سر موش به طور تصادفی قرار گرفت: گروه اول به عنوان گروه شاهد فرض شد و برای مدت ده روز، روزانه (در یک نوبت) یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل به شکل داخل صفاقی دریافت نمود، گروه دوم: برای مدت ده روز، روزانه یک میلی‌لیتر تتراکلریدکربن (تهیه‌شده از شرکت Merck®, Germany) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به شکل داخل صفاقی دریافت نمود، گروه سوم و چهارم: بعد از دریافت تتراکلرید کربن همانند گروه دوم روزانه به ترتیب از عصاره قارچ‌های صدفی درختی و صورتی به میزان سیصد میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن دریافت نمودند، گروه پنجم و ششم نیز به ترتیب همانند گروه‌های سه و چهار بوده با این تفاوت که تتراکلرید کربن دریافت نکردند [۴۵، ۴۴]، گروه هفت بعد از دریافت روزانه تتراکلریدکربن با دوز گفته شده، هر روز در یک نوبت داروی سیلیمارین (شرکت گل دارو، اصفهان - ایران) را به میزان ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به شکل داخل صفاقی دریافت نمود [۴۶].

حیوانات در روز یازدهم بعد از شروع آزمایشات کشته شدند و خون از شریان کاروتید گرفته شد و برای جداسازی سرم به آزمایشگاه ارسال شد.

آزمایش‌های بیوشیمیایی

آنزیم‌های SGOT(AST)، SGPT(ALT)، ALP و ACP در سرم خون موش‌ها اندازه‌گیری شد. مقادیر کلسترول تام، بیلی‌روبین، اوره و کراتینین نیز در همان نمونه سرم‌ها آزمایش شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون و با فوتومتر (Awareness, StatFax 3200, USA) صورت گرفت.

اندازه‌گیری پراکسیداسیون چربی

به این منظور یکصد میلی‌گرم از بافت تازه کبد هر موش در بافر PBS سرد (صفر درجه سانتی‌گراد) (تهیه شده از شرکت Merck®, Germany) هموژن شده و بعد از سانتریفیوژ در دور ۱۰ هزار به مدت ۱۵ دقیقه، مایع رویی برداشت شده و تا زمان انجام آزمایش در منفی بیست درجه نگهداری شد. در زمان انجام آزمایش پس از ذوب کردن نمونه‌ها با روش تیوباربیتوریک اسید [۳۷] اقدام به اندازه‌گیری متابولیت مالون دی آلدهید در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر شد.

آنالیز آماری

یافته‌های به دست آمده از گروه‌های مورد آزمایش، با استفاده از نرم‌افزار آنالیز چند دامنه‌ای دانکن (DMRT statistical analysis software) برای تجزیه آماری مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده به صورت Mean±SD ارزیابی و تجزیه و تحلیل شد. اختلافات داده‌ها با P< ۰/۰۱ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی

سطوح بالای آنزیم‌های سرمی دال بر نشت سلولی و از دست رفتن تمامیت غشای هپاتوسیت‌ها می‌باشد. اگرچه سطح سرمی آنزیم‌ها معیار مستقیمی برای ارزیابی آسیب کبدی رخ داده نیست، اما در هر صورت می‌تواند وضعیت کبد را نشان دهد [۳۵].

با مشاهده جدول شماره ۱ می‌توان ملاحظه نمود که افزایش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در گروه دوم رخ داده و افزایش فعالیت آنزیم ALT، AST، ALP، و ACP در سرم موش‌هایی که تحت درمان با تتراکلرید کربن بوده‌اند افزایش یافته است [۳۴]. کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در موش‌های (گروه سه و چهار) که تحت درمان با تتراکلرید کربن و عصاره قارچ صدفی درختی (سیصد میلی‌گرم به ازای هر سر) و قارچ صدفی صورتی (سیصد میلی‌گرم به ازای هر سر) بودند، نشان می‌دهد که این عصاره‌ها احتمالاً دارای اثرات محافظت کبدی می‌باشند. در گروهی که بعد از ایجاد آسیب کبدی تحت درمان با سیلیمارین (گروه هفت) بودند، سطح سرمی آنزیم‌ها به شکل محسوسی کاهش یافت. گروه‌هایی که تنها عصاره اتانولی این قارچ‌ها را دریافت کرده بودند، دارای سطوح سرمی آنزیمی نزدیک به گروه شاهد (گروه یک) بودند.

جدول شماره ۱- سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین در گروه‌های مختلف. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد و تفاوت میانگین‌ها در سطح P<۰/۰۱ معنی‌دار در نظر گرفته شده است. در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف‌های متفاوت نامگذاری شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند. a مربوط به داده‌های گروه کنترل (شاهد) است. نتایج گروه تیمار که با حرف a مشخص شده‌اند از نظر آماری با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ندارند. در حالی که، سایر حروف در ستون‌ها با نتایج گروه‌های کنترل و گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌داری دارند.

گروه	تحت درمان با	AST آنزیم (U/l)	ALT آنزیم (U/l)	ALP آنزیم (U/l)	ACP آنزیم (U/l)	بیلی‌روبین (mg/100 ml)
۱	**شاهد**	۱۱۹/۴۷ ± ۲/۳۹[a]	۱۱۵/۰۱± ۱/۹۳[a]	۱۹۳/۰۴ ±۵/۴۵ [a]	۱۰/۴۱ ± ۰/۶۷[a]	۰/۹۸ ± ۰/۰۸[a]
۲	**تتراکلریدکربن**	۲۵۴/۴۷ ± ۳/۷۸[b]	۲۳۲/۹۰ ± ۱/۸۶[b]	۳۴۱/۴۲ ± ۱/۰۰[b]	۴۱/۰۶ ±۱/۴۵ [b]	۲/۸۴ ± ۰/۲۱[b]
۳	**تتراکلریدکربن و عصاره قارچ صدفی صورتی**	۱۳۴/۱۳ ± ۵/۵۶[c]	۱۳۵/۳۵ ± ۲/۹۱[c]	۲۱۲/۷۵ ± ۳/۱۲[c]	۱۵/۹۸ ± ۱/۶۲[c]	۱/۲۳ ± ۰/۰۶[a]
۴	**تتراکلریدکربن و عصاره قارچ صدفی درختی**	۱۶۱/۷۳ ± ۱/۳۷[d]	۱۵۰/۰۵ ± ۲/۶۰[d]	۲۴۴/۲۶ ± ۷/۴۸[d]	۱۸/۹۵ ± ۰/۷۶[d]	۱/۵۷ ± ۰/۱۰[d]
۵	**عصاره قارچ صدفی صورتی**	۱۲۸/۳۵ ± ۱/۳۴[a]	۱۱۲/۴۱ ± ۴/۹۳[a]	۱۹۳/۳۱ ± ۱/۴۱[a]	۱۰/۵۰ ± ۰/۳۵[a]	۱/۱۵ ± ۰/۰۹[a]
۶	**عصاره قارچ صدفی درختی**	۱۲۷/۱۴ ± ۳/۷۲[a]	۱۰۹/۸۹ ± ۱/۹۸[a]	۱۹۱/۳۴ ± ۵/۵۴[a]	۹/۸۶ ± ۰/۵۰[a]	۰/۹۶ ± ۰/۰۶[a]
۷	**تتراکلریدکربن و سیلیمارین**	۱۲۶/۳۲ ± ۳/۵۷[a]	۱۱۲/۴۷ ± ۳/۲۶[a]	۱۹۴/۱۶ ± ۴/۵۴[a]	۱۰/۲۲± ۱/۰۱[a]	۱/۳۵ ± ۰/۴۱[a]
	SD (P<۰/۰۱)	۱۰/۲۰	۴/۸۶	۵/۳۸	۱/۸۹	۰/۴۴

سطوح سرمی ALP و ACP نیز نشانگر وضعیت عملکرد هپاتوسیت‌ها می‌باشد. با افزایش فشار در مجاری صفراوی ساخت ALP افزایش می‌یابد [۲۲]. در گروه‌هایی که تحت درمان با عصاره‌ها (گروه سه و چهار) بودند، مقادیر سرمی ALP و ACP در مقایسه با گروه درمان شده با تتراکلرید کربن (گروه دو) کاهش یافت. می‌توان با مقایسه گروه‌های دریافت‌کننده عصاره‌ها با گروه دریافت‌کننده سیلیمارین (گروه هفت) این احتمال را مطرح نمود که اثر محافظتی این عصاره‌ها بر روی هپاتوسیت‌ها، قابل‌مقایسه با سیلیمارین باشد (جدول شماره ۱).

مقادیر سرمی بیلی‌روبین در گروه تحت درمان با تتراکلرید کربن (گروه دو) به شکل محسوسی بیشتر از گروه شاهد (گروه یک) است. این موضوع می‌تواند دال بر رخداد آسیب کبدی متعاقب تجویز تتراکلرید کربن باشد. در موش‌های گروه سه و چهار کاهش مقادیر سرمی بیلی‌روبین قابل‌مقایسه با گروه هفت (درمان با سیلیمارین) می‌باشد.

مقادیر کراتینین، کلسترول و اوره به شکل محسوسی در موش‌های درمان شده با تتراکلرید کربن (گروه دو) در مقایسه با گروه شاهد (گروه یک) افزایش‌یافته‌اند. این در حالی است که مقادیر این سه فراسنجه در گروه‌های درمان شده با عصاره‌های قارچی (گروه‌های سه و چهار) قابل مقایسه با گروه شاهد (گروه یک) است (جدول شماره ۲).

نتایج آزمایش پراکسیداسیون چربی

مالون‌دی‌آلدهید (Malondialdehyde; MDA) محصول ثانویه پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشایی می باشد [۳۶]، و به‌عنوان یک شاخص آسیب بافتی که یک‌سری از واکنش‌های زنجیره‌ای غشایی را درگیر می‌کند، به شمار می‌آید.

افزایش مشخصی در میزان مالون دی‌آلدهید کبد گروه دو که در معرض تتراکلرید کربن قرار گرفته بودند در مقایسه با گروه اول دیده شد. درمان با عصاره قارچ‌ها در گروه سوم و چهارم رت‌ها منجر به کاهش قابل توجهی در غلظت مالون دی‌آلدهید، که احتمالاً به علت محدود شدن پراکسیداسیون چربی در بافت کبد آسیب دیده می‌باشد، گردید (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲- مقایسه سطوح سرمی کلسترول، اوره و کراتینین در گروه‌های مختلف. مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد و تفاوت میانگین‌ها در سطح P<۰/۰۱ معنی‌دار درنظر گرفته شده است. در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف‌های متفاوت نامگذاری شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند. a مربوط به داده‌های گروه کنترل (شاهد) است. نتایج گروه تیمار که با حرف a مشخص شده‌اند از نظر آماری با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ندارند. درحالی‌که، سایر حروف در ستون‌ها با نتایج گروه‌های کنترل و گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌داری دارند.

گروه	تحت درمان با	کلسترول تام (mg/dl)	اوره (mg/dl)	کراتینین (mg/dl)
۱	شاهد	۱۰۷/۵۲ ± ۷/۴۲[a]	۲۴/۲۳ ± ۱/۴۹[a]	۰/۵۹ ± ۰/۱۰[a]
۲	تتراکلرید کربن	۲۵۲/۸۳±۱۴/۵۴ [b]	۱۳۶/۱۳ ± ۱۸/۹۹[b]	۲/۶۳ ± ۰/۱۲[b]
۳	تتراکلرید کربن و عصاره قارچ صدفی صورتی	۱۹۰/۵۹ ± ۳/۸۱ [c]	۴۶/۹۴ ± ۵/۱۷[c]	۱/۱۴ ± ۰/۱۱[c]
۴	تتراکلرید کربن و عصاره قارچ صدفی درختی	۱۸۶/۴۲ ± ۵/۰۱ [d]	۵۳/۱۹ ± ۱/۱۴[d]	۱/۴۴ ± ۰/۰۴[d]
۵	عصاره قارچ صدفی صورتی	۹۸/۵۶ ± ۳/۱۵[a]	۲۱/۶۴ ± ۰/۲۷[a]	۰/۵۴ ± ۰/۱۱[a]
۶	عصاره قارچ صدفی درختی	۱۱۷/۶۲ ± ۳/۱۷[b]	۲۱/۵۹ ± ۰/۸۹[a]	۰/۷۳ ± ۰/۰۸[a]
۷	تتراکلرید کربن و سیلیمارین	۱۲۴/۹۱ ± ۱/۸۲[e]	۴۴/۶۰ ± ۴/۳۵[e]	۱/۵۴ ± ۰/۰۲[e]
	SD (P<۰/۰۱)	۱۰/۶۸۴۲	۱۳/۵۱۰۷	۰/۱۴۰۳

جدول شماره ۳- مقایسه غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) در گروه‌های مختلف. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد و تفاوت میانگین‌ها در سطح P<۰/۰۱ معنی‌دار درنظر گرفته شده است. در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف‌های متفاوت نامگذاری شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند. a مربوط به داده‌های گروه کنترل (شاهد) است. نتایج گروه تیمار که با حرف a مشخص شده‌اند از نظر آماری با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ندارند. درحالی‌که، سایر حروف در ستون‌ها با نتایج گروه‌های کنترل و گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌داری دارند.

گروه	تحت درمان با	MDA (nm/ml)
۱	شاهد	۰/۲۳ ± ۶/۵۱[a]
۲	تتراکلرید کربن	۱/۷۴ ± ۱۱/۱۲[b]
۳	تتراکلرید کربن و عصاره قارچ صدفی صورتی	۰/۵۴ ± ۳/۸۱[c]
۴	تتراکلرید کربن و عصاره قارچ صدفی درختی	۰/۴۸ ± ۵/۰۱[d]
۵	عصاره قارچ صدفی صورتی	۰/۲۴ ± ۳/۱۵[a]
۶	عصاره قارچ صدفی درختی	۰/۲۹ ± ۲/۹۳[b]
۷	تتراکلرید کربن و سیلیمارین	۰/۶۱ ± ۱/۸۲[e]
	SD (P<۰/۰۱)	۱/۱۲۳۴۵

بحث

کبد مهم‌ترین عضو حساس در بدن است که پس از در معرض قرار گرفتن با سموم کبدی مختلف باعث بروز فرایندهای التهابی و وقایع پاتولوژیک می‌شود. سلول‌های کوپفر در پاسخ به نکروز و یا مستقیماً تحت تأثیر سموم کبدی، میانجی‌گرهای پیش التهابی را آزاد می‌کند، که این امر سبب تشدید آسیب کبدی القاء شده با تتراکلریدکربن می‌شود [۳۹]. تراکلریدکربن تحت شرایط آزمایشگاهی از معمول‌ترین و پر

مصرف‌ترین مسموم کننده‌های کبدی می‌باشد که عملکرد آن بر اساس پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌باشد [۴۱]. نشان داده شده است که در طی متابولیسم تتراکلرید کربن از طریق سیستم سیتوکروم P450 کبدی دو ترکیب سمی شامل تری کلرومتیل (CCL3) و پراکسی تتراکلرومتیل (OOCCL3) تولید می‌شوند که موجب صدمات حاد کبدی از جمله سیروز و نکروز می‌شوند [۳۸] که تری‌کلرومتیل به سرعت با اکسیژن مولکولی برای تولید رادیکال‌های پراکسی تری کلرومتیل واکنش می‌دهد. این رادیکال‌ها با حمله به اسیدهای چرب غیراشباع و آلکیله کردن گروه‌های پروتئینی و دیگر ماکرومولکول‌های سلولی منجر به پراکسیداسیون لیپیدها در غشاء، تغییر فعالیت آنزیمی و در نهایت ایجاد آسیب سلولی و نکروز می‌شوند [۲۶]. با توجه به نتایج برگرفته از این مطالعه آسیب سلول‌های کبدی توسط تتراکلریدکربن با افزایش فعالیت سرمی آنزیم‌های اندازه‌گیری شده، مشخص می‌شود. درواقع تتراکلریدکربن با افزایش نفوذپذیری غشای هپاتوسیت‌ها موجب نشت سلولی می‌شود [۲۴].

تشکیل پراکسیدهای چربی با ایجاد تغییرات آسیب‌شناختی مانند سرکوب ساخت پروتئین و افزایش سطح سرمی برخی آنزیم‌ها مثل SGPT (ALT)، SGOT (AST)، ALP و ACP همراه است [۱۵]، در این بین سطوح سرمی بالای آنزیم‌هایی مانند SGOT، SGPT و ALP [۳۵]، کاهش محتوای گلوتاتیون و فعالیت کاتالاز [۱۸] و افزایش پراکسیداسیون چربی [۲۵] قابل‌توجه است. به نظر می‌رسد که عصاره‌های مورد استفاده در این مطالعه با حفظ ساختار و تمامیت غشا هپاتوسیت‌ها یا ترمیم سلول‌های آسیب‌دیده موجب کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی متعاقب تجویز تتراکلرید کربن می‌شوند. کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی می‌تواند نشانه اثر حفاظت کبدی این عصاره‌ها باشد. آنزیم ALT تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند. بر این مبنا آنزیم ALT می‌تواند به عنوان یک آنزیم اختصاصی کبدی برای تشخیص آسیب کبدی استفاده شود [۳۳]. افزایش سطح کراتینین، کلسترول و اوره در گروه‌های درمان شده با تتراکلرید کربن می‌تواند نشانه رخداد همزمان آسیب کبدی و کلیوی به دنبال تزریق تتراکلرید کربن باشد.

سیلی‌مارین (Silymarin) عصاره فلاوونوئید (Flevonoid) تصفیه و خالص‌سازی شده بذر گیاه خار مریم (Silybum marianun) می‌باشد که به طور وسیع برای درمان بیماری‌های کبدی با منشأ مختلف مورداستفاده قرار می‌گیرد [۴۰]. از جمله ترکیبات پلی‌فنلی گیاهی می‌باشد که به دو روش آنزیمی و غیرآنزیمی اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌پراکسیدانی از خود نشان می‌دهد [۴۳]. از آنجایی که اثرات حفاظت کبدی سیلی‌مارین در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است در این مطالعه از آن به عنوان عاملی استاندارد و کنترل مثبت برای مقایسه با عصاره قارچ‌های صدفی درختی و صدفی صورتی در این مطالعه در زمینه حفاظت از کبد در برابر عامل توکسیک تتراکلرید کربن، استفاده شده است. سیلی‌مارین همچنین بر روی سیستم سم‌زدایی سیتوکروم P450 اثر مهاری دارد و از متابولیسم ترکیات سمی مثل استامینوفن، تتراکلرید کربن، تیواسامید و ... جلوگیری می‌کند [۴۲].

همچنین در موش‌های مسموم شده با تتراکلریدکربن، به نظر می‌رسد که رادیکال‌های آزاد از طریق اثر بر لیپیدهای غشایی و اسیدهای چرب غیر اشباع شبکه داخل سیتوپلاسمی و پراکسیده کردن آنها سبب تشکیل پراکسیدهای لیپیدی مانند مالون دی‌آلدئید می‌شوند و این حالت سبب می‌شود که غشاء یکپارچگی خود را از دست داده و در نتیجه منجر به آسیب کبدی شود. افزایش میزان مالون دی‌آلدئید منجر به ضعف مکانیسم‌های تدافعی آنتی‌اکسیدانی شده و در نتیجه از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد جلوگیری نخواهد شد. از طرفی چون مالون دی‌آلدئید خود ترکیبی فعال و بسیار واکنش‌پذیر است با حمله به مولکول‌های دیگر، ضمن اتصالی کووالان و محکم، عملکرد مولکول‌ها و نهایتاً عملکرد سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به عنوان مثال اتصال مالون دی‌آلدئید به مولکول‌های پروتئینی، محصولات نهایی لیپوکسید شده پیشرفته (ALE = Advanced Lipoxidation End-products) را بوجود می‌آورد. همچنین اتصال مالون دی‌آلدهید به بازهای

پورینی در ساختمان DNA سبب خاصیت جهش‌زایی، آتروژنی و سرطان‌زایی مالون دی‌آلدهید می‌شود.

قارچ‌های چتردار علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای عملکردهای متنوع و مفید دیگری نیز هستند؛ از جمله اینکه حاوی یک ایزومر طبیعی از لووستاتین می‌باشند. لووستاتین دارویی است که از طرف اداره غذا و داروی ایالات متحده دارای تأییدیه است. این ترکیب توسط قارچ آسپرژیلوس ترئوس طی فرآیند تخمیر تولید می‌شود که در کاهش چربی و کلسترول خون می‌تواند مؤثر واقع شود [۴۹]. موی‌نولین اولین داروی تجاری و اختصاصی است که با مهار آنزیم HMG-CoA (5-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A) ردوکتاز برای درمان افزایش کلسترول مورداستفاده قرارگرفته است [۱]. جنس قارچ‌های صدفی دارای چندین گونه است که موی‌نولین تولید می‌کنند [۱۶]. در مطالعه‌ای که توسط محققین دیگر صورت گرفت مشخص شد که افزودن چهار درصد از پودر خشک‌شده قارچ‌های صدفی به جیره غذایی دارای کلسترول بالا می‌تواند به شکل قابل‌توجهی از افزایش کلسترول در سرم و کبد موش‌ها جلوگیری نماید و نیز موجب باز توزیع HDL و کاهش LDL و VLDL شود. ایشان مشاهده نمودند که متعاقب افزودن پودر خشک شده قارچ‌های صدفی فعالیت آنزیم HMG-CoA ردوکتاز در کبد کاهش می‌یابد [۵، ۲۷]. همین محققین در مطالعه دیگری دریافتند که متعاقب افزودن پانزده تا بیست گرم قارچ صدفی خشک شده برای مدت یک ماه به رژیم غذایی مبتلایان به افزایش کلسترول خون، کاهش این چربی در تعداد زیادی از بیماران مشاهده می‌شود [۶]. بر این مبنا این احتمال که قارچ‌های صدفی موجب پایین آمدن کلسترول در خون انسان شوند، وجود دارد. گذشته از این به علت میزان بالای پروتئین و فیبر و همین‌طور چربی اندک، این قارچ‌ها به عنوان یک غذای ایده‌آل به منظور جلوگیری از افزایش قند خون توصیه می‌شوند [۱۷].

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، عصاره قارچ‌های صدفی درختی و صدفی صورتی اثر محافظت از کبد را در برابر اثرات مخرب تتراکلرید کربن که یک ترکیبی با خاصیت سمیتی بر روی کبد که به عنوان یک بافتی با وظایف متابولیکی مختلفی (ساخت، ذخیره و ترشح انواع ترکیبات مورد نیاز بدنی) شناخته شده است، ایفا می‌کند. در نتیجه می‌توان از عصاره این قارچ‌ها به‌عنوان داروی آنتی‌اکسیدان و محافظتی در برابر انواع مختلف ترکیبات سمی و تولیدکننده رادیکال‌های آزاد استفاده نمود که امروزه داروهایی هم از این نوع قارچ‌ها تولید شدند که در امر درمان کمک‌کننده می‌باشند.

منابع

1. Alberts AW, Chen J, Kuron V and Hunt J. Mevinolin, a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethyl glutaryl -co-enzyme a reductase and cholesterol – coverting agent. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1980; 77: 3957 - 61.

2. Allain CC, Poon LS, Chan, CSG, Richmond W and Fu, PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 1974; 20: 470 - 5.

3. Bandyopadhyay U, Das D and Banerjee RK. Reactive oxygen species oxidative damage and pathogenesis. *Curr. Sc.* 1999; 77 (5): 658 - 65.

4. Bhattacharya A, Chatterjee A, Ghosal S and Bhattacharya SK. Antioxidant activity of active tannoid principles of *Emblica officinalis* (Amla). *Indian J. Exp. Bio.* 1999; 37: 676 - 80.

5. Bobek P, Ginter E, Jurcovicova M, Kuniak L, Ozdin L and Mekinova D. Cholesterol lowering effect of the mushroom *Pleurotus ostreatus* in hereditary hypercholesterolemia rats. *Ann. Nutr. Metab.* 1991; 35: 191 - 5.

6. Bobek P, Ozdin L, and Galbavy S. Dose and time dependent hypocholesterolemic effect of oystermushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rats. *Nutrition* 1998; 14: 282 - 6.

7. McComb RB, Bowers GN Jr, Bowers GN and Mc Comb RB. Study of optimum buffer conditions

for measuring alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin. Chem*. 1972; 18: 97 - 104.

8. Bowers LR. Kinetic serum creatinine assays I. The role of various factors in determining specificity. *Clin. Chem*. 1980; 26: 551 - 4.

9. Brattin and Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest.* 1985; 53: 599 - 623.

10. Castro JA, Ferrya GC, Castro CR, Sasame H, Fenos OM and Gillette JR. Prevention of carbon tetra chloride induced necrosis by inhibitors of drug metabolism. Further studies on the mechanism of their action. *Biochem. Pharmacol*. 1974; 23: 295 - 302.

11. Cuzzocrea S, Riley, DP, Caputi AP, and Sealvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia/reperfurion injury. *Pharmacology Reviews Pharmacol. Rev*. 2001; 53: 135 - 9.

12. Daumas BT, Watson WA and Biggs HG. Albumin Standards and Measurements of Serum–Albumin. *Clin. Che. Acta*. 1971; 31: 81 - 2.

13. Duran T, Zamora MR, Carrbajal PMC, Torres-Durán PV, Miranda-Zamora R, Paredes-Carbajal MC, Mascher D, Blé-Castillo J, Díaz-Zagoya JC and Juárez-Oropeza MA. Studies on the preventive effect of *Sirulina maxima* on fatty liver development induced by carbon tetrachloride, in the rat. *J. Ethanopharmacol*. 1999; 64: 141 - 7.

14. Ellenborn M.G and Mathew J. diagnosis and treatment of human poisoning. 2nd ed. Williams and Wilkins Publication (Lippin cott) Philadelphia U.S.A. 1997, pp: 1127 - 9.

15. Faroon O, DeRosa CT, Smith L. Carbon tetra chloroide Health effects toxicokinetics, human exposure and environmental fate. *Toxic Indust. Health* 1994; 10: 4 - 20.

16. Gunde-Cimerman N, and Plemenitas A, Cimerman A. *Pleurotus* fungi produce mevinolin, an inhibitor of HMG CoA reductase. *FEMS Microbiol. Letters* 1993; 113: 333 - 87.

17. Gunde-Cimerman N. Medicinal value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (*Agaricales S.R., Basidiomycetes). International Journal of Medicinal Mushrooms* 1999; 1: 69 - 80.

18. Kamiyan T, Sato C, Liu J, Tajiri K, Miyakawa H and Marumo F. Role of lipid peroxidation in acetaminophen induced hepatotoxicity, comparison with carbon tetra chloride. *Topical* 1993; 66: 7 - 12.

19. Li D, Yang SL and Lian B. Exploration of clinical study of anti-leukemia cell drug – resistance by traditional Chinese medicine. *Zhang Xi Yi Jie Hezazhi*. 1995; 15: 636 - 7.

20. Lin JM, Lin CC, Chen MF, Ujiie T and Takada A. Radical scavenger and antihepatotoxic activity of *Ganoderma formosanum*, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma neo-japonium*. *J. Ethanopharmacol*. 1995; 47: 33 - 41.

21. Lin, Jen MH, Lot S and Lin JM. Evaluation of the hepatoprotective and antioxidant activity of *Boehmeria nivea var. nivea* and *B nivea var*, *tenacissma*. *J. Ethanopharmacol*. 1998; 60: 9 - 17.

22. Moss DW and Butterworth PJ. Enzymology and Medicine. Pitman Medical press, London, 1974, p: 139.

23. Ng TB. A review of research of on the protein bound polysaccharide (polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor*. *Basdiomycetes. Polypraceae Gen Pharmacol*. 1998; 30: 1-4.

24. Paduraru I, Saramet A, Danila GH, Nichifor M, Jerca L, Iacobovici A, Ungureanu D and Filip M. Antioxidant action of a new flavonic derivative in aceute carbon tetra chloride intoxication. *Cur. J. Drug Metab. Pharmacokinet*. 1996; 21: 1 - 6.

25. Recknagael R. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacological Review* 1967; 19: 145 - 96.

26. Recknagel RDO, Glende EA, Dolak JA and Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol. Ther.* 1989; 43: 139 - 54.

27. Rodwell VW, Nordsfrom JL and Mitschelen JJ. Regulation of HMG-COA reductase. *Advances in Lipid Res*. 1976; 14: 1 - 74.

28. Selvam R, Subramonian L, Gayathri R, and Angayarkanni N. The antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa*). *J. Ethanopharmacol*. 1995; 47: 33 - 41 and 59 - 67.

29. Sethuraman MG, Lalitha KG and Rajkapoor B. Hepatoprotective activity of *Sarcostemma brevistigma* against carbon tetra chloride induced hepatic damage in rats. *Curr. Sci*. 2003; 84 (9): 1186 - 7.

30. Sultana S, Perwaiz S, Iqbal M and Athar M. Crude extracts of hepatoprotective plants, *Solanum nigrum* and *Cichorium intybus* inhibit free radical – mediated DNA damage. *J. Ethanopharmacol*. 1995; 45 (3): 189.

31. Venukumar MR and Latha MS. Andioxidant activity of *Curculigo orchioides* in carbon tetra chloride induced hepatopathy in rats. *Indian. J. Clin. Biochem*. 2001; 17 (2): 80 - 7.

32. Wang HX, Liu WK, Ng TB and Ooi VE Chang ST. The immunomodulatory and antitumour activities of lectins from the mushroom *Tricholoma mongolicum. Immunopharmacol*. 1996; 31: 205 - 11.

33. Willianson EM, Okpako DT and Evans FJ. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. In: Pharmacological Methods in Phytotherapy Research. *John Wiley, Chichester, England*. 1996; 1: 184 - 6.

34. Wolf PL. Biochemical diagnosis of liver disease. *Indian J. Clin. Biochem*. 1999; 14: 59 - 65.

35. Zimmerman HJ and Seeff LB. Enzymes in hepatic disease. In: *Diagnostic Enzymology*, Goodly EL. (Ed.). Lea and Febiger, Philadelphia, 1970, pp: 24 - 6.

36. Vaca C E, Wilhelm J and Harms-Ringdahl M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. *Mutation Res.* 1988; 195: 137 - 49.

37. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay or lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbitaric acid reaction. *Anal. Biochem*. 1979; 95: 351 - 8.

38. Badger DA, Sauer JM, Hoglen NC, Jolley CS and Sipes IG. The role of inflammatory cells and cytochrome P450 in the potentiation of CCl4-induced liver injury by a single dose of retinol. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 1996; 141 (2): 507 - 19.

39. El-Samaligy MS, Afifi NN and Mahmoud EA. Evaluation of hybrid liposomes encapsulated silymarin regarding physical stability and in vivo performance. *Int. J. Pharm*. 2006; 319 (12): 121 - 9.

40. Samiee S, Moazami N, Haghighi S, Aziz Mohseni S, Mirdamadi S and Bakhtiari MR. Screening of lovastatin production by *Filamentous Fungi*. *Iran. Biomed. J*. 2003; 7 (1): 29 - 33.

41. He SX, Luo JY, Wang YP, Wang YL, Fu H, Xu JL and et al. Effects of extract from Ginkgo biloba on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *World J. Gastroenterol*. 2006 Jun; 12 (24): 3924 - 8.

42. Zix MH and Agarwal R. Novel cancer chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin. *Biochm. Biophys. Res. Commun*. 1997; 239: 334 - 9.

43. Madani H, Asgari S, Naderi GH and Talebolhosseni M. Protective effect of polyphenolic extract of *Cichorium intybus* L. on rat liver toxicity. *J. Med. Plants* 2004; 5 (17): 32 - 8.

44. Jayakumar T, Ramesh E and Geraldine P. Antioxidant activity of the oyster mushroom, Pleurotus ostreatus on CCl4-induced liver injury in rats. *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44: 1989 - 96.

45. Jayakumar H, Thomas P.A. and Geraldine P. Protective effect of an extract of the oyster mushroom,Pleurotus ostreatus, on antioxidants of major organs of aged rats. *Exp. Gerontol*. 2007; 42: 183 - 91.

46. Deera K.I., Praboth V.S. and Snehal S.P. Heoatoprotective Effect of Virgoli Syrup Against CCL4-Induced Hepatic Injuty in Rats. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2015; 7: 221 - 6.