مطالعه تجربی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مامیران (*Chelidonium majus*) بر تست‌های عملکردی کبد و کلیه در رت‌های هیپرکلسترولمی شده

علی زارعی[1]، سعید چنگیزی آشتیانی[2]*، اعظم رضایی[3]، ناصر نبی‌عبدل یوسفی[4]، علی قاسمی[4]

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی، شاخه علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی دامغان، دامغان، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۳- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی ارسنجان، ارسنجان، ایران

٤- کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام‌نور اصفهان، اصفهان، ایران

*آدرس مکاتبه: اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، گروه فیزیولوژی، تلفن و نمابر: ۳٤۱۷۳۵۲٦ (۰۸٦)

پست الکترونیک: dr.ashtiyani@arakmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۷ **تاریخ تصویب:** ۹۲/۵/۲۸

چکیده

مقدمه: امروزه بعضی از داروهای گیاهی بدون انجام آزمایش‌های استاندارد سم‌شناسی وارد بازار می‌شوند و تصور بر این است که داروهای گیاهی فاقد سمیت می‌باشند، ولی گزارش‌هایی درخصوص سمیت بعضی از این داروها به چشم می‌خورد.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی سمیت کبدی و کلیوی عصاره هیدرو الکلی گیاه مامیران می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه ۳۵ سر رت نر نژاد ویستار در ۵ گروه هفت‌تایی انتخاب شدند. گروه کنترل با رژیم غذایی عادی، گروه شاهد با رژیم غذای چرب و گروه‌های تجربی حیوانات هیپرکلسترولمی شده که به ترتیب دوز حداقلی ۱۰۰، متوسط ۲۰۰ و حداکثری ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی گیاه مامیران (تهیه شده از اطراف باغ‌های شمال) را به صورت گاواژ دریافت می‌کنند. بعد از پایان این دوره (۲۱ روزه)، جهت بررسی متغیرهای کبد مثل آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، آلبومین، توتال‌پروتئین و کلیه مانند کراتینین و نیتروژن اوره خون (BUN)، خونگیری انجام شد و اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: بین گروه‌های تحت درمان با عصاره، در مقادیر ALT تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد. AST، آلبومین، توتال پروتئین و کراتینین در دوزهای بالای عصاره افزایش ولی میزان ALP کاهش یافت. BUN در گروه‌های دریافت کننده عصاره نسبت به گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. کلسترول در دوز حداقل نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p \leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: از آنجایی‌که میزان AST، آلبومین و کراتینین در دوز حداکثر عصاره افزایش یافته است به نظر می‌رسد که عصاره گیاه مامیران بخصوص در دوزهای بالا اثرات سمی روی کبد و کلیه داشته باشد.

گل‌واژگان: مامیران، رت، کبد، کلسترول، کلیه

مقدمه

اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم‌های کبدی مشخصی را در خون نشان می‌دهد. تحت شرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند، اما زمانی که کبد آسیب می‌بیند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند. حساس‌ترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد، آمینو ترانسفرازها هستند که شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) می‌باشند. بالا رفتن سطح این آنزیم‌ها در خون نشانه آسیب کبدی است [۲،۱]. میزان نیتروژن اوره خون (BUN= Blood Nitrogen Urea) و کراتینین نیز از رایج‌ترین نشانه‌های آزمایشگاهی عملکرد کلیه می‌باشند و ارتباط نزدیکی با فیلتراسیون گلومرولار دارند [۳]. با توجه به مصرف گسترده داروهای شیمیایی برای درمان اختلالات کبدی و کلیوی، برای اظهار نظر پیرامون سمیت کبدی و کلیوی گیاه مامیران سعی شده با استفاده از حیوانات آزمایشگاهی همچون موش صحرایی که از لحاظ متابولیسم روده‌ای و کبدی شبیه انسان است قضاوت علمی نمود [٤، ۳] زیرا امروزه بعضی از داروهای گیاهی بدون انجام آزمایش‌های استاندارد سم‌شناسی وارد بازار می‌شوند و تصور عموم بر این است که داروهای گیاهی فاقد سمیت می‌باشند ولی گزارش‌هایی درخصوص سمیت بعضی از این داروها از جمله مامیران به چشم می‌خورد [۵، ۳].

گیاه مامیران با نام علمی *Chelidonium majus* به خانواده Papaveraceae تعلق دارد و به طور وسیعی در سراسر جهان پراکنده شده است. در آسیا، اروپا، آفریقای شمالی و امریکای جنوبی یافت می‌شود و عمدتاً در خاک‌های حاوی نیتروژن رشد می‌کند ترکیبات این گیاه شامل اسیدها: (malic acid، citric acid، Coffeic acid 0.4%، ferulic acid 0.02%، P-coumaric acid 0.06%، gentisic acid، hydroxybenzoic acid، p-chelidonic acid) و آلکالوئیدها: (Benzophenanthridines، chelerythrine، chelidonine، sanguinarine، isochelidonine Protoberberines berberine، coptisine، dihydrocoptisine، Protopine stylopine)، آسپارتین و سایر ترکیبات از جمله ساپونین، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و یک فیتوستاتین (chelidocystatin) می‌باشد [۵]. در بسیاری از کشورهای اروپایی، آسیا و آفریقا، مامیران از قرون وسطی برای اختلالات کبدی و صفراوی مورد استفاده قرار می‌گرفت. در معالجه سنتی و هومئوپاتی از گیاه مامیران در درمان گرفتگی‌های جریان خون، بیماری‌های یرقان و تسکین دردهای ناشی از ورم استفاده می‌شود [٦]. گیاه مامیران دارای فعالیت هیپوگلیسمی و آنتی‌هیپرگلیسمی می‌باشد [٦]. در طب سنتی چینی، از آلکالوئید بربرین به دست آمده از گیاه مامیران برای کاهش گلوکز خون در دیابت نوع ۲ استفاده می‌شود [٦]. بربرین موجود در گیاه مامیران باعث مهار عملکرد میتوکندری و کاهش ATP داخل سلولی در دیابت القا شده با استرپتوزوسین می‌شود [۷]. همچنین از گیاه مامیران در درمان زگیل، میخچه، اگزما و تومورها استفاده می‌شود [٦]. شیره آن برای درمان اختلالات تومورهای پوستی نیز به کار می‌رود ولی با این حال برخی از منابع علمی حکایت از اثرات سمی این گیاه دارد [۵]. مازانتی (Mazzanti) و همکاران در سال (۲۰۰۹) گزارش کردند که گیاه مامیران در دوزهای بالا باعث کاهش معنی‌دار در سطح گلوتاتیون و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در کبد می‌شود [۸]. نتیجه تحقیقات انجام شده بر روی گیاه مامیران نشان می‌دهد که این گیاه دارای خاصیت آنتی میکروبی، آنتی ویروسی و ضد قارچی است [۱۱،۱۰،۹]. آلکالوئید benzophenanthridine موجود در گیاه مامیران در درمان بیماری پریودنتال به کار می‌رود این آلکالوئید دارای عملکرد ضد پوسیدگی می‌باشد و بدین‌وسیله از خراب شدن دندان جلوگیری می‌کند [٦].

بنابراین هدف از این مطالعه تجربی بررسی اثر عصاره الکلی گیاه مامیران بر تست‌های عملکردی کبد و کلیه در رت‌های مبتلا به هیپرکلسترولمی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و کلیه حیوانات مورد مطالعه از محل تکثیر و پرورش مؤسسه رازی استان فارس تهیه

و در شرایط استاندارد دما و نور نگهداری شدند. مطالعه حاضر بر اساس رعایت کلیه کدهای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی تدوین شده توسط وزارت بهداشت درمان، آموزش پزشکی به انجام رسید. قبل از انجام تحقیقات حیوانات را توزین نموده تا همگی آنها در یک محدوده وزنی خاصی باشند. میانگین وزن رت‌های نر مورد استفاده در این تحقیق ۵ ± ۱۷۰ گرم بود. تعداد کل رت‌ها ۳۵ سر بودند که در ابتدا به طور تصادفی به ۵ گروه هفت‌تایی به صورت زیر تقسیم‌بندی شدند:

گروه کنترل: در طی مدت آزمایش، حیوانات در این گروه هیچ‌گونه حلال یا دارویی دریافت نکرده و تحت تیمار رژیم غذایی عادی بودند.

گروه شاهد تزریق: به رت‌های هیپرکلسترولمی شده (به غذای موش‌ها مقدار ۲ درصد کلسترول اضافه کرده تا هیپرکلسترولمی شوند) روزانه ۰/۲ میلی‌لیتر حلال دارو (نرمال سالین) تزریق شد. (به مدت ۲۱ روز).

گروه تجربی ۱: رت‌های هیپرکلسترولمی دریافت کننده عصاره الکلی گیاه مامیران روزانه میزان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (دوز حداقل) به مدت ۲۱ روز (رأس ساعت ۹ صبح تزریقات به صورت گاواژ انجام گرفت) [۱۲].

گروه تجربی ۲: رت‌های هیپرکلسترولمی دریافت کننده عصاره الکلی گیاه مامیران روزانه به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (دوز متوسط) به مدت ۲۱ روز (رأس ساعت ۹ صبح تزریقات به صورت گاواژ انجام گرفت) [۱۲].

گروه تجربی ۳: رت‌های هیپرکلسترولمی دریافت کننده عصاره الکلی گیاه مامیران روزانه به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (دوز حداکثر) به مدت ۲۱ روز (رأس ساعت ۹ صبح تزریقات به صورت گاواژ انجام گرفت) [۱۲].

روش تهیه غذای پر کلسترول ۲ درصد: برای تهیه غذای پر کلسترول ۲ درصد، ۲۰ گرم پودر کلسترول خالص مرک (Fluke Chemika) را با ۵ میلی‌لیتر روغن زیتون گرم شده حل نموده و با یک کیلوگرم غذای رت به خوبی مخلوط کردیم. برای جلوگیری از خراب شدن غذای حیوانات سعی شد غذای آنان فقط برای دو روز در یخچال و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۳،۱٤،۱۵].

عصاره‌گیری: جهت تهیه عصاره الکلی مامیران، پس از تهیه بخش‌های هوایی گیاه مامیران از اطراف باغ‌های شمال و جداکردن ناخالصی‌های آن، مقدار ٦۰۰ گرم از گیاه به وسیله آسیاب خرد شد و با نسبت ۱ به ۵ با الکل اتیلیک ۹۰ درصد مخلوط شد. پس از مدت ۲٤ ساعت روی دستگاه تکان‌دهنده قرار داده شد، سپس عصاره حاصل توسط کاغذ صافی و قیف صاف شده بر روی تفاله باقیمانده الکل اتیلیک ۷۰ درصد ریخته شده و مجدداً به مدت ۲٤ ساعت بر روی دستگاه تکان دهنده قرار داده شد و دوباره عصاره به دست آمده صاف و به عصاره اول اضافه شد. بعد از آن عصاره در دستگاه تقطیر در خلا در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد و دور چرخش ۷۰ درصد تقطیر شد تا زمانی که حجم باقیمانده به یک پنجم حجم اولیه رسید. در این حالت مخزن عصاره از دستگاه جدا و عصاره باقی‌مانده پس از سرد شدن سه مرتبه و در هر بار با حجم ۵۰ سی‌سی کلروفرم دکانته شد. باقیمانده در ظرف پتری ریخته شد و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون خشک شد. در نهایت از عصاره به دست آمده (حدود ۱۲ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم گیاه خرد شده) به وسیله نرمال سالین غلظت‌های متفاوت مورد نیاز بر حسب میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان تهیه شد [۱٦،۸].

تمام گروه‌های تجربی در طی دوره آزمایش تحت تیمار رژیم غذای چرب بودند. دوره آزمایش ۲۱ روز و در این دوره هر روز راس ساعت ۹ صبح تزریقات به صورت گاواژ انجام گرفت. بعد از پایان این دوره به وسیله بیهوشی خفیف با اتر به منظور ارزیابی میزان غلظت فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما، خون‌گیری از قلب به عمل آمد و بعد از سانتریفیوژ خون به میزان ۳۰۰۰ دور در دقیقه، سرم‌ها را جدا و جهت اندازه‌گیری فاکتورهای موردنظر به آزمایشگاه انتقال داده شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های ALT، AST با روش بافر فسفات DGKC، آنزیم آلکالین فسفاتاز با روش p-Nitrophenyl phosphate AMP، آلبومین با روش Bromocresol Green، توتال پروتئین با روشBiuret reaction end point (توسط کیت تجاری پارس آزمون، تهران، پارس) انجام گرفت. BUN به روش دی استیل منوکسیم و کلسترول به روش آنزیمی کلسترول

اکسیداز اندازه‌گیری شدند [۱۷]. میانگین‌های به دست آمده (Mean ± SEM)، از اندازه‌گیری میزان فاکتورهای مذکور در گروه‌های مختلف از طریق آزمون آماری one way ANOVAs و تست Tukey مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 17 و با در نظر گرفتن (p≤۰/۰۵)، انجام شد.

نتایج

مقایسه نتایج آزمون‌های آماری (جدول شماره ۱) که نشان می‌دهد:

AST: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ولی گروه دریافت‌کننده دوز متوسط ماميران نسبت به گروه شاهد و همچنین نسبت به گروه تجربی دریافت کننده دوز حداقل عصاره افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (p= ۰/۰۱۳).

ALT: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ولی گروه‌های دریافت کننده عصاره ماميران نسبت به گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. تفاوت بین گروه‌های تجربی نیز معنی‌دار نمی‌باشند (p = ۰/۰۲٤).

ALP: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ولی گروه دریافت‌کننده دوز حداکثر ماميران نسبت به گروه شاهد و همچنین نسبت به گروه تجربی دریافت کننده دوز حداقل عصاره کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (p = ۰/۰۲).

آلبومین: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ولی گروه دریافت کننده دوز حداکثر عصاره ماميران نسبت به گروه شاهد و همچنین نسبت به گروه تجربی دریافت کننده دوز متوسط عصاره افزایش معنی‌دار یافته است (p = ۰/۰۱۷).

توتال پروتئین: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ولی گروه دریافت‌کننده دوز حداکثر عصاره ماميران نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار یافته است. تفاوت بین گروه‌های تجربی نیز معنی‌دار نمی‌باشند (P = ۰/۰٤۲).

کراتینین: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ولی گروه دریافت‌کننده دوز حداکثر عصاره ماميران نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار یافته است تفاوت بین گروه‌های تجربی نیز معنی‌دار نمی‌باشند (P = ۰/۰۳).

BUN: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد همچنین میزان آن در تمام گروه‌های دریافت‌کننده عصاره ماميران نسبت به گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. تفاوت بین گروه‌های تجربی نیز معنی‌دار نمی‌باشند.

کلسترول: میزان آن در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد و گروه دریافت‌کننده دوز حداقل ماميران نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (P = ۰/۰۰۷). تفاوت بین گروه‌های تجربی نیز معنی‌دار نمی‌باشند.

جدول شماره ۱- بررسی اثر دوزهای مختلف عصاره بخش‌های هوایی گیاه ماميران (*Chelidonium majus*) بر شاخص‌های عملکرد کبدی، کلیوی

گروه‌ها / پارامترها	کنترل	شاهد	دوز حداقلی ماميران ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	دوز متوسط ماميران ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	دوز حداکثری ماميران ۳۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
AST (U/l)	۱۷٦ ± ۱٤	۱۸٦ ± ۵/۹	۱۸۰ ± ۲۲/۸	۲۵۲ ± ۱۸/٦ αβ	۱۹۵ ± ۱۰/۹٤
ALT (U/l)	۳۳/۲ ± ۲/٤	۵٤/۳۳ ± ٤/۹ *	۳۹/۷ ± ۲/۳	٤۷/۰ ± ۳/۹	۳۹/۲ ± ٦/۹

ادامه جدول شماره ۱-

پارامترها / گروه‌ها	کنترل	شاهد	دوز حداقلی ماميران ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	دوز متوسط ماميران ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	دوز حداکثری ماميران ۳۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
ALP (U/l)	۶۱۴ ± ۳۳	۹۴۱ ± ۷۱ *	۹۶۱ ± ۱۰۳	۶۹۶ ± ۶۳	۵۹۳ ± ۸۵ αβ
Albumin (g/dl)	۴/۶ ± ۰/۱	۴/۵ ± ۰/۱	۴/۶ ± ۰/۱	۴/۴۳ ± ۰/۱	۴/۹ ± ۰/۱۲ αβ
Total-Protein (g/dl)	۷/۶۳ ± ۰/۲	۷/۰۵ ± ۰/۱	۷/۵۵ ± ۰/۱	۷/۳ ± ۰/۱۲	۷/۹ ± ۰/۲۱ α
Creatinine (mg/dl)	۰/۵۰ ± ۰/۰۲	۰/۵۱ ± ۰/۰۲	۰/۵۲ ± ۰/۰۱	۰/۵۷ ± ۰/۰۲	۰/۵۸ ± ۰/۰۱ α
BUN (mg/dl)	۱۹/۵ ± ۱/۵	۱۹/۵ ± ۱/۸	۲۱ ± ۱/۶	۱۹/۵ ± ۱/۶۰	۲۱/۷ ± ۰/۷۴
Cholesterol (mg/dl)	۶۹/۹ ± ۳	۸۶/۶ ± ۱/۹ *	۶۴/۳ ± ۲/۶ α	۷۲/۶ ± ۴/۴	۷۲ ± ۶/۳۴

علامت * تغییرات معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل، علامت α نشان‌دهنده تغییرات معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد و علامت β نشان‌دهنده تغییرات معنی‌دار دوزهای مختلف عصاره ماميران با هم

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره ماميران باعث افزایش میزان AST، پروتئین، آلبومین و کراتینین و کاهش میزان ALP می‌شود. تغییرات آنزیم‌های کبدی و کلسترول در گروه شاهد هیپرکلسترولمی دقیقاً مشابه با یافته‌های طاهری و همکارانش در مطالعه اثرات عصاره ریشه زرشک بر هیپرکلسترولمی می‌باشد و در هر دوی این مطالعه میزان ALT و ALP در گروه شاهد هیپرکلسترولمی افزایش یافته است ولی میزان AST، با وجود اینکه افزایش یافته اما این افزایش به صورت معنی‌دار نمی‌باشد [۱۳]. AST علاوه بر کبد در بافت‌های دیگر هم یافت می‌شود اما ALT عمدتاً در کبد است. بنابراین از این آنزیم به عنوان شناساگر موقعیت کبدی استفاده می‌شود و این یافته‌ها حکایت از اثرات هیپرکلسترولمی به ویژه بر کبد دارد زیرا رسوب چربی در کبد (ایجاد کبد چرب) معمولاً با افزایش آنزیم‌های کبدی ALT و AST همراه است و ممکن است به التهاب کبد منجر شود. این مسأله می‌تواند باعث آسیب کبدی و در نهایت سیروز کبدی شود [۱۸]. هیپرلیپیدمی همچنین یک نقش غیرمستقیم به وسیله تحریک تولید رادیکال‌های آزاد از نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها بازی می‌کنند رادیکال‌های آزاد باعث تخریب غشاهای سلولی از جمله هپاتوسیت‌ها می‌شوند [۱۹]. تحت شرایط عادی آنزیم‌های AST و به ویژه ALT در سلول‌های کبدی می‌باشد اما زمانی که کبد آسیب می‌بیند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند و میزان آن در پلاسما افزایش می‌یابد بنابراین یافته‌های پژوهش حاضر در گروه شاهد هیپرکلسترولمی با مطالعات قبلی مطابقت دارد [۱۸، ۲]. مسلماً به دنبال کاهش کلسترول سرم از میزان لیپیدوز کبدی کاسته شده و فعالیت آنزیم‌های کبدی به طور معنی داری کاهش می یابد [۲۰، ۱].

همان‌طور که قبلاً نیز ذکر شد عصاره ماميران باعث افزایش AST، پروتئین، آلبومین و کراتینین در دوزهای بالای عصاره و کاهش کلسترول در دوز پایین عصاره می‌شود این یافته‌ها حکایت از اثرات منفی عصاره در دوزهای بالا دارد اما در دوزهای پایین، اثراتی بر تست‌های عملکردی کبد و کلیه نداشته و تنها میزان کلسترول را کاهش می‌دهد. از جمله مواد مؤثره موجود در گیاه ماميران آلکالوئیدها می‌باشد [۵]. آلکالوئیدها نیز براحتی از غشای سلول عبور می‌کنند و قابلیت واکنش با برخی از اجزای سلول نظیر پروتئین توبولین اسکلت سلولی را دارند و بدین ترتیب باعث از بین رفتن اسکلت

سلولی می‌شوند. این در حالی است که برخی از مطالعات حکایت از اثرات آنتی‌اکسیدانی آنها نیز دارند [۲۳، ۲۲، ۲۱]. آلکالوئیدها همچنین سنتز کلسترول را مهار می‌نمایند [۲٤]. بنابراین در پژوهش حاضر احتمالاً به علت وجود آلکالوئیدها، هپاتوسیت‌های کبدی آسیب دیده و به علت آزادسازی آنزیم‌های موجود در آنها، سطح این آنزیم‌ها در پلاسما افزایش یافته است.

مطالعات نشان می‌دهد که عصاره گیاه ماميران باعث افزایش تولید نیتریک اکساید (NO) و TNF-α (Tumor Necrosis Factor) می‌شود. افزایش TNF-α احتمالاً نکروز کبدی را به دنبال دارد و باعث افزایش آنزیم‌های کبدی می‌شود [۲،۵].

سلول‌های پستانداران دارای توانایی آنزیمی و غیر آنزیمی در مقابل رادیکال‌های آزاد می‌باشند. آنزیم‌های درگیر در این امر شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشند گلوتاتیون فراوان‌ترین ترکیب تیول‌دار غیرپروتئینی با جرم مولکولی پایین می‌باشد که نقش اصلی را در دفاع علیه استرس اکسیداتیو بر عهده دارد [۲٦، ۲۵، ۱۳].

پژوهشگران بیان کردند که استفاده طولانی‌مدت و بی‌رویه از این گیاه منجر به اثرات سمیت کبدی از جمله HePatosis شدید و فیبروزیس می‌شود. مکانیسم اثرات آن بر سمیت کبدی هنوز مشخص نشده است [۲۷، ۵]. یولریچوا (Ulrichova) (۱۹۹٦) دریافت که تجویز داخل صفاقی Sanguinarine (یک آلکالوئید مشتق از گیاه ماميران) باعث افزایش آنزیم‌های کبدی در خون می‌شود و ۲٤ ساعت بعد از تجویز آن باعث ایجاد آسیب کبدی می‌شود [۲۸]. بنابراین افزایش آنزیم‌های کبدی در این مطالعه به ویژه در دوزهای بالا دور از انتظار نبوده و در این مورد با نتایج سایر محققین کاملاً مطابقت دارد که می‌تواند نشانه‌ای از سمیت دوزهای بالای عصاره باشد.

Sanguinarine باعث القای DNA damage در سلول‌های استخوانی می‌شود [۲۹]. اما در هپاتوسیت‌ها یا لنفوسیت‌ها بعد از ۹۰ روز نیز موجب DNA damage نشد [۳۰]. البته در برخی از منابع ذکر شده که Sanguinarine در ریشه گیاه وجود دارد و در قسمت‌های هوایی وجود ندارد [۵]، و همچنین Sanguinarine و *Chelerythrine* از طریق غذا بعد از ۱۰۹ روز نیز موجب DNA damage نشد [۳۱]. دو آلکالوئید مذکور و عصاره ماميران همچنین باعث افزایش معنی‌دار صفرا می‌شود. در طب سنتی و در قرون وسطی از ماميران برای اختلالات کبدی و صفراوی مورد استفاده قرار می‌گرفت. شیره آن برای درمان اختلالات تومورهای پوستی نیز به کار می‌رود ولی با این حال برخی از منابع علمی حکایت از اثرات سمی این گیاه دارد [۵]. ماميران باعث مهار ۵- لیپواکسیژناز در لوکوسیت‌های چند هسته‌ای می‌شود [۵].

افزایش خفیف تا متوسط آنزیم‌های کبدی نظیر ALT و AST می‌تواند اختلال کبدی حاصل از مسمومیت کبدی را تأیید نماید اما غلظت آلکالین فسفاتاز می‌تواند طبیعی باشد [۲].

دوز حداکثر عصاره ماميران باعث افزایش معنی‌دار در میزان کراتینین می‌شود ولی در مورد BUN هرچند میزان آن در گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره افزایش یافته اما این تغییرات معنی‌دار نشد (جدول شماره ۱). با توجه به نتایج سرمی BUN و کراتینین و از آنجایی که میزان BUN و به‌ویژه کراتینین سرم از رایج‌ترین نشانه‌های آزمایشگاهی عملکرد کلیه می‌باشند و ارتباط نزدیکی با فیلتراسیون گلومرولار دارند، به نظر می‌رسد که عصاره ماميران در دوز حداکثر اثرات توکسیک روی عملکرد گلومرولار اعمال نماید. هر چند افزایش سطح کراتینین و BUN به عنوان مارکر غیر مستقیم GFR ضرورتاً منعکس کننده آسیب کلیوی نمی‌باشد بلکه ممکن است به طور ثانویه بیانگر دهیدراتاسیون، هیپوولمی و کاتابولیسم پروتئین باشد [۳۲، ۲].

از موارد افزایشی نیتروژن اوره خون و کراتینین می‌توان از افزایش پروتئین در جیره غذایی، شکسته شدن کاتابولیک پروتئین‌ها در بافت‌ها، ضربات وارده به بدن، مسمومیت یا خونریزی‌های روده‌ای و بیماری‌های مزمن کبدی، نام برد. از جراحات حاصل از مسمومیت با آلکالوئیدها می‌توان به سیروز هیپرتروفیک کبدی، لکه‌های خونریزی‌دهنده در روده کوچک، قلب، احشا و استحاله چربی در کبد و ادم معده اشاره کرد [۱].

همچنین حضور ۲۰ نوع آلکالوئید در گیاه مامیران به اثبات رسیده است [۵].

مقادیر پایین توتال پروتئین می‌تواند نشانه‌ای از بیماری کبدی، کلیوی با شرایطی باشد که هضم و جذب پروتئین‌ها به خوبی صورت نمی‌گیرد. مقادیر بالای پروتئین می‌تواند در التهابات مزمن یا عفونت‌هایی مثل هپاتیت ویروسی یا HIV دیده شود. همچنین می‌تواند به علت اختلالات مغز استخوان مانند مالتیپل میلوما باشد [۳۳]. همان طور که گفته شد عصاره مامیران باعث القای DNA damage در سلول‌های استخوانی می‌شود [۳۱، ۵]. مطالعه بر روی گیاه Physalis Alkekengi که دارای ترکیبات تراتوژنیک و آلکالوئیدی‌اند نشان می‌دهد که این ترکیبات مقدار پروتئین سرم را در بیشتر بافت‌ها کاهش می‌دهند و در عین حال غلظت پلاسمایی اسیدهای آمینه و نیز هر دو نوع پروتئین‌های کبدی و پلاسمایی را زیاد می‌کنند [۱،۲۳]. افزایش غلظت پلاسمایی اسیدهای آمینه و پروتئین‌های کبدی و پلاسمایی در عصاره گیاه مامیران را نیز می‌توان به ترکیبات آلکالوئیدی گیاه نسبت داد.

ProtoPine، Sanguinarine و Chelerytin به طور شگفت‌آوری، سطح بالایی از مرگ سلولی و نکروز را القا می‌نماید [۳٤].

نتیجه‌گیری

از آنجایی‌که میزان AST، آلبومین و کراتینین در دوز حداکثر عصاره افزایش یافته است، به نظر می‌رسد که عصاره گیاه مامیران بخصوص در دوزهای بالا اثرات سمی روی کبد و کلیه داشته باشند. زیرا در برخی دیگر از منابع علمی نیز از اثرات سمیت گیاه سخن به میان آمده است ولی برای آنکه بتوان با قاطعیت بیشتری در مورد اثرات عصاره بر مسمومیت کبدی و کلیوی بحث نمود لازم است تأثیرات هیستولوژیکی دوزهای مختلف این عصاره مورد ارزیابی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مجموعه مساعدت و همکاری صمیمانه مدیریت محترم دانشگاه‌های پیام‌نور اقلید و آباده و کارشناس محترم آزمایشگاه خانم مهرنوش قوامی که در اندازه‌گیری و سنجش پارامترها، و نیز خانم‌ها فاطمه فرخی و فاطمه راسخ که در جمع‌آوری، تهیه و آماده‌سازی عصاره ما را یاری کردند صمیمانه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

1. Ashtiyani SC, Zarei A and Shariati M. Certain Plasma biochemical factors in Rats. *Arak University of Medical J.* 2011; 14: 18 - 25. (In Persian).

2. Shariati M and Zarei A. [The study of Physalis alkekengi extract on liver function.] In Persian. Azad university of Kazeron, MS.c Thesis; 2006.

3. Heidary M, Vafazadeh J, Naghibi B, Mirshamsi M. Evaluation of HePatotoxicity and Renal Toxicity of Methanolic Extract of CaPParis SPinosa in Rats. *Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services Yazd* 2010; 18 (1); 47 - 55 47. (In Persian).

4. Mehrabani M, Modirian E, Ebrahimabadi AR, Vafazadeh J, Shahnavaz S, Heidari MR.. Study of the Effects of Hydro-methanol Extracts of Lavandula vera DC. and Cuscuta ePithymum Murr. on the Seizure Induced by Pentylentetranzol in Mice. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2007; 14 (1): 44 - 54. (In Persian).

5. Moro PA, Cassetti F, Giugliano G, Falce MT, Mazzanti G, Menniti-IPPolito F and et al. HePatitis from Greater celandine (*Chelidonium majus* L.): review of literature and rePort of a new case. *J. EthnoPharmacol*. 2009 15; 124 (2): 328 - 32.

6. Biswas SJ. *Chelidonium majus* L. Areviewon Pharmacological activities and clinical effects.

Global. J. Res, Med. Plants & indigen, Med. 2013; 2 (41): 238 - 45.

7. Xia X, Yan J, Shen Y, Tang K, Yin J, Zhang Y, Yang D, Liang H, Ye J and Weng J. Berbrin imProves glucose metabolism in diabetic rats by inhibition of hePatic gluconeogenesis. *PLOS One*. 2011; 3 6 (2): el6556.

8. Mazzanti G, Sotto A Di, Franchitto A, Mammola CL, Mariani P, Mastranglos and Menniti-IPPolito F. Vitalone AChelidonium majus is not hePatotoxic in wistar rats, in a 4 weeks feeding exPeriment. *J. EthnoPharmacol*. 2009; 126 (3): 518 – 24.

9. Meng F, Zuo G, Hao X, Wang G, Xiao H, Zhang J and Xu G. Antifungal activity of the benzo [c] Phenathridine alkaloids from *Chelidonium majus* Linn against resistant clinical yeast isolates. *J. EthnoPhrmacol*. 2009; 125 (3): 494 – 6.

10. Monavari SH, Shahrabadi MS, Keyvani H and Bokharaei – Salim F. Evaluation of in Vitro antiviral activity of *chelidonium majus* L. against herPes simPlex virus tyPe-1. *African J. Microbial. Res*. 2012; 6 (20): 4360 – 64.

11. Parvu M, Parvu AE, Cranium C, Barbu – Tudoran L and Tamas M. Antifungal activities of *chelidonium majus* extract on Botrytis cinerea in vitro and ultrastructural chang its conidia, *J. PhytoPath*. 2008; 156 (9): 550 – 2.

12. Gilca M, Gaman L, Panait E, Stoian I and Atanasiu V. *Chelidonium majus*--an integrative review: traditional knowledge versus modern findings. *Forsch KomPlementmed* 2010; 17 (5): 241 - 8.

13. Taheri S, Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Rezaei A and Zaheiri S. Evaluation of the effects of hydroalcoholic extract of Berberis vulgaris root on the activity of liver enzymes in male hyPercholesterolemic rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2012; (2) 3: 153 - 61.

14. Changizi Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Rasekh F and Ramazani M. The effects of Portulaca Oleracea Alcohlic Extract on HyPercholestrolemia in Rats. *ZJRMS* 2013; 15 (6): 39 - 43.

15. Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Sokhandani M, Rezaei A, Zaheiri S and Taheri S. The comParison Between the effects of the Alcoholic Extract of Melissa officinalis and Atorvastatin on serum levels of Thyroid Hormones in HePercholestrolemic Male Rats. *ZJRMS* 2013; 15 (8): 6 – 12.

16. Bahrami-Karkevandi M, Moshtaghian SJ, Madani H, Mahzoni P, Adibi Sh and Kazemi S. The effects of hydroalcoholic extract of Artemisia aucheri on bleomycin induced Pulmonary fibrosis in rats. *Shahrekord University of Medical Sciences J*. 2011; 12 (suPPl.1): 33 - 40. In Persian.

17. MostafaviPour Z, Zal F, Monabati A and Vessal M. Protective effects of a combination of quercetin and Vitamin E against cyclosPorine A-induced oxidative stress and hePatotoxicity in rats. *HePatol Res*. 2008; 38 (4): 385 - 92.

18. Jelodar GA and Nazifi habibabadi S. Effect of celery, sour aPPle and carrot on some of serum biochemical Parameters of diabetic rats. *Journal of Kerman University of Medical Sci*. 1997; 4 (3): 114 - 119. (In Persian).

19. Pourghassem-Gargari B, Ebrahimzadeh- Attary V, Rafraf M and Gorbani A. Effect of dietary suPPlementation with *Nigella sativa* L. on serum liPid Profile, liPid Peroxidation and antioxidant defense system in hyPerliPidemic rabbits. *Journal of Medicinal Plants Res*. 2009; 3 (10): 815 - 21.

20. Bush BM: InterPertion of laboratory result for small animal clinicians. 1 st ed., London, Blackwell Scientific Publication. 1991, PP: 408 –10.

21. Qiu L, Zhao F, Liu H, Chen L, Jiang Z, Wang N, et al.Two new megastigmane glycosides, Physanosides A and B, from *Physalis alkekengi* L. var. franchetii, and their effect on NO release in macroPhages. *Chemistry & Biodiversity* 2008; 5 (5): 758 - 63.

22. Laczko-Zold E, ZuPko I, Rethy B, Csedo K and Hohmann J. Antioxidant activity of the fruits

and hydroPhilic comPounds of Physalis alkekengi. *Acta Pharm Hung*. 2009; 79 (4): 169 - 73.
23. Zarei A, Shariati M, Shekar Forosh ,Changizi Ashtiyani S and Rasekh F. The effect of Physalis alkekengi extract on the Physiologic function of organ tissues A mini-review. *Arak Medical University Journal (AMUJ)* 2012; 15 (66): 94 - 104.
24. Incardona JP, Gaffield W, KaPur RP and Roelink H. The teratogenic Veratrum alkaloid cycloPamine inhibits sonic hedgehog signal transduction. *DeveloPment* 1998; 125 (18): 3553 - 62.
25. Nazari A, Delfan B and Shahsavari G. The effect of Satureja Khuzestanica on triglyceride, glucose, creatinine and alkaline PhosPhatase activity in rat. *Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sci.* 2005; 7 (2): 1 - 8. (In Persian).
26. Kelly GE and Husband AJ. Flavonoid ComPounds in the Prevention and Treatment of Prostate Cancer. *Methods Mol. Med*. 2003; 81: 377 - 94.
27. Brand N. Foeniculum. In: Hansel R, Keller K, RimPler H. Schneider G, editors.Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, 5th ed. Volume 5: Drogen E-O. Berlin-Heidelberg-New York-London: SPringer-Verlag.: 1993, PP: 156 - 81.
28. Ulrichova J, Walterova D, Vavreckova C, Kamarad V and Simanek V. Cytotoxicity of Benzo [c] Phenanthridinium Alkaloids in Isolated Rat HePatocytes. *Phytotherapy Res.* 1996; 10 (3): 220 - 3.
29. Ansari K, Dhawan A, Subhash K and Khanna Das M. Protective effect of bioantioxidants on argemone oil/sanguinarine alkaloid induced genotoxicity in mice. *Cancer Letters* 2006; 244: 109 - 18.
30. Stiborova M, Vostalova J, Zdarilova A, Ulrichova J, Hudecek J, Tschirner K and Simanek V. Macleaya cordata extract and Sangrovit genotoxicity. Assessment in vivo. *Biomed PaP Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech RePub.* 2008; 152 (1): 35 - 9.
31. Psotova J, Klejdus B, Vecera R, Kosina P, Kubán V, Vicar J, Simanek V and Ulrichová J. A liquid chromatogramphic-mass spectrometric evidence of dihydrosanguinarine as a first metabolite of sanguinarine transformation in rat. *J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006; 830 (1): 165 - 72.
32. Klaassen C. Cassarett Douls. Toxicology: The basic science of Poison. 8^{th} ed. New York: McGraw-Hill. 2013, pp: 195 - 207.
33. Roublevskaia IN, Polevoda BV, Ludlow JW and Haake AR. Induced G_2/M arrest and aPoPtosis in human ePidermoid carcinoma cell lines by semisynthetic drug Ukrain. *Anticancer Res.* 2000; 20 (5A): 3163 - 7.
34. Biswas SJ, Bhattacharjee N and Khuda-Bukhsh AR. Efficacy of a Plant extract (*Chelidonium majus* L.) in combating induced he Patocarcinogenesis in mice. *Food Chem. Toxicol.* 2008; 46 (5): 1474 - 87.