

مقاله تحقیقاتی

اثر ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی اسانس گل محمدی *Rosa damascena* Mill. بر روی آسیب ریوی ناشی از مدل CLP

ابوالفضل دادخواه^{۱*}، فائزه فاطمی^۲، محمدرضا محمدی ملایری^۳، محمدحسن کاروین آشتیانی^۴، زهرا موسوی^۵، صابره نایب^۶، سالومه دینی^۷

^۱ گروه پزشکی، دانشکده پزشکی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

^۲ پژوهشکده مواد و سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران

^۳ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، گرمسار، ایران

^۴ دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

^۵ دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

^۶ گروه گیاه‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران

^۷ باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

مقدمه: سپسیس یا عفونت جزء دومین علت شایع مرگ و میر میان بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه به شمار می‌رود. با توجه به عوارض ناشی از مصرف داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی، استفاده از گیاهان دارویی دارای خاصیت ضدالتهابی، مانند گل محمدی برای درمان و کاهش عوارض ناشی از التهاب، توصیه می‌شود. **هدف:** در این تحقیق اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی اسانس گل محمدی *Rosa damascena* Mill. در بافت ریه رت‌های سپتیکی شده در مدل تجربی التهابی CLP مورد ارزیابی قرار گرفت. **روش بررسی:** موش‌ها به پنج گروه کنترل منفی، کنترل مثبت و گروه‌های تیمار با اسانس گل محمدی و ایندومتاسین تقسیم شده و ۲۴ ساعت پس از جراحی، پارامترهای دخیل در استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری شدند. **نتایج:** سپسیس موجب کاهش FRAP و GSH و افزایش میزان LP، MPO، PGE2 و COX-2 شده، ولی بر روی GST تأثیر معنی‌داری نداشت. اما، تیمار حیوانات با اسانس گل محمدی به صورت معنی‌داری در سطح این پارامترهای بیوشیمیایی مؤثر بوده است. همچنین، مطالعات پاتولوژی نشان می‌دهد که سپسیس منجر به ایجاد آسیب‌هایی در بافت ریه شده که این آسیب‌ها در اثر تیمار با اسانس گل محمدی کاهش یافته‌اند. **نتیجه‌گیری:** سپسیس موجب آسیب اکسیداتیو بافت ریه شده و استفاده از اسانس گل محمدی می‌تواند در جلوگیری و بهبود این آسیب‌ها مؤثر باشد.

گل‌واژگان:

اسانس گل محمدی

بافت ریه

استرس اکسیداتیو

سپسیس

CLP

مخفف‌ها: FRAP: ferric reducing ability of plasma، GSH: glutathione، LP: lipid peroxidation، MPO: myeloperoxidase، PGE2.

E2 prostaglandin، COX-2: cyclooxygenase-2، GST: glutathione S-transferase.

* نویسنده مسئول: dadkhah_bio@qom-iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۴ دی ۱۳۹۷؛ تاریخ دریافت اصلاحات: ۹ اردیبهشت ۱۳۹۸؛ تاریخ پذیرش: ۲۱ اردیبهشت ۱۳۹۸

doi: [10.29252/jmp.19.74.277](https://doi.org/10.29252/jmp.19.74.277)

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

۱. مقدمه

در حال حاضر، سپسیس یکی از قدیمی‌ترین و پیچیده‌ترین سندرم‌های کلینیکی در علم پزشکی می‌باشد که بوسیله‌ی پاسخ سیستمیک التهابی بدن به عفونت همراه با اختلال عملکرد ارگان‌ها و در نهایت به مرگ منتهی می‌شود [۱، ۲]. علی‌رغم تلاش‌ها و استراتژی‌های بسیار در زمینه‌ی درمان، سپسیس همچنان مهم‌ترین عامل شیوع مرگ و میر (۳۵/۳ درصد) در بیماران بستری در بیمارستان و همچنین بخش‌های مراقبت‌های ویژه (ICU) می‌باشد [۳، ۴].

در پاتورنز سپسیس عوامل متعددی مانند انواع باکتری‌ها (گرم منفی و گرم مثبت)، قارچ‌ها، ویروس‌ها و دیگر پارازیت‌ها دخالت دارند. نفوذ و پخش این عوامل در خون و بافت‌ها می‌تواند منجر به ایجاد یک نوع پاسخ التهابی در بدن شود که میزان تولید سایتوکین‌ها و کموکین‌ها را در بدن افزایش داده و باعث تأثیر منفی در بدن می‌شود [۵].

گرچه از نظر کلینیکی، ایجاد سپسیس در مدل‌های حیوانی مشکل به نظر می‌رسد، ولی مدل‌های متعددی به این منظور ایجاد شده است. به طور کلی، سه روش رایج برای القای سپسیس معرفی شده است که شامل، به کار بردن توکسین‌های آگروژن مانند لیپوپلی ساکارید، به کار بردن پاتورن‌های زنده مانند باکتری و ویروس و تغییر سد دفاعی آندورنی حیوانات می‌باشد [۶]. داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (Nonsteroidal Anti- Inflammatory Drugs) (NSAIDs) نظیر ایندومتاسین یکی از رایج‌ترین روش درمان سپسیس می‌باشد که با کاهش بیان ژن COX-2 و مهار تولید سیتوکین‌های پیش التهابی باعث کاهش عوارض ناشی از این بیماری می‌شوند [۷].

مدل جراحی CLP، یکی از کارآمدترین و کاربردی‌ترین روش‌های ایجاد التهاب در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد که امروزه به عنوان استاندارد در مطالعات مرتبط با سپسیس در نظر گرفته می‌شود. جراحی با بستن سکوم و سوراخ کردن

آن، منجر به آلودگی حفره‌ی شکمی با باکتری‌های موجود در محتویات روده شده که در نهایت سبب التهاب صفاق و القاء طیف وسیعی از پاسخ‌های سیستمیک التهابی می‌شود [۸]. همچنین، مطالعات مختلف نشان داده‌اند اکثر فاکتورهای استرس اکسیداتیو در این مدل افزایش یافته و عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد [۹]. آنتی‌اکسیدان‌ها به طور کلی قادر به مبارزه و خنثی‌سازی اثرات و آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در سپسیس هستند [۱۰]. از اینرو، یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در پیشگیری از بیماری سپسیس و اثرات ناشی از آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در مطالعات پیشین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره حاصله از گیاهان دارویی بومی ایران همچون زیره سبز (*Cuminum cyminum L.*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss.*)، گل‌پر (*Heracleum persicum*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) ثابت شده است [۱۱-۱۴]. علاوه بر این گیاهان دارویی نظیر گل‌پر، باریجه، زیره سیاه و مرزه خاصیت حفاظت‌کنندگی قابل ملاحظه‌ای را در مدل حیوانی نشان داده‌اند [۱۵-۲۰].

گل محمدی با نام علمی *Rosa damascena Mill.* به عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌ها از خانواده‌ی بزرگ رز، در نظر گرفته می‌شود. قسمت‌های مختلف این گیاه به منظور اهداف پزشکی و غذایی استفاده می‌شود [۲۱]. این گیاه امروزه به طور وسیع در سراسر جهان از جمله ایران، ترکیه، هند و بلغارستان، به خاطر کاربردهای درمانی و آرایشی به طور وسیع کشت می‌شود [۲۲]. به طور مثال، از اسانس آن در صنعت عطرسازی، نوشیدنی‌ها، بستنی‌ها، لوازم آرایشی و همچنین به عنوان خوشبوکننده در پمادها و لوسیون‌ها استفاده می‌شود [۲۳]. همچنین، گل محمدی برای درمان دردهای شکمی، مشکلات گوارشی، دردهای قفسه سینه مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۴]. در مطالعه حاجی هاشمی و همکاران در سال ۲۰۱۰، فعالیت ضدالتهابی و ضددردی عصاره‌ی حاصله

کنترل منفی تیمار شده و سپس در روز پانزدهم جراحی CLP انجام شد. گروه‌های تیمار: اسانس گل محمدی در دزهای ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg bw به صورت خوراکی و روزانه به مدت دو هفته داده شد و سپس در روز پانزدهم جراحی CLP انجام شد. گروه ایندومتاسین: با داروی ضدالتهابی ایندومتاسین (۲ mg/kg bw)، به مدت دو هفته تیمار شده و سپس در روز پانزدهم جراحی CLP انجام شد [۳۳-۳۱، ۲۵].

۳.۲. القا سپسیس توسط مدل CLP

در این روش، پس از بیهوش کردن رت‌ها، در دیواره شکمی آنها به اندازه ۲ سانتی‌متر برش ایجاد شد. سپس، سکوم خارج شده و بخش سکوم تا زیر دریچه ایلئوسکال بخیه زده شده و در سکوم آنها ۲ سوراخ توسط نیدل G20 ایجاد شد. بعد از این مرحله، روده به داخل محفظه شکمی برگردانده شده و پوست و صفاق بخیه زده شد. رت‌ها، ۲۴ ساعت پس از جراحی CLP بیهوش شدند و از قلب آنها خونگیری شد. در مرحله بعدی، حیوانات کشته شده و بافت ریه آنها به منظور بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی و بیوشیمی جدا شد [۲۵].

۴.۲. اندازه‌گیری سطح فاکتورهای دخیل در سیستم استرس اکسیداتیو/آنتی‌اکسیدان در بافت ریه
۱.۴.۲. اندازه‌گیری *malondialdehyde* (MDA)

غلظت (MDA) با اندازه‌گیری میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۳۵ نانومتر و از روی ضریب خاموشی آن ($1/56 \times 10^5 L/cm.mmol$) محاسبه شد. ۱۵۰ میلی‌گرم بافت تهیه شده در بافر فسفات ۱۰۰ mM هموزن شد. هموزن بافت به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ گرم سانتی‌فیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی به لوله در دار منتقل و به آن ۲ میلی‌لیتر از معرف *thiobarbituric acid* (TBA) اضافه شده و ورتکس شد. سپس، درب لوله بسته و به مدت

از گل محمدی در مدل حیوانی ثابت شده است [۲۱]. در مطالعات اخیر ما نیز، اسانس گل محمدی با ترکیبات اصلی phenyle alcohol و trans geraniol.citronellol فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی را نشان داد [۲۵-۲۶]. در مطالعه دیگری، اثرات محافظت کبدی گل محمدی در برابر آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن با کمک پارامترهای آنزیم‌های کبدی و استرس اکسیداتیو ثابت شده است [۲۷].

با توجه به اثرات متعدد این گیاه در درمان و کاهش آسیب‌ها و همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی این گیاه بر روی التهاب، بررسی عملکرد آن حائز اهمیت خواهد بود. بنابراین، در این تحقیق، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی اسانس گل محمدی بر روی آسیب‌های اکسیداتیو بافت ریه ناشی از مدل التهابی cecal ligation and puncture (CLP) مورد مطالعه قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه اسانس گل محمدی

اسانس گل محمدی از شرکت باریج اسانس تهیه شده (Batch No.:714043; Sample Serial) Gas Chromatography (No.:AE932009) و به روش GC-MS – Mass Spectroscopy (No.:AE932009) آنالیز شد [۲۸-۳۰].

۲.۲. تیمار حیوانات و نمونه‌گیری

در این تحقیق، از ۵۰ سر رت نر بالغ با وزن متوسط ۱۰۰ گرم استفاده شد که از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات به پنج گروه (در هر گروه ۱۰ سر رت) تقسیم شدند: گروه کنترل منفی: حلال اسانس گل محمدی (DMSO) و آب معمولی به مدت ۲ هفته به صورت خوراکی داده شده و سپس در روز پانزدهم جراحی لاپراتومی انجام شد. گروه کنترل مثبت: همانند گروه

۷.۲. اندازه‌گیری Ferric reducing ability of plasma (FRAP)

در این روش، غلظت‌های مختلف از محلول استاندارد یون آهن Fe^{2+} با استفاده از محلول ذخیره آهن ۱۰۰۰ میکرومولار تهیه شد. سپس، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول FRAP (محلول TPTZ و محلول $FeCl_3$) در یک لوله آزمایش ریخته شده و ۵۰ میکرولیتر از نمونه استاندارد و نمونه مجهول به آن افزوده شده و کاملاً ورتکس شد. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جذب نوری کلیه نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ nm در مقابل بلانک (غلظت صفر استاندارد) قرائت شده و میزان FRAP در نمونه‌های مجهول بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد [۳۷].

۸.۲. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم (MPO) myeloperoxidase

در این روش، ۰/۱ گرم از بافت ریه در بافر فسفات هموزن شد. سپس، هموزن فوق سانتی‌فوژ شده و پلت حاصل توسط بافر فسفات حل شد. هموزن حاصل ۳ بار freeze-thaw شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هر بار به مدت ۴۰ ثانیه، سونیکات شد. در مرحله بعدی، هموزن حاصل در ۴۱۴۰۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه سانتی‌فوژ شد. ۱۵۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۱۱۵۰ میکرولیتر از بافر فسفات حاوی اورتودی‌انیزیدین دی‌هیدرو کلراید تهیه شده، مخلوط شده و تغییر جذب محلول حاصل به مدت ۳ دقیقه در ۴۶۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد [۳۸].

۹.۲. بررسی سطح پروستاگلاندین E_2 (PGE_2)

غلظت PGE_2 بر اساس روش ELISA (Sunostik Co, China) و با استفاده از کیت (Assay Desighs Co; U.S.A) اندازه‌گیری شد [۳۹].

۱۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها در دمای اتاق، به مدت ۱۰ دقیقه با قدرت ۳۰۰۰ گرم سانتی‌فوژ شد. جذب محلول رویی در مقابل بلانک (غلظت صفر استاندارد) در ۵۳۵ nm توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد و غلظت MDA با استفاده از ضریب خاموشی آن محاسبه شد [۳۴].

۵.۲. اندازه‌گیری گلوتاتیون احیاء (GSH)

در این روش، به ۲۰۰ میلی‌گرم بافت، ۸ میلی‌لیتر EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid) ۰/۰۲ مولار اضافه و هموزن شد. سپس، به ۵ میلی‌لیتر از این هموزنات ۴ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر محلول TCA ۵۰ درصد اضافه و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه ورتکس شد. در مرحله بعدی، مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ گرم در دمای اتاق سانتی‌فوژ شد تا پروتئین‌های بافتی کاملاً رسوب کنند. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴ میلی‌لیتر بافر تریس حاوی EDTA ۰/۲ مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول DTNB ۰/۰۱ مولار در متانول مخلوط و بلافاصله جذب آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۲ nm قرائت شد [۳۵].

۶.۲. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم s -gluthatione- (GST) transferase

فعالیت آنزیم GST با استفاده از سوبسترای (CDNB) (1-Chloro-2,4-dinitrobenzene) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در این روش، آنزیم GST موجود در نمونه منجر به اتصال CDNB به گلوتاتیون شده و در نهایت جذب کمپلکس حاصل با گذشت زمان در طول موج ۳۴۰ nm اندازه‌گیری شد [۳۶].

۱۰.۲. بررسی بیان ژن *cyclooxygenase-2* (COX-2)

مسترمیکس، $0.4 \mu\text{l}$ پرایمرهای Forward و Reverse (جدول ۱)، $0.5 \mu\text{l}$ cDNA، $0.2 \mu\text{l}$ ROX و $3.9 \mu\text{l}$ آب عاری از نوکلئاز می‌باشد. پس از مخلوط کردن مواد مذکور، به منظور اطمینان از تکرار پذیری واکنش و انجام آنالیز آماری نتایج، نمونه‌های حاوی ژن مورد آزمایش (COX-2) و نمونه حاوی ژن کنترل داخلی (GAPDH) در پلیت‌ها به صورت سه تایی ریخته شد. همچنین، برای اطمینان حاصل کردن از عدم آلودگی و خطاهای حاصل از آن، برای هر ژن یک کنترل منفی در نظر گرفته شد که آن نیز به صورت سه بار تکرار انجام شد و به جای DNA در پلیت‌ها، آب مقطر ریخته شد. در نهایت، از چرخه حرارتی ذکر شده در جدول ۱ استفاده شده و به منظور محاسبه میزان تغییرات بیان ژن COX-2 از روش $2^{-\Delta\Delta C_t}$ استفاده شد.

جدول ۱. چرخه حرارتی واکنش Real-Time PCR

مرحله	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان	تعداد سیکل
۱	۹۵	۲"	۱
۲	۹۵	۱۵"	۴۰
	۶۰	۲۰"	
	۷۲	۲۰"	
۳	۵۷-۹۵	۱۵"	۱

۱۱.۲. بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت ریه

پس از CLP حیوانات بیهوش شده و بافت ریه برای بررسی هیستوپاتولوژیکی برداشته شده و در بافر فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. برش‌های نازکی به ضخامت ۶-۵ میکرون از بافت بلوک شده در پارافین تهیه و به روش H&E رنگ آمیزی شدند. سپس، لام‌ها به منظور مقایسه تغییرات بافتی توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفته و عکس‌برداری شدند. نمونه‌های هیستوپاتولوژی از لحاظ شاخص‌های پرخونی، ادم التهابی بافت‌های بینابینی و شدت ارتشاح نوتروفیل در بافت‌های بینابینی ریه مورد ارزیابی قرار گرفتند [۲۵].

جهت بررسی بیان ژن در نمونه‌های بافت ریه، به منظور استخراج RNA از کیت استخراج RNA (BioBasic Inc, Canada) استفاده شد. سپس، به منظور حذف DNA از RNA استخراج شده، از آنزیم (DNase Co, USA) استفاده شد. به منظور یکسان بودن غلظت RNA مصرفی در ساخت cDNA، غلظت RNA موجود در نمونه‌های تیمار شده با Dnase، توسط دستگاه نانودراپ (Eppendorf Inc, Germany) خوانده شد. در نهایت، $100 \text{ ng}/\mu\text{l}$ RNA برای ساخت تمامی cDNAها استفاده شد. برای ساخت cDNA از RNA استخراج شده، از کیت شرکت تاکارا (Takara bio Inc, Japan) استفاده شد [۲۵].

به منظور تأیید انجام مراحل قبل، واکنش PCR برای ژن مورد نظر انجام شده و محصول حاصل بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد بارگذاری شد. به منظور انجام واکنش PCR و Real-time PCR، از پرایمرهای اختصاصی ژن COX-2 (Forward: 5-ACCTCTGCGATGCTCTTC-3; Reverse: 5-AGGAATCTCGGCGTAGTAC-3) و ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی (Forward: 5-TGCCAGCCTCGTCTCATAG-3; Reverse: 5-ACTGTGCCGTTGAACTTGC-3) استفاده شد.

شماره دستیابی پرایمرهای مذکور به صورت زیر است:

Cox2 mRNA Accession Number: NM_017232

GAPDH mRNA Accession Number: NM_017008

واکنش Real-time PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی و کیت مخصوص QuantiNova SYBR Green PCR Kit (Qiagen Co, U.S.A) انجام پذیرفت. همچنین، از آنزیم taq polymerase (Bioflux Co, USA) و MgCl_2 (Bioflux Co, USA) استفاده شد. هر واکنش Real-time PCR (حجم نهایی ۱۰ میکرو لیتر) حاوی $5 \mu\text{l}$

۱۲.۲. آنالیز آماری

تأثیری بر آنزیم GST ندارد و تیمار رت‌ها با اسانس گل محمدی در هر دو دوز تأثیری بر روی این آنزیم نداشته است ($P < 0/05$) (جدول ۳).

تفاوت‌های بین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون ANOVA تعیین شد. با استفاده از این نرم‌افزار P-value داده‌ها، محاسبه شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار (برای هر آزمون با ۳ تکرار در نظر گرفته شد) گزارش شده و مقایسه میانگین داده‌ها در سطح آماری $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

۱.۳. آنالیز اسانس گل محمدی

با توجه به آنالیز GC-MS، ۲۴ ترکیب در اسانس به دست آمده از گل محمدی شناسایی شد که در بین آنها سیترونلول با ۶۶/۱۱ درصد بالاترین مقدار را دارا بود (جدول ۲).

۲.۳. نتایج فاکتورهای دخیل در سیستم آنتی‌اکسیدانی/استرس اکسیداتیو

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، القاء سپسیس سبب افزایش سطح مالون دی‌آلدهید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت آنزیم میلو پراکسیداز (MPO) در بافت ریه می‌شود ($P < 0/05$)، تیمار رت‌ها با اسانس گل محمدی در دو دوز ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg b.w سبب کاهش قابل توجه ($P < 0/05$) آنزیم میلو پراکسیداز و سطح مالون دی‌آلدهید شد.

علاوه بر این، سطح گلوپروتئین (GSH) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پلاسما (FRAP)، در رت‌های سپتیکی کاهش معنی‌داری داشته ($P < 0/05$) و تیمار رت‌ها با اسانس گل محمدی در هر دو دوز، سبب افزایش آنزیم‌ها و بازگشت آنها به سطح گروه کنترل منفی شده است ($P < 0/05$). این اثر محافظتی اسانس با اثر داروی ایندومتاسین که به عنوان داروی ضدالتهابی رایج، قابل مقایسه می‌باشد. از سوی دیگر نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که بیماری سپسیس

۳.۳. نتایج حاصل از بیان ژن COX-2 و محصول آن (PGE2)

بر اساس نمودار ۱، میزان سطح پروستاگلاندین E2 در پلاسمای رت‌های سپتیکی (گروه کنترل مثبت)، ۲۴ ساعت بعد از القای سپسیس، نسبت به گروه کنترل منفی افزایش چشمگیری ($P < 0/05$) داشت. در حالی‌که، اسانس گل محمدی در دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg b.w سبب کاهش سطح پلاسمایی پروستاگلاندین E2 شده که این نتایج در گروه ایندومتاسین نیز نتایج مشاهده شد ($P < 0/05$) (نمودار ۱).

علاوه بر این، نتایج نشان‌دهنده افزایش میزان بیان ژن COX-2 در بافت ریه پس از القا سپسیس بوده که گروه‌های تیمار با اسانس گل محمدی در هر دو دوز و گروه ایندومتاسین نیز نتایج مشابهی را در کاهش معنی‌داری در بیان این ژن نشان دادند و میزان بیان این ژن را به صورت معنی‌داری کاهش دادند ($P < 0/05$) (نمودار ۲).

۴.۳. نتایج هیستوپاتولوژی بافت ریه

مطالعه هیستوپاتولوژیک بافت ریه نشان داد که در گروه کنترل منفی خفیف‌ترین ضایعات به صورت پرخونی، ارتشاح نوتروفیل‌ها در بافت بینابینی و ادم التهابی بافت بینابینی مشاهده شد (شکل ۱). بیشترین آسیب بافت ریه در گروه کنترل مثبت مشاهده شد، به طوری که در این گروه، بافت ریه در بازرسی ظاهری (ماکروسکوپی) دچار پرخونی است. در بررسی هیستوپاتولوژیک نیز پرخونی شدید دیده شد. ادم شدید بافت بینابینی باعث گسترش دیواره همبندی بین لوبولی شده و ادم بینابینی و پیرامون عروقی و خونریزی‌های کانونی در این گروه دیده شد.

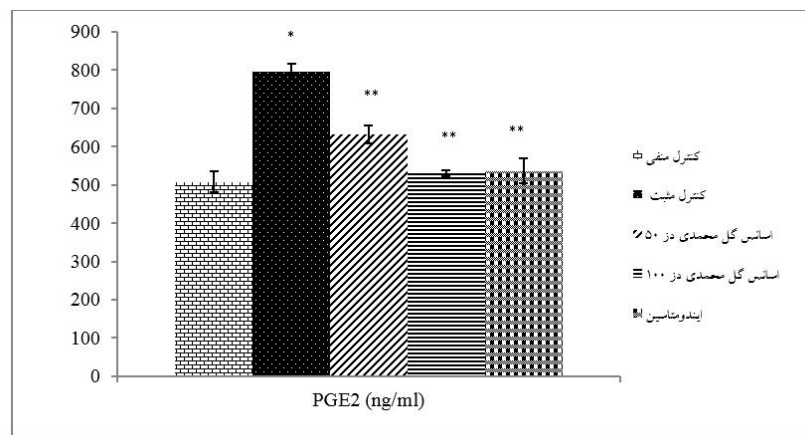
جدول ۲. آنالیز کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی اسانس گل محمدی

	Coumpnd	درصد	RI
۱	α -Pinene	۱/۸۱	۹۲۱
۲	Sabinene	۰/۰۸	۹۵۳
۳	β -Pinene	۰/۳	۹۵۷
۴	Myrcene	۰/۳۶	۹۶۶
۵	Linalool	۱/۴۲	۱۰۵۶
۶	Rose oxide (Isomer)	۰/۴۷	۱۰۶۶
۷	Phenylethyl alcohol	۵/۳۳	۱۰۷۲
۸	Rose oxide (Isomer)	۰/۲۲	۱۰۸۰
۹	Citronellol	۶۶/۱۱	۱۱۶۳
۱۰	Carvone	۰/۷۶	۱۱۷۷
۱۱	Trans Geraniol	۱۱/۵۶	۱۱۸۱
۱۲	Citral	۱/۱۱	۱۱۹۵
۱۳	Citronellol acetate	۰/۶۹	۱۲۵۲
۱۴	Eugenol	۰/۸۳	۱۲۶۳
۱۵	Nerol acetate	۰/۸۹	۱۲۷۸
۱۶	Methyl eugenol	۲/۳۶	۱۲۹۸
۱۷	Caryophyllene (isomer)	۰/۶۹	۱۳۱۶
۱۸	α -Guaiene	۰/۵۴	۱۳۲۷
۱۹	Caryophyllene (isomer)	۰/۵۲	۱۳۴۱
۲۰	Germacrene	۱/۴۴	۱۳۶۲
۲۱	Bisabolene	۰/۲۵	۱۳۷۳
۲۲	Bulensene	۰/۴۱	۱۳۷۸
۲۳	Tetradecane	۱/۴۱	۱۵۱۰
۲۴	Farnesol	۰/۴۵	۱۵۳۴

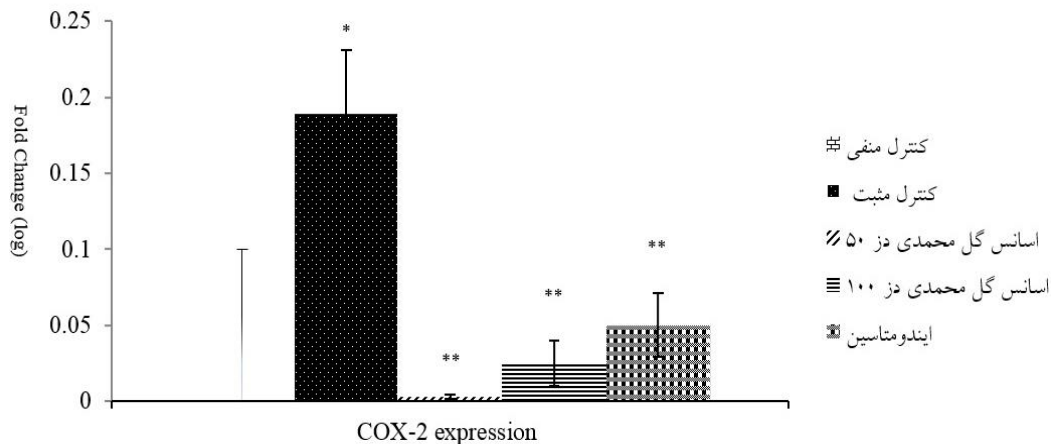
جدول ۳. تأثیر اسانس گل محمدی بر روی فاکتورهای استرس اکسیداتیو در بافت ریه

گروه‌ها	MDA (pmol/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	FRAP (μ mol/L)	GST (nmol/min/mg protein)	MPO (U/mg protein)
کنترل منفی	۸/۵۲ \pm ۰/۶۵	۳/۶۳ \pm ۰/۳۶	۴۰۷ \pm ۲۱/۷۶	۹۲ \pm ۴/۶۵	۲۴/۶۶ \pm ۰/۴۱
کنترل مثبت	۱۴/۴۱ \pm ۰/۹۳*	۲ \pm ۰/۱۸*	۲۵۷ \pm ۱۰/۹۸*	۹۵/۳۳ \pm ۴/۴۱	۵۱/۳۳ \pm ۰/۴*
اسانس گل محمدی دز ۵۰	۹/۰۵ \pm ۰/۹۲**	۳/۸۲ \pm ۰/۳۸**	۳۷۷ \pm ۹/۸**	۱۰۳ \pm ۴/۶	۲۵/۳۳ \pm ۰/۵۵**
اسانس گل محمدی دز ۱۰۰	۹/۲۶ \pm ۰/۸۶**	۴/۰۶ \pm ۰/۳۱**	۳۶۷ \pm ۱۲/۱۸**	۱۳۴ \pm ۴/۸۳	۲۴/۴ \pm ۱/۲**
ایندومتاسین	۹/۶۸ \pm ۰/۳۵**	۳/۵ \pm ۰/۲۴**	۲۸۰ \pm ۱۸/۲**	۹۲ \pm ۵/۰۴	۱۹/۸۳ \pm ۱/۵**

علامت * نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه کنترل مثبت بوده که با گروه کنترل منفی معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$). علامت ** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه‌های مختلف تیمار بوده که با گروه کنترل مثبت معنی‌دار هستند ($P < ۰/۰۵$).



نمودار ۱. تأثیر اسانس گل محمدی بر روی میزان PGE2. علامت * نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه کنترل مثبت بوده که با گروه کنترل منفی معنی‌دار است ($P < 0/05$). علامت ** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه‌های مختلف تیمار بوده که با گروه کنترل مثبت معنی‌دار هستند ($P < 0/05$).

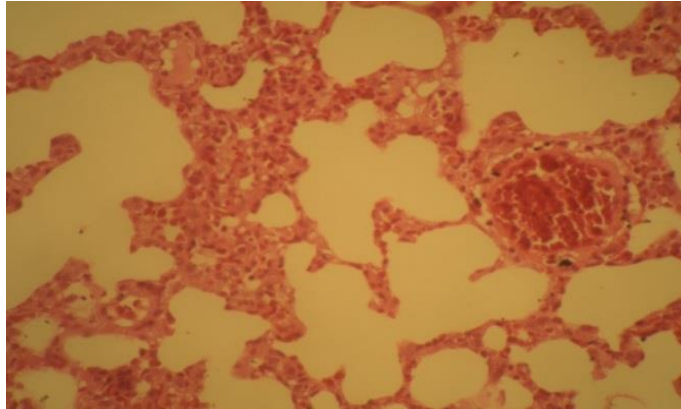


نمودار ۲. تأثیر اسانس گل محمدی بر روی میزان بیان ژن COX-2. علامت * نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه کنترل مثبت بوده که با گروه کنترل منفی معنی‌دار است ($P < 0/05$). علامت ** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه‌های مختلف تیمار بوده که با گروه کنترل مثبت معنی‌دار هستند ($P < 0/05$).

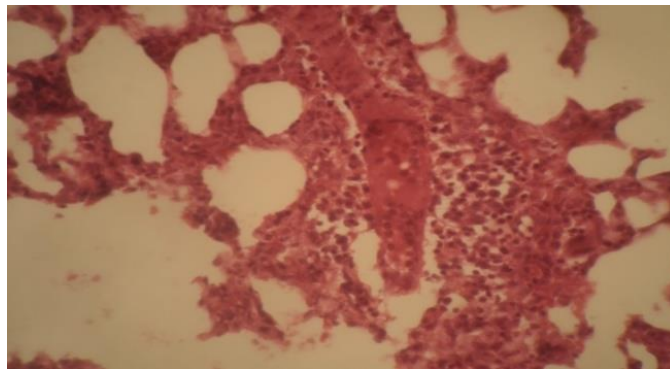
شده با اسانس گل محمدی در هر دو دوز و گروه ایندومتاسین نیز دیده شد (شکل‌های ۳، ۴، ۵). همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، در گروه کنترل مثبت به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی، ادم التهابی و ارتشاح نوتروفیل در بافت‌های بینابینی ایجاد شده است و از لحاظ پرخونی گروه کنترل مثبت به طور معنی‌دار پرخون‌تر از گروه کنترل منفی است. از سوی دیگر، در شاخص شدت ذات‌الریه

دیواره آلوئول‌های ریوی ضخیم شده و به دلیل هایپرتروفی ماکروفاژهای درون عروقی و بینابینی ریوی و نیز به دلیل نفوذ و حاشیه نشینی نوتروفیل‌ها در دیواره سیاهرگ‌ها (margination)، بافت ریه هیپرسلولار به نظر می‌رسد. تمام این تغییرات نشان‌دهنده وقوع ذات‌الریه بینابینی حاد در بافت‌های ریه نمونه‌های این مطالعه بود (شکل ۲). همچنین، این تغییرات بافتی با شدت‌های مختلف در گروه‌های تیمار

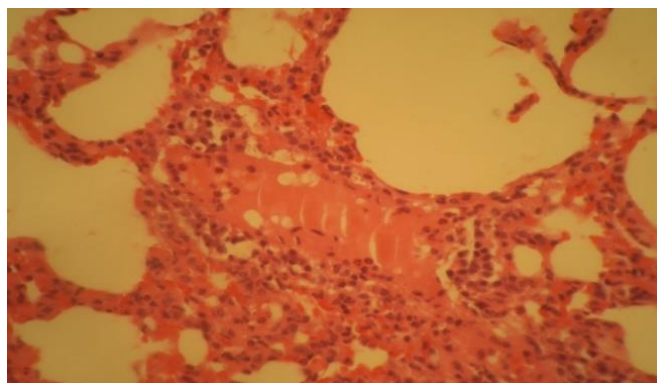
بینابینی که از میانگین مقادیر متغیرهای دیگر هر نمونه به شدت ذات‌الریه نسبت به گروه کنترل منفی افزایش داشت دست آمد نشان داد که گروه کنترل مثبت به طور معنی‌دار در (جدول ۴).



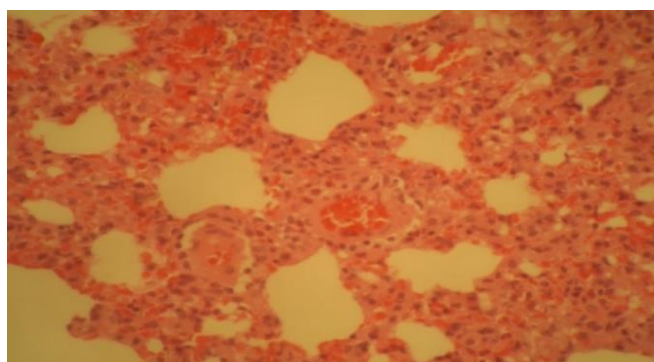
شکل ۱. کنترل منفی: پرخونی و ادم ملایم بافت بینابینی و عدم مشاهده نوتروفیل در بافت ریه *۴۰۰.



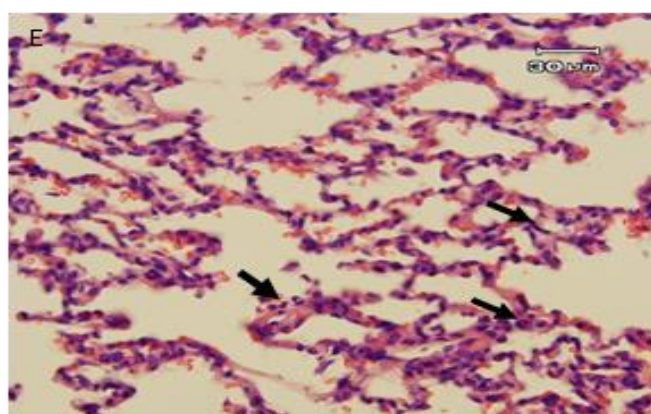
شکل ۲. گروه کنترل مثبت: مشاهده ادم التهابی در اطراف سیاهرگ در بافت بینابینی ریه. تجمع آستین وار نوتروفیل‌ها در اطراف سیاهرگ (سرپیکان). مرزنشینی نوتروفیل‌ها در مجاور آندوتلیوم سیاهرگ (پیکان‌ها). *۴۰۰.



شکل ۳. گروه تیمار با اسانس گل محمدی دوز ۵۰: پرخونی بافت ریه به همراه ارتشاح نوتروفیل‌ها در اطراف رگ خونی (پیکان بزرگ) و مرزنشینی نوتروفیل‌ها در مجاور آندوتلیوم رگ خونی (پیکان کوچک) *۴۰۰.



شکل ۴. گروه تیمار با اسانس گل محمدی دوز ۱۰۰: پرخونی، ادم التهابی بافت بینابینی و ارتشاح نوتروفیل در بافت بینابینی ۴۰۰*



شکل ۵. گروه ایندومتاسین: لکوسیت‌های چند هسته‌ای (پلی مورفونوکلتر) از نوع نوتروفیل نفوذ یافته و حاشیه نشین شده در بافت ریه ۴۰۰*

جدول ۴. میانگین و خطای استاندارد مقادیر عددی شاخص‌های آسیب‌شناسی در گروه‌های مختلف مطالعه

گروه‌ها	ادم التهابی	ارتشاح نوتروفیل	پرخونی	شدت ذات‌الریه بینابینی
کنترل منفی (لاپاراتومی)	۱/۶±۰/۴	۰/۸±۰/۳	۱±۰	۱/۱±۰/۲
کنترل مثبت	۳/۱±۰/۱*	۳/۵±۰/۲*	۳/۵±۰/۲*	۳/۲±۰/۱*
اسانس گل محمدی دز ۵۰	۲/۶±۰/۴	۲/۸±۰/۵۱	۳±۰/۴	۲/۷±۰/۴
اسانس گل محمدی دز ۱۰۰	۲/۸±۰/۲	۲/۶±۰/۲	۳±۰	۲/۷±۰/۱
ایندومتاسین	۲/۳±۰/۴	۲/۵±۰/۳	۲/۸±۰/۴	۲/۶±۰/۴

علامت * نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه کنترل مثبت بوده که با گروه کنترل منفی معنی‌دار است ($P < 0/05$). علامت ** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه‌های مختلف تیمار بوده که با گروه کنترل مثبت معنی‌دار هستند ($P < 0/05$).

۴. بحث

مطالعات زیادی نشان داده‌اند که در خلال سپسیس، واکنش‌های استرس اکسیداتیو فعال شده و شاخص‌های آسیب اکسیداتیو افزایش می‌یابد [۳۹، ۴۰]. در سپسیس، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش یافته، در حالی که مکانیسم‌های جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد ضعیف می‌شوند که این روند سبب اختلال در عملکرد بافت‌ها می‌شود [۴۱]. با توجه به عوامل تأثیرگذار در ایجاد سپسیس، می‌توان

حاصل از سپسیس، تخریب بافتی شدیدی را در ۲۴ ساعت پس از CLP موجب شده است. همچنین، مشخص شد که اسانس گل محمدی با دو دوز ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg b.w موجب حفظ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کاهش آسیب بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو در سپسیس می‌شود. چنین نتایج مشابهی در گروه تیمار شده با داروی ضدالتهابی ایندومتاسین نیز گزارش شد (جدول ۳). مطالعات دیگر نیز نشان دادند که در مدل التهابی CLP، تغییر پارامترهای دخیل در استرس اکسیداتیو منجر به آسیب بافتی می‌شود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۴۹-۴۷]. همچنین مطالعه Bayir و همکاران در استفاده از دانه سیاه‌دانه (*Nigella sativa*)، تأییدی بر نتایج ما در کاهش آسیب‌های بافت ریه در گروه‌های تیمار شده بود [۵۰]. مطالعه‌ای دیگر نیز نشان داد که استفاده از روغن کنجد به صورت خوراکی ۶ ساعت پس از ایجاد مدل CLP باعث کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو و پارامترهای التهابی در رت شد [۵۱، ۵۲]. ترکیبات دیگری همچون tempol, apocynin, dimethylthiourea و آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی استخراج شده از اسفناج نیز همگی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و توانایی جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را دارند. به عنوان مثال tempol در رت‌های سپتیکی میزان نقص در ارگان‌های بدن و بیان iNOS را با استفاده از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود کاهش داد [۴۲]. رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) به طور چشمگیری غشای سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و پراکسیداسیون لیپیدها را القا می‌کند. پراکسیداسیون لیپید یک علامت از استرس اکسیداتیو می‌باشد که در برهمکنش ROS با اسیدهای چرب غیراشباع، مطرح شده و شکل‌گیری محصولات از قبیل MDA و ۴-هیدروکسی نون انول را پیش می‌برد که سبب آسیب به ترکیبات غشاء سلول، نکروز سلول و التهاب می‌شود [۵۳]. در سپسیس، آنزیم میلوپراکسیداز با استفاده از H₂O₂ باعث تولید واسطه‌های

راهکارهای درمانی را تعیین کرد که یکی از بهترین آنها کاهش سطح بار میکروبی و کاهش عوامل استرس اکسیداتیو و التهابی است. درمان‌های رایج سپسیس شامل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای کاهش بار میکروبی، همچنین تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی توسط داروهای مختلف می‌باشد. به علاوه اینکه داروهای ضدالتهابی با کاهش واکنش‌های التهابی ناشی از سپسیس می‌توانند باعث تعویق یا درمان بیماری شوند. یکی از راه‌های جایگزین که در مدل‌های تجربی به کار گرفته می‌شود، استفاده از عصاره گیاهان دارویی است که معمولاً دارای اثرات ضدباکتریایی و ضداکسیدانی هستند [۴۲]. به طور کلی از دیرباز استفاده از گیاهان دارویی در طب سنتی، به دلیل دسترسی آسان و قیمت پایین، نقش مهمی را در بهداشت و سلامت جامعه بخصوص در کشورهای در حال پیشرفت از جمله کشورهای آسیایی داشته‌اند [۴۳]. درمان و یا کاهش عوارض عفونت و التهاب، یکی از مهم‌ترین کاربردهای گیاهان معطر دارویی می‌باشد [۴۴]. از اینرو در این تحقیق یک داروی گیاهی بومی ایران و شناخته شده در طب سنتی، یعنی گل محمدی انتخاب شده و تلاش شده است تا تأثیر آن بر روی فاکتورهای مؤثر در ایجاد سپسیس مطالعه شود. بر اساس آنالیز انجام شده با روش‌های GC و GC-MS، از بین ۲۴ نوع ترکیب شناخته شده در اسانس استخراج شده از گل محمدی، Trans, Citronellol، Geraniol و Phenyle alcohol ترکیبات اصلی این اسانس را تشکیل دادند (جدول ۲). مطالعات زیادی خواص آنتی‌اکسیدانی گل محمدی را بررسی و تأیید کردند [۴۶، ۴۵]. نتایج این تحقیق نشان داد که سپسیس بواسطه‌ی افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها (LP) و میلوپراکسیداز (MPO) و کاهش در گلوتاتیون احیا (GSH) و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (FRAP) سبب آسیب به بافت ریه‌ی رت‌های مبتلا به سپسیس شد (جدول ۳). این داده‌ها همراه با نتایج هیستوپاتولوژیکی نشان دادند که آسیب اکسیداتیو بافت ریه

گزارش ارائه شده توسط Stolf و همکاران مبنی بر نقش محافظتی گلوکاتایون در سپسیس مطابقت دارد [۵۷].

از سوی دیگر، نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که میزان FRAP به عنوان یک روش معمول برای اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با توجه به تولید یون آهن، در نمونه‌ی پلاسما‌ی موش‌های سپتیکی، ۲۴ ساعت پس از ایجاد CLP کاهش داشته و تیمار رت‌ها با اسانس گل محمدی در دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg b.w باعث افزایش و بازگشت سطح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پلاسما (FRAP) به حالت نرمال می‌شود (جدول ۳). علاوه بر این، نتایج حاصل از تحقیق نشان می‌دهد که بیماری سپسیس تأثیری بر آنزیم GST اثر قابل توجهی نداشته است (جدول ۳).

در این مطالعه، بررسی پارامتر دخیل در فرآیند التهاب در گروه کنترل مثبت نشان داد که افزایش تولید ROS در رت‌های سپتیکی منجر به افزایش بیان ژن COX-2 و تولید PGE2 در پلاسما شده که در نهایت منجر به آسیب بافتی در ریه می‌شود (نمودارهای ۱ و ۲). از دیرباز نقش داروهای گیاهی که بتوانند بر روی پارامترهای مذکور تأثیر و اثرات التهابی در سپسیس را کاهش و نقش مهمی در کنترل بیماری‌های التهابی و آسیب‌های بافتی حاصل از آن بازی کنند، مورد بررسی قرار گرفته است [۶۰-۵۸]. از طرفی مهار ژن COX-2 به عنوان یک راهکار درمانی مؤثر برای پیشگیری از التهاب و آسیب‌های بافتی حاصل از آن معرفی شده است [۶۱]. COX-2 نقش مهمی در پاتوژنز التهاب بازی می‌کند و به طور قابل توجهی توسط محرک‌های التهابی که منجر به افزایش سنتز پروستاگلانین‌ها (واسطه‌های التهابی قوی) در بافت‌های التهابی می‌شود، تشدید می‌شود. PGE2 فراوان‌ترین پروستاگلانین در بافت‌های التهابی است که از آراشیدونیک اسید طی فعالیت COX-2 ایجاد می‌شود [۶۴-۶۲]. نتایج حاصل از بررسی بیان ژن COX-2 و PGE2 در بافت ریه نشان می‌دهد که اسانس گل محمدی در هر دو

فعالی می‌شود که این واسطه‌ها پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش می‌دهند. آنزیم MPO نقش بسیار مهمی را در شروع پراکسیداسیون لیپیدها در سیستم *in vivo* ایفاء می‌کند. علاوه بر این، شروع پراکسیداسیون لیپیدها و تشکیل ایکوزانوئیدهای فعال، فرآیندهای مهمی در التهاب هستند [۵۴، ۵۵]. بنابراین، کاهش معنی‌دار در میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت ریه ($P < 0.05$) در رت‌های تیمار شده با اسانس گل محمدی همزمان با کاهش قابل ملاحظه در میزان فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز، نشان دهنده نقش محافظتی این اسانس در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها است. به عبارت دیگر، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها در بافت ریه بواسطه مهار فعالیت آنزیم MPO توسط اسانس گل محمدی (جدول ۳) می‌تواند یکی از مکانیسم‌های دخیل در اثر محافظتی گل محمدی در جلوگیری از آسیب بافتی باشد. همچنین، احتمال می‌رود که افزایش معنی‌دار و ناگهانی در فعالیت آنزیم MPO در بافت ریه همراه با افزایش LP در رت‌های سپتیکی مسئول احتقان شدید و حضور نوتروفیل‌های نفوذ یافته یا حاشیه‌نشین شده در بافت ریه باشد که این آسیب‌ها به طور مؤثر در رت‌هایی که با اسانس گل محمدی در دزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن تیمار شده‌اند، کاهش داشته است (جدول ۳).

از سوی دیگر، گلوکاتایون که به عنوان یک جزء مهم در مکانیسم دفاع داخل سلولی نقش دارد [۵۶]. در سپسیس کاهش یافته که همراه با افزایش LP (جدول ۳) نشان‌دهنده آسیب بافت ریوی بود. افزایش گلوکاتایون در رت‌های تیمار شده با اسانس، نشان دهنده اثر محافظتی آن در جلوگیری از آسیب بافت ریه است. جبران کاهش گلوکاتایون که یک جزء مهم از سیستم حفاظتی داخل سلولی بر علیه استرس اکسیداتیو می‌باشد، منجر به بازیافت مکانیسم دفاع سلولی و توقف پراکسیداسیون لیپیدها شده که در نتیجه سلول را در مقابل آسیب اکسیداتیو بافتی محافظت کرد. این نتیجه با

مشارکت نویسندگان

مطالعه و طراحی مطالعه: ابوالفضل دادخواه و فائزه فاطمی؛ کارهای آزمایشگاهی و جمع آوری داده‌ها: ابوالفضل دادخواه و فائزه فاطمی؛ مطالعه پاتولوژی: محمدرضا محمدی ملایری؛ تجزیه و تحلیل داده‌ها: محمدحسن کاروین آشتیانی و زهرا موسوی؛ نگارش و اصلاح متن مقاله: سالومه دینی و صابره ناییج.

تضاد منافع

نویسندگان اظهار داشتند که هیچ گونه تضاد منافع در این مطالعه وجود ندارد و به تنهایی مسئولیت صحت محتوای مقاله را بر عهده دارند.

تقدیر و تشکر

این مقاله با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم انجام شده است.

دز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش معنی‌داری در بیان این ژن و محصول آن (PGE2) در رت‌های مبتلا به سپسیس در ۲۴ ساعت پس از CLP می‌شود که این نتایج در گروه ایندومتاسین نیز مشاهده شد (نمودارهای ۱ و ۲). Wang و همکاران نشان دادند که Licorice، یک نوع گیاه چینی، دارای اثرات ضدالتهابی است و دارای اثرات قابل توجهی بر روی بیان COX-2 و سایتوکین‌های پیش‌التهابی در موش گزارش کرد [۶۵].

۵. نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اسانس با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، دارای نقش محافظتی در برابر عوارض و آسیب‌های بافتی ناشی از سپسیس می‌باشد که احتمالاً بخش عمده‌ای از این اثرات را از طریق کاهش سطح ROS و در نتیجه کاهش بیان ژن COX-2 و سطح PGE2 اعمال کرده است. در نهایت، منجر به کاهش آسیب‌های ناشی از سپسیس در بافت ریه شده که این نتایج با مشاهدات هیستوپاتولوژی نیز کاملاً همخوانی دارد.

منابع

1. Derek C, Angus MPH and van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369: 840-51.
2. Sharma R and Vijayakumar M. Procalcitonin for improved assessment and an answer to sepsis dilemma in critically ill—a myth, a hype, or a reality? *Nitte Univ. J. Health Sci.* 2014; 4: 57-65.
3. Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, Francois B, Martin-Loeches I, Lipman J, Reinhart K, Antonelli M, Pickkers P, Njimi H, Jimenez E and Sakr Y. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the intensive care over nations (ICON) audit. *Lancet Respir. Med.* 2014; 2: 380-6.
4. Gaieski DF, Edwards JM, Kallan MJ and Carr BG. Benchmarking the incidence and mortality of severe sepsis in the United States. *Crit. Care Med.* 2013; 41: 1167-74.
5. Iskander KN, Osuchowski MF, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa SH, Stepien D, Valentine C and Remick DG. Sepsis: multiple abnormalities, heterogeneous responses, and

- evolving understanding. *Physiol. Rev.* 2013; 93: 1247-88.
6. DeJager L, Pinheiro I, Dejonckheere E and Libert C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends Microbiol.* 2011; 19 (4): 198-208.
 7. Strong VEM, Mackrell PJ, Concannon EM, Naama HA, Schaefer PA, Shaftan GW, Stapleton PP and Daly JM. Blocking prostaglandin E2 after trauma attenuates pro-inflammatory cytokines and improves survival. *Shock.* 2000; 14: 374-9.
 8. Ritter C, Andrades M, Frota Júnior ML, Bonatto F, Pinho RA, Polydoro M, Klamt F, Cleovaldo TS, Pinheiro CTS, Sérgio S, Menna-Barreto SS and José Cláudio F. Moreira JCF, Dal-Pizzol F. Oxidative parameters and mortality in sepsis induced by cecal ligation and perforation. *Intensive Care Med.* 2003; 29: 1782-9.
 9. Koksai GM, Sayilgan C, Aydin S, Oz H and Uzun H. Correlation of plasma and tissue oxidative stresses in intra-abdominal sepsis. *J. Surg. Res.* 2004; 122 (2): 180-3.
 10. Lowes DA, Webster NR, Murphy MP and Galley HF. Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. *BJA.* 2013; 110 (3): 472-80.
 11. Dini S, Fatemi F, Rezaei MB, Dadkhah A, Dabbagh R. Considering the effect of gamma irradiation on chemical compositions and antioxidant activity of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) essential oils. *Applied Biology* 2012; 2: 11-23.
 12. Fatemi F, Dadkhah A, Rezaei M.B., Dini S. Effect of γ -irradiation on the chemical composition and antioxidant properties of cumin extracts. *Food Biochem.* 2013; 37(4): 432-439.
 13. Dini S, Dadkhah A, Fatemi F. Biological properties of Iranian *Zataria multiflora* essential oils: a comparative approach. *eJBio.* 2015; 11 (3): 57-62.
 14. Fatemi F, Dini S, Rezaei MB, Dadkhahd A, Dabbagh R, Naj S. The effect of γ -irradiation on the chemical composition and antioxidant activities of peppermint essential oil and extract. *J. Essent. Oil Res.* 2014; 26 (2): 97-104.
 15. Dadkhah A, Khalaj GH, Fatemi F, Dini S, Hesaraki S, Naj S, Babbaei M, Attaran HR. The study of the role of barijeh (*Ferula gummosa* Boiss.) against hepatotoxicity induced by acetaminophen in the animal model. *J. Med. Plants* 2016; 15 (4): 14-23.
 16. Roshanaei K, Dadkhah A, Fatemi F, Dini S. *Heracleum persicum* e oil administration in CCL4 treated rat sustains antioxidant / oxidative stress statue. *Advances in Bioresearch.* 2017; 8: 93-101.
 17. Attaran HR, Dini S, Fatemi F, Hesaraki S, Parhizkarie M, Dadkhaha A. Hepatoprotective evaluation of Iranian *Satureja Rechingeri* essential oils against oxidative injuries induced by acetaminophen in wistar rats. *Int. J. Rev. Life. Sci.* 2015; 5(5): 204-210.
 18. Dadkhah A, Fatemi F, Mohammadi Malayeri MR, Torabi, F, Sarbazi M, Dini S. Potential protective effect of pretreatment with caraway essential oil *in vivo* model of iron

- nanoparticle-induced liver injury. *JMPB*. 2018; 2: 145-152.
19. Dadkhah A, Khalaj Gh, Fatemi F, Dini S, Naj S, Fadaee Monfared M. Considering the effect of Golpar (*Heracleum persicum*) essential oils on the acute hepatotoxicity induced by acetaminophen in wistar rats. *Journal of Animal Research*. 2016; 29 (3): 292-306.
20. Roshanaei K, Dadkhah A, Fatemi, F and Dini S. The protective effects of Iranian golpar (*Heracleum persicum*) essential oil in liver damages induced by CCl₄ in wistar rats. *J. Med. Plants* 2017; 1:110-122.
21. Hajhashemi V, Ghannadi A and Hajiloo M. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Rosa damascena* hydroalcoholic extract and its essential oil in animal models. *IJPR*. 2010; 9: 163-8.
22. Yousefi B. Screening of *Rosa damascena* Mill. Landraces for flower yield and essential oil content in cold climates. *Folia Hort*. 2016; 28 (1): 31 40.
23. Kumar R, Sharma S, Sood S, Agnihotri VK and Singh B. Effect of diurnal variability and storage conditions on essential oil content and quality of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) flowers in north western Himalayas. *Sci Hort*. 2013; 154: 102-8.
24. Akbari M, Kazerani HR, Kamrani A and Mohri M. A preliminary study on some potential toxic effects of *Rosa damascena* Mill. *IJVR*. 2013; 14 (3): 232-6.
25. Dadkhah A, Fatemi F, Mohammadi Malayeri MR, Karvin Ashtiyani MH, Kazemi Noureini S and Rasooli A. Considering the effect of *Rosa damascena* essential oil on oxidative stress and COX-2 gene expression in liver of septic rats. *Turk. J. Pharm. Sci*. 2019; 16 (4): 416-424.
26. Fatemi F, Golbodagh A, Hojihosseini R, Dadkhah A, Akbarzadeh K, Dini S and Mohammadi Malayeri MR. Anti-inflammatory effects of deuterium-depleted water plus *Rosa damascena* Mill. essential oil via cyclooxygenase-2 pathway in rats. *Turk. J. Pharm. Sci*. 2020, in press.
27. Achuthan CR, Babu BH and Padikkala J. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of *Rosa damascena*. *Pharmaceutical Biol*. 2003; 41 (5): 357-61.
28. Fatemi F, Allameh A, Khalafi H and Ashrafihelan J. Hepatoprotective effects of γ -irradiated caraway essential oils in experimental sepsis. *Appl. Radiat Isotopes*. 2010a; 68: 280-5.
29. Fatemi F, Allameh A, Khalafi H, Rezaei MB and Seyhoun M. The effect of essential oils and hydroalcoholic extract of caraway seed on oxidative stress parameters in rats suffering from acute lung inflammation before and after γ -irradiation. *J. Med. Aroma. Plant*. 2010b; 25 (4): 441-55.
30. Fatemi F, Allameh A, Khalafi H, Rajaei R, Davoodian N and Rezaei MB. Biochemical properties of γ -irradiated caraway essential oils. *J. Food Biochem*. 2011; 35: 650 - 62.
31. Leite BL, Bonfim RR, Antonioli AR, Thomazzi SM, Araújo AA, Blank AF, Estevam CS, Cambui EV, Bonjardim LR, Albuquerque Júnior RL and Quintans-Júnior L J. Assessment of antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant properties of cymbopogon

- winterianus leaf essential oil. *Pharm. Biol.* 2010; 48 (10): 1164-9.
32. Rasooli A, Fatemi F, Hajhosseini R, Vaziri A, Akbarzadeh K, Mohammadi Malayeri MR, Dini S and Foroutanrad M. Synergistic effects of deuterium depleted water and *Mentha longifolia* L. essential oils on sepsis-induced liver injuries through regulation of cyclooxygenase-2. *Pharmaceutical Biology* 2019; 57 (1): 125-32.
33. Yong-Hua Du, Rui-Zhang Feng, Qun Li, Qin Wei, Zhong-Qiong Yin, Li-Jun Zhou, Cui Tao, and Ren-Yong Jia. Anti-inflammatory activity of leaf essential oil from *Cinnamomum longepaniculatum* (Gamble) n. chao. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2014; 7 (12): 5612-20.
34. Wills ED. Lipid peroxide formation in microsomes: general consideration. *Biochem. J.* 1969; 113: 315-24.
35. Seldak J and Lindsay RH. Estimation of total protein bound and non-protein sulfidryl groups in tissue with Elman's reagent. *Anal. Biochem.* 1986; 25: 192-205.
36. Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. Glutathione s-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974; 25: 7130-9.
37. Benzie IFF and Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 1996; 239: 70-6.
38. Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B and Albrightson-Winslow C. Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J. Pharmacol Methods* 1990; 24: 285 - 95.
39. Macdonald J, Galley HF and Webster NR. Oxidative stress and gene expression in sepsis. *BJA.* 2003; 90 (2): 221-32.
40. Victor VM and De La Fuente M. Immune cells redox state from mice with endotoxin-induced oxidative stress. Involvement of NF- κ B. *Free Radic. Res.* 2003; 37 (1): 19-27.
41. Peralta JG, Llesuy S, Evelson P, Carreras MC, Flecha BG and Poderoso JJ. Oxidative stress in skeletal muscle during sepsis in rats. *Circulatory Shock.* 1993; 39 (2): 153-9.
42. Cuzzocrea S, McDonald MC, Mazzon E, Filipe HM, Lepore V, Terranova ML, Ciccolo A, Caputi AP and Thiemermann C. Beneficial effects of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, on the multiple organ failure induced by zymosan in the rat. *Crit. Care Med.* 2001; 29 (1): 102-11.
43. Alitonou GA, Avlessi F, Sohounhlou DK, Agnani H, Bessiere JM and Menut C. Investigations on the essential oil of *Cymbopogon giganteus* from Benin for its potential use as an anti-inflammatory agent. *Int. J. Aromather.* 2006; 16: 37-41.
44. Dadkhah A and Fatemi F. Heart and kidney oxidative stress status in septic rats treated with caraway extracts. *Pharmaceutical Biology* 2011; 49 (7): 679-86.
45. Senol FS, Orhan IE, Kurkcuoglu M, Hassan Khan MT, Altintas A, Sener B and Can Baser KH. A mechanistic investigation on anticholinesterase and antioxidant effects of rose (*Rosa damascena* Mill). *Food Res. Int.* 2013; 53: 502-9.
46. Saleh M, Clark S, Woodard B, Deolu-Sobogun SA. Antioxidant and free radical

- scavenging activities of essential oils. *Ethn. Dis.* 2010; 20: 78-82.
47. Hsu DZ and Liu MY. Effects of sesame oil on oxidative stress after the onset of sepsis in rats. *Shock.* 2004a; 22 (6): 582-5.
48. Hsu DZ, Li YH, Chien SP and Liu MY. Effects of sesame oil on oxidative stress and hepatic injury after cecal ligation and puncture in rats. *Shock.* 2004b; 21 (5): 466-9.
49. Hsu DZ, Su SB, Chien SP, Chiang PJ, Li YH, Lo YJ and Liu MY. Effect of sesame oil on oxidative-stress-associated renal injury in endotoxemic rats: involvement of nitric oxide and proinflammatory cytokines. *Shock.* 2005; 24 (3): 276-80.
50. Bayir Y, Albayrak A, Can I, Karagoz Y, Cakir A, Suleyman H, Uyanik H, Yayla N, Polat B, Karakus E and Keles MS. *Nigella sativa* as a potential therapy for the treatment of lung injury caused by cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand).* 2012; 58 (2): 1680-7.
51. Hsu DZ, Chen KT, Chien SP, Li YH, Huang BM, Chuang YC and Liu MY. Sesame oil attenuates acute iron-induced lipid peroxidation-associated hepatic damage in mice. *Shock.* 2006b; 26 (6): 625-30.
52. Hsu DZ, Chien SP, Li YH, Chuang YC, Chang YC and Liu MY. Sesame oil attenuates hepatic lipid peroxidation by inhibiting nitric oxide and superoxide anion generation in septic rats. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 2008; 32 (2): 154-9.
53. Stark G. Functional consequences of membrane damage. *J. Member Biol.* 2005; 205 (1): 1-16.
54. Podrez EA, Abu-Soud HM and Hazen SL. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28: 1717-25.
55. Zhang R, Brennan ML, Shen Z, Macpherson JC, Schmitt D, Cheryl Molenda Ch and Hazen SL. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. *The Journal of Biological Chemistry* 2002; 277: 46116-22.
56. Villa P, Sacconi A and Sica A. Glutathione protects mice from lethal sepsis by limiting inflammation and potentiating host defense. *J. Infect. Dis.* 2002; 185: 1115-20.
57. Stolf AM, dos Reis Lı'vero F, Dreifuss AA, Bastos-Pereira AL, Fabosi IA, de Souza CEA, de Oliveira Gomes L, Chicorski R, Brandt AP, Cadena SMS, Jose' Telles EQ, Hauser AB, Elferink RO, Zampronio AR and Acco A. Effects of statins on liver cell function and inflammation in septic rats. *J. Surg. Res.* 2012; 178 (2): 888-97.
58. Kim SJ, Yoon SJ, Kim YM, Hong SW, Yeon SH, Choe KI and Lee SM. HS-23, *Lonicera japonica* extract, attenuates septic injury by suppressing toll-like receptor 4 signaling. *J. Ethnopharmacol.* 2014; 155 (1): 256-66.
59. Yun N, Lee CH and Lee SM. Protective effect of *Aloe vera* on polymicrobial sepsis in mice. *FCT.* 2009; 47 (6): 1341-8.
60. Rios CEP, Abreu AG, Braga Filho JAF, Nascimento JR, Guerra RNM, Amaral FMM, Maciel MC and Nascimento FR. *Chenopodium ambrosioides* L. Improves phagocytic activity

and decreases bacterial growth and the systemic inflammatory response in sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Front Microbiol.* 2017; 8: 148.

61. Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK and Lee SS. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kappa B activation. *Mutat. Res.* 2001; 480-1: 243-68.

62. Pandey M, Prakash O, Santhi WS, Soumithran CS and Pillai RM. Overexpression of COX-2 gene in oral cancer is independent of stage of disease and degree of differentiation. *Int. J. Oral Maxillofac.* 2008; 37: 379-83.

63. Oka T. Prostaglandin E2 as a mediator of fever: the role of prostaglandin e (EP) receptors. *Front Bio. Sci.* 2004; 9: 3046-57.

64. Harirforoosh S, Asghar W and Jamali F. Adverse Effects of nonsteroidal

antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2013; 16 (5): 821-47.

65. Wang HL, Li YX, Niu YT, Zheng J, Wu J, Shi GJ, Ma L, Niu Y, Sun T, Yu JQ. Observing anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of glycyrrhizin through regulating COX-2 and pro-inflammatory cytokines expressions in mice. *Inflammation* 2015; 38: 2269-78.

How to cite this article: Dadkhah A, Fatemi F, Mohammadi Malayeri MR, Karvin Ashtiani MH, Mosavi Z, Najj S, Dini S. The anti-inflammatory and antioxidant effects of rosa damascena mill. essential oil on the lung injury in the CLP model. *Journal of Medicinal Plants* 2020; 19(74): 277-294. doi: 10.29252/jmp.19.74.277



Institute of
Medicinal Plants

Journal of Medicinal Plants

Journal homepage: www.jmp.ir



Research Article

The anti-inflammatory and antioxidant effects of *rosa damascena* mill. essential oil on the lung injury in the CLP model

Abolfazl Dadkhah^{1,*}, Faezeh Fatemi², Mohammad Reza Mohammadi Malayeri³, Mohammad Hassan Karvin Ashtiani⁴, Zahra Mosavi⁵, Sabere Naij⁶, Salome Dini⁷

¹ Department of Medicine, Faculty of Medicine, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

² Materials and Nuclear Fuel Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran

³ Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

⁴ Department of biology, Faculty of Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

⁵ Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Payame-e-Noor University, Tehran, Iran

⁶ Faculty of Botany, Payam Noor University, Tehran, Iran

⁷ Young Researchers and Elite Club, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

ARTICLE INFO

Keywords:

Rosa damascena Mill.

Essential oils

CLP

Oxidative stress

Sepsis

Lung tissue

ABSTRACT

Background: Sepsis or infection is the second leading cause of death in people who are intensive care units. Due to the side effects of NSAIDs drugs, the use of medicinal plants with anti-inflammatory such as *Rosa (R.) damascene* Mill. for treating and reducing the symptoms of the inflammation has been suggested. **Objective:** The current study aimed to evaluate the anti-inflammatory and antioxidant activities of *Rosa (R.) damascena* Mill. essential oils in the lung tissue of the septic rats induced by the experimental cecal ligation and puncture (CLP) rat model. **Methods:** The rats were divided into 5 groups: negative control group, positive control group and treatment groups with *R. damascena* Mill. essential oils and indomethacin. After 24h of CLP surgery, the oxidative parameters were measured. **Results:** The induction of sepsis reduced the levels of glutathione (GSH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) as well as increased the levels lipid peroxidation (LP), myeloperoxidase (MPO), prostaglandin E2 (PGE2) and cyclooxygenase-2 (COX-2), but it had no effects on glutathione S-transferase (GST). However, the treatments of rats with *R. damascena* Mill. essential oils have diminished the levels of biochemical parameters. Histopathological studies also demonstrated that the induction of sepsis resulted in the lung tissue damages, while these were improved by the treatment of rats with *R. damascena* Mill. essential oils. **Conclusion:** The oxidative damages of the lung tissue were induced by the sepsis and the administration of *R. damascena* Mill. essential oils can be effective in the prevention and improvement of the injuries.

Abbreviations: FRAP, ferric reducing ability of plasma; GSH, glutathione; LP, lipid peroxidation; MPO, myeloperoxidase; PGE2, prostaglandin E2; COX-2, cyclooxygenase-2; GST, glutathione S-transferase.

* Corresponding author: dadkhah_bio@qom-iau.ac.ir

Received 25 December 2018; Received in revised form 29 April 2019; Accepted 11 May 2019

doi: [10.29252/jmp.19.74.277](https://doi.org/10.29252/jmp.19.74.277)

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)