



Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Salvia officinalis* L. against Acute Liver Toxicity of Acetaminophen in Mice

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Forouzandeh H.* PhD,
Vosughi Niri M.¹ PhD,
Kalantar M.¹ PhD,
Azadi M.¹ MSc,
Samadani M.¹ MD

How to cite this article

Forouzandeh H, Vosughi Niri M, Kalantar M, Azadi M, Samadani M. Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Salvia officinalis* L. against Acute Liver Toxicity of Acetaminophen in Mice. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences. 2016;22(3):185-191.

*Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

¹Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Correspondence

Address: Blood Transfusion Organization, Ghasr Dasht Street, Larestan, Fars, Iran. Postal Code: 74371-58385
Phone: +987152242957
Fax: +987152244000
hosainforouzandeh@yahoo.com

Article History

Received: September 18, 2015
Accepted: May 10, 2016
ePublished: June 30, 2016

ABSTRACT

Aims The medical herbs play important roles in the treatment of liver diseases. In the traditional medicine, *Salvia officinalis* is highly used to heal a wide range of diseases. The aim of this study was to investigate the treatment effects of *Salvia officinalis* on hepatotoxicity due to acetaminophen.

Materials & Methods In the experimental study, 60 albino mice were studied. The rats were divided into 6 groups. The first, second, and third groups were physiological serum, crude extract of *Salvia officinalis*, and 500mg acetaminophen per 1Kg consumed as single dose, respectively. The fourth, fifth, and sixth groups received 5-day 125, 250, and 500mg per 1Kg extract of *Salvia officinalis*, respectively. Then, they received 500mg acetaminophen one hour after the last administration of extract. Blood sampling was done from the carotids of the rats 24hour later, and the levels of bilirubin and liver enzymes were measured. In addition, their liver tissues were studied. Data was analyzed by SPSS 16 software using one-way ANOVA.

Findings There were significant increases in the direct and complete bilirubin concentration and liver enzymes due to acetaminophen compared to control group ($p < 0.05$). There were significant reductions in the direct and complete bilirubin and liver enzymes due to 125, 250, and 500mg per 1Kg of the extract of *Salvia officinalis* compared to control group ($p < 0.05$). The results were confirmed by the histology studies.

Conclusion 250 and 500mg per 1Kg of *Salvia officinalis* potentially protect the damages caused by acetaminophen. In addition, they considerably improve the tissue damage and the biochemical indices in the liver damages.

Keywords Acetaminophen; *Salvia officinalis*; Rats, Wistar; Hepatotoxicity

CITATION LINKS

- [1] Hepatoprotective Potential Of ...
- [2] Biochemical mechanisms in drug-induced liver injury: Certainties and ...
- [3] Hepatoprotective activity of cassia fistula seeds against paracetamol-induced hepatic injury in ...
- [4] Herbal medicines for liver diseases in ...
- [5] antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of ...
- [6] Antioxidant activities of ...
- [7] Antioxidative phenolic compounds from ...
- [8] The effect of acetaminophen nanoparticles on liver toxicity in ...
- [9] Evidence that acetaminophen and ...
- [10] The role of cytochrome p-450 enzymes in hepatic and ...
- [11] Acetaminophen-induced ...
- [12] Ayanoglu-Dulger G. Protective effect of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against ...
- [13] Hepatoprotective effect of L-carnitine against ...
- [14] A colorimetric method for the determination of serum levels of glutamic oxaloacetic acid and ...
- [15] Bilirubin measurement for neonates: comparison of 9 frequently used ...
- [16] A study of six representative methods of ...
- [17] Hepatoprotective activity of methanol extract of some medicinal plants against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in ...
- [18] Practice of adult liver transplantation in Italy: Recommendations of the Italian Association for the Study of ...
- [19] Hepatoprotective activity of some indigenous ...
- [20] Study of the protective effect of teucrium polium L. extract on ...
- [21] Acetaminophen induced hepatic toxicity: Protective role of ...
- [22] Acetaminophen-induced hepatic necrosisII; Role of covalent binding in ...
- [23] The smaller halogenated aliphatic ...
- [24] Role of bilirubin as an antioxidant in an ischemia reperfusion of ...
- [25] Protection against acetaminophen toxicity in ...
- [26] Hepatoprotective effects of lychee: A combination of antioxidant and ...
- [27] Antioxidant and inhibitory effects of ...
- [28] The biological/pharmacological activity of ...
- [29] Comparison of benzydamine ...
- [30] A systematic review of the potential herbal ...
- [31] Effects of *Salvia officinalis* extract on ...
- [32] Hepatoprotective and antioxidant effects ...

اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی بر سمیت حاد کبدی ناشی از استامینوفن در موش سوری

حسین فروزنده * PhD

کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

مهدی وثوقی نیری PhD

کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

مجتبی کلانتر PhD

کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

محمد آزادی MSc

کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

مهشید صمدانی MD

کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

چکیده

اهداف: کاربرد گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های کبدی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. گیاه مریم‌گلی در طب سنتی برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها استفاده شده است. هدف این مطالعه، بررسی اثرات درمانی مریم‌گلی بر سمیت کبدی ناشی از استامینوفن بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۶۰ سر موش سوری آلبینو به ۶ گروه تقسیم شدند. گروه اول سرم فیزیولوژی، گروه دوم عصاره خام مریم‌گلی و گروه سوم ۵۰۰ میلی‌گرم استامینوفن به‌ازای هر کیلوگرم به‌صورت تک‌دوز دریافت کردند. گروه‌های چهارم، پنجم و ششم به‌مدت ۵ روز دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از عصاره مریم‌گلی را دریافت نمودند. سپس یک ساعت پس از تجویز آخرین دوز عصاره، ۵۰۰ میلی‌گرم استامینوفن دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد، از کاروتید موش‌ها خونگیری به‌عمل آمد و سطوح آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین اندازه‌گیری شد. همچنین کبد آنها مورد مطالعات بافت‌شناسی قرار گرفت. تحلیل آماری توسط نرم‌افزار SPSS 16 و آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد.

یافته‌ها: تجویز استامینوفن باعث افزایش معنی‌دار آنزیم‌های کبدی و غلظت بیلی‌روبین مستقیم و کامل در مقایسه با گروه کنترل شد ($p < 0.05$). تجویز عصاره مریم‌گلی در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم به‌صورت معنی‌داری باعث کاهش آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین مستقیم و کامل در مقایسه با گروه کنترل مثبت شد ($p < 0.05$). مشاهدات بافت‌شناسی نیز این نتایج را تایید کرد.

نتیجه‌گیری: مریم‌گلی در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم دارای پتانسیل بالقوه محافظتی در مقابل آسیب ایجادشده توسط استامینوفن است و باعث بهبود چشمگیر آسیب بافتی و شاخص‌های بیوشیمیایی در آسیب کبدی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: استامینوفن، مریم‌گلی، موش سفید کوچک، سمیت کبدی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۲۱

*نویسنده مسئول: hosainforuzandeh@yahoo.com

مقدمه

کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن انسان است که عمل سم‌زدایی ترکیبات خارجی، داروها و غیره را انجام می‌دهد. در این حین ممکن است کبد صدمه ببیند و باعث بروز بیماری‌های کبدی شود [1].

سمیت کبدی و سمیت قلبی-عروقی، مهم‌ترین سمیت ناشی از داروها هستند که سبب جمع‌آوری داروهای زیادی طی ده سال اخیر از عالم پزشکی شده‌اند. علت اینکه چرا سمیت کبدی تا این حد مطرح است به موقعیت و مکان کبد و حجم بالای تغییرات زیستی در آن وابسته است و اینکه مواد زیادی وارد آن شده، در آن متابولیزه می‌شوند که ممکن است به متابولیت‌های فعال تبدیل شوند که در صورت کاهش ظرفیت بدن در سم‌زدایی این متابولیت‌ها، عارضه‌هایی چون کبد چرب، مرگ سلولی کبدی، کلستاز مجری، صدمات مجاری صفراوی، سیروز کبدی، اختلالات عروقی و تومور ایجاد می‌شود [2]. آسیب کبدی معمولاً با نکرز سلولی، افزایش پراکسیداسیون بافتی و کاهش سطح گلوکوتایون بافت همراه است. همچنین سطح سرمی شاخص‌های بیوشیمیایی مثل SGPT (سرم گلوکوتامیک پیرووات ترنس‌آمیناز)، SGOT (سرم گلوکوتامیک اگزالواستیک ترنس‌آمیناز)، ALP (آلکالین فسفاتاز) و GGT (گاما گلوکوتامیل ترنس‌پپتیداز) و بیلی‌روبین افزایش می‌یابد [3].

استفاده از داروهای طبیعی برای درمان بیماری‌های کبدی تاریخچه‌ای طولانی دارد [4]. در سال‌های اخیر نیز تمایل دوباره‌ای به استفاده از داروهای گیاهی برای درمان بیماری‌های مختلف شکل گرفته است [5]. جنس *سالویا* متعلق به تیره نعناع و دارای گونه‌های زیادی است که اغلب آنها در نواحی مدیترانه‌ای یافت می‌شوند [6]. مریم‌گلی (*سالویا افیسنالیس*) دارای چندین ترکیب فعال نظیر توینون، سینتول، بورتول، پینن، فلاونوئید، ساپونین، گلیکوزید، رزین، ویتامین C، ویتامین E، تانن، مواد صمغی و دیترپن است [6]. به‌علاوه، این گیاه از روزگاران گذشته در طب سنتی به‌عنوان پایین‌آورنده قند خون، کاهش‌دهنده چربی خون، تب‌بر و آنتی‌سپتیک استفاده می‌شود. این گیاه همچنین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی نیز هست [7].

استامینوفن یک داروی مسکن است که در محدوده دوز درمانی، غیرسمی در نظر گرفته می‌شود، اما وقتی به‌صورت بیش از حد مصرف شود در انسان و گونه‌های مختلف حیوانی باعث ایجاد آسیب‌های کبدی می‌شود. مطالعات انسانی نشان داده استامینوفن در کودکان با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در افراد بالغ با دوز حدود ۷ گرم می‌تواند باعث آسیب شدید کبدی شود [8]. استامینوفن هنگامی که با دوزهای معمول مصرف شود به متابولیت‌های بی‌ضرر گلوکوروبناید و سولفات کونزوگه می‌شود. ولی اگر با دوز بالا مصرف شود، این مسیرهای متابولیزی اشباع می‌شود و سیستم وابسته به سیتوکروم P-450 مقداری از دارو را به واسطه فعالی به‌نام ان-استیل پارابنزوکینون ایمین (NAPAQI) تبدیل می‌کند. در صورتی

شرکت تجاری (سیگما؛ ایالات متحده) تهیه شد. از آنجایی که استامینوفن در آب سرد حل نمی‌شود، لذا از سرم فیزیولوژی با دمای 70°C برای ایجاد یک سوسپانسیون یکنواخت از دارو استفاده شد. سپس به‌منظور تجویز تا دمای 37°C خنک شد [۱۲، ۱۳]. استامینوفن با استفاده از گاواژ و به‌صورت خوراکی تجویز شد.

گروه‌های مورد بررسی: حیوانات به ۶ گروه تقسیم شدند که هر گروه متشکل از ۱۰ سر موش بود. گروه اول سرم فیزیولوژی (کنترل منفی)، گروه دوم عصاره خام مریم‌گلی (۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) و گروه سوم به‌عنوان کنترل مثبت، ۵۰۰ میلی‌گرم استامینوفن به‌ازای هر کیلوگرم به‌صورت تک‌دوز دریافت کردند. گروه‌های چهارم، پنجم و ششم نیز به‌مدت ۵ روز به ترتیب دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از عصاره گیاه مریم‌گلی را دریافت نمودند. سپس یک ساعت پس از تجویز آخرین دوز عصاره، ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم استامینوفن دریافت می‌کردند. عصاره مریم‌گلی نیز از طریق گاواژ به موش‌ها خورانیده شد.

نحوه گاواژ کردن: نحوه گاواژ کردن به این صورت بود که لوله خرطومی گاواژ به‌جای سرسوزن به سرنگ انسولین محتوی عصاره مریم‌گلی متصل و از آن برای خوراندن دارو به حیوانات استفاده شد. برای این کار، پوست ناحیه پشت گردن و گوش حیوان گرفته شد تا حیوان به‌صورت قایم مهار شود. این امر موجب شد که دهان حیوان باز و موش بی‌حرکت باشد و میله گاواژ در داخل دهان طوری قرار گیرد که وارد حلق شود. پس از اطمینان از اینکه لوله گاواژ در مری قرار گرفته، عصاره گیاه به‌صورت خوراکی به حیوان داده شد.

نحوه نمونه‌گیری: ۲۴ ساعت بعد از دریافت آخرین دوز استامینوفن، تمامی گروه‌ها توسط کلروفورم در دسیکاتور بی‌هوش شدند. سپس از کاروتید موش‌ها خونگیری به‌عمل آمد. کبد آنها نیز به‌منظور مطالعات بافت‌شناسی جدا و در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. خون جمع‌آوری‌شده به‌مدت ۴۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای 37°C قرار داده شد تا لخته شود. سپس برای جداسازی سرم از سانتریفیوژ ۱۶ شاخه قفل‌دار (به‌داد؛ ایران) با 2500 دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد، تا سرم آن جدا شود.

فعالیت آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات‌آمینوترانسفراز (AST) به‌روش ریتمن و فرانکل اندازه‌گیری شد [۱۴]. آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) با استفاده از روش کینگ اندازه‌گیری شد [۱۵]. بیلی‌روبین مستقیم و کامل هم با استفاده از روش واتسون و روگرز مورد اندازه‌گیری قرار گرفت [۱۶]. بافت کبدی پس از جدا کردن در محلول فرمالین قرار داده شد و سپس با استفاده از مراحل متوالی قرار گرفتن در اتانول، بافت‌ها آب‌زدایی شدند. سپس بافت کبدی آگیری‌شده در پارافین محلول، فیکس و پس از قالب‌گیری به‌کمک دستگاه میکروتوم روتاری برش‌هایی به‌قطر ۵ میکرون از آن تهیه شد. پس از فیکس کردن

که ذخایر گلوکاگون کافی باشد با این ماده کوژوگه شده و به متابولیت‌های متصل به سیستمین و مرکاپتورات تبدیل می‌شود [۹]. در غیر این صورت این واسطه سمی به‌طور کووالان به سلول‌های کبدی متصل شده و ایجاد نکروز مرکز لوبولی می‌کند [11]. با توجه به اینکه دوز بالای استامینوفن از طریق ایجاد رادیکال‌های فعال ایجاد آسیب کبدی می‌کند، بنابراین در بسیاری از مطالعات سمیت کبدی، از این دارو به‌عنوان یک مدل ایجاد آسیب اکسیداتیو کبدی استفاده می‌شود.

از آنجایی که کاربرد گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های کبدی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و به‌لحاظ نقش حیاتی کبد در بدن، این مطالعه با هدف بررسی اثرات درمانی مریم‌گلی (سالویا / فیسینالیس) بر سمیت القا شده ناشی از مسمومیت با استامینوفن در کبد انجام شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی که در مرکز تحقیقات سم‌شناسی دانشگاه جندی‌شاپور اهواز در بهار سال ۱۳۹۴ طراحی و اجرا شد، از ۶۰ سر موش سوری آلبینو در محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. موش‌ها از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه جندی‌شاپور اهواز خریداری شدند. حیوانات در گروه‌های ۸ تایی در قفسی از جنس پلی‌کربنات در دمای $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ و در سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و توسط غذای فشرده مخصوص خریداری‌شده از شرکت خوراک دام و آب لوله‌کشی شهری تغذیه شدند. برای سازگاری بیشتر با محیط آزمایشگاه و کاهش استرس در حین انجام آزمایش، یک هفته پیش از شروع مطالعه، حیوانات در شرایط مذکور و در ارتباط با مجری انجام آزمایشات، قرار داده شدند.

روش تهیه عصاره خشک مریم‌گلی: روش تهیه عصاره به این صورت بود که ابتدا گل و قسمت‌های هوایی گیاه در فصل گل‌دهی (بهار) از منطقه لارستان در جنوب استان فارس جمع‌آوری و پس از شناسایی و تشخیص گیاه توسط مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، خشک و سپس آسیاب شد. سپس گیاه آسیاب‌شده در مرکز تحقیقات سم‌شناسی دانشگاه جندی‌شاپور اهواز به‌مدت ۳ روز در حلال هیدروالکلی ۸۰٪ قرار گرفت تا عصاره آن به‌دست آمد. سپس این عصاره فیلتر و محلول فیلترشده توسط دستگاه سوکسله (های‌دولف پرشیا؛ آلمان) تقطیر شد و سپس در فور و در دمای $40-30^{\circ}\text{C}$ قرار داده شد تا از آن عصاره خشک تهیه شود. بازده روش عصاره‌گیری ۱۶٪ بود. به‌منظور استفاده در آزمایشات، هر بار مقدار مورد نظر عصاره خشک، وزن و در سرم فیزیولوژی حل می‌شد.

روش تهیه سوسپانسیون استامینوفن: پودر استامینوفن از

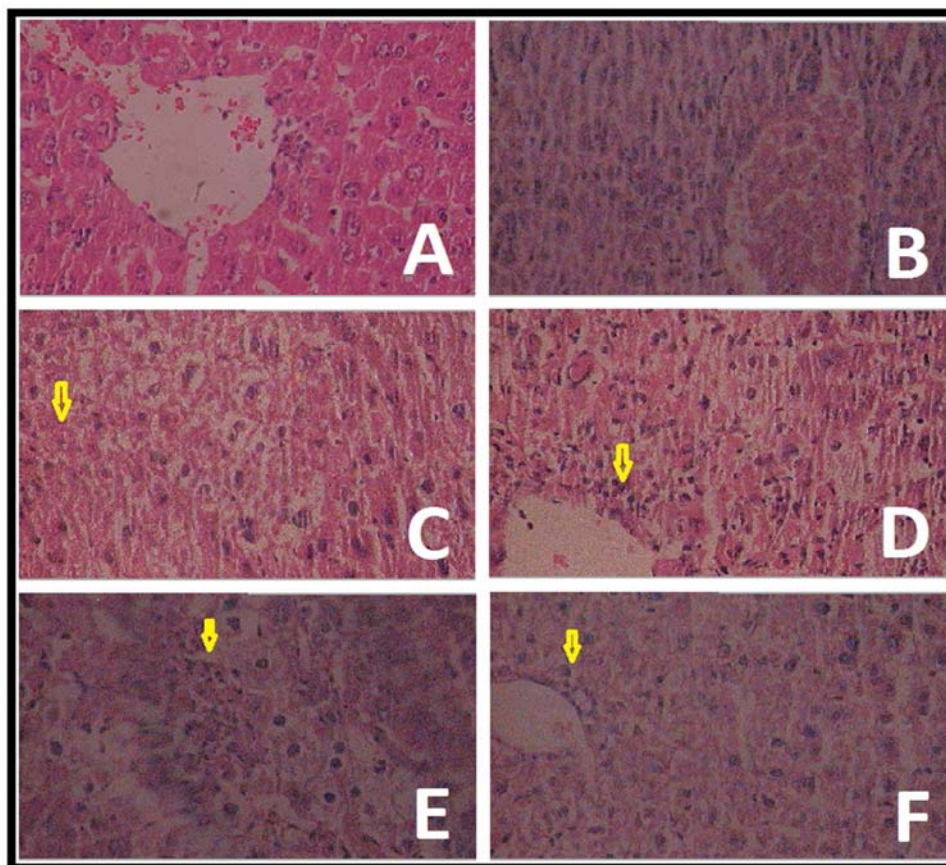
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام شد. برای هر گروه از موش‌ها میانگین سطح متغیر به صورت میانگین آماری محاسبه شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (آنووا) استفاده شد و برای بررسی و تعیین اختلاف میانگین‌ها و معنی‌دار بودن آنالیز آنووا از آزمون تکمیلی توکی در محدوده $p < 0.05$ استفاده شد.

بافت‌های برش‌داده شده روی لام، آب‌دهی و پارافین‌زدایی از آنها به کمک اتانول با غلظت‌های متفاوت صورت گرفت و سپس لام‌ها به کمک رنگ هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت لام‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus؛ ژاپن) مطالعه شدند. تغییرات بافت‌شناسی مشاهده شده شامل نکروز، تغییرات چربی، التهاب و تجمع لنفوسیت‌ها و سلول‌های کوپفر بود.

جدول ۱) اثر درمانی عصاره مریم‌گلی بر تیترا آنزیم‌های کبدی و میزان بیلی‌روبین مستقیم و کامل در سمیت کبدی ناشی از استامینوفن

متغیرها	کنترل	عصاره	کنترل مثبت	عصاره (۱۲۵)	عصاره (۲۵۰)	عصاره (۵۰۰)
اثر بر آنزیم‌های کبدی						
آلانین‌آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)	۶۲/۸۷±۷/۴۹ ^b	۵۹/۷۵±۹/۸۰ ^b	۷۱۲/۲۵±۳۸/۰۲ ^a	۶۵۸/۵۰±۴۴/۲۶ ^{ab}	۵۱۴/۷۵±۳۷/۸۲ ^{ab}	۴۵۵/۶۲±۳۰/۸۰ ^{ab}
آسپارات‌آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)	۸۰/۰۰±۱۵/۱۲ ^b	۷۷/۳۷±۲۱/۸۷ ^b	۸۱۰/۲۵±۵۰/۱۰ ^a	۷۳۵/۰۰±۳۹/۳۰ ^{ab}	۶۷۵/۵۰±۳۷/۷۴ ^{ab}	۵۰۹/۲۵±۳۸/۸۲ ^{ab}
آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)	۸۱/۰۰±۲۱/۴۰ ^b	۸۶/۷۸±۲۲/۰۵ ^b	۲۰۶/۶۲±۲۹/۲۸ ^a	۱۸۳/۵۰±۲۶/۵۷ ^a	۱۶۴/۵۰±۲۳/۷۷ ^{ab}	۱۳۱/۱۲±۲۶/۰۳ ^{ab}
اثر بر بیلی‌روبین						
بیلی‌روبین مستقیم	۰/۲۸۵۰±۰/۱۵۱۵ ^b	۰/۲۶۰۰±۰/۰۹۳۸ ^b	۰/۴۸۸۸±۰/۱۲۷۸ ^a	۰/۴۷۳۷±۰/۱۶۳۷	۰/۴۱۳۸±۰/۱۴۷۴	۰/۳۸۰۰±۰/۱۱۱۳
بیلی‌روبین کامل	۰/۵۴۸۸±۰/۱۶۹۳	۰/۵۰۱۲±۰/۲۱۸۰ ^b	۰/۷۹۶۲±۰/۱۱۳۲	۰/۶۴۸۷±۰/۲۰۳۷	۰/۶۲۷۵±۰/۲۰۰۹	۰/۵۹۶۲±۰/۱۶۱۲

a: اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، b: اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت‌کننده استامینوفن ($p < 0.05$)



شکل ۱) مشاهدات بافت‌شناسی (مقطع بافت کبدی رنگ‌آمیزی شده با اتوزین و هماتوکسیلین، بزرگ‌نمایی $100\times$) نشان‌دهنده اثر عصاره گیاه مریم‌گلی در سمیت کبدی ناشی از استامینوفن. (A) گروه کنترل منفی، (B) گروه دریافت‌کننده عصاره خام مریم‌گلی (۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم)، (C) گروه کنترل مثبت دریافت‌کننده استامینوفن (۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم)، (D)، (E) و (F) گروه‌های دریافت‌کننده عصاره مریم‌گلی به ترتیب با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم. تمامی گروه‌های (D)، (E) و (F) یک ساعت پس از تجویز آخرین دوز عصاره، ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم استامینوفن دریافت کردند.

یافته‌ها

پس از تجویز استامینوفن، موش‌ها دچار سمیت شدید کبدی شدند که با افزایش معنی‌دار آنزیم‌های ALT، AST و ALP در مقایسه با گروه کنترل مشخص شد ($p < 0.05$). همچنین در این گروه غلظت بیلی‌روبین مستقیم و کامل افزایش پیدا کرد. تجویز عصاره مریم‌گلی در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم به‌صورت معنی‌داری باعث کاهش آنزیم‌های ALT، AST و ALP در گروه‌های ۴، ۵ و ۶ در مقایسه با گروه کنترل مثبت شد ($p < 0.05$). در ضمن این کاهش به‌صورت وابسته به دوز بود. بیلی‌روبین مستقیم و کامل نیز با تجویز عصاره گیاه مریم‌گلی کاهش پیدا کرد. در گروه دریافت‌کننده عصاره (۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) سطح آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (جدول ۱).

در بررسی هیستوپاتولوژی بافت کبد نیز گروه‌های مختلف براساس وجود یا عدم وجود التهاب، وجود سلول‌های التهابی، وجود واکوئل‌های چربی، وجود نکروز و بررسی ساختار هیاتوسیت‌ها و سینوزوئیدهای کبدی مورد مقایسه قرار گرفتند. تصاویر بافت‌شناسی کبد در گروه کنترل و همچنین گروهی که صرفاً عصاره مریم‌گلی دریافت کرده بود، نشان‌دهنده ساختار طبیعی سلول‌های کبدی، سینوزوئیدهای کبدی و ورید مرکزی بود (شکل‌های ۱A و ۱B). ولی گروه دریافت‌کننده استامینوفن تغییرات شدید بافتی را نشان داد که شامل التهاب، کبد چرب، تجمع لنفوسیت‌ها و نکروز بود (شکل ۱C). دریافت ۱۲۵ میلی‌گرم عصاره باعث کاهش ضایعات ذکر شده شد، به‌طوری که التهاب، نکروز و به‌هم‌ریختگی نظم لوبولی به‌صورت محدودتری مشاهده شد (شکل ۱D) و با افزایش دوز عصاره، بهبودی بیشتری حاصل شد، به‌گونه‌ای که در دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم فقط التهاب و تورم سلول‌ها مشاهده شد (شکل‌های ۱E و ۱F).

بحث

کبد یکی از بزرگ‌ترین اندام‌های بدن است که دارای عملکرد گسترده‌ای شامل سم‌زدایی، سنتز پروتئین‌ها، تولید مواد لازم برای هضم غذا و جایگاه اصلی متابولیسم و دفع مواد است [17، 18]. بیماری‌های کبدی یکی از عوامل اصلی ناخوشی و مرگ‌ومیر در سراسر جهان محسوب می‌شود و سمیت دارویی مهم‌ترین عامل دخیل در این مورد است [19، 20]. استامینوفن به‌عنوان یک داروی تب‌بر و ضد درد به‌آسانی و بدون تجویز پزشک در دسترس است. استامینوفن در دوز درمانی به‌آسانی تحمل می‌شود، عوارض جانبی و واکنش با سایر داروها معمولاً مشاهده نمی‌شود، اگر چه مصرف بیش از حد آن باعث نکروز مرکز لوبولی در انسان و حیوانات آزمایشگاهی می‌شود [21، 22].

افزایش سطح آمینوترانسفرازها (ALT و AST) و ALP در ارتباط با آسیب به ساختار کبد است، چون این آنزیم‌ها در سیتوپلاسم واقع شده‌اند و پس از آسیب سلولی به داخل گردش خون آزاد می‌شوند [23]. افزایش سطح بیلی‌روبین در مسمومیت با استامینوفن گزارش شده است. بیلی‌روبین یک آنیون درون‌زاد است که به‌صورت برگشت‌پذیر به آلبومین متصل شده و به کبد منتقل می‌شود، سپس با گلوکورونیک‌اسید کوژن‌وگه شده و توسط صفرا دفع می‌شود. در بعضی از بیماری‌های کبدی میزان بیلی‌روبین بالاتر از سطح نرمال است [24، 25]. با توجه به اینکه سمیت ایجادشده توسط استامینوفن به‌واسطه ایجاد رادیکال‌های آزاد است که با ماکرومولکول‌ها واکنش داده و باعث ایجاد آسیب سلولی می‌شود [25، 12]، بنابراین خاصیت آنتی‌اکسیدانی یا جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد در ممانعت از آسیب کبدی ایجادشده توسط استامینوفن نقش اساسی دارد [26]. بر پایه بعضی گزارشات گیاه مریم‌گلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب قابل قبولی است [27-30]. این ویژگی باعث شد تا خاصیت درمانی این گیاه در مقابل سمیت کبدی ناشی از استامینوفن مورد بررسی قرار گیرد.

نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که عصاره مریم‌گلی به‌صورت چشمگیری از آسیب کبدی حاصل از استامینوفن جلوگیری کرد، چنانچه به‌صورت معنی‌داری باعث کاهش آنزیم‌های کبدی ALT، AST، ALP و بیلی‌روبین در گروه‌های درمانی ۴، ۵ و ۶ شد (جدول ۱). یافته‌های بافت‌شناسی نیز موید اثر حفاظتی این گیاه در سمیت کبدی ناشی از استامینوفن است. محققان دیگری نیز عصاره مریم‌گلی را در مقابل آسیب کبدی مطالعه کردند که همانند مطالعه حاضر این گیاه نقش حفاظتی خود را در مقابل آسیب کبدی حاصل از مواد شیمیایی نشان داد.

در مطالعه‌ای مشابه، فرهودی و همکاران اثر محافظت کبدی گیاه مریم‌گلی را در سمیت کبدی حاصل از تتراکلریدکربن در موش صحرایی مورد بررسی قرار دادند. آنها عصاره گیاه را به‌مدت ۱۴ روز به‌صورت روزانه به حیوانات تجویز کرده و در روز پانزدهم تتراکلرید را تجویز نمودند. در این بررسی از شاخص‌هایی مثل ترانس‌آمینازهای کبدی، مالون‌دی‌آلدئید و سوپراکسیدسوماتاز استفاده شد که گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گیاه کاهش چشمگیری در میزان آنزیم‌های کبدی داشتند [31].

همچنین در مطالعه دیگری، رمضان اثر آنتی‌اکسیدانی و محافظت کبدی عصاره آبی گیاه مریم‌گلی را در سمیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن مورد بررسی قرار داد. غلظت‌های مختلف عصاره به‌صورت روزانه و به‌مدت ۴ هفته قبل از تتراکلریدکربن به حیوانات تجویز شد. سطح آنزیم‌های کبدی و همچنین مشاهدات میکروسکوپی برای مطالعه عملکرد کبد به‌کار رفت. نتایج مطالعه وی نیز نشان داد که عصاره این گیاه از آسیب حاصل از تتراکلریدکربن جلوگیری می‌کند [32].

- 2001;75(2):197-202.
- 7- Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC, et al. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem*. 1998;46(12):4869-73.
- 8- Biazar E, Rezayat SM, Montazeri N, Poursamsian K, Zeinali R, Asefnejad A, et al. The effect of acetaminophen nanoparticles on liver toxicity in a rat model. *Int J Nanomedicine*. 2010;5:197-201.
- 9- Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Mol Pharmacol*. 1980;18(3):336-42.
- 10- Park BK, Pirmohamed M, Kitheringham NR. The role of cytochrome p-450 enzymes in hepatic and extrahepatic human drug toxicity. *Pharmacy Ther*. 1995;68(30):385-424.
- 11- Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Pysropoulos N. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: A comprehensive update. *J Clin Transl Hepatol*. 2016;4(2):131-6.
- 12- Sener G, Sehirili AO, Ayanoglu-Dulger G. Protective effect of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: A comparative study. *J Pineal Res*. 2003;35(1):61-8.
- 13- Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, et al. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen. *Exp Toxicol Pathol*. 2007;59(2):121-8.
- 14- Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum levels of glutamic oxaloacetic acid and pyruvic acid transaminases. *Am J Clin Pathol*. 1957;28(1):56-63.
- 15- Grohmann K, Roser M, Rolinski B, Kadow I, Miller C, Goerlach-Graw A, et al. Bilirubin measurement for neonates: comparison of 9 frequently used methods. *Pediatrics*. 2006;117(4):1174-83.
- 16- Watson D, Rogers JA. A study of six representative methods of plasma bilirubin analysis. *J Clin Pathol*. 1961;14(3):271-8.
- 17- Ahsan R, Islam KM, Bulbul IJ, Musaddik A, Haque E. Hepatoprotective activity of methanol extract of some medicinal plants against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in albino rats. *Global J Pharmacol*. 2009;37(2):302-10.
- 18- Angelico M, Gridelli B, Strazzabosco M; A.I.S.F. Commission on Liver Transplantation. Practice of adult liver transplantation in Italy: Recommendations of the Italian Association for the Study of the Liver (A.I.S.F.). *Dig Liver Dis*. 2005;37(7):461-7.
- 19- Bhawna S, Kumar SU. Hepatoprotective activity of some indigenous plants. *Int J Pharm Tech Res*. 2009;1(4):1330-4.
- 20- Forouzandeh H, Azemi ME, Rashidi I, Goudarzi M, Kalantari H. Study of the protective effect of teucrium polium L. extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Iranian J Pharm Res*. 2013;12(1):123-9.
- 21- Ita SO, Akpanyung EO, Umoh BI, Ben EE, Ukafia SO. Acetaminophen induced hepatic toxicity: Protective role of *Ageratum conyzoides*. *Pak J Nutr*. 2009;8(7):928-32.
- 22- Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis II; Role of covalent binding in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*. 1973;187(1):195-202.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم اندازه‌گیری فاکتورهای استرس اکسیداتیو بافتی مثل مالون دی‌آلدئید، گلوکاتینون، کاتالاز و گلوکاتینون پراکسیداز اشاره کرد. همچنین عصاره تام را می‌توان از نظر ترکیبات موثره موجود در آن مورد مطالعه و بررسی قرار داد و پتانسیل آنتی‌اکسیدانت و محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آن را اندازه‌گیری کرد.

نتیجه‌گیری

اثر حفاظتی مریم‌گلی به‌صورت وابسته به دوز است، چنانکه در دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم بیشترین اثر حفاظتی مشاهده می‌شود. هر چند این گیاه به‌صورت معنی‌داری آسیب ایجادشده توسط استامینوفن را کاهش می‌دهد، ولی نمی‌تواند کاملاً آسیب ایجادشده را به حالت طبیعی بازگرداند. در مجموع این گیاه پتانسیل بالقوه‌ای در مقابل آسیب ایجادشده توسط استامینوفن در موش سوری دارد.

تشکر و قدردانی: موردی توسط نویسندگان بیان نشده است.

تأییدیه اخلاقی: این مطالعه براساس دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اهواز انجام شده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: هزینه انجام این مطالعه توسط کمیته تحقیقات دانشجویی علوم پزشکی اهواز و به‌شماره ۱۶۴ ۹۴۵ تامین شده است.

منابع

- 1- Rathi A, Srivastava AK, Shirwaikar A, Singh Rawat AK, Mehrotra S. Hepatoprotective Potential Of *Fumaria Indica* Pugsley Whole Plant Extracts, Fractions And An Isolated Alkaloid Protopine. *Phytomedicine*. 2008;15(6-7):470-7.
- 2- Grattagliano I, Bonfrate L, Diogo CV, Wang HH, Wang DQ, Portincasa P. Biochemical mechanisms in drug-induced liver injury: Certainties and doubts. *World J Gastroenterol*. 2009;15(39):4865-76.
- 3- Chaudhari NB, Chittam K, Patil V. Hepatoprotective activity of cassia fistula seeds against paracetamol-induced hepatic injury in rats. *Arch Pharm Sci Res*. 2009;2(2):218-21.
- 4- Thyagarajan S, Jayaram S, Gopalakrishnan V, Hari R, Jeyakumar P, Sripathi M. Herbal medicines for liver diseases in India. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002;17(3):370-6.
- 5- Ahmed OM, Moneim AA, Yazid IA, Mahmoud AM. antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetol*. 2010;39(1):15-35.
- 6- Lu Y, Foo LY. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chem*.

- vitro. *J Med Food*. 2009;12(1):77-84.
- 28- Baricevic D, Bartol T. The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. In: Kintzios SE. *The Genus Salvia*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2000. 143-84.
- 29- Lalićević S, Djordjević I. Comparison of benzydamine hydrochloride and *Salvia officinalis* as an adjuvant local treatment to systemic nonsteroidal anti-inflammatory drug in controlling pain after tonsillectomy, adenoidectomy, or both: an open-label, single-blind, randomized clinical trial. *Curr Therapeu res. Curr Ther Res Clin Exp*. 2004;65(4):360-72.
- 30- Hasani-Ranjbar S, Larijani B, Abdollahi M. A systematic review of the potential herbal sources of future drugs effective in oxidant-related diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2009;8(1):2-10.
- 31- Farhoudi M, Ghoratizadeh S, Ghodraticzadeh S. Effects of *Salvia officinalis* extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *Glob Vet*. 2011;7(4):353-7.
- 32- Ramadan RS. Hepatoprotective and antioxidant effects of sage (*Salvia officinalis* L.) extract against CCl₄ intoxicated male rats. *Life Sci*. 2005;77(3):266-78.
- 23- Chenoweth MB, Hake CL. The smaller halogenated aliphatic hydrocarbons. *Annu Rev Pharmacol*. 1962;2(1):363-98.
- 24- Yamaguchi T, Terakado M, Horio F, Aoki K, Tanaka M, Nakajima H. Role of bilirubin as an antioxidant in an ischemia reperfusion of rat liver and induction of heme oxygenase. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;223(1):129-35.
- 25- Zaher H, Buters J, Ward JM, Bruno MK, Lucas AM, Stern ST, et al. Protection against acetaminophen toxicity in CYP1A2 and CYP2E1 double-null mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1998;152(1):193-9.
- 26- Bhoopat L, Srichairatanakool S, Kanjanapothi D, Taesotikul T, Thananchai H, Bhoopat T. Hepatoprotective effects of lychee: A combination of antioxidant and anti-apoptotic activities. *J Ethnopharmacol*. 2011;136(1):55-66.
- 27- Oboh G, Henle T. Antioxidant and inhibitory effects of aqueous extracts of *Salvia officinalis* leaves on pro-oxidant-induced lipid peroxidation in brain and liver in