

# بررسی اثر محافظت کبدی عصاره هیدروالکلی آویشن دنایی (Thymus daenensis) بر سمیت کبدی القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی

راضیه انصاری فزاد<sup>۱</sup>، حبیب الله ناظم<sup>۲</sup>، نوید امیدی فر<sup>۳</sup>، هیبت الله صادقی<sup>\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران، <sup>۲</sup> گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور شهرضا، شهرضا، ایران، <sup>۳</sup> گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی، یاسوج، یاسوج، ایران، تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۶/۲۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۲۹

چکیده:

**زمینه و هدف:** امروزه بیماری‌های کبدی یکی از مشکلات مهم جوامع بشری است. یافتن دارویی مؤثر در درمان این اختلالات مورد توجه محققین و پژوهشگران می‌باشد آویشن دنایی به واسطه داشتن ترکیبات پلی‌فلنی و فلافونوئیدی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند. هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات محافظت کبدی عصاره هیدروالکلی آویشن دنایی بر سمیت کبدی القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم به صورت تصادفی به پنج گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان کنترل و در چهار گروه دیگر به وسیله تتراکلریدکربن سمیت کبدی (هپاتوکسیک) ایجاد شد. از این چهار گروه یک گروه به عنوان شاهد و در سه گروه دیگر روزانه به ترتیب ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش از عصاره پودر گیاه به صورت دهانی داده شد. ۴۵ روز بعد از شروع مطالعه در کلیه گروه‌ها آنزیمهای آلانین آمینوتранسفراز (ALT) آسپارتات آمینوتранسفراز (AST) و آکالالین فسفاتاز (ALP) و همچنین غلظت‌های سرمی پروتئین تام، آلبومین و بیلی‌روبنین که از شاخص‌های آسیب‌های کبدی است اندازه‌گیری و با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل گردید.

**یافته‌ها:** غلظت پروتئین تام، آلبومین و بیلی‌روبنین تام و مستقیم در گروه کنترل منفی نسبت به گروه کنترل مثبت تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ )، ولی میزان فعالیت آنزیمهای کبدی تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). فعالیت آنزیمهای کبدی در گروه آزمون II و بیلی‌روبنین در گروه آزمون III کاهش بهتری را نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد عصاره گیاه آویشن دنایی در برابر آسیب‌های کبدی ایجاد شده به وسیله تتراکلریدکربن دارای اثرات محافظتی است.

**واژه‌های کلیدی:** سمیت کبدی، آویشن دنایی، تتراکلریدکربن، آمینوتранسفراز، محافظت کبدی

\*نویسنده مسئول: هیبت الله صادقی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

Email: hsadeghim@yahoo.com

## مقدمه

تتراکلریدکربن دیده می‌شود شاید هپاتیت حاد ویروسی است(۳). آویشن دنایی (Thymus daenensis Celak.) از گیاهان دارویی تیره نعناعیان (Lamiaceae) وحاظی تانن، گلیکوزید، کافئیک و رزمارینیک اسید و غنی از ترکیبات آنتیاکسیدانی به ویژه فلاونوئیدها می‌باشد(۴). در ایران ۱۴ گونه مختلف از این جنس در بخش‌های مختلف کشور رویش طبیعی دارد که در این میان ۴ گونه (با دو زیر گونه T. carmanicus T. T. daenensis subsp., T. daenensis T. daenensis subsp. daenensis اثرات ضد قارچ، ضدانگل و ضدبacterی این گیاه اثرات درمانی آن برای درمان آسم، سرفهای خشک و مکرر و برونشیت به اثبات رسیده است. از این گیاه داروهایی به شکل شربت، قرص مکیدنی، بخور، قرص خوارکی و عصاره تهیه شده است که از آن جمله می‌توان به شربت توسيان، قطره توسيگل، قطره توسيوین، قطره تیم آرتا، شربت تیمکس، شربت تیمیان و شربت برونکوتیوی اشاره کرد(۶). خواص دارویی گیاهان جنس آویشن باعث شده است تا این گیاهان از معروف‌ترین و متداول‌ترین گیاهان در بین مردم سراسر دنیا باشند. اعتقاد بر این است بخشی از خواص دارویی و اثرات بیولوژیک گیاهان جنس آویشن مربوط به ترکیبات فرار و اسانسی

کبد در بسیاری از روندهای فیزیولوژیک ضروری نظیر؛ هموستاز گلوبلین، ساختن پروتئین‌های ضروری پلاسمای، ساخت لیپوپروتئین و لیپید، ساخت و ترشح اسیدهای صفرایی و ذخیره ویتامین‌ها نقش عمده‌ای دارد(۱). با این حال، عوامل متعددی که باعث عوارض کبدی متوسط تا شدید می‌شوند شناخته شده‌اند. الکلیسم مزمن یکی از علل بسیار شناخته شده آسیب‌های کبدی مانند؛ کبد چرب، هپاتومگال و سیروز است. از سوی دیگر، آلدوجی محیط زیست و قرار گرفتن افراد در معرض مواد مختلف هپاتوتوكسیک نیز باعث مسمومیت کبدی می‌شود. علاوه بر این، ترکیبات از جمله داروهای بالینی مفید می‌توانند از طریق فعال‌سازی ترکیبات اولیه متابولیک به مواد شدیداً واکنش‌پذیر و همچنین از طریق تحریک تولید رادیکال‌های آزاد مشتق از اکسیژن باعث آسیب کبدی شوند. اگر این داروها بیش از حد و یا به مدت طولانی مورد مصرف قرار بگیرند، کبد عملکرد ضعیف خواهد داشت و به شدت از این دارو آسیب خواهد دید که به علت مشکلات کبدی غیر قابل پیش‌بینی است. گزارش شده این داروها می‌توانند انواع مختلفی از آسیب‌های کبدی را باعث شوند(۲). امروزه به منظور بررسی اثرات حفاظت کبدی داروها و عصاره گیاهان اغلب از مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلریدکربن استفاده می‌شود. تغییراتی که در آسیب کبدی ناشی از

کارواکرول، تیمول، گاما-ترپین، پارا سایمن و بورنئول بود(۱۰). روزستایان و همکاران اسانس سه گونه از آویشن‌های ایران شامل T. pubescens و T. kotschyanus را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس این مطالعه ترکیبات اصلی شناخته شده در این اسانس‌ها عبارت بودند از؛ تیمول(۴۰/۸ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸ درصد)، گاما-ترپین، پارا سایمن، بورنئول (۸/۳ درصد)، تیمول(۲۸/۳ درصد)، کارواکرول(۲/۱۴ درصد)، ۱/۲ سینتول(۲/۱۳ درصد)، لینالول و پارا سایمن در اسانس T. kotschyanus و تیمول(۹/۳۷ درصد)، کارواکرول(۱/۱۴ درصد)، پارا - سایمن(۱/۱۳ درصد)، گاما ترپین و لینالول در اسانس T. pubescens (۱۱). سفیدکن و همکاران در طی دو مطالعه به بررسی اسانس گونه‌های اسانس T. pubescens و T. Persicus پرداختند. بر اساس این پژوهش‌ها اسانس گونه T. pubescens غنی از کارواکرول (۸/۴۸ درصد) و تیمول(۹/۱۳ درصد) بود(۱۲). در حالی که اسانس گونه T. persicus عمدتاً چاوی تیمول(۱/۲۷ درصد) و ژرانیول(۴/۶ درصد) بود(۱۳). میری و همکاران در طی مطالعه‌هایی که بر روی اسانس گونه T. transcaspicus در سال ۲۰۰۲ به انجام رساندند، نشان دادند این اسانس غنی از تیمول(۴/۵۶ درصد)، گاما ترپین(۷/۷ درصد)،

موجود در آنها است. از همین رو توجه خاص و روز افزونی به آنالیز ترکیبات فرار و اسانسی آنها شده است(۷).

سر شاخه‌های آویشن دنایی حاوی؛ اسانس تان، مواد اصلی تلخ، ساپونین و ضد عفونی کنده‌های گیاهی است. اسانس گیاه شامل مقادیر بسیار متغیری از ترکیب‌های فلزی(۲۰-۸۰ درصد)، منوترپین‌های هیدروکربنی مانند؛ پاراسیمن، گاما ترپین و الکل‌هایی مانند؛ لینالول، آلفاترپین و توجان می‌باشد. که هر کدام می‌توانند ترکیب عمدۀ اسانس باشند. عموماً عمدۀ ترین ترکیب‌های فلزی جنس آویشن تیمول و کارواکرول است(۸).

احمد اکبری‌نیا و همکاران در تحقیقی با عنوان بررسی عملکرد، میزان و ترکیب‌های اصلی اسانس آویشن دنایی (Thymus daenensis Celak) کشت شده در قزوین، بر اساس یافته‌های این مطالعه، آویشن دنایی از میزان اسانس و تیمول بالایی برخوردار می‌باشد(۶).

تا به حال پژوهش‌های مختلف و متعددی در خصوص بررسی و تجزیه اسانس گونه‌های مختلف آویشن رویش یافته در نقاط مختلف جهان و از جمله گونه‌های روییده در ایران صورت گرفته است. سفیدکن و همکاران در طی دو مطالعه جداگانه به بررسی اسانس گونه T. kotschyanus پرداختند. بر اساس این پژوهش‌ها اسانس مذکور عمدتاً حاوی

طور تصادفی به ۵ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. گروه اول(گروه سالم) که روغن زیتون با دوز یک میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاق دریافت کردند، گروه دوم(گروه بیمار) و گروه‌های آزمون(گروه‌های آزمون، ۱۱ و ۱۳) یک میلی‌لیتر محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون(به نسبت ۱ به ۱) به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاقی هفت‌های دوبار دریافت کردند. گروه‌های گروه‌های آزمون، ۱۱ و ۱۳ پس از تزریق محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون روزانه به ترتیب ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان از پودر عصاره آویشن دنایی به صورت محلول در آب قطره از طریق دهانی دریافت کردند. در تمام گروه‌ها هر ده روز وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد(۱۶). ۴۵ روز بعد از شروع مطالعه، موش‌ها با دی‌اتیل اتر بیهوش و از قلب آنها خون‌گیری شد و پس از بیهوشی نخاعی در موش‌ها، کبد موش‌ها به صورت کامل از بدن جدا و بعد از اندازه گیری وزن آنها، لب چپ کبدی برای مطالعات هیستوپاتولوژی در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری گردید(۱۷). نمونه خون‌های به دست آمده ۲۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاه نگهداری و بعد از لخته گیری به مدت ۱۵ دقیقه با دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم هر لوله جمع‌آوری گردید. با استفاده از کیت‌های تشخیص

کارواکرول(۷/۶ درصد) و پارا سایمن(۲/۶ درصد) می‌باشد(۱۴). نتایج این پژوهش‌ها و سایر بررسی‌های مشابه نشان می‌دهد، ترکیبات معطری چون تیمول، کارواکرول، پارا سایمن، گاما تریپین از اجزای اصلی اکثر اسانس‌های جنس آویشن می‌باشند.

معیار فعالیت محافظت کبدی اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی شامل گلوتات اگزالاستات ترانس آمیناز(SGOT) و گلوتات پیرووات ترانس آمیناز(SGPT) می‌باشد(۱۵)، لذا هدف از این تحقیق تعیین و اثرات محافظت کننده‌ی عصاره هیدرولالکی آویشن دنایی بر روی کبد در مقابل سمیت القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بود.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی از نژاد ویستار و با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و به حیوانخانه دانشکده پزشکی یاسوج منتقل گردید.

در مطالعه حاضر اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. حیوانات به صورت چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیده و از نظر رژیم غذایی و آب محدودیتی نداشتند. بعد از یک هفته سازگاری حیوانات با محیط شرایط جدید موش‌ها به

داده شده است که بر این اساس تغییرات میانگین سطح سرمی آنزیم ALP در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک که روزانه دورزهای ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ گیاه آویشن دریافت می‌نمودند تفاوت معنی‌داری با گروه بیمار و گروه سالم ندارد. تغییرات میانگین سطح سرمی آنزیم‌های ALT و AST در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک تحت تیمار دوزهای مذکور عصاره برگ گیاه آویشن تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد( $p<0.05$ ). گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم عصاره میانگین عددی نزدیکی به گروه سالم دارد.

با توجه به جدول ۲ که وضعیت تعیین تأثیر عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه آویشن روی سطح سرمی غلظت بیلی‌روبین تام و مستقیم در موش‌های هپاتوکسیک را نشان می‌دهد، تغییرات میانگین سطح سرمی غلظت بیلی‌روبین تام و مستقیم در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک تحت تأثیر عصاره برگ گیاه آویشن تفاوت معنی‌داری با گروه بیمار و گروه سالم ندارد.

تغییرات میانگین سطح سرمی غلظت آلبومین در گروه‌های مختلف هپاتونوکسیک تحت تأثیر عصاره برگ گیاه آویشن تفاوت معنی‌داری با گروه بیمار و گروه سالم دارد، اما تغییرات پرتوئین تام معنی‌دار نمی‌باشد. علاوه بر این، عصاره برگ گیاه آویشن دنایی سطح سرمی آلبومین و پرتوئین تام در موش‌های هپاتونوکسیک را افزایش می‌دهد(جدول ۳).

طبی شرکت پارس آزمون آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آکالین فسفاتاز (ALP) و همچنین غلظت‌های سرمی پرتوئین تام، آلبومین و بیلی‌روبین که از شاخص‌های مهم ارزیابی آسیب‌های کبدی است اندازه‌گیری شد(۱۷ و ۱۸).

برگ گیاه آویشن دنایی که مصرف خوراکی دارد در اوایل فصل بهار در سال ۱۳۹۵ از کوه‌های اطراف شهر یاسوج مرکز استان کهگیلویه و بویر احمد جمع‌آوری و در شرایط مناسب، دور از نور آفتاب خشک و سپس پودر شد. ۲۵۰ گرم از پودر آویشن دنایی با ۲/۵ لیتر اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و سپس صاف گردید. این عمل طی دو مرحله انجام می‌گرفت. تحت شرایط خلاء و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تغليظ در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم نهایی ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. عصاره به دست آمده در ویال‌های ۱۰ میلی‌لیتری تا زمان استفاده در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید(۱۹).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل گردید.

#### یافته‌ها

در جدول ۱ میانگین و انحراف معیار غلظت آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مورد مطالعه نشان

ازای هر کیلوگرم وزن بدن بهبود قابل توجه در نکروز کبدی ناشی از تتراکلریدکربن ایجاد می‌کند و کاهش التهاب سلول‌های پورتال را موجب می‌شود. در گروه آزمون اتخرب و نکروز سلول‌ها تا اندازه‌ای دیده می‌شد و التهاب سلول‌های پورتال را موجب می‌شود. تغییرات سلول‌های کبد تا حدی نرمال بود. در گروه آزمون III، نکروز سلول‌ها و التهاب پورتال کبدی به میزان بیشتر دیده شد و بهبود کمتر از دو گروه دیگر ایجاد شد، همچنان تفاوت قابل توجهی بین این گروه و گروه آزمون II از نظر نکروز سلول‌های کبدی و التهاب سلول‌های پورتال دیده نشد ( $p > 0.05$ ) در این گروه میزان تخریب کلی ساختمان کبد با گروه‌های آزمون I و II تفاوت قابل توجهی داشت ( $p < 0.05$ ) (شکل ۱).

یافته‌ها نشان داد که میزان سرمی MDA بین گروه سالم، گروه بیمار و گروه‌های آزمون تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۴). نتایج بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی کبد در حیوان‌های سالم نشان دهنده سلول‌های نرمال با سیتوپلاسم سالم و هسته و رگ مرکزی برجسته بود. در حیوان‌های با مصرف تتراکلریدکربن سلول‌های کبدی میزان بالای تخریب به صورت نکروز و التهاب پورتال را نشان دادند. احتقان رگ مرکزی و سینوزوئیدهایی که سلول‌های التهابی حاد و مزمن به خصوص در مرکز آن تجمع پیدا کرده بودند و ساختمان طبیعی کبد کاملاً تخریب شد، مشاهده گردید. گروه آزمون II، تغییرات بسیار کم و ساختمان تقریباً شبیه سلول‌های نرمال بود. مشاهدات نشان داد که درمان با آویشن دنایی با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم به

جدول ۱: تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان آنزیمهای کبدی در موش‌های صحرایی هپاتوکسیک ناشی از تجویز تتراکلریدکربن

نام گروه (میانگین ± انحراف معیار)	آنژیم آکالان فسفاتاز/UA (میانگین ± انحراف معیار)	آنژیم آمینو ترانسفراز/L (میانگین ± انحراف معیار)	آنژیم آسپارتات آمینو ترانسفراز/L (میانگین ± انحراف معیار)
سالم	$511/71 \pm 74/5$	$80/71 \pm 10/9$	$166/28 \pm 37/02$
بیمار	$547 \pm 46/09$	$377 \pm 76/22$	$281 \pm 82/77$
آزمون I	$637 \pm 44/02$	$498/57 \pm 117$	$417 \pm 86/69$
آزمون II	$517/6 \pm 61/21$	$240/6 \pm 52/9$	$211 \pm 52/0$
آزمون III	$691/5 \pm 137/4$	$950/25 \pm 172/2$	$859 \pm 182/01$

واحد بین المللی در لیتر. آلتین آمینو ترانسفراز = ALT. آسپارتات آمینو ترانسفراز = AST. آکالان فسفاتاز = ALP.  $p < 0.001$  \*نسبت به گروه سالم،  $p < 0.0001$  \*\*نسبت به گروه بیمار،  $p < 0.001$  و ۳ و ۴ و ۵ در هر سه متغیر

جدول ۲: تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان سطح سرمی بیلی‌روبین مستقیم و توتال در موش‌های هپاتوکسیک در مقایسه با گروه‌های سالم و بیمار

نام گروه	بیلی روبین توتال (میانگین±انحراف معیار)	بیلی روبین مستقیم (میانگین±انحراف معیار)
سالم	۰/۲۸ ± ۰/۰۱۲	۰/۰۹۷ ± ۰/۰۰۵
بیمار	۰/۲۸ ± ۰/۰۱	۰/۱ ± ۰
آزمون I	۰/۳۱ ± ۰/۰۱۵	۰/۰۹۵ ± ۰/۰۳
آزمون II	۰/۲۷ ± ۰/۰۱۰	۰/۰۹۶ ± ۰/۰۳
آزمون III	۰/۲۶ ± ۰/۰۳	۰/۰۹۵ ± ۰/۰۰۵

\* p<0/001 نسبت به گروه سالم، \*\*p<0/001 نسبت به گروه بیمار، p<0/001 بین گروه ۳ و ۴ و ۵ در هر سه متغیر

جدول ۳: تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان سطح سرمی آلبومین و پروتئین تام در موش‌های هپاتوکسیک در مقایسه با گروه‌های سالم و بیمار

نام گروه	آلبومن (میانگین±انحراف معیار)	پروتئین تام (میانگین±انحراف معیار)
سالم	۳/۰۴ ± ۰/۱۹	۶/۸۴ ± ۰/۴۳
بیمار	۲/۱۶ ± ۰/۱۱	۶/۶۹ ± ۰/۴۵
آزمون I	۲/۱۷ ± ۰/۰۹	۷/۱۶ ± ۰/۴۲
آزمون II	۲/۳۲ ± ۰/۲۳	۷/۲۰ ± ۰/۳۷
آزمون III	۲/۳۳ ± ۰/۰۳	۶/۸۵ ± ۰/۵۲

\* p<0/001 نسبت به گروه سالم، \*\*p<0/001 نسبت به گروه بیمار، p<0/001 بین گروه ۳ و ۴ و ۵ در هر سه متغیر

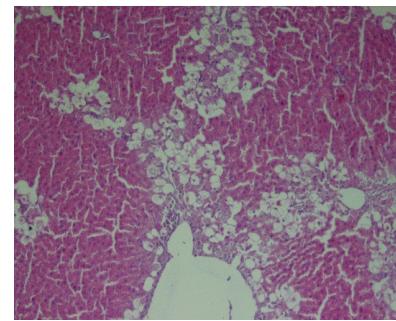
جدول ۴: تأثیر عصاره گیاه آویشن دنایی بر میزان بر مالون دی‌آلدئید در سرم موش‌های هپاتونوکسیک در مقایسه با گروه‌های سالم و بیمار

گروه	مالون دی‌آلدئید (نانومول بر میلی‌لیتر) (میانگین±انحراف معیار)
سالم	۲/۸۵ ± ۰/۴۶
بیمار	۵/۲ ± ۰/۶۶
آزمون I	۴/۷۲ ± ۰/۲۸
آزمون II	۴/۲ ± ۰/۴۹
آزمون III	۲/۳۷ ± ۰/۵۶

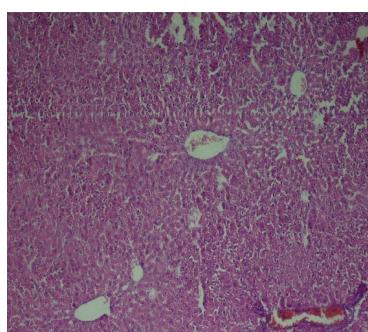
\* p<0/001 نسبت به گروه سالم، \*\*p<0/001 نسبت به گروه بیمار، p<0/001 بین گروه ۳ و ۴ و ۵ در هر سه متغیر



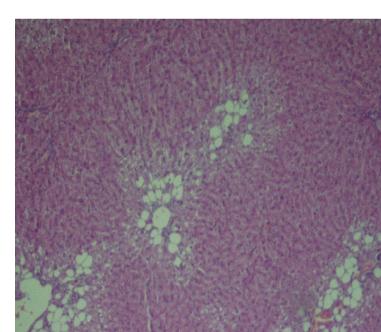
گروه کنترل سالم



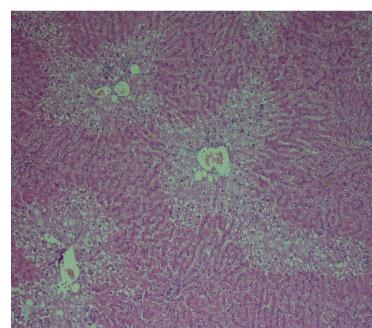
گروه کنترل بیمار



گروه آزمون I



گروه آزمون II



گروه آزمون III

شکل ۱: مطالعه هیستوپاتولوژیکی کبد (بزرگنمایی ۱۰X). گروه سالم، شاهد و آزمون III، II، I. رنگ آمیزی H&E. در گروه سالم سلول‌های کبدی نرمال با سینتوپلاسم سالم و هسته و رگ مرکزی مشخص دیده می‌شود. در گروه بیمار، سلول‌های کبدی با میزان بالای تخریب به صورت نکروز و احتقان رگ مرکزی و سینوزوئیدهای واجد سلول‌های التهابی دیده می‌شود. در گروه‌های آزمون تغییراتی که بیانگر آسیبهای کبدی باشد بسیار کم و ساختمن تقریباً شبیه سلول‌های نرمال است.

رادیکال‌های آزاد تری کلرومتیل تبدیل می‌شود.

بحث

رادیکال‌های آزاد تولید شده به طور کووالانی با غشاء‌های سلولی و اندامکها متصل می‌شود و باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و اختلال

تغییرات ناشی از تراکلریدکربن شبیه بیماری‌های کبدی مزمن ناشی از ویروس‌ها می‌باشد. تراکلرید کربن به وسیله سیستم سیتوکروم P450 به

بهترین شاخص برای مطالعه وضعیت کبدی است(۲۱). افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم خون از شاخص‌های اصلی آسیب‌های کبدی ناشی از توکسین می‌باشد. برگشت فعالیت آنزیم‌های کبدی به طرف حالت طبیعی و همچنین کاهش غلظت بیلی‌روبین و افزایش پروتئین تام آلبومین سرم از شاخص‌های اصلی درمان کبد و بازیابی سلامت این ارگان مهم بدن است(۲۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغییرات غلظت بیلی‌روبین توتال و مستقیم در گروه‌های مختلف تفاوت معنی داری ندارد. هر چند مصرف عصاره گیاه آویشن سبب کاهش میزان سطح سرمی بیلی‌روبین در دوزهای ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرمی شده است. غلظت بیلی‌روبین در گروه آزمون انسنت به گروه بیمار افزایش نشان داد که می‌تواند نشانگر تخریب سلول‌های کبدی و عدم وجود ماده حفاظتی باشد(جدول ۲).

در این مطالعه میانگین تغییرات غلظت آلبومین تفاوت معنی داری دارد، گرچه عصاره گیاه آویشن سطح سرمی پروتئین تام را در گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم کاهش داده است، ولی غلظت پروتئین تام در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری نداشت. نتایج پژوهش‌های گذشته نیز نشان داده است که  $CCl_4$  منجر به افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) و آسیب سلولی به ماکرومولکول‌های حیاتی نظری پروتئین‌ها و لیپیدها در غشا سلولی می‌شود که

در هموستاز کلسیم و در نهایت مرگ سلول می‌گردد(۱۶-۱۸)، هدف از این تحقیق تعیین و اثرات محافظت کننده عصاره هیدروالکلی آویشن دنایی بر روی کبد در مقابل سمیت القا شده به وسیله تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی بود.

کبد اندام اصلی متابولیسم، ترشح و دفع مواد است و به طور مدام در معرض انواع مختلف ترکیب‌های درونی و بیرونی قرار می‌گیرد. شیوع بیماری‌های کبدی در جهان رو به گسترش است و داروهای شیمیایی مصنوعی علاوه بر این که کارآیی کاملاً مطمئنی در درمان این بیماری‌ها ندارند، اثرات جانبی ناخواسته‌ای را نیز به دنبال دارند، به همین دلیل ضرورت دارد که جایگزین واقعی برای درمان بیماری‌های کبدی به دنیای علم‌پزشکی وارد شود(۲۰). نتایج این مطالعه نشان داد که تغییرات میزان آنزیم‌های کبدی در گروه سالم در مقایسه با گروه بیمار افزایش معنی داری داشته است. در گروه آزمون دریافت کننده دوزهای ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم عصاره آویشن دنایی، میزان آنزیم‌های کبدی نسبت به گروه بیمار کاهش داشته و در گروه آزمون دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن این فاکتورها کاهش بهتری نسبت به سایر گروه‌ها نشان می‌دهد که بیانگر خاصیت محافظت کبد عصاره گیاه آویشن دنایی در موش‌های هپاتوتوكسیک است. اختلال در یکپارچگی غشا پلاسمایی سلول‌های کبدی باعث می‌شود آنزیم‌هایی که به طور طبیعی در داخل سیتوزل قرار دارند، وارد جریان خون شوند که

با توجه به نتایج این مطالعه گرچه عصاره هیدرالکلی آویشن دنایی در دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن هیچ تغییر معنی‌داری بر میزان سطح سرمی‌بیلی روبین نداشت، ولی عصاره این گیاه سبب کاهش میزان سطح سرمی‌بیلی روبین در دوزهای ۸۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم شده که نشان دهنده حضور ماده حفاظتی می‌باشد. در مطالعه‌های نبوی‌زاده و همکاران تأثیر عصاره هیدرالکلی عناب را روی هیپربیلیروبینمی نوزادان بررسی نمودند، که نتایج آزمایش‌ها بیانگر عدم کاهش معنی‌دار غلظت بیلی‌روبین به وسیله این گیاه می‌باشد(۲۵). نتایج این مطالعه با توجه به این که گیاه آویشن دنایی همانند گیاه عناب خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد هم جهت و هم سو می‌باشد.

مهدهی هدایتی و همکاران جهت بررسی اثر گیاه گلدر از خانواده نعناعیان بر سطح سرمی‌گلوكز و لیپیدها در موش‌های صحرایی نشان داد که گیاه گلدر به خاطر نقش آنتی‌اکسیدانی در بهبود دیابت شیرین اثر کاهنده بر سطح سرمی لیپیدها دارد(۲۶)، همان‌طور که در این تحقیق آویشن دنایی از خانواده نعناعیان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و میزان مالون دی‌آلدئید را در گروه‌های آزمون نسبت به گروه کنترل بیمار کاهش داد و بیشترین کاهش را در گروه آزمون || دریافت کننده دوز ۶۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد با نتایج این مطالعه همخوانی دارد(۲۷).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تتراکلریدکربن تغییرات بافت‌شناسی را در بافت کبد

سمیت سلولی و به دنبال آن مرگ سلولی نکروزیس یا آپوپتوزیس را برای سلول رقم می‌زنند. به علت خواص آنتی‌اکسیدانتی ترکیباتی نظری؛ فلاونوئیدها، کارتنوئیدها و دیگر ترکیبات طبیعی در گیاهان، پژوهش‌های زیادی برای مطالعه اثرات محافظتی چنین ترکیباتی طراحی شده است(۲۲). نتایج یک مطالعه نشان داد، عصاره گل گیاه وحشی *Nymphaea pubescens* منجر به مهار سمیت ناشی از CCL4 در کبد موش‌های صحرایی می‌شود. این مطالعه نشان داد که نقش محافظتی عصاره گل مورد استفاده به علت حضور مقادیر نسبتاً بالای فلاونوئیدها، فنول‌ها و ساپونین‌ها در عصاره گیاهی می‌باشد(۲۳).

نتایج بررسی هیستوپاتولوژی نشان داد که تفاوت قابل توجهی در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. مشاهدات نشان داد که درمان با آویشن دنایی با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بهبود قابل توجهی در نکروز کبدی ناشی از تتراکلریدکربن ایجاد می‌کند.

مطالعه پروردۀ و همکاران جهت بررسی اثر محافظت کبدی عصاره هیدرالکلی صمغ پسته که مانند آویشن دنایی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، نشان داد که عصاره گیاه صمغ پسته به علت داشتن ترکیبات فلاونوئید باعث کاهش آنزیم کبدی در موش‌های سمی شده به وسیله تتراکلریدکربن، شد(۲۴). یافته‌های فوق از نظر کاهش سطح آنزیم‌های کبدی با مطالعه انجام شده هم سو می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که آویشن دنایی در موش‌های صحرایی دارای خاصیت محافظت کبدی است. پژوهش‌های بیشتری بر روی ترکیب‌های مؤثره آویشن دنایی و چگونگی مکانیسم اثر حفاظتی آن بر روی سمتی سلول‌های کبدی ضروری به نظر می‌رسد.

### تقدیر و تشکر

این مقاله بر گرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1395.72 دانشگاه پیام نور اصفهان می‌باشد، نویسندهان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را بدین وسیله از عزیزانه علی، جهت همکاری در شناسایی علمی گیاه آویشن دنایی و همچنین از اعضای مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و بخش بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج که این تحقیق تحت حمایت نظر آنها انجام شد، اعلام نمایند.

القا می‌کند که این تغییرات شامل نفوذ سموم و نکروز در هپاتوسیت‌ها می‌باشد، اما در گروه‌های آزمون به طور معنی‌داری کاهش پارامتری مورد بررسی ناشی از مهار سمتی تراکلریدکربن می‌باشد. مطالعه سارهان و شاهاف نشان داد که دیازینون موجب پرخونی عروق خونی، نفوذ لوکوسیت‌ها در سلول‌های کبدی، نکروز هپاتوسیت‌ها، واکوئله شدن سیتوپلاسم و ذخیره چربی در هپاتوسیت‌ها شده است(۲۷). نتایج این مطالعه با نتایج گزارش شده به وسیله محققین دیگر در تغییرات بافت‌شناسی کبد در جانوران مطابقت دارد.

نتایج مطالعه آیت الهی و همکاران نشان داد که عصاره الکلی گیاه سیلی مارین در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تا حد زیادی از گسترش نکروز کبدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی ناشی از تزریق تراکلریدکربن جلوگیری به عمل آورده و روند دژنزاپیون و ترمیم ضایعه‌های بافتی را به طور چشمگیری بهبود و تسريع می‌بخشد(۲۸).

پیشنهاد می‌شود در یک مطالعه جامع وضعیت فیتوشیمی گیاه آویشن دنایی و اثرات ترکیبات مهم آن در اختلالات کبدی مورد ارزیابی قرار گیرد. کمبود و یا فقدان دستگاهها و امکانات آنالیز فیتوشیمیایی از جمله محدودیت‌های مطالعات تکمیلی این تحقیق می‌باشد

## REFERENCES

1. Androli T, Carpenter C, Griggs R, Benjamin I. Diseases of the Liver and Biliary System. in:Cecil's Essentials of Medicine. 7<sup>th</sup> ed. USA: WB Saunders Company; 2007; 23.
2. Chatterjee M, Sarkar K, Sil PC. Herbal(*Phyllanthus niruri*) protein isolate protects liver from nimesulide induced oxidative stress. *Pathophysiology* 2006; 13(2): 95-102.
3. Ramachandra Setty S, Quereshi AA, Viswanath Swamy A, Patil T, Prakash T, Prabhu K, et al. Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against paracetamol-induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia* 2007; 78(7): 451-4.
4. Ghasemi Pirbalouti A, Hashemi M, Ghah farokhi FT. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* celak and *Thymus vulgaris* L. *Ind Corp Prod* 2013; 48: 43-8.
5. Rechinger, K. H. 1982: *Scutellaria* in Rechinger, K. H. (ed.), *Flora Iranica* 150: 44-84. -Graz.
6. Akbarinia A, MirzaM. Identification of essential oil component of *Thymus daenensis* clack in field condition in qazvin. Research Center of Qazvin Agriculture and Natural Resourse 2010; 22: 1-8.
7. Stahl-Biskup E, Saez F. Thyme. The Genus *Thymus*: Taylor & Francis; 2002: 330.
8. Leung AY, Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients: Used in Food , Drugs and cosmetics. A Wily Interscience Publication 1996; 14: 688.
9. Sefidkon F, Jamzad Z, Yavari R, Nouri-Sharg D, Dabiri M. Essential oil composition of *Thymus kotschyanus* Boiss. et Hohen. from Iran. *Journal of Essential Oil Research* 1999; 11: 459-60.
10. Sefidkon F, Dabiri M. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Thymus kotschyanus* Boiss. *Flavour Fragr J* 1999; 14: 405-8.
11. Rustaiyan A, Masoudi SH, Monfared A, AndKomeilizadeh H. Volatile constituents of three *Salvia* species grown wild in Iran . *Flavour and Fragrance Journal* 1999; 4(5): 276-8.
12. Sefidkon F, Asgari F, Ghorbanli M. Essential oil composition of *Thymus pubescens* Boiss. et Kotschy ex Celak from Iran. *J Essent Oil Res* 2002; 14: 116-7.
13. Sefidkon F, Dabiri M, Mirmostafa SA. The essential oil of *Thymus persicus* (Ronniger ex Rech f) Jalas from Iran. *J Essent Oil Res* 2002; 14: 351-2.
14. Miri R, Ramezani M, Javidnia K, Ahmadi L. Composition of the volatile oil of *Thymus transcaspicus* Klokov from Iran. *Flavour Fragr J* 2002; 17: 245-6.
15. Wong CK, Ooi VEK, Ang PO. Protective effects of see weeds against liver injury caused by carbon tetrachloride in rats .*Chemesphere* 2000; 41: 173-6.
16. Venukumar MR, Latha MS. Hepatoprotective of the methanolic extract of *Curculigo orchoides* in CCl<sub>4</sub>-treated male rats. *Indian J Pharmacol* 2002; 34: 269-75.
17. Panahi Kokhdan E, Ahmadi K, Sadeghi H, Sadeghi H, Dadgary F, Danaei N, et al. Hepatoprotective effect of *Stachys pilifera* ethanol extract in carbon tetrachloride-induce hepatotoxicity in rats. *Pharma Res Biol* 2017; 55(1): 1389–93.
18. Sadeghi H, Hosseinzadeh S, Akbartabar M, Ghavamzadeh M, Jafari Barmak M, sayahi M, et al. Hepatoprotective effect of *Rosa canina* fruit extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *Avicenna J Phytomed* 2016; 6(2): 181-8.
19. Ulican O, Greksak M, Vancova O, Zlatos L, Galbavy S, Bozek P, et al. Hepatoprotective effect of Roobos tea (*Aspalathus linearis*) on CCl<sub>4</sub> –induced liver damage in rats. *Physiol Res* 2003; 52: 461-66.
20. Yang H, Lee MK, Kim YC. Protective activities of stilbene glycosides from *Acer mono* leaves against H2O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in primary cultured rat hepatocytes. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 4182-6.
21. Farzaei MH, Rahimi R, Attar F, Siavoshi F. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Tragopogon graminifolius*, a medicinal herb from Iran. *Nat Prod Commun* 2014; 9(1): 121-4
22. Debnath S, Ghosh S. Inhibitory effect of *Nymphaea pubescens* Willd. flower extract on carrageenan-induced inflammation and CC-l-induced hepatotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2013; 59(1): 485-91.
23. Parvardeh S, Nyapur M, Hosseinzadeh H. Hepatic protection effects of hydraulic extract of Pistachio gum on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in rats. *Medicinal Plants. No IV Fall 2002*; 1: 34.
24. Ebrahimi S, Sadegi H, Pourmahmoudi A, Askariyan SH, Askari S. Protective effect of *zizphus vulgaris* extract, on liver toxicity in laboratory rats. *Journal Armaghan Danesh* 2011; 16(2): 62.

- 25.Hedayati M, Pouraboli I, Pouraboli B. Effect of methanolic extract of otostegia persica on serum levels of glucose and lipids in type i diabetic male rats. iranian journal of endocrinology and metabolism. 2010; 12 (4) :435-442
- 26.Shokrzadeh M, Ahangar N, Abdollahi M, Shadboorestan A, Omidi M, Hosseini Payam SS. Evaluating the effects of diazinon on hepatic glutathione levels in rats and protective roles of selenium and l-carnitine. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(91): 31-8.
- 27.Yaghmaii P. Investigating the anxiolytic effects of marine flint derived from marjoram thyme in Rat. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences1389: 15: 43-51.

# Evaluation of the Hepatoprotective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Thymus Daenensis* on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats

Ansari Nejad R<sup>1</sup>, Nazem HA<sup>2</sup>, Omidifar N<sup>3</sup>, Sadeghi H<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Isfahan Payam Noor University, Isfahan, Iran, <sup>2</sup>Department of Biochemistry, Payam Shahreza University, Shahreza, Iran, <sup>3</sup>Department of Pathology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, <sup>4</sup>Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 13 Sep 2018      Accepted: 20 July 2019

## Abstract

**Background & aim:** Liver disease is one of the major problems in human societies today. Effective drug treatment for these disorders is of interest to researchers and physicians worldwide due to their polyphenolic and flavonoid compounds, they have high antioxidant properties. The aim of this study was to determine and investigate the hepatoprotective effects of hydroalcoholic extract of *Thymus vulgaris* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats.

**Methods:** In this experimental study, 40 Wistar rats weighing 220-250 g were randomly divided into five groups of eight. One group was treated as control and the other four groups were induced by hepatotoxic carbon tetrachloride. Of these four groups, one group received orally 400 mg / kg, 800 mg / kg / day of rat powder in the other three groups, respectively. 45 days after study in all groups, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (ALP) enzymes, as well as serum total protein, albumin, and bilirubin concentrations were measured using aqueous acid test and data were analyzed using ANOVA.

**Results:** Total protein, total albumin and bilirubin concentration in the negative control group were not significantly different from the positive control group ( $p>0.05$ ), but the liver enzyme activity was significantly different ( $p<0.05$ ). Hepatic enzyme activity in group II and bilirubin in group III showed a better decrease.

**Conclusion:** The results of this study show that the extract of *Thymus vulgaris* has protective effects against carbon damages caused by carbon tetrachloride.

**Keywords:** Liver Toxicity, *Thymus daenensis*, Carbon Tetrachloride, Amino Transfererase, Liver Protein

---

\*Corresponding Author: Sadeghi H, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Email:

Please cite this article as follows:

Ansari Nejad R, Nazem HA, Omidifar N, Sadeghi H. Evaluation of the Hepatoprotective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Thymus Daenensis* on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats. Armaghane-danesh 2019; 24(3): 413-426