

اثرات محافظتی و درمانی پودر ریزوم گیاه زردچوبه بر آسیب کبدی ناشی از تراکلرید کربن

محمد علیزاده نمینی، مسعود فریدونی، ناصر مهدوی شهری و علی مقیمی
دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

چکیده

پودر ریزوم گیاه زردچوبه (*Curcuma longa*) بعنوان چاشنی غذائی بسیار مورد استفاده است. و در طب سنتی در درمان التهاب پوست، ادم، اختلالات صفراوی، دیابت و حتی سرطان در آسیا و بخصوص در هندوستان استفاده می‌شده است. اثرات آنتی اکسیدان و ترمیم بافتی گیاه مذکور گزارش شده اند. در بیشتر تحقیقات از کورکومین یعنی ماده موثر زردچوبه استفاده شده است، اما چون در اکثر خانواده‌ها پودر ریزوم گیاه زردچوبه به عنوان چاشنی مورد توجه است، در تحقیق حاضر از پودر ریزوم زردچوبه استفاده گردید.

در این مطالعه از موشهای صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. سطوح پلاسمایی آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در گروه کنترل و سایر گروه‌ها قبل و ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت، ۱ هفته و دو هفته بعد از تزریق تراکلرید کربن (۰/۰۵ cc/kg ip) اندازه گیری شد. در گروه ششم کنترل، حیوانات تنها با حلال تراکلرید کربن (پارافین به میزان ۰/۰۵ cc/kg) تیمار شدند. در گروه (پس درمانی)، موشها بلافاصله بعد از تزریق تراکلرید کربن با رژیم حاوی پودر ریزوم زردچوبه (۴ g/kg, bw/day) تغذیه شدند. برای مطالعه اثر توام حفاظتی و درمانی در گروه پیش و پس درمانی، موشهای صحرایی ۱۵ روز با رژیم غذایی حاوی پودر ریزوم زردچوبه تغذیه شدند و پس از تزریق تراکلرید کربن نیز همان نوع تغذیه همچنان ادامه یافت. برای بررسی اثر حفاظتی، در گروه پیش درمانی قبل از تراکلرید کربن تغذیه با رژیم غذایی حاوی پودر زردچوبه انجام شد ولی پس از تزریق تراکلرید کربن تغذیه آنها فقط با غذای معمولی پی گیری شد.

اختلاف در سطوح سرمی آنزیمهای یاد شده در تمام فواصل زمانی مذکور پس از تزریق تراکلرید کربن بین گروه کنترل و ششم کنترل معنی دار بود ($P < 0/001$). اما برای هر سه گروه پیش درمانی، پیش و پس درمانی، پس درمانی در مقایسه با گروه ششم کنترل اختلاف معنی داری وجود نداشت. درمقاطع میکروسکوپی تهیه شده از کبد موشهای صحرایی گروه کنترل که ۴۲ ساعت قبل تراکلرید کربن دریافت کرده بودند در مقایسه با موشهای صحرایی گروه ششم کنترل، حالت واکوئلر، تغییر چربی و نکروز که بعنوان آثار هیپاتوتوکسیسیته ناشی از تراکلرید کربن در نظر گرفته شده بود کاملاً مشخص بود. در حالیکه در هر دو گروه پیش و پس درمانی و پیش درمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق تراکلرید کربن آثار هیپاتوتوکسیسیته مشخصی قابل مشاهده نبود. با توجه به نتایج بدست آمده می توان ادعا نمود که زردچوبه علاوه بر نقش مهمی که احتمالاً در بهبود و ترمیم کبد دارد روی هیپاتوسیت های کبد نیز دارای اثرات حفاظتی میباشد.

واژه های کلیدی: آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، هیپاتوسیت، زردچوبه.

مقدمه

ماده زرد- نارنجی است. در آب و اتر غیر محلول ولی در الکل و اسید استیک خالص و در قلیا ها حل می گردد. عصاره زردچوبه بر روی کبد اثر محافظتی داشته و ترشح صفرا در حیوانات را تحریک می کند [۲]. گلوتامیک اگزالوا ستیک ترانس آمیناز (SGOT) یک آنزیم میتوکندریایی است که به میزان زیادی در قلب، کبد، عضله اسکلتی و کلیه وجود دارد. زمانیکه این بافتها بطورحاد دچار آسیب شوند بدلیل آزاد شدن از سلولهای آسیب دیده سطح سرمی آن افزایش می یابد. گلو تا میک پیروویک ترانس آمیناز (SGPT) یک آنزیم سیتوزولیک است که در سلولهای کبد

زردچوبه گیاهی علفی، پایا و به ارتفاع یک تا یک ونیم متر و دارای ریزومی متورم است. این گیاه در نواحی شرقی هندوستان و چین می روید ولی در بسیاری از نقاط حاره مخصوصاً هندوستان و مالزی پرورش می یابد. تکثیر آن مانند زنجبیل از طریق کاشت قطعات ریزوم جوانه دار گیاه صورت می گیرد [۱]. ماده موثره زردچوبه Curcumin می باشد. ساختار شیمیائی آن توسط Lampe و همکاران تعیین گردید. کورکومین یک

میلی لیتر تتراکلرید کربن مخلوط گردیده و از محلول به دست آمده به میزان ۰/۵ ml/kg به صورت i.p. تزریق شد و بلافاصله تغذیه حیوانات با پودر زردچوبه برای بررسی اثر درمانی آن در گروه پس درمانی آغاز گردید در حالی که در گروه کنترل به منظور ایجاد آثار تخریبی ناشی از تتراکلرید کربن، فقط تتراکلرید کربن در حلال مربوطه تجویز گردید و تغذیه آنها صرفاً با غذای معمولی دنبال شد. به منظور بررسی اثر هر یک از عوامل پارافین مایع به عنوان حامل تتراکلرید کربن و روغن آفتاب گردان به عنوان حامل زردچوبه و تفکیک آثار آنها از آثار خود تتراکلرید کربن در گروه های شم کنترل، در یک گروه از موش های صحرایی فقط پارافین مایع به میزان ۰/۵ ml/kg به صورت i.p. به حیوانات تزریق شد و در گروه دیگر فقط روغن آفتاب گردان همراه با غذای معمولی تجویز شد و سپس هر دو گروه شم کنترل مورد بررسی های آنزیمی و بافت شناسی قرار گرفتند [۳].

در گروه پیش و پس درمانی و گروه پیش درمانی پس از ۱۵ روز تغذیه موشها با پودر زردچوبه به همراه غذای معمولی، تتراکلرید کربن با دوز پیشین به آنها تزریق و ۲۴ ساعت بعد میزان ALT و AST مشخص گردید. در آنها سنجش آنزیمی هر ۲۴ ساعت یکبار تا دو روز تکرار گردید. در گروه پیش و پس درمانی تغذیه حیوان با پودر زردچوبه ادامه یافت در حالیکه در گروه پیش درمانی بعد از تزریق تتراکلرید کربن ادامه تغذیه با غذای معمولی صورت گرفت.

میزان تجویز زردچوبه به موش های صحرایی: یک کیلو ریزوم زردچوبه به دقت سائیده شده و به وسیله الک ریزغریال گردید. آنگاه از پودر فوق به میزان (4 g/kg bw/day) [۱۷] با روغن آفتاب گردان مخلوط شد. به منظور تغذیه موشها، غذای آماده با این سوسپانسیون پودر زردچوبه آغشته و سپس در اختیار آنها قرار گرفت. در تمام گروهها از جمله گروههای پیش درمانی و پیش و پس درمانی پس از انجام سنجش آنزیمی توسط جهاد دانشگاهی دانشگاه فردوسی، موشها مورد کالبد شکافی قرار گرفتند و پس از بررسی ضایعات بطورماکروسکوپی، از کبد آنها نمونه برداری و بلافاصله در محلول بوئن جهت تثبیت بافت قرار داده شدند. مراحل مختلف پاساژ بافت روی نمونه ها اعمال گردید و توسط میکروتوم مقاطعی به ضخامت ۸ میکرون آماده و مورد رنگ آمیزی H&E پاس و پیک ایندیگوکارمین قرار گرفتند [۱۸]. مقاطع میکروسکوپی تهیه شده مورد مطالعه قرار گرفته و ضایعات بافتی توسط تتراکلرید کربن و تاثیر زردچوبه در ترمیم و حفاظت هپاتوسیتها بررسی گردید (اشکال ۱ تا ۶).

نتایج

نتایج سنجشهای آنزیمی: پس از تزریق تتراکلرید کربن جهت تخریب کبد موشها، میزان ALT و AST بشدت بالاتر رفت ($P < 0/001$) (نمودار ۱ و ۲). پس از شروع تغذیه موشها در گروه پیش درمانی با پودر زردچوبه در حامل روغن آفتاب گردان سنجش آنزیمی پس از ۲۴ ساعت

نیز یافت می شود [۳]. اگر چه مقدار مطلق آن از SGOT کمتر است، لیکن در مقایسه با قلب و عضله اسکلتی به میزان بیشتری در کبد وجود دارد. افزایش سرمی SGPT برای آسیب کبدی اختصاصی تر از SGOT می باشد [۳]. تعیین ترانس آمینازها در تشخیص اولیه هپاتیت ویروسی مفید است. وجود سطوح بالای سرمی از SGOT و SGPT میتواند در تشخیص هپاتیت الکلی و سیروز مفید باشد [۳]. SGOT و SGPT را در منابع جدید به ترتیب ALT و AST معرفی کرده اند و در این تحقیق از دو عنوان ALT و AST استفاده شده است. اطلاعات بدست آمده نشان میدهد که عصاره زردچوبه در حیوانات آزمایشگاهی دارای اثرات پیش گیری کننده و محافظتی، ضد التهابی و ضد سرطانی است [۹-۳]. Curcumin بطور In vitro اثر ضد اسپاسمی دارد و عصاره زردچوبه بر روی کبد اثر محافظتی داشته و ترشح صفرا را در حیوانات تحریک میکند [۱۲-۱۰]. از ویژگی های دیگر Curcumin داشتن اثر آنتی اکسیدان می باشد [۱۶-۱۳]. در تحقیق حاضر سعی بر آن شد تا با استفاده از تتراکلرید کربن در کبد موش های صحرایی آسیب بوجود آوریم و سپس با اضافه کردن زردچوبه به غذای روزانه آنها روند بهبود کبد حیوان را با تهیه مقاطع میکروسکوپی نشان دهیم. همچنین به منظور نشان دادن قدرت حفاظت کنندگی زردچوبه قبل از ایجاد ضایعه در کبد آنها، ابتدا موشها مدت دو هفته با غذای حاوی زردچوبه تغذیه شده و سپس تتراکلرید کربن تزریق شد. در این حال مقاطع میکروسکوپی تهیه شده نشان دادند که تزریق تتراکلرید کربن هیچگونه ضایعه ای در کبد موشها بوجود نیاورد.

مواد و روش ها

برای انجام این مطالعه از موشهای صحرایی نژاد ویستار (۱۲۰ تا ۲۰۰ گرم) استفاده شد. آنها در قفسهای مخصوص به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم و در اتاقکی به ابعاد ۳×۲ متر مربع دارای هواکش و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. به منظور بررسی سطح پلاسمای ALT و AST در همه گروه ها از جمله گروه کنترل خون گیری توسط یک لوله هوماتوکریت از گوشه چشم آنها پس از بیهوش کردن با اتر به عمل آمد و پس از انتقال به داخل لوله های مخصوص توسط دستگاه سانتریفوژ سرم خون جدا شد. سرم های جدا شده بلافاصله به آزمایشگاه جهاد دانشگاهی مشهد به منظور سنجش دقیق آنزیمی منتقل گردیدند.

روش خونگیری: پس از اینکه حیوان توسط اتر در یک ظرف شیشه ای دهن گشاد بیهوش گردید حیوان را طوری در روی میز قرار میدهم که سر آن در لبه میز بطور مایل واقع گردد. آنگاه با یک لوله هوماتوکریت به صورت چرخشی از ناحیه گوشه داخلی چشم وارد حده شده و زمانی که خون شروع به خارج شدن کرد یک لوله سانتریفوژ را در زیر آن قرار داده تا خون خارج شده در درون آن جمع گردد. میزان خون مورد نیاز در هر بار حدود ۱ میلی لیتر بود.

روش تزریق تتراکلرید کربن: ۵/۴۹ میلی لیتر پارافین مایع با ۰/۵

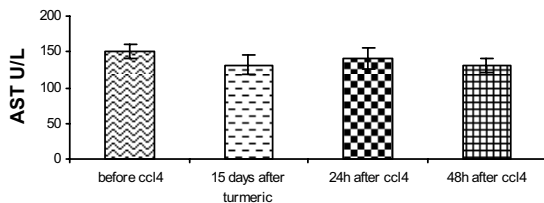
جدول ۱- نتایج سنجش آنزیمی در گروه های مختلف (کنترل، شم کنترل، پیش درمانی پیش و پس درمانی پس درمانی).

گروه ها	زمان بندی سنجش آنزیمی	ALT unit / liter	آنزیم ها	AST unit / liter
کنترل	قبل از تزریق تتراکلرید کربن	۵۱/۶۶ ± ۴/۵۴۲	۱۵۳/۳۳ ± ۵ /۹۱۹	
	۲۴ ساعت بعد از تتراکلرید کربن	۷۹/۳۳ ± ۶/۱۸۴ **	۲۳۰/۸۳ ± ۲۳/۲۲۴ ***	
	یک هفته بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۷۲ ± ۵/۵۸۰ *	۱۸۸ ± ۷/۵۷۶ *	
	دو هفته بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۶۶/۵ ± ۴/۴۲۵	۱۵۶/۳۳ ± ۷/۲۳۳	
گروه پارافین (تجویز حلال تتراکلرید کربن)	۲۴ ساعت بعد از تجویز	۴۰/۶۶ ± ۳/ ۸۹۶	۱۶۶/۵ ± ۱۴/۸۲۱	
	۲۴ ساعت بعد از تجویز	۴۴/۳۳ ± ۲ /۹۶۳	۱۵۲/۶۶ ± ۹/۵۴۵	
گروه روغن آفتابگردان (تجویز حامل زردچوبه)	۲۴ ساعت بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۷۸/۳۳ ± ۷/۰۵۱ **	۲۳۶/۳۳ ± ۱۰/۸۱۳ ***	
	۱ هفته بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۶۱/۶۶ ± ۷ /۵۱۳	۱۳۳/۸۳ ± ۹/۴۱۷	
پس درمانی (رژیم غذایی همراه با زردچوبه بعد از تزریق تتراکلرید کربن)	دو هفته بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۵۶/۵ ± ۶ /۲۶۵	۱۳۸/۱۶ ± ۷/۶۱۵	
	۱۵ روز بعد از رژیم غذایی همراه با زردچوبه	۳۸/۸۳ ± ۴ /۰۶۷	۱۳۱/۳۳ ± ۱۳ /۸۹۱	
پیش و پس درمانی - ۱۵ روز پیش درمانی با زردچوبه همراه با ادامه درمان پس از تتراکلرید کربن	۲۴ ساعت بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۴۰ ± ۴ /۷۰۴	۱۴۰ /۸۳ ± ۱۴ /۵۴۵	
	۴۸ ساعت بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۳۷/۸۳ ± ۲ /۸۲۲	۱۳۰/۳۳ ± ۹ /۳۵۴	
پیش درمانی - ۱۵ روز پیش درمانی با زردچوبه و ادامه آن با غذای معمولی	۱۵ روز بعد از رژیم غذایی همراه با زردچوبه	۴۲/۸۳ ± ۷ /۲۸۵	۱۳۷/۶۶ ± ۹/۲	
	۲۴ ساعت بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۴۶/۸۳ ± ۵ / ۹۴۹	۱۴۴ ± ۸/۹۷	
	۴۸ ساعت بعد از تزریق تتراکلرید کربن	۳۹/۱۷ ± ۴ /۰۵۳	۱۳۴/۱۷ ± ۸/۴۰۸	

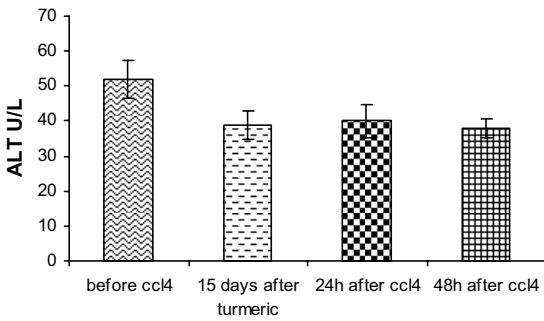
داده ها بصورت Mean ± SEM نشان داده شده است. نتایج مورد آزمون آماری ANOVA یکطرفه واقع شده و سپس تجزیه و تحلیل داده ها توسط تست Tukey انجام شد. P < 0.05 به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. *** P < 0.001 ** p < 0.01 * p < 0.05

در گروه پیش و پس درمانی موشهای صحرایی پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۱۵ روز با پودر زردچوبه به همراه غذای معمولی تغذیه شدند که این تغذیه تا پایان آزمایش ادامه پیدا کرد. پس از انقضای این مدت مقدار AST و ALT سرم خون موشها تعیین شد که در هر دو مورد مقدار آنزیمها کاهش مختصری را در مقایسه با گروه کنترل نشان می داد. پس از تزریق تتراکلرید کربن به همراه حلال آن (پارافین مایع) با دوز معین بصورت i.p. به آنها تزریق و ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد مقدار آنزیمها ی فوق تعیین گردید. نتایج به دست آمده نشان داد که مقدار AST و ALT آنها

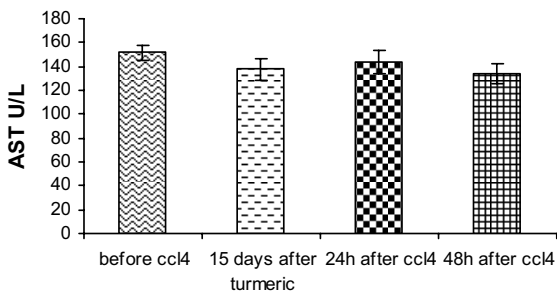
و هفته اول نشان داد که میزان آنها در مقایسه با گروه کنترل تا حد نرمال کاهش پیدا نموده بطوریکه در هفته دوم مقدار آنزیمهای فوق در حد نرمال بود و اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان نداد (جدول ۱) و نمودارهای ۳ و ۴). در گروه های شم کنترل نیز ۲۴ ساعت پس از تزریق پارافین مایع و تجویز خوراکی روغن آفتاب گردان خون گیری انجام و سطوح پلاسمایی AST و ALT بررسی شد. که میزان آنها در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف معنی داری نبود (جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲).



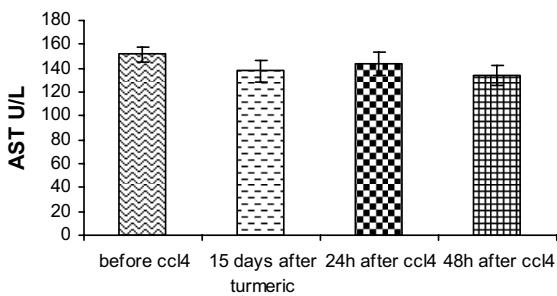
نمودار ۵- مقدار AST در گروه پیش و پس درمانی و مقایسه آن با گروه کنترل.



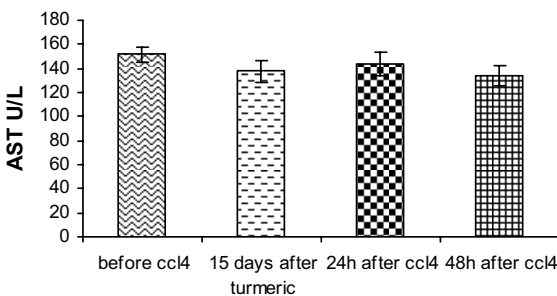
نمودار ۶- مقدار ALT در گروه پیش و پس درمانی و مقایسه آن با گروه کنترل.



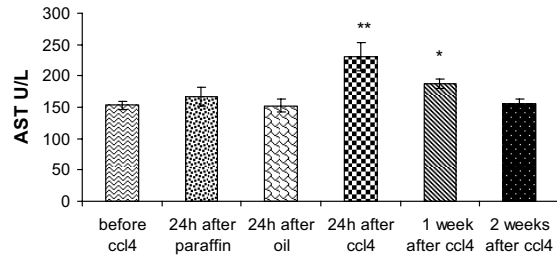
نمودار ۷- مقدار ALT در گروه پیش و پس درمانی و مقایسه آن با گروه کنترل.



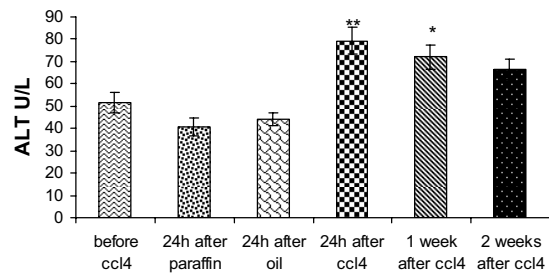
نمودار ۸- مقدار AST در گروه پس درمانی و مقایسه آن با گروه کنترل.



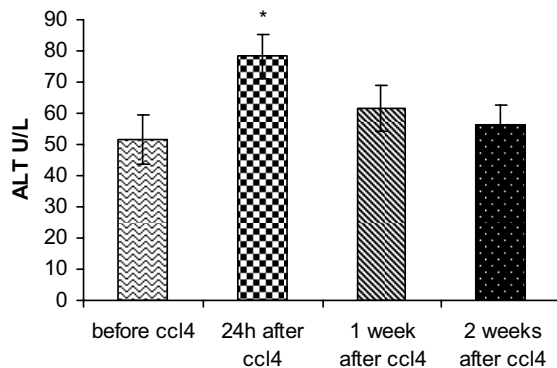
نمودار ۹- مقدار ALT در گروه پس درمانی و مقایسه آن با گروه کنترل.



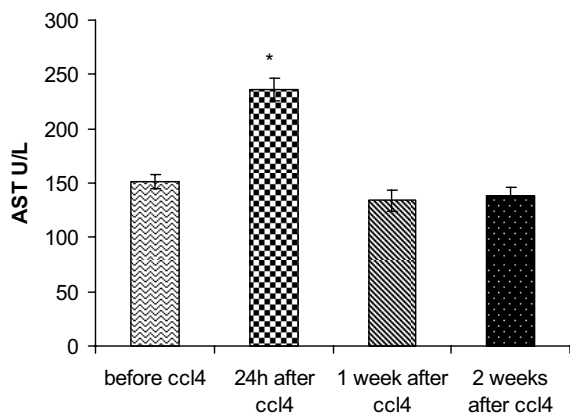
نمودار ۱- مقدار AST (آسیارات آمینوترانسفراز) در گروه کنترل و ششم کنترل. N=6, MEAN ± SEM, tukey, ** p < 0.001, * p < 0.01



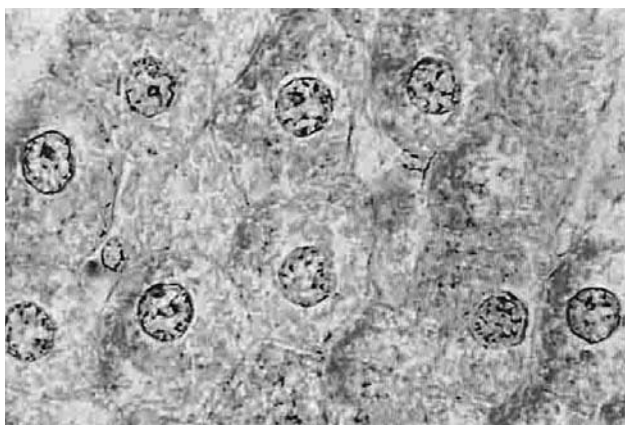
نمودار ۲- مقدار ALT (آلانی آمینو ترانسفراز) در گروه کنترل و ششم کنترل. N=6, MEAN ± SEM, tukey, ** p < 0.001, * p < 0.01



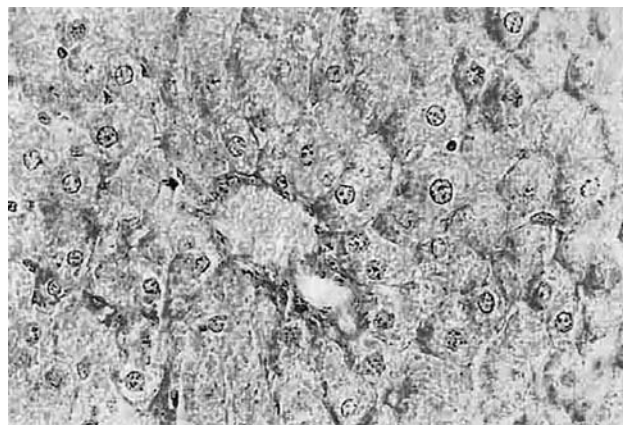
نمودار ۳- مقدار ALT در گروه پیش درمانی. N=6, MEAN ± SEM, tukey, * p < 0.01



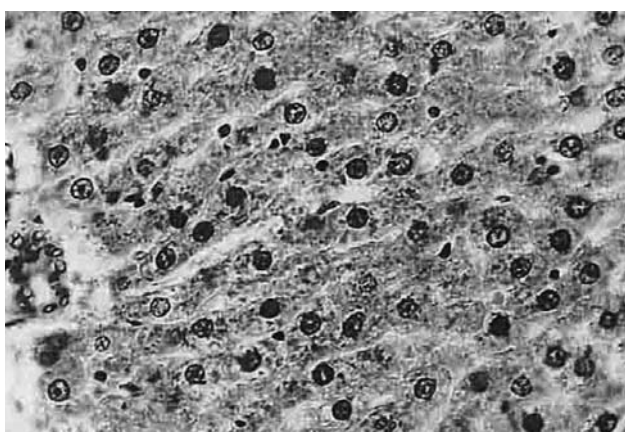
نمودار ۴- مقدار AST در گروه پیش درمانی. N=6, MEAN ± SEM, tukey, * p < 0.01



شکل ۳- مقطع کبد موش صحرانی (در این مقطع که ۲۴ ساعت بعد از تزریق تراکلرید کربن تهیه شده است تجمع چربی ، حالت واکوئلرو نکروز دیده می شود). رنگ آمیزی پاس و پیک و ایندیگوکارمین، درشتنمایی ۴۲۰×



شکل ۱- مقطع کبد موش صحرانی (گروه کنترل، تجمع گلیکوژن را در یک طرف سلولهای کبدی نشان می دهد). رنگ آمیزی PAS، درشتنمایی ۴۲۰×



شکل ۴- مقطع کبد موش صحرانی (گروه پیش درمانی، در این مقطع هیچگونه آثار هپاتوتوکسیسیته نظیر تجمع چربی ، حالت واکوئلرو نکروز مشاهده نمی شود ، تجمع گلیکوژن در یک طرف هپاتوسیتها قابل مشاهده می باشد. رنگ آمیزی پاس و پیک، درشتنمایی ۴۲۰×



شکل ۲- مقطع کبد موش صحرانی (گروه کنترل، در این مقطع هیچگونه آثار هپاتوتوکسیسیته نظیر تجمع چربی ، حالت واکوئلرو نکروز دیده نمی شود). رنگ آمیزی H&E درشتنمایی ۴۲۰×

آمیزی H&E نیز سلولهای کبدی بصورت نسبتاً منظم دیده میشوند (شکل ۲). در هر دو نوع رنگ آمیزی هیچ گونه آثار هپاتوتوکسیسیته مشاهده نشد. ۲۴ ساعت پس از تزریق تراکلرید کربن حیوانات قربانی و کبد آنها برای بررسیهای بافت شناسی جدا شد. در مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از کبد که با رنگ آمیزی پاس و پیک ایندیگوکارمین رنگ شده بودند آثاری از جمله تجمع چربی، حالت واکوئلرو و نکروز که بعنوان هپاتوتوکسیسیته ناشی از تراکلرید کربن نیز در نظر گرفته شده اند قابل رویت بود. مقدار گلیکوژن در این مقاطع در مقایسه با مقاطع تهیه شده از گروه کنترل بسیار کمتر بود (شکل ۳).

گروه پس درمانی

مقاطعی که یک هفته پس از تزریق تراکلرید کربن از حیوان در این گروه تهیه گردید هیچیک از علائم پاتولوژیک ناشی از تاثیر سمی تجویز تراکلرید کربن مشاهده نشد و سطح آنزیمی با توجه به جدول شماره یک کاملاً طبیعی بود (شکل ۴).

در مقایسه با مقدار ALT و AST گروه کنترل فاقد اختلاف معنی داری است (نمودار ۵ و ۶).

در گروه پیش درمانی موشها به مدت ۱۵ روز با غذای معمولی و پودر زردچوبه همراه حامل روغن آفتاب گردان تغذیه شدند، بعد از اتمام ۱۵ روز و تجویز تراکلرید کربن آنها فقط از غذای معمولی استفاده کردند. سنجش آنزیمی ۲۴ ساعت بعد از تزریق تراکلرید کربن نشان داد که میزان آنها در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف معنی داری نیست. نتایج بدست آمده پس از ۴۸ ساعت بعد نیز حاکی از بی معنی بودن مقادیر آنزیمها در مقایسه با گروه کنترل بود (جدول ۱ و نمودارهای ۷ و ۸).

نتایج مطالعات هیستوپاتولوژیک

منظره ماکروسکوپی کبد در گروه کنترل (نرمال) دارای رنگ قرمز تیره و یا قهوه ای مایل به قرمز می باشد. در نمونه میکروسکوپی کبدهای گروه کنترل که با رنگ آمیزی PAS رنگ شده بودند تجمع گلیکوژن در یک طرف سلولهای کبدی بوضوح قابل رویت بود (شکل ۱). در رنگ

نشان داد که سلولهای کبدی تحت تاثیر تتراکلرید کربن دچار مشکلات هیستوپاتولوژیک جدی نشدند (شکل ۶).

بحث

در بیشتر تحقیقات انجام شده در جهان از جمله مطالعه انجام شده توسط دانشمندان هندی از کورکومین یعنی ماده موثر زردچوبه استفاده شده است، اما با توجه به اینکه در اکثر خانواده ها پودر ریزوم گیاه زردچوبه بعنوان چاشنی مورد توجه است، لذا در تحقیق حاضر از پودر ریزوم زردچوبه را استفاده گردید. تجویز پودر به صورت خوراکی حدود ۱۰ برابر کورکومین تجویز شده در سایر تحقیقات بود [۱۷]. آثار تخریبی تتراکلرید کربن و آثار ترمیمی و حفاظت پودر زردچوبه بر خلاف مطالعه Deshpade و همکاران در تحقیق حاضر از دو جنبه آنزیمی و پاتولوژیکی بررسی شد. نتایج بدست آمده از سنجش آنزیمی در گروه کنترل و گروه پس درمانی نشان داد که مقدار AST و ALT در هفته اول و دوم کاهش پیدا نموده است ولی این کاهش در گروه پس درمانی بسیار چشم گیرتر است که نشان دهنده توانائی قدرت ترمیم پودر زردچوبه می باشد. در گروه پیش و پس درمانی با توجه به نتایج بدست آمده در این گروه و مقایسه آن با نتایج حاصل شده در گروه پس درمانی یعنی افزایش معنی دار AST و ALT ۴۲ ساعت پس از تزریق تتراکلرید کربن ($p < 0.001$) میتوان اثر حفاظتی پودر زردچوبه را بر روی سلولهای کبدی مورد توجه قرار داد و همچنین میتوان ادعا نمود که تجویز خوراکی پودر ریزوم زردچوبه علاوه بر اثر درمانی آن دارای اثر حفاظتی نیز می باشد. مکانیزم اثر حفاظتی زردچوبه به خوبی روشن نیست [۱۰] ولی مشخص شده است که Curcumin (ماده فعال آن) میتواند تولید و ترشح صفرا را افزایش دهد. لذا میتوان پیشنهاد نمود که Curcumin دفع صفرا را افزایش داده و آنهم به نوبه خود پاکسازی متابولیت‌های سمی را از سیستم تسریع می نماید. Curcumin همچنین بعنوان یک ماده پاکسازی کننده رادیکالهای آزاد شناخته شده است که می تواند نقش آنتی اکسیدان داشته باشد [۱۰].

Deshphade و همکاران در گزارش خودشان پیشنهاد کردند که زردچوبه ممکن است اثر حفاظتی خود را در دو مسیر اعمال نماید.

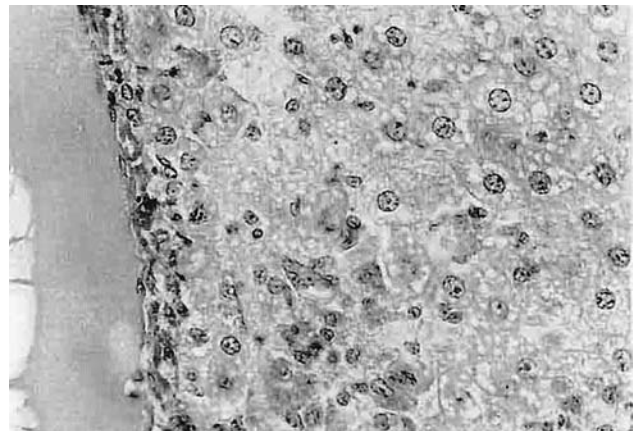
۱- از طریق افزایش دفع متابولیت های سمی.

۲- به عنوان یک رادیکال آزاد پاکسازی کننده و همچنین به عنوان یک مهار کننده پراکسیداسیون چربی [۱۰].

۴۲ ساعت بعد از مسمومیت سلولهای کبد با تتراکلرید کربن تغییر چربی و ویزیکولاسیون تقریباً عمده ترین عارضه هیستوپاتولوژیک در گروههای آزمایشی بود (شکل ۳). در مسمومیت با تتراکلرید کربن تغییر اولیه در رتیکیولوم آندوپلاسمیک صاف است که بصورت متورم شدن سیستمترناها بدلیل آسیب به غشاء و ورود آب ایجاد می شود. با تشکیل ریشه های آزاد از تتراکلرید کربن به زودی به دنبال آن ریزش ریبوزوم ها و تجزیه پلی ریبوزومها از رتیکیولوم آندوپلاسمیک خشن دیده می شود که مانع سنتز پروتئینی میگردد. از این پس قطعه قطعه شدن و جدا ماندن



شکل ۵- مقطع کبد موش صحرایی (گروه پیش و پس درمانی، در این مقطع هیچگونه آثار هیپاتوتوکسیسیته نظیر تجمع چربی، حالت واکولر و نکروز مشاهده نمی شود، تجمع گلیکوژن در یک طرف هیپاتوسیتها قابل مشاهده می باشد. رنگ آمیزی پاس ویک، درشتنمایی $\times 1050$



شکل ۶- مقطع کبد موش صحرایی (گروه پس درمانی، در این مقطع هیچگونه آثار هیپاتوتوکسیسیته نظیر تجمع چربی، حالت واکولر و نکروز مشاهده نمی شود، تجمع گلیکوژن در یک طرف هیپاتوسیتها قابل مشاهده می باشد. رنگ آمیزی پاس ویک، درشتنمایی $\times 420$

گروه پیش و پس درمانی

پس از تغذیه ۱۵ روزه موشها با غذای معمولی به همراه پودر زردچوبه همراه با روغن آفتاب گردان تتراکلرید کربن با دوز معین تزریق و ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق تتراکلرید کربن مقاطعی از کبد آنها تهیه شد. پس از رنگ آمیزی، کبد آنها مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. برخلاف گروه کنترل هیچ گونه آثار هیستوپاتولوژیک که موید آسیب کبدی است در مقاطع میکروسکوپی مشاهده نشد (شکل ۵).

گروه پیش درمانی

بعد از ۱۵ روز تغذیه موشها با غذای معمولی به همراه پودر زردچوبه همراه با روغن آفتاب گردان تتراکلرید کربن تغذیه در این گروه فقط با غذای معمولی بود. ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق تتراکلرید کربن مطابق گروه پیش و پس درمانی مقاطعی از کبد آنها تهیه و مورد رنگ آمیزی های ذکر شده در این تحقیق قرار گرفتند. نتایج بدست آمده

بهمراه غذای عادی تغذیه شده و سپس تحت تاثیر تتراکلرید کربن قرار گرفته بودند نیز نمونه برداری از کبد انجام شد، بررسی های مقطع تهیه شده (شکل ۴) در این گروه هیچگونه آثار مسمومیت با تتراکلرید کربن را نشان ندادند. از طرفی نتایج سنجش های آنزیمی نیز (جدول ۱) مشخص می کند که سطوح آنزیمی AST و ALT در مقایسه با گروه کنترل فاقد اختلاف معنی دار می باشد. لذا می توان ادعا نمود که پودر زردچوبه هپاتوسیت ها را در مقابل تتراکلرید کربن حفاظت نموده و مانع تاثیر سوء تتراکلرید کربن بر آنها می شود.

در گروه پس درمانی نیز با توجه به نتایج آنزیمی (جدول ۱) و نتایج هیستوپاتولوژیکی (شکل ۶) تفاوت عمده ای بین آنها ملاحظه نشد، در واقع تغذیه ۱۵ روزه که در هر گروه مشترک بود مهمترین عامل در حفاظت سلول های کبد می باشد. گرچه به نظر می رسد ادامه تغذیه به همراه زردچوبه در حفاظت هپاتوسیتها موثرتر باشد.

در مجموع با توجه به نتایج بدست آمده احتمال دارد پودر زردچوبه موجب افزایش مقاومت سلولهای کبدی در برابر تتراکلرید کربن باشد و احتمالاً قدرت نفوذ پذیری غشاء سلول ها را نسبت به تتراکلرید کربن کاهش میدهد. به این ترتیب پودر زردچوبه نه فقط اثرات درمانی در آسیبهای کبدی از خود بروز میدهد بلکه دارای اثرات پیش گیری کننده از بروز آسیبهای کبدی نیز میباشد که شاید بتوان این اثرات را به قابلیت آنتی اکسیدانی ماده مؤثره زردچوبه نیز نسبت داد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از خانم ساره رضاییان که در این تحقیق همکاری لازم را مبذول فرمودند تشکر و قدردانی می شود.

منابع

- [1] زرگری نژاد، ع. گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۹.
- [2] Ammon, H.P., Wahl, M.A., Pharmacology of Curcuma longa, *Planta Med*, 57 (1991) 1-7.
- [3] پرداختی، ع.، شریعت، م. بررسی اثرات درمانی سیلای مارین در سمیت حاد کبدی ایجاد شده توسط تتراکلرید کربن در موش، پایان نامه درجه دکتری، دانشکده داروسازی، دانشگاه مشهد، (۷۲-۱۳۷۱).
- [4] Ammon, H.P. and Wahl, M.A. Pharmacology of Curcuma longa, *Planta Med*, 57 (1991) 1-7.
- [5] Cohly, H.H., Taylor, A., Angel, M.F., Salahudeen, A.K. Effect of turmeric, turmerin and curcumin on H2O2 Induced renal epithelial (LLC-PK1) cell injury, *Cancer Res*, 24 (1998) 49-54.
- [6] Kawamori, T., Lubet, R., Steele, V.E., Kelloff, G.J.,

قطعات بقایای رتیکولوم اندوپلاسمیک بوجود میآید [۱۹]. این تغییرات ممکن است دو ساعت قبل از تغییرات میتوکندریائی ظاهر شود. و دنبال آن قطرات چربی در سیتوپلاسم ظاهر میشود. تری گلیسریدها میتوانند در سلول کبدی فقط به شکل لیپوپروتئین رهایش شوند. با متوقف شدن سنتز پروتئین در مسمومیت با تتراکلرید کربن نقصی در تهیه پروتئین چربی پذیر (آپوپروتئین) لازم برای تشکیل لیپوپروتئین و مکانیزم آگزوستوز آنها بوجود می آید، از این رو حبابهای چربی در این سلولهای آزرده به جای رهایش به تدریج جمع شده و سبب انباشتگی چربی می گردد. با مرور زمان غشاء سلول صدمه دیده و منجر به ورود کلسیم اضافی می شود که باعث آزار میتوکندریها میگردد و از فسفریلاسیون اکسیداتیو جلوگیری می نماید. سپس به دنبال آن تورم میتوکندریها پدید می آید. دنبال متورم شدن میتوکندریها تقریباً آنچه را که برای آزار هیپوکسی توصیف شده است رخ می دهد. همراه با ورود کلسیم مرحله غیر قابل برگشت در آسیب سلولهای کبدی شروع می شود [۱۹].

نتایج بدست آمده از مشاهدات میکروسکوپی در هفته اول و دوم بعد از تزریق تتراکلرید کربن در گروه پس درمانی، آثار مسمومیت و آسیب سلولهای کبدی را نشان نداد که خود می تواند موید تاثیر پودر ریزوم زردچوبه بر روند ترمیم کبد آسیب دیده باشد.

نتایج و بررسی های مقاطع میکروسکوپی در گروه پیش و پس درمانی هیچگونه آثار هیستوپاتولوژیک نشان ندادند. لذا میتوان ادعا نمود که پودر ریزوم زردچوبه احتمالاً دارای قابلیت حفاظتی سلولهای کبدی در مقابل آثار هپاتوتوکسیسیته تتراکلرید کربن می باشد.

به منظور نشان دادن میزان گلیکوژن در مقاطع کبدت، از تکنیک رنگ آمیزی اختصاصی PAS (پریودیگ اسید شیف) استفاده شد. در مطالعه مقاطع تهیه شده از کبد موشهای گروه کنترل (شکل ۱) تجمع گلیکوژن در یک طرف سلولهای کبدی مشخص بود. در شکل ۳ که از کبد موشهاییکه تحت تاثیر تتراکلرید کربن قرار گرفته بودند علاوه بر نشان دادن آثار مسمومیت هپاتوسیت ها، مشخص کردن موقعیت گلیکوژن نیز مورد نظر بود، مقطع فوق آثار بسیار مختصری از وجود گلیکوژن را نشان میداد. یکی از مهمترین اثرات انسولین ذخیره کردن قسمت اعظم گلوکز جذب شده بعد از صرف غذا به صورت گلیکوژن در کبد است. از طرفی انسولین آنزیم فسفوریلاز را مهار کرده و مانع تجزیه گلیکوژن ذخیره شده در کبد میشود [۲۰].

احتمال دارد تتراکلرید کربن با ورود به سلولهای کبدی از مهار آنزیم فسفوریلاز توسط انسولین جلوگیری کرده که با فعال شدن این آنزیم، گلیکوژن به گلوکز ۶ فسفات تبدیل می شود، که در نهایت آنزیم گلوکز ۶ فسفات موجب جدا کردن رادیکال فسفات از گلوکز می شود و این امر به گلوکز آزاد اجازه می دهد تا مجدداً به داخل خون انتشار یابد [۲۰]. بنابراین در چنین حالتی اگر از تکنیک رنگ آمیزی پاس جهت مشاهده گلیکوژن در سلولهای کبدی استفاده گردد، این رنگ آمیزی جواب مناسبی نخواهد داد (شکل ۳).

در گروه پیش و پس درمانی که موشها ۵۱ روز با پودر زردچوبه

- Biosci Biotechnol Biochem*, 59 (1995) 1609 – 12 .
- [14] Quiles, J.L., Aguilera, C., Mesa, M.D., Ramirez – Tortosa, L., Gil, A. An ethanolic – aqueous of *Curcuma longa* decreases the susceptibility of liver microsomes and mitochondria to lipid peroxidation in atherosclerotic rabbits, *Biofactors*, 8 (1998) 51–7.
- [15] Reddy, A.C., Lokesh, B.R. Effect of Dietary turmeric (*Curcuma longa*) on iron – induced lipid peroxidation in the rat liver, *Food Chem Toxicol*, 32 (1994) 279–83.
- [16] Scartezzini, P., Speroni, E. Review on some plants of indian traditional medicine with antioxidant activity, *J Ethnopharmacol*, 71 (2000) 23–43.
- [17] Selvam, R., Subramanian, L., Gayathri, R., Angayarkanni, N. The anti-oxidant activity of turmeric (*Curcuma longa*). *J Ethnopharmacol*, 47 (1995) 59–67.
- [18] Singh, A., Singh, S.P., Bamezai, R. Postnatal modulation of hepatic biotransformation system enzymes via translactational exposure of F1 mouse pups to turmeric and Curcumin. *Cancer Lett*, 96 (1995) 87–93.
- [۱۹] بهادری، م. فن آسیب شناسی و روشهای رنگ آمیزی، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، (۱۳۶۹) ۲۴۹–۲۴۵.
- [۲۰] شکور، ع. شفائی، ش. علوی، م. اصول پاتولوژی عمومی، انتشارات بنفشه و دانش پژوه، تهران، (۱۳۶۹) ۴۱–۳۸.
- [۲۱] گایتون آ.، فیزیولوژی پزشکی، ترجمه دکتر فرخ شادان، جلد سوم، چاپ هشتم، انتشارات چهر، تهران، ۱۳۶۸.
- Kaskey, R.B., Rao, C.V., Reddy, B.S. Chemopreventive effect of Curcumin agent, during the prostages of colon cancer, *Cancer Res*, 59 (1999) 597–601.
- [7] Kuttan, R., Sudheeran, P.C., Joseph, C.D. Turmeric and curcumin as topical agents in cancer theapy. *Tumori*, 73 (1987) 29–31.
- [8] Luper, S.A. review of plants used in the treatment of liver disease: part two, *Altern Med Rev*, 4 (1999) 178–88.
- [9] Nagabhusan, M., Bhide, S.V. Curcumin as an inhibitor of cancer, *J Am Coll Nutr*, 11(1992) 192–8.
- [10] Deshpade, U.R., Gadre, S.G., Raste, A.S., Pillai, D., Bhide, S.V., Samule, A.M. Protective effect of turmeric (*curcuma longa*) extract on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *Indian J Exp Biol*, 36 (1998) 573–7.
- [11] Donatus, I.A., Vermeulen, N.P. Cytotoxic and cytoprotective activities of curcumin. Effects on paracetamol – induced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes, *Biochem Pharmacol*, 39 (1990) 1869–75 .
- [12] Soni, K.B., Lahiri, M., Chackradeo, P., Bhide, S.V., Kuttan, R. Protective effect of food additives on aflatoxin – induced mutagenicity and hepatocarcinogenicity, *Cancer Lett*, 115 (1997) 129 – 33.
- [13] Osawa, T., Sugiyama, Y., Inayaoshi, M., Kawakishi, S. Antioxidative activity of tetrahydrocurcuminoids,