

The effect of essential oil of *Achillea wilhelmsii* flowers on cisplatin-induced hepatotoxicity

Ghanbari S¹, Amjad L^{2*}, Shahanipur K³

1- Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I. R. Iran.

2- Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I. R. Iran.

3- Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I. R. Iran.

Received December 22, 2016; Accepted July 9, 2017

Abstract:

Background: The essential oil of *Achillea wilhelmsii* has anti-inflammatory and antioxidant properties. Cisplatin is one of the most important anticancer drugs that are widely used to treat various types of cancers. This study aimed at examining the effects of the essential oil of *A. wilhelmsii* flowers on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats.

Materials and Methods: In this study, 36 male Wistar rats weighing 200-250 g were divided into 6 groups: 1) control, 2) cisplatin (0.4 mg/kg), 3) cisplatin and essential oil (30 mg/kg), 4) cisplatin and essential oil (60 mg/kg), 5) essential oil (30 mg/kg) and 6) essential oil (60 mg/kg). The injection was performed in the groups every day for 8 weeks. Then, serum levels of liver enzymes were measured and the liver tissue was removed for histopathological studies.

Results: The results showed no significant changes in the albumin level ($P>0.05$). However, the activities of hepatic factors ALT, AST, ALP and bilirubin were decreased significantly in the groups received essential oil 30 and 60 mg/kg + cisplatin and in groups only received the essential oil 30 and 60 mg/kg compared to the cisplatin group ($P<0.05$). Histopathological analysis of liver showed a significant difference in all groups compared to the control group, which this difference in the group received essential oil 60 mg/kg + cisplatin was higher than other groups.

Conclusion: The essential oil of *A. wilhelmsii* decreases serum levels of liver factors and bilirubin against cisplatin.

Keywords: *Achillea wilhelmsii*, Essential oil, Cisplatin, Liver

* Corresponding Author.

Email: amjad.leila@gmail.com

Tel: 0098 913 327 3349

Fax: 0098 313 742 0135

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2017; Vol. 21, No 5, Pages 398-406

Please cite this article as: Ghanbari S, Amjad L, Shahanipur K. The effect of essential oil of *Achillea wilhelmsii* flowers on cisplatin-induced hepatotoxicity. *Feyz* 2017; 21(5): 398-406.

بررسی تاثیر اسانس گل‌های گیاه بومادران (*Achillea wilhelmsii*) بر سمیت کبدی حاصل از سیس‌پلاتین

سحر قنبری^۱، لیلا امجد^{۲*}، کهن شاهانی پور^۳

خلاصه:

سابقه و هدف: اسانس گل‌های گیاه *Achillea wilhelmsii* دارای اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی است. سیس‌پلاتین یکی از مهم‌ترین داروهای ضدسرطان است که به‌وفور برای درمان انواع مختلف سرطان‌ها به‌کار برده می‌شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی تاثیر اسانس گل‌های گیاه *Achillea wilhelmsii* بر سمیت کبدی سیس‌پلاتین در موش‌های صحرایی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به ۶ گروه زیر تقسیم شدند: کنترل؛ سیس-پلاتین (۰/۴ mg/kg)؛ سیس‌پلاتین و اسانس (۳۰ mg/kg)؛ سیس‌پلاتین و اسانس (۶۰ mg/kg)؛ اسانس (۳۰ mg/kg) و اسانس (۶۰ mg/kg). تزریق به گروه‌ها به مدت ۸ هفته هر روز انجام شد. سپس سطح سرمی آنزیم‌های کبدی مورد سنجش قرار گرفت و بافت کبد نیز جهت مطالعات هیستوپاتولوژیکی خارج گردید.

نتایج: تغییرات معنی‌داری در میزان آلبومین مشاهده نشد ($P > 0/05$)، درحالی‌که در فعالیت فاکتورهای کبدی ALT، AST، ALP و بیلی‌روبین کاهش معنی‌داری در گروه‌های دریافت‌کننده اسانس ۶۰ و ۳۰ mg/kg به همراه سیس‌پلاتین و گروه‌های اسانس به تنهایی نسبت به گروه سیس‌پلاتین مشاهده شد ($P < 0/05$). مطالعات بافت‌شناسی کبد نیز اختلاف در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل را نشان داد که این اختلاف در گروه دریافت‌کننده اسانس ۶۰ mg/kg به همراه سیس‌پلاتین از سایر گروه‌ها بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: اسانس گیاه بومادران موجب کاهش سطح سرمی فاکتورهای کبدی و بیلی‌روبین در مواجهه با سیس‌پلاتین می‌گردد.

واژگان کلیدی: بومادران، اسانس، سیس‌پلاتین، کبد

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۶، صفحات ۴۰۶-۳۹۸

مقدمه

سیس‌پلاتین یکی از مهم‌ترین داروهای ضدسرطان است که به‌وفور برای درمان انواع مختلف سرطان‌ها به‌کار برده می‌شود. این دارو دارای خاصیت قوی ضدسرطانی علیه طیف وسیعی از بدخیمی‌ها، از جمله سرطان‌های تخمدان، بیضه، ناحیه گردن، مثانه، ریه و همچنین سایر تومورهای مقاوم به رژیم درمانی ضدسرطان می‌باشد. باوجود اثرات مفید بالینی سیس‌پلاتین در درمان سرطان، این دارو دارای اثرات جانبی توکسیک متعددی نظیر اثرات نفرو-توکسیک، نورو-توکسیک و توکسیک سیستم شنوایی می‌باشد. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو نقش مهمی در برابر سمیت کبدی ایفا می‌کند؛ بنابراین مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی روزانه بسیار حائز اهمیت است [۲،۱].

مواد بیولوژیک با منشا گیاهی به‌علت سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و قیمت مناسب به‌عنوان جایگزین‌های شایسته داروهای صناعی همواره مورد بحث بوده و از چنددهه اخیر به‌طور خاص موردتوجه محققین قرار گرفته‌اند [۳]. گیاه بومادران (*Achillea wilhelmsii*) از تیره کاسنی محسوب می‌شود. این تیره با داشتن حدود ۱۰۰۰ جنس و ۲۰۰۰۰ گونه در تمام سطح کره زمین پراکنده است و در مناطق معتدل و سرد به فراوانی می‌روید [۴]. بومادران در مناطق مختلف اروپا و شمال آمریکا و نواحی معتدل آسیا از جمله ایران رشد می‌کند. عصاره الکلی سرشاخه‌های گل‌دار آن پایین‌آورنده چربی و فشار خون است [۵] عصاره آبی-الکلی آن اثر مهاری بر ترشح اسید معده از طریق مهار عصب واگ معده دارد [۶]. عصاره آبی این گیاه دارای اثرات تحریک‌کننده‌ای در ایمنی هومورال و سلولار است [۷]. سرشاخه‌های گل‌دار این گیاه سرشار از فلاونوئید و سزکونی‌ترین لاکتون بوده [۸] و گرده‌های آن نیز به شدت آلرژی‌زا است [۹]. این گیاه به دلیل دارابودن تانن و مواد تلخ و معطر، مقوی اعصاب و قلب است؛ به‌طوری‌که در موارد درمانی مختلف مانند خستگی عمومی، ضعف و التهاب ماهیچه‌های قلبی و همچنین در بیماری‌های عصبی مانند ضعف اعصاب و صرع مفید بوده و مورد استفاده قرار گرفته است [۱۱،۱۰]. این گیاه دارای ساقه ضخیم و استوانه‌ای کم‌ویش

^۱ کارشناسی ارشد بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان،

ایران

^۳ استادیار، گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۰۹۱۳۳۲۷۳۳۴۹

دورنویس: ۰۳۱۳۷۴۲۰۱۳۵

پست الکترونیک: amjad.leila@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۶/۴/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۳

ایستاده و مختصراً کرک پوش است، موسم گل دهی آن اردیبهشت و خرداد ماه است [۱۲]. اسانس گل های بومادران حاوی کامازولن، سینتول و بورتول است که خواص ضد التهابی، ضد اسپاسم، ضد شوره سر، تحریک رشد مو و التیام موضعی پوست را نشان می دهد [۱۴، ۱۳]. از گونه های دیگر گیاه بومادران می توان به -fragrantssi- ma اشاره نمود که مصرف آن باعث افزایش تغییرات قابل توجهی در پروتئین کل و گلبولین و کاهش معنی دار آنزیم کبدی آلکالین فسفاتاز، اوره و کراتینین می گردد [۱۵]. کبد دومین اندام بزرگ در بدن انسان است و جایگاه اصلی برای سوخت و ساز و دفع مواد از بدن می باشد. تنظیم هموستاز بدن نقش شگفت آوری است که کبد با درگیر شدن در اکثر مسیرهای بیوشیمیایی آن را به عهده دارد [۱۶]. استفاده از آنزیم ها در تشخیص بیماری های کبدی مورد توجه بوده و مشخص شده است که در اثر ضایعات سلولی و متلاشی شدن آن ها آنزیم های مختلف درون این سلول ها وارد جریان خون می شوند. آسپاراتات آمینوترانسفراز یا گلو تامیک اگزالواسیتیک ترانس آمیناز در سیتوپلاسم و میتوکندری سلول وجود داشته و با غلظت های بسیار بالا در بافت های مختلف از جمله قلب، کبد، ماهیچه، کلیه و گلبول قرمز توزیع شده است. آلانین آمینوترانسفراز یا گلو تامیک پیروویک ترانس آمیناز به مقدار زیادی در کبد و به مقدار کمتر در ماهیچه های عضلانی وجود دارد. این آنزیم نیز یک آنزیم سیتوزولی است که در بالاترین غلظت خود در کبد یافت می شود. آلکالین فسفاتازها گروهی از آنزیم ها هستند که عمل هیدرولیز فسفاتازها را انجام می دهند؛ این آنزیم ها به طور وسیعی در بافت های مختلف توزیع شده اند. نقش اصلی آنزیم آلکالین فسفاتاز به درستی مشخص نیست، اما چون در غشا سلول جای دارد به نظر می رسد در عمل تبادل غشا سلولی دخالت داشته باشد. افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز سرمی از منشا کبد و استخوان می باشد [۱۷]. با بررسی منابع مشخص گردید مطالعه ای روی اثرات محافظتی اسانس بومادران در برابر سمیت کبدی ناشی از سیس- پلاتین انجام نگرفته است. بنابراین، مطالعه حاضر برای اولین بار انجام شده است.

مواد و روش ها

این پژوهش آزمایشگاهی طی سال ۱۳۹۴ در مرکز تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی فلاورجان انجام گرفت. به همین منظور ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از محل پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی فلاورجان خریداری شدند و به شکل تصادفی در ۶ گروه ۶ تایی شامل ۱-کنترل (شاهد سالم)؛ ۲-

سیس پلاتین با غلظت ۰/۴ mg/kg (شاهد مسموم)؛ ۳- سیس- پلاتین به همراه اسانس با غلظت ۳۰ mg/kg؛ ۴- سیس پلاتین به همراه اسانس با غلظت ۶۰ mg/kg؛ ۵- اسانس با غلظت ۳۰ mg/kg؛ و ۶- اسانس با غلظت ۶۰ mg/kg توزیع گردیدند. شرایط نگهداری برای تمام حیوانات یکسان در نظر گرفته شد و پس از یک هفته سازگاری با محیط، آزمایش ها روی آن ها انجام گرفت. گیاه بومادران در اردیبهشت و خرداد ماه سال ۱۳۹۴ از منطقه سامان شهرکرد جمع آوری گردید و توسط کارشناسان هرباریوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان تأیید شد. سپس، نمونه سرشاخه های گل دار گیاه از ساقه آن جدا گردید و در محیط تاریک در دمای اتاق قرار داده شد تا خشک شوند. پس از خشک شدن توسط آسیاب برقی پودر شده و در ظرف شیشه ای درب دار قرار داده شد، در فویل آلومینیومی جهت جلوگیری از برخورد نور پیچیده شد و تا زمان استفاده در دمای خنک قرار داده شد. سپس، از اندام های برداشت شده اسانس گیری انجام گرفت. در هربار اسانس گیری از گیاه آسیاب شده توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت اسانس گیری انجام شد و اسانس تهیه شده در یخچال نگهداری شد. برای تهیه اسانس با غلظت های ۶۰ mg/kg و ۳۰ با توجه به وزن تقریبی موش ها و غلظت اسانس، حجم حلال (مخلوط Tween 80) (Merck) و نرمال سالین به نسبت ۱ به ۴) و حجم اسانس را مشخص کرده و باهم مخلوط نمودیم و غلظت مورد نظر را تهیه کردیم. سپس، روزانه و به مدت ۸ هفته به ترتیب ترکیبات زیر به شکل داخل صفاقی به حیوانات تزریق گردید: گروه ۱، نرمال سالین ۲ میلی لیتر؛ گروه ۲، نرمال سالین ۲ میلی لیتر به همراه سیس- پلاتین ۰/۴ mg/kg (ساخت Sigma) به میزان ۰/۵ میلی لیتر؛ گروه ۳، سیس پلاتین ۰/۴ mg/kg به میزان ۰/۵ میلی لیتر به همراه اسانس ۳۰ mg/kg به میزان ۰/۵ میلی لیتر؛ گروه ۴، سیس پلاتین ۰/۴ mg/kg به میزان ۰/۵ میلی لیتر به همراه اسانس ۶۰ mg/kg به میزان ۰/۵ میلی لیتر؛ و گروه ۵، اسانس ۳۰ mg/kg به میزان ۰/۵ میلی لیتر؛ و گروه ۶، اسانس ۶۰ mg/kg به میزان ۰/۵ میلی لیتر. بعد از ۲۴ ساعت از آخرین تزریق برای بررسی فاکتورهای کبدی آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، بیلی روبین و آلبومین نمونه خون از قلب موش ها گرفته شد [۱۸]. برای جداسازی سرم لوله های حاوی خون درون دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و پس از آن جداسازی سرم انجام گرفت. سپس، با اضافه نمودن معرف ها به سرم فاکتورهای مورد نظر سنجش شد. از هر گروه ۲ سر موش صحرایی به طور کاملاً تصادفی تشریح شدند و بافت کبد آن ها

گروه شاهد مسموم کاهش معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$). سطح سرمی آلبومین در این گروه نیز نسبت به گروه شاهد سالم افزایش و نسبت به گروه شاهد مسموم کاهش نشان داد که معنی‌دار نبود. در موش‌های گروه ۵ که دریافت‌کننده اسانس با غلظت پایین (30 mg/kg) بودند، سطح سرمی آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز نسبت به گروه‌های ۱ و ۲ کاهش نشان دادند که این کاهش در مورد آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز معنی‌دار بود ($P < 0/05$) و در مورد آلانین آمینو ترانسفراز معنی‌دار نبود. همچنین، میزان بیلی‌روبین در این گروه نسبت به گروه شاهد سالم افزایش معنی‌دار و نسبت به گروه شاهد مسموم کاهش معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$). سطح سرمی آلبومین در این گروه نسبت به گروه شاهد سالم افزایش و نسبت به گروه شاهد مسموم کاهش نشان داد که معنی‌دار نبود. در گروه ۶ که دریافت‌کننده اسانس با غلظت بالا (60 mg/kg) بودند، سطح سرمی آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز نسبت به گروه‌های شاهد سالم و مسموم کاهش معنی‌دار نشان داد، ضمن اینکه میزان بیلی‌روبین در این گروه نسبت به گروه شاهد سالم افزایش معنی‌دار و نسبت به گروه شاهد مسموم کاهش معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$). همچنین، سطح سرمی آلبومین نیز در این گروه نسبت به گروه ۱ افزایش و نسبت به گروه ۲ کاهش نشان داد که معنی‌دار نبود. مطالعه آسیب‌شناسی بافت کبد در تمامی گروه‌ها نشان داد که موش‌های گروه ۱ ساختار طبیعی و سالم کبد را دارا هستند (شکل شماره ۱-الف). نمونه بافت کبد گروه‌های ۳ و ۴ (سیس پلاتین + اسانس با غلظت 30 mg/kg و 60 mg/kg) تخریب و تغییرات بافتی شدیدتری را نسبت به سایر گروه‌ها از خود نشان دادند که البته آسیب بافتی در گروه ۴ که دریافت‌کننده سیس پلاتین و اسانس با غلظت بیشتر بود، شدیدتر از گروه ۳ بود (شکل شماره‌های ۱-ج و ۱-د). در نمونه‌های بافتی کبد موش‌هایی که سیس پلاتین دریافت کردند تغییرات بافتی متوسطی مشاهده گردید که این تغییرات نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده اسانس و سیس پلاتین کمتر و نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده اسانس به تنهایی بیشتر بود (شکل شماره ۱-ب). در بافت کبد گروه‌های ۵ و ۶ (اسانس با غلظت 30 mg/kg و 60 mg/kg) تخریب بافتی ضعیف‌تری نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده گردید که البته این تخریب در گروه ۵ که دریافت‌کننده اسانس با غلظت کمتر بود، ضعیف‌تر از گروه ۶ بود (شکل‌های شماره ۱-ه و ۱-و).

جهت مطالعه هیستوپاتولوژیکی خارج شد. از هر گروه ۲ مقطع بافتی جدا گردید و مراحل رنگ‌آمیزی که به ترتیب شامل قراردادن بافت کبد درون فرمالین ۱۰ درصد، آب‌گیری در اتانول، قرار دادن نمونه درون گزیلول، قرار دادن نمونه داخل پارافین مذاب، قالب‌گیری، برش نمونه توسط دستگاه میکروتوم، قرار دادن برش‌ها روی لام حاوی ژلاتین، حذف پارافین توسط گزیلول و آب‌دهی، رنگ‌آمیزی لام‌ها با همتاکسیلین و اتوزین، آب‌گیری در الکل، چسباندن لام، مطالعه با میکروسکوپ نوری و تهیه عکس بود، روی بافت انجام شد. نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ و به کارگیری آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA)، آنالیز واریانس چندمتغیره (MANOVA) و آزمون LSD مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در تمامی آزمون‌ها سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) در نظر گرفته شد.

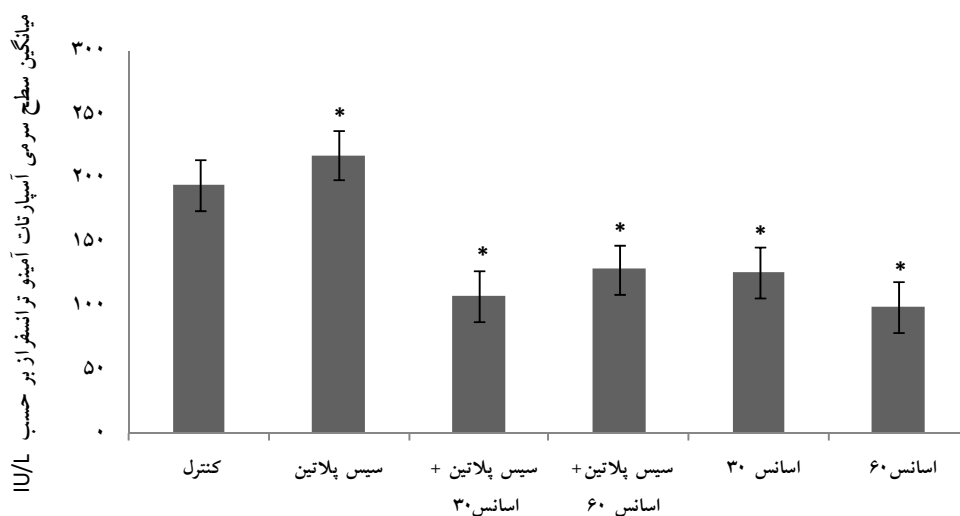
نتایج

باتوجه به جدول شماره ۱ می‌توان گفت که در موش‌های گروه ۲ که دریافت‌کننده سیس پلاتین بودند، سطح سرمی آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، و بیلی‌روبین در مقایسه با گروه شاهد سالم افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) داشته و میزان آلبومین سرمی نیز افزایش نشان داد که البته این افزایش معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). در گروه ۳ که سیس پلاتین ($0/4 \text{ mg/kg}$) و غلظت پایین اسانس (30 mg/kg) را دریافت کردند، سطح سرمی آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد سالم و شاهد مسموم نشان داد ($P < 0/05$) (نمودارهای شماره ۱ تا ۳)، اما میزان بیلی‌روبین نسبت به گروه شاهد سالم افزایش معنی‌دار داشته و نسبت به گروه شاهد مسموم کاهش معنی‌داری را به همراه داشت ($P < 0/05$) (نمودار شماره ۴)، ضمن اینکه سطح سرمی آلبومین نیز در این گروه نسبت به گروه شاهد سالم افزایش و نسبت به گروه شاهد مسموم کاهش نشان داد که معنی‌دار نبود ($P > 0/05$) (نمودار شماره ۵). در گروه ۴ که سیس پلاتین ($0/4 \text{ mg/kg}$) و غلظت بالای اسانس (60 mg/kg) را دریافت کردند میزان آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز نسبت به گروه‌های شاهد سالم و مسموم کاهش نشان داد که برای آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز این کاهش معنی‌دار بود ($P < 0/05$) و برای آلکالین فسفاتاز معنی‌دار نبود. همچنین، سطح سرمی بیلی‌روبین در این گروه نسبت به گروه شاهد سالم افزایش معنی‌دار و نسبت به

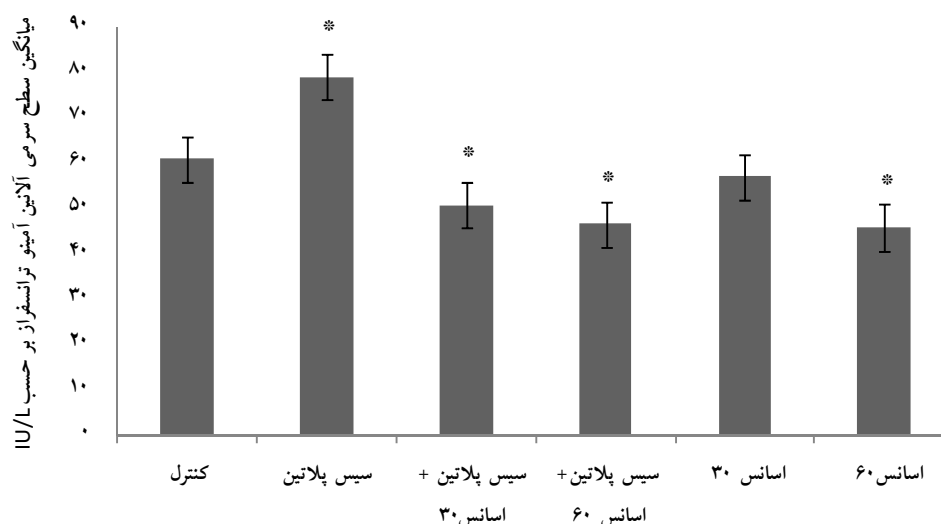
جدول شماره ۱- تاثیر اسانس بومادران بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم موش صحرایی در آسیب کبدی ناشی از سیس پلاتین

گروه/پارامترشیمیایی	آسپاراتات آمینو ترانسفراز (U/L)	آلاتین آمینو ترانسفراز (U/L)	آلکان فسفاتاز (U/L)	بیلی روبین (mg/dL)	آلبومین (g/dL)
کنترل	۱۹۴/۸۳±۲۳/۵۶ ^b	۶۱/۰۰±۶/۹۵ ^b	۵۶۶/۱۶±۱۵۲/۷۸ ^b	۰/۸۷±۰/۰۰ ^b	۳/۲۸±۰/۱۱
سیس پلاتین	۲۱۸/۵۰±۱۷/۶۶ ^a	۷۹/۱۶±۸/۵۱ ^a	۷۳۱/۰۰±۴۵/۴۳ ^a	۰/۹۴±۰/۰۱ ^a	۳/۴۷±۰/۱۳
سیس پلاتین+اسانس (۳۰mg/kg)	۱۰۷/۸۳±۲۰/۲۸ ^{ab}	۵۰/۸۳±۱۱/۴۶ ^{ab}	۲۳۶/۵۰±۱۹/۲۱ ^{ab}	۰/۹۱±۰/۰۱ ^{ab}	۳/۳۸±۰/۳۲
سیس پلاتین+اسانس (۶۰mg/kg)	۱۲۸/۵۰±۲۳/۹۴ ^{ab}	۴۶/۵۰±۵/۵۴ ^{ab}	۴۵۱/۰۰±۱۴۱/۸۷ ^b	۰/۹۳±۰/۰۱ ^a	۳/۴۱±۰/۲۴
اسانس (۳۰mg/kg)	۱۲۵/۸۳±۱۰/۹۶ ^{ab}	۵۷/۰۰±۱۰/۱۳ ^b	۳۵۸/۵۰±۶۷/۳۲ ^{ab}	۰/۹۲±۰/۰۱ ^a	۳/۴۰±۰/۱۶
اسانس (۶۰mg/kg)	۹۹/۶۶±۶/۰۵ ^{ab}	۴۵/۸۳±۴/۰۷ ^{ab}	۳۱۵/۰۰±۶۷/۸۸ ^{ab}	۰/۹۲±۰/۰۲ ^a	۳/۳۶±۰/۳۰

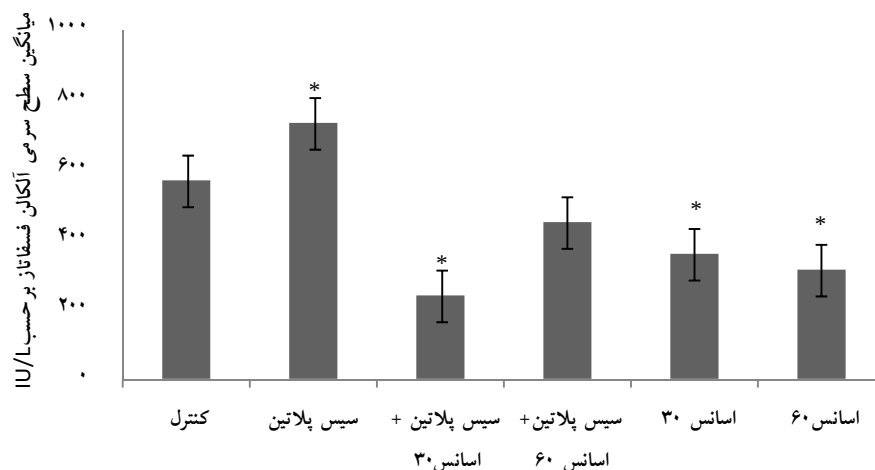
مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار برای ۶ سر موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است. a: اختلاف معنی دار با گروه ۱ و b: اختلاف معنی دار با گروه ۲ ($P<0/05$).



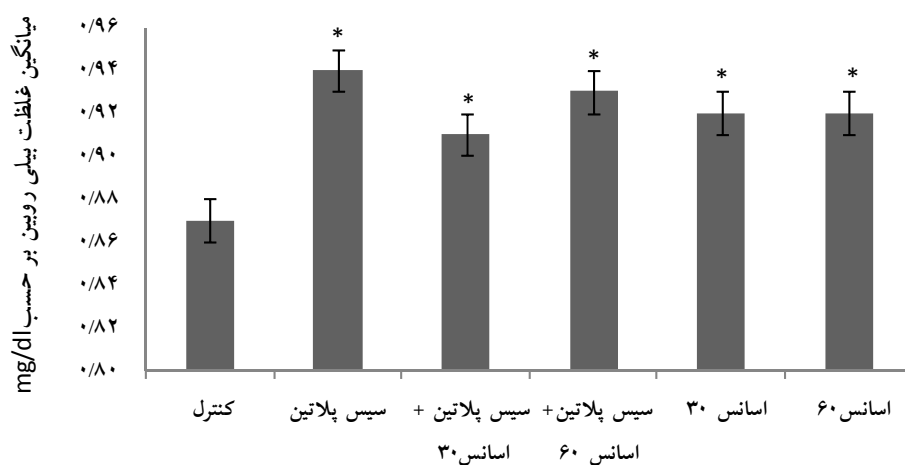
نمودار شماره ۱- اثر اسانس گل های گیاه بومادران بر سطح سرمی AST در موش های صحرایی به تفکیک گروه های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل * ($P<0/05$).



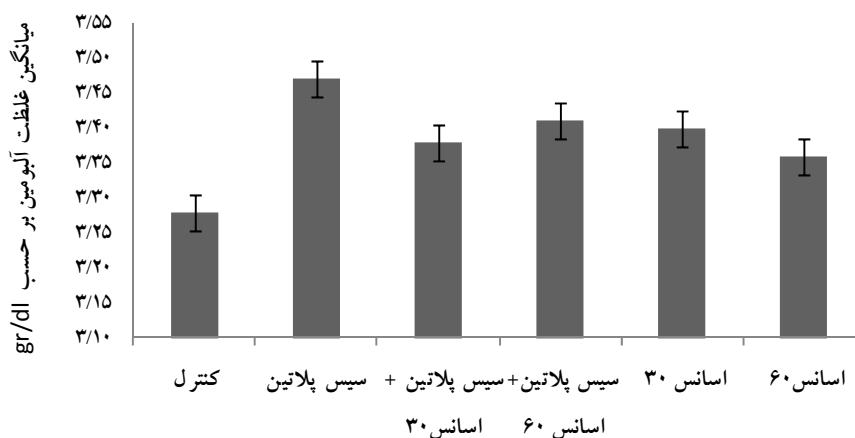
نمودار شماره ۲- اثر اسانس گل های گیاه بومادران بر سطح سرمی ALT در موش های صحرایی به تفکیک گروه های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل * ($P<0/05$).



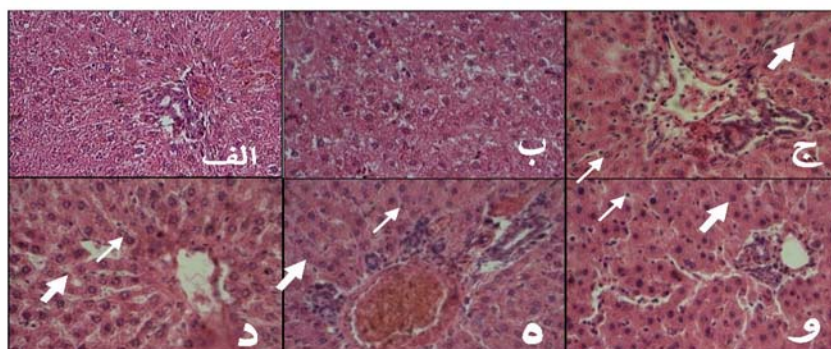
نمودار شماره ۳- اثر اسانس گل‌های گیاه بومادران بر سطح سرمی ALP در موش‌های صحرایی به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل * ($P < 0.05$).



نمودار شماره ۴- اثر اسانس گل‌های گیاه بومادران بر سطح سرمی بیلی‌روبین در موش‌های صحرایی به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل * ($P < 0.05$).



نمودار شماره ۵- اثر اسانس گل‌های گیاه بومادران بر سطح سرمی آلبومین در موش‌های صحرایی به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل * ($P < 0.05$).



شکل شماره ۱- نمای هیستوپاتولوژیکی کبد حیوانات گروه‌های مختلف مطالعه با بزرگ نمایی $\times 400$

نمای کبد گروه شاهد سالم که ساختار آن طبیعی است (الف). نمای کبد گروه سیس‌پلاتین (شاهد مسموم) که با نکروز و ناپدید شدن سینوزوئیدها همراه است (ب). نمای کبد گروه سیس‌پلاتین و اسانس با غلظت پایین که همراه با تخریب و فاقد هسته شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان نازک)، تجمع شدید سلول التهابی و حضور سلول‌های کوپفر در سینوزوئیدها (پیکان ضخیم) بود (ج). نمای کبد گروه سیس‌پلاتین و اسانس با غلظت بالا که حضور سلول التهابی، لیز شدن و خروج هسته هپاتوسیت‌ها و قرار گرفتن دو هسته در کنار هم (پیکان نازک)، رسوب مواد فیبری در دیواره سینوزوئیدها (پیکان ضخیم) قابل رویت است (د). نمای بافت کبد گروه اسانس با غلظت پایین که همراه با تخریب دیواره سیاهرگ مرکز لوپولی، تجمع سلول کوپفر و التهابی (پیکان نازک) و تحلیل و تخریب شدن هسته هپاتوسیت‌ها (پیکان ضخیم) بود (ه). نمای بافت کبد گروه اسانس با غلظت بالا که پرخونی در سینوزوئیدها و سیاهرگ مرکز لوپولی، تجمع سلول کوپفر و التهابی (پیکان نازک)، تراکم بازوفیل اطراف سیاهرگ کبدی، تخریب و بی‌هسته شدن هپاتوسیت‌ها (پیکان ضخیم) و بزرگی بیش از حد هسته برخی هپاتوسیت‌ها و تغییر کروماتین در آن‌ها دیده می‌شود (و).

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان‌دهنده آسیب توکسیک کبد در اثر سیس‌پلاتین می‌باشد. این سم با ایجاد آسیب در غشا سلول و هپاتوسیت‌ها باعث رها شدن آنزیم‌های کبدی از جمله آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز به داخل خون می‌شود. در این مطالعه سیس‌پلاتین سبب افزایش معنی‌دار مقادیر ALT، AST، ALP و بی‌لی‌روبین نسبت به گروه شاهد سالم گردید. تغییرات معنی‌دار در مقادیر سرمی ALT، AST، LDH، بی‌لی‌روبین تام و آلبومین متعاقب تیمار با سیس‌پلاتین در مطالعات مشابه گزارش شده است [۱۸، ۱۷]. به نظر می‌رسد افزایش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، بی‌لی‌روبین و آلبومین نشان‌گر بروز اختلال در عملکرد کبد بعد از مصرف سم می‌باشد و در واقع فعالیت سموم به غلظت و زمان استفاده از آن بستگی دارد. شاید در مطالعه حاضر عامل تاثیر سیس‌پلاتین بر فاکتورهای کبدی علاوه بر مصرف طولانی مدت، اندازه‌گیری آنزیم‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق بوده که باعث حذف اثر سم نشده است. تغییرات معنی‌دار در مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی در پژوهش مهاجری و دوستار روی اثر حفاظتی عصاره الکلی کلاله زعفران در برابر سمیت کبدی سیس‌پلاتین، مطالعه El-Banna و همکاران روی اثر اسانس دو گیاه *Thymus captatus* و *Salvia officinal* در سمیت با استامینوفن در موش صحرایی، پژوهش Maheswari و همکاران روی اثر عصاره گیاه *Syzygium Cumini* L. بر سمیت ناشی از سیس‌پلاتین و مطالعه Joydeep و همکاران روی نقش حفاظتی اسانس *Nigella sativa* بر سمیت ناشی از ایزونیاژید در

موش صحرایی با تحقیق حاضر مشابه بوده است [۲۳-۱۹]: در این مطالعات استفاده از اسانس و عصاره توانسته آسیب وارد شده به غشا و هپاتوسیت‌های کبدی را کم کرده و سطح سرمی آنزیم‌های کبدی افزایش یافته در خون را کاهش دهد. بازگشت سطح افزایش یافته آنزیم‌های کبدی به مقادیر طبیعی خود توسط اسانس بومادران متعاقب آسیب ناشی از مصرف سیس‌پلاتین، احتمالاً در اثر ممانعت از نشت آنزیم‌های داخل سلولی به دلیل ایجاد پایداری در غشا سلولی از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی حاصل شده است. به نظر می‌رسد در این تحقیق تاثیر اسانس از لحاظ محافظت از کبد در برابر سمیت سیس‌پلاتین وابسته به غلظت بوده و با مصرف اسانس با غلظت 30 mg/kg نتایج مطلوب‌تری عاید گردیده است که شاید این اتفاق به این دلیل رخ داده که سیس-پلاتین به همراه اسانس با غلظت بالا حالت سینرژیک ایجاد کرده‌اند و اسانس نتوانسته سمیت را کاهش دهد و در مقابل اسانس با غلظت کمتر موفق‌تر عمل کرده است. برخلاف پژوهش حاضر نتایج مطالعه شهرکی و همکاران نشان داد که سطح سرمی آنزیم‌های کبدی با مصرف عصاره آبی کلپوره افزایش معنی‌داری داشته که خود نشان‌گر حضور ترکیباتی در عصاره گیاه می‌باشد که موجب تخریب هپاتوسیت‌ها و افزایش سطح سرمی آنزیم‌ها شده است [۲۴]. به نظر می‌رسد در این پژوهش که از دو غلظت مختلف ۳۰ و 60 mg/kg استفاده گردیده است، اسانس با غلظت بالاتر توانسته به شکل موثرتری سطح سرمی آنزیم‌های کبدی را کاهش دهد؛ پس می‌توان این اتفاق را این‌گونه تفسیر کرد که در اسانس گیاه بومادران حتی با غلظت بالا نیز وجود ترکیباتی نظیر کامفن، ۱

اسانس با غلظت بالا و سم این اتفاق رخ داده است. یافته‌های این پژوهش نشان داد که اسانس گیاه بومادران توانسته با خواص آنتی-اکسیدانی خود کبد موش‌ها را در برابر اثرات سمی سیس پلاتین محافظت کند و سطح سرمی آنزیم‌های کبدی را در برابر سیس پلاتین کاهش دهد. بنابراین با شناخت دقیق مواد موثره و اصلی اسانس این گیاه و تعیین مکانیسم‌های موثر در عملکرد آن، این اسانس می‌تواند در موارد شیمی‌درمانی با سیس پلاتین جهت پیشگیری از آسیب‌های کبدی به‌عنوان یک داروی گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی توصیه گردد. لازم به‌ذکر است چگونگی تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس و اینکه اسانس این گیاه می‌تواند عامل کاهش اثرات درمانی سیس پلاتین گردد یا نه نامعلوم بوده و نیاز به پژوهش‌های بیشتر و گسترده‌تری دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس گیاه بومادران موجب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین در برابر سمیت با سیس پلاتین می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش بخشی از رساله کارشناسی ارشد بیوشیمی در گروه زیست‌شناسی واحد فلاورجان می‌باشد. بدین وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود و همکاران را از معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان ابراز می‌دارم و از همکاری آن‌ها صمیمانه قدردانی می‌کنم.

References:

- [1] Mohajeri D, Doustar Y. The protective effect of alcoholic extract of saffron against liver toxicity of cisplatin in rat. *Med Sci J Islamic Azad Univ Tehran Med Bran* 2011; 21(4): 251-61. [in Persian]
- [2] Farooqui Z, Afsar M, Rizwan S, Ahmed Khan A, Khan F. Oral administration of *Nigella sativa* oil ameliorates the effect of cisplatin on membrane enzymes, carbohydrate metabolism and oxidative damage in rat liver. *Toxicol Rep* 2016; 3: 328-35.
- [3] Izadi Z, Sorooshzadeh A, Modarres Sanavi SA, Esna-Ashari M, Davoodi P. Investigation on antimicrobial effects of essential oil of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) and identification of its chemical compounds. *Iranian South Med J* 2014; 17(1): 58-69. [in Persian]
- [4] Amjad L, Anther Developmental Stages, Microsporogenesis, Allergy-forming Properties and Anti-allergy Plant *Achillea wilhelmsii* [Dissertation]. Tehran. Islamic Azad University, Science and Research. 2008.

و ۸ سینتول و آلفا-پینن که نقش محافظت کبدی را ایفا می‌کنند [۲۱] باعث کاهش آسیب به بافت کبد شده است. مطالعات بافت-شناسی از کبد موش‌ها نشان داد که گروه دریافت‌کننده سیس پلاتین اختلالاتی را به‌همراه داشته است که این اختلالات در مطالعات مشابه نیز مشاهده گردیده است [۲۲،۲۱]. به‌نظر می‌رسد استفاده از سموم حتی با غلظت کم و مدت زمان کوتاه نیز آسیب بافتی در سینوزوئیدها و هپاتوسیت‌های کبدی ایجاد می‌کند. در بررسی بافت کبد گروه‌های دریافت‌کننده سیس پلاتین و اسانس تغییراتی مشاهده گردید که این تغییرات نسبت به گروه شاهد مسموم وسیع‌تر بود، ضمن اینکه این تغییرات در گروه سیس پلاتین و اسانس با غلظت بالاتر بیشتر بوده است. در بررسی گیلانی و همکاران پس از استفاده از سم، عصاره گیاه با غلظت مشخص توانسته آسیب بافتی ایجاد شده توسط سم را کاهش دهد [۲۵] که باتوجه به تفاوت نتایج آن‌ها با این تحقیق به‌نظر می‌رسد در پژوهش حاضر اسانس گیاه بومادران به‌ویژه با غلظت بالا به‌همراه سم سینرژسم ایجاد کرده و اختلالات بافتی ایجاد شده توسط آن-ها نسبت به گروه شاهد مسموم بیشتر بوده است. در مطالعه کلانتری و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز نتایج مشابه مشاهده گردید و در اثر مصرف غلظت‌های مختلف عصاره به‌تنهایی، تغییرات هیستوپاتولوژیکی در بافت کبد موش‌ها به‌وجود آمد [۲۶]. باوجود اینکه اختلالاتی در بافت کبد گروه‌های دریافت‌کننده اسانس به‌تنهایی دیده شد، اما میزان آسیب بافتی وارده به گروه دریافت‌کننده سیس پلاتین و اسانس با غلظت بالا نسبت به گروه دریافت‌کننده اسانس به‌تنهایی بیشتر بود که به‌نظر می‌رسد به‌دلیل سینرژسم بین

- [5] Asgary S, Naderi GH, Sarrafzadegan N, Mohammadifard N, Mostafavi S, Vakili R. Antihypertensive and Antihyperlipidemic effect of *Achillea wilhelmsii*. *Drugs Exp Clin Res* 2000; 26(3): 89-93.
- [6] Niazmand S, Erfanian Ahmadpour M, Hajzade M, Khoshnood E. The effects of aqueous-ethanol extract of *Achillea wilhelmsii* on gastric acid secretion at basal, vagotomized and vagal-stimulated conditions. *Feyz* 2008; 12(3): 12-6. [in Persian]
- [7] Sharififar F, Pournourmohammadi S, Arabnejad M. Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Achillea wilhelmsii* C. Koch in mice. *Indian J Exp Biol* 2009; 47(8): 668-71.
- [8] Azadbakht M, Morteza-Semnani K, Khansari N. The essential oils composition of *Achillea wilhelmsii* C. Koch leaves and flowers. *J Med Plan* 2003; 2(6): 55-8. [in Persian]

- [9] Amjad L, Majd A, Fallahian F, Saadatmand S. Comparative study of allergenicity of mature and immature pollen grains of *Achillea wilhelmsii*. **Arak Univ Med Sci J** 2008; 11(2): 1-9. [in Persian]
- [10] Zargari A. Medicinal plants. Tehran: Tehran University Press; 1992. [in Persian]
- [11] Omidbeygi R. Processing of medicinal plants. Mashhad: Behnashr; 2005. [in Persian]
- [12] Ghahreman A. Flore Iran. Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands; 1989. [in Persian]
- [13] Pieroni A, Quave CL, Villanelli ML, Mangino P, Sabbatini G, Santini L, et al. Ethnopharmacognostic survey on the natural ingredients used in folk cosmetics, cosmeceuticals and remedies for healing skin diseases in the inland Marches, Central-Eastern Italy. **J Ethnopharmacol** 2004; 91(2): 331-4.
- [14] Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of *Achillea wilhelmsii* against pathogenic bacteria. **Zahedan J Res Med Sci** 2011; 13(3): 9-14. [in Persian]
- [15] Mandour MA, Al-Shami SA, Al-Eknah MM, Hussein YA, El-Ashmawy IM. The acute and long-term safety evaluation of aqueous methanolic and ethanolic extracts of *Achillea fragrantissima*. **Afr J Pharm Pharmacol** 2013; 7(32): 2282-90.
- [16] Habibi E, Shokrzadeh M, Chabra A, Naghshvar F, Keshavarz-Maleki R, Ahmadi A. Protective effects of *Origanum vulgare* ethanol extract against cyclophosphamide-induced liver toxicity in mice. **Pharm Biol** 2015; 53(1): 10-15.
- [17] Moshtaghi AA. Clinical Biochemistry blood and urine. Tehran: Chahar; 1990. [in Persian]
- [18] Aragon G, Younossi ZM. When and how to evaluate mildly elevated liver enzymes in apparently healthy patients. **Cleavel Clin J Med** 2010; 77(3): 195-204.
- [19] Mohajeri D, Doustar Y, Mousavi G. Protective and antioxidant activities of turnip root ethanolic extract against cisplatin induced hepatotoxicity in rats. **Zahedan J Res Med Sci** 2012; 13(9): 8-15. [in Persian]
- [20] Yousef MI, Saad AA, El-Shennawy LK. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. **Food Chem Toxicol** 2009; 47(6): 1176-83.
- [21] El-Banna H, Soliman M, Al-wabel N. Hepatoprotective effects of *Thymus* and *Salvia* essential oil on paracetamol-induced toxicity in rats. **J Phy Pharm Adv** 2013; 3(2): 41-7.
- [22] Maheswari R, Manohari S. *Syzygium cumini* (L.) seeds extract ameliorates cisplatin induced hepatotoxicity in male wistar rats. **Int J Pharm Sci Res** 2015; 6(2): 444-50.
- [23] Joydeep P, Nasiruddin M, Ali Khan R, Saydeul HA. Protective role of *Nigella sativa* oil in isoniazid induced hepatotoxicity in rats. **Eur J Pharm Med Res** 2016; 3(10): 307-312.
- [24] Shahraki MR, Miri Moghadam E, Palan MJ, Mirshekari H, Shahraki E. The survey of *Teucrium Polium* toxicity effect on liver and serum lipoproteins in normoglycemic male rats. **Zahedan J Res Med Sci** 2006; 8(3): 227-32.
- [25] Gilani AH, Janbaz KH. Protective effect of *Artemisia scoparia* extract against acetaminophen-induced hepatotoxicity. **General Pharmacol Vascular System** 1993; 24(6): 1455-1458.
- [26] Kalantari H, Galehdari H, Zaree Z, Gesztelyi R, Varga B, Haines D, et al. Toxicological and mutagenic analysis of *Artemisia dracunculus* extract. **Food Chem Toxicol** 2013; 51: 26-32.