Evaluating the effect of curcumin on Thioacetamide -induced liver in maturemale rats

Solmaz Shahsavan[1], Seyed Ebrahim Hosseini[2]

Background and Aim: The metabolism of many drugs and toxins is done in the liver and active metabolites are created during the metabolism of these substances which many of them cause liver toxicity. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of curcumin on liver toxicity induced by Thioacetamide in adult male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 48mature female rats were divided into 6 groups including control, sham and 4 experimental groups receiving Thioacetamide (50mg/kg), Thioacetamide plus curcumin30 and 120, 60 mg/kg. In this study, Thioacetamide and curcumin were administered as intraperitoneally in 21 consecutive days. At the end, the activity of enzymes such as alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, and were measured and liver structure of the animals was investigated. The results were analyzed by ANOVA and Duncan tests at a significant level of $p \leq 0.05$.

Results: The results of this study showed that Thioacetamide significantly increased the activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase enzymes at the level of $p \leq 0.05$ compared to the control group and increased the lymphocyte invasion around the portal of the triad and tissue degradation of the liver. However, curcumin in different doses significantly reduced the activity of these enzymes and improved the liver tissue structure at the level of $p \leq 0.05$ compared to the group receiving Thioacetamide.

Conclusion: The results of this study showed that Thioacetamide may increase the activity of transaminases and damage the liver tissue structure by producing oxidative stress, while the use of curcumin with thioacetamide simultaneously probably reduces the activity of transaminases and improves tissue structure due to the antioxidant properties of curcumin.

Key Words: Curcumin, Thioacetamide, Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Alkaline phosphatase, Rat

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2018; 25(2): 94-103.

Received: March 5, 2018 Accepted: May 28, 2018

[1] *MS, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University Shiraz ,Iran*

[2] ***Corresponding Author;*** *Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran ebrahim.hossini@yahoo.com*

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی اثرات کورکومین بر روی نارسایی کبدی القا شده با تیواستامید در موش‌های صحرایی نر

سولماز شاهسون[1]، سید ابراهیم حسینی[2]

چکیده

زمینه و هدف: در جریان متابولیسم بسیاری از داروها و سموم در کبد، متابولیت‌های فعّالی ایجاد می‌شوند که بسیاری از آنها باعث ایجاد مسمومیت کبدی می‌گردند. این مطالعه با هدف بررسی اثر کورکومین بر مسمومیّت کبدی ناشی از تیواستامید در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام گردید.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، از ۴۸ سر موش صحرایی ماده بالغ که به ۶گروه شامل گروه‌های: کنترل، شاهد، ۴ دسته تجربی دریافت‌کننده تیواستامید (۵۰mg/kg) به‌تنهایی و تیواستامید به‌همراه کورکومین با دوزهای ۳۰mg/kg، ۶۰mg/kg و ۱۲۰mg/kg تقسیم شدند. در این بررسی کلیه تجویزها برای مدت ۲۱ روز و به‌صورت درون صفاقی انجام گردید. در پایان، سطح سرمی آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز اندازه‌گیری و ساختار بافتی کبد حیوانات بررسی گردید. داده‌ها از طریق آزمون‌های آماری ANOVA و دانکن، در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیواستامید باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز در سطح $P\leq ۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل و همچنین هجوم لنفوسیتی اطراف پورتال تریاد و تخریب بافتی کبد شد؛ در حالی که کورکومین در دوزهای مختلف باعث کاهش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم‌های بیان‌شده در سطح $P\leq ۰/۰۵$ و بهبود ساختار بافتی کبد نسبت به گروه دریافت‌کننده تیواستامید گردید.

نتیجه‌گیری: تیواستامید احتمالاً از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو باعث افزایش سطح سرمی ترانس‌آمینازها و آسیب به ساختار بافتی کبد می‌گردد؛ در حالی که مصرف همزمان کورکومین با تیواستامید احتمالاً به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی کورکومین، باعث کاهش فعالیت ترانس‌آمینازها و بهبود ساختار بافتی کبد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کورکومین، تیواستامید، آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز، موش صحرایی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۷؛ ۲۵(۲): ۹۴-۱۰۳.

دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۸

[1] دانش‌آموخته گروه آموزشی زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

[2] نویسنده مسئول؛ دانشیار، گروه آموزشی زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

آدرس: شیراز- کیلومتر ۵ جاده صدرا- پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز

تلفن: ۰۹۱۷۱۱۸۳۹۱۷ نمابر: ۰۷۱۴۳۳۱۱۱۷۲ پست الکترونیکی: ebrahim.hossini@yahoo.com

مقدمه

تیواستامید، مادّه‌ای با فرمول شیمیایی C_2H_5NS، به‌صورت پودر سفید و با بوی ملایمی از مرکاپتان است. این ماده در آب و اتانول به‌خوبی قابل حل است و از تجزیه آن گازهای سمّی اکسیدهای نیتروژن و سولفور آزاد می‌شوند. این ترکیب به‌عنوان یک مادّه ضدّ قارچ و یکی از آنالوگ‌های ساختاری استامینیوفن می‌باشد که دارای خواص اکسیدکننده قوی است که توسط آنزیم cytP450B موجود در میکروزوم‌های کبدی به متابولیت فعال و سمّی تیواستامید اکسید می‌شود (۱). تیواستامید، یک سم کبدی قوی می‌باشد که پس از ورود به بدن، مشابه بسیاری از مواد از جمله: استامینوفن، برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، اتانول و تتراکلریدکربن باعث آسیب بافتی کبد می‌شود و توسط آنزیم‌های سیستم سم‌زدایی سیتوکروم P450 متابولیزه می‌شود (۲). از سم تیواستامید برای القای سیروز کبدی و آنسفالوپاتی هپاتیک حاد استفاده می‌شود؛ به‌طوری که نتایج یک بررسی نشان داد که تیواستامید موجب مرگ سلولی، نکروز و آپوپتوز در سلول‌های کبدی می‌گردد (۳). تیواستامید یک سم کبدی است و با اثر بر روی سنتز DNA، RNA، پروتئین و محتوای گلوتاتیون باعث تغییرات ساختاری و عملکردی در اندام کبد می‌شود (۲).

کبد بزرگترین غدّه و اندام بدن بعد از پوست است که دارای انواعی از فعالیت‌های بیوشیمیایی، سنتتیک و دفعی است. آزمون‌های بیوشیمیایی متعددی که غالباً تست‌های عملکرد کبدی نامیده می‌شوند، برای تشخیص اولیه و مدیریت بیماری‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این تست‌ها شامل: سنجش سطوح سرمی مارکرهای بیوشمیایی از قبیل: آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز (GGT)، بیلی‌روبین توتال و بیلی‌روبین کونژوگه یا مستقیم، آلبومین و Prothrombintime می‌باشند (۴).

کورکومین، ترکیب اصلی و فعال گیاه زردچوبه، رنگدانه فنولیک زردرنگی است که دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی و فارماکولوژیکی می‌باشد و با داشتن خواص آنتی‌اکسیدان، یکی از قوی‌ترین تصفیه‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد می‌باشد که قادر است از تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive OxygenSpecies-ROS) در محیط‌های Invivo و Invitro جلوگیری نماید (۵). کورکومین یا دی‌فرولیل متان ($C_{12}H_{20}O_6$)، به‌صورت خالص، پودری کریستالی و نامحلول در آب بوده و به‌راحتی در حلال‌هایی مانند: استون، اتانول و متانول حل می‌شود و یک ترکیب پلی‌فنولیک هیدروفوب مشتق‌شده از ریزوم گیاه زردچوبه است که رنگ زرد مناسبی دارد و در صنایع غذایی به‌عنوان عامل رنگ‌دهنده از آن استفاده می‌شود (۶).

مصرف وابسته به دوز کورکومین، موجب کاهش استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش پروتئین‌های ضدّ آپوپتوزیس در اسپرم منجمد- یخ‌گشایی می‌شود (۷). کورکومین ضمن داشتن خواص ضدّ التهابی، ضدّ ویروسی، ضدّ باکتریایی،ضدّ قارچی و ضدّ سرطانی، موجب بهبود آلزایمر، پارکینسون، صرع، ایسکمی مغزی و افسردگی شده و همچنین آسیب‌های مغزی ناشی از سکته مغزی را کاهش می‌دهد (۸). نشان داده شده است که انجام هشت هفته تمرین تناوبی با شدّت متوسط به همراه مصرف کورکومین، موجب کاهش معنی‌دار عوامل التهابی و افزایش بیان ژن فاکتور نوتروفیک مشتق از مغز می‌گردد (۹). اثرات ضدّ سرطانی کورکومین در رده‌های سلولی سرطان پستان، تخمدان، کولون، کبد، لوسمی، پانکراس و پروستات بررسی گردیده و مشخص شده است که با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدّ سرطانی، ضدّ التهابی و آپوپتوزی قادر است هر سه مرحله سرطان یعنی القا، شروع و پیشرفت آن را تحت تأثیر قرار دهد (۱۰). کورکومین با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه، باعث کاهش رادیکال‌های آزاد، مهار پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می‌شود (۱۱). همچنین در یک بررسی مشخص شد

که کورکومین می‌تواند از بروز تغییرات نامطلوب مارکرهای بیوشیمیایی خون به‌دنبال تزریق مادّه سمی سایپرمترین در موش‌ها جلوگیری نموده و به‌طور مؤثّری از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های کبد، کلیه و مغز جلوگیری نماید؛ همچنین اثرات محافظت‌کنندگی کورکومین در مدل تجربی التهاب و سمیّت قلبی نیز از طریق مهار پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی بافتی نیز مورد تأیید قرار گرفته است (۱۲). کورکومین موجود در زردچوبه، نسبت به ویتامین C و ویتامین E، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری است و به‌دلیل مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد، به‌عنوان مادّه‌ای با ویژگی آنتی‌اکسیدانی بالا شهرت دارد (۱۳).

با توجه به مصرف روزافزون استامینوفن و داروهای آنالوگ آن از جمله تیواستامید که دارای عوارض جانبی بسیاری در اندام‌های مختلف بدن از جمله کبد می‌باشند و از سوی دیگر با توجه به شیوع اختلالات کبدی و بیماری‌های ناشی از آن در سراسر دنیا، این مطالعه با هدف بررسی اثر کورکومین بر روی نارسایی کبدی و تغییرات بافتی القاشده با تیواستامید و میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام گردید.

روش تحقیق

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. در این مطالعه، از ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۵–۱۹۰ گرم و سن ۱۰۰–۹۵ روز که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده بودند، استفاده گردید. در طول دوره تجویز، همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخوردار بودند و در یک اتاق مخصوص در دمای ۲±۲۲ درجه سلسیوس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند؛ آب و غذا نیز به‌میزان کافی در اختیار آنها قرار گرفت.

در این بررسی، نمونه‌ها به ۶گروه ۸تایی شامل گروه‌های: کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (تیمار با حلال دارو) و ۴ دسته تجربی دریافت‌کننده دوز ۵۰mg/kg داروی تیواستامید (۱۴) و دریافت‌کننده دوز ۵۰mg/kg داروی تیواستامید به‌همراه دوزهای ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰mg/kg داروی کورکومین تقسیم شدند (۹، ۲۰). در این مطالعه کلیه تجویزها به‌صورت درون صفاقی و برای مدت ۳ هفته انجام گردید. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه با شماره IR.miau139622441 به تصویب رسید. داروهای تیواستامید و کورکومین استفاده‌شده در این بررسی، از شرکت مرک آلمان تهیه گردیدند.

در این مطالعه برای سنجش میزان سرمی آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز، پس از بی‌هوش‌نمودن موش‌ها به‌وسیله اتر، با استفاده از سرنگ انسولینی از قلب آنها خون‌گیری به عمل آمد. خون گرفته‌شده از حیوانات، به‌منظور انعقاد به‌مدت ۱۵دقیقه در دستگاه انکوباتور در دمای ۳۷درجه سانتیگراد قرار داده شد؛ سپس به‌مدّت ۱۵دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. همچنین در این مطالعه پس از خونگیری از قلب حیوانات، کبد هر حیوان خارج و پس از حذف تمام بافت‌های اضافی، در ظرف‌های حاوی تثبیت‌کننده فرمالین ۱۰درصد قرار داده شد تا برای تهیه بافت و مقطع‌گیری آماده شوند. سپس به‌منظور بررسی ساختار بافتی کبد و برای تهیه مقاطع بافتی به‌ترتیب مراحل: آب‌گیری توسط اتانول، شفاف‌سازی با الکل گزیلول و قالب‌گیری انجام گردید. ابتدا با کمک دستگاه میکروتوم دوار (LEIYZ استرالیا مدل ۱۵۱۲)، مقاطع بافتی با ضخامت ۵میکرون تهیه شد. مقاطع تهیه‌شده بر روی لام آغشته به چسب Eggalbumen منتقل و برای خشک‌شدن بر روی پلیت داغ با دمای ۳۰درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد،

مقاطع تهیه‌شده با استفاده از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین رنگ‌آمیزی گردید. پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی آنها، با کمک میکروسکوپ نیکون ساخت کشور ژاپن، اقدام به بررسی ساختار بافتی کبد گردید. در این مطالعه برای اندازه‌گیری میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز و آلانین‌آمینوترانسفراز، از روش فتومتریک و از کیت شرکت پارس‌آزمون استفاده گردید.

در نهایت داده‌های به‌دست آمده از مطالعات سرولوژیک و هیستولوژیک، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۲۰) و با کمک آزمون‌های ANOVA و دانکن، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و معنی‌داربودن اختلاف داده‌ها در سطح $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

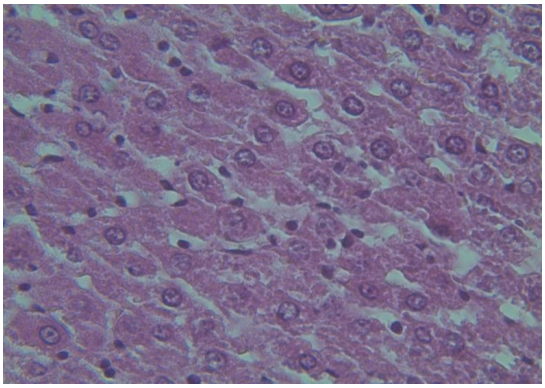
نتایج به‌دست آمده از آنالیز داده‌های این مطالعه نشان داد که داروی تیواستامید باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز ($P<0/001$)، آلانین‌آمینوترانسفراز ($P<0/01$) و آلکالین‌فسفاتاز ($P<0/001$) نسبت به حیوانات گروه کنترل گردید. همچنین نتایج این بررسی نشان داد که تجویز داروی تیواستامید همراه با داروی کورکومین با دوز ۳۰mg/kg، باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز ($P<0/01$)، آلانین‌آمینوترانسفراز ($P<0/05$) و آلکالین‌فسفاتاز ($P<0/01$) نسبت به حیوانات گروه کنترل شد؛ همچنین باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز ($P<0/01$)، آلانین‌آمینوترانسفراز ($P<0/05$) و آلکالین‌فسفاتاز ($P<0/001$) نسبت به حیوانات دریافت‌کننده داروی تیواستامید به‌تنهایی نیز گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز داروی تیواستامید همراه با داروی کورکومین با دوز ۶۰mg/kg، باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز ($P<0/05$) و آلکالین‌فسفاتاز ($P<0/01$) نسبت به حیوانات گروه کنترل شد؛ به‌علاوه باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز ($P<0/001$)، آلانین‌آمینوترانسفراز ($P<0/01$) و آلکالین‌فسفاتاز ($P<0/001$) نسبت به حیوانات دریافت‌کننده داروی تیواستامید به‌تنهایی نیز گردید. به‌علاوه نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز داروی تیواستامید همراه با داروی کورکومین با دوز ۱۲۰mg/kg، باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز ($P<0/05$)، آلانین‌آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز ($P<0/01$) نسبت به حیوانات گروه کنترل شد؛ همچنین باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز ($P<0/001$)، آلانین‌آمینوترانسفراز ($P<0/01$) و آلکالین‌فسفاتاز ($P<0/001$) نسبت به حیوانات دریافت‌کننده داروی تیواستامید به‌تنهایی نیز گردید (جدول ۱).

جـدول ۱- میزان سرمی آنزیم‌های ALP، ALT و AST در حیوانات گروه‌های مختلف (خطای معیار میانگین±میانگین)

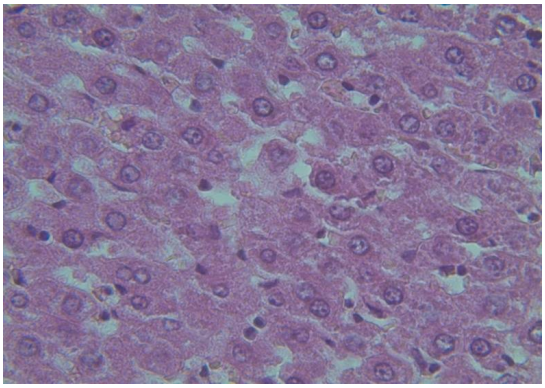
گروه‌ها	آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST)	آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)	آلکالین‌فسفاتاز (ALP)
کنترل	۹۵/۱۱±۴/۱۰	۷۰/۱۷±۱/۰۵	۲۲۰/۸۲±۴/۱۲
شاهد	۹۰/۶۱±۴/۴۰	۷۵/۴۷±۲/۴۲	۲۱۵/۵۲±۴/۶۵
تجربی ۱ (تیواستامید با دوز ۵۰mg/kg)	۲۸۰/۴۵±۴/۸۸***	۱۱۵/۳۱±۲/۱۳**	۶۸۰/۲۲±۳/۲۴ ***
تجربی ۲ (تیواستامید با دوز ۵۰mg/kg+کورکومین ۳۰mg/kg)	۱۸۰/۱۷±۳/۶۱۰**##	۹۰/۵۷±۳/۲۸#*	۳۵۰/۱۱±۲/۱۲***###
تجربی ۳ (تیواستامید با دوز ۵۰mg/kg+کورکومین ۶۰mg/kg)	۱۴۰/۲۲±۳/۷۵*###	۸۰/۲۵±۱/۲۹##	۳۴۰/۲۵±۳/۹۲**###
تجربی ۴ (تیواستامید با دوز ۵۰mg/kg+کورکومین ۱۲۰mg/kg)	۱۴۰/۲۵±۳/۸۶*###	۸۰/۷۶±۲/۴۵##	۳۰۰/۵۵±۴/۰۹**###

***: نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.
**: نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.
*: نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.
#: نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ نسبت به گروه تجربی ۱ می‌باشد.
##: نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ نسبت به گروه تجربی ۱ می‌باشد.
###: نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱ نسبت به گروه تجربی ۱ می‌باشد.

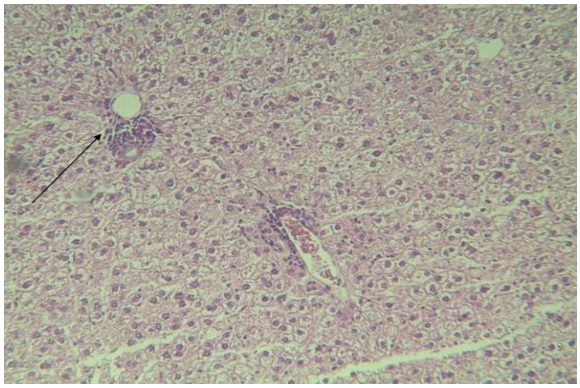
فتومیکروگراف بافت کبد در حیوانات گروه‌های کنترل و شاهد نشان داد که هپاتوسیت‌ها شکل طبیعی خود را حفظ کرده و فاقد ارتشاح لنفوسیتی و تخریب بافتی بودند (شکل‌های ۱ و ۲)؛ همچنین فتومیکروگراف بافت کبد در حیوانات گروه دریافت‌کننده تیواستامید به‌تنهایی نشان‌دهنده هجوم لنفوسیتی اطراف پورتال تریاد و تخریب بافتی کبد بود (شکل ۳)؛ به‌علاوه فتومیکروگراف بافت کبد در حیوانات دریافت‌کننده داروی تیواستامید به‌همراه کورکومین با دوز ۳۰mg/kg نشان‌دهنده تغییرات هیدروپیک سیتوپلاسم اکثر سلول‌های هپاتوسیتی بود (شکل ۴).



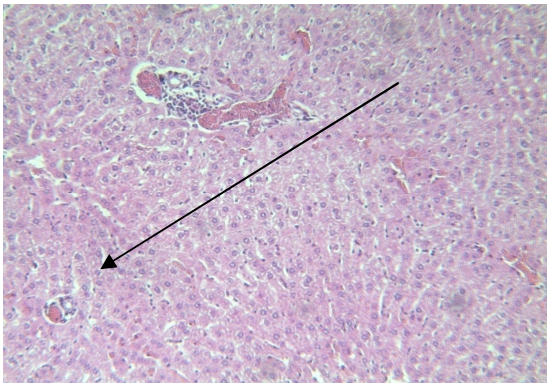
شکل ۱- فتومیکروگراف‌های بافت کبد در حیوانات گروه کنترل با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین با درشت‌نمایی ۴۰۰. چنانچه در شکل مشاهده می‌شود، هپاتوسیت‌ها شکل طبیعی خود را حفظ کرده‌اند و هیچ‌گونه ارتشاح لنفوسیتی و تخریب بافتی مشاهده نمی‌گردد.



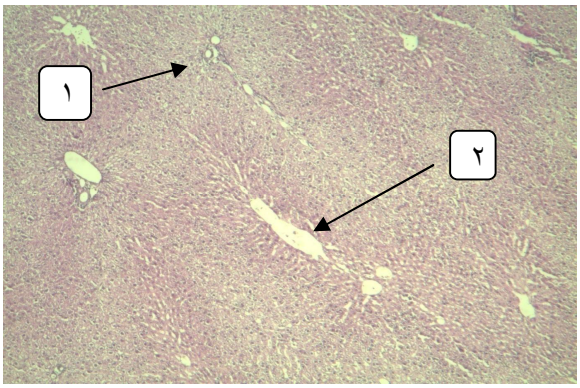
شکل ۲- فتومیکروگراف‌های بافت کبد در حیوانات گروه شاهد با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین با درشت‌نمایی ۴۰۰. چنانچه در شکل نشان داده می‌شود، شکل سلول‌ها طبیعی می‌باشند و هیچ‌گونه تغییرات بافتی مشاهده نمی‌گردد.



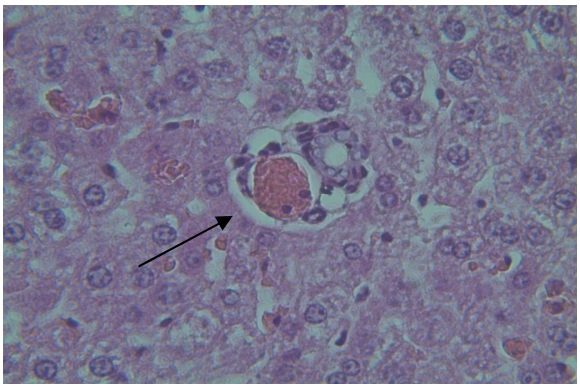
شکل ۳- فتومیکروگراف‌های بافت کبد در حیوانات گروه دریافت‌کننده تیواستامید با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و با درشت‌نمایی ۴۰۰. چنانچه در شکل مشاهده می‌شود، تغییرات بافتی و هجوم لنفوسیتی در اطراف پورتال تریاد دیده می‌شود که با فلش نشان داده شده است.



شکل ۴- فتومیکروگراف‌های بافت کبد در حیوانات گروه دریافت‌کننده تیواستامید همراه با دوز ۳۰mg/kg کورکومین با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و با درشت‌نمایی ۴۰۰. چنانچه در شکل مشاهده می‌شود، تغییرات هیدروپیک سیتوپلاسم در اکثر سلول‌های هپاتوسیتی دیده می‌شود که با فلش نشان داده شده است.



شکل ۵- فتومیکروگراف‌های بافت کبد در حیوانات گروه دریافت‌کننده تیواستامید همراه با دوز ۶۰mg/kg کورکومین با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و با درشت‌نمایی ۴۰۰. چنانچه در شکل مشاهده می‌شود، فضای اطراف پورتال تریاد با شفافیت بیشتر سیتوپلاسم (تغییرات هیدروپیک) (فلش ۱) و کاهش تغییرات هیدروپیک و شفافیت سیتوپلاسم اطراف ورید مرکزی (فلش ۲) دیده می‌شود.



شکل ۴- فتومیکروگراف‌های بافت کبد در حیوانات گروه دریافت‌کننده تیواستامید همراه با دوز ۱۲۰mg/kg کورکومین با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و با درشت‌نمایی ۴۰۰. در شکل، کاهش چشمگیر تغییرات هیدروپیک سیتوپلاسم اکثر سلول‌های هپاتوسیتی مشاهده می‌شود که با فلش نشان داده شده است.

همچنین فتومیکروگراف بافت کبد در حیوانات گروه دریافت‌کننده داروی تیواستامید به‌همراه کورکومین با دوز ۶۰mg/kg، نشان‌دهنده شفافیت بیشتر سیتوپلاسم (تغییرات هیدروپیک) فضای اطراف پورتال تریاد و کاهش تغییرات هیدروپیک و شفافیت سیتوپلاسم اطراف ورید مرکزی بود (شکل ۵). به‌علاوه فتومیکروگراف بافت کبد حیوانات گروه دریافت‌کننده داروی تیواستامید به‌همراه کورکومین با دوز ۱۲۰mg/kg، نشان‌دهنده کاهش چشمگیر تغییرات هیدروپیک سیتوپلاسم اکثر سلول‌های هپاتوسیتی بود (شکل ۶).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تیواستامید با آسیب به ساختار بافتی کبد باعث افزایش میزان سرمی آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز می‌گردد و تیمار با کورکومین از طریق بهبود ساختار بافتی کبد، باعث کاهش میزان سرمی ترانس‌آمینازهای بیان‌شده می‌شود. تیواستامید علاوه بر اینکه یک سم کبدی است، یک ماده پیش‌سرطان‌زا نیز می‌باشد که توسط آنزیم‌های P450 موجود در میکروزوم‌های کبدی متابولیزه می‌شود و در اثر اکسیداسیون به تیواستامید S-اکسید تبدیل می‌گردد و تیواستامید S-اکسید، ایجاد استرس اکسیداتیو کرده و موجب آسیب سلول‌های کبدی و آپوپتوز و در نهایت نکروز این سلول‌ها می‌شود (۳) که در نتیجه با تخریب ساختار بافتی کبد، باعث افزایش میزان سرمی آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز می‌گردد.

همسو با نتایج این مطالعه، مطالعه زمانی و همکاران نشان داد که افزایش میزان سرمی آنزیم‌های ترانس‌آمیناز و آسیب بافتی کبد در حیوانات تحت تیمار با تیواستامید، با مصرف عصاره ریزوم زنجبیل کاهش می‌یابد (۱۵). بنابراین با توجه به اینکه کورکومین مادّه اصلی گیاه زردچوبه از خانواده گیاه زنجبیل است (۸)، همانند زنجبیل قادر است با بهبود ساختار بافتی کبد، باعث کاهش فعالیت ترانس‌آمینازی کبدی شود. محققین معتقدند که کورکومین به‌دلیل داشتن حلقه فنولی و بخش β-دی‌کتونی بر روی یک مولکول، یک ترکیب آنتی‌اکسیدان منحصر به فردی است که از طریق به دام‌اندازی و پایدارکردن انواع رادیکال‌های آزاد به‌ویژه

رادیکال‌های پراکسیل چربی، می‌تواند از گسترش اکسیداسیون جلوگیری نماید و بدین طریق مانع تخریب بافتی شود (۱۶). سطوح افزایش‌یافته ترانس‌آمینازهای بیان‌شده در حیوانات تحت تیمار با تیواستامید، حاکی از نشت سلولی بوده و نشان‌گر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد به‌دلیل استرس اکسیداتیو است (۱۷).

مطالعه کبیری و همکاران نشان داد، تیواستامید در موش‌های صحرایی باعث افزایش سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلانین‌ترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز، لاکتات‌دهیدروژناز و بیلی‌روبین‌توتال و تغییرات هیستوپاتولوژیک سلول‌های کبدی که شامل افزایش میتوز و آپوپتوز می‌باشد، می‌گردد (۱۸). مطالعه محمدپور ذهاب و همکاران نشان داد که تیواستامید باعث افزایش میزان سرمی ترانس‌آمینازها و مالون‌دی‌آلدئید و نیز نکروز و تجمع چربی در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی و در نهایت تخریب آنها می‌شود (۱۹).

نتایج مطالعه کیاسالاری و همکاران نشان داد که پیش‌تیمار موش‌های صرعی‌شده با کورکومین دارای خاصیت ضدّ تشنجی بوده، موجب کاهش پروتئین پیش‌برنده آپوپتوز (Bax) شده و منجر به افزایش پروتئین آنتی‌آپوپتیک Bcl2 می‌گردد (۲۰). بنابراین در پژوهش حاضر نیز بهبود ساختار بافتی و کاهش میزان سرمی ترانس‌آمینازهای کبدی در موش‌های تحت تیمار با کورکومین را احتمالاً می‌توان به توان ضدّ آپوپتیک آن نسبت داد. همچنین نشان داده شده است که نقص در عملکرد کبد، با افزایش سطوح آنزیم‌های آلانین‌ترانسفراز و آسپارتات‌آمینوترانسفراز همراه است (۲۱). با توجه به آنکه اثرات آنتی‌اکسیدانی کورکومین در غیرفعال‌کردن رادیکال‌های آزاد توسط محققان تأیید شده است (۱۰)، مطالعه Manikandan و همکاران نشان داد که از کورکومین می‌توان به‌عنوان یک مادّه آنتی‌اکسیدانی قوی در برابر استرس‌های اکسیداتیو و اثرات ناشی از آن استفاده کرد (۱۳). بنابراین بهبود ساختار بافتی کبد و کاهش میزان فعالیت ترانس‌آمینازهای آلانین‌ترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز در حیوانات تحت تیمار با کورکومین را می‌توان به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داد. همسو با نتایج این بررسی، در مطالعه Ahamed و Siddiqui نشان داده شد که کورکومین یک ماده غذایی با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی محسوب شده و نقش مهمی در مهار اثرات ناشی از سمیّت سرب داشته و می‌تواند آن را مهار کند (۲۲). نتایج مطالعه مروتی و همکاران نشان داد که کورکومین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، اثر محافظتی بر بافت کبد دارد و می‌تواند تغییرات حاصل از آدرنالکتومی در بافت کبد را کاهش دهد (۲۳).

نشان داده شده است که تجویز استامینوفن به‌عنوان آنالوگ تیواستامید، باعث افزایش سطح مارکرهای بیوشیمیایی اوره و کراتینین در پلاسما و پراکسیداسیون لیپیدها در کلیه و همچنین منجر به کاهش میزان سرمی آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بافت کلیوی می‌گردد و استفاده از کورکومین باعث کاهش غلظت اوره، کراتینین و لیپید پراکسیداسیون و افزایش میزان سرمی آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید می‌شود. بنابراین کورکومین می‌تواند عامل حفاظتی قدرتمندی در برابر تغییرات بیوشیمیایی و آسیب اکسیداتیو ناشی از مواجهه با دوز حاد استامینوفن در موش صحرایی شود (۲۴). گزارش شده است که کورکومین در شرایط استرس اکسیداتیو، اثر محافظتی بر پراکسیداسیون لیپیدی در کبد موش‌های صحرایی دارد و به‌عنوان جمع‌آوری‌کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزاینده گلوتاتیون داخل سلولی عمل می‌کند و از این طریق موجب تخفیف آسیب کبدی القاشده توسط سدیم آرسنیت می‌شود (۲۵). با توجه به اینکه کورکومین دارای خاصیت ضدّ التهابی است (۹)، بنابراین در پژوهش حاضر نیز کاهش آسیب بافتی کبد و همچنین کاهش میزان فعالیت ترانس‌آمینازهای کبدی در حیوانات تحت تیمار همزمان تیواستامید با کورکومین را می‌توان به ویژگی‌های ضدّ التهابی و قدرت آنتی‌اکسیدانی و

حذف رادیکال‌های آزاد کورکومین نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تیواستامید احتمالاً از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب به ساختار بافتی کبد، باعث افزایش میزان فعالیت ترانس‌آمینازهای آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز می‌گردد؛ در حالی که مصرف همزمان کورکومین با تیواستامید احتمالاً به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی کورکومین و بهبود ساختار بافتی کبد، باعث کاهش فعالیت ترانس‌آمینازها می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم سولماز شاهسون، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی شیراز می‌باشد. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز که امکانات لازم برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند، تقدیر و تشکر نمایند.

منابع:

1- Bruck R, Shirin H, Aeed H, Matas Z, Hochman A, Pines M, et al. Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers. J Hepatol. 2001 Oct; 35(4): 457-64.

2- Ahmad A, Pillai KK, Najmi AK, Ahmad SJ, Pal SN, Balani DK. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. J Ethnopharmacol. 2002 Jan; 79(1): 35-41.

3- Kim KH, Bae JH, Cha SW, Han SS, Park KH, Jeong TC. Role of metabolic activation by cytochrome P450 in thioacetamide-induced suppression of antibody response in male BALB/c mice. Toxicol Lett. 2000 Apr 3; 114(1-3): 225-35.

4- Thapa BR, WaliaA. Liver function tests and their interpretation. Indian J Pediatr. 2007 Jul; 74(7): 663-71.

5- El-Wakf AM, Elhabiby ESM, El-kholy WM, El-Ghany EA. Use of Tumeric and Curcumin to Alleviate Adverse Reproductive Outcomes of Water Nitrate Pollution in Male Rats. Nature & Science. 2011; 9(7): 229-39.

6- Jayaprakasha GK, Jaganmohan LJ, Sakariah KK. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. Food Chem. 2006; 98(4): 720-4.

7-Vafa T S, Emadi M, Sadoughi SD. Effect of Curcumin on Bax, Bcl-2, Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation of Sperm after Freezing Procedure. J Ardabil Univ Med Sci. 2018; 18(1): 120-30. [Persian]

8- Aggarwal BB, Surh YJ, Shishodia S. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. New York: Spring.Sci.+Busi.Media; 2007; Vol 587. pp: 197-213.

9- SalimiAvansar M. The Effects of Eight Weeks Interval Training and Curcumin Consumption on TNF-α and BDNF Levels in Men with Metabolic Syndrome. J Ardabil Univ Med Sci. 2017; 17(3): 299-310. [Persian]

10- Varalakshmi Ch, Ali AM, Pardhasaradhi BV, Srivastava RM, Singh S, Khar A. Immunomodulatory effects of curcumin: in-vivo. Int Immunopharmacol. 2008 May; 8(5): 688-700.

11-Ataie A, Sabetkasaei M, Haghparast A, Moghaddam AH, Ataee R, Moghaddam SN. Curcumin exerts neuroprotective effects against homocysteine intracerebroventricular injection-induced cognitive impairment and oxidative stress in rat brain. J Med Food. 2010 Aug; 13(4): 821-6.

12- Sankar P, Telang AG, Manimaran A. Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. Exp Toxicol Pathol. 2012 Jul; 64(5): 487-93.

13- Manikandan P, Sumitra M, Aishwarya S, Manohar BM, Lokanadam B, Puvanakrishnan R. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. Int J Biochem Cell Biol. 2004 Oct; 36(10): 1967-80.

14- Zamani N, Naghsh N, Fathpoor H. Hydroalcoholic Effect of Camphor Extract on Activity of Liver Enzyme and Tissue Liver of Syrian Male Mice Poisoned with Thioacetamide. J Mazandaran Univ Med Sci. 2013; 23 (Supple 1): 116-23. [Persian]

15- Zamani N, Naghsh N, Fathpour H. Effect of Silver nanoparticles and hydroalcholic extract of Ginger and Camphor on liver tissue and enzymes. Feyz. 2013; 16(7): 641-2. [Persian]

16- Wang F, Huang W. Determination of curcumin by its quenching effect on the fluorescence of Eu3+-tryptophan complex. J Pharm Biomed Anal. 2007 Jan 4; 43(1): 393-8.

17- Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. Gastroenterology. 2005 Jan; 128(1): 24-32.

18- Kabiri N, Ahangar Darabi M, Mahzooni P. Effect of Kombucha tea on rat liver histophatological alterations due to Thioacetamide. J Gorgan Univ Med Sci. 2013; 15(4): 35-41. [Persian]

19- Mohammadpour-Zehab M, Shariati F, Jamshidian A, Hajinezhad MR. Effects of Prosopis Farcta Hydro-Alcoholic Seed Extract on Thioacetamide-Induced Acute Liver Toxicity in Rats. J Isfahan Med Sch. 2017; 35(421): 216-221.

20- Kiasalari Z, Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Abdolrazaghnezhad A. Involvement of Bax and Bcl2 in Neuroprotective Effect of Curcumin in Kainic Acid-Induced Model of Temporal Lobe Epilepsy in Male Rat. J Ardabil Univ Med Sci. 2016; 16(1): 32-40. [Persian]

21- Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, Saremi A, Pratley RE, Bogardus C, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. Diabetes. 2002 Jun; 51(6): 1889-95.

22- Ahamed M, Siddiqui MK. Environmental lead toxicity and nutritional factors. Clin Nutr. 2007; 26(4): 400-8.

23- Morovvati H, Najafzadeh H, Azizian H. Evaluation of Effect of Curcumin on Changes of Liver in Adrenalectomised Rats. JBabol Univ Med Sci. 2013; 15(3): 59-64. [Persian]

24- Zargari M, Ahmadi S, Shabani S, Mahrooz A. Protective Effect of Curcumin on the Superoxide Dismutase and Catalase Activity in Kidney of Acetaminophen-exposed Rats. J Mazandaran Univ Med Sci. 2013; 22(97): 74-83. [Persian]

25- Shen SQ, Zhang Y, Xiang JJ, Xiong CL. Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. World J Gastroenterol. 2007 Apr 7; 13(13): 1953-61.