Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Effect of *Melissa officinalis* extract and Diazinon interaction on liver tissue and its enzymes alteration in male rats

Sima Nasri[1]*, Fatemeh Shahi Sadrabadi[1], Mohsen Naseri[2], Sara Abbasi[1]

ABSTRACT

Background and Aims: Diazinon is an organophosphorus poison and insecticide that negatively affects the environment and human health. Lemon balm (*Melissa officinalis*) is one of the plants that is consumed and has antioxidant compounds. This study aimed to investigate the protective effect of lemon balm in diazinon-treated rats.

Materials and Methods: The aerial parts extract of *Melissa officinalis* was prepared using the maceration method. A total of 56 male Wistar rats were divided into control, sham, diazinon-received (30 mg/kg), lemon balm-received (50 and 100 mg/kg), and diazinon and lemon balm-received groups. All injections were done intraperitoneally for 30 days. The level of alanine aminotransferase and alkaline phosphatase was measured by ELISA. After killing the animals, liver tissue was also stained with hematoxylin-eosin and observed by a light microscope.

Results: Diazinon caused a significant increase in alkaline phosphatase and alanine aminotransferase and the number of Kupffer cells compared to the control group ($P<0.05$). In the diazinon and *Melissa officinalis* extract receiving group, the level of these enzymes and Kupffer cells decreased compared to the diazinon group ($P<0.05$). Diazinon decreased the number of hepatocytes compared to the control group($P<0.05$). Moreover, in the diazinon and *Melissa officinalis* extract receiving group, the number of hepatocytes increased compared to the diazinon group ($P<0.05$).

Conclusion: Lemon balm extract improved the effects of diazinon on the liver of mice receiving diazinon.

Keywords: Alkaline phosphatase, Alanine aminotransferase, Diazinon, Hepatocyte, Kupffer cells, Lemon balm.

Citation: Nasri S, Shahi Sadrabadi F, Naseri M, Abbasi S. [Effect of Melissa officinalis extract and Diazinon interaction on liver tissue and its enzymes alteration in male rats]. J Birjand Univ Med Sci. 2024; 31(4): 311-320. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.31.4.311

Received: December 31, 2024 **Accepted:** March 10, 2025

[1] Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
[2] Traditional Medicine Clinical Trial Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

***Corresponding author:** Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
Tel: +98-21-77311286 Fax: +98-21-77312716 E-mail: s_nasril@pnu.ac.ir

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

مقاله اصیل پژوهشی

اثر تداخل عصاره بادرنجبویه و دیازینون بر بافت و آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی نر

سیما نصری [۱]*، فاطمه شاهی صدرآبادی [۱]، محسن ناصری [۲]، سارا عباسی [۱]

چکیده

زمینه و هدف: دیازینون از سموم ارگانوفسفره و حشره‌کش است که اثرات منفی بر محیط زیست و سلامت انسان دارد. بادرنجبویه از گیاهانی است که مصرف خوراکی داشته و دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر حفاظتی عصاره بادرنجبویه در موش‌های صحرایی است که تحت تیمار دیازینون قرار گرفته‌اند.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، عصاره اندام‌های هوایی گیاه بادرنجبویه به روش ماسراسیون تهیه شد. موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار به تعداد ۵۶ سر به گروه‌های کنترل، شاهد، دریافت کننده سم دیازینون (۳۰ mg/kg)، دریافت کننده عصاره بادرنجبویه با دوزهای ۱۰۰mg/kg و ۵۰ و دریافت کننده توأم دیازینون و بادرنجبویه تقسیم شدند. تزریقات به مدت ۳۰ روز و به صورت درون صفاقی انجام شد. سطح آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفرازو آلکالین فسفاتاز به روش الیزا سنجش شد. بافت کبد نیز پس از کشتن حیوانات به وسیله رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین–ائوزین و توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: دیازینون سبب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز و تعداد سلول‌های کوپفر نسبت به گروه کنترل و شاهد شد (P<۰/۰۵). در گروه دریافت کننده دیازینون و عصاره بادرنجبویه میزان این آنزیم‌ها و سلول‌های کوپفر نسبت به گروه دیازینون کاهش یافت (P<۰/۰۵). دیازینون سبب کاهش تعداد هپاتوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل و شاهد شد (P<۰/۰۵). درصورتی‌که تجویز توأم عصاره و دیازینون سبب افزایش تعداد این سلول‌ها نسبت به گروه دیازینون شد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: عصاره بادرنجبویه سبب بهبود عوارض سم دیازینون بر کبد موش‌های دریافت کننده سم دیازینون شد.

واژه‌های کلیدی: بادرنجبویه، دیازینون، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، سلول‌های کوپفر، هپاتوسیت

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۳؛ ۳۱ (۴): ۳۲۰-۳۱۱.

دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۰

[۱] گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[۲] مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی طب سنتی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

آدرس: تهران– دانشگاه پیام نور– گروه زیست شناسی

تلفن: ۷۷۳۱۱۲۸۶-۰۲۱ نمابر: ۷۷۳۱۲۷۱۶-۰۲۱ پست الکترونیکی: s_nasril@pnu.ac.ir

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

مقدمه

دیازینون از حشره‌کش‌های قوی و از سموم ارگانوفسفره می‌باشد و یکی از مکانیزم‌های تأثیر آن مهار آنزیم کولین استراز است. این سم به صورت گسترده، جهت دفع حشرات و همچنین کنترل آفات در محصولات دامی و کشاورزی کاربرد دارد (۱). از اثرات سموم ارگانوفسفره می‌توان به استرس اکسیداتیو، التهاب سیستم عصبی، اثرات اپی‌ژنتیک، اثرات نوروتوکسیک در تکوین مغز، نقص در یادگیری، رفتارهای شبه اضطرابی، نقص در مسیرهای گلوتاماترژیک و مسیرهای پاداش مغز اشاره کرد (۲).

کبد عضوی حیاتی در بدن انسان است که با مجموعه‌ای از عملکردها از جمله متابولیسم، ایمنی، گوارش، سم‌زدایی، ذخیره ویتامین‌ها و غیره از بدن حمایت می‌کند و حدود دو درصد از وزن بدن بزرگسالان را تشکیل می‌دهد (۳).

دیازینون اثرات سمی قوی بر کبد و سیستم ایمنی دارد. استفاده از غلظت‌های پایین آن در محیط کشت سلول‌های BRL-3A کبد موش‌های صحرایی نژاد ویستار سبب تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی (Reactive Oxygen Species) و استرس اکسیداتیو شده که منجر به پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. بعلاوه، این سم منجر به توقف فاز G1 و مرگ سلول‌های کبدی می‌گردد (۴). دیازینون سبب افزایش مالون دی آلدئید، القاء آپوپتوز و فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ (caspase-3 &9) و افزایش نسبت پروتئین‌های Bax/Bcl-2 می‌شود که به دلیل القا آپوپتوز به واسطه استرس اکسیداتیو است (۵).

بادرنجبویه یا بادرنگبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی چند ساله و از خانواده Lamiaceae است که از مناطق مدیترانه و جنوب اروپا منشأ گرفته است (۶). بادرنجبویه گیاه دارویی و غنی از مواد فعال زیستی است که به دلیل اثرات درمانی استفاده از آن گستردگی جهانی دارد. بررسی‌های شیمیایی نشان می‌دهد که این گیاه عمدتاً حاوی فلاوونوئیدها، ترپنوئیدها، اسیدهای فنلی، تانن‌ها و روغن‌های فرار است. از ترپن‌های آن اوئرسولیک اسید (Ursolic acid) و اولینولئک اسید است و از اسیدهای فنولیک آن رزمارینیک اسید (Rosmarinic acid)، کافئیک اسید (Caffeic acid) و کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid) می‌باشد. فلاوونوئیدهای آن شامل کوئرستین (Quercetin)، رامنوسیترین (Rhamnocitrin) و لوتئولین (Luteolin) است (۷). بادرنجبویه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی بوده و در طب سنتی ایران به منظور اثرات ضد اسپاسمی، آرام‌بخشی، ضددردی، مقوی، ادرارآور و همین‌طور برای درمان اختلالات گوارشی کاربرد دارد (۸). اثرات متفاوت فارماکولوژیک آن شامل اثرات ضداضطرابی، آنتی‌ویروسی، ضداسپاسم، اثرات ادراکی و بهبود حافظه، خواص آنتی‌کولین استرازی، تحریک گیرنده‌های استیل کولین و گابا و مهار متالوماتریکس پروتئیناز ۲ (Matrix metallo proteinase-2) است (۹). بادرنجبویه اثرات قوی در مهار هیپرکلسترولمیا و کاهش غلظت لیپید و پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌های هیپرکلسترولمیا دارد (۱۰). روغن فرار بادرنجبویه دارای خواص آنتی دیابتی از طریق بهبود تحمل گلوکز و بیان ژن‌های مؤثر در گلوکونئوژنز کبدی است (۱۱). بعلاوه در موش‌های هیپرکلسترولمیک این گیاه سبب تغییر میزان آنزیم‌های کبدی به ویژه سبب افزایش آلانین آمینوترانسفراز(ALT) می‌شود (۱۲). در پژوهش دیگری اثرات عصاره آن بر کبد موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمی نشان داد که پراکسیداسیون لیپیدی، لیپید تام و کلسترول کبدی تحت تأثیر بادرنجبویه کاهش یافته ولی مقادیر گلوتاتیون افزایش می‌یابد (۱۰). حضور آنتی‌اکسیدان‌های مؤثر و فعال در این گیاه و به‌ویژه توانایی آن در مهار رادیکال‌های آزاد و سیتوکسیک و اثرات آنتی‌موتاژنیک آن سبب شده که این گیاه ویژگی‌های منحصر به فرد داشته باشد (۱۳). با توجه به اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره بادرنجبویه و اثرات سمی دیازینون بر کبد، در پژوهش حاضر به دنبال بررسی اثر تداخل بادرنجبویه و دیازینون بر کبد موش‌های صحرایی نر هستیم.

روش تحقیق

روش عصاره‌گیری

اندام هوایی گیاه بادرنجبویه با کد هرباریومی Voucher NO:3380 از مرکز تحقیقات طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

شهید بهشتی تهیه گردید و عصاره‌گیری به روش خیساندن یا ماسراسیون صورت گرفت. پس از شستشوی اندام‌های هوایی گیاه بادرنجبویه، گیاه در سایه خشک و سپس آسیاب شد، پس از آن با اتانول ۴۰ درصد مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در جای تاریک نگهداری گردید. محتویات ارلن هر ۴ ساعت یک‌بار به مدت ۲۵ دقیقه هم زده شد. پس از ۴۸ ساعت، محتویات ارلن با کاغذ صافی صاف و با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان تغلیظ شد (۱۴). میزان عصاره ۱۶٪ وزن خشک گیاه بود.

تهیه سم دیازینون

۶۰ سی‌سی سم دیازینون۶۰ درصد مایع امولسیون شونده از شرکت آریاشیمی به نشانی اینترنتی WWW.ariashimi.ir تهیه و با دوز ۳۰ mg/kg آماده شد.

گروه‌بندی و تیمار حیوانات

در پژوهش تجربی حاضر از ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد که به ۷ گروه ۸ تایی شامل گروه‌های کنترل، شاهد، دریافت کننده سم دیازینون (۳۰ mg/kg)، دریافت کننده عصاره بادرنجبویه با دوزهای ۱۰۰mg/kg و ۵۰ و دریافت کننده توأم دیازینون و بادرنجبویه تقسیم شدند. در شروع پژوهش وزن موش‌ها در محدوده ۱۳۰-۱۵۰ گرم بود. پس از سه روز سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه تیمار حیوانات آغاز شد، عصاره تغلیظ شده بادرنجبویه در نرمال سالین و سم دیازینون در روغن زیتون طبق دوزهای مشخص شده حل شد و تزریق از ساعت ۷ صبح و به صورت درون صفاقی صورت گرفت و به مدت ۳۰ روز به طول انجامید (۱۶, ۱۰). تزریق دیازینون به مدت یک ماه (پنج روز متوالی در هر هفته صورت گرفت. در گروه‌های تداخل بادرنجبویه و سم دیازینون، ابتدا سم دیازینون به صورت درون صفاقی و ۳۰ دقیقه بعد عصاره بادرنجبویه با دوزهای مشخص شده تزریق شد. عصاره در نرمال سالین حل و تجویز شد. گروه شاهد حلال دیازینون و حلال عصاره را همزمان دریافت کردند. سپس یک هفته بعد از آخرین تزریق تشریح و نمونه‌گیری انجام شد (۱۷). پژوهش حاضر با کد IR.PNU.REC.1402.156 زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه پیام نور انجام گرفت و مطابق دستورالعمل‌های ملی بهداشت برای استفاده انسانی از حیوانات کمیته اخلاق می‌باشد.

بررسی بیوشیمیایی و بافتی

برای انجام بررسی‌های بیوشیمیایی حیوانات به وسیله کلروفرم (مرک، آلمان) بیهوش شدند و نمونه خون از بطن چپ جمع‌آوری و پس از انتقال به داخل لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۵۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و نمونه‌های سرم به لوله‌ها انتقال یافت و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای سنجش آنزیمی نگهداری شد (۱۵). سطح آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز بر اساس کیت مخصوص موش صحرایی با شماره کاتالوگ MBS269614 (USA ,Mybiosource) و آلکالین فسفاتاز (ALP) نیز بر اساس کیت مخصوص موش صحرایی با شماره کاتالوگ MBS011598 (Mybiosource, USA) این آنزیم‌ها به روش الیزا سنجش شد.

پس از خون‌گیری و کشتن حیوانات، شکم آن‌ها باز و کبد همه موش‌های صحرایی برداشته و نمونه‌های بافتی پس از شستشو با نرمال سالین در محلول فرمالین ۱۰٪ فیکس شد. پس از آب‌گیری، بافت‌ها به گزیلن منتقل شده و سپس در بلوک‌های پارافینی قرار گرفتند و ۱۰ برش ۵ میکرونی از هر بافت کبدی تهیه و با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در هر برش پنج ناحیه به صورت تصادفی مطالعه و تعداد سلول‌های کوپفر و هپاتوسیت شمارش شد و همچنین از نظر بافتی بررسی شد (۱۸).

آنالیز آماری

آنالیز آماری به کمک نرم‌افزار SPSS 22 و پس از تأیید نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک توسط روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و تست تعقیبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. P<۰/۰۵ به عنوان مرز استنتاج آماری در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین±انحراف‌معیار گزارش شد.

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

یافته‌ها

تغییرات آنزیم آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز تحت تأثیر دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه

تجویز دیازینون سبب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم ALP کبدی نسبت به گروه کنترل و شاهد شد (P<۰/۰۵). غلظت این آنزیم در بین گروه‌های دریافت کننده عصاره بادرنجبویه با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و از طرفی گروه دریافت‌کننده سم دیازینون افزایش معنی‌داری را نسبت به همه گروه‌ها نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین گروه دریافت‌کننده همزمان دیازینون و عصاره هیدروالکلی (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) اندام هوایی گیاه بادرنجبویه نسبت به گروه کنترل و شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند (P<۰/۰۵)؛ ولی نسبت به گروه دیازنون کاهش داشت که نشان دهنده کاهش اثر سم دیازینون توسط عصاره می‌باشد (جدول۱).

تجویز دیازینون سبب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم ALT کبدی نسبت به گروه کنترل و شاهد شد (P<۰/۰۵). غلظت این آنزیم در بین گروه‌های دریافت کننده عصاره بادرنجبویه با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. میزان آنزیم ALT در گروه دیازینون افزایش معنی‌داری را نسبت به همه گروه‌ها نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین، گروه‌های دریافت‌کننده همزمان دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه نسبت به گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی‌دار نشان دادند (P<۰/۰۵). (بادرنجبویه سبب کاهش اثر سم در گروه تداخل نسبت به گروه دریافت کننده سم شد؛ ولی تفاوت آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول۱).

جدول ۱- تغییرات غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز تحت تأثیر دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه

گروه‌ها (n= ۸)	غلظت آلانین آمینوترانسفراز (U/L)	غلظت آلکالین فسفاتاز (U/L)
کنترل	۳۸/۴ ± ۰/۶۶	۳۶۲/۵ ± ۲۰/۷۴
شاهد	۳۸/۱۶ ± ۰/۵۳	۳۶۰/۶۷ ± ۶/۶۱
دیازینون	۸۲/۵۸ ± ۰/۵۸ *	۷۳۱/۴ ± ۳۷/۳۶ *
بادرنجبویه (۵۰ mg/kg)	۴۳/۹۱ ± ۴/۲۷	۵۵۶/۶ ± ۳۴/۲۴
بادرنجبویه (۱۰۰ mg/kg)	۴۰/۴۱ ± ۱/۸۴	۴۸۷/۲ ± ۵۲/۷۴
بادرنجبویه (۵۰ mg/kg)+ دیازینون	۴۶/۹۱ ± ۲/۳۵	۴۹۹/۶ ± ۴۷/۱
بادرنجبویه (۱۰۰ mg/kg)+ دیازینون	۴۳/۹۱ ± ۴/۲۷	۵۴۰/۴ ± ۳۴/۴۲#

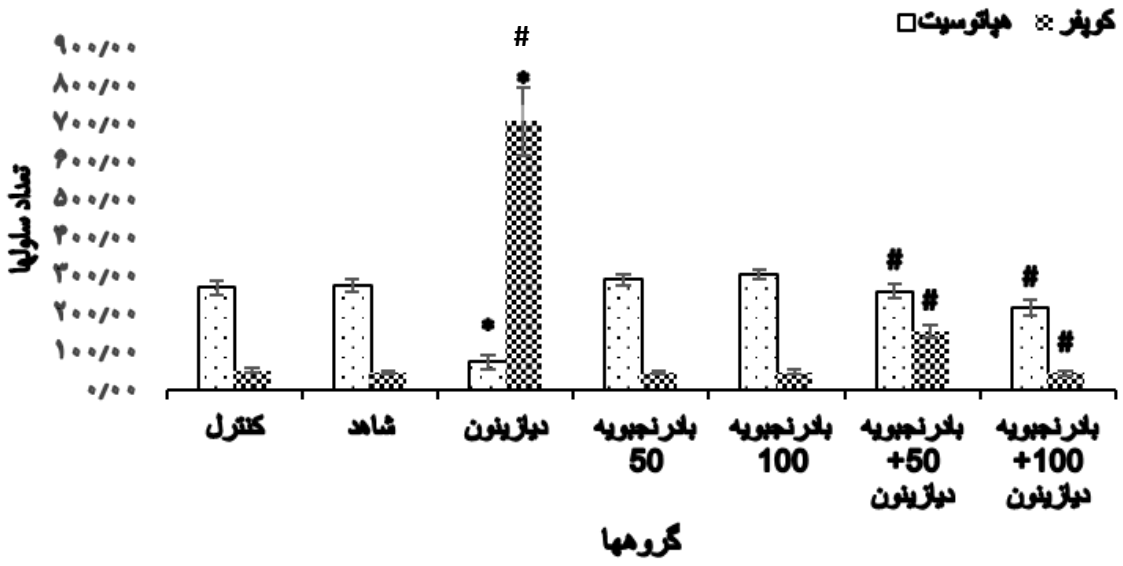
*: P<۰/۰۵ تفاوت گروه دریافت‌کننده دیازینون با سایر گروه‌ها :#: P<۰/۰۵ تفاوت گروه‌های دریافت کننده توأم عصاره دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیازینون با گروه کنترل و شاهد

تغییرات تعداد سلول‌های کوپفر و هپاتوسیت تحت تأثیر دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه

تجویز دیازینون سبب افزایش تعداد سلول‌های کوپفر کبد نسبت به گروه کنترل و شاهد شد (P<۰/۰۵). تعداد این سلول‌ها در بین گروه‌های دریافت کننده عصاره با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، گروه‌های دریافت کننده همزمان دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه نسبت به گروه دریافت کننده سم دیازینون کاهش معنی‌داری نشان دادند (P<۰/۰۵) که نشان‌دهنده کاهش اثر سم دیازینون توسط عصاره می‌باشد (نمودار۱).

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

تجویز دیازینون سبب کاهش تعداد سلول‌های هپاتوسیت کبد نسبت به گروه کنترل و شاهد شد (P<۰/۰۵) تعداد این سلول‌ها در بین گروه‌های دریافت کننده عصاره با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، گروه‌های دریافت کننده همزمان دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه نسبت به گروه دریافت کننده سم دیازینون افزایش معنی‌دار نشان دادند (P<۰/۰۵) که نشان دهنده کاهش اثر سم دیازینون توسط عصاره می‌باشد (P<۰/۰۵). همچنین، گروه‌های دریافت کننده همزمان دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه با گروه دریافت کننده سم دیازینون به تنهایی تفاوت معنی‌دار داشتند و عصاره سبب افزایش معنی‌دار تعداد هپاتوسیت‌ها نسبت به گروه دریافت‌کننده دیازینون به تنهایی شده است (P<۰/۰۵). که نشان دهنده کاهش اثر سم دیازینون توسط عصاره می‌باشد (نمودار۱).

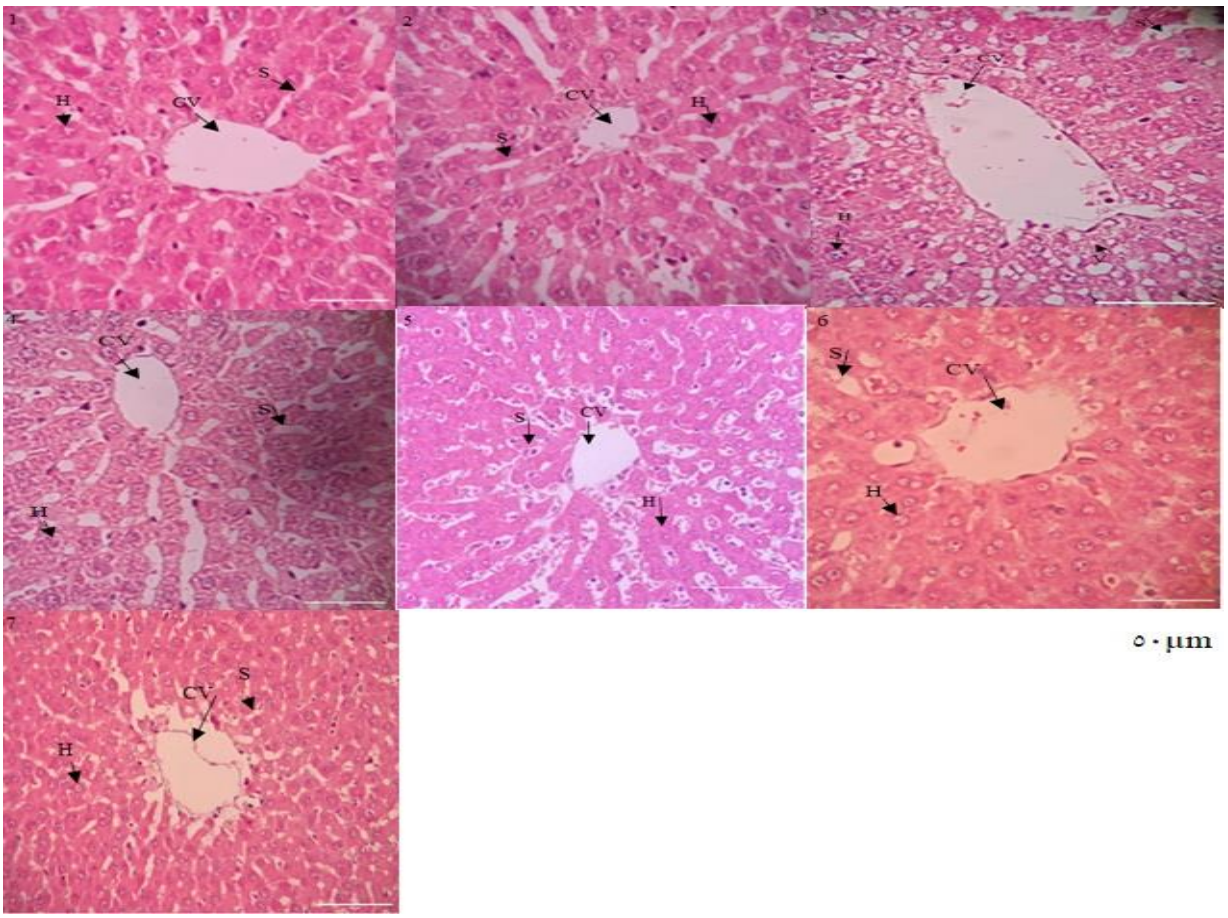


نمودار ۱- تغییرات تعداد سلول‌های کوپفر و هپاتوسیت تحت تأثیر دیازینون و عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه بادرنجبویه. بین گروه‌های دریافت کننده عصاره به تنهایی و عصاره با دیازینون و شاهد و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. *: P<۰/۰۵، تفاوت گروه دریافت‌کننده دیازینون با سایر گروه‌ها. #: P<۰/۰۵، تفاوت با گروه دیازینون

تغییرات بافتی

تصویر میکروسکوپ نوری لوبول کبدی در گروه‌های کنترل سالم، دریافت کننده دیازینون، دریافت کننده دوز ۵۰ و ۱۰۰ بادرنجبویه و دریافت کننده توأم دیازینون و بادرنجبویه نشان می‌دهد که در گروه دریافت کننده دیازینون سینوزوئیدها وسیع شده است و سلول‌های هپاتوسیت واکوئله شده‌اند. دیازینون به تنهایی سبب آسیب بافت کبدی شده است و تیمار توأم بادرنجبویه و دیازینون سمیت بافتی دیازینون را برطرف کرده است (تصویر ۱).

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]



تصویر ۱- تصویر میکروسکوپی یک لوبول کبدی: در گروه کنترل (۱)، گروه شاهد (۲)، گروه دریافت‌کننده دیازینون (۳)، گروه دریافت‌کننده دوز ۵۰ و ۱۰۰ بادرنجبویه (۴ و۵)، گروه دریافت‌کننده دیازینون و دوز ۵۰ بادرنجبویه (۶)، گروه دریافت‌کننده دیازینون و دوز ۱۰۰ بادرنجبویه (۷). تصویر میکروسکوپی یک لوبول کبدی در گروه دریافت کننده دیازینون (۳): فضای سینوزوئیدها وسیع شده است (S)، واکوئله شدن سیتوپلاسم سلول هپاتوسیت. فلش نشان‌دهنده واکوئله شدن سلول هپاتوسیت می باشد. (H: هپاتوسیت، CV: ورید مرکزی، S: سینوزوئید)

بحث

در پژوهش حاضر سم دیازینون سبب افزایش تعداد سلول‌های کوپفر و غلظت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین ترانس آمیناز کبدی نسبت به گروه کنترل و شاهد شد؛ ولی تعداد سلول‌های هپاتوسیت نسبت به گروه کنترل و شاهد کاهش یافت. ارگانوفسفات‌ها ترکیبات شیمیایی سمی هستند. این ترکیبات ماده اصلی سموم آفت‌کش، حشره‌کش و علف‌کش هستند. ارائه حاد یا مزمن به این ترکیبات می‌تواند سبب سمیت انسان، حیوانات و گیاهان در سطوح مختلف شود (۱۸). دیازینون از سموم ارگانوفسفره می‌باشد و تجویز دیازینون به موش‌های صحرایی سبب تغییرات هیستوپاتولوژی در کبد می‌شود و میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز را افزایش می‌دهد (۱۹). تیمار موش‌های صحرایی با دیازینون، دیمتوات (Dimethoate) و سیپرمترین (Cypermethrin) سبب تأثیر منفی بر متابولیسم لیپید و آمینواسیدها شده و استرس اکسیداتیو را القا می‌کند و منجر به عدم کارایی کبد و کلیه‌ها می‌شود (۲۰). بعد از تیمار ده گروه موش صحرایی نر با دوز mg/kg ۸۵ در نقاط زمانی (Time points) متفاوت بین ۲۴-۰ ساعت قدرت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما بعد از ۰/۷۵ تا یک ساعت کاهش یافت و بعد از ۴ ساعت کاهش شدید در بیان ژن‌های GPx و PON1 رخ داد که ژن‌های آنتی‌اکسیدانتی سلول‌های کبدی هستند. بنابراین، دیازینون بر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی کبد اثر منفی دارد (۲۱). در مطالعه‌ای که اثرات تیموکینون بر سمیت کبدی حاصل از

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

دیازینون مورد بررسی قرار گرفت، دیازینون میزان آنزیم‌های کبدی را افزایش می‌دهد و تیمار با تیموکینون سمیت کبدی و آسیب اکسیداتیو ناشی از دیازینون را کاهش می‌دهد که می‌تواند به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانت آن و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد توسط تیموکینون باشد (۲۲). در پژوهشی که بر رت‌های هیپرلیپیدمی انجام شده است تیمار با عصاره بادرنجبویه سبب کاهش آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین ترانس آمیناز می‌شود و بنابراین اثر محافظتی بر کبد رت‌های هیپرلیپیدمی دارد (۱۰). تزریق درون صفاقی دوزهای بالای عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه در موش سبب کاهش میزان آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز شده است (۲۳). در موش‌هایی که استات سرب را به صورت درون صفاقی دریافت کردند، عصاره بادرنجبویه سبب کاهش آنزیم‌های کبدی که در اثر سرب مقدار آن‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش داشت، شد که می‌تواند به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن باشد (۲۴). در رت‌های هیپرکلسترولمیا میزان آنزیم‌های کبدی تحت تأثیر عصاره بادرنجبویه کاهش یافت که اثرات آن مشابه آتورواستاتین بود (۱۲). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان می‌دهد که دیازینون سبب افزایش آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین ترانس آمیناز کبدی شده و عصاره بادرنجبویه سبب کاهش اثرات سمی دیازینون بر این آنزیم‌ها می‌شود. تیمار خوراکی دیازینون در موش‌ها سبب واکوئله شدن هپاتوسیت‌ها، افزایش تعداد سلول‌های کوپفر می‌شود. از طرفی رزمارینیک اسید ترکیب اصلی فنلی و روتین (Rutin) فلاوونوئید اصلی بادرنجبویه است (۲۵). در مطالعه‌ای اثرات حفاظتی رزمارینیک اسید بر کبد اثبات شده است که می‌تواند به دلیل مکانیزم‌های مختلف از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانت و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، کاهش فعالیت سوپراکسید و پراکسی نیتریت، کاهش ایندکس‌های سمیت کبدی مثل آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، گلوتاتیون اکسیده، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مانند کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددسموتاز باشد. همچنین سبب کاهش فیبروز کبدی و اثرات هیستوپاتولوژیکی و در نتیجه سمیت کبدی می‌شود (۲۶). روتین فلاوونوئیدی با خواص آنتی‌اکسیدانتی، ضدالتهابی و آنتی‌آپوپتوزی است. روتین خواص قوی درمانی در برابر تعدادی از سموم به دلیل همین خواص خود دارد (۲۷). کوئرستین از دیگر فلاوونوئیدهای موجود در بادرنجبویه است (۷). در پژوهشی کاربرد دیازینون سبب آسیب و التهاب نوروهپاتیک شده است و منجر به تحریک آسپارتات و آلانین آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز، گاماگلوتامات ترانسفراز و فاکتور نکروز توموری آلفا و مهار فعالیت استیل کولین استراز گردید. بعلاوه، دیازینون سبب افزایش معنی‌دار مالون دی آلدئید به موازات کاهش مولکول‌های آنتی‌اکسیدانتی گلوتاتیون، سوپراکسیددسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز شد. استفاده از کوئرستین عدم کارایی کبدی-مغزی و التهاب آن را کاهش داد و وضعیت آنتی‌اکسیدانتی کبد و مغز را با کاهش استرس اکسیداتیو بهبود بخشید (۲۸).

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر در کاربرد دیازینون منجر به آسیب بافتی کبد و افزایش میزان آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز و آلانین ترانس آمیناز شده است و عصاره بادرنجبویه این اثرات را معکوس کرده که احتمالاً به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانتی و ضدالتهابی آن است.

تقدیر و تشکّر

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی با عنوان اثر تداخل عصاره بادرنجبویه و دیازینون بر بافت و آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی نر می‌باشد و با حمایت مالی دانشگاه پیام نور با شماره ۱۰۰۲/۶۴/ع/۱۲۷ مورخ ۱۴۰۲/۲/۴ به تصویب رسیده است. لذا نویسندگان از مسئولین دانشگاه پیام نور تهران تشکر می‌کنند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه پیام نور و کمیته اخلاق دانشگاه پیام نور با کد IR.PNU.REC.1402.156 انجام شد.

حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه پیام نور تهران انجام شد.

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

مشارکت نویسندگان

سیما نصری در کلیه مراحل طراحی، نوشتن طرح، انجام آزمایش‌های تجربی و نوشتن مقاله، فاطمه شاهی صدرآبادی در انجام آزمایش‌های تجربی و بررسی بافتی، محسن ناصری در جمع‌آوری گیاه، عصاره‌گیری و خشک کردن عصاره و سارا عباسی در آنالیز آماری و رسم نمودارها مشارکت داشته‌اند. کلیه نویسندگان مقاله را مطالعه کرده‌اند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Mena F, Gonzalez-Ortegon E, Solano K, Araujo CVM. The effect of the insecticide diazinon on the osmoregulation and the avoidance response of the white leg shrimp (Penaeus vannamei) is salinity dependent. Ecotoxicol Environ Saf. 2020; 206:111364. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111364
2. Hawkey A, Pippen E, White H, Kim J, Greengrove E, Kenou B, et al. Gestational and perinatal exposure to diazinon causes long-lasting neurobehavioral consequences in the rat. Toxicology. 2020; 429: 152327. DOI: 10.1016/j.tox.2019.152327
3. Arjun Kalra EY CJW, Faiz Tuma. Physiology, Liver. USA: StatPearls; 2024. Kalra A, Yetiskul E, Wehrle CJ, et al. Physiology, Liver. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/
4. Girón-Pérez MI, Mary VS, Rubinstein HR, Toledo-Ibarra GA, Theumer MG. Diazinon toxicity in hepatic and spleen mononuclear cells is associated to early induction of oxidative stress. Int J Environ Health Res. 2022; 32(10): 2309-23. DOI: 10.1080/09603123.2021.1962814
5. Lari P, Abnous K, Imenshahidi M, Rashedinia M, Razavi M, Hosseinzadeh H. Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. Toxicol Ind Health. 2015; 31(4): 367-76. DOI: 10.1177/0748233713475519
6. Shahsavari K, Shams Ardekani MR, Khanavi M, Jamialahmadi T, Iranshahi M, Hasanpour M. Effects of Melissa officinalis (lemon balm) consumption on serum lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. BMC Complement Med Ther. 2024; 24(1): 146. DOI: 10.1186/s12906-024-04442-0
7. Petrisor G, Motelica L, Craciun LN, Oprea OC, Ficai D, Ficai A. Melissa officinalis: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems-A Review. Int J Mol Sci. 2022; 23(7). DOI: 10.3390/ijms23073591
8. Miraj S, Rafieian K, Kiani S. Melissa officinalis L: A Review Study With an Antioxidant Prospective. J Evid Based Complementary Altern Med. 2017; 22(3): 385-94. DOI: 10.1177/2156587216663433
9. Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B. Melissa officinalis L. - A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol. 2016;188:204-28. DOI: 10.1016/j.jep.2016.05.010
10. Bolkent S, Yanardag R, Karabulut-Bulan O, Yesilyaprak B. Protective role of Melissa officinalis L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study. J Ethnopharmacol. 2005; 99(3): 391-8. DOI: 10.1016/j.jep.2005.02.038
11. Chung MJ, Cho SY, Bhuiyan MJ, Kim KH, Lee SJ. Anti-diabetic effects of lemon balm (Melissa officinalis) essential oil on glucose- and lipid-regulating enzymes in type 2 diabetic mice. Br J Nutr. 2010; 104(2): 180-8. DOI: 10.1017/S0007114510001765
12. Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Taheri S, Rasekh F. Comparison between effects of different doses of Melissa officinalis and atorvastatin on the activity of liver enzymes in hypercholesterolemia rats. Avicenna J Phytomed. 2014; 4(1): 15-23. PMCID: PMC4103723

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]

13. Zarei A, Changizi-Ashtiyani S, Taheri S, Hosseini N. A Brief Overview of the Effects of Melissa officinalis L. Extract on the Function of Various Body Organs. Zahedan J Res Med Sci. 2015;17(7). https://doi.org/10.17795/zjrms1007

14. Mesgari Abbasl M DN, Shahnazi M, Parvin N. Protective of Melissa Officinallis (Lemon Balm) On Spaerm Parameters and Spermatogenesis Quality In Rats Exposed to Lead. Iran Red Crescent Med J. 2016; 18(12): e31798. URL: https://www.ircmj.com/article_203087.html

15. Silici S, Demiray S, Okan A, Ertuğrul S, Alizada S, Doğanyiğit Z. Effects of short- and long-term use of propolis extracts on liver and kidney in rats. Food Sci Nutr. 2024; 12(8): 5538-47. DOI: https://doi.org/10.1002/fsn3.4199

16. Shokrzadeh M, Shobi S, Attar H, Shayegan S, Payam SS, Ghorbani F. Effect of vitamins A, E and C on liver enzyme activity in rats exposed to organophosphate pesticide diazinon. Pak J Biol Sci. 2012; 15(19): 936-41. DOI: 10.3923/pjbs.2012.936.941

17. Sobolev VE, Sokolova MO, Jenkins RO, Goncharov NV. Molecular Mechanisms of Acute Organophosphate Nephrotoxicity. Int J Mol Sci. 2022; 23(16). DOI: 10.3390/ijms23168855

18. Masoumi F, Shariati M, Mokhtari M. Comparing the protective effects of L-carnitine and Silybum marianum aqueous extract after diazinon-induced hepatotoxicity in male rat liver. IJVST. 2020; 11(2): 37-44. DOI: 10.22067/veterinary.v11i2.80289

19. Haghighatjoo SA, Shariati M, Mokhtari M, Moghadamnia D. Effect of diazinon on functional tests and liver tissue alterations in adult rats. J Gorgan Univ Med Sci. 2019; 21(1): 38-45. URL: http://goums.ac.ir/journal/article-1-3262-en.html

20. Liang YJ, Long DX, Wang S, Wang HP, Wu YJ. Metabolomic analysis of the serum and urine of rats exposed to diazinon, dimethoate, and cypermethrin alone or in combination. BMC Pharmacol Toxicol. 2024; 25(1):3. DOI: 10.1186/s40360-023-00714-6

21. Hassani S, Maqbool F, Salek-Maghsoudi A, Rahmani S, Shadboorestan A, Nili-Ahmadabadi A, et al. Alteration of hepatocellular antioxidant gene expression pattern and biomarkers of oxidative damage in diazinon-induced acute toxicity in Wistar rat: A time-course mechanistic study. Excli J. 2018; 17: 57-71. DOI: 10.17179/excli2017-760

22. Danaei GH, Amali A, Karami M, Khorrami MB, Riahi-Zanjani B, Sadeghi M. The significance of thymoquinone administration on liver toxicity of diazinon and cholinesterase activity; a recommendation for prophylaxis among individuals at risk. BMC Complement Med Ther. 2022; 22(1): 321. DOI: 10.1186/s12906-022-03806-8

23. Namjoo A MM, Shirzad H, Faghani M. Biochemical, liver and renal toxicities of Melissa officinals hydroalcoholic extract on balb/C mice. J HerbMed Pharmacol 2013; 2(2): 35-40. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:43549060

24. Eivani M, Zareian P, Ghahari L, Dadpay M, Shojaee S. The Effect of Melissa officinalis Hydro Alcoholic Extract on Liver Enzymes, Markers of Kidney Function and Testosterone in Lead Poisoned Rats. J Kerman Univ Med Sci. 2023; 30(1): 40-5. DOI: https://doi.org/10.34172/jkmu.2023.06

25. Naseri M, Arabi Mianroodi R, Pakzad Z, Falahati P, Borbor M, Azizi H, et al. The effect of Melissa officinalis L. extract on learning and memory: Involvement of hippocampal expression of nitric oxide synthase and brain-derived neurotrophic factor in diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2021; 276: 114210. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114210

26. Elufioye TO, Habtemariam S. Hepatoprotective effects of rosmarinic acid: Insight into its mechanisms of action. Biomed Pharmacother. 2019; 112: 108600. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108600

27. Rahmani S, Naraki K, Roohbakhsh A, Hayes AW, Karimi G. The protective effects of rutin on the liver, kidneys, and heart by counteracting organ toxicity caused by synthetic and natural compounds. Food Sci Nutr. 2023; 11(1): 39-56. DOI: 10.1002/fsn3.3041

28. Abdel-Diam MM, Samak DH, El-Sayed YS, Aleya L, Alarifi S, Alkahtani S. Curcumin and quercetin synergistically attenuate subacute diazinon-induced inflammation and oxidative neurohepatic damage, and acetylcholinesterase inhibition in albino rats. Environ Sci Pollut Res Int. 2019; 26(4): 3659-65. DOI: 10.1007/s11356-018-3907-9

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.4.311]