Original Article

مقایسه تاثیرات پیش تیمار جوشانده قهوه و زردچوبه بر تغییرات آلبومین سرم به عنوان یک شاخص کبدی در موش‌های صحرایی نر تزریق شده با تیواستامید

نجمه ربانی حقیقی[1*]، نوشین نقش[2]، داوود مهربانی[3]

۱- گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، فارس، ایران.
۲- گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان،اصفهان، ایران.
۳- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فناوری ترانسژنیک، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۷/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به نقش مهم سم زدایی کبد، در تحقیق حاضر، مقایسه تاثیرات پیش تیمار جوشانده قهوه و زردچوبه بر تغییرات آلبومین سرم به عنوان یک شاخص کبدی در برابر تزریق تیواستامید بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی۵۶ سرموش صحرایی نر به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه و زردچوبه خالص هر کدام با دوز ۴mg/Kg و مخلوط جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه با دوز ۲mg/Kg به صورت خوراکی و در رژیم غذایی رت‌ها در طول پیش درمان ۶۸ روز به آن‌ها خورانیده شد. خونگیری در دو مرحله پیش درمان و پس از تزریق یک بار تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/Kg به صورت درون صفاقی و اندازه گیری آلبومین سرم ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق انجام گرفت. به منظور مقایسه میانگین آلبومین سرمی با همدیگر از آزمون ANOVA استفاده شد.

نتایج: نتایج حاکی از افزایش معنی دار میزان آلبومین سرم در گروه تیمار شدهبا تیواستامید (۰/۲۳± ۳/۲۷) نسبت به گروه شاهد (۰/۲۲± ۲/۸۷) می‌باشد (P(<۰/۰۱). جوشانده قهوه به صورت پیش تیمار دارای بیشترین تاثیر محافظتی بر روی بافت کبد بوده است. این تاثیر با کاهش معنی دار میزان آلبومین سرم در این گروه به (۰/۶۲± ۲/۴۶) رسیده است (P<۰/۰۱).

نتیجه گیری: در این تحقیق، بیشترین اثر حفاظتی کبد مربوط به جوشانده قهوه است. این تاثیر احتمالا به واسطه ترکیب‌های پلی فنلی آن در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد است. استفاده از دم نوش فوق جهت پیشگیری از آسیب‌های کبدی در انسان پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: زردچوبه، قهوه، آلبومین و تیو استامید.

مقدمه

یکی ازمهم‌ترین اعمال کبد علاوه بر سوخت و ساز مواد مختلف، سم زدایی گزنوبیوتیک‌ها، مواد آلوده کننده محیطی و داروهای شیمی درمانی می‌باشد (۱). تیواستامید یک سم کبدی قوی می‌باشد که پس از ورود بدن مشابه بسیاری از مواد از جمله استامینوفن، برخی آنتی بیوتیک‌ها، اتانول و تتراکلرید کربن عمل کرده و توسط آنزیم‌های سیستم سم زدایی سیتوکروم P450 متابولیزه می‌شود (۲و۳). تیواستامید یک ماده شیمیایی است که در صنایع تهیه کاغذ و کتاب کاربرد دارد و با محلول‌سازی آن در آب آشامیدنی و یا از طریق تزریق داخل صفاقی تاثیرات را می‌توان بر موش‌های آزمایشگاهی بررسی نمود. متابولیسم تیواستامید

*نویسنده مسئول: نجمه ربانی حقیقی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، فارس، ایران.
لفن: ۰۹۱۷۷۰۹۸۵۳۵، Email: najmehrabani@yahoo.com

منجر به تولید تیواستامید s- اکسید و متابولیت‌های دیگر می‌شود (۴و۵). بنابراین تیواستامید s- اکسید یک ترکیب واسطه در مراحل اکسیداسیون تیواستامید توسط مونواکسیژنازهای با عملکرد مختلط (ازجمله سیتوکروم P450 2B1) می‌باشد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو درسلول‌های کبدی می‌شود (۶). از سم تیواستامید برای القای سیروز کبدی و آنسفالوپاتی هپاتیک حاد استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که تیواستامید موجب مرگ سلولی، نکروز وآپوپتوز درسلول‌های کبدی می‌گردد (۷). از این ماده برای ایجاد سیروز در رت و موش استفاده شده است. این ماده هم در محل پری ونولار (perivenular) و هم در پری پورتال تاثیر می‌گذارد. از طرفی سم زدایی مواد سمی و گزنوبیوتیک‌ها یکی از مهمترین اعمال کبد می‌باشد. ممکن است در طی این عمل مقادیربسیاری از واسطه‌های اکسیژن فعال تولید شوند. دوزهای حاد مواد سمی و برخی از داروها استامینوفن یا مصرف طولانی مدت بعضی مواد و داروها می‌تواند موجب تولید مقادیر بالایی از رادیکال‌های آزاد شده که بر سیستم دفاعی‌آنتی‌اکسیدانی غلبه نماید و موجب آسیب‌های کبدی شود. با توجه به این نکته که کبد اعمال منحصر به فردی را انجام می‌دهد و آسیب این عضو منجر به ضررهای غیرقابل جبرانی در بدن می‌شود بنابراین تحقیق در مورد موادی که باعث حفاظت کبد شوند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است تیواستامید یک ماده اکسیدکننده و سم کبدی قوی است که توسط آنزیم CytP4502B میکروزوم‌های سلول‌های کبدی تبدیل به متابولیت سمی و فعال تیواستامید -Sاکسید می‌شود (۷). این ماده پروتئین‌ها و لیپیدهای غشا را مورد حمله قرار می‌دهد و موجب تجزیه پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت استرس اکسیداتیو می‌شود. از طرفی استفاده از گیاهان دارویی جهت پیشگیری و درمان بسیاری از ناهنجاری های کلیدی از دیرباز مورد استفاده بوده است. زردچوبه و قهوه نمونه هایی از این گیاهان با خواص آنتی اکسیدانی بسیار قوی می‌باشند (۸). زردچوبه، ریزوم پودر شده گیاه *Curcuruma Longa* می‌باشد که به عنوان ادویه و چاشنی در غذاها استفاده می‌شود و در طب سنتی جایگاه خاصی دارد. زردچوبه گیاهی علفی و پایا از خانواده زنجبیل (zingiberaceae) می‌باشد. ریزوم زردچوبه حاوی ۵ -۳ ٪ پیگمان‌های زردرنگ هستند که کورکومینویید نام دارد و شامل کورکورمین و مشتقات آن می‌باشد و عملکرد آن به عنوان عامل ضد سرطان، محافظت کننده کبدی، ضد زهر، محافظت کننده مخاط معده و روده، محافظت کننده بینایی، ضد درد، ضد تومور و ضدالتهاب ثابت شده است. کورکومین ماده موثره ریزوم گیاه زردچوبه به نام شیمیایی difeouloylmethane با فرمول شیمیایی (C12H20O6) است. ترکیبات شیمیایی دیگری شامل روغن فرار، زینجیبرن، آلفا و بتا تورمرین و مواد دیگر از جمله آرابینوز، فروکتوز، گلوکز و نشاسته در ریزوم این گیاه موجود می‌باشد (۸و۹). قهوه یک نوشیدنی محرک است و مورد استفاده اکثر مردم جهان می‌باشد. قهوه گیاهی از تیره coffea و از خانواده Rubiaceac می‌باشد. در طب سنتی ایران، جوشانده قهوه، تقویت کننده دستگاه اعصاب مرکزی بوده و موجب افزایش نیروی انقباض ماهیچه قلبی و ضربان آن می‌شود. نوشیدن قهوه، ادرار را زیاد کرده و اثر ضدعفونی کنندگی دارد (۹). درخت قهوه در نواحی گرمسیری و در هوای گرم و مرطوب رشد می‌کند. معروف-ترین نوع قهوه، قهوه عربی Coffea Arabica است. ماده موثر قهوه، کافئین است که دارای خواص آرامش بخشی، مسهل، کاهنده اشتها می‌باشد. کافئین ماده محرک روانی است. تحقیقات ثابت کرده‌اند که چندین گونه گیاهی با حداقل اثرات جانبی در درمان بیماری‌های کبدی موثرند که در این راستا می‌توان به ریزوم گیاه زردچوبه و دانه گیاه قهوه اشاره کرد. از آنجا که بیشتر پروتئین‌های مهم پلاسمایی در سلول‌های کبدی ساخته می‌شود، اندازه‌گیری آن‌ها با توجه به بازگردش سریع آن‌ها، سریع ترین معیار غیر مستقیم عملکرد سنتتیک کبداست. یکی از این پروتئین‌ها، آلبومین سرم است. آلبومین موجود در سرم خون نوعی پروتئین است و بیماری‌های کبدی می‌توانند سبب تغییرات پروتئین سرم شوند. البته سنجش آنزیم‌های کبدی SGPTوSGOT نیز می‌تواند در کنار کارهای هیستولوژیک تایید کننده نتایج فوق باشد. اما چون آلبومین منحصرا توسط هپاتوسیت‌های کبد سنتز می‌شود و اندازه گیری آن یکی از معیارهای اختصاصی عملکرد کبد می‌باشد و از طرفی سنجش این فاکتور خونی در گروه‌های پیش تیمار شده با زردچوبه متعاقب مسمومیت‌های خفیف و مزمن کبدی، تا به حال مورد بررسی قرار نگرفته است؛ لذا با توجه به عدم مقایسه دقیق جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه بر تغییرات آلبومین سرم خون، در این تحقیق به بررسی مقایسه‌ای و سینرژیک دو ماده فوق در تغییرات آلبومین سرم در برابر

مسمومیت کبدی ناشی از تیواستامید در موش صحرایی نر پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره اتانولی: ریزوم گیاه زردچوبه و دانه‌های قهوه از نوع عربی، از مراکز معتبر تهیه گردید و از نظر کارشناسان هرباریوم دانشگاه آزاد فلاورجان مورد تأیید قرار گرفت.

برای تهیه کردن عصاره هیدروالکلی زردچوبه از روش سوکسیله استفاده شد. بدین صورت که ۴۰gr از پودر زردچوبه در کاغذ صافی قرار گرفته که در بخش تانک دستگاه سوکسیله قرار داده شد. سپس ۲۵۰cc از اتانول ۸۰٪ در بخش بالن دستگاه ریخته شد. محتویات موجود در دستگاه سوکسیله به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. سپس الکل آن توسط دستگاه روتاری (Rotary evaporator) به طور کامل خارج گردید و پودر جامد به دست آمد. همچنین برای تهیه جوشانده قهوه، دانه‌های قهوه توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شد و به وسیله دستگاه Espresso، جوشانده قهوه آماده گردید (۹و۱۰).

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر از نژاد Wistar با وزن ۲۵+۲۰۰ استفاده شد. حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و در لانه حیوانات دانشگاه پزشکی شیراز تحت دوره نوری ۱۲ ساعت، دمای ۵+۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت کافی نگهداری شدند. تغذیه این موش‌های صحرایی توسط غذاهای آماده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام گرفت. البته مقدار عصاره و جوشانده تهیه شده توسط غذاها به حیوانات خورانیده شد. پس ازاتمام و تهیه کردن تمام مواد یعنی (عصاره و جوشانده)، با خوراک مخصوص رت‌ها مخلوط کردیم و به مدت ۱۰ روز در هوای آزاد پهن شد تا تمام رطوبت آن از بین برود و خشک شوند، این عمل مانعی برای کپک زدن احتمالی این مواد بود. سپس این غذاها به جای غذای عادی مورد مصرف رت‌ها قرار گرفت (۹و۱۰). ۵۶ سر موش صحرایی در ۷ گروه ۸ تایی به طور تصادفی به داخل قفس‌های مخصوص نگهداری رت‌ها، تقسیم شدند. پس از گروه بندی و پس از طی شدن دوره تطبیق حیوانات با حرارت و رطوبت محل نگهداری، آزمایشات شروع شد. در ضمن اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مراحل لحاظ گردید.

تیمار حیوانات: پس از آماده‌سازی تمام گروه‌ها، به گروه کنترل (کنترل ۱) آب و غذای عادی مخصوص رت‌ها، به گروه شاهد (کنترل ۲) آب و غذای عادی و همراه با تزریق۱ سی‌سی نرمال سالین به عنوان حلال، به گروه سوم و چهارم به ترتیب جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه با دوز mg/Kg ۴ (به عنوان پیش درمان) و به گروه پنجم مخلوطی از جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه با دوز ۲mg/Kg (به عنوان پیش درمان و مقایسه تاثیر مخلوط این دو ماده با مصرف هر کدام به تنهایی) و به گروه ششم هم آب و غذای عادی داده شد (جهت تزریق تیواستامید که این گروه تیمار شده بدون دریافت مداخله هستند). به گروه هفتم زردچوبه خالص با دوز mg/Kg ۴ به صورت خوراکی (به عنوان پیش درمان جهت مقایسه تاثیر این با عصاره زردچوبه) و در مدت ۶۸ روز خورانیده شد. مدت زمان تیمار برای طول مدت متوسط پیش تیمار معمولا در پژوهش‌های قبلی از ۸ هفته تا ۱۰ هفته در نظر گرفته شده بود که زمان این پیش تیمار متناسب با آن در نظر گرفته شد. دوز های به کار رفته در این تحقیق با توجه به مطالعات قبلی و زیر دوز کشنده ۵۰ درصد **LD50% (Letal dose50%)** در نظر گرفته شد.

خونگیری مرحله اول قبل از تزریق تیواستامید پس از ۱۲ ساعت گرسنگی از قلب رت‌ها صورت گرفت انجام شد. بعد از جداسازی سرم نمونه‌ها، میزان آلبومین سرم به شیوه اسپکتروفوتومتری انجام پذیرفت. پس از ۲ روز استراحت به گروه-های سوم و چهارم و پنجم و ششم و هفتم، تزریق تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/Kg در طی یک روز و به صورت درون صفاتی انجام گرفت. چون تاثیرات توکسیک تیواستامید معمولا حدود ۲ روز بعد از تزریق آشکار می‌گردد لذا؛ ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق موش‌های صحرایی توسط ۱۰٪ Ketamine و ۲٪ Xylazine بی-هوش و خونگیری دوم به طور مستقیم از قلب انجام گرفت و میزان سطوح آنزیم آلبومین سرم با استفاده از کیت‌های مخصوص بیوشیمیایی به شیوه اسپکتروفوتومتری اندازه گیری شدند. به منظور مقایسه میانگین آلبومین سرم در گروه‌های مختلف، از آزمون ANOVA وDuncan و به منظور مقایسه میزان آلبومین

سرم قبل و بعد از تزریق تیواستامید از آزمونt جفت شده Paired-T-test استفاده شد. به منظور انجام مراحل آماری داده‌ها، از برنامه نرم افزاری SPSS15 استفاده شد و نمودارها با برنامه نرم افزاری Excel رسم گردید.

نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق بعد از تحلیل با آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) نشان دادند که تزریق تیواستامید با دوز ۱۰۰mg/Kg، میانگین سرمی آلبومین به طور معنی‌داری افزایش یافته است (p=۰/۰۰۴). این امر نشان‌دهنده فشار اکسیداتیو وارد به هپاتوسیت‌ها بوده است. در ضمن آزمون t جفت شده نشان داد که میانگین آلبومین سرم در گروه جوشانده قهوه به طور معنی‌داری کاهش یافته است (p=۰/۰۰۲). یعنی گروهی که پیش تیمار با جوشانده قهوه شده بودند بعد از تزریق تیواستامید، کاهش معنی داری برای میزان آلبومین سرم (۰/۶۲ ± ۲/۴۶) در مقایسه با گروه بدون دریافت قهوه (۰/۲۳ ± ۳/۲۷) نشان دادند که قابل مقایسه با گروه شاهد بدون دریافت کننده تیواستامید (۰/۵۰ ± ۲/۵۹) بود، یعنی پیش تیمار با جوشانده قهوه تا حدود زیادی باعث خنثی سازی اثرات تیواستامید شده است (جدول۱). اما میانگین آلبومین سرم در گروه دریافت کننده مخلوط جوشانده قهوه و عصاره زردچوبه بعد از تزریق تیواستامید افزایش معنی‌داری یافته است (p=۰/ ۰۱). یعنی پیش تیمار با مخلوط این دو ماده نتوانسته هپاتوسیت‌ها را در برابر سم کبدی تیواستامید، مقاوم سازد. در ضمن آزمون Duncan نشان داد که عصاره هیدرواتانلی زردچوبه توانست میزان آلبومین سرم را تا میزان ۰/ ۷۲ ± ۲/ ۹ کاهش دهد که این کاهش در مقایسه با گروه شاهد (۰/ ۵۰ ± ۲/۵۹) معنی دار نیست (جدول۱).

جدول۱: مقایسه میانگین آلبومین سرم درخونگیری اول (قبل از تزریق تیواستامید) و در خونگیری دوم (بعد از تزریق تیواستامید) در گروه‌های مختلف. این جدول نماینده کاهش غلظت آلبومین در گروه پیش تیمار شده با جوشانده قهوه می‌باشد که از نظر آماری قویا معنی‌دار است.

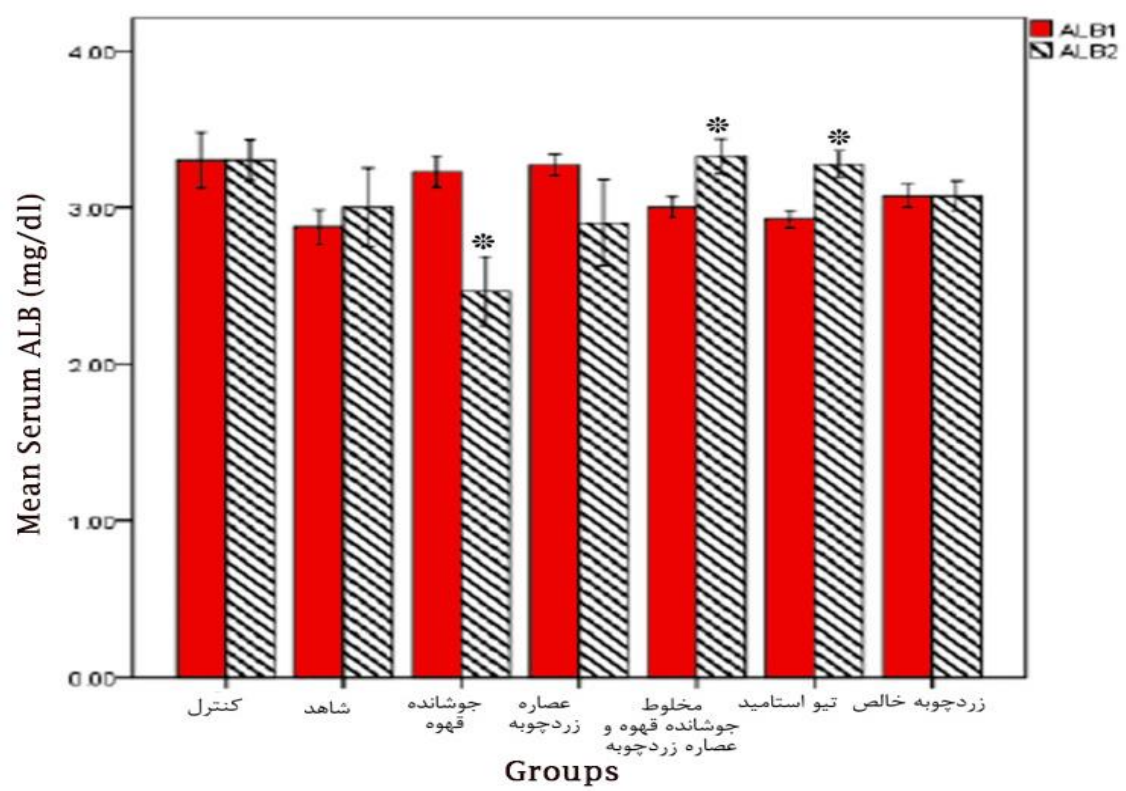
گروه ها N=۸	خونگیری اول Mean ± SD	خونگیری دوم Mean ± SD	P_value
کنترل (گروه کنترل ۱)	۰/ ۳۵ ± ۳/ ۳	۰/ ۲۵ ± ۳/ ۳	۰/ ۵
شاهد (گروه کنترل ۲)	۰/ ۲۲ ± ۲/ ۸۷	۰ /۵۰ ± ۲/۵۹	۰/ ۳۴
جوشانده قهوه	۰/۲۷ ± ۳/ ۲۲	۰/ ۶۲ ± ۲/ ۴۶	۰/ ۰۰۲
عصاره زردچوبه	۰/ ۲۳ ± ۳/ ۲۲	۰/ ۷۲ ± ۲/ ۹	۰/ ۰۶
مخلوط جوشانده قهوه و عصاره زردچوبه	۰/ ۱۹ ± ۳/ ۱۳	۰/ ۲۲ ± ۳/۲۷	۰/ ۰۱
تیواستامید (گروه تیمار شده بدون دریافت مداخله)	۰/ ۱۵ ± ۲/ ۹۲	۰/ ۲۳ ± ۳/ ۲۷	۰/۰۰۴
زردچوبه پودر شده	۰/۱۵ ± ۳/ ۰۷	۰ / ۱۸ ± ۳/ ۰۷	۰/ ۵

همچنین میانگین آلبومین سرم در گروه پیش تیمار شده با پودر زردچوبه ۰/۱۸ ± ۳/۰۷ تغییر معنی داری نسبت به گروه شاهد (۰/۵۰ ± ۲/۵۹) ایجاد نکرد (نمودار ۱).

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد، گروهی که با جوشانده قهوه پیش تیمار شده بودند بعد از تزریق تیواستامید، کاهش معنی‌داری برای میزان آلبومین سرم (۰/۶۲ ± ۲/۴۶) در مقایسه با گروه بدون دریافت قهوه (۰/۲۳ ± ۳/۲۷) و همچنین گروه شاهد بدون دریافت تیواستامید (۰/۵۰ ± ۲/۵۹) پیدا کنند، یعنی پیش تیمار با جوشانده قهوه توانسته است کبد را در مواجهه با سم تیواستامید محافظت نماید. یافته‌های به دست آمده از تحقیق فوق تا حدی مشابه با یافته‌های Kim K. و همکارانش در سال ۲۰۰۰ بود. آنها نشان دادند که تیواستامید استفاده شده توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 موجود در میکروزوم‌های کبدی متابولیزه شده و در اثر اکسیداسیون به تیواستامید S– اکسید تبدیل می‌گردد و تیواستامید S– اکسید، ایجاد استرس اکسیداتیو می‌کند و موجب آسیب سلول‌های کبدی و آپوپتوز و در نهایت نکروز این سلول‌ها می‌شود افزایش این پروتئین ناقل پلاسمایی یکی از نتایج غیر مستقیم ایجاد فشار و آسیب به سلول‌های هپاتوسیت کبدی می‌باشد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تیواستامید موجب آسیب سلول‌های کبدی شده است (۷). از طرفی Sallie R و همکاران در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که ساز و کار آسیب تیواستامید به کبد به واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشند. تیواستامید یک ماده شیمیایی است که از این سم برای

نمودار ۱: مقایسه میانگین آلبومین سرم قبل و بعد از تزریق تیواستامید در گروه‌های مختلف. این تاثیرات نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار و مفید آلبومین در گروه جوشانده قهوه حتی بعد از تزریق تیو استامید می‌باشد، در حالی که در بقیه گروه‌ها تفاوت‌ها معنی دار نیست و یا آلبومین افزایش یافته است. در ضمن هر ستون میانگین ۸ بار تکرار برای تاثیر هر تیمار بر روی آلبومین سرم می‌باشد.



القای سیروز کبدی و آنسفالوپاتی هپاتیک حاد استفاده می‌شود. تیواستامید پس از ورود به بدن توسط آنزیم‌های سیستم سم زدایی سیتوکروم P۴۵۰ متابولیزه می‌شود (۸و۹). متابولیسم تیواستامید، تیواستامید S- اکسید و متابولیت‌های دیگری را تولید می‌کند. نهایتاً تیواستامید S- اکسید یک ترکیب واسطه در مراحل اکسیداسیون تیواستامید توسط منواکسیژنازهایی با اعمال متفاوت می‌باشد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌های کبد می‌شود. همچنین، تیواستامید در دوزهای بالا موجب نکروز و آپوپتوز سلول‌های کبد می‌شود.

از طرفی رادیکال‌های آزاد حاصل از تیواستامید، به غشاء سلول‌های کبدی حمله می‌کنند و باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود و این باعث می‌شود که سیالیت غشاء کمتر شود و در نتیجه تغییر در نفوذپذیری آن رهاسازی مواد و پروتئین ها از جمله آلبومین از داخل سلول به داخل سرم می‌شوند (۷و۱۰).

در این تحقیق گروهی که پیش تیمار با جوشانده قهوه شده بودند بعد از تزریق تیواستامید کاهش معنی‌داری برای میزان آلبومین سرم در مقایسه با گروه بدون دریافت قهوه نشان دادند که قابل مقایسه با گروه شاهد بدون دریافت کننده تیواستامید بود. می‌توان به این نتیجه رسید که پیش تیمار با جوشانده قهوه دارای بیشترین تاثیر محافظتی به صورت پیش تیمار بر سلول‌های کبدی در مواجهه با تیواستامید به عنوان یک سم کبدی بوده است، که این تغییر در هپاتوسیت ها با کاهش میزان آلبومین سرم در برابر آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط تیواستامید نمایان شده است (نمودار۱). در تحقیقات قبلی بر روی میزان آنزیم‌های کبدی و بافت کبدی در اثر القا استرس اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تیو استامید بحث شده بود در حالی که بررسی تاثیرات پیش درمانی با زردچوبه و جوشانده قهوه بر میزان آلبومین پلاسمایی به عنوان یک فاکتور موثر عملکرد کبدی بررسی نشده بود. در تحقیق حاضر احتمالا ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره قهوه، رادیکال های آزاد حاصل از تیو استامید را خنثی نموده‌اند. از طرفی ترکیبات پلی فنلی در جوشانده قهوه باعث حفظ سلول‌های کبد می‌شوند. ترکیبات پلی فنلی و به ویژه فلاونوئیدها در مرحله نخست بر روی سیستم سیتوکروم P۴۵۰ اثر مهاری دارد و از متابولیسم بیشتر تیواستامید جلوگیری می‌کنند و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد کاهش می‌یابد، بنابراین جوشانده قهوه به تنهایی به عنوان یک پیش تیمار موثر در حفظ و نگهداری عملکرد هپاتوسیت‌ها و حتی کاهش غلظت آلبومین پلاسمایی حتی بعد از ورود فشار اکسیداتیو حاصل از تیواستامید موثر بوده است (۸و۹). اما در تحقیق حاضر، تاثیرات عصاره هیدرواتانلی زرد چوبه و زردچوبه خالص، تاثیر معنی‌داری در کاهش میزان آلبومین سرم نشان نداد. نتایج این تحقیق بر خلاف یافته‌های Reddy AC و همکارانش بوده است. فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در کبد رت از نژاد ویستار که زردچوبه در تغذیه رژیم غذایی آنها به مدت ۱۰ هفته به کار رفته نسبت به گروه کنترل بالاتر بوده و این دلالت بر اثر مهار کننده زردچوبه بر پراکسیداسیون لیپیدها از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی دارد (۱۰). احتمالا علت این تفاوت طولانی‌تر بودن زمان تیمار این محققین و متفاوت بودن نوع عصاره آنها از زردچوبه می‌باشد. بدین معنی که عصاره متانولی موثرتر از عصاره اتانولی بوده است. از آنجا که آلبومین سرمی در سلول‌های کبدی ساخته می‌شود، اندازه‌گیری این فاکتور با توجه به بازگردش سریع آن، یکی از سریع‌ترین معیار های مستقل عملکرد سنتتیک کبد است. در تحقیق حاضر با مصرف منظم جوشانده قهوه در مدت ۶۸ روز میزان میانگین آلبومین سرم از ۳/۲۲±۰/۲۷ به۲/۴۶±۰/۶۲ کاهش معنی داری داشته است. این یافته‌ها مشابه با نتایج تحقیقات Dikshit و همکارانش در سال ۱۹۹۵ می باشد. آنها بیان کردند که این اثر به دلیل خواص آنتی اکسیدانی این ماده می‌باشد (۱۱). Casiglia و همکاران در سال ۱۹۹۳ بیان کردند کسانی که بیش از ۳ استکان قهوه در روز می‌نوشند، در مقایسه با کسانی که هیچ قهوه‌ای در روز نمی‌نوشند میزان کمتری از آنزیم‌های کبدی دارند (۱۲). تحقیقات ۹ ساله دانشمندان ژاپنی نشان می‌دهد مصرف منظم قهوه به دلیل دارا بودن اسید کلروژونیک، خطر ابتلا به سرطان کبد را تا ۴۹ درصد و مصرف نامنظم قهوه می‌تواند خطر ابتلا به سرطان کبد را تا ۲۹ درصد کاهش دهد. از طرفی Inoue M و همکارانش نشان دادند که

ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در قهوه عامل اصلی محافظت سلول‌های کبدی در برابر عوامل سمی و کارسینوژن می‌باشند (۱۳و۱۴). ترکیبات پلی فنلی موجود در قهوه، باعث ترمیم سلول-های کبد و مهار گلوکورونیداز می‌شوند. در نهایت در تیمار طولانی مدت با این گیاهان، می‌توان آسیب‌های وارده سلول را ترمیم نمود. عملکرد جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه در مقایسه با عصاره زردچوبه و زردچوبه خالص، در کاهش میزان خسارات وارده به سلول کبدی و حفاظت از این سلول‌ها عملکرد بهتری داشته است (۱۵). این نتایج نشان دهنده این است که با عمل عصاره گیری هیدروالکلی، استخراج بهتر مواد موثر زردچوبه انجام گرفته و تاثیرات درمانی بر مهار آسیب کبدی و ترمیم آن بهتر بوده است (نمودار ۱). با بررسی نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که جوشانده قهوه به علت ترکیبات آنتی اکسیدانی و پلی فنل‌های موجود در آن که تا حدی مشابه با ترکیبات چای سبز است دارای قوی‌ترین اثر حفاظتی موثر در برابر سموم کبدی بوده است (۱۶و۱۷). با توجه به این که مصرف این گیاهان به عنوان نوشیدنی و چاشنی غذایی در کشور ما رایج می‌باشد، بررسی اثرات دوزهای متفاوت و عصاره‌های مختلفی از این گیاهان بر روی ترمیم بافت کبد در تحقیقات بعدی پیشنهاد می‌گردد. یعنی افرادی که به صورت پیش تیمار قهوه بنوشند، کبد مقاوم‌تری در مقایسه با افراد عادی در برابر مواجه با سموم کبدی دارند. بنابراین استفاده از این دم نوش گیاهی در انسان به عنوان یک داروی گیاهی موثر در پیشگیری از بیماری‌های کبدی و مقاومت در برابر سموم کبدی پیشنهاد می‌گردد.

References

1. Jeong TC, Gu HK, Park JI, Yun HI, Kim HC, Ha CS, et al. Pretrea tment of male BALB /C mice β-ionone potentiates thioacetamide induced hepatotoxicity. TL. 1999;105(1):39-46.
2. Sun F, Hayami S, Ogiri Y, Haruna S, Tanaka K, Yamada Y, et al. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. BBA. 2000;1500 (2):181-185.
3. 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; 79 (1): 35-41.
4. Ahmed B, Alam T, Varshney M, Khan SA. Hepatoprotective of two plants belonging to the Apiaceae and the Euphorbiaceae family. J Ethnopharmacol. 2002; 79 (3): 313-316.
5. Singh A, Handa SS. Hepatoprotective activity of Apium graveolons and Hygrophila auriculata against paracetamol and thioacetamide intoxication in rats. J Ethnopharmacol. 1995; 4(3): 126-131.
6. Li X, Benjamin IS, Alexander B. Reproducible production of thioacetamide-induced macronodular irrhosis in the rat with no mortality. J Hepatol. 2002;36(4):488-93.
7. Kim KH, Bae JH, Cha SW, Han SS, Park KH, Jeng TC. Role of metabolic activation by cytochrome P450 in thioacetamide-induced suppression of antibody response in male BALB/C mice. Tetrahedron Letters. 2000;114(1-3):225-235.
8. Yokozawa T, Ishida A, Cho EJ, Nakagawa T. The effects of Coptidis Rhizoma extract on a hypercholesterolemic animal model. Phytomedicine. 2003;10(1):17-22.
9. 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 Hepatology. 2001;35(4):457-464.
10. Reddy AC, Lokesh BR. Effect of dietary turmeric (Curcuma longa) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver. Food Chem Toxicol.1994;32(3):279-83.
11. Dikshit M, Rastogi L, Shukla R, Srimal RC. Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin and quinidine in the cat heart. Indian J Med Res.1995;101(1):31–5.
12. Casiglia E, Spalaore P, Inocchio G, Amrosio B. Unexpected effects of coffee consumption on liver enzymes. Eur J Epidemiol.1993; 9(3):293-297.
13. Inoue M, Tajiama K, Hirose K, Hamajiama N, Takezaki T, Kuroishi T, et al. Tea and coffee consumption and the risk of digestive tract cancers: data from a comparative case-referent study in

Japan. Cancer Causes Control.1998;9(2):209-216.
14. Bergendi L, Benes L, Darackova Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. Life Sciences. 1999;18(10):1865-1874.
15. Okada K, Wangpoengtrakut C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K, Osawa T. Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress induced renal injury in mice. J Nutr. 2001;131(8):2090-2095.
16. Frei B, Higdon J. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. J Nutr. 2003; 133(10): 3275-3284.
17. Gupta M, Mazumder U, Kumar T, Gomathi P, Kumar R. Antioxidant and hepatoprotective effects of Buhinia racemosaagainst paracetamol and carbon tetrachloride induced liver damage in rats. Iranian journal of pharmacology and therapeutics. 2004;3(3):12-20

Original Article

The Comparison of Pretreatment Effects of Boiled Coffee and Curcuruma Longa on Serum Albumin as a Liver Indicator in Male Rats Injected with Tioacetamide

Rabbani Haghighi N[1*], Naghsh N[2], Mehrabani D[3]

1. Department of Animal Biology, Faculty of Science , Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Fars, Iran.
2- Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
3- Department of Pathology, Stem Cell Research and Transgenic Technology, Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received: 19 Jul 2013 Accepted: 20 Oct 2013

Abstract

Background & Objective: Due to the vital role of liver in the detoxification, the present study determined the pretreatment effects of boiled coffee and Curcuruma Longa on serum Albumin as a liver indicator in male rats treated with tioacetamide.

Materials & Methods: In this study, 56 male rats were divided into 7 groups of 8. During their pretreatment period of 68 days, the boiled coffee, pure curcuruma longa and Curcuruma Longa extraction each with a dose of 4mg/kg and the combination of boiled coffee and Curcuruma Longa extraction with the dose of 2 mg/kg as a food was given to rats in their diets.. The first blood punctuation was performed. Then 100mg/kg tioacetamide were injected inter peritoneal in order to induce liver damage. The second blood punctuation was performed after 48 hours and the serum albumin level in the control and treatment groups were compared using ANOVA statistical method.

Results: The results of these investigations were shown that the average of serum albumin in control group was 2.87±0.22 that increased to 3.27±0.23 of tioacetamide treated group. The average of albumin boiled coffee group was 2.46±0.62 that decreased significantly ($p<0.01$).

Conclusion: In this study, it was shown that the boiled coffee has the best protective liver effect. This effect is probably due to polyphonic compounds that neutralized the free radicals. The coffee drinking such kind of drinks could be suggested as a protective effect on liver damages in human.

Keywords: **Curcuruma Longa extraction, coffee boiled, albumin, tioacetamide.**

•**Corresponding author**: **Najmeh Rabbani Haghighi,** Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Shiraz, Iran.
Tel: +98 9177098535
E.mail: najmehrabani@yahoo.com