

بررسی اثرات ضد التهابی و ضد آسیب‌های اکسیداتیو قارچ گانودرما لوسیدوم در آسیب کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در موش صحرایی

رضا همتان عطارباشی^۱ (DVM)، امیررضا کرمی بناری^{۲*} (Ph.D)، طرلان فرهوش^۳ (Ph.D)

۱- دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

۲- گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

۳- گروه علوم دامی، دانشکده دامپزشکی و کشاورزی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۴/۱۱

pharmakarami@yahoo.com

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۴۱۷۲۶۹۸

چکیده

هدف: در سال‌های اخیر استفاده از محصولات طبیعی به عنوان درمان جایگزین برای بسیاری از بیماری‌ها رایج شده است. این مطالعه با هدف تعیین اثر محافظتی قارچ گانودرما لوسیدوم بر آسیب کبدی ایجاد شده توسط داروی دوکسوروبیسین انجام گرفت. مواد و روش‌ها: ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم گردیدند: گروه کنترل که فقط سالین از راه گاوآژ دریافت نمودند. گروه دوکسوروبیسین که دوکسوروبیسین را با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از راه داخل صفاقی در روز دوم دریافت نمودند. گروه گانودرما که عصاره آبی گانودرما را با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به وسیله گاوآژ به مدت ۱۵ روز دریافت نمودند و گروه گانودرما- دوکسوروبیسین که گانودرما و دوکسوروبیسین را با همان پروتوکول گروه‌های گانودرما و دوکسوروبیسین دریافت نمودند.

یافته‌ها: در این مطالعه افزایش معنی‌داری در بیان Tumour necrosis factor alpha (TNF α) و سطح Malondialdehyde (MDA) در کبد و کاهش معنی‌داری در سطوح Superoxide dismutase (SOD)، Total Glutathione peroxidase (GPx) و antioxidant capacity (TAC) در سرم موش‌هایی که دوکسوروبیسین دریافت نمودند در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. کاهش معنی‌داری در بیان ژن TNF- α و سطوح MDA و افزایش معنی‌داری در سطوح SOD، GPx، TAC در سرم و بافت کبد موش‌هایی که گانودرما را با دوکسوروبیسین دریافت نمودند در مقایسه با گروه دوکسوروبیسین مشاهده گردید ($P < 0.05$). نتیجه‌گیری: دوکسوروبیسین می‌تواند سمیت مشخصی در کبد ایجاد نماید و درمان با گانودرما لوسیدوم بهبود بالقوه‌ای در کبد از طریق تضعیف استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی ایجاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: دوکسوروبیسین، گانودرما لوسیدوم، کبد

مقدمه

قارچ گانودرما لوسیدوم حدود ۲۴۰۰ سال پیش کشف گردید که خواصی مثل افزایش طول عمر و بهبود حافظه به آن نسبت داده می‌شود [۱]. قارچ گانودرما خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدتوموری دارد [۲،۳]. مهم‌ترین ترکیبات فعال فارماکولوژیکی در این قارچ تری‌پنویئیدها و پلی‌ساکاریدها می‌باشند. در حال حاضر به عنوان یک ماده کمکی در پیشگیری از اثرات شیمی‌درمانی و مقابله با سرطان به کار می‌رود [۱]. پلی‌ساکاریدهای موجود در این قارچ فعالیت متعددی مانند تعدیل سیستم ایمنی، اثرات ضد دژنراسانس نورونی، ضد دیابتی، ضد التهابی و ضد باکتریایی دارند [۴،۱]. هم‌چنین پلی‌ساکاریدها با تقویت اجزای سیستم ایمنی و افزایش میزان

سایتوکائین‌ها خاصیت ضدسرطانی نیز نشان می‌دهند [۵]. مطالعات لیو و همکاران نشان داد که پلی‌ساکاریدهای با وزن مولکولی پایین جدا شده از این قارچ توانایی بالایی در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد و شلاته کردن آهن دو ظرفیتی دارند بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارند [۱]. تری‌پنویئیدهای موجود در این قارچ عمدتاً از نوع گانودریک اسید می‌باشد که اثرات کاهش فشارخون و کلسترول خون، اثرات محافظتی کبدی و اثرات ضد عروق‌زایی و ضد تجمع پلاکتی دارند [۵، ۶، ۷، ۸]. پلی‌فنل‌های موجود در این قارچ خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند [۹]. تری‌پنویئیدهای موجود در گانودرما لوسیدوم می‌توانند نقش محافظ کبدی در برابر هپاتیت حاد ناشی از سم تتراکلریدکربن ایفا کنند [۱۰]. تحقیق پارک و

تکرار شد. عصاره‌های نهایی فیلتر شد و تحت فشار کم خشک شدند. عصاره‌های جمع‌آوری شده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند [۲۰]. داروی دوکسوروبیسین به شکل ویال ۲mg/ml از شرکت Cell pharm آلمان تهیه گردید. تمام آزمایشات بر اساس اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و تکنیک مطالعه نیز توسط کمیته اخلاق دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز با کد اخلاق IR.IAU.TABRIZ.REC.1399.189 مورد تصویب قرار گرفت.

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی 210 ± 10 گرم که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده داروسازی ارومیه خریداری گردید، استفاده شد. این حیوانات در دمای 22 ± 3 درجه و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته و رطوبت ۵۰ تا ۵۵ درصد و بدون محدودیت دسترسی به آب و غذا نگهداری می‌شدند. پس از دو هفته سازگاری موش‌ها با محیط آزمایشگاه، ۳۲ سر موش آزمایشگاهی به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. این گروه‌ها شامل ۱- گروه کنترل: روزانه نرمال سالین ۰/۹ درصد به صورت خوراکی دریافت نمودند [۱۲]. ۲- گروه تیمار با گانودرما: موش‌های این گروه با عصاره آبی قارچ گانودرما لوسیدوم به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت خوراکی و به مدت ۱۵ روز مورد تیمار قرار گرفتند [۲۱]. ۳- گروه تیمار با دوکسوروبیسین: برای ایجاد مسمومیت کبدی، روز دوم آزمایش میزان ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم دوکسوروبیسین به صورت تزریق داخل صفاقی به موش‌ها تجویز شد [۱۷]. ۴- گروه تیمار با دوکسوروبیسین + گانودرما: به مدت ۱۵ روز، روزانه مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت خوراکی عصاره آبی گانودرما تجویز شد هم‌چنین روز دوم آزمایش نیز به منظور ایجاد مسمومیت کبدی میزان ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم دوکسوروبیسین به صورت تزریق داخل صفاقی به موش‌ها تجویز شد [۱۷، ۲۱].

آماده‌سازی نمونه‌ها. پس از گذشت ۱۵ روز، نمونه‌گیری خون از قلب موش‌ها برای سنجش میزان کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدئید، سوپراکسیددیسموتاز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز انجام شد. پس از خارج کردن قسمتی از بافت کبد، ۱ گرم از بافت کبد قطعه قطعه گردیده و در یک لوله ریخته شد و به میزان ۱۰ میلی‌لیتر، به آن بافر هموژنیزاسیون (بافر فسفات، $\text{pH}=7/2$) اضافه گردید و با استفاده از هموژنایزر به مدت ۴ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه شد. سوپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه توسط سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفیوژ شد تا مواد

همکاران نشان داد که این قارچ می‌تواند در درمان فیروز کبدی ناشی از انسداد مجاری صفراوی موثر واقع شود [۱۱]. مطالعات هو و همکاران نشان داد که این قارچ با کاهش تولید فاکتور نکروزکننده تومور آلفا و اینترلوکین ۶ از آسیب کبدی القا شده توسط لیپولی ساکارید جلوگیری نماید [۳]. دوکسوروبیسین در درمان بسیاری از سرطان‌ها از جمله رحم، تخمدان، پستان و ریه، بیماری هوجکین (Hodgkin disease) و سارکومای بافت نرم به‌کار می‌رود اما دارای عوارض جانبی بر روی کلیه و کبد می‌باشد [۱۲]. هم‌چنین دوکسوروبیسین سمیت قلبی بالایی هم دارد [۱۳]. تصور می‌شود مکانیسم آسیب کبدی ناشی از داورهای شیمی‌درمانی به تولید گونه‌های فعال اکسیژن ارتباط داشته باشد [۱۴]. آسیب اکسیداتیو به غشاء لیپیدی، فاکتور بزرگی در سمیت دوکسوروبیسین محسوب می‌گردد [۱۶، ۱۵، ۱۲].

آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زاد که عمدتاً شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز هستند باعث مهار اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن بر سلول‌های سالم و محافظت از آن‌ها می‌شوند [۱۷]. تحقیقات نشان داده که دوکسوروبیسین فعالیت این آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زاد را مهار نموده و باعث افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید در کبد می‌گردد. هم‌چنین در پی آسیب به هیپاتوسیت‌ها، ناشی از سمیت دوکسوروبیسین، مقادیر سرمی آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز افزایش معناداری پیدا خواهند کرد [۱۵]. استرس اکسیداتیو ناشی از دوکسوروبیسین هم‌چنین باعث التهاب بافت کبد شده و با افزایش مقدار فاکتور نکروزکننده تومور آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) همراه است [۱۸]. به‌نظر می‌رسد که با مصرف مکمل‌های حاوی آنتی‌اکسیدان، می‌توان تا حدودی اثرات سمی ایجاد شده ناشی از مصرف این نوع داروها را خنثی نمود [۱۹].

هدف از این مطالعه بررسی اثرات دریافت قارچ گانودرما لوسیدوم بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بیان ژن $\text{TNF-}\alpha$ در آسیب کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره آبی. قارچ گانودرما لوسیدوم از هر بارיום دانشگاه تربیت مدرس با کد TMU۳۶۹ تهیه شد. در آزمایشگاه قارچ خشک شده پودر شد و در یک ظرف هوای فشرده قرار داده شد. ۲۵ گرم از پودر گانودرما لوسیدوم به صورت جداگانه با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دستگاه سوکسله به مدت ۶ ساعت (جهت استخراج عصاره) مخلوط گردید. عمل استخراج دو بار

Green همراه می‌باشد و همین امر اساس سنجش مقدار DNA تکثیرشونده در میکروتیوپ‌ها خواهد بود. واکنش‌ها در میکروتیوپ‌های ۰/۲ میلی‌لیتری و در دستگاه Rotor-۶۰۰۰ gene انجام شد و کیت شرکت TaKaRa در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه از روش نسبی استفاده شد، بدین معنی که از رونوشت مربوط به یک ژن خانه‌دار (House keeping) جهت اصلاح خطاهای ناشی از نمونه‌برداری بهره‌گیری شد که ژن خانه‌دار مورد استفاده در این مطالعه GAPDH بود [۲۴]. جهت طراحی پرایمرها از نرم‌افزار آنلاین ۳ PRIMER استفاده شد. پس از طراحی، اختصاصی بودن آن‌ها به روش BLAST کنترل شد تا کاملاً اختصاصی و منحصر به ژن‌های مورد نظر باشند. پرایمرها بعد از طراحی، جهت ستنز به شرکت تکاپو زیست سفارش داده شدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده در شکل ۱ ارائه شده است.

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول حاصل از تکثیر (BP)
TNF-α	Forward	5'-CAACACATCTCCCTCCGGAAA-3'	۱۱۳
	Reverse	5'-CACAGACACCGCTGGAGTTC-3'	
GAPDH	Forward	5'-CTCTCTGCTCCTCCCTGTCT-3'	۹۹
	Reverse	5'-CAAATCCGTTACACCGACCT-3'	

شکل ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده

نتایج حاصله از Real - Time توسط روش Pfaffl Method مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از کمی‌سازی، مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ - تجزیه و تحلیل گردید. به منظور بررسی سطح معنی‌داری تغییرات بیان هر یک از ژن‌ها در نمونه‌های بافت کبد مورد مطالعه، از نرم‌افزار SPSS v.۲۲ استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده از آزمایشات بیوشیمیایی خون و بافت با نرم‌افزار SPSS v.۲۲ شدند. به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. در مرحله بعد آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بررسی تفاوت مشاهده شده بین گروه‌های آزمایشی انجام گرفت (فرمول ۱) و میانگین گروه‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ijk} \quad \text{فرمول ۱}$$

در این فرمول Y_{ij} : مشاهدات مربوط به هر پارامتر مورد بررسی، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار i ام، e_{ijk} : خطای آزمایشی بودند. به منظور بررسی میزان بیان ژن TNF-α، داده‌های حاصل از q-RT PCR با نرم‌افزار SPSS v۲۲ آنالیز شدند و به کمک نرم‌افزار GraphPad Prism v. ۸ (La Jella, CA, USA) روش آنالیز واریانس یک‌طرفه بررسی و میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار میانگین (SEM) گزارش شدند و مقایسات میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام گرفت.

زاید رسوب کنند و محلول هموژن خالص برای اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، مالون دی آلدئید و کاتالاز مورد بررسی قرار گرفت. از سویی دیگر مقداری از بافت کبد نیز در ازت مایع تا زمان رسیدن به آزمایشگاه برای اندازه‌گیری بیان ژن نگهداری شد.

روش کار آزمایشات بیوشیمیایی خون و بافت. پس از انجام سانتریفیوژ و جداسازی سرم، تشخیص کمی AST و ALT در نمونه‌ی سرم به روش فتومتریک با کیت پارس آزمون انجام گرفت. تشخیص کمی توتال پروتئین به روش Biuret در نمونه‌ی سرم با استفاده از کیت پارس آزمون و اندازه‌گیری کلسترول نیز توسط همین کیت صورت پذیرفت.

میزان MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، مطابق روش Uchiyama و همکارانش اندازه‌گیری شد [۲۲]. اساس روش اندازه‌گیری MDA بر پایه واکنش با تیوباریتوریک اسید، استخراج با بوتانل نرمال، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد می‌باشد [۲۲]. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام TAC با استفاده از کیت Randox total antioxidant status kit (Randox Laboratories Ltd, Crumlin, UK) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری کاتالاز، از روش Aebi در سنجش این پارامتر استفاده گردید بدین صورت که ۱۰ میکرولیتر از نمونه را برداشته و با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر رقیق شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از این محلول را با ۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ میلی‌مولار مخلوط و در طول موج ۲۴۰ نانومتر تغییرات جذب در ۱ دقیقه مانیتور شد. واکنش شیمیایی با اضافه کردن پراکسید هیدروژن شروع شد. سپس فعالیت آنزیم محاسبه گردید [۲۳]. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز نیز با استفاده از کیت RANSEL (Randox Laboratories Ltd, Crumlin, UK) تعیین گردید. تمام آزمایشات بیوشیمیایی توسط دستگاه اتوآنالیزور Alycon 300 انجام شد.

روش کار آزمایشات بیان ژن. جهت اندازه‌گیری بیان ژن TNF-α در بافت کبد، از تکنیک Real time - PCR استفاده شد. بدین منظور در ابتدا RNA موجود در نمونه‌ها با استفاده از کیت RNeasy protect Mini Kit, Qiagen استخراج شد. سپس سنتز cDNA توسط کیت Takara صورت پذیرفت. در این پروژه واکنش Real time -PCR با استفاده از روش SYBR Green صورت گرفت. در این روش رنگ گزارشگر SYBR Green تنها به DNA دو رشته‌ای متصل شده و در این هنگام با جذب طول موج ۴۹۷ نانومتر، امواجی را در طول موج ۵۲۰ نانومتر منتشر می‌کند که دستگاه ترموسایکلر قادر است این امواج را شناسایی کرده و اندازه‌گیری کند. افزایش تعداد کپی‌های نمونه در هر چرخه با افزایش امواج منتشره از SYBR

نتایج

نتایج حاصل از بررسی پارامترهای خونی مورد بررسی، در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است.

با بررسی جدول‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود که تمام پارامترهای مورد بررسی در خون، به صورت معنی‌داری تحت تاثیر تیمار اعمال شده قرار گرفته‌اند ($P < 0/05$). مقدار کلسترول و AST در گروه دوکسوروبیسین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل ($P < 0/05$) بود، در حالی که در سایر گروه‌ها در میزان کلسترول و AST تفاوت معنی‌داری دیده نشد. مقدار ALT در گروه دوکسوروبیسین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل ($P < 0/05$) و در گروه گانودرما و گانودرما-دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه دوکسوروبیسین کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). پروتئین تام خون در گروه دوکسوروبیسین نسبت به سایر گروه‌ها، دارای کم‌ترین میزان بود ($P < 0/05$). مقدار TAC در گروه دوکسوروبیسین به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود و در گروه گانودرما و گانودرما-دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$). گروه‌های کنترل و گانودرما - دوکسوروبیسین تفاوت معنی‌داری را در میزان TAC نشان ندادند ($P > 0/05$).

مقدار MDA در گروه دوکسوروبیسین افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$). در گروه گانودرما و گانودرما-دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین کاهش معنی‌داری در مقدار MDA مشاهده گردید ($P < 0/05$). ولی تفاوت معنی‌داری بین گروه گانودرما و گانودرما - دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل دیده نشد. در مورد تغییرات SOD، گروه دوکسوروبیسین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$)، در گروه گانودرما - دوکسوروبیسین در میزان SOD افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دوکسوروبیسین مشاهده شد ($P < 0/05$). مقدار آنزیم SOD در گروه‌های گانودرما، گانودرما-دوکسوروبیسین و کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در گروه دوکسوروبیسین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$)، گروه گانودرما-دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$) و با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در گروه گانودرما نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری دیده شد ($P < 0/05$).

مقدار کاتالاز در گروه دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد، در گروه دوکسوروبیسین-گانودرما میزان کاتالاز افزایش ولی در مقایسه با گروه کنترل و دوکسوروبیسین تفاوت معنی‌داری نداشت ($P < 0/05$).

نتایج حاصل از بررسی پارامترهای کبدی در جدول ۳ خلاصه شده است.

با بررسی جدول ۳ مشاهده می‌گردد که مقدار TAC، GPx، SOD، MDA و CAT در بین گروه‌های آزمایشی به طور معنی‌داری اختلاف داشت ($P < 0/05$).

مقدار TAC در گروه دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$). در گروه گانودرما-دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین، گروه کنترل و گروه گانودرما تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P > 0/05$). مقدار GPx در گروه دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$).

در گروه گانودرما-دوکسوروبیسین افزایش معنی‌داری در میزان GPx نسبت به گروه دوکسوروبیسین دیده شد ($P < 0/05$) هم‌چنین افزایشی هم نسبت به گروه کنترل دیده شد ولی در مقایسه با گروه گانودرما تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$). مقدار MDA در گروه دوکسوروبیسین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$) میزان MDA در گروه گانودرما-دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$) ولی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P > 0/05$). میزان SOD در گروه دوکسوروبیسین به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ($P < 0/05$). در گروه گانودرما-دوکسوروبیسین میزان SOD به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دوکسوروبیسین افزایش نشان داد ($P < 0/05$). میزان SOD در گروه‌های کنترل، گانودرما و گانودرما-دوکسوروبیسین تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$).

مقدار کاتالاز در گروه دوکسوروبیسین به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($P < 0/05$). میزان کاتالاز در گروه گانودرما-دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). تفاوت معنی‌داری در میزان کاتالاز در این گروه با گروه کنترل مشاهده نشد ($P > 0/05$).

جدول ۱. مقایسه میانگین (\pm SE) میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و سطح پارامترهای SOD, GPx, MDA و CAT در نمونه خون موش‌های صحرایی مورد بررسی

گروه / پارامتر	TAC mmol/l	SOD U/gHb	GPx U/gHb	MDA nmol/ml	CAT U/gHb
کنترل	$0.55^b \pm 0.03$	$1627/88^a \pm 164 \pm 93$	$56/38^b \pm 5 \pm 91$	$1/73^b \pm 0.5 \pm 50$	$587/28^a \pm 78 \pm 65$
دوکسوروبیسین	$0.42^c \pm 0.04$	$1304/37^b \pm 137 \pm 20$	$43/68^c \pm 8 \pm 13$	$2/38^a \pm 0.3 \pm 34$	$402/48^b \pm 159 \pm 13$
گانودرما	$0.62^a \pm 0.11$	$1714/35^a \pm 272 \pm 56$	$64/51^a \pm 10 \pm 32$	$1/62^b \pm 0.3 \pm 36$	$579/74^a \pm 124 \pm 6$
گانودرما + دوکسوروبیسین	$0.52^b \pm 0.11$	$1580/18^a \pm 72 \pm 18$	$55/92^b \pm 5 \pm 10$	$1/81^b \pm 0.3 \pm 28$	$503/19^{ab} \pm 47 \pm 0.7$
کل	0.53 ± 0.11	$1556/69 \pm 229 \pm 43$	$55/12 \pm 10 \pm 48$	$1/88 \pm 0.3 \pm 47$	$518/18 \pm 131 \pm 78$
F-Value	8/21	8/00	10/11	6/59	4/80
Sig	0/0004	0/0005	0/0001	0/002	0/0080

(حروف غیرمشابه در هرستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

جدول ۲. مقایسه میانگین (\pm SE) بررسی میزان کلسترول، AST، ALT و پروتئین تام در نمونه خون موش‌های صحرایی مورد بررسی

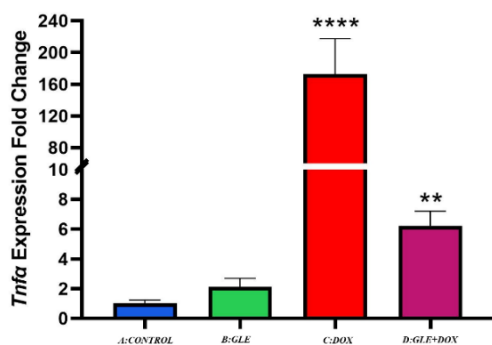
گروه / پارامتر	Chol mg/dl	AST U/l	ALT U/l	Total Pro gr/dl
کنترل	$79/00^b \pm 9 \pm 63$	$125/62^b \pm 21 \pm 36$	$51/75^b \pm 3 \pm 37$	$6/23^a \pm 0.3 \pm 26$
دوکسوروبیسین	$106/63^a \pm 27 \pm 48$	$162/37^a \pm 21 \pm 87$	$65/50^a \pm 4 \pm 89$	$4/55^c \pm 0.3 \pm 34$
گانودرما	$73/25^b \pm 10 \pm 47$	$109/00^b \pm 5 \pm 15$	$37/37^c \pm 7 \pm 93$	$6/17^a \pm 0.3 \pm 25$
گانودرما + دوکسوروبیسین	$89/62^b \pm 10 \pm 79$	$116/13^b \pm 9 \pm 77$	$46/62^b \pm 4 \pm 71$	$5/42^a \pm 0.3 \pm 30$
کل	$87/12 \pm 20 \pm 22$	$128/28 \pm 25 \pm 97$	$50/31 \pm 11 \pm 57$	$5/59 \pm 0.3 \pm 75$
F-Value	6/40	17/05	36/63	59/45
Sig	0/002	<0/0001	<0/0001	<0/0001

(حروف غیرمشابه در هرستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

جدول ۳. مقایسه میانگین (\pm SE) پارامترهای مربوط به استرس اکسیداتیو در بافت کبد موش‌های صحرایی مورد بررسی

گروه / پارامتر	TAC mmol/l	SOD U/mgPro	GPx U/mgPro	MDA nmol/mgPro	CAT U/mgPro
کنترل	$0.867^a \pm 0.07$	$14/323^a \pm 1 \pm 0.7$	$4/100^b \pm 0.3 \pm 74$	$1/461^b \pm 0.3 \pm 44$	$113/52^{ab} \pm 13 \pm 0.9$
دوکسوروبیسین	$0.677^b \pm 0.07$	$12/644^b \pm 1 \pm 86$	$2/910^c \pm 0.3 \pm 65$	$2/423^a \pm 0.3 \pm 40$	$67/34^c \pm 20 \pm 3$
گانودرما	$0.917^a \pm 0.27$	$15/227^a \pm 0.3 \pm 75$	$5/018^a \pm 0.3 \pm 73$	$0/985^c \pm 0.3 \pm 129$	$142/90^a \pm 25 \pm 4$
گانودرما + دوکسوروبیسین	$0.816^{ab} \pm 0.09$	$14/393^a \pm 2 \pm 28$	$4/850^a \pm 0.3 \pm 63$	$1/513^b \pm 0.3 \pm 24$	$108/58^b \pm 47 \pm 62$
کل	0.819 ± 0.17	$14/397 \pm 1 \pm 63$	$4/469 \pm 0.3 \pm 81$	$1/596 \pm 0.3 \pm 61$	$108/39 \pm 0.8 \pm 28$
F-Value	3/16	1/29	5/01	26/69	8/79
Sig	0/024	0/031	0/007	<0/000	0/0003

(حروف غیرمشابه در هرستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).



شکل ۳. مقایسه بیان ژن TNF- α با استفاده از روش qRT-PCR (گروه A: کنترل، گروه B: عصاره گانودرما لوسیدوم، گروه C: دوکسوروبیسین، گروه D: عصاره گانودرما لوسیدوم - دوکسوروبیسین).

نتایج آزمایشات بیان ژن. پس از آنالیز نتایج qRT-PCR، مشخص شد که میزان بیان ژن TNF- α در گروه دوکسوروبیسین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/001$). میزان بیان ژن TNF- α در گروه گانودرما-دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$) ولی در مقایسه با گروه کنترل و گروه گانودرما بیان ژن مورد مطالعه بالاتر بود (شکل ۳).

بحث و نتیجه گیری

با توجه به اهمیت بیماری سرطان و شیوع گسترده آن، استفاده از داروهای شیمی درمانی افزایش یافته است. دوکسوروبیسین داروی ضدسرطان از دسته آنتراسیکلین‌ها می‌باشد که در شیمی درمانی طیف وسیعی از سرطان‌ها کاربرد دارد، اما این دارو اختصاصی عمل ننموده و به طور ناخواسته بر روی سلول‌های سالم نیز تاثیر گذاشته و به دلیل عوارض جانبی از جمله سمیت قلبی، سمیت کلیوی و کبدی استفاده از این دارو محدود شده است [۱۵].

مطالعات نشان داده که این دارو سبب ایجاد استرس اکسیداتیو و سیگنال آپوپتوز در سلول‌ها شده و منجر به مرگ سلول می‌گردد. یکی از مواردی که سبب آسیب به کبد می‌شود، پراکسیداسیون لیپیدی است. آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زاد در شرایط عادی با مقابله با رادیکال‌های آزاد از آسیب اکسیداتیو ممانعت به عمل می‌آورند. عدم توازن میان رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن منجر به آسیب غشاء سلولی شده و آسیب اکسیداتیو به آن را به دنبال دارد. میزان مالون‌دی‌آلدئید شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدی بوده و در موارد آسیب به غشاء سلولی افزایش می‌یابد [۲۵].

میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام نیز متأثر از این فرآیندها بوده و در صورت تغییر در مقدار فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی، این پارامتر نیز متأثر خواهد شد. هیاتوسیت‌ها دارای دو آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز بوده و در صورت آسیب به این سلول‌ها، آنزیم‌های فوق به بیرون نشت کرده و در نتیجه بر میزان این دو فاکتور در خون افزوده می‌شود. فاکتور نکرورکننده تومور آلفا یک سایتوکائین التهابی بوده و در صورت وجود التهاب و پاسخ ایمنی در بافت هدف، افزایش خواهد یافت. بررسی‌ها نشان داده است که دوکسوروبیسین با افزایش بیش از اندازه گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد سبب آسیب به سلول می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن مهم شامل هیدروژن پراکسید، آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل می‌باشند که در طی فرآیند استرس اکسیداتیو تولید شده و از مکانیسم‌های اصلی در سمیت دوکسوروبیسین تلقی می‌گردند [۱۶].

مطالعات نشان داده که دوکسوروبیسین با آسیب به سلول‌های کبد و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی باعث افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید و بیان ژن فاکتور نکرورکننده تومور آلفا در کبد و نیز افزایش آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در خون می‌شود. از سویی دیگر مشاهده شده که این دارو با سرکوب سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و میزان آنزیم‌های دخیل در آن یعنی

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز گشته و بدین نحو باعث آسیب به بدن می‌شود [۲۶، ۲۷]. مطالعات نشان داده است که عصاره گانودرما خاصیت شلاته‌کنندگی فلزات را دارد که نقش مهمی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن دارد. آهن از جمله این فلزات بوده که تغییرات اکسیداتیو را در چربی‌ها و پروتئین‌ها و سایر اجزا سلولی کاتالیز می‌نماید. مطالعات نشان داده است که آنزیم لیپواکسیژناز در تولید گونه‌های فعال اکسیژن نقش داشته و باعث آسیب سلولی و بیماری‌های مختلف می‌گردد. قارچ گانودرما لوسیدوم از فعالیت این آنزیم جلوگیری می‌نماید با توجه به موارد فوق مشخص می‌گردد که گانودرما لوسیدوم فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد [۲۸].

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی قارچ گانودرما لوسیدوم با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی، می‌تواند باعث کاهش فاکتورهای استرس اکسیداتیو در کبد و خون گردد. ارزیابی میزان آنزیم‌های آمینوترانسفراز و کلسترول خون در گروه‌های مورد مطالعه، کاهش معنی‌داری در مقدار این پارامترها در گروه گانودرما - دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین را نشان داد. هم‌چنین میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در گروه گانودرما - دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین، در خون و کبد، به شکل معنی‌داری کم‌تر بود. پارامترهای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان شاخص‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد و نیز پروتئین تام خون، در گروه گانودرما - دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین افزایش نشان داد. پس نتایج حاکی از این می‌باشد که عصاره آبی قارچ گانودرما لوسیدوم توانسته تا حدود زیادی از آسیب کبدی ناشی از تجویز دوکسوروبیسین ممانعت به عمل آورد. کاهش میزان بیان ژن فاکتور نکرورکننده تومور آلفا در گروه گانودرما - دوکسوروبیسین نسبت به گروه دوکسوروبیسین حاکی از کاهش التهاب در گروه مذکور می‌باشد. از سویی دیگر با بررسی نتایج داده‌ها در گروه گانودرما که شامل موش‌هایی بود که عصاره آبی قارچ گانودرما لوسیدوم را به تنهایی دریافت می‌کردند و مقایسه آن با گروه کنترل، مشخص شد که قارچ مذکور فاقد اثرات سمی بوده و می‌تواند تا حدودی عملکرد طبیعی کبد را نیز بهبود بخشد.

کبد نقشی اساسی در متابولیسم چربی‌ها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها ایفا می‌کند. در مطالعه ما تزریق دوکسوروبیسین باعث آسیب به کبد و به دنبال آن افزایش معنی‌دار میزان کلسترول و نیز کاهش معنی‌دار پروتئین تام سرم شد. افزایش میزان کلسترول ممکن است ناشی از افزایش استریفیکاسیون و

آمینوترانسفراز کبدی و مالون‌دی‌آلدئید و نیز افزایش معنی‌دار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه‌های مورد آزمایش همراه است. تحقیقات ما نیز با این نتایج هم‌خوانی دارد [۳۴].

از جمله محدودیت‌های مطالعه گاواژ موش‌های صحرایی و تزریق داخل صفاقی داروی شیمی‌درمانی دوکسوروبیسین می‌باشد که به ترتیب برای جلوگیری از پنومونی استنشاقی و پیری تونیت نیازمند دقت و توجه بسیار دارند تا هیچ‌کدام از موش‌ها جان خود را از دست ندهند. محدودیت مهمی که در مطالعات حیوانی وجود دارد استفاده از نتایج به دست آمده از این نوع مطالعات و تعمیم آن‌ها برای انسان‌ها به دلیل تفاوت‌های بیولوژیکی بین گونه‌ها و افراد داخل یک گونه می‌باشد که می‌تواند منتهی به نتایج مختلف در شرایط یکسان گردد.

از جمله عوارض داروی شیمی‌درمانی دوکسوروبیسین کاهش سیستم دفاعی بدن و افزایش احتمال ابتلا به عفونت می‌باشد که بایستی محیطی کاملاً تمیز و عاری از آلودگی برای موش‌های صحرایی فراهم نمود. به طور کلی نتایج مطالعه نشان داد که عصاره آبی قارچ گانودرما لوسیدوم به صورت خوراکی از مسمومیت کبدی ناشی از تزریق دوکسوروبیسین در موش‌های صحرایی تا حدود زیادی ممانعت به عمل می‌آورد. همچنین با بررسی و مقایسه گروهی که فقط عصاره گانودرما دریافت کردند با گروه کنترل، مشخص گردید که عصاره آبی این قارچ می‌تواند در حالت عادی نیز تا حدودی در بهبود عملکرد کبد موثر واقع شود. احتمال می‌رود که این اثرات مطلوب، ناشی از وجود تری‌ترین‌ها، پلی‌ساکاریدها و ترکیبات فنولی در این قارچ باشد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره آبی قارچ گانودرما لوسیدوم می‌تواند در پیشگیری از آسیب‌های اکسیداتیو کبدی ناشی از دوکسوروبیسین در بیماران سرطانی مفید باشد. البته در این راستا نیاز به مطالعات گسترده‌تر در حجم‌های وسیع‌تر و مطالعات انسانی در این زمینه دارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر و نیز مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز قدردانی می‌شود. این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دانشجویی آقای رضا همتان عطارباشی در مقطع دکتری عمومی دام‌پزشکی می‌باشد.

مشارکت و نقش نویسندگان

امیررضا کرمی بناری: ایده و طراحی مطالعه، انجام مطالعات حیوانی، تفسیر نتایج، نگارش مقاله، رضا همتان عطارباشی:

مه‌ار بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش ترشح چربی از سلول‌ها باشد [۲۹].

از سویی دیگر در تحقیقات لین و همکاران [۳۰]، مشخص شد که گانودریک اسیدهای Mf و گانودریک اسید T-O که نوعی تری‌ترین محسوب می‌گردند و در قارچ گانودرما لوسیدوم وجود دارند، می‌توانند از بیوستنز کلاسترول در کبد ممانعت به عمل آورند. آزمایشات ما نیز کاهش کلاسترول در گروه‌های تیمار شده با گانودرما لوسیدوم را نشان داد.

نتایج بررسی تولوباس و همکاران [۳۱]، بر اثر محافظتی اسیدهای چرب امگا-۳ بر مسمومیت کبدی و کلیوی القا شده توسط دوکسوروبیسین در موش صحرایی نشان داد که مصرف این دارو با افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید و کاهش مقدار سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت‌های کبد و خون همراه است. این نتایج در مطالعه ما نیز مشاهده گردید.

بر طبق تحقیقات انجام شده، گفته می‌شود که دوکسوروبیسین با تاثیر بر مکانیسم پروتئین‌سازی در کبد و نیز اثر بر روی فعالیت‌های کلیوی، سبب کاهش میزان پروتئین تام خون می‌شود. در مطالعه ما نیز تزریق دوکسوروبیسین باعث کاهش پروتئین تام خون شد [۱۲].

محققان توانستند دو تری‌ترین با نام‌های گانودریک اسید R و گانودریک اسید S را از میسلوم قارچ گانودرما لوسیدوم جداسازی نمایند. بررسی اثرات بالینی این دو ماده نشان داد که آن‌ها می‌توانند از اثرات مخربی که برخی از مواد سمی بر کبد می‌گذارند، جلوگیری کنند [۳۲]. مطالعات نشان داد که تری‌ترین‌های موجود در قارچ گانودرما لوسیدوم می‌توانند سبب تعدیل بیان ژن TNF- α و اینترلوکین ۶ و همچنین کاهش آنزیم‌های آمینوترانسفراز کبدی شده و خاصیت محافظت‌کننده کبد داشته باشند. نتایج مطالعه ما نیز با این تحقیق همسو می‌باشد [۳].

طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۸ بر میزان اثر محافظتی گانودرما لوسیدوم در برابر سمیت ناشی از کربوفوران صورت گرفت، دیده شد که این قارچ احتمالاً به دلیل وجود مقادیر بالایی از ترکیبات فنولی و متعاقباً خاصیت آنتی‌اکسیدانی، باعث جلوگیری از افزایش آنزیم‌های آمینوترانسفراز کبدی در خون شده و در محافظت از هیپاتوسیت‌ها موثر واقع شود. مطالعه ما نیز با این نتایج هم‌راستا می‌باشد [۳۳].

سوسیلو و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان دادند که پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از گانودرما لوسیدوم بر مسمومیت کبدی ناشی از سم تتراکلرید کربن اثر محافظتی داشته و تجویز این پلی‌ساکاریدها با کاهش سطوح آنزیم‌های

mechanisms. *Biocell* 2020; 44: 41.

<https://doi.org/10.32604/biocell.2020.08157>

[13] Shamsi F. Nanotechnology application in cancer treatment. *Koomesh* 2019; 21: 579-589. (Persian).

[14] Shahani S, Sahranavard M, Amir F, Abedi M, Noaparast Z. Beneficial effects of *Pimpinella anisum* L. ethanol and aqueous extracts on L-asparaginase-associated hepatotoxicity using specific ^{99m}Tc-Phytate biodistribution studies in rats. *Koomesh* 2022; 24: 554-565. (Persian).

[15] El-Moselhy MA, El-Sheikh AA. Protective mechanisms of atorvastatin against doxorubicin-induced hepato-renal toxicity. *Biomed Pharmacother* 2014; 68: 101-110.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2013.09.001>

PMid:24268999

[16] Altinkaynak Y, Kural B, Akcan BA, Bodur A, Özer S, Yuluğ E, et al. Protective effects of L-theanine against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Biomed Pharmacother* 2018; 108: 1524-1534.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.171>

PMid:30372854

[17] Yagmurca M, Erdogan H, Iraz M, Songur A, Ucar M, Fadillioglu E. Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clin Chim Acta* 2004; 348: 27-34.

<https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.03.035>

PMid:15369732

[18] Kuzu M, Yıldırım S, Kandemir FM, Küçükler S, Çağlayan C, Türk E, et al. Protective effect of morin on doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chem Biol Interact* 2019; 308: 89-100.

<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.05.017>

PMid:31100273

[19] Hadi N, Yousif NG, Al-Amran FG, Huntei NK, Mohammad BI, Ali SJ. Vitamin E and telmisartan attenuates doxorubicin induced cardiac injury in rat through down regulation of inflammatory response. *BMC Cardiovas Dis* 2012; 12: 1-7.

<https://doi.org/10.1186/1471-2261-12-63>

PMid:22867422 PMCID:PMC3483230

[20] Fathima AT, Reena M. Anticancer and antibacterial activity of *ganoderma lucidum*. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2016; 5: 891-909.

<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.510.097>

[21] Hassan HM, Al-Wahaibi LH, Elmorsy MA, Mahran YF. Suppression of cisplatin-induced hepatic injury in rats through alarmin high-mobility group box-1 pathway by *Ganoderma lucidum*: theoretical and experimental study. *Drug Des Dev Ther* 2020; 14: 2335.

<https://doi.org/10.2147/DDDT.S249093>

PMid:32606602 PMCID:PMC7296982

[22] Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978; 86: 271-278.

[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)

PMid:655387

[23] Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126.

[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)

PMid:6727660

[24] Peinnequin A, Mouret C, Birot O, Alonso A, Mathieu J, Clarençon D, et al. Rat pro-inflammatory cytokine and cytokine related mRNA quantification by real-time polymerase chain reaction using SYBR green. *BMC Immunol* 2004; 5: 1-0.

<https://doi.org/10.1186/1471-2172-5-1>

<https://doi.org/10.1186/1471-2172-5-3>

PMid:15040812 PMCID:PMC373448

[25] Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Biol Med* 2012; 52: 59-69.

<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.003>

PMid:22064361

[26] Al-Oanzi ZH, Elsbali AM, Alruwaili NK, Alotaibi NH, Alharbi KS, Alzarea AI, et al. Protective effect of baicalein alone and losartan-baicalein combination therapy on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicol Environ Health Sci* 2020; 12: 45-54.

<https://doi.org/10.1007/s13530-020-00037-7>

انجام مطالعات حیوانی، انجام مطالعات بیوشیمیایی، طرلان

فرهوش: تفسیر نتایج بیان ژن و جمع‌آوری داده‌ها. همه

نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید

نمودند.

منابع

[1] Andrejic DC, Knez Z, Marevci MK. Antioxidant, antibacterial, antitumor, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, and neuro-protective activity of *Ganoderma lucidum*: An overview. *Front Pharmacol* 2022; 2757.

[2] Gao JJ, Min BS, Ahn EM, Nakamura N, Lee HK, Hattori M. New triterpene aldehydes, lucialdehydes A-C, from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells. *Chemic Pharmac Bulletin* 2002; 50: 837-840.

<https://doi.org/10.1248/cpb.50.837>

PMid:12045343

[3] Hu Z, Du R, Xiu L, Bian Z, Ma C, Sato N, et al. Protective effect of triterpenes of *Ganoderma lucidum* on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and acute liver injury. *Cytokine* 2020; 127: 154917.

<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154917>

PMid:31775117

[4] Liu GQ, Zhang KC. Mechanisms of the anticancer action of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. a new understanding. *Integrative Plant Bio* 2005; 47: 129-135.

<https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2005.00037.x>

[5] Wang YY, Khoo KH, Chen ST, Lin CC, Wong CH, Lin CH. Studies on the immuno-modulating and antitumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides: functional and proteomic analyses of a fucose-containing glycoprotein fraction responsible for the activities. *Bioorganic Med Chem* 2002; 10: 1057-1062.

[https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(01\)00377-7](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(01)00377-7)

PMid:11836115

[6] El-Mekawy S, Meselhy MR, Nakamura N, Tezuka Y, Hattori M, Kakiuchi N, et al. Anti-HIV-1 and anti-HIV-1-protease substances from *Ganoderma lucidum*. *Phytochem* 1998; 49: 1651-1657.

[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00254-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00254-4)

PMid:9862140

[7] Fang QH, Tang YJ, Zhong JJ. Significance of inoculation density control in production of polysaccharide and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum*. *Process Biochem* 2002; 37: 1375-1379.

[https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00017-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00017-1)

[https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00278-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00278-3)

[8] Su CY, Shiao MS, Wang CT. Potentiation of ganoderic acid S on prostaglandin E1-induced cyclic AMP elevation in human platelets. *Thrombosis Res* 2000; 99: 135-145.

[https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(00\)00250-4](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(00)00250-4)

PMid:10946087

[9] Saltarelli R, Ceccaroli P, Iotti M, Zambonelli A, Buffalini M, Casadei L, et al. Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. *Food Chem* 2009; 116: 143-151.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.023>

[10] Lin WC, Lin WL. Ameliorative effect of *Ganoderma lucidum* on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Gastroenterology* 2006; 12: 265.

<https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i2.265>

PMid:16482628 PMCID:PMC4066037

[11] Park EJ, Ko G, Kim J, Sohn DH. Antifibrotic effects of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*, glycyrrhizin, and pentoxifylline in rats with cirrhosis induced by biliary obstruction. *Biol Pharm Bull* 1997; 20: 417-420.

<https://doi.org/10.1248/bpb.20.417>

PMid:9145221

[12] Ahmed OM, Galaly SR, Raslan M, Mostafa MA. Thyme oil and thymol abrogate doxorubicin-induced nephrotoxicity and cardiotoxicity in Wistar rats via repression of oxidative stress and enhancement of antioxidant defense

rats. Toxicol Ind Health 2015; 31: 638-644.

<https://doi.org/10.1177/0748233713483203>

PMid:23512535

[32] Hirotani M, Ino C, Furuya T, Shiro M. Ganoderic acids T, S and R. New triterpenoids from the cultured mycelia of *Ganoderma lucidum*. Chem Pharm Bull 1986; 34: 2282-2285.

<https://doi.org/10.1248/cpb.34.2282>

[33] Hossen M, Billah Prince M, Tanvir EM, Chowdhury M, Rahman M, Alam F, et al. *Ganoderma lucidum* and *Auricularia polytricha* mushrooms protect against Carbofuran-induced toxicity in rats. Evi Based Complement Alternat Med 2018; 2018.

<https://doi.org/10.1155/2018/6254929>

PMid:29861774 PMCID:PMC5976964

[34] Susilo RJ, Winarni D, Husen SA, Hayaza S, Punnapayak H, Wahyuningsih SP, et al. Hepatoprotective effect of crude polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum* against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. Vet World 2019; 12: 1987.

<https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1987-1991>

PMid:32095051 PMCID:PMC6989327

[27] Shaker RA, Abboud SH, Assad HC, Hadi N.

Enoxaparin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. BMC Pharmacother Toxicol 2018; 19: 3.

<https://doi.org/10.1186/s40360-017-0184-z>

PMid:29321061 PMCID:PMC5763526

[28] Saltarelli R, Ceccaroli P, Iotti M, Zambonelli A, Buffalini M, Casadei L, et al. Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. Food Chem 2009; 116: 143-151.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.023>

[29] Fernandez ML, West KL. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. J Nutr 2005; 135: 2075-2078.

<https://doi.org/10.1093/jn/135.9.2075>

PMid:16140878

[30] Lin LJ, Shiao MS, Yeh SF. Seven new triterpenes from *Ganoderma lucidum*. J Nat Prod 1988; 51: 918-924.

<https://doi.org/10.1021/np50059a017>

PMid:21401205

[31] Tulubas F, Gurel A, Oran M, Topcu B, Caglar V, Uygur E. The protective effects of ω -3 fatty acids on doxorubicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in

Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of Ganoderma lucidum on liver injury induced by doxorubicin in rats

Reza Hemmatan Atarbashi (DVM)¹, Amir reza Karamibonari (Ph.D)^{*2}, Tarlan Farahvash (Ph.D)³

1- Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

2- Department of pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran.

3- Department of Animal Science, Faculty of animal science and veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

* Corresponding author. +98 9144172698 pharmakarami@yahoo.com

Received: 21 Jul 2022; Accepted: 2 Jul 2023

Introduction: Natural products have recently been used as alternative treatments for many diseases. This study aimed to determine the hepatoprotective effect of Ganoderma lucidum (GLE) against liver injury induced by Doxorubicin (DOX).

Materials and Methods: Thirty – two male Wistar rats were randomly divided into four groups. The control group was given only saline by intragastric gavage. DOX group received DOX at the dose of 20 mg/kg intraperitoneally on day 2. The GLE group was given an aqueous extract of GLE at the dose of 500 mg/kg daily by intragastric gavage for 15 days. DOX-GLE group received DOX and GLE with the same protocol as DOX and GLE groups.

Results: In this study, a significant increase in Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) expression and Malondialdehyde (MDA) level in the liver and a significant decrease in the levels of Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GPX) and total antioxidant capacity (TAC) in serum were observed in rats that received DOX when compared with the control group. A significant decrease in TNF- α expression and MDA level and a significant increase in the levels of SOD, GPX, and TAC in serum and liver tissue were observed in rats that received GLE with DOX when compared with DOX group ($P<0.05$).

Conclusion: It is remarkable to say that, the DOX could induce marked toxicity in the liver, and treatment with GLE produced potential improvement of the liver via repression of oxidative stress and inflammatory responses.

Keywords: Doxorubicin, Ganoderma Lucidum, Liver