

بررسی اثر سمی عصاره آبی کلپوره بر کبد و لیپو پروتئینهای خون در موش صحرائی نر با قند نرمال

دکتر محمد رضا شهرکی*، دکتر حمیده میرشکاری*، دکتر الهام شهرکی*، ابراهیم میری مقدم**، مانی جی پالن***

تاریخ دریافت مقاله: ۸۵/۱۱/۱۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۲/۹

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، بیمارستان خاتم

*** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه ایمونوهماتولوژی

**** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه زبانهای خارجی

چکیده

زمینه و هدف: کبد ارگانی است که در اکسیداسیون قندها، اسیدهای چرب و دفع سموم نقش دارد. کلپوره یکی از گیاهان دارویی است که در طب سنتی معمولاً بدون در نظر گرفتن عوارض ناشی از مصرف آن، تجویز می‌شود. هدف این مطالعه بررسی اثرات سمی احتمالی کلپوره بر آنزیمهای کبدی، لیپو پروتئینها و قند سرم در موش صحرائی نر بوده است.

مواد و روش کار: جمعیت موردبررسی ۲۰ سر موش صحرائی نر با قند نرمال در محدوده وزنی ۲۸۰-۲۰۰ g بود که بطور تصادفی به دو گروه مساوی تقسیم شدند. گروه مداخله روزانه عصاره آبی کلپوره با دانسیته ۱/۰۹ را به مدت چهار هفته را از طریق گاواژ دریافت نمود. گروه شاهد در این مدت همان حجم آب معمولی دریافت کرد. پس از پایان دوره، خون گیری و سرم گیری جهت انجام آزمایشات کبدی، لیپوپروتئینها و قند خون انجام گرفت. فاکتورهای مورد نظر با روشهای متداول آزمایشگاهی به صورت یک سوکور اندازه گیری شد. اطلاعات حاصل با نرم افزار کامپیوتری SPSS آنالیز و میانگینها با آزمون Student-t-test مقایسه گردید.

یافته ها: نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میانگین مقادیر AST، ALT و ALP گروه مداخله نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشت، در صورتیکه سایر متغیرهای این بررسی در گروه آزمون و شاهد تفاوت معنی داری نداشتند.

نتیجه گیری: یافته های این بررسی نشان داد که مصرف کلپوره در موشهای صحرائی نر موجب افزایش مقادیر آنزیمهای کبدی می شود که خود نشانه مسمومیت کبدی است. (مجله طبیب شرق، سال هشتم، شماره ۳، پائیز ۸۵، ص ۲۲۷ تا ۲۳۲)

کلواژه ها: کبد، آنزیمهای کبدی، موش صحرائی، توکسیک، کلپوره

مقدمه

در جدار عروق و اترواسکلروزیس می‌شود.^(۳) کلپوره (Teucrium polium) از گیاهان دارویی است که در طب سنتی ایران به عنوان داروی ضد اسپاسم، ضد درد و ضد چربی خون استفاده می‌شود.^(۴-۶) تجویز عصاره آبی نوعی Teucrium polium موجب تغییر میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در محیط کشت ساکارومیست ها می‌گردد.^(۷) در مطالعه ای که در شیراز بر روی تعدادی از بیماران دیابتی انجام شد مشخص گردید که

کبد اندامی است که در اکسیداسیون اسیدهای چرب و کربوهیدراتها نقش دارد.^(۱) در غیاب انسولین لیپوژنز کاهش، لیپولیز، تشدید و لیپیدهای خون افزایش می‌یابد.^(۲) تشکیل و برداشت LDL^(۱) تحت اثر انسولین قرار دارد و در بیماران دیابتی سطح کلسترول و LDL افزایش می‌یابد.^(۳) کاهش مصرف گلوکز در بدن، سبب تجزیه پروتئینهای بدن، لیپوژنولیز، حرکت چربیها از محل ذخیره آنها، رسوب آنها

مصرف عصاره الکلی *Teucrium polium* اثری بر قندخون این بیماران ندارد و باید با احتیاط مصرف شود.^(۸) مطالعات دیگر نشان می‌دهند که تجویز عصاره آبی کلپوره موجب کاهش قند خون موشهای صحرایی دیابتیک می‌شود.^(۹) و تزریق تک دز کلپوره موجب افزایش ترشح انسولین و از این طریق موجب کاهش قند خون در حیوانات دیابتی می‌شود.^(۱۰) تزریق داخل صفاقی کلپوره در مقادیر ۱۵۰-۵۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز سطح سرمی کلسترول و تری گلیسیرید موشهای مبتلا به هیپرلیپیدمی را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد.^(۱۱) در مطالعه دیگری برای بررسی اثرات ضد دیابتی عصاره تام *Tucrium Polium* بر روی دو گروه خرگوش، (یک گروه با قند نرمال و گروه دوم که با استرپتوزوسین دیابتی شده بودند) مشخص شد که عصاره تام این گیاه در هیچ یک از دو گروه خرگوش اثر معنی داری بر قند خون ندارد.^(۱۲) گونه‌هایی از این گیاه نیز اثرات ضد باکتری داشته و به عنوان آنتی اولسر استفاده می‌شود.^(۱۳-۱۶) تعدادی از مطالعات نیز گزارش نمودند که مصرف کلپوره اثرات کلستاتیک داشته و موجب بروز علائم هپاتیت و کاهش هدایت پذیری سلولهای عصبی می‌شود.^(۱۷-۲۱) با توجه به گزارشات قوق و اثرات کلپوره بر قند خون و اثرات سوء احتمالی آن بر کبد، در این مطالعه تجربی اثر کلپوره بر بعضی از تستهای کبدی (ALP, ALT, AST)، لیپو پروتئینهای سرم و قند خون موشهای صحرایی نرسالم با قند خون نرمال انجام شده است.

روش کار

جمعیت مورد مطالعه در این بررسی ۲۰ سر موش صحرایی نر از گونه *Wistar-Albino* در محدوده وزنی ۲۸۰-۲۰۰ gr و حدود سنی ۵-۸ ماه بودند که به طور تصادفی به دو گروه مساوی تقسیم و هر کدام در یک قفس مجزا قرار گرفتند. حیوانات مورد مطالعه در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دسترسی کامل به آب و غذا قرار داشتند، درجه حرارت اتاق

نگهداری حیوانات ۲۸-۲۲ درجه سانتی گراد بود. در این بررسی میزان مصرف آب و غذای روزانه حیوانات به دلیل ناکافی بودن امکانات اندازه گیری نشد. پس از یک هفته خوگیری (سازش حیوانات با محیط جدید)، گروه تست، عصاره آبی و تام کلپوره با دز ۳۲ mg/kg و دانسیته ۱/۰۹ برای مدت یک ماه، روزانه از طریق گاوآژ دریافت نمودند. برای تهیه عصاره تام کلپوره، روزانه مقدار مورد نیاز گیاه که از عطاری های شهر زاهدان خریداری شده بود وزن و با حجم مشخص آب خیس و برای مدت ۲۴ ساعت بروی همزن برقی قرار می‌گرفت. (بر اساس وزن حیوانات مورد مطالعه ۳۲ mg/kg کلپوره خشک وزن و خیس می‌شد). روز بعد مایع از ظرف خارج و از کاغذ صافی عبور داده می‌شد و بر اساس وزن به حیوانات گروه تست تجویز می‌گردید. گروه کنترل در تمام این مدت همان حجم آب معمولی را از طریق گاوآژ دریافت می‌کردند. در پایان مدت آزمایش هر دو گروه با دوز بالای کتامین (ساخت مجارستان) عمیقاً بیهوش و از ورید گردن آنها جهت اندازه گیری آنزیمهای کبدی (ALP, ALT, AST) و لیپو پروتئینهای خون (LDL, HDL) کلسترل، تری گلیسیرید و قند خون، خونگیری انجام شد. سرم خون با دستگاه سانتریفوژ و ۳۵۰۰ دور در دقیقه جدا گردید. آنزیمهای کبدی به روش کینتیک اندازه گیری شد، بقیه تستها به روش آنزیمی با دستگاه فوتومتر بیومیوم (ساخت فرانسه) بصورت یکسو کور اندازه گیری شد. داده ها با نرم افزار SPSS v.12 آنالیز و برای مقایسه میانگینها از آزمون Student-t-test استفاده شد. نتایج حاصل از این بررسی به صورت «میانگین ± یک انحراف معیار» بیان شده است. اختلافات آماری با $P < 0/05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد مقادیر تستهای کبدی ALK, ALT, AST گروه دریافت کننده عصاره تام کلپوره به

هیچ مکانیسم احتمالی مطرح نشده بود.^(۲۲) نتایج مطالعه حاضر با مطالعه دیگری مبنی بر ایجاد آسیت در بیماران دیابتی مصرف کننده کلپوره همخوانی دارد. بروز آسیت خود ناشی از مسمومیت کبدی است و افزایش AST در این افراد نیز نشانه‌ای از آن می‌باشد.^(۲۱) در مطالعه اخیر الذکر این افزایش به ایجاد اتوانتی بادی بدنال مصرف این گیاه نسبت داده شد.^(۲۱) افزایش مقادیر AST، ALT و ALP در بررسی اخیر را اینگونه می‌توان توجیه نمود: در عصاره آبی کلپوره احتمالاً ترکیب یا ترکیباتی وجود دارد که توسط دستگاه گوارش جذب و از طریق ورید باب کبدی وارد کبد شده است. اثر این مواد بر سلولهای کبدی ممکن است بطور مستقیم یا از طریق ترکیبات واسطه باشد. به هر ترتیبی که هپاتوسیت‌های کبد متاثر شده باشند، عکس العمل رخ داده و با افزایش آنزیمهای کبدی سرم، این تاثیر را نشان می‌دهد. شاید این اثر از طریق افزایش سنتز این آنزیمها و یا افزایش ترشح ذرات زیموژن (حاوی آنزیمهای کبدی) ذخیره شده در سیتوپلاسم سلولهای هپاتوسیت کبد اعمال شده باشد. طبق مطالعه ای که در سال ۱۹۹۵ گزارش شد در بیوپسی کبدی بیمارانی که بعد از مصرف Tucrium Polium مبتلا به بیماری حاد کبدی شده بودند و علائم زردی کبدی مشاهده می‌شد، نکروز هپاتوسیت‌های کبدی قابل تشخیص بود.^(۲۴) علاوه بر این نتایج مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۴ گزارش شده بود، مصرف حاد Tucrium Polium در موشهای سوری موجب نکروز سلولهای هپاتوسیت کبدی می‌گردد.^(۲۵) نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد که در حیوانات مصرف کننده عصاره آبی کلپوره، مقدار آنزیمهای کبدی AST، ALT، ALP افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشت. این بخش از بررسی با مطالعه اخیرالذکر (درسال ۱۹۹۵)^(۲۵،۲۴) همخوانی دارد (هر چند دربررسی حاضر مطالعه هیستولوژیکی در کبد حیوانات مورد بررسی انجام نشده است). با توجه به مطالعه حاضر و مطالعات گذشته^(۲۵،۲۴) افزایش آنزیمهای کبدی (AST، ALT و ALP) سرم را اینگونه

ترتیب iu/l $275/8 \pm 60/13$ و iu/l $244/2 \pm 25$ و iu/l $615/1 \pm 161/62$ نسبت به میانگین مقادیر این پارامترها iu/l $189/1 \pm 42/8$ و iu/l $174/3 \pm 8/7$ و iu/l $287/5 \pm 71/57$ به ترتیب در گروه کنترل افزایش معنی داری داشت ($P < 0/05$). مقایسه مقادیر سایر فاکتورهای اندازه گیری شده از جمله لیپو پروتئینهای خون (LDL، HDL) کلسترول، تری گلیسرید و قند خون در دو گروه تفاوت معنی داری نشان نداد. (جدول شماره ۱)

جدول ۱: مقایسه میانگین شفافیت‌های مورد بررسی در موشهای صحرائی نر گروه مدافله (دریافت کننده عصاره آبی کلپوره) و گروه شاهد. تعداد موشهای هر گروه ده عدد بوده است.

گروهها	دریافت کننده عصاره کلپوره Mean±SD [†]	کنترل Mean±SD [†]
نوع آزمایش (واحد اندازه گیری)		
BS (mg/dl)	91/7 ± 9/95	100/1 ± 12/19
کلسترول (mg/dl)	74/7 ± 12/85	72/9 ± 6/99
تری گلیسرید (mg/dl)	66/1 ± 9/52	60/2 ± 10/13
HDL (mg/dl)	29/5 ± 4/42	33 ± 4/73
LDL (mg/dl)	32 ± 12/08	27/9 ± 8/96
AST (iu/l)	275/8 ± 60/13	189/1 ± 42/8 *
ALT (iu/l)	244/2 ± 25	174/3 ± 8/7 *
ALK (iu/l)	615/1 ± 161/62	287/5 ± 71/57 *

*P<(0/05) † انحراف معیار

بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میانگین مقادیر ALT، AST و ALP گروه تست نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد، در صورتیکه سایر فاکتورهای این بررسی در گروه تست و کنترل تفاوت معنی داری نشان نداد. بخشی از نتایج این بررسی با مطالعه ای که در سال ۲۰۰۲ در مورد یک خانم دیابتی که بدنال مصرف کلپوره دچار زردی شده بود و مقادیر تستهای کبدی او از جمله AST نسبت به مقادیر طبیعی افزایش یافته بود همخوانی دارد. در آن مطالعه افزایش مقدار AST به اثرات هپاتوتوکسیک کلپوره نسبت داده شده بود اما

پرداخته شود. نتايج حاصل از اين بررسي نشان مي‌دهد که مصرف کلپوره در موش های صحرايي سالم موجب افزايش مقادير آنزيمهای کبدی ناشی از اثرات هپاتوتوکسيک اين دارو می‌گردد و پيشنهادهای می‌شود در بررسي های آینده عصاره تام تجزيه و اثر هر ترکیب یا ماده بصورت مجزا، روی حيوانات آزمایشگاهی سالم بررسي و عوارض گزارش گردد.

سياسگزارى

با تشکر از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان که با حمايت مالی امکان انجام آزمایش را فراهم نمود.

می‌توان توجیه کرد که احتمالا تر کبیاتی در عصاره تام کلپوره وجود داشته است که موجب تخریب و تضعیف غشاء سلولهای هپاتوسیت کبدی شده و ازاین جهت سبب آزاد سازی آنزیمهای سيتوزومال هپاتوسیتها و درنهایت موجب افزايش میزان سرمی آنها شده است و یا اینکه ممکن است صدمات پیشرفته تر بوده و در نهایت موجب نكروز تعدادی از سلولهای هپاتوسیت کبد گشته و از این طریق خروج آنزیمهای سيتوزولی (ALT، AST و ALP) و نشت آنها به داخل خون گردیده است که حاصل آن افزايش سطح سرمی آنزیمهای فوق الذکر بوده است. در این بررسي تاثیر مقدار آب و غذای حیوانات بر نتايج اندازه گیری نشده است و توصیه می‌شود در مطالعات بعدی به این موضوع

References

منابع

- Guyton and Hall. Text book of medical physiology, tenth ed. W.B.S Aunders Company, 2001: 782-896.
- Bern RM, Levy MN. Physiology, 3th ed. Mosby year book ST. Louis, 1993: 845-67.
- Gostanze IS. Physiology. Williams and Wilkins copyrht Rose tree corporate center, 1995: 232-3.
- Abdolahi M, Karimpour H, Monsef-Esfahani HR. Antinoniceptive effects of Teucrium polium total extract and essential oil in mouse writhing test. pharmacol Res 2003; 48:31-5.
- Ebrahim Sajjadi S, Movahedian Atar Am, Yektaian A. Antihyperlipidemic effect of hydroalcoholic extract and polyphenolic fraction from Dracocephalum kotschy Boiss. Pharm Acta Helv 1998; 73:167-70.
- شهریاری، علیرضا. رخشنده، حسین. دولتی، کریم. پارسایی، حمید. خوبان، حسین: ((بررسي اثرات آنتی اسپاسمودیک و ضد دردی عصاره گیاه کلپوره))، پانزدهمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی شیراز، ۱۴ تا ۱۷ آبان ۱۳۸۰، صفحه ۴۱۶.
- Aggelis G, Athanassopoulos N, Paliogianni A, Komaitism M. Effect of Teucrium polium extract on the growth and fatty acid composition of saccharomyces cerevisiae and yarrowia lipolytica. Antonie van leev wenhoek 1998; 73:195-8.
- Ansari Asl A, Soveid M, Azadbakht M, Omrani Gh.R, Solimani SM, Samani M. The effect of extract of Teucrium polium on blood sugar and insulin levels of type 2 diabetic patients. shiraze E-Medical journal October 2003.
- زال، فرید: ((بررسي اثرات عصاره آبی کلپوره بر موش صحرايي ديابتیک شده توسط استرپتوزوسين)) تز دکتری، دانشگاه علوم پزشکی شیراز ۱۳۸۱، صفحه ۳۹-۳۸.

10. Esmaeili MA, Yazdanparast R. Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *J Ethnopharmacol*. 2004 Nov; 95:27-30.
11. Rasekh HR, Khoshnood –Mansourkhani My, Kamalianejad M. Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. *fitoterapia* 2001 Dec; 72: 937-9.
12. Afifi FU, Al-Khalidi B, Khalil E. Studies on the in vivo hypoglycemic activities of two medicinal plants used in the treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine following intranasal administration. *J Ethnopharmacol*. 2005 Sep 14; 100:314-8.
13. Autor G, Cappasof , Defusco R, et al . Antipyretic and antibacterial actions of *Teucium polium* . *Pharmacol Res commun* 1984 Jan; 16:21-9.
14. Gharaibeh MN, Elayan HH, Salhab AS. Hypoglycemic effects of *Teucrium polium* . *J of Ethnopharmacology* 1988 Sep; 24: 93-9.
15. Tariq M, Ageel AM, al-yahya MA, et al. Anti inflammatory activity of *Teucrium polium* . *Int j Tissue React* 1989; 11(4): 185-8.
16. Polymeros, Demetrios MD, Kamberoglou, et al. Acute cholestatic hepatitis caused by *Teucium polium* with transient appearance of Anti Mitochondrial antibody. *J clin Gastroenterol* 2002 janu; 34(1):100-101.
17. Lahiberte L, Villeneuve JP. Hepatitis after the use of germander, an herbal remedy. *Can Med Assoc J* 1996; 154:1689-92.
18. Mazokopakis E , Lazaridou S , Tzaridi M , et al .Acute cholestatic hepatitis caused by *Teucrium polium* . *Phytomedicine* 2004 jan ; 11(1):82-3.
19. Gray H, Wreghitt T, Stratton IM , et al. High prevalence of hepatitis C infection in Afro-caribbean patients with type 2 diabetes and abnormal liver function test. *Dept of diabet med* 1995 mar; 12(3):244-9.
20. Shahraki MR, Arab MR, Mirimokaddam E and Palan MJ. The Effect of *Teucrium Polium* (Calpoureh) on Liver function, Serum Lipids and Glucose in Diabetic Male Rats. *Iranian Biomedical Journal*. January 2007; 11(1): 65-68
21. Shakhaneh j, Atrouse O, *Teucrium Polium* inhibits nerve conduction and Carrageenan induced in Flammation in The rat Skin. *Turk y Medsd* 31(2001) 15-21.
22. Mattei A, Rucay P, Samuel D, feray C, Reynes M, Bismuth H. Liver transplantation for server acute liver failure after herbal medicine (*Teucrium Polium*) administration. *J. Hepatol*. 1995; 22: 597-9.
23. Loeper J, Descatoire V, Letterone P et al. Hepatotoxicity of germander in mice. *Gastroentrol*. 1994; 106:464-72.

The survey of Teucrium Polium toxicity effect on liver and serum lipoproteins in normoglycemic male rats

Shahraki MR., PhD*; Mirshekari H., MD**; Shahraki E., MD**

Miri Moghadam E., MSc***; Palan MJ., MSc****

Background: Liver is an important organ in carbohydrates and fatty acids oxidation and to clear toxic agent. Teucrium Polium is an herbal medicament used in traditional medicine without considering its side effects. The aim of this survey was to study the toxic effects of Teucrium Polium on serum levels of liver enzymes, lipoproteins and blood sugar.

Material & Methods: The survey was carried out on 20 normoglycemic male rats with body weight, ranging from 200-280 gr that were divided randomly in two equal groups randomly. Test group were given Teucrium Polium extract (D=1/09) through gavages for 4 weeks. Control group received the same volume of tap water. At the end of the course, liver enzymes, serum lipoproteins and blood sugar were measured. Data obtained were analyzed by SPSS software v.12 and mean values were compared with student t-test. The results were expressed as mean \pm SD and statistical difference considered meaningful if $P < 0.05$.

Results: the results of this survey showed that AST, ALT, and ALP, values of test group were significantly higher than that of the control group but other factors, which were evaluated in test and control group, did not show significant difference.

Conclusion: This survey revealed Teucrium Polium use in male rats led to liver Toxicity by increasing liver enzyme value.

KEYWORDS: Liver; LFT, Rat-Toxic, Blood Sugar, Teucrium Polium

* Paramedicine Dept, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medicine Sciences and health services, Zahedan, Iran.

** Khatam Hospital, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medicine Sciences and health services, Zahedan, Iran.

*** Imonohematologt Dept, Faculty of Hematology, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medicine Sciences and health services, Zahedan, Iran.

**** English Dept, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medicine Sciences and health services, Zahedan, Iran.