

Original Article

مقایسه تأثیرات 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^{۱*}، نوشین نقش^۲، داوود مهربانی^۳

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 پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۷/۲۸

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به نقش مهم سم زدایی کبد، در تحقیق حاضر، مقایسه تأثیرات 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 تجربی ۵۶ سرموش صحرایی نر به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه و زردچوبه خالص هر کدام با دوز ۴ mg/Kg و مخلوط جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه با دوز ۲ mg/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 ۱۰۰ mg/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 شده با تیواستامید ($3/27 \pm 0/23$) نسبت به گروه شاهد ($2/87 \pm 0/22$) می‌باشد ($P < 0/01$). جوشانده قهوه به صورت پیش تیمار دارای بیشترین تأثیر محافظتی بر روی بافت کبد بوده است. این تأثیر با کاهش معنی دار میزان آلبومین سرم در این گروه به ($2/46 \pm 0/62$) رسیده است ($P < 0/01$).

نتیجه گیری: در این تحقیق، بیشترین اثر حفاظتی کبد مربوط به جوشانده قهوه است. این تأثیر 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 تیواستامید.

مقدمه

کرده و توسط آنزیم‌های سیستم سم زدایی سیتوکروم P450 متابولیزه می‌شود (۳ و ۲). 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 تأثیرات را می‌توان بر موش‌های آزمایشگاهی بررسی نمود. متابولیسم تیواستامید

یکی از مهم‌ترین 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

*نویسنده مسئول: نجمه ربانی حقیقی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، فارس، ایران.

Email: najmehrabani@yahoo.com

لفن: ۰۹۱۷۷۰۹۸۵۳۵



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 difeoulylmethane با فرمول شیمیایی $(C_{12}H_{20}O_6)$ 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 می باشد (۹۸). قهوه یک نوشیدنی محرک است و مورد استفاده اکثر مردم جهان می باشد. قهوه گیاهی از تیره *coffea* و از خانواده *Rubiaceae* می باشد. در طب سنتی ایران، جوشانده قهوه، تقویت کننده دستگاه اعصاب مرکزی بوده و موجب افزایش نیروی انقباض ماهیچه قلبی و ضربان آن می شود. نوشیدن قهوه، ادرار را زیاد کرده و اثر ضد عفونی کنندگی دارد (۹). درخت قهوه در نواحی گرمسیری و در هوای گرم و مرطوب رشد می کند. معروف ترین نوع قهوه، قهوه عربی *Coffea Arabica* است. ماده موثر قهوه، کافئین است که دارای خواص آرامش بخشی، مسهل، کاهنده اشتها می باشد. کافئین ماده محرک روانی است. تحقیقات ثابت کرده اند که چندین گونه گیاهی با حداقل اثرات جانبی در درمان بیماری های کبدی موثرند که در این راستا می توان به ریزوم گیاه زردچوبه و دانه گیاه قهوه اشاره کرد. از آنجا که بیشتر پروتئین های مهم پلاسمایی در سلول های کبدی ساخته می شود، اندازه گیری آن ها با توجه به بازگردش سریع آن ها، سریع ترین معیار غیر مستقیم عملکرد سنتتیک کبد است. یکی از این پروتئین ها، آلبومین سرم است. آلبومین موجود در سرم خون نوعی پروتئین است و بیماری های کبدی می توانند سبب تغییرات پروتئین سرم شوند. البته سنجش آنزیم های کبدی *SGOT* و *SGPT* نیز می تواند در کنار کارهای هیستولوژیک تایید کننده نتایج فوق باشد. اما چون آلبومین منحصرأ توسط هپاتوسیت های کبد سنتز می شود و اندازه گیری آن یکی از معیارهای اختصاصی عملکرد کبد می باشد و از طرفی سنجش این فاکتور خونی در گروه های پیش تیمار شده با زردچوبه متعاقب مسمومیت های 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 مقایسه ای و سینرژیک دو ماده فوق در تغییرات آلبومین سرم در برابر

منجر به تولید تیواستامید S-اکسید و متابولیت های دیگر می شود (۵۴). بنابراین تیواستامید S-اکسید یک ترکیب واسطه در مراحل اکسیداسیون تیواستامید توسط مونواکسیژنازهای با عملکرد مختلط (از جمله سیتوکروم *P450 2B1*) می باشد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول های کبدی می شود (۶). از سم تیواستامید برای القای سیروز کبدی و آنسفالوپاتی هپاتیک حاد استفاده می شود. مطالعات نشان داده اند که تیواستامید موجب مرگ سلولی، نکروز و آپوپتوز در سلول های کبدی می گردد (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 می گذارد. از طرفی سم زدایی مواد سمی و گزنوبیوتیک ها یکی از مهمترین اعمال کبد می باشد. ممکن است در طی این عمل مقادیر بسیاری از واسطه های اکسیژن فعال تولید شوند. دوزهای حاد مواد سمی و برخی از داروها استامینوفن یا مصرف طولانی مدت بعضی مواد و داروها می تواند موجب تولید مقادیر بالایی از رادیکال های آزاد شده که بر سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی غلبه نماید و موجب آسیب های کبدی شود. با توجه به این نکته که کبد اعمال منحصر به فردی را انجام می دهد و آسیب این عضو منجر به ضررهای غیرقابل جبرانی در بدن می شود بنابراین تحقیق در مورد موادی که باعث حفاظت کبد شوند از اهمیت ویژه ای برخوردار است تیواستامید یک ماده اکسیدکننده و سم کبدی قوی است که توسط آنزیم *Cyp4502B* میکروزوم های سلول های کبدی تبدیل به متابولیت سمی و فعال تیواستامید S-اکسید می شود (۷). این ماده پروتئین ها و لیپیدهای غشا را مورد حمله قرار می دهد و موجب تجزیه پروتئین ها و پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت استرس اکسیداتیو می شود. 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 می باشند (۸). زردچوبه، ریزوم پودر شده گیاه *Curcuma Longa* می باشد که به عنوان ادویه و چاشنی در غذاها استفاده می شود و در طب سنتی جایگاه خاصی دارد. زردچوبه گیاهی علفی و پایا از خانواده زنجبیل (*zingiberaceae*) می باشد. ریزوم زردچوبه حاوی ۳-۵٪ پیگمان های زرد رنگ هستند که کورکومینوید نام دارد و شامل کورکومین و مشتقات آن می باشد و عملکرد آن به عنوان عامل

اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مراحل لحاظ گردید.

تیمار حیوانات: پس از آماده سازی تمام گروه ها، به گروه کنترل (کنترل ۱) آب و غذای عادی مخصوص رت ها، به گروه شاهد (کنترل ۲) آب و غذای عادی و همراه با تزریق ۱ سی سی نرمال سالین به عنوان حلال، به گروه سوم و چهارم به ترتیب جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه با دوز ۴ mg/Kg (به عنوان پیش درمان) و به گروه پنجم مخلوطی از جوشانده قهوه و عصاره هیدروالکلی زردچوبه با دوز ۲ mg/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 ۴ mg/Kg 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 معمولاً در پژوهش های 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 رت ها صورت گرفت انجام شد. بعد از جداسازی سرم نمونه ها، میزان آلبومین سرم به شیوه اسپکتروفوتومتری انجام پذیرفت. پس از ۲ روز استراحت به گروه های سوم و چهارم و پنجم و ششم، تزریق تیواستامید با دوز ۱۰۰ mg/Kg در طی یک روز و به صورت درون صفاقی انجام گرفت. چون تأثیرات توکسیک تیواستامید معمولاً حدود ۲ روز بعد از تزریق آشکار می گردد لذا؛ ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق موش های 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 کیت های مخصوص بیوشیمیایی به شیوه اسپکتروفوتومتری اندازه گیری شدند. به منظور مقایسه میانگین آلبومین سرم در گروه های مختلف، از آزمون Duncan و ANOVA و به منظور مقایسه میزان آلبومین

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

مواد و روش ها

روش تهیه عصاره اتانولی: ریزوم گیاه زردچوبه و دانه های 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 ۴۰ gr از پودر زردچوبه در کاغذ صافی قرار گرفته که در بخش تانک دستگاه سوکسیله قرار داده شد. سپس ۲۵۰ cc 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، دانه های قهوه توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شد و به وسیله دستگاه Espresso، جوشانده قهوه آماده گردید (۹ و ۱۰).

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه از موش های 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 موش های 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 از اتمام و تهیه کردن تمام مواد یعنی (عصاره و جوشانده)، با خوراک مخصوص رت ها 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 رت ها قرار گرفت (۹ و ۱۰). ۵۶ سر موش صحرایی در ۷ گروه ۸ تایی به طور تصادفی به داخل قفس های مخصوص نگهداری رت ها، 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



تیواستامید، کاهش معنی داری برای میزان آلبومین سرم ($0/62$) $\pm 0/46$ در مقایسه با گروه بدون دریافت قهوه ($0/23 \pm 3/27$) نشان دادند که قابل مقایسه با گروه شاهد بدون دریافت کننده تیواستامید ($0/50 \pm 2/59$) بود، یعنی پیش تیمار با جوشانده قهوه تا حدود زیادی باعث خنثی سازی اثرات تیواستامید شده است (جدول ۱). اما میانگین آلبومین سرم در گروه دریافت کننده

سرم قبل و بعد از تزریق تیواستامید از آزمون t 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

جدول ۱: مقایسه میانگین آلبومین سرم در خونگیری 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 معنی دار است.

گروه ها N=۸	خونگیری اول Mean $\pm$ SD	خونگیری دوم Mean $\pm$ SD	P_value
کنترل (گروه کنترل ۱)	$0/35 \pm 3/3$	$0/25 \pm 3/3$	$0/5$
شاهد (گروه کنترل ۲)	$0/22 \pm 2/87$	$0/50 \pm 2/59$	$0/34$
جوشانده قهوه	$0/27 \pm 3/22$	$0/62 \pm 2/46$	$0/002$
عصاره زردچوبه	$0/23 \pm 3/22$	$0/72 \pm 2/9$	$0/06$
مخلوط جوشانده قهوه و عصاره زردچوبه	$0/19 \pm 3/13$	$0/22 \pm 3/27$	$0/01$
تیواستامید (گروه تیمار شده بدون دریافت مداخله)	$0/15 \pm 2/92$	$0/23 \pm 3/27$	$0/004$
زردچوبه پودر شده	$0/15 \pm 3/07$	$0/18 \pm 3/07$	$0/5$

مخلوط جوشانده قهوه و عصاره زردچوبه بعد از تزریق تیواستامید افزایش معنی داری یافته است ($p=0/01$). یعنی پیش تیمار با مخلوط این دو ماده نتوانسته هیپاتوسیت‌ها را در برابر سم کبدی تیواستامید، مقاوم سازد. در ضمن آزمون Duncan نشان داد که عصاره هیدروآتانی زردچوبه توانست میزان آلبومین سرم را تا میزان $0/72 \pm 2/9$ کاهش دهد که این کاهش در مقایسه با گروه شاهد ($0/50 \pm 2/59$) معنی دار نیست (جدول ۱).

واریانس یکطرفه (ANOVA) نشان دادند که تزریق تیواستامید با دوز 100 mg/Kg ، میانگین سرمی آلبومین به طور معنی داری افزایش یافته است ($p=0/004$). این امر نشان‌دهنده فشار اکسیداتیو وارد به هیپاتوسیت‌ها بوده است. در ضمن آزمون t جفت شده نشان داد که میانگین آلبومین سرم در گروه جوشانده قهوه به طور معنی داری کاهش یافته است ($p=0/002$). یعنی گروهی که پیش تیمار با جوشانده قهوه شده بودند بعد از تزریق

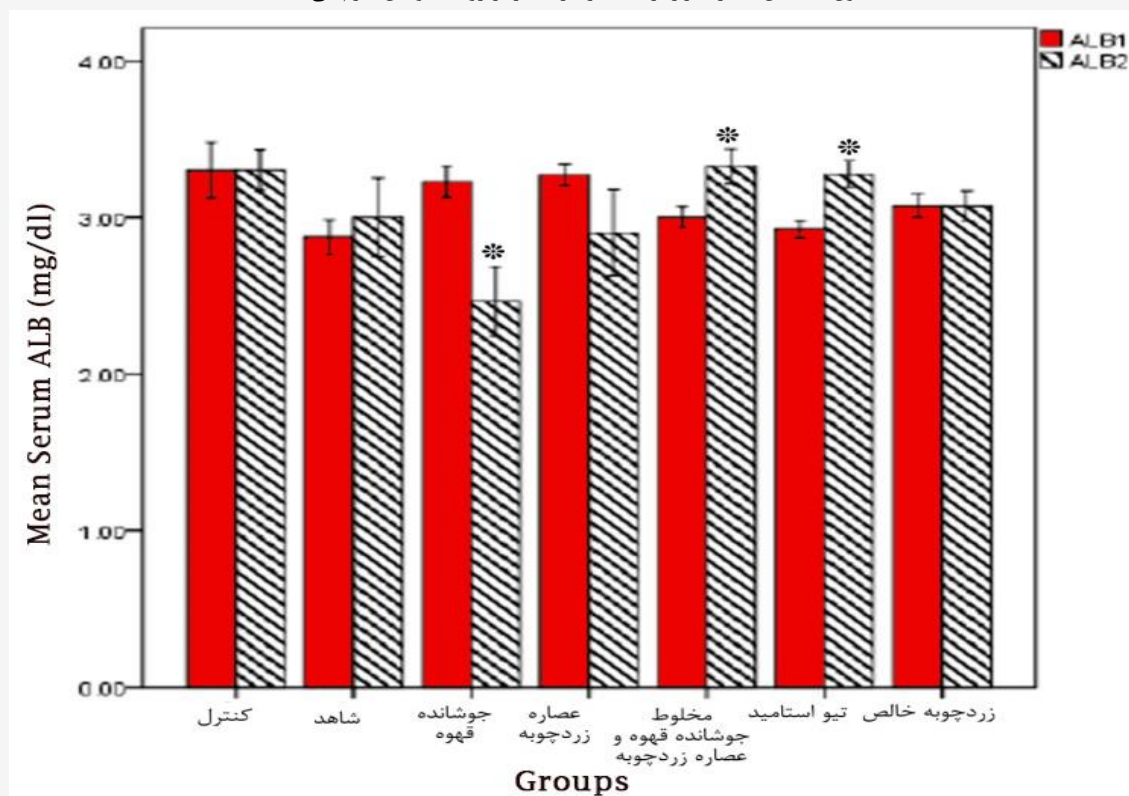
توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 موجود در میکروزوم‌های کبدی متابولیزه شده و در اثر اکسیداسیون به تیواستامید S-اکسید تبدیل می‌گردد و تیواستامید S-اکسید، ایجاد استرس اکسیداتیو می‌کند و موجب آسیب سلول‌های کبدی و آپوپتوز و در نهایت نکروز این سلول‌ها می‌شود افزایش این پروتئین ناقل پلاسمایی یکی از نتایج غیر مستقیم ایجاد فشار و آسیب به سلول‌های هپاتوسیت کبدی می‌باشد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که

همچنین میانگین آلبومین سرم در گروه پیش تیمار شده با پودر زردچوبه 0.18 ± 0.07 تغییر معنی داری نسبت به گروه شاهد (0.50 ± 0.29) 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 معنی داری برای میزان آلبومین سرم (0.62 ± 0.46) در

نمودار ۱: مقایسه میانگین آلبومین سرم قبل و بعد از تزریق تیواستامید در گروه‌های مختلف. این تأثیرات نشان‌دهنده کاهش معنی دار و مفید آلبومین در گروه جوشانده قهوه حتی بعد از تزریق تیواستامید 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 تأثیر هر تیمار بر روی آلبومین سرم می‌باشد.



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

مقایسه با گروه بدون دریافت قهوه (0.23 ± 0.27) و همچنین گروه شاهد بدون دریافت تیواستامید (0.50 ± 0.29) 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



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 پلاسما می‌تواند حتی بعد از ورود فشار اکسیداتیو حاصل از تیواستامید موثر بوده است (۹و۸). اما در تحقیق حاضر، تأثیرات عصاره هیدروآتانی زرد چوبه و زردچوبه خالص، تأثیر 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 گلوکاتایون 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). احتمالاً 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 معیارهای مستقل عملکرد سنتتیک کبد است. در تحقیق حاضر با مصرف منظم جوشانده قهوه در مدت ۶۸ روز میزان میانگین آلبومین سرم از $3/22 \pm 0/27$ به $2/46 \pm 0/62$ کاهش معنی‌داری داشته است. این یافته‌ها مشابه با نتایج تحقیقات Dikshit و همکارانش در سال ۱۹۹۵ می‌باشد. 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 کلروژنیک، 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

القای سیروز کبدی و آنسفالوپاتی هپاتیک حاد استفاده می‌شود. تیواستامید پس از ورود به بدن توسط آنزیم‌های سیستم سم زدایی سیتوکروم P۴۵۰ متابولیزه می‌شود (۹و۸). 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 پروتئین‌ها 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 تأثیر محافظتی به صورت پیش تیمار بر سلول‌های کبدی در مواجهه با تیواستامید به عنوان یک سم کبدی بوده است، که این تغییر در هپاتوسیت‌ها با کاهش میزان آلبومین سرم در برابر آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط تیواستامید نمایان شده است (نمودار ۱). در تحقیقات قبلی بر روی میزان آنزیم‌های کبدی و بافت کبدی در اثر القا استرس اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تیواستامید بحث شده بود در حالی که بررسی تأثیرات پیش درمانی با زردچوبه و جوشانده قهوه بر میزان آلبومین پلاسما می‌تواند به عنوان یک فاکتور موثر عملکرد کبدی بررسی نشده بود. در تحقیق حاضر احتمالاً ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره قهوه، رادیکال‌های آزاد حاصل از تیواستامید 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

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 (۱۶ و ۱۷). 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 مواجهه 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.

ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در قهوه عامل اصلی محافظت سلول‌های کبدی در برابر عوامل سمی و کارسینوژن می‌باشند (۱۳ و ۱۴). ترکیبات پلی فنلی موجود در قهوه، باعث ترمیم سلول‌های کبد و مهار گلوکوکورونیداز 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 تأثیرات درمانی بر مهار آسیب کبدی و ترمیم آن بهتر بوده است (نمودار ۱). با بررسی نتایج به دست آمده از این تحقیق

References

1. Jeong TC, Gu HK, Park JI, Yun HI, Kim HC, Ha CS, et al. Pretreatment 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 graveolens* 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 cirrhosis 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, Tajima K, Hirose K, Hamajima 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 racemosa against 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 N², Mehrabani D³

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