مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره یک، فروردین ۱۳۹۷
تاریخ دریافت:۱۳۹۶/۴/۲۶
تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۸/۱۱

مصرف خوراکی عصاره استویا کاهش دهنده عوارض کبدی و عصبی القا شده توسط استامینوفن در موش کوچک

مریم سترگی[۱]، مجید حسن پورعزتی*[۲]، زهرا موسوی[۳]

مقاله پژوهشی

مقدمه: مصرف خوراکی عصاره استویا سطح آنتی اکسیدان‌های بدن را افزایش می‌دهد. در این مطالعه، مصرف خوراکی عصاره استویا بر عوارض عصبی و کبدی ناشی سمیت حاد و مزمن استامینوفن در موش‌های کوچک بررسی شد.

روش بررسی: موش‌ها (n=۱۲) از نژاد NMRI ،در مطالعه حاد، عصاره استویا (۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) را به مدت یک ماه همراه با آب آشامیدنی دریافت و سپس تک دوز استامینوفن (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) را دریافت کردند. در مطالعه مزمن، موش‌ها (n=۶) استویا (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) را همزمان با استامینوفن ۴/۵ (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) همراه با آب آشامیدنی به مدت یک ماه دریافت کردند. هماهنگی حرکتی موش‌ها توسط آزمون راه رفتن روی طناب سنجیده شد. سطح سرمی آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارتات ترانس آمیناز (AST) و هیستوپاتولوژی کبد موش‌ها ارزیابی شد. تمامی داده‌ها توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ ارزیابی شدند. داده‌ها توسط آزمون کای دو و تحلیل واریـانس یک‌طرفه مورد سنجش واقع شدند.

نتایج: ناهماهنگی حرکتی در ۷۵ درصد موش‌های پس از درمان مزمن با استامینوفن مشاهده شد و پیش درمانی با استویا جلوی بروز اثر استامینوفن را گرفت. استامینوفن سطح ALT و AST سرمی موش‌ها را به طور معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) افزایش داد. عصاره استویا به صورت وابسته به دوز، این فاکتورهای سرمی را کاهش داد. پیش درمانی با هر دو دوز استویا سبب کاهش شدت علایم بافتی نکروز کبدی ناشی از تجویز مزمن استامینوفن شد.

نتیجه‌گیری: مصرف خوراکی عصاره استویا توانست مانع علایم سمیت عصبی و کبدی ناشی از استامینوفن شد.

واژه‌های کلیدی: استویا، استامینوفن، موش کوچک، نشانگان سمیت عصبی، نارسایی کبدی

ارجاع: سترگی مریم، حسن پورعزتی مجید، موسوی زهرا. **مصرف خوراکی عصاره استویا کاهش دهنده عوارض کبدی و عصبی القا شده توسط استامینوفن در موش کوچک.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۱): ۱۵-۱.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد سم شناسی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲ - استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران،ایران
۳- دانشیار گروه فارماکولوژی و سم شناسی دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۲۵۴۶۴۴۳۹، پست الکترونیکی: hassanpour@shahed.ac.ir، صندوق پستی : ۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

مقدمه

استویا گیاهی است بومی آمریکای‌جنوبی که به تازگی در نواحی شمالی کشور عزیزمان ایران با موفقیت مورد کشت و بهره برداری قرار گرفته است (۱). شکر مستخرج از این گیاه، شناخته شده‌ترین شکل محصول حاصل از این گیاه است که به صورت عمده به بازار مصرف داخلی نیز عرضه شده است. استویا علاوه بر خاصیت شیرین‌کنندگی، دارای خواص درمانی است و به همین دلایل در سال‌های اخیر به شدت از نظر اقتصادی و علمی مورد توجه قرار گرفته است. امروزه استفاده از شیرین کننده‌های طبیعی در صنایع داروی از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا که از آنها می‌توان برای شیرین کردن انواع محصولات دارویی بدون نگرانی از بروز مشکل افزایش قند خون درافراد مبتلا به دیابت استفاده کرد (۲). پژوهش‌های موجود اثر محافظت کننده کلیوی، آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی مصرف گیاه استویا را در مدل موشی دیابت ناشی از استرپتوزوسین نشان داده است (۳). همچنین، عصاره گیاه استویا در شرایط In vitro نیز توانای اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را حفظ کرده است (۴). بررسی اثر ترکیب ریبادیوساید (Rebadioside A) به عنوان یکی از ترکیبات موثره موجود در عصاره استویا نشان داد این ترکیب دارای توانایی حفاظت از بافت کلیوی در مقابل استرس اکسیداتی و ناشی از استامینوفن در مدل‌های موشی‌ها است (۵).

کبد یکی از اندام اصلی بدن است که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها نقش دارد و درصورتی که آنزیم‌های این مسیرهای متابولیسمی و محصولات نهایی حاصل از آنها به میزان غیر طبیعی در بدن تولید شوند، به عنوان علایم اختلال در عملکرد کبدی تلقی می‌شوند (۶). در اغلب پژوهش‌ها ارزیابی عملکرد کبدی، سطح سرمی دو آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) به عنوان شناخته شده ترین علائم بروز آسیب کبدی ناشی از دارو بررسی می‌شود (۷).

حدود یک دهه است که بیماران با آسیب به کبدی و بروز نارسایی کبدی به واسطه تجویز مزمن و یا حاد دوزهای بالای استامینوفن مواجه هستند. محققین دلیل این ضایعه را اختلال در عملکرد مسیر متابولیکی میکروزومی کبد عنوان کرده‌اند (۸). متورم شدن سلول‌های کبدی، تخریب هسته، حفره حفره شدن سیتوپلاسم سلولی، التهاب و رهایش آنزیم‌های درون سلولی مانند آلانین آمینوترانسفراز از علایم شاخص بروز فرایند نکروز کبدی در این شرایط هستند (۱۱-۹). مسمومیت کبدی به دنبال مصرف دوزهای بالای استامینوفن نه تنها به عنوان یک معضل رایج جهانی شناخته شده و حائز اهمیت تحقیقاتی در نظر گرفته شده است، بلکه نتایج پژوهش دانشمندی به نام موری و همکارانش در سال ۲۰۰۸ در ایالات متحده نشان داد که ۵۰ درصد افرادی که دوزهای بالای از استامینوفن را مصرف کرده‌اند، ابتدا دچار مسمومیت حاد کلیوی می‌شوند (۱۲). این گروه تحقیقاتی به عنوان پیشنهاد برای تحقیقات بعدی در این زمینه ارزیابی پاتوفیزیولوژیک نارسایی‌های کبدی ناشی از استامینوفن و راه‌های پیش‌گیری و درمان این نارسای را به عنوان یک ضرورت تحقیقاتی پیشنهاد کردند.

به دلیل مقاومت بالاتر موش‌های بزرگ در مقابل بروز عوارض ناشی از مصرف دوزهای بالای استامینوفن دانشمندان معمولا به منظور بررسی مکانیسم، عوارض، روش‌های درمانی و مقابله با عوارض جانبی ناشی از دوزهای بالای استامینوفن امروزه از موش‌های کوچک برای انجام این مطالعات استفاده می‌شود (۱۳). به دلیل تشابه عوارض ناشی از تجویز طولانی مدت استامینوفن در انسان و حیوانات آزمایشگاهی، پژوهش حیوانی در این زمینه می‌تواند نکات ارزشمندی را در ارتباط با مکانیسم‌های عملکرد کبدی در موارد مواجه با چنین ترکیباتی برای درمان‌های بالینی در بیماران انسانی فراهم آورد (۱۴).

استامینوفن به عنوان یک مدل موشی القا سمیت حاد کبدی نیز مورد استفاده واقع شده است (۱۵). دانشمندان گزارش کرده‌اند که گرچه بخش عمده استامینوفن در کبد به متابولیت‌های سولفاته و گلوکورونیده غیر سمی تبدیل می‌شود، اما کمتر از ۱۰ درصد استامینوفن در شرایط عادی توسط آنزیم‌های ستیوکروم P ۴۵۰متابولیزه شده و به ماده‌ای سمی به

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نام ان- استیل--پارا–بنزوکوینون ایمین (*N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine) یا به اختصار (NAPQI) تبدیل می‌شود. علاوه بر این، گزارش شده که این متابولیت سمی می‌تواند سبب بروز اختلالات حرکتی در مدل‌های حیوانی نیز شود (۱۶). یافته‌های حاصل از تحقیقات سلولی مشخص کرده‌اند که اثرات سمی استامینوفن بر روی سلول‌های عصبی وابسته به مکانیسم‌های استرس اکسیداتیو بوده و به نظر می‌رسد که این اثرات مستقل از عوارض سمیت محیطی این دارو بوده و از تاثیر مستقیم این دارو بر سلول‌های عصبی حاصل می‌شود (۱۷، ۱۸).

امروزه گزارشات متعددی در ارتباط با استفاده ازعصاره‌های گیاهی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی به منظور کاهش عوارض ناشی از استامینوفن در دست می‌باشد (۱۹). فرضیه این پژوهش این است که تجویز خوراکی استویا به عنوان شیرین کننده همراه با دوزهای بالا و سمی استامینوفن می‌تواند از بروز عوارض کبدی و عصبی (عوارض حرکتی) ناشی از استامینوفن هم در شرایط حاد و هم مزمن در موش کوچک جلوگیری کند. در صورت تایید این فرضیه استویا می‌تواند جایگزین مناسبی به جای شکر در شربت‌ها استامینوفن شده و به این صورت علاوه بر یک شیرین‌کننده از بروز اثرات سمی مصرف دوز بالای استامینوفن جلوگیری کند. بر این اساس، در این مطالعه به بررسی اثر جلوگیری کننده مصرف خوراکی استویا بر اثرات سمی استامینوفن در دو مدل تجویز حاد و مزمن استامینوفن در موش کوچک پرداخته خواهد شد.

روش بررسی

حیوانات: این مطالعه از نوع تجربی است. روش نمونه‌برداری این پژوهش از نوع ساده تصادفی بوده و نوع مطالعه از نوع توصیفی- کمی و کیفی می‌باشد. حیوانات مورد آزمایش در این پژوهش، موش‌های کوچک‌نر نژاد Albino NMRI با وزن ۲۵-۳۰ گرم هستند. موش‌ها از حیوان خانه دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تهیه شده‌اند. موش‌ها در قفس‌های استاندارد، دسترسی به آب آشامیدنی و غذای استاندارد کافی، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد در اتاق نگهداری حیوانات با روشنایی کنترل شده، ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. وزن حیوانات هر هفته به طور دقیق اندازه‌گیری و تغییرات وزن آنها ثبت می‌شد. موش در این پژوهش، ابتدا به دو دسته مطالعه حاد و مزمن تقسیم بندی شدند. تعداد موش‌ها در گروه‌های مطالعه حاد ۱۲ سر و در مطالعه مزمن ۶ سر بود. رعایت اصول اخلاق پژوهش با کمترین آزار به حیوانات در این پژوهش لحاظ شد (۲۰).

گروه‌های بندی حیوانات مورد مطالعه: موش‌ها ابتدا به دو دسته موش‌های آزمایشات حاد و موش‌های آزمایشات مزمن تقسیم بندی شدند.

الف – مدل تجویز حاد استامینوفن.

تعداد ۷۲ سر موش به شش گروه که هر گروه دارای ۱۲ سر موش است به شرح زیر تقسیم بندی شدند: ۱ - گروه کنترل: فقط محلول حاوی ساکاروز ۵ درصد را همراه با آب آشامیدنی خود به مدت یک ماه دریافت کردند؛ ۲- گروه دریافت کننده استامینوفن: موش تک دوز استامینوفن (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی پس از یک ماه دریافت ساکاروز به همراه آب آشامیدنی دریافت کردند؛ ۳ و ۴ - گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره: این گروه‌ها به ترتیب، دوزهای ۲۰۰ و یا ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره استویا را در آب آشامیدنی خود به مدت یک ماه دریافت کردند؛ ۵ و ۶ - گروه پیش درمانی با عصاره استویا و استامینوفن: موش‌ها به مدت یک ماه به صورت خوراکی همراه با آب آشامیدنی خود، به ترتیب، دوزهای ۲۰۰ و یا ۴۰۰ میلی‌گرم /میلی‌لیتر از عصاره استویا را دریافت و یک روز پس از پایان دوره یک ماهه دریافت استویا تک دوز استامینوفن (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) را دریافت می‌کردند. موش‌ها ۴۸ ساعت پس از دریافت استامینوفن پس از خون گیری کشته شده و از بافت کبدی آنها نمونه برداری می‌شد.

ب- مدل تجویز مزمن استامینوفن .

تعداد ۳۶ سر موش به شش گروه که هر گروه دارای ۶ سر موش است به شرح زیر تقسیم بندی شدند: ۱- گروه کنترل:

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

این گروه محلول ساکاروز ۵ درصد را به صورت خوراکی همراه با آب آشامیدنی خود به مدت یک ماه دریافت کردند؛ ۲- گروه دریافت کننده استامینوفن: این گروه استامینوفن (۴/۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) حل شده در محلول ساکاروز ۵ ٪ را به صورت آشامیدنی به مدت یک ماه دریافت کردند؛ ۳ و ۴- گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره: موش‌های این گروه‌ها دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره استویا را به صورت خوراکی همراه با آب آشامیدنی به به مدت یک ماه دریافت کردند؛ ۵ و ۶- گروه دریافت کننده عصاره استویا و استامینوفن: موش‌های این گروه‌ها استامینوفن، دوز ۴/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر، را همراه با دوزهای ۲۰۰ و یا ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر عصاره همراه با آشامیدنی خود دریافت کردند.

مشابه با آزمایشات گروه حاد، نمونه خون موش‌ها ۴۸ ساعت پس از پایان دوره دریافت استامینوفن اخذ شد. سپس موش‌ها کشته و از بافت کبدی آنها نمونه‌برداری صورت گرفت. تهیه عصاره گیاهی: برگ خشک گیاه استویا کشت شده در مناطق شمالی ایران خریداری و مشابه با روش محققی به نام لوپز و همکارانش در سال ۲۰۱۶ مورد عصاره‌گیری قرار گرفت (۲۱). بر اساس این روش، برگ‌های گیاه استویا (۷۵گرم) پس از خشک شدن، پودر شده، سپس در ۳ ارلن جداگانه حاوی ۵۰۰ سی سی اتانول ریخته شدند (هر ارلن حاوی ۲۵ گرم پودر برگ خشک + ۵۰۰ اتانول). این مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس محلول فوقانی فیلتر شده و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد توسط روتاری حرارت داده شد تا تمام اتانول آن تبخیر و عصاره کاملا خشک شود. این روند، سه مرتبه برای هر یک از ظروف تکرار شد. این روش سبب می‌شود تا به ازا هر ۷۵ گرم پودر خشک برگ استویا، ۳/۵ گرم عصاره خشک حاصل شود که بازدهی معادل با ۵۱ درصد را در پی دارد.

انتخاب دوز استویا: دوزهای تجویزی ازعصاره استویا به موش‌ها بر اساس گزارش دانشمندی بنام میسرا و همکارانش در سال ۲۰۱۲ انتخاب شدند (۲۲). بر اساس این گزارش تجویز دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده از برگ گیاه استویا به روش‌های مختلف می‌تواند سبب افزایش محتوی گلیکوژن و محافظت از کبد در موش‌های بزرگ دیابتی شود.

مدل‌های القا آسیب‌های عصبی و کبدی بر اساس مدل پیشنهادی دی سیلوا در سال ۲۰۱۲، آسیب‌های حاد ناشی از استامینوفن در موش توسط تزریق داخل صفاقی تک دوزاستامینوفن (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) ایجاد شد (۲۳). یافته‌های حاصل از مطالعات ملکولی صورت گرفته بر روی موش‌های کوچک، بروز اختلالات کبدی بدنبال تجویز حاد استامینوفن (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) را تایید کرده اند (۲۴).

مدل آسیب‌های کبدی مزمن توسط تجویز مزمن استامینوفن به موش‌ها بر اساس روش مایکلی و همکارانش در سال۲۰۰۶ به انجام رسید (۲۵). بدین منظور پودر خالص استامینوفن (۴/۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) در محلول ساکاروز ۵ ٪ حل شده و از طریق آب آشامیدنی به مدت یک ماه به موش‌ها تجویز شد (۲۶).

ارزیابی اختلال حرکتی ناشی از استامینوفن: روش آزمون خزیدن بر روی طناب (Test of Crawling along a Rope)

این روش به منظور ارزیابی اثر درمان با دو دوز عصاره استویا بر اختلال عصبی ناشی از استامینوفن منجر به عدم هماهنگی در حرکت مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها هر یک از مطالعات حاد یا مزمن یک روز پس از پایان دوره سی روزه درمان و قبل از خون‌گیری، بر اساس روش زانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ بدین شرح مورد ارزیابی حرکتی بر روی طناب قرار می‌گرفتند (۲۷).

ابتدا طنابی به طول ۲ متر به صورت افقی بین دو تکیه‌گاه در ارتفاع ۱/۵ متری از سطح زمین کشیده شد. سپس موش‌ها بر روی قسمت میانی این طناب قرار داده می‌شدند و به آنها سه دقیقه مهلت داده می‌شد تا خود را به یکی از دو انتهای

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

طناب برسانند (موش‌های موفق). اما موش‌های که پس از استقرار بر روی طناب سقوط کرده یا بی‌حرکت باقی می‌ماندند، ناموفق در نظر گرفته می‌شدند.

تهیه سرم خون: موش‌ها در پایان مطالعه توسط دی اتیل اتر بیهوش شده و به صورت داخل قلبی و به وسیله یک سرنگ ۲ سی‌سی نمونه خونی از آنها گرفته می‌شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شده و سپس برای جداسازی سرم به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) می‌شدند. بخش سرم هر یک از نمونه‌های خونی توسط یک سمپلر ۲۰۰ لاندا جداسازی و مورد سنجش قرار گرفت.

ارزیابی بیوشیمیایی فاکتورهای عملکرد کبدی موش‌ها: میزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز(ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) توسط کیت‌های تجاری ساخت ایران و به کمک دستگاه اتوآنالایزر هیتاچی مدل ۹۱۲ ساخت کشور ژاپن مورد سنجش واقع شد (۲۸). ارزیابی بافت‌شناسی کبد موش‌ها: موش‌ها پس از بیهوش شدن مورد نمونه‌برداری از بافت کبد واقع شده و نمونه‌های بافتی پس از فیکس شدن توسط فرمالین و قالب‌گیری در پارافین با ضخامت ۷ میکرومتر برش‌گیری و به روش هماتوکسیلن - ائوزین رنگ آمیزی شدند. این برش‌ها از نظر وجود علایم بافتی چون نکروز کبدی، عریض شدن فضای سینوزوئیدی و خونریزی‌های موضعی مورد ارزیابی قرار گرفتند (۲۹).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ و با روش تحلیل واریانس چند متغیری و تحلیل واریانس یک طرفه ارزیابی شدند. مقادیر هر شاخص مربوط به هر گروه به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (Mean± SEM) ارائه شده‌اند. تفسیر داده‌ها با در نظر گرفتن p<۰/۰۱* نسبت به گروه کنترل و یا p<۰/۰۱ $ نسبت به گروه دریافت کننده استامینوفن صورت گرفت. داده‌ها مربوط به آزمون حرکت بر روی طناب، توسط آزمون کای اسکور (Chi-square) با سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) در مقایسه با گروه درمان شده با استامینوفن مورد سنجش و گزارش قرار گرفتند.

نتایج

میزان مصرف آب روزانه برای هر موش بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، به طور متوسط ۰/۵±۳ میلی‌لیتر است، بر این اساس، هر موش به طور متوسط در حدود ۵±۴۷۲/۵ میلی‌گرم استامینوفن را از طریق آب آشامیدنی در طول یک ماه دریافت کرده است. همچنین، هر موش در گروه‌های دریافت کننده استویا (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، به ترتیب، ۱/۵±۱۹/۵ و۳±۳۹ گرم عصاره استویا را از طریق آب آشامیدنی در طول یک ماه دریافت کرده است.

نتایج آماری بررسی وزن بدن موش‌ها در مدل درمان حاد با استامینوفن تفاوت معنی‌داری را در گروه‌های مختلف با گروه کنترل در طول یک ماه نشان نداد و موش‌ها در تمامی گروه‌ها دارای روند افزایشی در وزن بدن مشابه با گروه کنترل بودند. وزن بدن موش‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش و درصد تغییرات وزن بدن موش‌ها در مدل دریافت مزمن استامینوفن در جدول ۱ ارائه شده است. مقایسه وزن بدن موش‌ها در ابتدای آزمایش با انتهای آزمایش دارای تفاوت معنی‌دار(p<۰/۰۱) بود. این امر نشان دهنده روند طبیعی افزایش وزن بدن موش‌ها، علارغم دریافت استامینوفن به صورت خوراکی است. ولی وزن بدن موش‌های هر گروه با گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

جدول ۱: میانگین وزن بدن موش‌ها (گرم) در ابتدا، انتهای آزمایشات و درصد تغییرات وزن بدن برای هر یک از گروه‌ها در طول آزمایش.

گروه ها	وزن بدن(گرم)در ابتدای آزمایش	وزن بدن (گرم) در انتهای آزمایش	درصد افزایش وزن بدن نسبت به روز اول
کنترل	۲۶/۸ ± ۱/۷	۳۵/۵ ±۱ /۵	۳۲
استامینوفن (۴/۵ میلی گرم/میلی لیتر/روز در آب آشامیدنی)	۲۷/۹ ± ۱	۳۶/۵ ± ۰/۷	۳۰
استویا (۲۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)	۲۷ ± ۱/۱	۳۴/۳ ± ۱/۱	۲۷
استویا (۴۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)	۲۸ ± ۱/۶	۳۶/۴ ± ۱	۳۰
استامینوفن (۴/۵ میلی گرم/میلی لیتر/روز) +استویا(۲۰۰میلی گرم/میلی لیتر)	۲۴ ± ۱/۹	۳۴ ± ۱/۵	۴۱
استامینوفن (۴/۵ میلی گرم/میلی لیتر/روز) +استویا(۴۰۰میلی گرم/میلی لیتر)	۲۳ ± ۱/۲	۳۳ ± ۱/۸	۴۳

موش‌ها استامینوفن و دو غلظت مختلف عصاره استویا را به مدت یک ماه از طریق آب آشامیدنی دریافت کردند. مقادیر وزن بدن موش‌ها (میـانگین ± متوسط انحراف از معیار) بر حسب واحد گرم بیـان شـده است. وزن بدن موش‌ها در ابتدا و انتهای آزمایشات دارای تفاوت معنی‌دار آماری ($p<0.01$*) در همه گروه‌ها بوده و درصد افزایش معنی‌داری را با گروه کنترل ($p<0.05$) نشان می‌دهد. همچنین مقایسه وزن بدن موش‌ها بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. داده‌ها توسط آزمون واریانس دوطرفه با سطح معنی‌داری ($p<0.05, p<0.01$) با گروه کنترل مقایسه شده اند.

داده‌های حاصل از آزمون حرکت موش‌ها بر روی طناب (Crawling rope test) در جدول ۲ ارائه شده اند. تجویز تک دوز استامینوفن یک روز پس از یک دوره یک ماهه تجویز عصاره استویا و نیم ساعت پیش از انجام این آزمون انجام گرفت و نتایج دال بر هیچ اثر معنی‌دار بر تعداد موش‌ها موفق در آزمون خزیدن بر روی طناب در مقایسه با گروه کنترل نبودند (اطلاعات ارائه نشده اند). اما تجویز مزمن استامینوفن همراه با آب آشامیدنی به موش‌ها (جدول ۲)، سبب شد تا تعداد موش‌های قادر به انجام آزمون خزیدن بر روی طناب به ۷۵ درصد موش‌های گروه کنترل کاهش ($p<۰/۰۵$) پیدا کند در ادامه، بررسی نتایج بدست آمده از موش‌های دریافت کننده دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر استویا همراه با استامینوفن نشان داد که استویا می‌تواند از ایجاد اختلال حرکتی بر روی طناب ناشی از استامینوفن جلوگیری کند. تمامی موش‌های پیش درمانی شده با هر یک از دوزهای استویا و استامینوفن در انجام این آزمون موفق بودند. تعداد موش‌های موفق در این گروه مساوی با تعداد موش‌های گروه کنترل بود. مقایسه اثر دو دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم از استویا در پیشگیری از بروز اثرات حرکتی استامینوفن نشان داد که هر دو دوز بکار گرفته شده دارای قدرتی مشابه در جلوگیری از بروز اختلال حرکتی ناشی از استامینوفن هستند.

جدول ۲: اثر درمان با استویا بر تعداد موش‌های موفق درآزمون عبور از طناب بدنبال اختلال حرکتی ناشی از تجویز مزمن استامینوفن.

گروه ها	تعداد موش‌ها در هر گروه	تعداد موش های عبورکننده از طناب	سطح معنی داری
کنترل	۱۲	۱۲	ns
استامینوفن(۴/۵میلی گرم/میلی لیتر در روز)	۱۲	۳	**۰/۰۱
استویا (۲۰۰میلی گرم/میلی لیتر)	۱۲	۱۲	Ns
استویا (۴۰۰میلی گرم/میلی لیتر)	۱۲	۱۲	Ns
استویا (۲۰۰میلی گرم/میلی لیتر)+ استامینوفن(۴/۵میلی گرم/میلی لیتر در روز)	۱۲	۱۲	Ns
استویا (۴۰۰میلی گرم/میلی لیتر)+استامینوفن(۴/۵میلی گرم/میلی لیتر در روز)	۱۲	۱۲	ns

داده‌ها توسط آزمون کای دو با سطح معنی‌داری $p<0.05$* مورد مقایسه قرار گرفته اند. Ns =از نظر آماری معنی‌دار نیست.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

جدول ۳ میزان سرمی دو آنزیم ALT و AST در موش‌ها را در مدل تجویز حاد استامینوفن را ارائه می‌دهد. بر اساس نتایج این بخش، تجویز حاد ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به موش‌ها سبب افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۱) سطح سرمی هر دو آنزیم در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. تجویز دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر از عصاره استویا از طریق اب آشامیدنی موش‌ها به مدت یک ماه توانست جلوی افزایش سطح سرمی این دو آنزیم را در موش‌ها به طور معنی‌دار (p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن بگیرد. یافته‌ها حاصل از مطالعه اثر تجویز مزمن استامینوفن (۴/۵ میلی‌گرم/میلی لیتر) به همراه آب آشامیدنی دال بر این است که تجویز مزمن استامینوفن همراه با آب آشامیدنی بمدت یک ماه سبب افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۱) سطح سرمی هر دو فاکتور عملکرد کبدی در خون موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (جدول ۴). تجویز خوراکی عصاره استویا (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به مدت یک ماه همراه آب آشامیدنی به موش‌ها سبب کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۱) هر دو فاکتور در سرم خون موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل شد. تجویز خوراکی عصاره استویا (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) همراه با استامینوفن به مدت یک ماه به موش‌ها نیز سبب کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۱) هر دو فاکتور در سرم خون موش‌ها در مقایسه با گروه استامینوفن شد. میزان کاهش این دو فاکتور در سرم خون موش‌ها وابسته به دوز بوده و بدنبال تجویز دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر بیشتر از دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر از عصاره استویا است. بدین ترتیب به نظر می‌رسد مصرف مزمن استویا نه تنها سبب کاهش این دو فاکتور عملکردی در سرم خون موش‌ها می‌شود بلکه می‌تواند از افزایش القا شده توسط استامینوفن بر دو فاکتور نیز جلوگیری کند. مقایسه اثر کاهش دهنده دو دوز استویا بر افزایش این فاکتور سرمی القا شده توانست استامینوفن در مقایسه با گروه دریافت کننده مزمن استامینوفن خوراکی نشان دهنده اثرات وابسته به دوز عصاره استویا بر این فاکتورهای کبدی به طور معنی‌دار (p<۰/۰۱)است.

جدول۳: اثر درمان با استویا (۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بر تغییرات سطح سرمی آلانین ترانس آمیناز و آسپارتات ترانس آمیناز موش‌ها در مدل تجویز حاد استامینوفن.

گروه ها	سطح سرمی آلانین ترانس آمیناز (U/L)	سطح سرمی آسپارتات ترانس آمیناز (U/L)
کنترل	۴۶ ± ۵	۲۱۸ ± ۴
استامینوفن (۶۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن، تک دوز داخل صفاقی)	۴۶۱ ± ۳ **	۹۱۷ ± ۸ **
استویا (۴۰۰میلی گرم/میلی لیتر)+استامینوفن (۶۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن، تک دوز داخل صفاقی)	۴۷ ± ۵ $$	۱۸۴ ± ۷ $$

- گروه ها در مقایسه با گروه کنترل (p<0.01**) و در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن (p<0.01$$).

جدول ۴: تغییرات سطح سرمی آلانین ترانس آمیناز، آسپارتات ترانس آمیناز موش‌ها پس از تجویز خوراکی همراه با آب آشامیدنی با عصاره استویا (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) و استامینوفن (۴/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به مدت یک ماه .

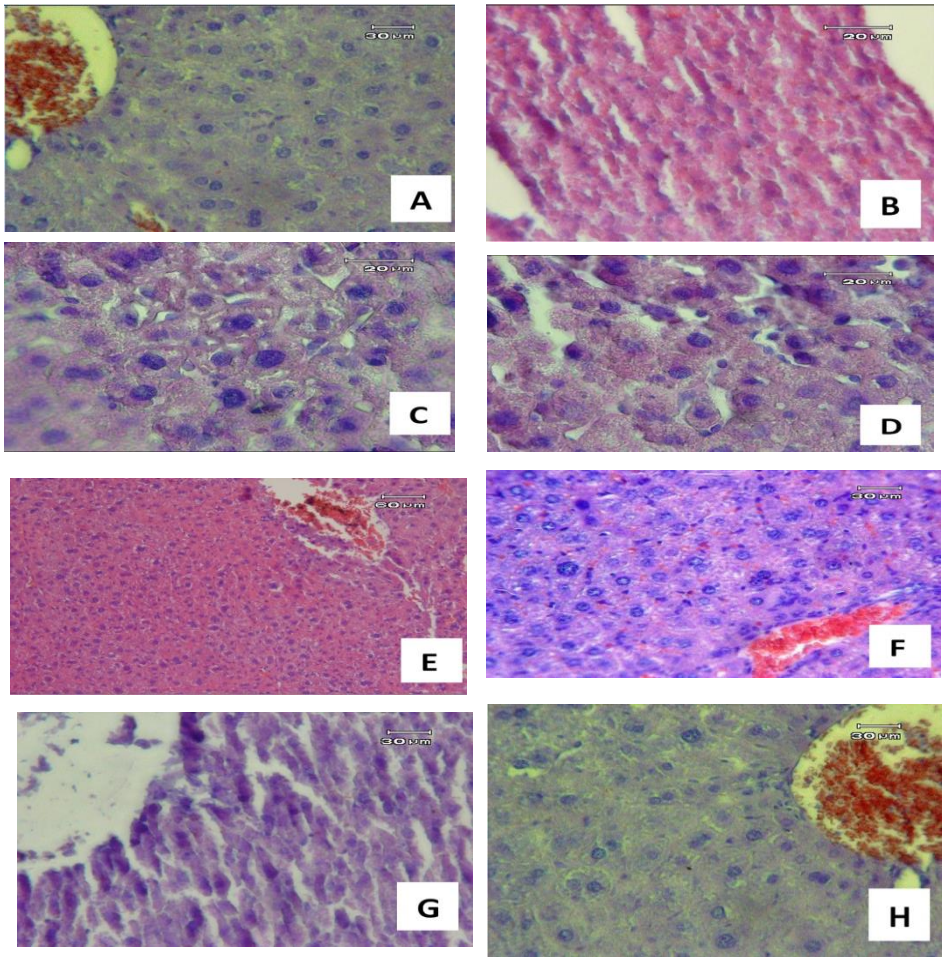
گروه ها	سطح سرمی آلانین ترانس آمیناز (U/L)	سطح سرمی آسپاراتات ترانس آمیناز (U/L)
کنترل	۴۶ ± ۵	۲۱۸ ± ۴
استامینوفن (۴/۵ میلی گرم/ میلی لیتر)	۱۰۶ ± ۱۴ **	۸۹۴ ± ۲۱ **
استویا (۲۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)	۸۶ ± ۲ **	۱۷± ۳ **
استویا (۴۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)	۵۴ ± ۴ **	۴۳۱ ± ۳ **
استامینوفن (۴/۵ میلی گرم/ میلی لیتر) + استویا (۲۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)	۸۳ ± ۳ $$	۲۸۵ ± ۳ $$
استامینوفن (۴/۵ میلی گرم/ میلی لیتر) + استویا (۲۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)	۵۷ ± ۲ $$	۲۲۸ ± ۳ $$

گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل (p<0.01**) و در مقایسه با گروه دریافت کننده استامینوفن (p<0.01$$).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نتایج مطالعه بافت شناسی کبد موش‌ها بدنبال رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلن- ائوزین در مدل درمان مزمن با استامینوفن در مقایسه با موش‌های کنترل نشانگر بروز علایم نکروز در بافت کبدی است (شکل ۱، B). همچنین، ارزیابی بافت کبدی موش‌های در گروه حاد که استامینوفن (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) را به صورت تک دوز و داخل صفاقی دریافت کرده بودند (شکل ۱، G) نشان داد که استامینوفن می‌تواند سبب بروز آسیب به بافت کبدی شود. بررسی برش‌های بافت کبدی در گروه‌های دریافت کننده حاد یا مزمن استامینوفن علایمی چون کاهش رنگ‌پذیری هسته‌های سلول‌های کبدی و ایجاد ساختارهای حفره‌ای شکل در بافت کبدی موش‌ها شد.

یافته‌های ما همچنین نشان داد که پیش درمانی با استویا (دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) همراه با آب آشامیدنی در مدل تجویز حاد استامینوفن (شکل ۱، H) و یا درمان توسط تجویز دو دوز استویا (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در مدل تجویز مزمن استامینوفن (شکل ۱، E و F) می‌توانند از بروز آثار ذکر شده دال بر نکروز کبدی ناشی از استامینوفن بر کبد موش‌ها جلوگیری کند .



شکل۱: برش تهیه شده از بافت کبد موش‌ها رنگ آمیزی شده توسط هماتوکسیلن - ائوزین در گروه های مختلف. گروه ها شامل: A. گروه کنترل؛ B. گروه استامینوفن (۴/۵ میلی گرم /میلی لیتر)؛ C. گروه استویا (۲۰۰میلی گرم /میلی لیتر)؛ D. گروه استویا (۴۰۰میلی گرم /میلی لیتر)؛ E. گروه استامینوفن (۴/۵ میلی گرم /میلی لیتر)+استویا (۲۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)؛ F. گروه گروه استامینوفن (۴/۵ میلی گرم /میلی لیتر)+استویا (۴۰۰ میلی گرم/میلی لیتر)؛ G. گروه استامینوفن تزریقی (تک دوز ۶۰۰ میلی گرم/کیلوگرم داخل صفاقی) و H. گروه استامینوفن تزریقی (تک دوز ۶۰۰ میلی گرم/کیلوگرم داخل صفاقی) +استویا(۴۰۰ میلی گرم/میلی لیتر). بافت کبد موش‌های که فقط استامینوفن را به صورت خوراکی یا تزریقی دریافت کرده است دارای هسته‌ها کم رنگ تر در مقایسه با بافت کبد موش‌های گروه کنترل و حفره‌های روشن یا واکوئل‌های (فلش سفید رنگ) است که دال بر بروز آسیب به بافت کبد است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

بحث

نتایج این پژوهش، با اندازه‌گیری متوسط آب مصرفی برای هر موش نشان داد که یک موش به طور متوسط روزانه حدود ۰/۵±۳ میلی‌لیتر آب مصرف می‌کند. این میزان مصرف آب با گزارشات موجود در مورد مصرف ۲۴ ساعته آب آشامیدنی توسط یک موش کوچک هم‌خوانی دارد (۳۰). میزان مصرف آب آشامیدنی در گروه کنترل با گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار نداشت. این امر نشان دهنده این مطلب است که افزودن استامینوفن و یا استویا به تنهایی و یا تواما با هدف خود تجویزی به آب آشامیدنی موش‌ها، هیچ اثر معنی‌داری بر میزان حجم آب مصرفی روزانه موش‌ها ندارد.

همچنین، نتایج سنجش تغییرات وزن بدن موش‌ها نشان دهنده عدم تغییر معنی‌دار در سرعت افزایش وزن بدن موش‌ها بدنبال تجویز خوراکی استامینوفن به مدت یک ماه همراه با آب آشامیدنی است. پژوهش دیگری در تایید یافته‌های پژوهش حاضر، گزارش کرده است که بدنبال تجویز دوزهای بالای استامینوفن سرعت افزایش وزن بدن موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهد (۳۱). البته، در مقابل گزارش دیگری نیز وجود دارد که نشان دهنده کاهش وزن موش‌ها بدنبال مسمومیت با استامینوفن در دوزهای بالاست (۳۲). مقایسه جزئیات این گزارشات، تفاوت در تجویز و مدت زمان تجویز استامینوفن را میان این روش‌ها مشخص ساخت و نشان داد که برای بروز اثرات کاهش دهنده وزن بدن، استامینوفن حداقل بایستی به مدت سه ماه با دوز بالا، مشابه دوز بکار رفته در پژوهش حاضر به موش‌ها تجویز شود. لذا در تفسیر یافته‌های وزن بدن موش‌ها حاصل از مطالعه حاضر می‌توان گفت با توجه به مدت زمان یک ماهه تجویز استامینوفن در این پژوهش، القا مسمومیت کبدی توسط استامینوفن در مدت یک ماه، سبب اثر معنی‌دار کاهش دهنده بر وزن بدن موش‌ها نشده است. به طور مشابه، تجویز خوراکی استویا در طول مدت یک ماه به صورت خوراکی نیز سبب تاثیر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل بر وزن بدن موش‌ها نشد. در تایید این یافته گزارش شده است که مصرف استویا به تنهایی در مقایسه با دیگر شیرین کننده‌های غیر ساکاروزی دارای اثر کاهشی بر وزن موش‌ها نیست (۳۳). علاوه بر این، دانشمندی بنام برآون در سال ۲۰۱۲ گزارش کرده است که مصرف عصاره استویا توسط انسان به عنوان یک شیرین کننده‌های غیر قندی هیچ‌گونه اثری بر وزن بدن افراد نداشته است (۳۴).

یافته‌های ما در ارتباط با اندازه‌گیری حرکات هماهنگ موش‌ها بر روی طناب نشان داد که تجویز حاد استامینوفن در دوز بکار رفته در این پژوهش سبب بروز اختلال حرکتی در انجام حرکات هماهنگ موش‌ها برای خزیدن در روی طناب نمی‌شود. اما تجویز مزمن خوراکی استامینوفن توانست به طور معنی‌دار ($p<0.05$) سبب اختلال در انجام این آزمون شود. زانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ مدعی شده بودند که اختلال در انجام این حرکت می‌تواند ناشی از اثر ترکیباتی باشد که استرس ناشی از ارتفاع را در موش‌ها تشدید می‌کنند (۲۷). یافته‌های حاصل از چندین پژوهش‌های پایه و بالینی تایید کننده ارتباطی بین اختلال در عملکرد کبد و بروز استرس روانی در افراد است (۳۵, ۳۶, ۳۷). نتایج پژوهش دیگری در تایید این ادعا مشخص کرد که تغییرات عملکردی در سیستم اعصاب کنترل کننده حرکت در مدل‌های موشی بدنبال اختلالات کبدی بروز می‌کند (۳۸). از سوی دیگر، اثر کاهش دهنده استرس روانی و فیزیولوژیک به دنبال مصرف برخی از ترکیبات شیرین مزه گیاهی مشابه با گیاه استویا گزارش شده است (۳۹). لذا به عنوان یک جمع‌بندی کلی از یافته‌های این پژوهش‌ها و اطلاعات ارائه شده می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تجویز استویا توانسته است با کاهش استرس مختل کننده حرکات هماهنگ ناشی از آسیب‌های کبدی بدنبال تجویز مزمن استامینوفن سبب انجام موفقیت‌آمیز حرکت بر روی طناب توسط موش‌ها شود. به عنوان یک مکانیسم احتمالی دیگر در توضیح اثر محافظت کننده استویا بر اختلال حرکتی ناشی از استامینوفن می‌توان به این یافته‌ها اشاره کرد که تجویز دوزهای سمی از

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

استامینوفن سبب اختلال بیوشیمیای و در نهایت عملکردی در نورون‌های مخچه می‌شود (۴۰). از سوی دیگر استویا دارای ماده موثره‌ای بنام ایزواستویل است که دارای خاصیت محافظت کننده عصبی است (۴۱). لذا بر این اساس می‌توان مدعی شد که استویا از طریق مکانیسم مختلفی سبب محافظت عصبی در مقابل آسیب‌های عصبی حرکتی ناشی از استامینوفن شده است.

یافته‌های پژوهش حاضر در ارتباط با اندازه‌گیری سطح فاکتورهای عملکرد کبدی در سرم خون موش‌ها تایید کننده افزایش سطح سرمی دو آنزیم کبدی ALT و AST در موش‌ها به دنبال مصرف استامینوفن و بروز آسیب به کبد است. این مشاهده با گزارش قبلی دال بر افزایش این فاکتورهای کبدی در سرم خون انسان به دنبال مصرف دوزهای بالای استامینوفن مطابقت دارد (۴۲). نتایج یک مطالعه ملکولی، نقش فاکتورهای ایمنولوژیک و التهابی را در به عنوان اساس ملکولی بروز آسیب به کبد بدنبال تجویز دوزهای بالا از استامینوفن به موش‌ها مشخص کرده است (۴۳). در مقابل براساس گزارش یک مطالعه In Vitro استویا دارای خاصیت تعدیل کننده سیستم ایمنی است (۴۴). بدین ترتیب به نظر می‌رسد که تعدیل سیستم ایمنی توسط استویا می‌تواند نقشی در اثرات محافظت کننده کبدی آن در مقابل استامینوفن می‌تواند داشته باشد.

مقایسه دوزهای تجمعی استامینوفن برای القا عوارض کبدی در این مطالعه با دوزهای گزارش شده توسط دیگر پژوهشگران دال بر این است که دوز تجمعی استامینوفن در این پژوهش مطابق با گزارشاتی موجود برای القا عوارض کبدی است (۴۵). ضمن اینکه، نتایج مطالعه‌ای نشان داده بود که با تجویز خوراکی استامینوفن از راه افزودن آن به غذای موش‌ها به مدت ۴۸ هفته می‌توان سبب بروز القا عوارض کبدی مزمن شدید در موش‌ها شد (۴۶). بر اساس این گزارش و یافته‌های حاضر می‌توان مدعی شد که افزودن استامینوفن به غذا و یا مشابه با پژوهش حاضر به آب مصرفی موش‌ها منجر به ترک مصرف غذا و آب توسط موش‌ها نشده و آنها تا ابتلا به عوارض ناشی از استامینوفن به مصرف غذا یا آب ادامه خواهند داد. به علاوه، یافته مطالعه موردی بالینی در دست است که بروز عوارض کبدی ناشی از تجویز مزمن استامینوفن در انسان را مشابه با مدل‌های حیوانی حاضر تایید می‌کند (۴۷). با توجه به وجود گزارشی دال بر کاهش فاکتورهای ALT و AST در موش‌های دیابتی به دنبال مصرف استویا (۴۸)، می‌توان این نتیجه‌گیری کلی را ارائه کرد که مواد موثره موجود در عصاره گیاه استویا می‌توانند از بروز عوارض کبدی ناشی از استامینوفن بر کبد جلوگیری کنند.

نتایج ارزیابی بافت شناسی کبد پژوهش حاضر نیز تایید کننده بروز تغییرات بافتی و بروز نکروز کبدی در موش‌ها بدنبال مصرف مزمن استامینوفن است. علایمی چون متورم شدن سلول‌های کبدی، تخریب هسته سلول‌های کبدی، حفره حفره شدن سیتوپلاسم در سلول‌های کبدی موش‌های دریافت کننده تک دوز سمی استامینوفن به صورت حاد و یا مزمن قابل مشاهده است. مشابه چنین شرایطی پیش از این به دنبال مسمومیت با استامینوفن در موش‌ها گزارش شده است (۴۹). این گزارش نیز افزایش فاکتورهای عملکرد کبدی همگام با فاکتور التهابی اینترلوکین نمره ۶ (IL-6) در موش‌ها پس از تجویز دوز بالا از استامینوفن تایید می‌کند. در مقابل اثر مهارکننده ترشح سایکائین توسط استویا مشخص شده است (۵۰).

نتیجه گیری

به عنوان نتیجه‌گیری کلی از این پژوهش می‌توان گفت که تجویز دوزهای بالا از استامینوفن چه به صورت تک دوز و چه به صورت مزمن همراه با آب آشامیدنی می‌تواند سبب بروز عوارض کبدی و عصبی –حرکتی در موش‌ها شود. در مقابل، عصاره استویا توانسته است علیرغم بروز برخی از آسیب‌های بافتی در بافت کبدی ناشی از استامینوفن که در نتایج بافتی این پژوهش نیز مشهود است شرایط مناسبی را در کبد برقرار و عوارض کبدی و احتمالا به واسطه آن عوارض عصبی –

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

حرکتی را تخفیف دهد. این توانایی استویا در پیشگیری و درمان عوارض استامینوفن ممکن است ناشی از خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی این عصاره باشد. بدین ترتیب استفاده از استویا به عنوان شیرین کننده همراه با استامینوفن، علاوه بر ایجاد مزه شیرین برای اشکال خوراکی این دارو، خاصیت محافظت کننده در مقابل مصرف دوزهای بالای استامینوفن را نیز به همراه خواهد داشت.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل نتایج به دست آمده از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم مریم سترگی دانش آموخته کارشناسی‌ارشد رشته‌سم‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی به راهنمای آقای دکتر مجید حسن پورعزتی است. بدین وسیله از اعضا محترم هیات علمی و کارکنان گروه سم‌شناسی دانشکده علوم دارویی که در انجام این پایان‌نامه همکاری صمیمانه داشته‌اند تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1- Debnath M. ***Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant Stevia rebaudiana.*** J Med Plants Res 2008; 2(2): 45-51.

2- Goyal SK, Samsher, Goyal RK. ***Stevia (Stevia rebaudiana) a bio-sweetener: a review***. Int J Food Sci Nutr 2010; 61(1): 1-10.

3- Shivanna N, Naika M, Khanum F, Kaul VK. ***Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of Stevia rebaudiana***. J Diabetes Complicat 2013; 27(2):103-13.

4- Shukla S, Mehta A, Bajpai VK, Shukla S. ***In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of Stevia rebaudiana Bert.*** Food Chem Toxicol 2009; 47(9): 2338-43.

5- Hashemi S A, Allameh A , Daraei B, Moradi Peynevandi K, Pashazadeh R. ***The effect of rebadioside a on attenuation of oxidative stress in kidney of mice under acetaminophen toxicity***. IJT 2014; 7(23): 944-951.

6- Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AA, Vernekar SN, Kulkarni SS. ***A review on laboratory liver function tests.*** Pan Afr Med J 2009; 3: 17.

7- Aubrecht J, Schomaker SJ, Amacher DE. ***Emerging hepatotoxicity biomarkers and their potential to improve understanding and management of drug-induced liver injury***. Genome Med 2013; 5(9): 85.

8- Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Pyrsopoulos N. ***Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update.*** J Clin Transl Hepatol 2016; 4(2): 131-42.

9- Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A. ***Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity***. Drug Metab Rev 2012; 44: 88–106.

10- Jaeschke H, Williams CD, Ramachandran A, Bajt ML. ***Acetaminophen hepatotoxicity and repair: the role of sterile inflammation and innate immunity***. Liver Int 2012; 32(1): 8-20.

11- Yuan L, Kaplowitz N. ***Mechanisms of drug-induced liver injury***. Clin Liver Dis 2013; 17(4): 507-18.

12- Murray KF, Hadzic N, Wirth S, Bassett M, Kelly D. ***Drug-related hepatotoxicity and acute liver***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

failure. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2008; 47: 395-405.

13- McGill MR, Williams CD, Xie Y, Ramachandran A, Jaeschke H. ***Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity.*** Toxicol Appl Pharmacol 2012; 264(3): 387-94.

14- Jaeschke H, Xie Y, McGill MR. ***Acetaminophen-induced Liver Injury: from Animal Models to Humans.*** J Clin Transl Hepatol 2014; 2(3): 153-61.

15- da Rosa EJ, da Silva MH, Carvalho NR, Bridi JC, da Rocha JB, Carbajo-Pescador S, et al. ***Reduction of acute hepatic damage induced by acetaminophen after treatment with diphenyl diselenide in mice***. Toxicol Pathol 2012; 40(4): 605-13.

16- Mirochnitchenko O, Weisbrot-Lefkowitz M, Reuhl K, Chen L, Yang C, Inouye M. ***Acetaminophen toxicity. Opposite effects of two forms of glutathione peroxidase***. J Biol Chem 1999; 274(15): 10349-55.

17- Kalinec GM, Thein P, Parsa A, Yorgason J, Luxford W, Urrutia R, et al. ***Acetaminophen and NAPQI are toxic to auditory cells via oxidative and endoplasmic reticulum stress-dependent pathways***. Hear Res 2014; 313: 26-37.

18- Posadas I, Santos P, Blanco A, Muñoz-Fernández M, Ceña V. ***Acetaminophen induces apoptosis in rat cortical neurons***. PLoS One 2010; 5(12): e15360.

19- Forouzandeh H, Azemi ME, Rashidi I, Goudarzi M, Kalantari H. ***Study of the Protective Effect of Teucrium polium L. Extract on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice***. Iran J Pharm Res 2013; 12(1): 123-9.

20- Baumans V. ***Use of animal in experimental research: an ethical dilemma?*** Gene Ther 2004; 11: 64-6.

21- López V, Pérez S, Vinuesa A, Zorzetto C, Abian O. ***Stevia rebaudiana ethanolic extract exerts better antioxidant properties and antiproliferative effects in tumour cells than its diterpene glycoside stevioside.*** Food Funct 2016; 7(4): 2107-13.

22- Misra H, Soni M, Silawat N, Mehta D, Mehta BK, Jain DC. ***Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of Stevia rebaudiana Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats.*** J Pharm Bioallied Sci 2011; 3(2): 242-8.

23- da Silva MH, da Rosa EJ, de Carvalho NR, Dobrachinski F, da Rocha JB, Mauriz JL, et al. ***Acute brain damage induced by acetaminophen in mice: effect of diphenyl diselenide on oxidative stress and mitochondrial dysfunction***. Neurotox Res 2012; 21(3): 334-44.

24- Hongslo JK, Smith CV, Brunborg G, Søderlund EJ, Holme JA. ***Genotoxicity of paracetamol in mice and rats.*** Mutagenesis 1994; 9(2): 93-100.

25- Mickley GA, Hoxha Z, Biada JM, Kenmuir CL, Bacik SE. ***Acetaminophen self-administered in the drinking water increases the pain threshold of***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

rats (Rattus norvegicus). J Am Assoc Lab Anim Sci 2006; 45(5): 48-54.

26- Yoo A, Narayan VP, Hong EY, Whang WK, Park T. ***Scopolin ameliorates high-fat diet induced hepatic steatosis in mice: potential involvement of SIRT1-mediated signaling cascades in the liver.*** Sci Rep 2017; 7(1): 2251.

27- Zhang Y, Huang Z, Yu L, Zhang L. ***Protective effects of tetramethyl pyrazine on glutamate-induced neurotoxicity in mice***. J Behav Brain Sci 2012; 2(3): 326-32.

28- Reagan WJ, Yang RZ, Park S, Goldstein R, Brees D, Gong DW. ***Metabolic adaptive ALT isoenzyme response in livers of C57/BL6 mice treated with dexamethasone.*** Toxicol Pathol 2012; 40(8): 1117-27.

29- Rosa EJ, da Silva MH, Carvalho NR, Bridi JC, da Rocha JB, Carbajo-Pescador S, et al. ***Reduction of acute hepatic damage induced by acetaminophen after treatment with diphenyl diselenide in mice***. Toxicol Pathol 2012; 40(4): 605-13.

30- Lu S, Li J, Lui KO. ***Individual Variation in Conditional β Cell Ablation Mice Contributes Significant Biases in Evaluating β Cell Functional Recovery***. Front Endocrinol (Lausanne) 2017; 8: 242.

31- Di Pierro F, Rapacioli G, Di Maio EA, Appendino G, Franceschi F, Togni S. ***Comparative evaluation of the pain-relieving properties of a lecithinized formulation of curcumin (Meriva(®)), nimesulide, and acetaminophen.*** J Pain Res 2013; 6: 201-5.

32- Darbar S, Bhattacharya A, Chattopadhyay S. ***Antihepatoprotective potential of livina, a polyherbal preparation on paracetamol induced hepatotoxicity: a comparison with silymarin***. Asian J Pharm Clin Res 2011; 4(1): 72-7.

33- Tandel KR. ***Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits***. J Pharmacol Pharmacother 2011; 2(4): 236–43.

34- Brown RJ, Rother KI. ***Non-nutritive sweeteners and their role in the gastrointestinal tract***. J Clin Endocrinol Metab 2012; 97(8): 2597–605.

35- Vere CC, Streba CT, Streba LM, Ionescu AG, Sima F. ***Psychosocial stress and liver disease status.*** World J Gastroenterol 2009; 15(24): 2980-6.

36- Bianchi G, Marchesini G, Nicolino F, Graziani R, Sgarbi D, Loguercio C, et al. ***Psychological status and depression in patients with liver cirrhosis***. Dig Liver Dis 2005; 37(8): 593-600.

37- Jamshidzadeh A, Heidari R, Abasvali M, Zarei M, Ommati MM, Abdoli N, et al. ***Taurine treatment preserves brain and liver mitochondrial function in a rat model of fulminant hepatic failure and hyperammonemia.*** Biomed Pharmacother 2017; 86: 514-20.

38- Cauli O, Mlili N, Llansola M, Felipo V. ***Motor activity is modulated via different neuronal circuits in rats with chronic liver failure than in***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

normal rats. Eur J Neurosci 2007; 25(7): 2112-22.

39- Ulrich-Lai YM, Ostrander MM, Thomas IM, Packard BA, Furay AR, Dolgas CM, et al. ***Daily limited access to sweetened drink attenuates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis stress responses***. Endocrinology 2007; 148(4): 1823-34.

40- Pacheco GS, Panatto JP, Fagundes DA, Scaini G, Bassani C, Jeremias IC, et al. ***Brain creatine kinase activity is inhibited after hepatic failure induced by carbon tetrachloride or acetaminophen***. Metab Brain Dis 2009; 24(3): 383-94.

41- Xu D, Du W, Zhao L, Davey AK, Wang J. ***The neuroprotective effects of isosteviol against focal cerebral ischemia injury induced by middle cerebral artery occlusion in rats***. Planta Med 2008; 74(8): 816-21.

42- Curtis RM, Sivilotti ML. ***A descriptive analysis of aspartate and alanine aminotransferase rise and fall following acetaminophen overdose***. Clin Toxicol (Phila) 2015; 53(9): 849-55.

43- Imaeda AB, Watanabe A, Sohail MA, Mahmood S, Mohamadnejad M, Sutterwala FS. ***Acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice is dependent on Tlr9 and the Nalp3 inflammasome***. J Clin Invest 2009; 119(2): 305-14.

44- Boonkaewwan C, Burodom A. ***Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of stevioside and steviol on colonic epithelial cells***. J Sci Food Agric 2013; 93(15): 3820-5.

45- Mossanen JC, Tacke F. ***Acetaminophen-induced acute liver injury in mice***. Lab Anim 2015; 49(1 Suppl): 30-6.

46- Maruyama H, Williams GM. ***Hepatotoxicity of chronic high dose administration of acetaminophen to mice. A critical review and implications for hazard assessment.*** Arch Toxicol 1988; 62(6): 465-9.

47- Leonis MA, Alonso EM, Im K, Belle SH, Squires RH. ***Pediatric Acute Liver Failure Study Group. Chronic acetaminophen exposure in pediatric acute liver failure***. Pediatrics 2013; 131(3): e740-6.

48- Kujur RS, Singh V, Ram M, Yadava HN, Singh KK, Kumari S, et al. ***Antidiabetic activity and phytochemical screening of crude extract of Stevia rebaudiana in alloxan-induced diabetic rats.*** Pharmacognosy Res 2010; 2(4): 258-63.

49- James LP, Lamps LW, McCullough S Hinson JA. ***Interleukin 6 and hepatocyte regeneration in acetaminophen toxicity in the mouse.*** Biochem Biophys Res Commun 2003; 309(4): 857–63.

50- Fengyang L, Yunhe F, Bo L, Zhicheng L, Depeng L, Dejie L, et al. ***Stevioside suppressed inflammatory cytokine secretion by downregulation of NF-κB and MAPK signaling pathways in LPS-stimulated RAW264.7 cells***. Inflammation 2012; 35(5): 1669-75.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 1 | Apr 2018
Received: 17 July 2017
Accepted: 2 Nov 2017

Orally Administered Stevia Extract Reduce Acetaminophen-Induce Hepatic and Neural Side Effects in Mice

Maryam Setorgi [1,2], Majid Hassanpour-Ezatti [2†], Zahra Mousavi [1]

Original Article

Introdution: Oral consumption of Stevia extract increased the antioxidants' level in the body. In this study, the effect of Stevia extract consumption was investigated against neurological and liver complications caused by acute and chronic toxicity of acetaminophen administration in mice.

Methods: In acute experiment, NMRI mice (n=12) received stevia extract (400 mg/ml) in drinking water for month, and then injected with a single high dose of acetaminophen (600 mg/kg, i.p.). In chronic experiment, the mice (n=6) was received stevia (200 and 400 mg/ml) in the drinking water together with acetaminophen (4.5mg/ml) for a 30 days. Mice coordinating movement was examined by crawling test along a rope. The serum level of alanine transaminase (ALT) and asparate transaminase (AST) and histopatology of mice liver was evaluated. All data were statistically processed using SPSS 20.0 software. The chi-square test and one-way ANOVA was used to analyze the data.

Results: Uncoordinated movement was observerd in 75% of mice after chronic acetaminophen application ($p<0.01$) and pretreatment with Stevia completely reversed effect of acetaminophen. Acetaminephen was significantly ($p<0.01$) increased serum AST and ALT and Sativa extract dose dependently reduecd the acetaminophen effects. Pretreatment with both dose of stevia cause reduction of chronic acetaminophen induced liver necrosis symptoms.

Conclusion: Oral stevia extract consumption can prevent from neural and hephatic signs of acetaminophen toxicity.

Keywords: Stevia, Acetaminophen, Mice, Neurotoxicity Syndromes, Liver failure.

Citation: Setorgi M, Hassanpour-Ezatti M, Mousavi Z. **Orally Administered Stevia Extract Reduce Acetaminophen-Induce Hepatic and Neural Side Effects in Mice.** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2018; 26(1): 1-15.

[1]Department of Pharmacology-Toxicology, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran-Iran (IAUPS), Tehran, Iran
[2]Department of Biology, Basic Sciences School, Shahed University, opposite Holy Shrine of Imam Khomeini, Khalij Fars Expressway, Tehran, Iran
***Corresponding author: Tel:** 021-51212252, **email:** hassanpour@shahed.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]