

بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ پنیرک (*Malva neglecta L.*) بر آسیب کبدی القا شده توسط تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی نر

سیده فاطمه تروهید^۱، M.Sc.، ناصر میرازی^۲، Ph.D.*، عبدالرحمن صریحی^۳ Ph.D.

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

۲- دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

۳- دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: nterohid@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۹

چکیده

هدف: هدف این بررسی، مطالعه اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ پنیرک (*Malva neglecta L.*) بر کبد موش‌های القا شده با تتراکلرید کربن می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این بررسی ۳۵ موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۵۰ گرم به گروه‌های کنترل، شام، شاهد، تیمار ۱ و ۲ تقسیم شدند. گروه‌های تیمار توسط تتراکلرید کربن القا و دو ساعت بعد توسط عصاره با دز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه و به مدت چهار روز و درون صفاقی تیمار شدند. گروه شاهد ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم تتراکلرید کربن با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون، تک دز دریافت کردند. گروه کنترل و شام به ترتیب سالین نرمال و روغن زیتون ۰/۵ میلی لیتر روزانه و درون صفاقی دریافت کردند. سپس خون گیری جهت اندازه گیری آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکانل فسفاتاز (ALP) انجام شد. نمونه‌های بافتی کبد تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین صورت گرفت. داده‌ها توسط تست ANOVA ارزیابی شد و معیار اختلاف معنی دار $p < 0/05$ می‌باشد.

نتایج: نتایج افزایش آنزیم‌های ALT، AST و AP در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ($p < 0/001$). گروه‌های تیمار نسبت به شاهد التهاب کمتری را نشان دادند ($p < 0/01$). یافته‌های بافت شناسی نکروز بافت کبد القا شده توسط تتراکلرید کربن را تایید می‌کند. حیوانات تیمار شده توسط عصاره کاهش سلول‌های نکروزی و افزایش ترمیم هیپاتوسیت‌ها را نشان می‌دهد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که تتراکلرید کربن بافت کبد را ملتهب و دچار نکروزه می‌کند. پنیرک دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی و فلاونوئیدی است و اثرات سمی تتراکلرید کربن را در کبد کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: پنیرک، تتراکلرید کربن، هیپاتوتوکسیسیته، آنزیم‌های کبدی، نکروز

مقدمه

کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن است که در تنظیم بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک دخیل است. هرگونه اختلال در عمل کبد باعث ایجاد مجموعه‌ای از اختلالات می‌شود که می‌تواند صدمات جبران ناپذیری را به این عضو وارد نماید. عواملی مثل استرس اکسیداتیو، رادیکال‌های آزاد، الکل سفید، مواد شیمیایی، ویروس‌ها و داروها می‌توانند باعث تخریب بافت کبدی شوند (۱). حساس‌ترین و پر مصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد، آمینوترانسفرازها هستند. که شامل: آسپارات آمینوترانسفراز یا AST و آلانین آمینوترانسفراز یا ALT می‌باشند (۲). این آنزیم‌ها به‌طور معمول توسط سلول‌های کبدی به مقدار معینی تولید می‌گردند. زمانی که کبد دچار آسیب می‌شود سلول‌های کبدی ترشح آنزیم‌های فوق را افزایش داده و موجب بالارفتن سطح پلاسمايي آن‌ها می‌گردند، که بالارفتن سطح این آنزیم‌ها در خون نشانه‌ی آسیب کبدی است (۳).

نقش عمل‌کردی آمینوترانسفرازها چنین است که باعث کاتالیز واکنش‌های شیمیایی در سلول‌ها می‌شوند که در آن گروه آمین از یک مولکول دهنده به مولکول گیرنده منتقل می‌گردد. به‌همین دلیل به آن‌ها آمینوترانسفراز گفته می‌شود. آنزیم AST به‌نام ترانس آمیناز اگزالواسستیک سرم (SGOT) نیز نامیده می‌شود و ALT نیز به‌نام ترانس آمیناز پیرویک گلوتامیک سرم (SGPT) مشهور است (۴). ضایعه وارده به کبد ممکن است بخش کوچک یا بزرگی از کبد را در برگیرد. در ضایعات سلول‌های کبدی محتویات آن‌ها از سلول خارج شده و وارد جریان خون می‌شود. لذا آنزیم‌هایی مانند ALT، AST و ALP در خون افزایش می‌یابند. با توجه به وسعت ضایعه سطح آنزیم‌ها نیز تغییرات متناسب پیدا می‌کنند. افزایش نسبی ALT و AST سرم می‌تواند نوع ضایعه را نشان دهد. در سلول‌های کبدی میزان AST بیشتر از ALT است و AST در میتوکندری و سیتوپلاسم وجود دارد در صورتی که ALT فقط در سیتوپلاسم سلول جای دارد. در بیماری‌هایی مانند هپاتیت ویروسی که ابتدا جدار سلول‌ها دچار ضایعه می‌شوند بیشتر آنزیم‌های موجود در سیتوپلاسم وارد مایع خارج سلولی و خون می‌شوند. در نتیجه میزان ALT بیشتر از AST است ولی در بیماری‌هایی که ضایعه تمام قسمت‌های سلول را فرا می‌گیرد مانند سیروز و هیپوکسی به‌طور نسبی افزایش AST بیشتر از ALT است (۳). عوامل شیمیایی مختلفی می‌تواند باعث ایجاد آسیب کبدی و در

نهایت سیروز شوند که شامل پاراستامول (۵)، کلرید کادمیوم (۶)، تتراکلرید کربن (۷)، پاراکورات (۸)، پاراکسون (۹)، ریفامپین (۱۰)، دی-گالاکتوز آمین (۱۱) و ... می‌باشند. یکی از مهم‌ترین این مواد تتراکلرید کربن است که در اثر القا سمیت توسط تتراکلرید کربن آسیب کبدی شدیدی در نمونه‌های حیوانی (موش صحرایی) دیده شده است (۱۲). فیروز و سیروز القا شده توسط تتراکلرید کربن یکی از قدیمی‌ترین و گسترده‌ترین مدل‌های تجربی براساس این نوع سم است. همچنین با استفاده از این مدل تجربیات جامعی درباره تغییرات بیوشیمیایی و هیستولوژیکی و تغییرات همراه با آسیب، التهاب و فیروز به‌دست آمده است. تجویز تتراکلرید کربن در موش در مقایسه با سموم دیگر در زمان کوتاه‌تری منجر به بروز آسیب کبدی و سیروز می‌شود که تقریباً شبیه سیروز در انسان است (۱۳).

در بررسی‌های صورت گرفته بر روی جوندگان که از تتراکلرید کربن برای القا آسیب کبدی استفاده شده است، دیده شده است که تجویز یک دوز از تتراکلرید کربن باعث فیروز کبدی، سیروز و سرطان سلول‌های کبد (HCC) می‌شود (۱۴). تجویز تتراکلرید کربن به‌روش‌های زیر جلدی، داخل صفاقی و استنشاقی نشان می‌دهد که همه این روش‌ها در نهایت به سیروز منتهی می‌شوند، اما سریع‌ترین روش ایجاد سیروز، روش تزریق داخل صفاقی است (۱۵).

تجویز تتراکلرید کربن در رت‌ها باعث افزایش گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکان فسفاتاز (ALP) می‌شود. همچنین میزان کلاژن و پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش و مقدار گلوکوتایون را کاهش می‌دهد (۱۶). رادیکال‌های آزاد مشتق از ccl4 باعث تجمع مالون‌دی‌آلدهید (MDA) که یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدهاست شده و این امر در نهایت باعث غیر فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتي سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکوتایون پراکسیداز (GPX) می‌گردد (۱۷).

در حالات مولکولی، ccl4 تومور نکروز فاکتور آلفا (TNF- α)، نیتریک اکساید (NO) و فاکتور رشد ترانسفرمی آلفا و بتا (TGF- β) در داخل سلول را فعال می‌کند، که این فرآیندها سلول را به سمت تخریب یا فیروزه شدن هدایت می‌کند. TNF- α پوپتوسیز و TGF- β فیروز را به دنبال دارد (۱۸).

سفید خون و ماکروفاژها عمل می‌کند (۲۷). از گیاه پنیرک در رفع تحریکات دستگاه گوارش، التهابات مجاری ادراری، دستگاه تنفسی و میگرن استفاده می‌شود (۲۸).

با توجه به خواص درمانی پنیرک و با توجه به اینکه در مورد خواص محافظت بافتی این گیاه تحقیقی صورت نگرفته است بر آن شدیم تا اثر حفاظتی عصاره این گیاه بر آسیب بافت کبد مورد مطالعه و بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۳۵ رت نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شده است، که این حیوانات از موسسه انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات به منظور سازگاری با شرایط محیط در دمای حدود 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، همچنین آب و غذا به صورت روزانه و آزاد، به مدت یک هفته در اتاق حیوانات نگهداری شدند.

تهیه عصاره: پس از شناسایی پنیرک *Malva neglecta*، مقدار کافی از گیاه جمع آوری شد. گیاه جمع آوری شده را در سایه قرارداده تا کاملا خشک شود. سپس پودر از آن تهیه کرده و به مدت ۱۲ روز در الکل ۹۶ درصد قرار داده تا تمام مواد موثره آن خارج و در الکل حل گردد. سپس آن را صاف نموده و توسط دستگاه روتاری اپراتور اقدام به تهیه عصاره تقریباً خالص گردید.

روش انجام آزمایش: در این بررسی، حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، شاهد، شم، تیمار ۱ و تیمار ۲ تقسیم شدند ($n=7$). گروه کنترل، نرمال سالین ۰/۹ درصد را به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر روزانه و درون صفاقی دریافت کردند. گروه شم، ۰/۵ میلی‌لیتر روغن زیتون را فقط در روز اول آزمایش به صورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد، محلول تتراکلرید کربن ۵۰ درصد و روغن زیتون را که با فیلتر سر سرنگی استریل شده (با نسبت ۱:۱) به میزان ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به صورت تک دوز و درون صفاقی دریافت کردند. گروه تیمار ۱، ابتدا محلول تتراکلرید کربن و روغن زیتون استریل شده (با نسبت ۱:۱) را به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. بعد از ۲ ساعت، عصاره الکلی پنیرک با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم که با فیلتر سر سرنگ استریل شده به صورت درون صفاقی دریافت کردند. تزریق تتراکلرید کربن و روغن زیتون در این گروه به صورت تک دوز فقط در روز اول انجام شد. گروه

یکی از اختلالات کبدی فیروز است که در اثر تجمع بیش از اندازه پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی مثل کلاژن اتفاق می‌افتد و در اکثر بیماری‌های مزمن کبدی دیده می‌شود (۱۹). در واقع فیروز کبدی پاسخ ژنتیکی به عوامل گوناگونی است که در نهایت به سیروز منتهی می‌شوند و عوارضی چون نقص کلیوی، افزایش فشارخون و سرطان سلول‌های کبدی را به دنبال دارد (۲۰). سیروز نیز به نوبه خود باعث تولید سلول‌های کبدی فاقد عمل کرد، افزایش مقاومت کبد به جریان خون و در نهایت افزایش فشارخون می‌گردد (۱۹). در سیروز خفیف کبد می‌تواند خود را ترمیم کرده و اعمالش را انجام دهد اما در نوع پیشرفته، آسیب‌های کبدی بیشتری ایجاد شده و کبد نمی‌تواند اعمال خود را به درستی انجام دهد. عوارض اصلی سیروز شامل آسیت، خون‌ریزی، آنسفالوپاتی، سندرم کبدی-کلیوی و پرتونیت باکتریایی خودبه‌خودی می‌باشد. سیروز عموماً برگشت ناپذیر است و در مراحل پیشرفته تنها درمان انتخابی پیوند کبد است (۲۱).

تحقیقات گسترده انجام شده نشان می‌دهد که گیاهان مختلف با دارا بودن ترکیبات شیمیایی گوناگون می‌توانند اثرات تخریبی و آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن را بهبود داده و از پیشرفت آسیب جلوگیری کنند. گیاهانی مانند: کلاله زعفران (۱۰) برگ ویتکس (۲۲)، سیلیبیین (۲۳) برگ پونه (۱)، ریشه گیاه فیزالیس (۲۴).

پنیرک گیاهی دو ساله و پایا از تیره Malvaceae است. ساقه‌ای به ارتفاع ۵۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر دارد و ریشه‌ای سفید رنگ و گوشه‌دار دارد. برگ‌های آن پنجه‌ای ۵ تا ۷ لوبه، دنداندار می‌باشد. پنیرک گل‌هایی به رنگ گلی مایل به بنفش منقوش به خطوط ارغوانی رنگ دارد. قسمت‌های مورد استفاده انواع پنیرک از نظر درمانی برگ، گل و حتی ریشه می‌باشد قسمت‌های مورد استفاده انواع پنیرک از نظر درمانی برگ، گل و حتی ریشه می‌باشد. *Malva neglecta* دارای اثراتی چون: نرم کننده، رفع التهاب، معالج بیماری‌های سینه می‌باشد. زیرا در آن‌ها به خصوص در گل‌های این گیاه مواد لعابی فراوانی وجود دارد (۲۵).

نتایج نشان می‌دهد که لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید و اولئیک اسید بیش از ۸۲ درصد کل اسیدهای چرب برگ و دم‌برگ این گیاه را در برمی‌گیرند (۲۶). گیاه پنیرک تقویت کننده سیستم ایمنی می‌باشد و به‌عنوان مکمل آبشاری در فعال‌سازی اثرات ضد التهابی، تحریک گلبول‌های

تیمار ۲، این گروه نیز، محلول تتراکلرید کربن و روغن زیتون استریل شده به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به صورت تک دوز و درون صفاقی در روز اول دریافت کردند و ۲ ساعت بعد، عصاره الکی پنیرک با دز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. تزریق عصاره به مدت ۴ روز متوالی و ۲۴ ساعت پس از تزریق اول انجام گرفت. حیوانات پس از هر نوبت تزریق، از نظر میزان آب و غذای مصرفی، سلامت، نحوه اثر عصاره و میزان مرگ و میر مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از گذشت ۹۶ ساعت در روز پنجم، با رعایت اصول اخلاقی، پس از بی‌هوشی توسط اتر، خون‌گیری مستقیم از قلب از گروه‌های مختلف انجام شد. پس از خونگیری نمونه‌های خون به دست آمده از حیوانات گروه‌های مختلف، در داخل لوله آزمایش ریخته، نمونه‌های خون سانتریفیوژ گردید و سرم آن‌ها جدا شد. سرم‌های به دست آمده را به آرامی با سمپلر برداشته و به میکروتیوب‌های مخصوص منتقل شد. نمونه‌های سرم، جهت اندازه‌گیری و سنجش آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند.

جهت بررسی‌های بافت شناسی، بعد از باز کردن بدن حیوان، بافت کبد را از بدن جدا کرده، سپس با سرم فیزیولوژی آنرا شسته و در داخل ظروف مخصوص قرار ریخته و فرمالین ۱۰ درصد روی آن می‌ریزیم. بعد از یک هفته، قطعه‌ای از بافت کبد به ابعاد ۵×۵ میلی‌متر را به کمک پنس و اسکالپر برای انجام مراحل مختلف تهیه بافت جدا شد. بعد از انجام مرحله فیکساسیون، مرحله آب‌گیری از بافت صورت گرفت که در این مرحله نمونه‌ها در الکل‌های ۵۰، ۷۰، ۹۰، ۹۶ درصد و الکل مطلق به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. تا عمل دهیدراسیون بافتی به خوبی صورت گیرد. سپس جهت شفاف کردن، نمونه‌ها در زایلن به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند. در مرحله بعد که مرحله آغشته سازی است نمونه‌ها در پارافین مذاب به مدت ۴۵ دقیقه در انکوباتور قرار گرفتند. آخرین مرحله قالب‌گیری و سپس تهیه برش توسط دستگاه میکروتوم صورت گرفت. مقاطع بافتی توسط میکروتوم با ضخامت ۵ تا ۷ میکرومتر تهیه و مطالعه شدند. بعد از تهیه لام‌ها رنگ‌آمیزی با رنگ هماتوکسیلین - اتوزین (H&E) انجام شد.

نتایج به نتایج مندرج در نمودار ۱ دیده شده است که سطح سرمی AST در موش‌های صحرایی نر در گروه شاهد (دریافت کننده‌ی تتراکلرید کربن ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به صورت تک دوز و درون صفاقی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود دارد که با توجه به $p\text{-value} < 0.005$ دریافت تتراکلرید کربن باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی AST نسبت به گروه کنترل شده است ($p < 0.01$). این میزان در گروه‌های تیمار ۱ (دریافت عصاره‌ی پنیرک ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و تیمار ۲ (دریافت عصاره‌ی پنیرک ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نیست ($p > 0.05$). میزان AST سرم در گروه‌های تیمار ۱ و تیمار ۲ نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.01$). همچنین بین گروه‌های شم (دریافت کننده‌ی روغن زیتون)، تیمار ۱ و تیمار ۲ به صورت مقایسه دو به دو اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی AST مشاهده نشده است ($p > 0.05$).

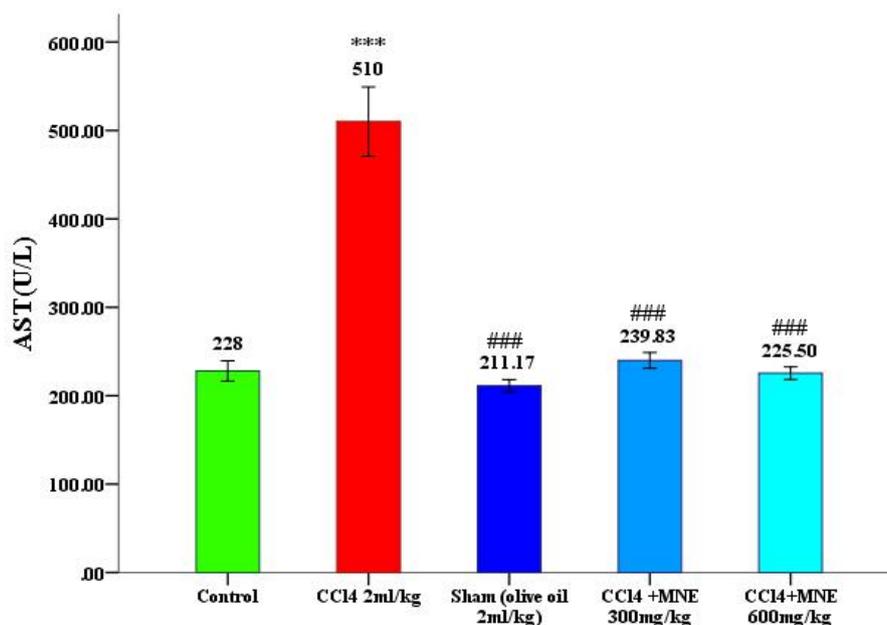
نتایج

نتایج موجود در نمودار ۲ بیان کننده این مطلب است که میزان سطح سرمی ALT در گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن که گروه شاهد است نسبت به گروه کنترل که نرمال سالین دریافت کرده است، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.01$) که با توجه به $p\text{-value} < 0.005$ دریافت تتراکلرید کربن منجر به افزایش میزان ALT شده است. همچنین میزان ALT سرم در گروه‌های تیمار ۱ و تیمار ۲ نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0.01$) که این اختلاف در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نیست ($p > 0.05$).

همچنین مقایسه بین گروه‌های شم و شاهد نیز اختلاف معنی‌داری را در سطح سرمی ALT نشان می‌دهد ($p < 0.01$).

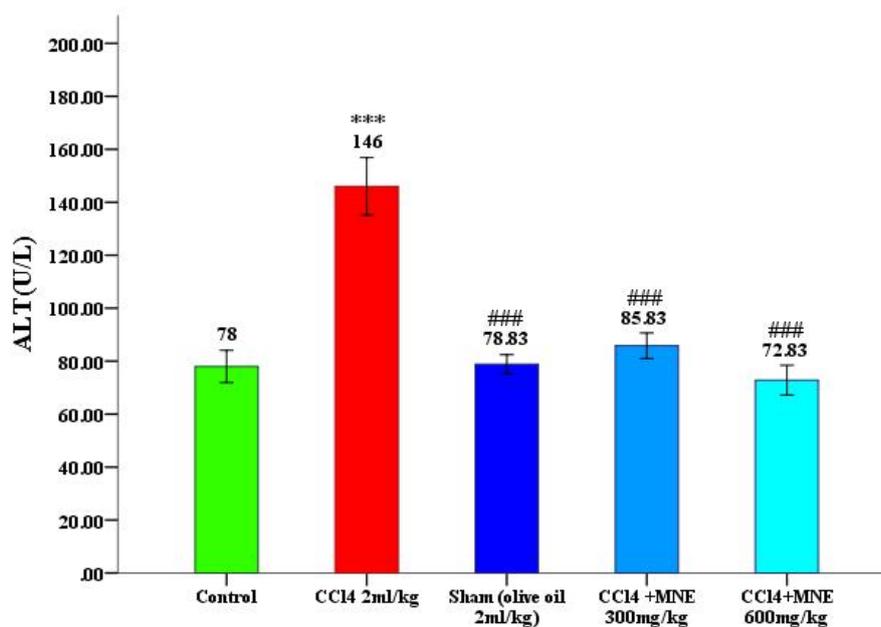
آنالیز آماری: جهت مقایسه‌ی سطوح سرمی AST، ALT و

ALP در گروه‌های کنترل، شم، شاهد، تیمار ۱ و تیمار ۲ از نرم افزار SPSS، آزمون ANOVA استفاده شد. پس از بررسی



نمودار ۱: مقایسه‌ی سطح سرمی آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های مختلف مورد آزمایش. داده‌ها به صورت $Maen \pm SEM$ ارائه شده است.

* بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی تتراکلرید کربن (CCl4) است. ($P < 0.001$) و (### $P < 0.001$)

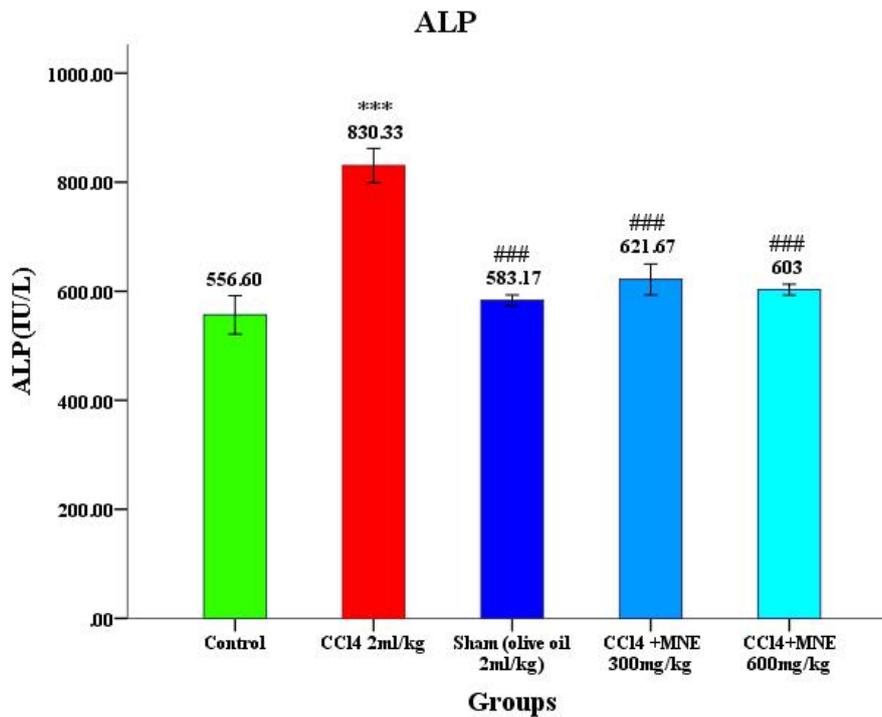


نمودار ۲: مقایسه‌ی سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در گروه‌های مختلف مورد آزمایش. داده‌ها به صورت $Maen \pm SEM$ ارائه شده است.

* بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی تتراکلرید کربن (CCl4) است. ($P < 0.001$) و (### $P < 0.001$)

این دو گروه با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد ($p > 0.05$). اختلاف بین گروه شام و گروه شاهد معنی دار است ($P < 0.001$) که این ختلاف نسبت به گروه تیمار ۱ و تیمار ۲ معنی دار نیست ($p > 0.05$).

نمودار ۳ بیان کننده آن است که میزان ALP سرم در گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل می باشد ($p < 0.001$). همچنین گروه های تیمار ۱ و تیمار ۲ که دریافت کننده عصاره می باشند دارای اختلاف معنی داری در میزان سرمی ALP نسبت به گروه شاهد است ($p < 0.001$) که مقایسه



نمودار ۳: مقایسه سطح سرمی آنزیم آلکالن فسفاتاز (ALP) در گروه های مختلف مورد آزمایش. داده ها به صورت $Maen \pm SEM$ ارائه شده است.

* بیانگر معنی داری نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن (CCl4) است. ($P < 0.001$; ***) و (###: $P < 0.001$)

شده است. بافت کبد حیوانات کنترل کاملاً طبیعی بوده و طناب های سلولی به طور منظم در اطراف سیاهرگ مرکزی قرار گرفته و هیچ نکروزی در هپاتوسیت ها به چشم نمی خورد (شکل ۱). تصاویر مربوط به مقاطع بافتی حیوانات شاهد دریافت کننده تتراکلرید کربن به میزان ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم، نشان دهنده ایجاد نکروز گسترده هپاتوسلولار، به هم ریختگی نظم سلولی و سینوزوئیدهای کبدی و تجمع قابل توجهی از سلول های التهابی نظیر لنفوسیت ها و نوتروفیل ها در اطراف سیاهرگ مرکزی و فضاها پورت می باشد (شکل ۳). حیوانات تیمار شده با دز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ناحیه نکروزه به میزان قابل توجهی کوچک تر شده و نیز از انبوه سلول های التهابی ارتشاح یافته در این ناحیه تا حد زیادی کاسته شده است (شکل ۴) که نسبت به گروه شاهد از اختلاف

نتایج بررسی های میکروسکوپی نمونه های بافتی

نمونه های بافتی تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری (ZEISS, Axioskop 2, mot/plus, Germany) با بزرگنمایی $400 \times$ مطالعه شدند. نتایج تاثیر عصاره هیدروالکلی برگ پنیرک و تغییرات بافتی کبد بعد از دریافت دز ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم محلول تتراکلرید کربن (CCl4) که با نسبت ۱:۱ با روغن زیتون استریل مخلوط شده بود نشان می دهد که تتراکلرید کربن در مدت کوتاهی سبب آسیب حاد کبدی می شود که با نکروز هپاتوسلولار و تجمع سلول های التهابی در نواحی مرکز لوبولی همراه است (شکل ۳).

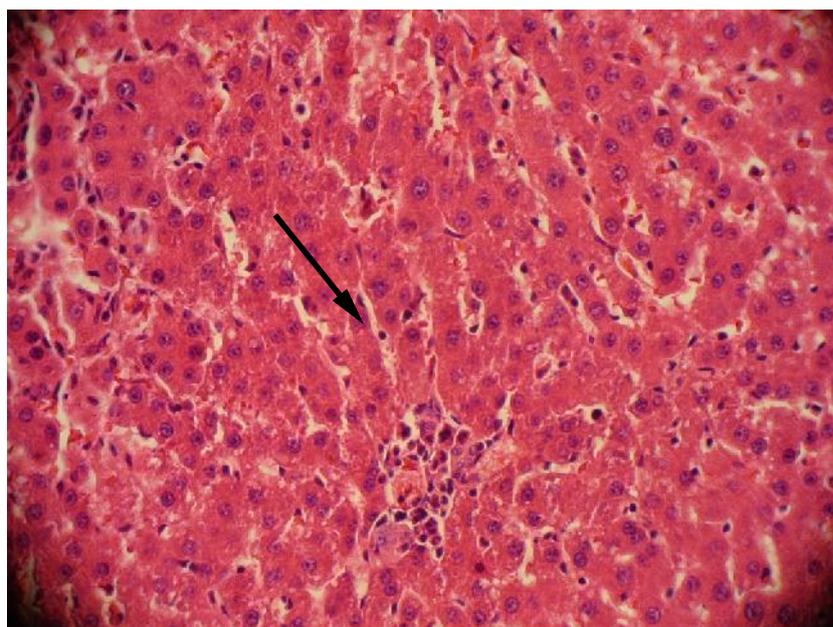
تصاویر تهیه شده از مقاطع بافتی رنگ آمیزی شده با روش هماتوکسیلین-ئوزین در شکل های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ نشان داده

کاهش یافته است (شکل ۵). این تصاویر نشان دهنده این واقعیت است که عصاره هیدروالکلی برگ گیاه پنیرک توانسته است از نکرóz هپاتوسلولار در کبد حیوانات القا شده توسط تتراکلرید کربن به میزان قابل توجهی جلوگیری نماید. به طوری که بافت کبد این گروه از حیوانات در اثر ترمیم و باز سازی سلولی بسیار شبیه به کبد حیوانات گروه کنترل می باشند (شکل ۴ و ۵).

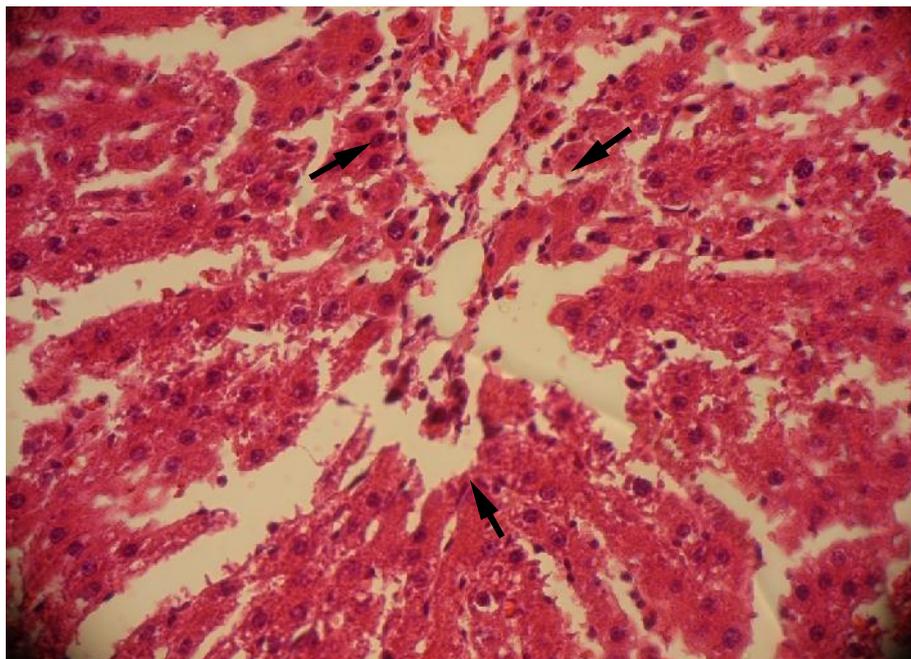
معنی داری برخوردار است ($p < 0/05$). در گروه تیمار شده با دز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، بهبود حاصله و ترمیم بافت کبد بسیار چشم گیرتر و از نظر آماری با اختلاف بیشتری نسبت به گروه شاهد روبه رو بوده است ($p < 0/001$). در تصاویر به دست آمده تنها تعداد اندکی از سلول ها در اطراف سیاهرگ مرکزی و فضای پورت دچار نکرóz شده و ارتشاح سلول های التهابی بسیار



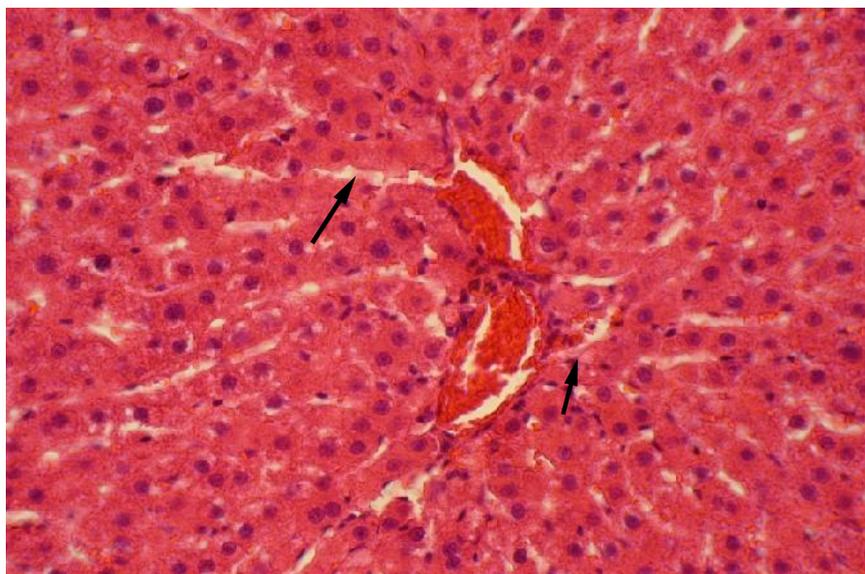
شکل ۱: مقطع بافتی تهیه شده از کبد حیوانات گروه کنترل. هپاتوسیت ها و طناب های سلولی لوبول ها به طور منظم در اطراف سیاهرگ مرکزی قرار گرفته و هیچ نکروزی به چشم نمی خورد (پیکان). بزرگنمایی $400\times$ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین.



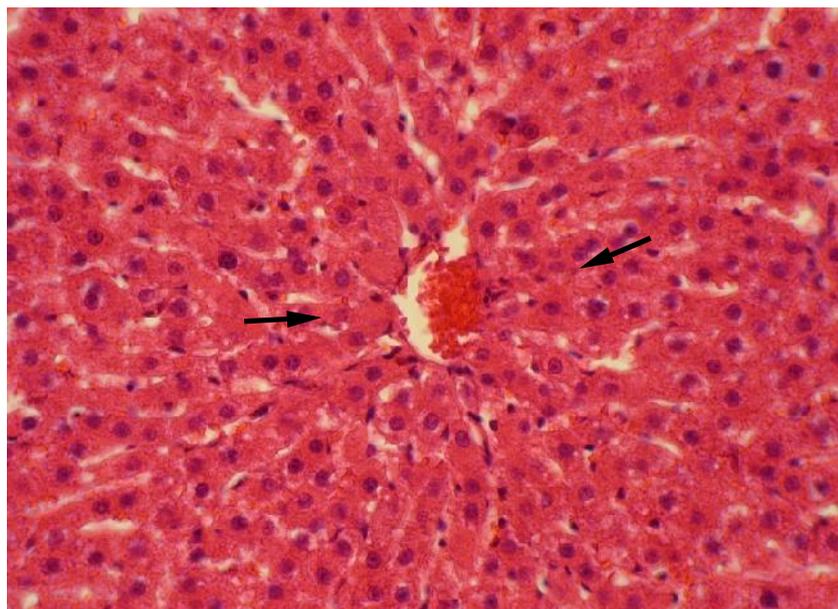
شکل ۲: مقطع بافتی تهیه شده از کبد گروه شم (دریافت کننده روغن زیتون به میزان ۰/۵ میلی لیتر). هپاتوسیت ها کاملا سالم بوده و هیچگونه اختلالی در سلول ها و نظم آن ها و سیاهرگ مرکزی اتفاق نیفتاده است (پیکان). بزرگنمایی $400\times$ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین.



شکل ۳: مقطع بافتی تهیه شده از کبد گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن به میزان ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم به مدت چهار روز. نکروز گسترده هپاتوسیت‌ها (پیکان‌ها) و تجمع قابل توجه سلول‌های التهابی حول سیاهرگ مرکزی و فضای پورت قابل مشاهده می‌باشد. طناب‌های سلولی کبدی کاملاً به هم ریخته شده و واکوئول دار شدن هپاتوسیت‌ها دیده می‌شود. بزرگنمایی $\times 400$ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین.



شکل ۴: مقطع بافتی تهیه شده از کبد گروه تیمار شده با دز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی پنیرک هم‌زمان با دریافت تتراکلرید کربن به میزان ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم. روند نکروزه کند بوده و ناحیه ناحیه نکروزه به میزان قابل توجهی کوچک‌تر شده است. کاهش در ارتشاح سلول‌های التهابی در ناحیه نکروزه رخ داده است (پیکان). بزرگنمایی $\times 400$ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین.



شکل ۵: مقطع بافتی تهیه شده از کبد گروه تیمار شده با دز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی پنیرک همزمان با دریافت تتراکلرید کربن به میزان ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم. کاهش بسیار زیاد سلول‌های التهابی و تعداد بسیار اندک و قابل توجه سلول‌های نکروتیک در اطراف سیاهرگ مرکزی و فضای پورت. بازگشت نظم طناب‌ها و بازسازی داریست سلولی (پیکان). بزرگنمایی $\times 400$ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین.

بحث

میزان فعالیت $TGF-\alpha, \beta$, NO، و $TNF-\alpha$ (۳۴)، دیده می‌شود.

تتراکلرید کربن با تولید رادیکال‌های آزاد، با مولکول‌های مختلف مانند اسیدآمینه، نوکلئوتیدها، اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپید واکنش داده (۳۵) و باعث تخریب شدید فرآیندهای سلولی می‌شود. این اثرات در میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و غشا پلاسمایی دیده شده و آسیب سلولی شدیدی را در پی دارند. از جمله تاثیرات پاتولوژیک CCl_4 در میتوکندری می‌توان به عدم ایجاد فسفریلاسیون اکسیداتیو و اختلال در انتقال Ca^{+2} اشاره کرد (۱۸). گیاهان دارای ترکیباتی چون آلکالوئیدها، فلوپاتانین، تانن، ترپنوئید، گلیکوزید و آنتراکوتینون (۳۶) و فلاونوئید هستند که می‌توانند از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (۳۷) خود باعث حفظ ثبات و پایداری غشا سلول شوند و آسیب وارده به بافت را بهبود بخشند (۲۳). استفاده از عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مختلف می‌تواند اثرات تخریبی کبد ناشی از تزریق تتراکلرید کربن را کاهش داده و باعث بهبود بافت کبد شوند. در آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن حل شده در روغن زیتون (با نسبت ۱:۱) دیده شده که تزریق عصاره گیاه *Gink gobiloba* از نکروز و فیبروز کبد در برابر آسیب ناشی از تتراکلرید کربن جلوگیری می‌کند. اثر

مواد شیمیایی مانند آمونیاک، انواع داروها، الکل و ویروس‌ها از جمله عواملی هستند که می‌توانند باعث آسیب بافت کبد شده و بیماری‌های کبدی را به دنبال داشته باشند. از جمله بیماری‌هایی که در کبد دیده می‌شود، شامل هپاتیت ویروسی و هپاتیت حاد الکلی می‌باشد که می‌توانند منجر به سیروز کبدی گردند. یرقان یا زردی، کلستاز (۳)، یرقان انسدادی، انسداد مجاری بدون وجود یرقان (۲۹)، کبد چرب (۳۰)، کارسینوم هیپاتوسلولار، سیروز صفرای اولیه و سیروز (۲۹) از دیگر بیماری‌های کبد می‌باشند که تقریباً تمامی این بیماری‌ها منجر به سیروز می‌شوند، اما در بیشتر موارد سیروز، ناشی از هپاتیت مزمن است (۲۹). از جمله اختلالاتی که در آسیب بافت کبد دیده می‌شود، نکروز و به دنبال آن فیبروز است که به دلیل تجمع پروتئین‌هایی مثل کلاژن در ماتریکس سلول صورت می‌گیرد (۱۹).

تتراکلرید کربن یکی از مواد شیمیایی بسیار سمی و خطرناک است که مواجهه با آن باعث نکروز، سیروز، سرطان کبد و نهایتاً کما یا مرگ می‌شود (۳۰). در آسیب کبدی ناشی از تتراکلرید کربن افزایش ALT ، AST ، ALP (۳۱-۳۳) گزارش شده است. همچنین به دنبال تزریق تتراکلرید کربن در موش، افزایش

لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید (۲۶)، موسیلاژ می‌باشد. این گیاه همچنین حاوی تانن، لوکوانتوسیانین، آنتوسیانین (۴۴)، فنول‌ها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، آلکالوئید، که سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز می‌گردد (۴۵).

از آنجائی که آنتی‌اکسیدانت‌ها قادرند با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و نکرور هپاتوسیتی تا حد زیادی کبد را در مقابل آسیب‌ها محافظت کنند، تصور می‌شود علت کاهش تعداد سلول‌های نکروتیک، در اثر القا بافت کبد به تتراکلرید کربن وجود آنتی‌اکسیدانت‌های موجود در عصاره گیاه پنیرک باشد (۴۶).

با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده بر روی گیاهان مختلف که وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی آن‌ها اثبات شده است، و با توجه به اثبات وجود این ترکیبات در گیاه پنیرک می‌توان اذعان نمود که احتمالاً گیاه پنیرک از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و جاروکنندگی رادیکال‌های آزاد با کمک این ترکیبات دارای فعالیت محافظت بافتی به ویژه در بافت کبد می‌باشد.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار با عصاره هیدروالکلی پنیرک (*Malva neglecta L.*) به‌دلیل دارا بودن آنتی‌اکسیدانت‌ها موجب تخفیف آسیب کبدی القا شده توسط تتراکلرید کربن شده و به‌صورت معنی‌داری تمامی شاخص‌های آسیب بافتی را بهبود بخشد. عصاره گیاه پنیرک احتمالاً با مهار برهم‌کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های آزاد ناشی از تتراکلرید کربن که آغازکننده استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپید و تغییرات مولکولی هستند و همچنین با سرکوب روند التهاب بافتی در کبد، اثر حفاظت‌کنندگی خود در کبد را اعمال می‌کند.

تشکر و قدردانی

در این تحقیق لازم است از زحمات مسئول محترم آزمایشگاه تشخیص طبی بزرگمهر جناب آقای دکتر جواد رشیدی و همچنین از پرسنل محترم آزمایشگاه فیزیولوژی و بافت‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان صمیمانه تشکر نمایم.

محافظتی گیاه فوق از طریق کاهش آنزیم‌های مارکر کبدی و پراکسیداسیون لیپیدها صورت می‌پذیرد (۳۸). در تحقیقی مشخص شد که عصاره آبی و الکلی ساقه‌های گیاه *Capparis decidua* دارای فعالیت محافظت کبدی در برابر هپاتوتوکسیسیته ناشی از تتراکلرید کربن حل شده در روغن پارافین در رت است که از این گیاه در طب سنتی در درمان یرقان و زردی استفاده می‌شود. این تحقیق نشان داد که وجود ترکیباتی چون آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، استرول‌ها، ساپونین، گلیکوزیدهای سیانوژنیک و کومارین‌ها اجزای اصلی عصاره هستند که می‌توانند از آسیب بافت کبد در برابر تتراکلرید کربن جلوگیری کنند (۳۹). بررسی صورت گرفته روی عصاره آبی و اتانولی برگ گیاه *Vitex trifolia* مشخص شد، که این گیاه از آسیب بافت کبدی ناشی از *ccl4* جلوگیری می‌کند. که با کاهش توتال بیلی‌روبین و آنزیم‌های کبدی از آسیب ناشی از تتراکلرید کربن محافظت می‌شود. بررسی‌های هیستوپاتولوژی بافت کبد این نتایج را تایید می‌کند (۴۰). آنالیز فیتوشیمیایی عصاره متانولی برگ گیاه *Carissa Opaca* نشان می‌دهد که ترکیباتی چون فلاونوئید، تانن، آلکالوئید، فلوپاتانین، ترپنوئید، کومارین، آنتراکوتینون و گلیکوزیدها در این عصاره وجود دارد که می‌توانند از بافت کبدی در برابر آسیب ایجاد شده توسط *ccl4* از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و حفظ ثبات و پایداری غشا محافظت کند (۴۱). برگ‌ها و دمبرگ گیاه پنیرک برای تعیین نوع و مقدار ترکیبات اسیدهای چرب، عناصر معدنی، فلاونوئید کل و موسیلاژ مورد آنالیز قرار گرفت. میزان ترکیباتی مانند تانن و نیترات نیز تعیین شدند. نتایج نشان داد که لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید و اولئیک اسید بیش از ۸۲ درصد کل اسیدهای چرب برگ و دمبرگ این گیاه را در بر می‌گیرند. تجزیه کروماتوگرافی طیف سنجی جرمی عصاره متانولی مشخص کرد که ۲- متوکسی-۴- وینیل فنل، ترکیب اصلی در عصاره این گیاه است که گیاه پنیرک با داشتن این ترکیبات می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و جذب رادیکال‌های آزاد داشته باشد. (۴۲). علاوه بر پژوهش‌های فوق سایر گیاهان دارویی مانند کلاله زعفران (۱۰)، برگ پونه (۱)، ریشه گیاه فیزالیس (۲۴)، پیکانتوس (۳۲) کرکیوما (۴۳)، فیکوس (۳۳)، سیلیبینین (۲۳) نیز از طریق داشتن ترکیبات شیمیایی مختلف و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و جذب رادیکال‌های آزاد می‌توانند اثرات تخریبی ناشی از تزریق تتراکلرید کربن در کبد را کاهش داده و باعث بهبود بافت کبد شوند. پنیرک دارای ترکیباتی چون

منابع

14. Pierece RA. Increased procollagen mRNA levels in carbon tetrachloride induced liver fibrosis in rats, *J Biol Chem.* 1987; 262(2): 1652-1658.
15. Domenicali M. Anovel model of CCl₄-induced cirrhosis with ascites in the mouses. *Journal of Hepatology.* 2009; 51(1): 92-97.
16. Marino G. N-acetylcysteine prevents carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis, role of liver transforming growth factor-beta and oxidative stress, *European Journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2008; 21: 908-914.
17. Ha B, Lee JY. The Effect of Chonderitin Sulfate against CCl₄-induced Hepatotoxicity. *Biol. Pharm. Bull.* 2003; 26: 622-626.
18. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes, carbon tetrachloride as a toxicological model. 2003; 33(2): 105-136.
19. Gines P. Management of cirrhosis and ascites. *Engl N, Med J.* 2004; 350: 1646-1654.
20. Ramachandran P, Iredale J. Liver fibrosis a bidirectional model of fibrogenesis and resolution. *QJM.* 2012; 105(9): 813-881.
21. Ariel M, Rene T, Hyacinthe L. The Man behind the Stethoscope. *Clinical Medicine & Research.* 2006; 4(3): 230-235.
22. Manjunatha BK, Vidya SM. Hepatoprotective Activity of *Vitex trifolia* against Carbon Tetrachloride-induced Hepatic Damage. *Indian J Pharm Sci.* 2008; 70(2): 241-245.
23. Ezhilarasan D, Karthikeyan S, Vivekanandan P. Ameliorative effect of silibinin against N-nitrosodimethylamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2012; S1382-6689(12): 106-108.
24. Gengaihi S, Hassan E, Hamed M, Zahran H, et al. Chemical composition and biological evaluation of *Physalis peruviana* root as hepatorenal protective agent. 2013; 10(1): 39-53.
25. Zargari. A. Medicinal plants, 7th, Tehran, University of Tehran; 1997.
26. Tabaraki R, Yousefi Z, Asadi Gharneh H. The study of compound and antioxidant properties of *Malva sylvestris*. *Journal of research in Agricultural Science.* 2012; 86(1): 59-68.
27. Gonda R, Tomoda M, Kanari M, Shimizu N, et al. Constituents of the seed of *Malva verticillata*, VI, Characterization and immunological activities of a novel acidic polysaccharide. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1990; 10: 2771-2774.
28. Zargari A. medicinal plants. Tehran: University of Tehran; 2007.
1. Mokhtari M, Shariati M, Khodaparast L. Hepatoprotective effect of *Mentha pulegium* aqua-ethanolic leaf extract in rats. *Jurnal of medical university of Sabzevar.* 2008; 15: 2(48): 73-78.
2. Badalzadeh R, Ghasemi K, RastkgarFarajzade A. Ganong's review of medical Physiology. 23th Ed. Tehran: Jahan Adib and Sina Teb; 1390.
3. Amirrasuli, H. Clinical Biochemistry. 4th ED. Tehran: Jafari; 1384.
4. Shahbazi P, Maleknia, N, General Biochemistry. 20th Ed. Tehran: University of Tehran; 1381.
5. Oyagbemi A, Odetola A. Oyagbemi A, Odetola A. Hepatoprotective effects of ethanolic extract of *Cnidioscolus aconitifolius* on paracetamol-induced hepatic damage in rats. 2010; 13(4): 164-169.
6. Koriem K, Farrag A, Badawy M, El-Toumy S. Role of some Egyptian medicinal plants against liver and kidney toxicity induced by cadmium chloride. 2009; 19(8): 524-534.
7. Rudnicki M, Silveira M, Pereira T, Oliveira M, et al. Protective effects of *Passiflora alata* extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats. 2007; 45(4): 656-61.
8. Mohamadi B, Ghazi K. The study of antioxidant effect of Captopril on liver mitochondry induced with Parakurat in rat. *Journal of medical university of Kerman.* 2005; 13(3): 132-140
9. Haji Gholamali M, Jafari M, Asgari A, HajiHoseini R, Effect of Paraxon on antioxidant and Peroxidation lipid on liver of rat. *Journal of Guilan University of medical sciences.* 2011; 75: 1-10.
10. Mohajeri D, Dustar Y, Rezaei A, Mesgari A. Hepatoprotective effect of Saffron ethanolic extract induced with Rifampin in comparision with silimarin in rat. *Zahedan journal of research in medical sciences.* 2010; 12(5): 53-59.
11. Banu S, Bhaskar B, Balasekar P. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Leucas aspera* against d-galactosamine induced liver damage in rats. *Harm Biol.* 2012; 50(12): 1592-1595.
12. Surendran S, Eswaran M, Vijayakumar M, Rao C. In vitro and in vivo hepatoprotective activity of *Cissampelos pareira* against carbon-tetrachloride induced hepatic damage, *Indian J Exp Biol.* 2011; 49(12): 939-45.
13. Constandinou C, Henderson N, Iredale JP. Modeling liver fibrosis in rodents, *Methods in molecular medicine.* 2005; 117: 237-250.

29. Burtis Carl E, David B, Tietz fundamentals of clinical chemistry. 6th Ed. Tehran: Andishe Rafie; 2008; 930-955.
30. Rood A, McGavran P, Aanenson J, Till J. Stochastic estimates of exposure and cancer risk from carbon tetrachloride released to the air from the rocky flats plant. Risk Anal. 2001; 21 (4): 675-695.
31. Achudume A, Ogunyemi K. Effects of the extracts of *Pycanthus angolensis* against chemically induced acute hepatotoxicity. Pak J Biol Sci. 2007; 15, 10(18): 3231-2333.
32. Mohan G, Pallavi E, Ravi Kumar B, Ramesh M, et al. Hepatoprotective activity of *Ficus carica* Linn leaf extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 2007; 15(3): 162-166.
33. Gaurav L, Hemant S, Kamlesh P, Zeashan. Hepatoprotective effects of *Calotropis gigantea* extract against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. Acta Pharmaceutica. Acta Pharmaceutica. 2009; 59(1): 89-96.
34. Sang Wong P, CXhan Hon L, Yeong Shik K, Sam Sik K, et al. Protective effect of Baicalin Against Carbon Tetrachloride induced Acute Hepatic injury in mice. Pharmacol sie. 2008; 106(1) 136-143.
35. Thomas C, Aust S. Free radicals and environmental toxins Annals of Emergency Medicine. 1986; 15(9): 1075-1083.
36. Sahreen S, Khan M, Khan R. Hepatoprotective effects of methanol extract of *Carissa opaca* leaves on CCl₄-induced damage in rat. BMC Complement Altern Med. 2011; 24: 11-48.
37. Islam M, Parvin M, Islam M. Antioxidant and hepatoprotective activity of an ethanol extract of *Syzygium jambos* (L.) leave. Rug Discov Ther. 2012; 6(4): 205-211.
38. Suresh R, Naik VS. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Ginkgo biloba* phytosomes in carbon tetrachloride-induced liver injury in rodents, Article first published online 2007; 3: 393-399.
39. Al S, Al-Amin TH, Mohamed A, Gameel A. Hepatoprotective activity of aqueous and methanolic extracts of *Capparis decidua* stems against carbon tetrachloride induced liver damage in rats, Journal of Pharmacology and Toxicology. 2009; 4(4): 167-172.
40. Manjunatha BK, Vidya SM. Hepatoprotective Activity of *Vitex trifolia* against Carbon Tetrachloride-induced Hepatic Damage Indian J Pharm Sci, 2008; 70(2): 241-245.
41. Sahreen S, Khan M, Khan R. Hepatoprotective effects of methanol extract of *Carissa opaca* leaves on CCl₄-induced damage in rat, BMC Complement Altern Med. 2011; 11: 48.
42. Tbaraki R, Yusefi Z, Asadi Gharne H. Chemistry compounds and antioxidant effect of *Malva neglecta*. 1391; 86(1): 58-59.
43. Abu-Rizq H, Mansour M, Safer A. Cytoprotective and immunomodulating effect of *Curcuma longa* in Wistar rats subjected to carbon tetrachloride-induced oxidative stress, Inflammopharmacology. 2008; 16(2): 87-95.
44. Salehi Surmaghi M. Medical Plants. Tehran: Donyay Taghzieh; 2006.
45. Barros L, Carvalho A, Ferreira IC. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. Food Chem Toxicol. 2010; 48(6): 1466-1672.
46. Wojdylo A, Oszmiansky J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, Food Chem. 2007; 105: 940-949.

Study of Hepatoprotective Effect of *Malva neglecta* L. Hydroethanolic Leaf Extract in Male Rat Induced with Carbon Tetrachloride

Terohid SF, M.Sc.¹, Mirazi M, Ph.D.^{2*}, Sarihi A, Ph.D.³

1. Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Hamedan bran
2. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan
3. Department of biology, faculty of science, Islamic Azad university, Hamedan branch university, Hamedan

* Email corresponding author: nterohid@yahoo.com

Received: 10 Mar. 2014

Accepted: 2 Sep. 2014

Abstract

Aim: In this study the hepatoprotectivity effect of *Malva neglecta* hydroethanolic extract (MHE) were investigated in male rats.

Material and Methods: 35 male rats with 230-250 gr weight were divided in 5 groups: control (taking normal saline, 0.5ml/day, IP), sham (taking olive oil, 0.5ml/day, IP), carbon tetrachloride 1:1 with olive oil, 0.5ml single dose, IP), treated 1&2 (carbon tetrachloride 1:1 with olive oil, 0.5ml single dose and 300mg/Kg and 600mg/Kg MHE /day for 4 days, IP). After the end of examination the blood samples were collected from heart directly and AST, ALT and AP enzymes were analyzed. The microscopic studies of hepatic tissue were done and histological changes observed by (H&E) staining. All data analyzed with ANOVA test. Statistical significance was accepted at $P < 0.05$.

Results: The serum liver enzymes were increased in rats induced by ccl4 compare to the control group ($P < 0.001$) and decreased significantly in rats by treated MHE ($P < 0.01$). Histological finding revealed the necrosis in hepatic tissue. In animals treated with MHE the results showed that the reduction in necrotic cells and increase in hepatocytes regeneration.

Conclusion: Our results showed that the ccl4 has hepatotoxicity effect and it can improve inflammation and necrosis in liver tissue. The MHE have antioxidant and flavonoid that can decrease toxic effect of carbon tetrachloride in liver tissue.

Keywords: *Malva neglecta* L., Carbon tetrachloride, Hepatotoxicity, Liver enzym, Necrosis