

بررسی اثر اسانس مرزه خوزستانی (Satureja Khusestanica) در سمیت طحال ناشی از سم

کلرپیرفوس در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

جواد قاسمیان یادگاری^۱، جواد خلیلی فرد^۲، فاطمه دهقان^۳، زهرا حقیقتیان^۴، مرضیه رشیدی پور^۲، حمیدرضا محمدی^۲، احمد آدینه^{۲*}

۱-استادیار، فارماکوتوزی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۲-استادیار، سم شناسی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳-دانشجوی داروسازی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۴-استادیار، آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

یافته / دوره ۲۴ / شماره ۲ / تابستان ۱۴۰۱ / مسلسل ۹۲

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۶/۱۰

مقدمه: کلرپیرفوس یک نوع سم ارگانوفسفره می باشد که علی رغم استفاده فراوان، می توانند منجر به آسیب بافتی از جمله بافت طحال شود. گیاه مرزه خوزستانی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است و در کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو مؤثر است، هدف از این تحقیق بررسی اثر اسانس گیاه مرزه خوزستانی در سمیت طحال ناشی از سم کلرپیرفوس در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود. مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ با وزن بین ۱۸۰-۲۲۰ گرم انتخاب و به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شدند پس از تیمار ده روزه موش‌ها با سموم ارگان‌های طحال جداسازی شده و از لحاظ پاتولوژی مورد بررسی قرار گرفتند. مقایسه آماری بین گروه کنترل، اسانس مرزه خوزستانی ۲۵ mg/kg، سم کلرپیرفوس ۰/۰۱ mg/kg و گروه اسانس مرزه خوزستانی ۲۵ mg/kg+سم کلرپیرفوس ۰/۰۱ mg/kg با استفاده از نرم افزار SPSS 22 و آزمون مجذور کای با شبیه سازی مونت کارلو تحت سطح معناداری ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: آزمون مجذور کای نشان داد بین گروه‌های مختلف از نظر توزیع انواع آسیب بافتی طحال تفاوت آماری معناداری وجود داشته است ($P=0/005$)؛ به طوری که در گروه سم کلرپیرفوس آسیب‌های بافتی همچون تجمع ماکروفاژ و پیگمان و تحلیل پالپ سفید طحال مشاهده شده و این در حالی است که در سایر گروه‌ها هیچ نوع آسیب بافتی مشاهده نگردید.

بحث و نتیجه‌گیری: مطالعه ما نشان داد که گیاه مرزه خوزستانی به دلیل داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی چون کارواکرول به منظور جلوگیری از آسیب بافتی مؤثر است همچنین با توجه به تأثیرات منفی کلرپیرفوس در دوزهای پیشنهادی توسط سازمان بهداشت جهانی، بررسی‌های بیشتر ضروری است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، مرزه خوزستانی، سم کلرپیرفوس، بافت طحال.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی-توکسیکولوژی.

پست الکترونیک: ahmadadineh48@gmail.com

مقدمه

ترکیبات ارگانوفسفره ترکیبات سمی هستند که بطور وسیع به عنوان آفت کش و حشره کش در کشاورزی، صنعت و باغبانی استفاده می شوند (۱). کلرپیریفوس از جمله مهم ترین حشره کش های ارگانوفسفره می باشد که برای کنترل انواع حشرات در کشاورزی استفاده می شود (۲). سموم ارگانوفسفره به آنزیم استیل کولین استراز متصل شده و با فسفریله کردن آن موجب اختلال در فعالیت این آنزیم و در نتیجه تجمع اسید استیک و کولین در پایانه های عصبی می شوند (۳). یکی از مکانیسم های عملکرد سموم ارگانوفسفره در بدن، استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال های آزاد اکسیژن متعاقب مصرف این مواد می باشد. بطوریکه ثابت شده این سموم باعث افزایش معنی دار غلظت مالون دی آلدئید و کاهش معنی دار در فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در اندام های مختلف از جمله طحال می گردند (۴). از همین رو در مطالعات مختلف نشان داده شده که مصرف آنتی اکسیدان های مختلف می تواند اثرات مخرب ناشی از سموم ارگانوفسفره را تا حدود زیادی کاهش دهند (۵). در مطالعه ای که توسط zeng در همین رابطه صورت گرفته بود، مطرح کننده بروز اکسیداتیو استرس متعاقب سموم ارگانوفسفره به صورت افزایش پراکسیداسیون لیپید، اکسیداسیون گلوتاتیون، و کاهش کلی ظرفیت آنتی اکسیدان در سلول های طحال بود (۶). در شرایط طبیعی بدن، گونه های فعال اکسیژن تولید شده توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی خنثی می شوند. لیکن، در شرایطی مانند تولید بیش از حد این واسطه های فعال یا عدم کفایت سیستم آنتی اکسیدانی، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول شده و به پروتئین ها، لیپیدها، پروتئین ها، DNA آسیب

وارد می شود (۷). با این وجود می توان نتیجه گرفت که استرس اکسیداتیو نقش عمده ای در بروز عوارض شدید و تغییرات پاتوفیزیولوژیک طحال، در نتیجه ی مسمومیت با این سموم را دارد. از اینرو جستجو برای یافتن دارویی مفید در پیشگیری از سمیت طحال از اهمیت بالینی ویژه ای برخوردار می باشد. امروزه استفاده از میوه جات و سبزیجات به علت اثر حفاظتی آنها در برابر بیماری هایی نظیر سرطان و بیماری های قلبی - عروقی و کبدی روز به روز افزایش می یابد و این خاصیت اغلب به علت وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی در گیاهان است که موجب جلوگیری از آسیب های ناشی از رادیکال های آزاد می شوند (۸). همچنین گیاهان دارویی به علت سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و قیمت مناسب، به عنوان جایگزین های شایسته داروهای صناعی، همواره مورد توجه بوده و در چند دهه اخیر به طور خاص مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته اند. اگرچه گیاهان دارویی منابع طبیعی ارزشمندی برای تأمین مواد اولیه تولید داروها و مکمل های دارویی یا غذایی محسوب می شوند اما به ایمنی مصرف این گیاهان چه به صورت خام و چه به صورت عصاره و اسانس، باید پیش از هرگونه بهره برداری توجه گردد.

گیاه مرزه خوزستانی با نام علمی "Satureja khozestanica Jamzad" یکی از گیاهان بومی ایران و متعلق به خانواده Lamiaceae است. این گیاه یکی از قدیمی ترین گیاهان دارویی است که در طب سنتی به عنوان دارویی مهم کاربرد داشته است. قسمت های مختلف این گیاه از جمله برگ آن خواص درمانی زیادی دارد، به طوری که سطح بالای مواد آنتی اکسیدان موجود در این گیاه سبب شده است تا این گیاه به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی در محافظ سلول ها در برابر آسیب های اکسیداتیو عمل کند به طوری

که در مطالعات متعددی به خاصیت مفید آنتی اکسیدانی این گیاه در به دام انداختن رادیکال های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو، در بیماری های مختلف از جمله دیابت اشاره شده است (۹-۱۱).

همچنین مطالعات نشان داده اند تجویز مرزه خوزستانی باعث بهبود بیماری التهابی روده ها از طریق کاهش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در موش های آزمایشگاهی می شود (۱۳). در مطالعات متعدد خواص ضد دیابت، کاهنده چربی خون، محرک باروری، ضد ویروس، ضد اسهال، ضد اسپاسم و گشاد کننده عروق خونی آن نیز بررسی و اثبات شده است (۱۱، ۱۲، ۱۴). از این رو در این پژوهش به بررسی تاثیر اسانس گیاه مرزه خوزستانی بر آسیب بافتی طحال موش های صحرایی نر ناشی از در معرض بودن سم کلرپیریفوس که نسبت به بقیه سموم ارگانوفسفره کاربرد بیشتری دارد پرداخته شده است.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ با وزن بین ۲۲۰-۱۸۰ گرم انتخاب و به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. رت ها در قفسه های جداگانه در دمای 22°C در حیوان خانه نگهداری شدند؛ ۱۲ ساعت در تاریکی و ۱۲ ساعت در معرض نور بودند و با غذای استاندارد تغذیه شدند. یک هفته قبل از شروع آزمایشات موش هایی جهت تطبیق با شرایط محیط به آزمایشگاه منتقل شدند. مطالعات در تمام گروه ها در زمان یکسان انجام شد. در این مطالعه موش ها به طور تصادفی به چهار گروه هفت تایی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه اول: گروه کنترل که تغذیه عادی خود را داشتند. گروه دوم: گروهی که به مدت ۱۰ روز، هر صبح اسانس مرزه را با دوز 25 mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کرده اند. گروه سوم: گروهی که سم کلر پیریفوس را به مدت ۱۰ روز، هر روزه با دوز

0.1 mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کرده اند. گروه چهارم: گروهی که به مدت ۱۰ روز ابتدا سم کلر پیریفوس را با دوز 0.1 mg/kg و یک ساعت بعد اسانس مرزه را با دوز 25 mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کرده اند. پس از گذشت ۱۰ روز از تیمار و در پایان مطالعه رت ها با کتامین با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم با زایلازین بی هوش شدند (۹، ۱۵)، بافت های طحال با کمک ست جراحی جداسازی و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند و در پایان شستشو توزین گردیدند. سپس بافت ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد ثبت شدند. پیش از تهیه بلوک های پارافینیزه، برای خارج کردن آب میان بافتی، بافت های مورد نظر با درجاتی از الکل (۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، درجه و الکل مطلق) آگیری شدند و در نهایت با دستگاه میکروتوم برشهای نازک ۵ میکرونی تهیه و با استفاده از معرفهای ائوزین-هماتوکسیلین رنگ آمیزی شدند (۱۶). برای تهیه اسانس ابتدا دو کیلوگرم از بخش های هوایی گیاه از جنوب لرستان جمع -آوری و به دور از نور خورشید و در حرارت 2°C ۲۳ درجه سانتی گراد به مدت سه هفته به طور کامل خشک گردید و با استفاده از آسیاب الکتریکی (مدل IKHS به شماره سریال ۱۶۴، فرکانس ۵۰، ۳۸۰ ولت) به شکل پودر نرم درآمد، ۵۰ گرم از این پودر گیاه خشک به همراه ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر در دستگاه الکترومنتل (شوف بالن) thermal Electro مدل CE/1000 EM و با توان ۳۰۰ وات به مدت ۴ ساعت قرار داده شد و اسانس مورد نظر با روش تقطیر با آب مقطر تهیه شد. در نهایت اسانس حاصل با استفاده از سولفات سدیم آگیری و در ویال تیره رنگ با دمای ۵ درجه و به دور از نور، گرما و رطوبت در فضای مطالعه نگهداری شد (۱۱). جهت

تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. توصیف داده ها با استفاده از جدول توزیع فراوانی و نمودار میله ای و مقایسه کلی بین گروه ها با استفاده از آزمون مجذور کای (با شبیه سازی مونت-کارلو) و همچنین مقایسات تعقیبی با استفاده از آزمون مجذور کای با تصحیح بن فرونی صورت گرفت. سطح معناداری ۰,۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج آنالیز اسانس مرزه خوزستانی

نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی اسانس مرزه خوزستانی نشان داد که نمونه ذکر شده حاوی ۹۸/۷۹٪ کارواکرول است (جدول ۱).

جدول ۱. ترکیبات موجود در اسانس گیاه مرزه خوزستانی

نام ترکیب	درصد	ضریب تناسب	زمان دیده شدن پیک
سایمن	۰/۶۷۵	۱۰۲۹	۷/۸۱۳
لینالول	۰/۲۶۴	۱۰۹۸	۹/۸۲۵
کارواکرول	۹۸/۷۹۳	۱۳۱۲	۱۶/۰۶۳
۴-ترپنهال	۰/۲۶۸	۱۱۸۴	۱۶/۱۴

نتایج پاتولوژی

پس از جراحی رت ها و تهیه لام های بافتی و خوانش لام ها، آسیب های بافتی ایجاد شده بررسی شد. مشخص شد که آسیب های مشاهده شده بافت طحال در گروه دریافت کننده سم کلرپیریفوس عمدتاً از نوع ماکروفاژ و پیگمان بودند؛ اما در گروه های دریافت کننده اسانس مرزه خوزستانی آسیبی مشاهده نشد. بر اساس شکل ۱- الف و ب، قسمت های دوار، پالپ سفید طحال را نشان می دهند که هیچ گونه آسیب بافتی ایجاد نشده و در اطراف آن پالپ قرمز طحال نیز نرمال است. در گروه تحت تماس با کلرپیریفوس آسیب بافتی از نوع ماکروفاژ، پیگمان و تحلیل رفتن پالپ سفید بود. در شکل ۱- ج تجمع پیگمان ها (نقاط تیره) و همچنین

آنالیز اسانس مرزه خوزستانی که با استفاده از تقطیر در کلونجر جمع آوری شد، از دستگاه کروماتوگرافی گازی مستقر در دانشگاه لرستان استفاده گردید. جداسازی و اندازه گیری نمونه اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی GC-17A Shimadzu که مجهز به دتکتور طیف سنج جرمی مدل MS-QP5050 انجام گرفت. جداسازی ترکیبات در ستون موئین Fused Silica از نوع BPX5 با قطر داخلی ۲۵ میکرومتر و طول ۳۰ متر و فیلم نازک با ضخامت ۲۵ میکرومتر انجام شد. دمای ستون به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس تنظیم شده و سپس دما با سرعت ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش یافت تا دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس و ۲ دقیقه ستون در این دما باقی ماند. دمای محل تزریق ۱۵۰ درجه سلسیوس و دمای دتکتور ۲۵۰ درجه سلسیوس تنظیم شد و از گاز هلیوم (با خلوص ۹۹٪/۹۹) با سرعت ۳ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

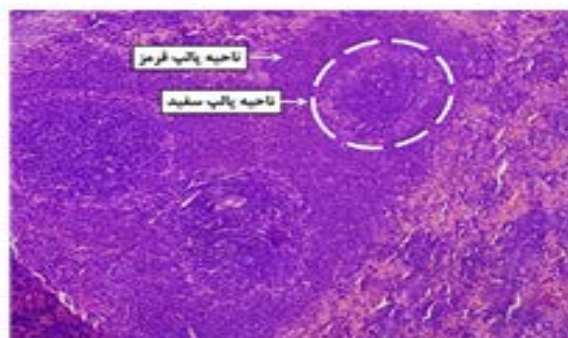
این مطالعه در شهریور ماه ۱۳۹۸ تا بهمن ماه ۱۳۹۹ در آزمایشگاه گروه سم شناسی و فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و مرکز تحقیقات گیاهان داروهای گیاهی رازی علوم پزشکی لرستان و آزمایشگاه شیمی دانشگاه لرستان انجام شد. تمامی تلاش ها صورت گرفت تا حیوانات مورد استفاده به لحاظ تعداد و آسیب های وارده قبل از فرآیند بی هوشی نهایی به حداقل برسد و در شرایط استاندارد به آب و غذا دسترسی آزادانه داشته باشند. تمام مراحل کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس دستور العمل جهانی کار با حیوانات آزمایشگاهی پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی لرستان با IR.LUMS.REC.1399.190 انجام گرفت.

تحلیل رفتن پالپ سفید به طور واضح دیده می شود و قسمت‌های دوار پالپ سفید نرمال که در شکل ۱-الف مشهود بود در اینجا مشاهده نمی‌شود. شکل ۱-د بافت طحال غیر نرمال در گروه تحت تماس با کلرپیریفوس را نشان می‌دهد که پالپ سفید طحال آن تحلیل نرفته ولی تجمع پیگمان‌ها درون پالپ سفید کاملاً مشهود

است. شکل ۱-ه نیز بافت طحال غیر نرمال در گروه تحت تماس با کلرپیریفوس را نشان می‌دهد که پالپ سفید طحال آن تحلیل نرفته و شریانچه‌ها نمای نرمال دارند ولی تجمع پیگمان‌ها درون پالپ سفید کاملاً مشهود است.



(الف)



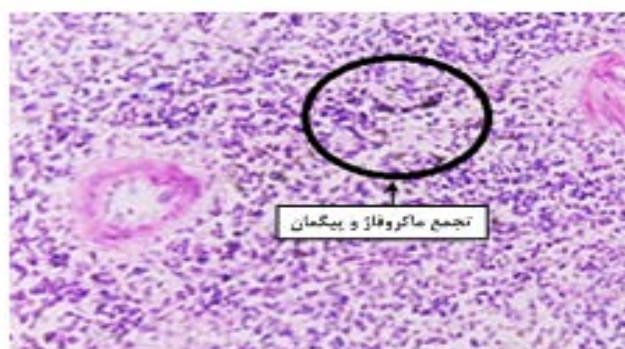
(ب)



(ج)



(د)



(ه)

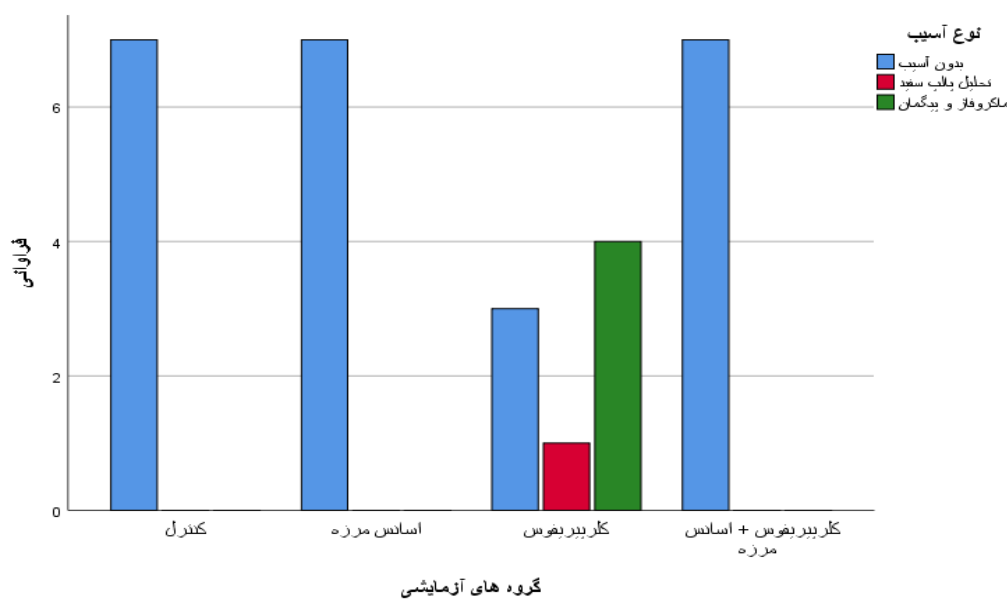
شکل ۱. (الف) بافت طحال نرمال در گروه کنترل، (ب) بافت طحال نرمال در گروه دریافت کننده مرزه (ج) تحلیل پالپ سفید طحال و تجمع ماکروفاژ و پیگمان در گروه دریافت کننده کلرپیریفوس (د) تجمع ماکروفاژ و پیگمان در پالپ سفید در گروه دریافت کننده کلرپیریفوس (ه) تجمع ماکروفاژ بین دو شریانچه در پالپ سفید در گروه دریافت کننده کلرپیریفوس.

مقایسه توزیع فراوانی انواع آسیب‌های بافتی طحال

بین گروه‌های آزمایشی

آزمون مجذور کای با شبیه سازی مونت-کارلو نشان داد بین گروه‌های آزمایشی مختلف از نظر توزیع انواع آسیب بافتی طحال تفاوت آماری معناداری وجود داشته است ($\chi^2=15/859$, $df=6$, $P=0/005$)؛ به طوری که در گروه سم کلرپیریفوس آسیب‌های بافتی همچون تجمع ماکروفاژ و پیگمان و تحلیل پالپ سفید طحال مشاهده شده و این در حالی است که در سایر گروه‌ها هیچ نوع آسیب بافتی مشاهده نگردید. آزمون مقایسات دودویی مجذور کای با تصحیح بن فرونی نشان داد که بین گروه کنترل با سم کلرپیریفوس از نظر توزیع انواع آسیب بافتی طحال تفاوت آماری معناداری وجود داشته است

($\chi^2=6/563$, $df=2$, $P=0/043$). همچنین بین گروه اسانس مرزه خوزستانی به تنهایی با گروه سم کلرپیریفوس به تنهایی از نظر توزیع انواع آسیب بافتی طحال تفاوت آماری معناداری وجود داشته است ($\chi^2=6/563$, $df=2$, $P=0/043$) و سرانجام بین گروه مرزه خوزستانی+سم کلرپیریفوس با گروه سم کلرپیریفوس به تنهایی از نظر توزیع انواع آسیب بافتی طحال تفاوت آماری معناداری وجود داشته است ($\chi^2=6/563$, $df=2$, $P=0/043$). لازم به ذکر است که به دلیل مشابهت صد درصد سایر گروه‌ها از نظر توزیع انواع آسیب‌های بافتی و فقدان تغییر پذیری، انجام مقایسه دودویی بین سایر زوج گروه‌ها امکان پذیر نبود. برای جزئیات بیشتر به نمودار ۱ مراجعه کنید.



نمودار ۱: مقایسه فراوانی انواع آسیب طحال ناشی بین گروه‌های آزمایشی

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کلرپیروفوس سمیت بالایی دارد که در آسیب بافتی طحال این روند مشهود بود. پس از تجویز مرزه خوزستانی در گروه‌های مورد مطالعه از نظر آسیب ماکروفاژ و پیگمان، تفاوت معناداری مشاهده شد و این

به این معناست مرزه خوزستانی با دوز ۲۵mg/kg توانسته است باعث بهبود آسیب بافت طحال در مقایسه با گروه کنترل شود. در تحقیقات متعدد نشان داده شده است که کلرپیریفوس به طور قابل ملاحظه‌ای باعث افزایش پراکسیداسیون لیپید کلیه در موش‌ها می‌شود که با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کلیوی و

کاهش سطح گلوکاتینون همراه است (۱۷، ۱۸). در پژوهشی دیگر مشاهده شد که مصرف دوزهای بالای کلرپیریفوس با تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، کاهش سطح گلوکاتینون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها باعث تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف موش (مغز، قلب و طحال) می‌شود (۱۹). مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که کلرپیریفوس باعث پراکسیداسیون لیپیدها در گلبول‌های قرمز و تغییر سیستم‌های آنزیمی آنتی اکسیدانی می‌شوند. قرار گرفتن در معرض کلرپیریفوس می‌تواند متابولیسم پروتئین را افزایش دهد، سنتز پروتئین را مهار کند و مسیرهای متابولیک اسیدهای آمینه خاص را تغییر دهد. بنابراین کلرپیریفوس به احتمال زیاد موجب کمبود پروتئین می‌شود (۲۰). همچنین آسیب‌های اکسیداتیو ایجاد شده در نتیجه افزایش رادیکال‌های آزاد، توسط کلرپیریفوس باعث آسیب بافتی مختلف شامل انحطاط نکروتیک ترابکول‌ها (طحال و تیموس)، هایپرپلازی قشری و قشرمدولا (غده تیموس و غدد لنفاوی)، هایپرپلازی پالپ سفید و قرمز (طحال) و گاهی خونریزی (کلیه بافت‌ها) می‌شود (۲۱). در این پژوهش پس از بررسی پاتولوژی داده‌ها، آسیب‌های مشاهده شده بافت طحال عمدتاً از نوع ماکروفاژ و پیگمان بودند که در گروه دریافت کننده سم کلرپیریفوس این آسیب دیده شد. گیاه مرزه خوزستانی یکی از گیاهان بومی ایران، از دیرباز در طب سنتی مردم لرستان به عنوان آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار می‌گیرد. جزء اصلی اسانس مرزه کارواکرول بوده و سایر ترکیبات چون فلاونوئیدها، تری ترپنوئیدها، استروئیدها و تانن‌ها نیز در این گیاه گزارش شده است (۲۲). در نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی در پژوهش فعلی ما مشخص شد که اسانس مرزه خوزستانی حاوی ۹۸/۷۹٪ کارواکرول است. از آنجائیکه کارواکرول

دارای خواص آنتی اکسیدانتی بالایی می‌باشد و می‌تواند باعث مهار رادیکال‌های آزاد ایجاد شده ناشی از سموم ارگانوفسفره شود بنابراین هدف از انتخاب ما از این گیاه مرزه خوزستانی در این پژوهش به دلیل وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی چون کارواکرول بوده است، که در ادامه به چندین مورد هم اشاره شده است. به طور کلی سلول‌ها مکانیسم‌های مختلفی برای کاهش استرس اکسیداتیو و ترمیم ماکرومولکول‌های آسیب دیده دارند که این آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به طور قابل توجهی توسط سموم دفع آفات کاهش می‌یابند (۲۳). بنابراین انتظار این می‌رود که مصرف آنتی اکسیدان‌هایی مثل کارواکرول می‌تواند باعث افزایش این آنزیم‌ها شود. که در پژوهش ما با بهبود طحال آسیب دیده پس از تجویز اسانس مرزه خوزستانی این روند مشهود بود. در مطالعه‌ای که توسط بهادری و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در همین انجام شد و به بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس روغنی مرزه خوزستانی بر روی مدل موش‌های آزمایشگاهی حاد و مزمن در اندام‌های مختلف کبد، کلیه و مغز موش‌های صحرایی پرداختند، مشاهده کردند که پس از تجویز کارواکرول آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سلول از جمله گلوکاتینون احیا شده (GSH)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتینون پراکسیداز (GPx)، گلوکاتینون ردوکتاز (GR) و کاتالاز (CAT) در مدل حاد و مزمن که در این اندام‌ها به طور قابل توجهی افزایش می‌یابند (۲۴). همچنین در پژوهش دیگری که توسط امین و همکارانش بر روی اثرات حفاظتی کارواکرول در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سموم پاراکوات پرداخته شد و مشخص شد که کارواکرول به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی که دارد توانسته است حجم وسیعی از رادیکال‌های آزاد ایجاد شده ناشی از پاراکوات در طحال را مهار کند. در حالیکه در مطالعه ما درگروه دریافت کننده سم

کلرپیریفوس و ۲۵mg/kg اسانس مرزه خوزستانی مشاهده شد که این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی باعث کاهش رادیکال های آزاد و بهبود آسیب بافتی طحال در مقایسه با گروه کنترل می شود (۲۵). در مطالعه ای دیگر که توسط هما آراک و همکارانش انجام شد به بررسی تاثیر اسانس مرزه خوزستانی بر روی سمیت ایجاد شده توسط آفلاتوکسین بر روی طحال بلدرچین ژاپنی پرداختند و از آنجائیکه آفلاتوکسین ها مولد تولید رادیکال های آزاد هستند و با توجه به اینکه اسانس مرزه خوزستانی دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی قوی از جمله کارواکربول و تیمول می باشد به این نتیجه رسیدند که استفاده از اسانس مرزه خوزستانی در سطح 600 PPM می تواند به طور موثری صدمات رادیکال های آزاد در بدن طیور بخصوص بافت طحال را کاهش دهند (۲۶). در تحقیقی که توسط کاندمیر و همکاران در سال ۲۰۲۱ به بررسی اثرات محافظتی کارواکربول بر ضایعات کبدی ناشی از مواجهه با کادمیوم در موش های صحرایی نر بالغ پرداخته شد، نشان دادند که کادمیوم از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو باعث ایجاد آسیب های بافتی در کبد می شوند لذا کارواکربول با داشتن خواص آنتی اکسیدانی قوی مانع اثرات مخرب کادمیوم بر ساختار بافتی کبد می گردد (۲۷). نتایج پاتولوژی بافت طحال موش های صحرایی در معرض سم کلرپیریفوس (با دوز ۰/۰۱ میلی گرم / کیلوگرم) در این پژوهش حاکی از تحلیل رفتن لنفوسیت های پالپ سفید و تجمع شدید ماکروفاژها و ایجاد پیگمان در ناحیه پالپ سفید طحال در برخی از موش ها است که انتظار می رود با افزایش ضایعات، بافت طحال عملکرد طبیعی خود را از دست بدهد؛ اما موش های در معرض سم کلرپیریفوس که اسانس مرزه خوزستانی دریافت کرده اند بافت طحال کاملاً نرمال دارند. بنابراین اسانس مرزه خوزستانی

توانسته است اثر آنتی اکسیدانی خود را اعمال کند و از استرس اکسیداتیو جلوگیری کند و به همین ترتیب آسیب بافتی ایجاد نشده است. مقایسه دوز کلرپیریفوس در این پژوهش و سایر مطالعات بررسی شده نشان می دهد که دوز مصرف شده در این مطالعه مسمومیت بافتی به همراه دارد هر چند که این دوز طبق گزارش WHO ایمن معرفی شده است. با توجه به نتایج این پژوهش و همچنین مطالعات سایرین، سمیت سموم ارگانو فسفره کاملاً مشهود است و با گسترش استفاده از این سموم برای دفع آفات کشاورزی، محققان را بر آن می دارد تا اقدامات اصلاحی مناسبی برای رفع این مشکل طراحی کنند. اثرات مفید اسانس مرزه خوزستانی بر آسیب بافتی طحال در برابر سم کلرپیریفوس راه را برای تحقیقات گسترده تر باز کرده است و به نظر می رسد که بتوان از اسانس این گیاه بومی کشورمان بهره بیشتری برد. همان طور که آنالیز اسانس مرزه خوزستانی نشان می دهد ترکیباتی چون کارواکربول اثرات آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارد که عدم مشاهده آسیب در موش های در معرض کلرپیریفوس و اسانس مرزه خوزستانی، شاهی بر این ادعاست. آسیب های بافتی همواره با التهاب همراهند که بر اثر استرس اکسیداتیو ایجاد می شوند. نتیجه این تحقیق نشان داد که درمان موثر آسیب های بافتی با ترکیبات آنتی اکسیدان میسر می شود که اسانس گیاه مرزه خوزستانی همانطور که پیشتر گفته شد خاصیت آنتی اکسیدانی دارد. بنابراین اثر مثبتی که از اسانس مرزه دیده شد دور از انتظار نبود. یکی از مکانیسم های اصلی سموم ارگانوفسفره ایجاد استرس اکسیداتیو و افزایش رادیکال های آزاد است و این رادیکال های آزاد منجر به آسیب بافتی در ارگان های مختلف از جمله طحال می شوند. از طرفی در مرزه خوزستانی با داشتن ترکیباتی مثل کارواکربول آنتی اکسیدانی بالایی دارد و

در مطالعات متعدد به اثبات رسیده است باعث بهبود آسیب بافتی طحال در گروه های مختلف می شود. در مجموع تجویز مرزه خوزستانی به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی با مهار رادیکال های آزاد بر روی بافت طحال اثر محافظتی دارد. در پایان پیشنهاد می شود جهت بررسی قابلیت های آنتی اکسیدانی مرزه خوزستانی غلظت های مختلفی از این ترکیب مورد مطالعه قرار

گرفته شود و بافت های دیگر از جمله کبد و قلب در مدل حیوانی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از همکاران محترم آزمایشگاه سم شناسی دانشکده داروسازی و تمامی افراد شرکت کننده در این تحقیق که ما را یاری رساندند اعلام می نماییم.

References

1. Sayadi M, Kiani M, Nematollahi A, Nejati R, Kaabi DH. A Review of the Toxic effects and Methods of Reducing the Pesticide of Organophosphate Malathion in Food. 2021;3054-3064.
2. Kermani M, Dowlati M, Gholami M, Sobhi HR, Azari A, Esrafil A, et al. A global systematic review, meta-analysis and health risk assessment on the quantity of Malathion, Diazinon and Chlorpyrifos in Vegetables. Chemosphere. 2021;270:129382.
3. Nematollahi A, Rezaei F, Afsharian Z, Mollakhalili-Meybodi N. Diazinon reduction in food products: A comprehensive review of conventional and emerging processing methods. Environmental Science and Pollution Research. 2022:1-16.
4. Freyre EO, Valencia AT, Guzmán DD, Maldonado IC, Ledezma LEB, Carrillo MF, et al. Oxidative stress as a molecular mechanism of exposure to organophosphorus pesticides: a review. Current Protein and Peptide Science. 2021;22(12):890-7.
5. Medithi S, Jonnalagadda PR, Jee B. Predominant role of antioxidants in ameliorating the oxidative stress induced by pesticides. Archives of environmental & occupational health. 2021;76(2):61-74.
6. Zeng X, Du Z, Ding X, Jiang W. Protective effects of dietary flavonoids against pesticide-induced toxicity: A review. Trends in Food Science & Technology. 2021;109:271-9.
7. Juszczak G, Mikulska J, Kasperek K, Pietrzak D, Mrozek W, Herbet M. Chronic stress and oxidative stress as common factors of the pathogenesis of depression and Alzheimer's disease: The role of antioxidants in prevention and treatment. Antioxidants. 2021;10(9):1439.
8. Comino-Sanz IM, López-Franco MD, Castro B, Pancorbo-Hidalgo PL. The role of antioxidants on wound healing: A review of the current evidence. Journal of Clinical Medicine. 2021;10(16):3558.
9. Mahmoudvand H, Ezatpour B, Masoori L, Marzban A, Moghaddam A, Shahzamani K, et al. Antimicrobial Activities of Satureja khuzestanica Jamzad; A Review. Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders). 2021;21(2):161-7.
10. Moradi-Maram N, Dastan D, Nili-Ahmadabadi A. Protective Effect of Various Extracts of Allium hirtifolium and Satureja khuzestanica Plants on AAPH-Induced Oxidative Hemolysis. Avicenna Journal of Pharmaceutical Research. 2021;2(1):1-7.
11. Khaledi A, Meskini M. A systematic review of the effects of Satureja khuzestanica Jamzad and Zataria multiflora Boiss against Pseudomonas aeruginosa. Iranian journal of medical sciences. 2020;45(2):83-90.
12. Safarnavadeh T, Rastegarpanah M. Antioxidants and infertility treatment, the role of Satureja Khuzestanica: A mini-systematic review. Iranian Journal of Reproductive Medicine. 2011;9(2):61.

13. Golparvar AR, Gheisari MM, Hadipناه A, Khorrami M. Antibacterial, antifungal properties and chemical composition of essential oils of *Satureja hortensis* L. and *Satureja khuzestanica* Jamzad. *Journal of Medicinal Herbs*. 2018;8(4):243-9.
14. Adineh A, Amin G, Ghaffari S. Acute and Repeated Dose Toxicity Assessment of *Kelussia Odoratissima* Mozaff Essential Oil in Female Rat. *Yafteh*. 2020;22(3):34-47
15. Rashidipour M, Ashrafi B, Nikbakht MR, Veiskarami S, Taherikalani M, Soroush S. Encapsulation of *Satureja khuzistanica* jamzad essential oil in chitosan nanoparticles with enhanced antibacterial and anticancer activities. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2021;51(10):971-8.
16. Janik MK, Kruk B, Szczepankiewicz B, Kostrzewa K, Raszeja-Wyszomirska J, Górnicka B, et al. Measurement of liver and spleen stiffness as complementary methods for assessment of liver fibrosis in autoimmune hepatitis. *Liver International*. 2021;41(2):348-56.
17. Saoudi M, Badraoui R, Rahmouni F, Jamoussi K, El Feki A. Antioxidant and protective effects of *Artemisia campestris* essential oil against chlorpyrifos-induced kidney and liver injuries in rats. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:618582.
18. Ozturk Kurt B, Ozdemir S. Selenium Heals the Chlorpyrifos-Induced Oxidative Damage and Antioxidant Enzyme Levels in the Rat Tissues. *Biological Trace Element Research*. 2022:1-9.
19. Küçükler S, Çomaklı S, Özdemir S, Çağlayan C, Kandemir FM. Hesperidin protects against the chlorpyrifos-induced chronic hepato-renal toxicity in rats associated with oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and up-regulation of PARP-1/VEGF. *Environmental Toxicology*. 2021;36(8):1600-17.
20. Taha MA, Badawy ME, Abdel-Razik RK, Younis HM, Abo-El-Saad MM. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in liver of male albino rats after exposing to sub-chronic intoxication of chlorpyrifos, cypermethrin, and imidacloprid. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2021;178:104938.
21. Zhao L, Tang G, Xiong C, Han S, Yang C, He K, et al. Chronic chlorpyrifos exposure induces oxidative stress, apoptosis and immune dysfunction in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Environmental Pollution*. 2021;282:117010.
22. Rathod NB, Kulawik P, Ozogul F, Regenstein JM, Ozogul Y. Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;116:733-48.
23. Yang H-Y, Lee T-H. Antioxidant enzymes as redox-based biomarkers: a brief review. *BMB reports*. 2015;48(4):200.
24. Bhaduri AM, Fulekar M. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2012;11(1):55-69.

25. Amin F, Roohbakhsh A, Memarzia A, Kazerani HR, Boskabady MH. Paraquat-induced systemic inflammation and increased oxidative markers in rats improved by Zataria multiflora extract and carvacrol. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2020;10(5):513.
26. Arak H, Karimi Torshizi MA, Rahimi S. Effect of savory (Satureja khuzestanica) essential oil and commercial toxin binder on fertility, hatchability, and progeny performance in breeder quails fed aflatoxin contaminated diets. *Animal Sciences Journal*. 2017;30(114):285-94.
27. Kandemir FM, Caglayan C, Darendelioğlu E, Küçükler S, İzol E, Kandemir Ö. Modulatory effects of carvacrol against cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity by molecular targeting regulation. *Life Sciences*. 2021;277:119610.

Investigating the effect of Satureja Khusestanica essential oil on chlorpyrifos-induced spleen toxicity in male Wistar rats

Ghasemian Yadegari J¹, Khalilifard J², Dehghan F³, Haghighatian Z⁴, Rashidipour M², Mohammadi HR², Adineh A^{2*}

1. Assistant professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

2. Assistant professor, Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

3. School of Pharmacy, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

4. Assistant professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, ahmadadineh48@gmail.com

Received: 2022/05/13

Accepted: 2022/09/11

Abstract

Background: Chlorpyrifos is a type of organophosphorus poison that, despite its widespread use, can lead to tissue damage, including spleen tissue. Khuzestani savory plant has antioxidant properties and is effective in reducing damage caused by oxidative stress. The aim of this study was to investigate the effect of Khuzestani savory plant essential oil on chlorpyrifos-induced spleen toxicity in male Wistar rats.

Materials and Methods: In this experimental research, 28 adult male rats weighing between 180-220 grams were selected and divided into 4 groups of 7. Were examined. Statistical comparison between the control group, Khuzestani essential oil 25 mg/kg, chlorpyrifos poison 0.01 mg/kg and Khuzestani essential oil 25 mg/kg + chlorpyrifos poison 0.01 mg/kg using SPSS 22 software and square test Chi was performed with Monte Carlo simulation under a significance level of 0.05.

Results: Chi-square test showed that there was a statistically significant difference between different groups in terms of the distribution of spleen tissue damage types ($P=0.005$); So, in the chlorpyrifos poison group, tissue damage such as macrophage and pigment accumulation and spleen white pulp analysis was observed, while no tissue damage was observed in the other groups.

Conclusion: Our study showed that the Khuzestan savory plant is effective in preventing tissue damage due to its antioxidant compounds such as carvacrol. Also, considering the negative effects of chlorpyrifos in the doses recommended by the World Health Organization, further investigations are necessary.

Keywords: Satureja Khusestanica essential oil, Chlorpyrifos pesticide, Diazinon pesticide, Spleen tissue.

***Citation:** Ghasemian Yadegari J, Khalilifard J, Dehghan F, Haghighatian Z, Rashidipour M, Mohammadi HR, Adineh A. Investigating the effect of Satureja Khusestanica essential oil on chlorpyrifos-induced spleen toxicity in male Wistar rats. Yafte. 2022; 24(2):78-90.