

تأثیر عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) بر محتوای آنتی اکسیدانی و بیان ژن *Bak* در بافت کبد موشهای صحرائی بیمار شده با استات سرب

فاطمه بسطام پور^۱، سید ابراهیم حسینی^{۲،*}، مهرداد شریعتی^۱، مختار مختاری^۱

^۱گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، موسسه آموزش عالی زند، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۰ اصلاح نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۹

چکیده

زمینه و هدف: فلزات سنگین مانند سرب تأثیرات منفی بر بافتهای مختلف بدن دارند. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) بر محتوای آنتی اکسیدانی گلوتاتیون (GSH) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و بیان ژن *Bak* بعنوان یک ژن فعال در مسیر آپاتوزیس در بافت کبد موشهای صحرائی نر بالغ بیمار شده با استات سرب انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: موشهای صحرائی بصورت تصادفی در ۶ گروه ۱۰ تایی شامل گروه‌های کنترل، شاهد، تجربی ۱ (۲۰ mg/kg استات سرب)، تجربی ۲ (۲۰۰ mg/kg عصاره)، گروه تجربی ۳ (۲۰ mg/kg استات سرب و ۱۰۰ mg/kg عصاره) و تجربی ۴ (۲۰ mg/kg استات سرب و ۲۰۰ mg/kg عصاره) تقسیم‌بندی شدند. طول دوره مطالعه در تمام گروه‌ها ۲۱ روز بود. در پایان مطالعه نمونه‌های خونی به منظور سنجش GSH و GPX و نمونه بافت کبد جهت ارزیابی ژن *Bak* به روش real time-PCR گرفته شد.

یافته‌ها: استات سرب محتوای آنتی اکسیدانی GSH و GPX را در موشهای صحرائی کاهش داد و در مقابل بیان ژن *Bak* را افزایش داد. تجویز عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری در موشهای بیمار شده با استات سرب موجب افزایش محتوای آنتی اکسیدانی GSH و GPX و کاهش بیان ژن *Bak* گردید.

نتیجه‌گیری: استات سرب با کاهش محتوای آنتی اکسیدانی و افزایش بیان ژنهای آپاتوزیس بر بافت کبد تأثیرات منفی دارد. با این حال بنظر می‌رسد عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری با تأثیرات آنتی اکسیدانی می‌تواند با تأثیرات مضر استات سرب مقابله کند و موجب بهبود محتوای آنتی اکسیدانی و تعدیل ژنهای درگیر در آپاتوزیس بافت کبد موشهای صحرائی شود.

واژه‌های کلیدی: آپاتوزیس، جعفری، گلوتاتیون، سرب، موش صحرائی

فاطمه بسطام پور، سید ابراهیم حسینی، مهرداد شریعتی، مختار مختاری. تأثیر عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) بر محتوای آنتی اکسیدانی و بیان ژن *Bak* در بافت کبد موشهای صحرائی بیمار شده با استات سرب. مجله طب دامپزشکی جایگزین. ۱۴۰۱؛ ۵(۱۵): ۸۶۷-۸۸۰

مقدمه

عناصری که وزن مخصوص آنها بیش از پنج برابر وزن مخصوص آب باشد مانند سرب، جیوه، قلع، آرسنیک، کروم و آهن جزء عناصر سنگین محسوب می‌شوند. این عناصر تجزیه نمی‌شوند و پایدارند، بنابراین با گذشت زمان بر محیط زیست و موجودات زنده تأثیر منفی می‌گذارند (Jaishankar *et al.*, 2014). توسعه صنعتی منجر به افزایش چندین برابری آلودگی محیط توسط فلزات سنگین شده است. استفاده از سموم دفع آفات در کشاورزی، استخراج از معادن، مصرف سوخت‌های فسیلی، پسماندهای صنعتی به همراه فرآیندهای طبیعی مانند فعالیت‌های آتش‌فشانی، هوازدگی و فرسایش خاک از مهمترین دلایل انتشار و تجمع فلزات سنگین در محیط می‌باشند. جذب پوستی، استنشام و بلع مسیرهای اصلی ورود عناصر سنگین به بدن انسان است (Kim *et al.*, 2021). این فلزات حتی در مقادیر کم برای بافتهای مختلف بدن سمی هستند. سمیت ناشی از فلزات سنگین از طریق مسیرهای مختلفی ایجاد می‌شوند که مکانیسم بسیاری از آنها تاکنون مشخص نشده است. با این حال به نظر می‌رسد افزایش استرس اکسیداتیو مهمترین مکانیسمی است که از طریق آن فلزات سنگین سمیت خود را القا می‌کنند (Wu *et al.*, 2016). استرس اکسیداتیو با تولید رادیکالهای آزاد مانند گونه‌های فعال اکسیژن موجب عدم تعادل در سیستم آنتی‌اکسیدانی/اکسیدانی می‌شود (Abd Eldaim *et al.*, 2021). در سرب یکی از مهمترین عناصر سنگین و سمی است و تصور می‌شود که به سرعت در جریان خون جذب می‌شود. اعتقاد بر این است که سرب می‌تواند اثرات نامطلوبی بر اندامهای خاصی مانند سیستم عصبی مرکزی، سیستم قلبی عروقی، کلیه‌ها و سیستم ایمنی داشته باشد

(Wani *et al.*, 2015). اکثر شرکت‌های داروسازی حداکثر مصرف روزانه سرب را ۰/۱ میکروگرم در گرم تعیین کرده‌اند، اما مصرف طولانی مدت حتی این میزان پایین سرب نیز برای انسان خطرناک است (Pirooty & Ghasemzadeh, 2013; Schoeters *et al.*, 2008). سربی که از طریق سیستم گوارشی یا تنفس جذب شده است می‌تواند در بافت‌های نرم تجمع یابد. استخوان‌ها و خون به ترتیب حاوی ۹۰ و ۴ درصد کل سرب بدن هستند. باقی مانده سرب عمدتاً در کبد و کلیه‌ها یافت می‌شود. کبد و کلیه‌ها نقش عمده‌ای در دفع سرب دارند و بنابراین، هدف مناسبی برای اعمال سمی سرب به شمار می‌روند (Wang *et al.*, 2013). سمیت سرب به طور عمده مربوط به تأثیر آن بر سیستم‌های آنزیمی سلول‌ها است که منجر به اختلالات بیوشیمیایی می‌شود. مطالعات نشان داده است که سرب می‌تواند سیگنال‌های درون سلولی بین سلول‌های کوپفر و هپاتوسیت‌ها را تحریک کند. چندین مطالعه نشان داده‌اند که بین افزایش سطح سرب در بدن و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و ترکیبات اسید چرب ارتباط وجود دارد (Wani *et al.*, 2015). غشای سلولی هدف آسیب اکسیداتیو تولید شده توسط بیگانه‌بیوتیک‌ها از جمله فلزات سنگین مانند سرب هستند. در کبد افرادی که در معرض سرب قرار گرفته‌اند، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش سطح گلوتاتیون (GSH) و کاهش فعالیت GSH پراکسیداز (GPX) مشاهده شده است (Wang *et al.*, 2013). همچنین مطالعات دیگر نشان می‌دهند که سرب می‌تواند میزان بیان ژنهای مرتبط با آپاپتوزیس مانند Caspase-3 را در بافت کبد افزایش دهد و موجب تغییر ساختار بافت کبد شود (Abd Eldaim *et al.*, 2021).

امروزه از گیاهان دارویی برای محافظت از بافتهای مختلف بدن و بویژه کبد، در برابر سمیت ناشی از فلزات سنگین مانند سرب استفاده می‌شود زیرا نشان داده شده است که محصولات طبیعی با منشاء گیاهی از طریق پتانسیل‌های آنتی‌اکسیدانی قوی خود، فعالیت محافظتی بالایی را از خود نشان می‌دهند (Abd Eldaim et al., 2021). ترکیبات گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی به محافظت از سلول‌ها و بافت‌ها در برابر اثرات مضر گونه‌های اکسیژن و دیگر رادیکال‌های آزاد کمک می‌کنند. فلاونوئیدها فراوان‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان و رژیم غذایی هستند. فلاونوئیدها در سال‌های اخیر به دلیل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و محافظتی از کبد، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Wang et al., 2013). جعفری با نام علمی *Petroselinum crispum* گیاهی خوراکی و از گونه *P. crispum* از تیره چتریان می‌باشد. جعفری گیاهی غنی از ویتامین‌ها و عناصر معدنی مختلف است. به نظر می‌رسد ویژگی‌های درمانی این گیاه به دلیل ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، لوتولین، آپی‌ژنین، کاروتنوئیدها، توکوفرول و کومارین در این گیاه باشد. مطالعات نشان می‌دهند که ترکیبات موجود در عصاره جعفری دارای اثرات ضد التهابی، ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است. گیاه جعفری غنی از فلاونوئیدها و ویتامین‌هایی است که آنتی‌اکسیدان‌های مؤثری در خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن و دیگر رادیکال‌های آزاد را دارد (Tang et al., 2015; Menglan et al., 2005). مطالعات نشان می‌دهند که عصاره دی‌کلرومتان گیاه جعفری می‌تواند از آسیب DNA ناشی از تجویز H₂O₂ در موشهای صحرایی جلوگیری کند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد. همچنین به نظر می‌رسد عصاره این گیاه به دلیل دارا

بودن ترکیبات فنلی فراوان بتواند از استرس اکسیداتیو طولانی مدت و آپاپتوزیس جلوگیری کند (Tang et al., 2015). گزارش شده است که جعفری می‌تواند با حذف رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل (OH) پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش دهد و همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی GSH و GPX را افزایش دهد (Akinci et al., 2017). با توجه به اینکه امروزه آلودگی‌های محیط زیستی مانند آلودگی هوا و همچنین آلودگی مواد غذایی به فلزات سنگین افزایش یافته است و بافتهای مختلف بدن و بویژه کبد در معرض مسمومیت با این فلزات قرار دارند به گونه‌ای که بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن را تحت تأثیر قرار می‌گیرد لذا این مطالعه با هدف تأثیر عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) بر محتوای آنتی‌اکسیدانی (GSH و GPX) و بیان ژن *Bak* بعنوان یک ژن فعال در مسیر آپاپتوزیس در بافت کبد موشهای صحرایی نر بالغ تیمار شده با استات سرب انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه که از نوع تجربی-مداخله‌ای بود از ۶۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن تقریبی 180 ± 20 گرم و سن ۲/۵-۳ استفاده شد که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و به محل انجام آزمایش منتقل گردید. حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات با ابعاد ۳۰×۲۵×۱۵ سانتی‌متر با سقف مشبک از جنس استیل نگهداری شدند. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات در تمام طول مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. کلیه اصول اخلاقی

مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد کد اخلاق IR.IAU.KAU.REC.1400.062 رعایت گردید.

گروه بندی حیوانات و طراحی مطالعه

حیوانات بصورت کاملا تصادفی در ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم بندی شدند. حیوانات گروه کنترل هیچگونه تیمار دارویی دریافت نکردند و تا پایان مطالعه دست نخورده باقی ماندند. حیوانات گروه شاهد ۱ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. حیوانات گروه تجربی ۱ استات سرب را با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. حیوانات گروه تجربی ۲ عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. حیوانات گروه تجربی ۳، ۲ ساعت قبل از دریافت درون صفاقی عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، استات سرب با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. حیوانات گروه تجربی ۴، ۲ ساعت قبل از دریافت درون صفاقی عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، استات سرب با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. طول دوره مطالعه در تمام گروه ها ۲۱ روز بود. در انتهای مطالعه، تمام حیوانات به وسیله بیهوشی خفیف با اتر (کیمیا مواد، ایران) بیهوش شدند و خونگیری بصورت مستقیم با استفاده از سرنگ ۵ میلی لیتری از ناحیه بطن چپ قلب انجام شد. نمونه های خونی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به منظور تکمیل فرآیند آگلوتیناسیون در انکوباتور نگهداری شدند. برای سنجش GSH و GPX، نمونه های خونی در تیوبهای

بدون انعقاد ریخته شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ (MSE, England) سانتریفیوژ گردیدند. سرم زرد رنگ بدون اسپیره شدن لایه سفید بافی (لکوسیت) برداشته شد و تا زمان سنجش سطح کاتالاز در دمای ۸۰- نگهداری شدند. سطوح سرمی گلوکز (پارس آزمون، ایران)، کلسترول، تری گلیسرید، HDL، LDL، کراتینین و BUN با استفاده از کیت شرکت سازنده (پارس آزمون، ایران) و همچنین سطح فعالیت GSH و GPX با استفاده از کیت شرکت سازنده (کیازیس پشرو، ایران) و براساس دستور العمل آن اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری سطح بیان ژن *Bak* از روش *real time-PCR* استفاده گردید.

روش تهیه عصاره برگ گیاه جعفری

گیاه جعفری از فروشگاه هی سطح شهرستان کازرون خریداری شد و پس از خشک نمودن به روش علمی، برگ و ساقه های خشک شده پودر شدند. برای عصاره گیری، پودر وزن شده در دستگاه پرکولاتور قرار داده شد و به میزان کافی اتانول ۷۰ درصد به پودر اضافه شد. عصاره آبی-اتانولی پودر گیاه جعفری طی مدت ۲۴ ساعت در ظرفی به صورت قطر قطره جمع گردید. در طول مدت عصاره گیری در صورت پایین آمدن حلال، مجدداً به آن حلال اضافه گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت، عصاره رقیق گیاه جعفری آماده شد. به منظور آماده سازی، عصاره با اتانول ۷۰ درصد مخلوط شد و سپس عصاره رقیق گیاه با استفاده از دستگاه روتاری خشک و تغلیظ گردید (Ozsoy-Sacan *et al.*, 2006). تعیین دوز عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری براساس مطالعات قبلی انجام شد (Takrooni *et al.*, 2019).

سنجش سطح گلوکاتایون و فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز

سطح گلوکاتایون و فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز با استفاده از دستگاه Plate Reader و مطابق با دستور العمل کیت شرکت سازنده (ZellBio, Germany) اندازه گیری شد. برای سنجش، نمونه های خونی در تیوبهای بدون انعقاد ریخته شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردیدند. سرم زرد رنگ بدون آسپیره شدن لایه سفید بافی (لکوسیت) برداشته شد و تا زمان سنجش سطح کاتالاز در دمای ۸۰- نگهداری شدند. برای سنجش گلوکاتایون پراکسیداز در طول موج ۳۴۰ نانومتر و برای سنجش گلوکاتایون در طول موج ۴۱۲ نانومتر، جذب نوری نمونه ها اندازه گیری شد.

روش تهیه استات سرب

استات سرب (Sigma-Aldrich) به صورت پودر خریداری گردید. جهت تهیه محلول استات سرب، در ابتدا ۰/۵ گرم از پودر استات سرب با ترازویی به دقت ۰/۰۰۱ وزن گردید و در یک ظرف مدرج قرار داده شد، سپس صد میلی لیتر آب مقطر به پودر استات سرب افزوده و حجم مورد نیاز تهیه گردید. تعیین دوز استات سرب براساس مطالعات قبلی انجام شد (Thangarajan *et al.*, 2018).

سنجش ژن *Bak* با استفاده از روش *real time-PCR*

RNA کل طبق دستورالعمل مخصوص کیت شرکت سازنده (سیناژن، ایران) استخراج گردید. در ابتدا ۴۰ میلی گرم از بافت کبد جدا گردید و به آن ۱ میلی لیتر RNX-Plus اضافه شد و با استفاده از دستگاه هموژنایزر نمونه ها هموژنیزه شدند. محلول حاوی بافت هموژنیزه به مدت ده ثانیه ورتکس شد و

سپس در دمای اطاق حدود ۵ دقیقه نگهداری شدند. بعد به محلول، ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید و سپس برای ۵ دقیقه بر روی یخ قرار داده شد. سپس نمونه ها با دور ۱۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. بعد از این مدت محلول بیرون آورده شد و مایع بالای جدا شد و به همان اندازه ایزو پروپانول اضافه گردید و بعد از مخلوط کردن، بر روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. بعد از این مدت زمان، محلول به سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه انتقال داده شد. بعد از اتمام این مرحله مایع رویی بیرون ریخته شد و به میکروتیوب حدود ۱ میلی لیتر اتانول ۷۵ درصد اضافه گردیده شد و دوباره به سانتریفیوژ به مدت ۸ دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۷۵۰۰ انتقال داده شد. بعد از اتمام این مرحله میکروتیوب از سانتریفیوژ خارج شد و

مایع رویی بیرون ریخته شد و حدود ۵۰ میکرولیتر آب DEPC به RNA رسوب یافته در ته میکروتیوب اضافه گردید. جهت محاسبه غلظت RNA در روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه بیوفتومتری جذب نوری رقت معینی از نمونه با استفاده از دستگاه بیوفتومتر در طول موج ۲۶۰ نانومتر خوانده شد. RNA تهیه شده برای سنتز cDNA استفاده شد. همچنین به منظور اطمینان از کنترل کمیت RNA تهیه شده، با استفاده از تکنیک اسپکتروفتومتری نانو دراپ، نسبت جذب نوری آن در طول موج ۲۸۰/۲۶۰ نیز تعیین گردید. دستگاه غلظت نمونه مورد نظر را در طول موج مربوطه، بر حسب میکروگرم بر میکرولیتر، محاسبه کرد. با استفاده از واکنش رونویسی معکوس، mRNA به DNA مکمل (cDNA) طبق دستورالعمل کیت شرکت سازنده (PrimeScriptTM RT Master Mix kit) تبدیل گردید. پس از انجام واکنش

Real-time (Stratagene, USA) با استفاده از دستگاه Applied) PCR system step one plus (Biosystems, UK طی برنامه ای شامل یک چرخه دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه، یک چرخه دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ چرخه شامل ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. میانگین CT ها با استفاده از $2^{-\Delta CT}$ محاسبه شد.

رونویسی معکوس، به منظور تکثیر قطعه مورد نظر و ارزیابی کمی بیان ژن ها، بر روی cDNA ساخته شده واکنش real-time QRT-PCR با دستگاه QuantStudio 7 Flex (Stratagene, USA) و کیت SYBR@ Premix Ex Taq™ II انجام شد. برای ارزیابی کار در این مرحله ژن β -Actin (جدول ۱) به عنوان ژن Housekeeping بررسی شد. واکنش RT-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن Bak (Invitrogen, USA) (جدول ۱، Meng et al., 2023) و مخلوط واکنش Power SYBR green PCR master mix

نام ژن	توالی پرایمر (5'-3')
β -Actin-Forward	CTGACGTCCACCCTGACT
β -Actin-Reverse	GGCAGCTATGTGAGAGCC
Bak-Forward	CATCCCCACCCTCATCC
Bak-Reverse	CTACCCCAAACCCT

جدول ۱. توالی پرایمر ژن β -Actin بعنوان ژن Housekeeping و ژن Bak بعنوان مارکر آپاتوزیس

گردید اما در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری افزایش معناداری ($P < 0/001$) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده گردید. در گروه های تجربی ۳ و ۴ افزایش معناداری (به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/001$) در سطح فعالیت GPX در مقایسه با گروه تجربی ۱ مشاهده گردید.

سطح محتوای آنتی اکسیدانی GSH در که در گروه تجربی ۱ دریافت کننده ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم استات سرب کاهش معناداری ($P < 0/0001$) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده گردید اما در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری افزایش معناداری ($P < 0/001$) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده گردید. در گروه های تجربی ۳ و ۴ افزایش

تجزیه و تحلیل آماری

داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey انجام شد و $P < 0/05$ معیار معناداری در نظر گرفته شده است.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده های مربوط به سطح فعالیت GPX نشان داد که در گروه تجربی ۱ دریافت کننده ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم استات سرب کاهش معناداری ($P < 0/001$) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده

عصاره آبی-تانولی برگ گیاه جعفری اختلاف معناداری ($P > 0.05$) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده نگردید. در گروه های تجربی ۳ و ۴ کاهش معناداری (به ترتیب $P < 0.01$ و $P < 0.001$) در سطح بیان ژن *Bak* در مقایسه با گروه تجربی ۱ مشاهده گردید.

معناداری (به ترتیب $P < 0.01$ و $P < 0.001$) در سطح محتوای GSH در مقایسه با گروه تجربی ۱ مشاهده گردید. سطح بیان ژن *Bak* در گروه تجربی ۱ دریافت کننده ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم استات سرب کاهش معناداری ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده گردید اما در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

گروه ها	GPX (U/gr)	GSH (μmol)	Bak (ng/ml)
کنترل	۱۲۴/۳±۱۱/۸۲	۲۵۸/۳±۱۷/۳	۰/۸۳۴±۰/۰۶
شاهد	۱۰۶/۵±۵/۴۳۹	۲۳۷/۵±۲۱/۰۹	۰/۹۸۳±۰/۰۳
تجربی ۱	۵۴/۴±۱۰/۲*	۷۲/۲۵±۱۳/۴۲**	۲/۷۲±۰/۱۵*
تجربی ۲	۲۷۸±۱۲/۰۲*	۴۱۷/۸±۱۱/۸۱*	۰/۷۲۳۳±۰/۱
تجربی ۳	۱۷۲/۷±۳/۶۶۷#	۱۶۸±۹/۷۸۳###	۲/۰۵۳±۰/۱۸###
تجربی ۴	۲۳۱/۸±۸/۰۶۶###	۲۵۳/۷±۲۱/۷۳####	۱/۱۲۸±۰/۰۵####

جدول ۲. مقایسه میانگین و انحراف معیار سطوح گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX)، گلوکوتاتیون (GSH) و ژن *Bak* در گروه های مختلف نشان داده شده است. * ($P < 0.01$) و ** ($P < 0.001$): اختلاف معنادار بین گروه تجربی ۱ و ۲ با گروه کنترل. # ($P < 0.05$): اختلاف معنادار بین گروه تجربی ۳ با گروه تجربی ۱. ### ($P < 0.01$), #### ($P < 0.001$) و ##### ($P < 0.0001$): اختلاف معنادار بین گروه تجربی ۳ و ۴ با گروه تجربی ۱.

بحث

GSH مانند GPX تأثیر بگذارد (Lopes et al., 2016). هر چند برخی از مطالعات نشان می دهند که ممکن است سرب بر محتوای GSH و فعالیت GSH تأثیری نداشته باشد (Annabi Berrahal et al., 2007) با این حال مطالعات دیگر نشان می دهند که سرب بر محتوای و فعالیت هر دو فاکتور تأثیر گذار باشد (Lopes et al., 2016) که با نتایج این مطالعه نیز منطبق است. ثابت شده است که مسمومیت با سرب می تواند ساختار و عملکرد بافت کبد را مختل کند (Singh et al., 2013; Suganthi et al., 2013;) (Haouem et al., 2013). اختلال در عملکرد بافت کبد با این واقعیت منطبق است که سرب باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت های کبدی می شود، زیرا باعث افزایش مالون دی آلدهید و کاهش محتوای گلوکوتاتیون سلول های

مواجهه می محیطی و شغلی با سرب می تواند اثرات نامطلوبی بر بافتهای مختلف بدن مانند کبد بگذارد (Elrasoul et al., 2020). نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز سرب در موشهای صحرائی نر بالغ باعث اختلال در بیان ژن *Bak* و همچنین کاهش محتوای گلوکوتاتیون (GSH) و آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) در کبد می شود. پیشنهاد شده است که احتمالاً سرب از طریق دو مسیر مجزا و مرتبط می تواند استرس اکسیداتیو را آغاز کند: (۱) کاهش آنزیم های آنتی اکسیدانی و (۲) افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) (Ponce-Canchihuamán et al., 2010). استرس اکسیداتیو یکی از برجسته ترین اثرات سمی سرب است که می تواند بر سطوح GSH و فعالیت آنزیم های مرتبط با

مرگ میتوکندری را با آزادسازی سیتوکروم C و سایر عوامل فعال می کند که کاسپازهای موثر پایین دست را برای القای آپوپتوزیس سلولهای کبدی فعال می کند (Amir et al., 2013). گزارش شده است که tBid می تواند فعالسازی Bak را تحریک کند (Gu et al., 2005). فعال شدن Bak می تواند نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری را در حین آپوپتوزیس با تشکیل منافذ در غشاء برای آزادسازی عوامل آپوپتوزیک که سلول را متعهد به مرگ می کند هماهنگ کند. بنابراین Bak به عنوان یک نقطه بدون بازگشت در آبشار آپوپتوزیس عمل می کند (Azad & Storey, 2013).

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز همزمان عصاره آبی الکلی برگ گیاه جعفری و سرب در موشهای صحرائی نر بالغ موجب کاهش بیان ژن Bak در بافت کبد گردید. همچنین تجویز عصاره در موشهای صحرائی تیمار شده با سرب موجب افزایش محتوای GSH و فعالیت GPPX گردید. بسیاری از مطالعات نشان داده اند که گیاه جعفری حاوی فلاونوئیدهای آپیژنین است. آپیژنین متعلق به زیرگروه فلاون ها از فلاونوئیدها است و در عصاره برگ جعفری به وفور یافت می شود که دارای طیف گسترده ای از فعالیت های بیولوژیکی از جمله اثرات ضد سرطانی، ضد ویروسی، ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است. این فعالیت های بیولوژیکی مربوط به توزیع درون سلولی و برهمکنش آن با چندین هدف بیولوژیکی است (Takrooni et al., 2019; Sharma et al., 2014). عصاره گیاه جعفری یک جمع کننده ROS است و پتانسیل تخریب استرس اکسیداتیو را دارد (Roshankhah et al., 2019). گزارش شده است که عصاره صمغ گیاه جعفری می تواند از مرگ سلولی و ایجاد

کبدی می شود و به طور مشابه باعث کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز، GPX و سوپراکساید دیسموتاز می شود (Alhusaini et al., 2019; Elrasoul et al., 2020; Lopes et al., 2016). سرب می تواند با افزایش تولید رادیکالهای سوپراکسید و پراکسید هیدروژن موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و اختلال در فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی در سلول های کبدی شود که در نهایت باعث ایجاد تولید سیتوکین های پیش التهابی مانند اینترلوکین-1 (IL-1)، اینترلوکین-6 (IL-6) و فاکتور نکروز دهنده ی تومور آلفا (TNF- α) و شروع فرآیندهای التهابی در بافت کبد می شود (Gao et al., 2011; Núñez, 2006; Sirivarasai et al., 2013; Valentino et al., 2007). سایتوکاین های پیش التهابی مانند TNF- α ممکن است از طریق فعالسازی مسیر پیام رسانی آبشار کاسپاز به بافت های کبدی آسیب برسانند (Orning & Lien, 2021). مطالعات نشان می دهند که سرب می تواند باعث افزایش caspase-8 در سیتوزول شود که متعاقباً می تواند محرک فعال شدن caspase-3 و در نهایت آپوپتوزیس شود (Orning & Lien, 2021). Caspase-3 می تواند در سلول های آپوپتوتیک یا توسط محرک های بیرونی، از جمله سرب، یا عوامل درونی القاء کننده استرس میتوکندری فعال شود و نقش مهمی در آپوپتوزیس سلول ایفا کند (Elrasoul et al., 2020). در برخی شرایط پاتوفیزیولوژیک، مانند آسیب کبدی ناشی از سموم، فعال شدن مسیر مرگ TNF- α رخ می دهد که در طی آن آغازگر caspase-8 فعال می شود سپس، caspase-8 می تواند به طور پروتئولیتیکی Bid را به Bid کوتاه یا tBid برش دهد. جابجایی میتوکندریایی tBid مسیر

استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز والپروات سدیم جلوگیری کند (Jassim, 2013). به نظر می‌رسد که عصاره گیاه جعفری تولید سوپراکسید ناشی از سیانید را کنترل می‌کند (Wong & Kitts, 2006). این عصاره می‌تواند اثرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داده و تولید ROS را کاهش دهد (Petrolini *et al.*, 2013). نشان داده شده است که استفاده از روغن برگ گیاه جعفری در موشهای صحرایی که با تتراکلرید کربن تیمار شده اند موجب افزایش قابل توجه GSH و GPX و کاهش مالون دی‌آلدهید کبدی می‌شود. به نظر می‌رسد اثرات محافظتی برگ گیاه جعفری بر کبد به دلیل محتوای آنتی‌اکسیدانی و اثرات حذف‌کنندگی ROS آن باشد (Khalil *et al.*, 2015). مطابق با مطالعات پیشین، مطالعه ما نشان داد که تیمار موشهای صحرایی با سرب باعث کاهش محتوای GSH و تغییر در فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی GPX گردید با این حال تجویز عصاره آبی الکلی برگ گیاه جعفری این روند را معکوس نمود و موجب بهبود و افزایش فعالیت GSH و GPX به ویژه در دوز حداکثر (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) گردید. نتایج ما نشان می‌دهد که تأثیر عصاره آبی الکلی برگ گیاه جعفری بصورت وابسته به دوز می‌باشد.

گزارش شده است که تجویز همزمان عصاره برگ گیاه جعفری با سیلکلوپورین A باعث بهبود سطح caspase-3 در بافت کلیه موش‌های صحرایی می‌شود. می‌توان بیان کرد که عصاره برگ گیاه جعفری محافظت قابل توجهی در برابر آسیب DNA کلیوی ناشی از سیلکلوپورین A و آپوپتوزیس ایجاد می‌کند (Takrooni *et al.*, 2019). بطور مشابه نشان داده شده است که فلاونوئید گیاهی آپیزنین

(ماده اصلی تشکیل‌دهنده گیاه جعفری) می‌تواند به بازهای آلی نوکلئیک اسید متصل شود و آسیب اکسیداتیو DNA در سلول‌های اپیتلیال پروستات را کاهش دهد (Sharma *et al.*, 2014). این یافته‌ها نشان می‌دهد که گیاه جعفری آسیب DNA را سرکوب می‌کند و نقش ضد آپوپتوزیسی در سلول‌های کلیه دارد (Takrooni *et al.*, 2019).

عملکرد اصلی اکثر فلاونوئیدهای موجود در گیاهان دارویی مانند آپیزنین، توانایی آنها در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی است. در مطالعه‌ای که بر تأثیر آپیزنین بر آسیب اکسیداتیو ناشی از پراکسید هیدروژن بر رده استئوبلاست موش (MC3T3-E1) انجام گرفت نشان داده شده که آپیزنین می‌تواند مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با بقای سلولی را افزایش دهد و در مقابل بیان ژنهای مرتبط با التهاب را کاهش دهد. همچنین آپیزنین توانست بیان ژنهای مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند GPX و سوپراکساید دیسموتاز را افزایش دهد (Jung, 2014). مطالعات قبلی نشان می‌دهند که گیاهان دارویی می‌توانند ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند، ROS را سرکوب می‌کنند و از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌نمایند. نشان داده شده است که در موشهایی که بطور تجربی به هیپراورسمی مبتلا شده‌اند تجویز گیاه جعفری موجب کاهش سیتوکین‌های التهابی IL-1 β و TNF- α ، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم و بهبود تغییرات پاتولوژیک گردید (Soliman *et al.*, 2020). بطور مشابه نشان داده شده است که تجویز متوتروکسات در موش‌های صحرایی باعث افزایش سیتوکین‌های پیش‌التهابی IL-1 β و TNF- α در بافت کبد گردید اما در مقابل تجویز عصاره گیاه جعفری موجب کاهش واکنش‌های التهابی گردید و از آسیب

مرتبط با آپاپتوزیس می گردد. در مقابل، تجویز عصاره برگ گیاه جعفری با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در موش های صحرایی نر بالغ تیمار شده با سرب موجب افزایش محتوای GSH و GPX و همچنین کاهش بیان *Bak* در مدت ۲۱ روز در بافت کبد گردید که نشان دهنده کاهش استرس اکسیداتیو و آپاپتوزیس است. تأثیر عصاره در دوز حداکثر (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیشتر بود که نشان می دهد اثرات محافظتی عصاره بصورت وابسته به دوز است. به نظر می رسد عصاره گیاه برگ جعفری به دلیل دارا بودن ویژگی های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی می تواند از آپاپتوزیس القا شده توسط سرب جلوگیری نماید بنابراین پیشنهاد می گردد که این گیاه می تواند بعنوان یک مکمل غذایی در افرادی که در معرض سرب قرار دارند در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم می دانند از تمام افرادی که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی نمایند.

تضاد منافع

تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

اکسیدان در بافت کبد جلوگیری نمود (Ertas *et al.*, 2021). ثابت شده است که تیمار با آپیزنین از آپوتوزیس ناشی از TNF- α به روشی وابسته به دوز جلوگیری می نماید. درمان با آپیزنین همچنین افزایش فعالیت caspase-3 ناشی از TNF- α را کاهش می دهد. از آنجا که caspase-8 می تواند بعنوان محرک و فعالساز caspase-3 عمل نماید و همچنین caspase-8 بعنوان فعالساز tBid می باشد و tBid نیز به نوبه خود محرک *Bak* می باشد این داده ها نشان می دهد که آپیزنین، آپوتوزیس ناشی از TNF- α را از طریق مهار مسیر آپوتوزیس وابسته به کاسپاز کاهش می دهد (Fu *et al.*, 2014; Gu *et al.*, 2005). مطابق با نتایج ما، تجویز عصاره برگ گیاه جعفری باعث کاهش سطح بیان *Bak* و در نتیجه آپاپتوزیس گردید که مطابق با مطالعات فوق است.

نتیجه گیری

تجویز سرب با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم در موشهای صحرایی نر بالغ موجب کاهش محتوای GSH و GPX و همچنین افزایش بیان *Bak* در مدت ۲۱ روز گردید که نشان دهنده افزایش استرس اکسیداتیو و آپاپتوزیس در بافت کبد است. به نظر می رسد سرب با افزایش استرس اکسیداتیو و واکنش های التهابی در بافت کبد موجب افزایش بیان ژنهای

References

Abd Eldaim MA., Barakat ER., Alkafafy M. and Elaziz SAA. Antioxidant and anti-apoptotic prophylactic effect of silymarin against lead-induced hepatorenal toxicity in rats. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021; 28(41): 57997-58006. doi: 10.1007/s11356-021-14722-8.

Akıncı A., Eşrefoğlu M., Taşlıdere E. and Ateş B. Petroselinum crispum is effective in reducing stress-induced gastric oxidative damage. *Balkan Med J*, 2017; 34(1): 53-59. doi: 10.4274/balkanmedj.2015.1411.

- Alhusaini AM., Faddah LM., Hasan IH., Jarallah SJ., Alghamdi SH., Alhadab NM., et al. Vitamin C and turmeric attenuate Bax and Bcl-2 proteins' expressions and DNA damage in lead acetate-induced liver injury. *Dose-Response*, 2019; 17: 1559325819885782. doi: 10.1177/1559325819885782.
- Amir M., Zhao E., Fontana L., Rosenberg H., Tanaka K., Gao G., et al. Inhibition of hepatocyte autophagy increases tumor necrosis factor-dependent liver injury by promoting caspase-8 activation. *Cell Death Differ*, 2013; 20(7): 878-87. doi: 10.1038/cdd.2013.21.
- Annabi Berrahal A., Nehdi A., Hajjaji N., Gharbi N. and El-Fazâa S. Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. *C R Biol*, 2007; 330(8): 581-8. doi: 10.1016/j.crv.2007.05.007.
- Azad A. and Storey A. BAK multimerization for apoptosis, but not bid binding, is inhibited by negatively charged residue in the BAK hydrophobic groove. *Mol Cancer*, 2013 19; 12:65. doi: 10.1186/1476-4598-12-65.
- Elrasoul ASA., Mousa AA., Orabi SH., Mohamed MAE., Gad-Allah SM., Almeer R., et al. Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects of *Azolla pinnata* ethanolic extract against lead-induced hepatotoxicity in rats. *Antioxidants (Basel)*, 2020 19; 9(10): 1014. doi: 10.3390/antiox9101014.
- Ertas B., Turan FB., Ozbeyli D., Yanardag R., Sacan O. and Sener G. Protective effects of petroselinum crispum (parsley) extract against methotrexate-induced hepatotoxicity. *Eur J Biol*, 2021; 80(2): 173-178. doi: 10.26650/EurJBiol.2021.1023136.
- Fu MS., Zhu BJ. and Luo DW. Apigenin prevents TNF- α induced apoptosis of primary rat retinal ganglion cells. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2014; 60(4): 37-42.
- Gao B., Seki E., Brenner DA., Friedman S., Cohen JL., Nagy L., et al. Innate immunity in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011; 300: G516-G525. doi: 10.1152/ajpgi.00537.2010.
- Gu Q., Wang JD., Xia HH., Lin MC., He H., Zou B., et al. Activation of the caspase-8/Bid and Bax pathways in aspirin-induced apoptosis in gastric cancer. *Carcinogenesis*, 2005; 26(3): 541-6. doi: 10.1093/carcin/bgh345.
- Haouem S., Chargui I., Najjar MF., Sriha B. and El Hani A. Liver function and structure in rats treated simultaneously with cadmium and mercury. *Open J Pathol*, 2013; 3: 26-31. doi: 10.4236/ojpathology.2013.31005.
- Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew BB. and Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol*, 2014; 7(2): 60-72. doi: 10.2478/intox-2014-0009.
- Jassim AM. Protective effect of *Petroselinum crispum* (parsley) extract on histopathological changes in liver, kidney and pancreas induced by Sodium Valproate-In male Rats. *Kufa J Vet Sci*, 2013; 4: 20-7.
- Ji J., Yu Q., Dai W., Wu L., Feng J., Zheng Y., et al. Apigenin alleviates liver fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and autophagy via TGF- β 1/Smad3 and p38/PPAR α pathways.

- PPAR Res, 2021; 2021: 6651839. doi: 10.1155/2021/6651839.
- Jung WW. Protective effect of apigenin against oxidative stress-induced damage in osteoblastic cells. *Int J Mol Med*, 2014; 33(5): 1327-34. doi: 10.3892/ijmm.2014.1666.
- Khalil AF. and El Mehairy HF. Protective effect of peppermint and parsley leaves oils against hepatotoxicity on experimental rats. *Annals Agric Sci*, 2015; 60(2): 353-359. doi.org/10.1016/j.aogas.2015.11.004.
- Kim DW., Ock J., Moon KW. and Park CH. Association between Pb, Cd, and Hg exposure and liver injury among Korean adults. *Int J Environ Res Public Health*, 2021; 18(13): 6783. doi: 10.3390/ijerph18136783.
- Lopes ACBA., Peixe TS., Mesas AE. and Paoliello MMB. Lead exposure and oxidative stress: a systematic review. *Rev Environ Contam Toxicol*, 2016; 236: 193e238.
- Meng L., Qi Y., DU K. and Zhang X. LNC01296 regulates apoptosis genes Birc2 and Bak1 by targeting miRNA-29c and participates in neuroprotection during cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Turk Neurosurg*, 2023; 33(1): 39-45. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.36564-21.1.
- Menglan S., Fading P., Zehui P., Watson MF., Cannon JFM., Holmes-Smith I., et al. *Apiaceae (Umbelliferae)*. *Flora of China*, 2005; 14: 1-205.
- Núñez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: Incidence, mechanisms and management. *J Hepatol*, 2006; 44: S132-S139. doi: 10.1016/j.jhep.2005.11.027.
- Orning P. and Lien E. Multiple roles of caspase-8 in cell death, inflammation, and innate immunity. *J Leukoc Biol*, 2021; 109(1): 121-141. doi: 10.1002/JLB.3MR0420-305R.
- Ozsoy-Sacan O., Yanardag R., Orak H., Ozgey Y., Yarat A. and Tunali T. Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 2006; 104(1-2): 175-81.
- Petrolini FV., Lucarini R., de Souza MG., Pires RH., Cunha WR. and Martins CH. Evaluation of the antibacterial potential of *Petroselinum crispum* and *Rosmarinus officinalis* against bacteria that cause urinary tract infections. *Braz J Microbiol*, 2013; 44: 829-34.
- Pirooty S. and Ghasemzadeh M. Toxic effects of Lead on different organs of the human body. *KAUMS Journal (FEYZ)*, 2013; 16(7): 761-2.
- Ponce-Canchihuamán JC., Pérez-Méndez O., Hernández-Muñoz R., Torres-Durán PV. and Juárez-Oropeza MA. Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. *Lipids Health Dis*, 2010; 9: 35. doi: 10.1186/1476-511X-9-35.
- Roshankhah S., Jalili C. and Salahshoor MR. The effects of *Petroselinum crispum* extract on milk production parameters in female rats. *SJKU*, 2019; 24: 11-23.
- Schoeters G., Hond ED., Dhooge W., Larebeke NV. and Leijs M. Endocrine disruptors and abnormalities of pubertal development. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2008; 102: 168-175.

- Sharma H., Kanwal R., Bhaskaran N. and Gupta S. Plant flavone apigenin binds to nucleic acid bases and reduces oxidative DNA damage in prostate epithelial cells. *PLoS One*, 2014; 9(3): e91588. doi: 10.1371/journal.pone.0091588.
- Singh R., Kumar S., Rana AC. and Sharma N. Different models of hepatotoxicity and related liver diseases: A review. *Int Res J Pharm*, 2012; 3: 86-95.
- Sirivarasai J., Wananukul W., Kaojarern S., Chanprasertyothin S., Thongmung N., Ratanachaiwong W., et al. Association between inflammatory marker, environmental lead exposure, and glutathione S-transferase gene. *Biomed Res Int*, 2013; 2013. doi: 10.1155/2013/474963.
- Soliman MM., Nassan MA., Aldhahrani A., Althobaiti F. and Abdou Mohamed W. Molecular and histopathological study on the ameliorative impacts of petroselinum crispum and apium graveolens against experimental hyperuricemia. *Sci Rep*, 2020; 10: 9512. doi.org/10.1038/s41598-020-66205-4.
- Suganthi V., Gowri S. and Gurusamy K. Hepatoprotective activity of Cayratia carnosia on liver damage caused by lead acetate in rats. *Sch Res Lib*, 2013; 3: 76-79.
- Takrooni WA., Sharaf IA. and Abdul Majid NA. Assessment of the potential role of parsley (*Petroselinum Crispum*) leaves extract in ameliorating cyclosporin a-induced nephrotoxicity in rats. *Int J Pharm Res Allied Sci*, 2019; 8(2): 118-128.
- Tang EL., Rajarajeswaran J., Fung S. and Kanthimathi MS. *Petroselinum crispum* has antioxidant properties, protects against DNA damage and inhibits proliferation and migration of cancer cells. *J Sci Food Agric*, 2015; 95(13): 2763-71. doi: 10.1002/jsfa.7078.
- Thangarajan S., Vedagiri A., Somasundaram S., Sakthimanogaran R. and Murugesan M. Neuroprotective effect of morin on lead acetate-induced apoptosis by preventing cytochrome c translocation via regulation of Bax/Bcl-2 ratio. *Neurotoxicol Teratol*, 2018; 66: 35-45.
- Valentino M., Rapisarda V., Santarelli L., Bracci M., Scorcelletti M., Di Lorenzo L., et al. Effect of lead on the levels of some immunoregulatory cytokines in occupationally exposed workers. *Hum Exp Toxicol*, 2007; 26: 551-556. doi: 10.1177/0960327107073817.
- Wang J., Zhu H., Yang Z. and Liu Z. Antioxidative effects of hesperetin against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Indian J Pharmacol*, 2013; 45(4): 395-8. doi: 10.4103/0253-7613.115015.
- Wani AL., Ara A. and Usmani JA. Lead toxicity: a review. *Interdiscip Toxicol*, 2015; 8(2): 55-64. doi: 10.1515/intox-2015-0009.
- Wong PY. and Kitts DD. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chem*, 2006; 97: 505-15.
- Wu X., Cobbina SJ., Mao G., Xu H., Zhang Z. and Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ Sci Pollut Res*, 2016; 23: 8244-8259. doi: 10.1007/s11356-016-6333-x.



Effect of Aqueous-Ethanollic Extract of Parsley Leaves (*Petroselinum crispum*) on Antioxidant Content and *Bak* Gene Expression in Liver Tissue of Rats Treated with Lead Acetate

Fatemeh Bastampoor¹, Seyed Ebrahim Hosseini^{1,2*}, Mehrdad Shariati¹, Mokhtar Mokhtari¹

¹Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

²Department of Biology, Faculty of Sciences, Zand Institute of Higher Education, Shiraz, Iran

Received: 31/May/2022

Revised: 11/July/2022

Accepted: 03/Aug/2022

Abstract

Background and aim: Heavy metals such as lead have negative effects on different tissues of the body. The aim of this study was to evaluate the aqueous-ethanollic extract of parsley leaves (*Petroselinum crispum*) on the antioxidant content of glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GPX) and the expression of the *Bak* gene as an active gene in the apoptosis pathway in the liver tissue of adult male rats.

Materials and Methods: Rats were randomly divided into 6 groups of 10 including control, Sham, experimental1 (20 mg/kg lead acetate), experimental2 (200 mg/kg extract), experimental3 (20 mg/kg lead acetate and 100 mg/kg extract) and experimental4 (20 mg/kg lead acetate and 200 mg/kg extract) were divided. The length of the study period in all groups was 21 days. At the end of the study, blood samples were taken to measure GSH and GPX and liver tissue samples were taken to evaluate *Bak* gene by real time-PCR method.

Results: Lead acetate decreased the antioxidant content of GSH and GPX in rats and in contrast increased the expression of *Bak* gene. Administering aqueous-ethanollic extract of parsley leaves in rats treated with lead acetate, increased the antioxidant content of GSH and GPX and decreased *Bak* gene expression.

Conclusion: Lead acetate has negative effects on liver tissue by reducing the antioxidant content and increasing the expression of apoptosis genes. However, it seems that the aqueous-ethanollic extract of parsley leaves with antioxidant effects can counteract the harmful effects of lead acetate and improve the antioxidant content and modulate the genes involved in the apoptosis of rat liver tissue.

Keywords: Apoptosis, Parsley, Glutathione, Lead, Rat

Cite this article as: Fatemeh Bastampoor, Seyed Ebrahim Hosseini, Mehrdad Shariati, Mokhtar Mokhtari. Effect of aqueous-ethanollic extract of parsley leaves (*Petroselinum crispum*) on antioxidant content and *Bak* gene expression in liver tissue of rats treated with lead acetate. J Altrn Vet Med. 2022; 5(15): 667-880.

* Corresponding Author

Department of Biology, Faculty of Sciences, Zand Institute of Higher Education, Shiraz, Iran.

E-mail: ebrahim.hosseini@yahoo.com, Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5347-1824>