مجله طب دامپزشکی جایگزین | زمستان ۱۴۰۱ |دوره ۵ | شماره ۱۵

مقاله پژوهشی

JOAVM
Journal of
Alternative Veterinary Medicine
joavm.kazerun.iau.ir

Islamic Azad University
Kazerun Branch
Fars, Iran

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

فاطمه بسطام پور[۱]، سید ابراهیم حسینی[۲،۱*]، مهرداد شریعتی[۱]، مختار مختاری[۱]

[۱]گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

[۲]گروه 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 تاثیرات منفی بر بافتهای مختلف بدن دارند. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر 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 آپاپتوزیس در بافت کبد موشهای صحرایی نر بالغ تیمار شده با استات سرب انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: موشهای صحرایی بصورت تصادفی در ۶ گروه ۱۰ تایی شامل گروه‌های کنترل، شاهد، تجربی ۱ (۲۰ mg/kg استات سرب)، تجربی۲ (۲۰۰ mg/kg عصاره)، گروه تجربی۳ (۲۰ mg/kg استات سرب و ۱۰۰ mg/kg عصاره) و تجربی۴ (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 صحرایی کاهش داد و در مقابل بیان ژن *Bak* را افزایش داد. تجویز عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری در موشهای تیمار 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 آپاپتوزیس بر بافت کبد تاثیرات منفی دارد. با این حال بنظر می‌رسد عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری با تاثیرات آنتی اکسیدانی می‌تواند با تاثیرات مضر استات سرب مقابله کند و موجب بهبود محتوای آنتی اکسیدانی و تعدیل ژنهای درگیر در آپاپتوزیس بافت کبد موشهای صحرایی شود.

واژه‌های کلیدی: *آپاپتوزیس، جعفری، گلوتاتیون، سرب، موش صحرایی*

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

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، موسسه آموزش عالی زند، شیراز، ایران.

Orcid: https://orcid.org/ 0000-0001-5347-1824 ،Email: ebrahim.hossini@yahoo.com

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

مقدمه

عناصری که وزن مخصوص آنها بیش از پنج برابر وزن مخصوص آب باشد مانند سرب، جیوه، قلع، آرسنیک، کروم وآهن جزء عناصر سنگین محسوب می شوند. این عناصر تجزیه نمی شوند و پایدارند، بنابراین با گذشت زمان بر محیط زیست و موجودات زنده تاثیر منفی می گذارند (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 سوخت های فسیلی، پسماندهای صنعتی به همراه فرآیندهای طبیعی مانند فعالیت های آتش فشانی، هوازدگی و فرسایش خاک از مهمترین دلایل انتشار و تجمع فلزات سنگین در محیط می باشند. جذب پوستی، استشمام 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 می شوند که مکانیسم بسیاری از آنها تاکنون مشخص نشده است. با این حال به نظر می رسد افزایش استرس اکسیداتیو مهمترین مکانیسمی است که از طریق آن فلزات سنگین سمیت خود را القا می کنند (Wu *et al.,* 2016). استرس اکسیداتیو با تولید رادیکالهای آزاد مانند گونه های فعال اکسیژن موجب عدم تعادل در سیستم آنتی اکسیدانی/اکسیدانی می شود (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 می تواند 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 و یا تنفس جذب شده است می تواند در بافت های نرم تجمع یابد. استخوان ها و خون به ترتیب حاوی ۹۰ و ۴ درصد کل سرب بدن هستند. باقی مانده سرب عمدتا در کبد و کلیه ها یافت می شود. کبد و کلیه ها نقش عمده ای در دفع سرب دارند و بنابراین، هدف مناسبی برای اعمال سمی سرب به شمار می روند (Wang *et al.,* 2013). سمیت سرب به طور عمده مربوط به تاثیر آن بر سیستم های آنزیمی سلول ها است که منجر به اختلالات بیوشیمیایی می شود. مطالعات نشان داده است که سرب می تواند سیگنال های درون سلولی بین سلول های کوپفر و هپاتوسیت ها را تحریک کند. چندین مطالعه نشان داده اند 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 گرفته اند، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش سطح گلوتاتیون (GSH) و کاهش فعالیت GSH پراکسیداز (GPX) مشاهده شده است (Wang *et al.,* 2013). همچنین مطالعات دیگر نشان می دهند که سرب می تواند 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).

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

امروزه از گیاهان دارویی برای محافظت از بافتهای مختلف بدن و بویژه کبد، در برابر سمیت ناشی از فلزات سنگین مانند سرب استفاده می شود زیرا نشان داده شده است که محصولات طبیعی با منشاء گیاهی از طریق پتانسیل‌های آنتی‌اکسیدانی قوی خود، فعالیت محافظتی بالایی را از خود نشان می دهند (Abd Eldaim *et al.,* 2021). ترکیبات گیاهی با خواص آنتی اکسیدانی به محافظت از سلول ها و بافت ها در برابر اثرات مضر گونه های اکسیژن و دیگر رادیکال های آزاد کمک می کنند. فلاونوئیدها فراوان ترین آنتی اکسیدان ها 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 می باشد. جعفری گیاهی غنی از ویتامین ها و عناصر معدنی مختلف است. به نظر می رسد ویژگیهای درمانی این گیاه به دلیل ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، لوتئولین، آپی ژنین، کاروتنوئیدها، توکوفرول و کومارین در این گیاه باشد. مطالعات نشان می دهند که ترکیبات موجود در عصاره جعفری دارای اثرات ضد التهابی، ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی است. گیاه جعفری غنی از فلاونوییدها و ویتامین هایی است که آنتی اکسیدان های مؤثری در خنثی کردن گونه های فعال اکسیژن و دیگر رادیکالهای آزاد را دارد (Tang *et al.,* 2015; Menglan *et al.,* 2005). مطالعات نشان می دهند که عصاره دی کلرومتان گیاه جعفری می تواند از آسیب DNA ناشی از تجویز H_2O_2 در موشهای صحرایی جلوگیری کند و ظرفیت آنتی اکسیدانی را افزایش دهد. همچنین به نظر می رسد 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 می تواند با حذف رادیکال های آزاد هیدروکسیل ($^{\cdot}OH$) پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش دهد و همچنین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی GSH و GPX را افزایش دهد (Akıncı *et al.,* 2017). با توجه به اینکه امرزوه 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 گونه ای که بسیاری از فعالیتهای فیزیولوژیک بدن را تحت تاثیر قرار می گیرد لذا این مطالعه با هدف تاثیر عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) بر محتوای آنتی اکسیدانی (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- مداخله ای بود از ۶۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰±۱۸۰ 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 قفس هایی از جنس پلی کربنات با ابعاد ۳۰×۲۵×۱۵ سانتی متر با سقف مشبک از جنس استیل نگهداری شدند. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت ۷۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات در تمام طول مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.کلیه اصول اخلاقی

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد با 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 تجربی۲ عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند. حیوانات گروه تجربی۳، 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 تجربی۴، 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 میلی‌لیتری 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 آسپیره 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، LDL، HDL، 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 (کیازیست پیشرو، 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 درصورت پایین آمدن حلال، مجددا به آن حلال اضافه گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت، عصاره رقیق گیاه جعفری آماده شد. به منظور آماده سازی، عصاره با اتانول۷۰ 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).

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

سنجش سطح گلوتاتیون و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز

سطح گلوتاتیون و فعالیت گلوتاتیون 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 گلوتاتیون پراکسیداز در طول موج ۳۴۰ نانومتر و برای سنجش گلوتاتیون 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 ۰/۵گرم از پودر استات سرب با ترازویی به دقت ۰/۰۰۱ وزن گردید و در یک ظرف مدرج قرار داده شد، سپس صد میلی‌لیتر 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 بالایی 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 حدود۱ 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 DEPCبه 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

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

رونویسی معکوس، به منظور تکثیر قطعه مورد نظر و ارزیابی کمی بیان ژن ها، بر روی cDNA ساخته شده واکنش real-time QRTPCR با دستگاه QuantStudio 7 Flex QRT-PCR (Stratagene, USA) و کیت SYBR@ Premix Ex TaqTM 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 (Stratagene, USA) با استفاده از دستگاه Real-time PCR system step one plus (Applied Biosystems, UK) طی برنامه ای شامل یک چرخه دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه، یک چرخه شامل 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 ۳۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. میانگین CT ها با استفاده از $2^{-\Delta CT}$ محاسبه شد.

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

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

تجزیه و تحلیل آماری

داده ها به صورت میانگین±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<۰/۰۵ 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<۰/۰۰۱) 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<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده گردید. در گروه های تجربی ۳ و ۴ افزایش معناداری (به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۰۱) 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<۰/۰۰۰۱) 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<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده گردید. در گروه های تجربی ۳ و ۴ افزایش

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

معناداری (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۰۱) 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<۰/۰۰۱) 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 اختلاف معناداری (P>۰/۰۵) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده نگردید. در گروه های تجربی ۳ و ۴ کاهش معناداری (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) در سطح بیان ژن *Bak* در مقایسه با گروه تجربی ۱ مشاهده گردید.

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 ٤	۲۳۱/۸±۸/۰۶۶##	۲۵۳/۷±۲۱/۷۳####	۱/۱۲۸±۰/۰۵###

جدول ۲. مقایسه میانگین و انحراف معیار سطوح گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، گلوتاتیون (GSH) و ژن *Bak* در گروه های مختلف نشان داده شده است. * (P<۰/۰۰۱) و ** (P<۰/۰۰۰۱): اختلاف معنادار بین گروه تجربی ۱ و ۲ با گروه کنترل. # (P<۰/۰۵): اختلاف معنادار بین گروه تجربی ۳ با گروه تجربی ۱. ## (P<۰/۰۱)، ### (P<۰/۰۰۱) و #### (P<۰/۰۰۰۱): اختلاف معنادار بین گروه تجربی ۳ و ۴ با گروه تجربی ۱.

بحث

مواجههی 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 صحرایی نر بالغ باعث اختلال در بیان ژن *Bak* و همچنین کاهش محتوای گلوتاتیون (GSH) و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در کبد می شود. پیشنهاد شده است که احتمالا 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 برجسته‌ترین اثرات سمی سرب است که می تواند بر سطوح GSH و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با GSH مانند GPX تاثیر بگذارد (Lopes *et al.*, 2016). هرچند برخی از مطالعات نشان می دهند که ممکن است سرب بر محتوای GSH و فعالیت GSH تاثیری نداشته باشد (Annabi Berrahal *et al.*, 2007) با این حال مطالعات دیگر نشان می دهند که سرب بر محتوای و فعالیت هر دو فاکتور تاثیر 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 عمکرد 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 گلوتاتیون سلول های

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

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 آنتی‌اکسیدانی در سلول های کبدی شود که در نهایت باعث ایجاد تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین-۱ (IL-1)، اینترلوکین-۶ (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). سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند TNF-α ممکن است از طریق فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی آبشار کاسپاز به بافت‌های کبدی آسیب برسانند (Orning & Lien, 2021). مطالعات نشان می دهند که سرب می تواند باعث افزایش caspase-8 در سیتوزول شود که متعاقبا می تواند محرک فعال شدن caspase-3 و در نهایت آپاپتوزیس شود (Orning & Lien, 2021).

Caspase-3می 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 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 آپوپتوژنیک 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 صحرایی نر بالغ موجب کاهش بیان ژن *Bak* در بافت کبد گردید. همچنین تجویز عصاره در موشهای صحرایی تیمار شده با سرب موجب افزایش محتوای GSH و فعالیت GPPX گردید. بسیاری از مطالعات نشان داده اند که گیاه جعفری حاوی فلاوونوئیدهای آپیژنین است. آپیژنین متعلق به زیرگروه فلاون ها از فلاوونوئیدها 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 کننده‌ی 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

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

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 می تواند اثرات آنزیم های آنتی اکسیدانی 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 دی آلدهید کبدی می شود. به نظر می رسد اثرات محافظتی برگ گیاه جعفری بر کبد به دلیل محتوای آنتی اکسیدانی و اثرات حذف کنندگی 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 آنتی اکسیدانی 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 میلی گرم بر کیلوگرم) گردید. نتایج ما نشان می دهد که تاثیر عصاره آبی الکلی برگ گیاه جعفری بصورت وابسته به دوز می باشد.

گزارش شده است که تجویز همزمان عصاره برگ گیاه جعفری با سیلکلوسپورین A باعث بهبود سطح caspase-3 در بافت کلیه موش های صحرایی می شود. می توان بیان کرد که عصاره برگ گیاه جعفری محافظت قابل توجهی در برابر آسیب DNA کلیوی ناشی از سیلکلوسپورین A و آپوپتوزیس ایجاد می کند (Takrooni *et al.*, 2019). بطور مشابه نشان داده شده است که فلاوونوئید گیاهی آپیژنین (ماده اصلی تشکیل دهنده گیاه جعفری) می تواند به بازهای آلی نوکلئیک اسید متصل شود و آسیب اکسیداتیو DNA در سلول های اپیتلیال پروستات را کاهش دهد (Sharma *et al.*, 2014). این یافته ها نشان می دهد که گیاه جعفری آسیب DNA را سرکوب می کند و نقش ضد آپوپتوزیسی در سلول های کلیه دارد (Takrooni *et al.*, 2019). عملکرد اصلی اکثر فلاونوئیدهای موجود در گیاهان دارویی مانند آپیژنین، توانایی آنها در از بین بردن رادیکال های آزاد و افزایش فعالیت های آنتی اکسیدانی است. در مطالعه ای که بر تاثیر آپیژنین بر آسیب اکسیداتیو ناشی از پراکسید هیدروژن بر رده استئوبلاست موش (MC3T3-E1) انجام گرفت نشان داده شده که آپیژنین می تواند مسیرهای سیگنال دهی مرتبط با بقای سلولی را افزایش دهد و در مقابل بیان ژنهای مرتبط با التهاب را کاهش دهد. همچنین آپیژنین توانست بیان ژنهای مرتبط با آنزیمهای آنتی اکسیدانی مانند GPX و سوپراکساید دیسموتاز را افزایش دهد (Jung, 2014). مطالعات قبلی نشان می دهند که گیاهان دارویی می توانند ظرفیت کل آنتی اکسیدانی را افزایش دهند، ROS را سرکوب می کنند و از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری می نمایند. نشان داده شده است که در موشهایی که بطور تجربی به هیپراوریسمی مبتلا شده اند تجویز گیاه جعفری موجب کاهش سیتوکین های التهابی IL-1β و TNF-α، افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سرم و بهبود تغییرات پاتولوژیک گردید (Soliman *et al.*, 2020). بطور مشابه نشان داده شده است که تجویز متوتروکسات در موش های صحرایی باعث افزایش سیتوکین های پیش التهابی IL-1β و TNF-α در بافت کبد گردید اما در مقابل تجویز عصاره گیاه جعفری موجب کاهش واکنش های التهابی گردید و از آسیب

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

اکسیدان در بافت کبد جلوگیری نمود (Ertas *et al.*, 2021). ثابت شده است که تیمار با آپیژنین از آپوپتوزیس ناشی از TNF-α به روشی وابسته به دوز جلوگیری می نماید. درمان با آپیژنین همچنین افزایش فعالیت caspase-3 ناشی از TNF-αرا 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 داده‌ها نشان می دهد که آپیژنین، آپوپتوزیس ناشی از TNF-α را از طریق مهار مسیر آپوپتوزیس وابسته به کاسپاز کاهش می‌دهد (Fu *et al.*, 2014; Gu *et al.*, 2005). مطابق با نتایج ما، تجویز عصاره برگی 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 صحرای 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 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. تاثیر 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 منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

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.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

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.crvi.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 JI., 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-β1/Smad3 and p38/PPARα pathways.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

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.aoas.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.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

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.

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 carnosa 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

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]

JOAVM
Journal of
Alternative Veterinary Medicine
joavm.kazerun.iau.ir

Research Article

Islamic Azad University
Kazerun Branch
Fars, Iran

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

Fatemeh Bastampoor[1], Seyed Ebrahim Hosseini[1,2*], Mehrdad Shariati[1], Mokhtar Mokhtari[1]

[1]Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
[2]Department 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-ethanolic 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-ethanolic 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-ethanolic 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-ethanolic 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.hossini@yahoo.com, Orcid: https://orcid.org/0000-0001-5347-1824

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2022.5.15.2.8]