



# تأثیر عصاره آبی-اتanolی بر 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<sup>۱</sup>، سید ابراهیم حسینی<sup>\*۲۱</sup>، مهرداد شریعتی<sup>۱</sup>، مختار مختاری<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

<sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، موسسه آموزش عالی زند، شیراز، ایران

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

## چکیده

**ذمینه و هدف:** فلزات سنگین مانند سرب تاثیرات منفی بر بافت‌های مختلف بدن دارند. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره آبی-اتanolی بر 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 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 (۲۰۰ mg/kg استات سرب)، تجربی ۲ (۲۰۰ mg/kg عصاره)، گروه تجربی ۳ (۲۰۰ mg/kg استات سرب و ۱۰۰ mg/kg عصاره) و تجربی ۴ (۲۰۰ 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-اتanolی بر 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 آپاتوزیس بر بافت کبد تاثیرات منفی دارد. با این حال بنظر می‌رسد عصاره آبی-اتanolی بر گیاه جعفری با تاثیرات آنتی اکسیدانی می‌تواند با تاثیرات ضرر استات سرب مقابله کند و موجب بهبود محتوای آنتی اکسیدانی و تعدیل ژنهای در گیر در آپاتوزیس بافت کبد موشهای صحرایی شود.

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

فاطمه بسطام پور، سید ابراهیم حسینی، مهرداد شریعتی، مختار مختاری. تأثیر عصاره آبی-اتanolی بر 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(۵): 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](mailto:ebrahim.hossini@yahoo.com)

## مقدمه

(Wani *et al.*, 2015). اکثر شرکت‌های داروسازی حداکثر مصرف روزانه سرب را ۰/۱ میکروگرم در گرم تعیین کردند، اما مصرف طولانی مدت حتی این میزان پایین سرب Pirooty & نیز برای انسان خطرناک است (Ghasemzadeh, 2013; Schoeters *et al.*, 2008 سربی که از طریق سیستم گوارشی و 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 عمده‌تا 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 تاثیر آن بر سیستم‌های آنزیمی سلول‌ها است که منجر به اختلالات بیوشیمیایی می‌شود. مطالعات نشان داده است که سرب می‌تواند سیگنانل‌های درون سلولی بین سلول‌های کوپیر و هپاتوцит‌ها 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). غشاء سلولی هدف آسیب اکسیداتیو تولید شده توسط یگانه‌بیوتیک‌ها 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 ییان ژنهای مرتبط با آپاتوزیس مانند Caspase-3 را در بافت کبد افزایش دهد و Abd Eldaim *et al.*, 2021 موجب تغییر ساختار بافت کبد شود ().

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 تاثیر منفی می‌گذارند (Jaishankar *et al.*, 2014). توسعه صنعتی منجر به افزایش چندین برابری آلودگی محیط توسط فلزات سنگین شده است. استفاده از سوم دفع آفات در کشاورزی، استخراج از معادن، مصرف سوخت‌های فسیلی، پسماندهای صنعتی به همراه فرآیندهای طبیعی مانند فعالیت‌های آتش فشانی، هوازدگی و فرسایش خاک از مهمترین دلایل انتشار و تجمع فلزات سنگین در محیط می‌باشد. جذب پوستی، استشمام و بلع مسیرهای اصلی ورود عناصر سنگین به بدن انسان است (Kim *et al.*, 2021). این فلزات حتی در مقداری 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 آنتی اکسیدانی/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

بودن ترکیبات فتلی فراوان بتواند از استرس اکسیداتیو طولانی مدت و آپاتوزیس جلوگیری کند (Tang *et al.*, 2015). گزارش شده است که جعفری می تواند با حذف رادیکال های آزاد هیدروکسیل (OH) پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش GSH و دهد و همچنین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (Akincı *et al.*, 2017) را افزایش دهد (Akincı *et al.*, 2017). با توجه به اینکه امرزوه آلدگیهای محیط زیستی مانند آلدگی هوا و همچنین آلدگی مواد غذایی به فلزات سنگین افزایش یافته است و بافت های مختلف بدن و بویژه کبد در معرض مسمومیت با این فلزات قرار دارند به گونه ای که بسیاری از فعالیتهای فیزیولوژیک بدن را تحت تأثیر قرار می گیرد لذا این مطالعه با هدف تأثیر عصاره آبی-اتانولی برگ گیاه جعفری (Petroselinum crispum) بر محتوای آنتی اکسیدانی (GPX و GSH) و یان ژن Bak (Bak) بعنوان یک ژن فعال در مسیر آپاتوزیس 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  $۱۸۰\pm ۲۰$  گرم و سن ۳-۲/۵ 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  $۱۵\times ۲۵\times ۳۰$  سانتی متر با سقف مشبك از جنس استیل نگهداری شدند. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای  $۲۲\pm ۲$  درجه سانتی گراد و رطوبت ۷۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات در تمام طول مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. کلیه اصول اخلاقی

امروزه از گیاهان دارویی برای محافظت از بافت های 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 پتانسیل های آنتی اکسیدانی 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 سال های اخیر به دلیل فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی و محافظتی از کبد، توجه زیادی را به خود جلب کرده اند (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، لوئٹولین، آبی ژنین، کاروتونوئیدها، 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 فلاونوئیدها 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

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، HDL، LDL، کراتینین و BUN با استفاده از کیت شرکت GSH سازنده (پارس آزمون، ایران) و همچنین سطح فعالیت GPX با استفاده از کیت شرکت سازنده (کیازیست پیشرو، ایران) و براساس دستور العمل آن اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری سطح ییان 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-اتanolی پودر گیاه جعفری طی مدت ۲۴ ساعت در ظرفی به صورت قطره قطره جمع گردید. در طول مدت عصاره گیری در صورت 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 اتانول ۷۰ درصد مخلوط شد و سپس عصاره رقیق گیاه با استفاده از دستگاه روتاری خشک و تغليظ گردید (Ozsoy-Sacan *et al.*, 2006). تعیین دوز عصاره آبی-اتanolی برگ گیاه جعفری براساس مطالعات قبلی انجام شد (Takrooni *et al.*, 2019).

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 کاملاً 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-اتanolی 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-اتanolی 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-اتanolی 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

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 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 اسپکتروفوتومتری با استفاده از دستگاه بیوفوتومتری جذب نوری رقت معینی از نمونه با استفاده از دستگاه بیوفوتومتر در طول موج ۲۶۰ نانومتر خوانده شد. RNA تهیه شده برای سنتر cDNA استفاده شد. همچنین به منظور اطمینان از کنترل کمیت RNA تهیه شده، با استفاده از تکنیک اسپکتروفوتومتری 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

## سنچش 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 سنچش، 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 سنچش سطح کاتالاز در دمای ۸۰-۳۴۰ نانومتر. برای سنچش گلوتاتیون پراکسیداز 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 ۱۰/۰۰۱ 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).

## سنچش 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 ورتكس شد و

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 شامل دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. یک چرخه ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. میانگین CT ها با استفاده از  $\Delta^{CT}$  محاسبه شد.

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

نام ژن	توالی پرایمر (۳'-۵')
$\beta$ -Actin-Forward	CTGACGTCCACCCCTGACT
$\beta$ -Actin-Reverse	GGCAGCTATGTGAGAGCC
Bak-Forward	CATCCCCACCCTCATCC
Bak-Reverse	CTACCCCAAACCCCT

جدول ۱. توالی پرایمر ژن  $\beta$ -Actin به عنوان ژن Housekeeping و ژن Bak به عنوان ژن آپاتوزیس

گردید اما در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره آبی-اتanolی 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 کیلو گرم 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 کیلو گرم عصاره آبی-اتanolی 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

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 کیلو گرم استات سرب کاهش معناداری ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد مشاهده

عصاره آبی-اتانولی 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 کیلو گرم 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 کیلو گرم

گروه ها	GPX (U/gr)	GSH ( $\mu\text{mol}$ )	Bak (ng/ml)
کنترل	$124/3 \pm 11/82$	$258/3 \pm 17/3$	$0/834 \pm 0/06$
شاهد	$106/5 \pm 5/439$	$237/5 \pm 21/09$	$0/983 \pm 0/03$
تجربی ۱	$54/4 \pm 10/2^*$	$72/2 \pm 13/42^{**}$	$2/72 \pm 0/15^*$
تجربی ۲	$278 \pm 12/02^*$	$417/8 \pm 11/81^*$	$0/7233 \pm 0/1$
تجربی ۳	$172/7 \pm 3/667^{\#}$	$168 \pm 9/783^{##}$	$2/053 \pm 0/18^{##}$
تجربی ۴	$231/8 \pm 8/066^{###}$	$253/7 \pm 21/73^{####}$	$1/128 \pm 0/05^{####}$

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

.(Lopes *et al.*, 2016) GSH مانند GPX تاثیر بگذارد (Annabi Berrahal *et al.*, 2007) هر چند برخی از مطالعات نشان می دهند که ممکن است سرب بر محتوای GSH و فعالیت GSH تاثیری نداشته باشد (Singh *et al.*, 2013; Suganthi *et al.*, 2013; ) (Haouem *et al.*, 2013) اختمال در عمکرد بافت کبد با این واقعیت منطبق است. ثابت شده است که مسمومیت با سرب می تواند ساختار و عملکرد بافت کبد را مختل کند (Ponce-Canchihuamán *et al.*, 2010) (ROS) استرس اکسیداتیو یکی از برجسته ترین اثرات سرب است که می تواند بر سطوح GSH و فعالیت آنزیم های مرتبط با

## بحث

مواجهه‌ی محیطی و شغلی با سرب می تواند اثرات نامطلوبی بر بافت‌های مختلف بدن مانند کبد بگذارد (Erasoul *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 فعل اکسیژن (Ponce-Canchihuamán *et al.*, 2010) (ROS) استرس اکسیداتیو یکی از برجسته ترین اثرات 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 Amir *et al.*, 2013 آپاتوزیس سلولهای کبدی فعال می کند (2013). گزارش شده است که tBid می تواند فعالسازی Bak را تحريك کند (Gu *et al.*, 2005). فعال شدن Bak می تواند نفوذپذیری غشاء خارجی میتوکندری را در حین آپاتوزیس با تشکیل منافذ در غشاء برای آزادسازی عوامل آپوتورزینیک که سلول را متعهد به مرگ می کند همانگونه کند. بنابراین Bak به عنوان یک نقطه بدون بازگشت در Azad & Storey, 2013 آبشار آپاتوزیس عمل می کند (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 فلاونوئیدهای آپیئنین است. آپیئنین 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 سلطانی، 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 Takrooni *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2014 یکی است. 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 Alhusaini *et al.*, 2019; Elrasoul *et al.*, 2020; Lopes *et al.*, 2016 سرب می تواند با افزایش تولید رادیکال های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و اختلال در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در سلول های کبدی شود که در نهایت باعث ایجاد تولید سیتوکین های IL-6 (پیش التهابی مانند اینتلولوکین-1 (IL-1)، اینتلولوکین-6 (TNF- $\alpha$ ) و فاکتور نکروز دهنده ی تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) و شروع فرآیندهای التهابی در بافت کبد می شود (Gao *et al.*, 2011; Núñez, 2006; Sirivarasai *et al.*, 2013; Valentino *et al.*, 2007 مانند TNF- $\alpha$  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 محرك فعال شدن caspase-3 و در نهایت آپاتوزیس شود (Orning & Lien, 2021). Caspase-3 می تواند در سلول های آپوتورتیک یا توسط محرك های بیرونی، از جمله سرب، یا عوامل درونی القاء کننده استرس میتوکندری فعال شود و نقش مهمی در آپاتوزیس سلول ایفا کند (Elrasoul *et al.*, 2020). در برخی شرایط پاتوفیزیولوژیک، مانند آسیب کبدی ناشی از TNF- $\alpha$  سوم، فعال شدن مسیر مرگ رخ می دهد که در طی آن آغازگر caspase-8 فعال می شود سپس، caspase-8 می تواند به طور پروتولیتیکی Bid را به Bid کوتاه یا tBid برش دهد. جابجایی میتوکندریایی tBid مسیر

(ماده اصلی تشکیل دهنده گیاه چعفری) 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 چعفری 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 دهنند که گیاهان دارویی می توانند ظرفیت کل آنتی اکسیدانی را افزایش دهنند، 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 هیبروریسمی مبتلا شده اند تجویز گیاه چعفری موجب کاهش سیتوکین های التهابی IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$ ، افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سرم و بهبود تغییرات پاتولوژیک گردید (Soliman *et al.*, 2020). بطور مشابه نشان داده شده است که تجویز متتروکسات در موش های صحرایی باعث افزایش سیتوکین های پیش التهابی IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$  در بافت کبد گردید اما در مقابل تجویز عصاره گیاه چعفری موجب کاهش واکنش های التهابی گردید و از آسیب

استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز والپروات سدیم جلوگیری کند (Jassim, 2013). به نظر می رسد که عصاره گیاه چعفری تولید سوپراکسید ناشی از سیانید را کنترل می کند آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داده و تولید ROS را کاهش دهد (Wong & Kitts, 2006). (Petrolini *et al.*, 2013). نشان داده شده است که استفاده از روغن برگ گیاه چعفری در موشهای صحرایی که با تتراکلرید کربن تیمار شده اند موجب افزایش قابل توجه GSH و GPX و کاهش مالون دی آلدھید کبدی می شود. به نظر می رسد اثرات محافظتی برگ گیاه چعفری بر کبد به دلیل محتوای آنتی اکسیدانی و اثرات حذف کنندگی 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 چعفری این روند را معکوس نمود و موجب بهبود و افزایش فعالیت GPX و GSH به ویژه در دوز حداقل (۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) گردید. نتایج ما نشان می دهد که تاثیر عصاره آبی الکلی برگ گیاه چعفری بصورت وابسته به دوز می باشد.

گزارش شده است که تجویز همزمان عصاره برگ گیاه چعفری با سیلکللوسپورین A باعث بهبود سطح caspase-3 در بافت کلیه موش های صحرایی می شود. می توان بیان کرد که عصاره برگ گیاه چعفری محافظت قابل توجهی در برابر آسیب DNA کلیوی ناشی از سیلکللوسپورین A و آپوپتوزیس ایجاد می کند (Takrooni *et al.*, 2019). بطور مشابه نشان داده شده است که فلاونوئید گیاهی آپیژنین

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 حداقل (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

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

### تضاد منافع

تضاد منافعی بین نویسندهای و وجود ندارد.

Ertas *et al.*, 2021 ثابت شده است که تیمار با آپیژنین از آپاپتوزیس ناشی از TNF- $\alpha$  به روشهای وابسته به دوز جلوگیری می نماید. درمان با آپیژنین همچنین افزایش فعالیت caspase-3 ناشی از TNF- $\alpha$  را کاهش می دهد. از آنجا که caspase-8 می تواند بعنوان محرك و فعالساز caspase-3 عمل نماید و همچنین tBid caspase-8 بعنوان فعالساز tBid می باشد و نیز به نوبه خود محرك Bak می باشد این داده ها نشان می دهد که آپیژنین، آپاپتوزیس ناشی از TNF- $\alpha$  را از طریق Fu مهار مسیر آپاپتوزیس وابسته به کاسپاز کاهش می دهد (Gu *et al.*, 2005; Gu *et al.*, 2014). 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 موشهاي 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

### 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.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- $\alpha$  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- $\beta$ 1/Smad3 and p38/PPAR $\alpha$  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.aaos.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 Leijls 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., Wanakul 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 carcosa 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., Scorcetelli 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-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<sup>1</sup>, Seyed Ebrahim Hosseini<sup>1,2\*</sup>, Mehrdad Shariati<sup>1</sup>, Mokhtar Mokhtari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

<sup>2</sup>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 Altnr 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](mailto:ebrahim.hossini@yahoo.com), Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5347-1824>