



Original Paper

Evaluation of Hepatotoxicity of *Alpinia officinarum* Rhizomes Aqueous Extract in Male Wistar Rats

Vakil Nadimi¹ , Shohreh Taziki (Ph.D)^{*2,3}

Fatemeh Kolangi (M.D)^{4,5} , Mohammad Mazandarani (Ph.D)⁶ , Zahra Memariani (M.D)^{7,8}

¹ Medical Student, Ischemic Disorders Research Center, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ² Assistant Professor, Ischemic Disorders Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ³ Assistant Professor, Department of Pharmacology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ⁴ Assistant Professor, Counseling and Reproductive Health Research Centre, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ⁵ Assistant Professor, Department of Traditional Medicine, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ⁶ Associate Professor, Faculty of Fisheries and Environment, Golestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. ⁷ Assistant Professor, Traditional Medicine and History of Medicine Science Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. ⁸ Assistant Professor, Department of Traditional Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

Abstract

Background and Objective: The liver is the main organ involved in the metabolism of various drugs and toxins. Thus, it is highly vulnerable to damage caused by drugs and toxins. *Alpinia officinarum* belongs to the *Ginger* family and has been used in traditional Iranian medicine for its therapeutic effects on the digestive system, including strengthening the function of the stomach and organs, improving digestion and reducing bloating. In addition, the plant has anti-hyperlipidemic, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial, anticancer and antioxidant properties. This study investigated the hepatotoxic effects of *Alpinia officinarum* rhizomes aqueous extract in male Wistar rats.

Methods: This experimental study was performed on 35 male Wistar rats that were randomly allocated into 5 groups of 7. Four groups received 100, 200, 400 and 800 mg/kg of the extract for 28 days, while a group did not receive the extract (control group). Tissue sections (5 microns) were stained by hematoxylin and eosin at the pharmacology laboratory of Golestan University of Medical Sciences. The groups were examined for liver tissue pathology, and the level of liver enzymes including aspartate aminotransferase (AST), alanine transaminase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) was measured by Pars Azmoun ELISA kit.

Results: Administration of the aqueous extract of *Alpinia officinarum* rhizome for 28 days by gavage increased the level of AST, ALT and ALP in the serum of rats. Tissue damage was observed in most groups receiving the extract.

Conclusion: The results show that consumption of the aqueous extract of *Alpinia officinarum* rhizome at a dose of more than 100 mg/kg can cause liver damage and is lethal at a dose of 800 mg/kg.

Keywords: *Alpinia*, Liver, Aspartate Aminotransferase, Alanine Transaminase, Alkaline Phosphatase, Rats

*Corresponding Author: Shohreh Taziki (Ph.D), E-mail: dr_sh_taziki@yahoo.com

Received 22 Sep 2021

Final Revised 12 Jun 2022

Accepted 14 Jun 2022

Published Online 26 Dec 2022

Cite this article as: Nadimi V, Taziki S, Kolangi F, Mazandarani M, Memariani Z. [Evaluation of Hepatotoxicity of *Alpinia officinarum* Rhizomes Aqueous Extract in Male Wistar Rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2022; 24(3): 34-40. [Article in Persian]





تحقیقی

سمیت کبدی عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان (*Alpinia officinarum*)

در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار

وکیل ندیمی^۱، دکتر شهره تازیکی*^{۲،۳}، دکتر فاطمه کلنگی^۴، دکتر محمد مازندرانی^۶، دکتر زهرا معماریانی^{۵،۷}

^۱ دانشجوی رشته پزشکی، مرکز تحقیقات اختلالات ایسکمیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۲ استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۳ استادیار، مرکز تحقیقات اختلالات ایسکمیک، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۴ استادیار، گروه طب سنتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۵ دانشجوی رشته پزشکی، مرکز تحقیقات اختلالات ایسکمیک، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ^۶ استادیار، مرکز تحقیقات طب سنتی و تاریخ علوم پزشکی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. ^۷ استادیار، گروه طب سنتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: کبد اصلی‌ترین ارگان دخیل در متابولیسم انواع داروها و سموم است. یکی از عوارض محتمل در مصرف بی‌رویه گیاهان دارویی بروز آسیب کبدی است. گیاه خولنجان (*Alpinia officinarum*) دارای خواص بیولوژیک مختلفی از جمله اثرات آنتی‌هایپرلیپیدمیک، ضدالتهاب، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد سرطان و آنتی‌اکسیدان است. این مطالعه به منظور تعیین سمیت کبدی عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان در موش‌های صحرائی نر انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۵ گروه ۷ تایی شامل گروه کنترل و چهار گروه تجربی تقسیم شدند. عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به مدت ۴ هفته گاوژ شد. پس از ۲۸ روز نمونه‌های بافت کبد با ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش رنگ‌آمیزی H&E بررسی شدند. آنزیم‌های کبدی اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) با کیت شرکت پارس آزمون ارزیابی شدند.

یافته‌ها: سطح آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری یافت ($P < 0.05$). آسیب‌های بافتی در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان مشاهده شد و بیشترین آسیب کبدی شامل دژتره شدن گسترده هپاتوسیت‌ها و نکروز هپاتوسیت‌های کبدی در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مصرف عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز بیش از ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌تواند سبب آسیب کبدی شود و در دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مرگ‌آور است.

واژه‌های کلیدی: گیاه خولنجان، کبد، اسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، موش صحرائی

* نویسنده مسؤل: دکتر شهره تازیکی، پست الکترونیکی dr_sh_taziki@yahoo.com

نشانی: گرگان، اول جاده قدیم گرگان به کردکوی، مجموعه آموزش عالی (شادروان فلسفی) دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، تلفن ۰۱۷-۳۲۴۵۱۶۶۳، شماره ۳۲۴۵۱۵۹۹

وصول ۱۴۰۰/۶/۳۱ اصلاح‌نهایی ۱۴۰۱/۳/۲۲ پذیرش ۱۴۰۱/۳/۲۴ انتشار ۱۴۰۱/۱/۰۵

مقدمه

خطرناک و حتی تهدیدکننده حیات باشد.^۲ از جمله عوارض محتمل در مصرف بی‌رویه گیاهان دارویی بروز آسیب کبدی است. کبد بزرگ‌ترین ارگان داخلی بدن بوده که واکنش‌های بیوشیمیایی وسیعی را انجام می‌دهد. کبد اصلی‌ترین ارگان دخیل در متابولیسم انواع داروها و سموم است.^۳ گیاه خولنجان با نام علمی *Alpinia officinarum* متعلق به خانواده زنجبیلیان بوده و در طب سنتی ایران کاربردهای درمانی زیادی دارد. از مهم‌ترین کاربردهای درمانی این گیاه در طب سنتی می‌توان به تقویت عملکرد معده و احشا، تقویت هاضمه و کاهش نفخ و درمان بی‌اختیاری ادرار و

در بسیاری از کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه تمایل برای استفاده از داروهای با منشأ گیاهی به جای داروهای با منشأ شیمیایی با تصور بی‌خطر بودن آنها رو به افزایش است.^۱ حال آن که این موضوع قطعیتی نداشته و در مورد تمامی داروهای با منشأ گیاهی بایستی تست‌های توکسیکولوژی انجام شود. بررسی مکانیسم اثر مواد موثره داروهای گیاهی و ارزیابی سمیت احتمالی یا اثبات عدم سمیت و ایمنی آنها بسیار مهم است. افزایش بی‌رویه استفاده از درمان‌های گیاهی بدون توجه به عوارض جانبی آنها می‌تواند

میانگین وزن ۱۷۰ گرم در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی گلستان طی سال ۱۴۰۰ انجام شد. مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی گلستان (IR.GOUMS.REC.1399.347) قرار گرفت.

در تمام مراحل انجام آزمایشها اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی مراعات گردید. موشهای صحرایی در شرایط استاندارد با دمای 32 ± 2 درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی در ۵ گروه ۷ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه کنترل: دریافت کننده آب و غذای استاندارد به مدت چهار هفته.

گروه اول تجربی: دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت چهار هفته.

گروه دوم تجربی: دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت چهار هفته.

گروه سوم تجربی: دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت چهار هفته.

گروه چهارم تجربی: دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت چهار هفته.

انتخاب دوزها با استناد به LD50 به دست آمده در مطالعه پایلوت انجام شد. پس از تایید اصالت ریزوم گیاه خولنجان خریداری شده توسط متخصص گیاهشناسی و بعد از ثبت و دریافت voucher Number، عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان (هرباریوم ۸۰۷۵) با روش زیر تهیه شد.

برای تهیه عصاره گیاهی، ۱۰۰۰ گرم از ریزوم گیاه خولنجان پودر شد و به آن آب مقطر اضافه گردید. سپس در حمام آب گرم با دمای ۶۰-۷۰ درجه سانتی گراد به طور غیرمستقیم به مدت یک ساعت حرارت داده شد. پس از سرد شدن، آن را صاف کرده و مایع حاصل تا رسیدن به عصاره خشک تغلیظ گردید.

موشها پس از ۲۸ روز با کتامین و زایلازین بیهوش؛ جراحی و خونگیری از قلب انجام شد.

پارامترهای بیوشیمیایی عملکرد کبد شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) با روش ذکر شده در کیت‌های شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپتروفوتومتر در آزمایشگاه فارماکولوژی دانشگاه علوم

تحریک قوای جنسی اشاره نمود.^۴ همچنین دارای اثرات آنتی‌هایپرلیپیدمیک، ضد التهاب، ضد ویروس، ضد باکتری، ضدسرطان و آنتی اکسیدان است. ترکیبات شیمیایی مهم شناخته شده در ریزوم این گیاه شامل سسکویی ترپن های هیدروکربنی و الکل‌های سسکویی ترپنی، دی آریل هپتانوئیدها، جینجرول (فیل آلکانون‌ها، ترکیبات تند)، فلاونوئیدها شامل گالانژین، گالانژین-۳-متیل اتر، کامپفول، کوئرستین و هفت فیل پروپانوئیدها است.^۵

دی آریل هپتانوئیدهای جداسازی شده از ریزوم خولنجان اثرات مختلفی را در مطالعات از جمله مهار ملانوزنر در سلول‌های ملانوما B16، القای آپوپتوز در سلول‌های نوروبلاستوما انسانی و اثرات سایتوتوکسیک نشان داده‌اند. همچنین در مطالعات به اثرات مهار بیان iNOS، مهار سیکلواکسیژناز و مهار بیوستنز پروستاگلاندین و لوکوترین‌ها و واسطه‌های التهابی توسط دی آریل هپتانوئیدهای حاصله از ریزوم خولنجان اشاره شده است.^۶

با توجه به اثرات فارماکولوژیک متعدد خولنجان، ممکن است در درمان‌های رایج طب سنتی به مدت طولانی و یا در دوزهای بالا مورد استفاده قرار گیرد. از سوی دیگر با توجه به این که نتایج کروماتوگرام عصاره ریزوم این گیاه بیانگر وجود مقادیر بالایی از فلاونوئیدهایی مانند کامپفول در این گیاه است؛ احتمال بروز آسیب کبدی وابسته به دوز با این گیاه وجود دارد.^۷

نتایج یک مطالعه نشان داد در تجویز خوراکی عصاره آبی خولنجان به موش‌های صحرایی با دوز ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۷ روز، هیچگونه مرگ و میری مشاهده نشد.^۸ در مطالعه Qureshi و همکاران گونه دیگر جنس *Alpinia* بررسی و اثر سمیت خوراکی حاد (۲۴ ساعت) و مزمن (۹۰ روز) عصاره ریزوم خولنجان کبیر (*Alpinia galanga*) و زردچوبه در موش بررسی شد. دوزهای سمیت حاد ۰/۵، ۱ و ۳ گرم بر کیلوگرم و دوز مزمن ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز بود و مرگ و میر قابل توجهی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد.^۹

در مطالعه دیگری سمیت حاد خوراکی و داخل صفاقی عصاره هگزانی ریزوم گیاه خولنجان کبیر ارزیابی شد. تجویز خوراکی دوز ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب مرگ و میر و تغییرات واضح در وضعیت حیاتی و شاخص‌های آزمایشگاهی در موش‌های صحرایی نژاد ویستار نسبت به گروه شاهد نگردید؛ ولی تجویز داخل صفاقی همان دوز بسیار سمی گزارش شد.^{۱۰} با توجه به عدم وجود مطالعات توکسیکولوژیک کافی در مورد گیاه خولنجان، این مطالعه به منظور تعیین سمیت کبدی عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان در موش‌های صحرایی نر انجام شد.

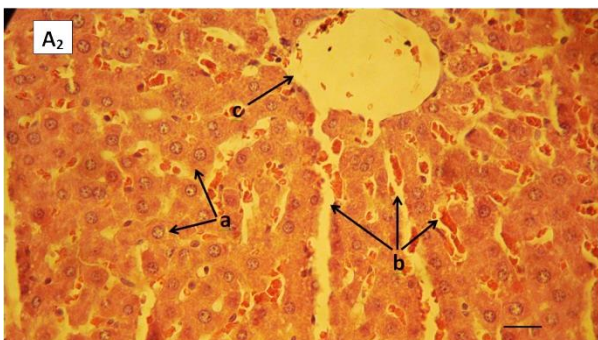
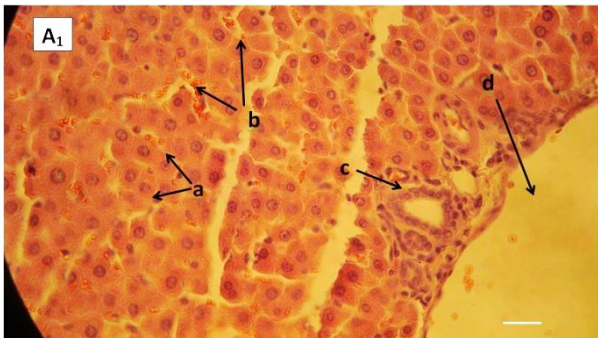
روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با

جدول ۱: مقادیر ALT، AST، و ALP موش‌های صحرایی دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان									
آزمایش‌های کبدی	گروه‌ها	موش ۱	موش ۲	موش ۳	موش ۴	موش ۵	موش ۶	موش ۷	میانگین و انحراف معیار
آسیب‌تات آمینوترانسفراز (AST)	کنترل	۲۲/۹	۱۷/۶	۲۴/۷	۱۸/۵	۱۴/۱	۱۷/۶	۱۴/۱	۴/۰۴±۱۸/۵
	تجربی اول	۴۰/۶	۵۶/۵	۵۳	۴۲/۴	۴۷/۷	۴۲/۴	۵۴/۸	۵۹/۶±۴۸/۳ *
	تجربی دوم	۷۴/۲	۵۱/۲	۸۶/۶	۵۱/۲	۶۳/۶	۵۴/۸	۵۸/۳	۱۳/۲۳±۶۲/۸۴ *
	تجربی سوم	۸۸/۴	۶۱/۸	۵۸/۳	۶۷/۱	۴۹/۵	۵۳	۷۴/۲	۱۳/۳۸±۶۴/۶۱ *
آلانین ترانسفراز (ALT)	کنترل	۱۲۲۵	۹۹	۱۰۷/۸	۲۶/۵	۲۱/۲	۲۳/۸	۱۷/۶	۷۷/۱۹±۴/۲۷
	تجربی اول	۵۳	۳۷/۱	۴۵/۹	۶۰	۳۸/۸	۳۷/۱	۵۶/۵	۴۶/۹۵±۹/۶۸ *
	تجربی دوم	۶۵/۴	۴۷/۷	۶۷/۱	۶۳/۶	۵۳	۴۷/۷	۴۹/۵	۵۶/۲۸±۸/۷۳ *
	تجربی سوم	۷۴/۲	۵۳	۵۸/۳	۴۵/۹	۶۳/۶	۶۸/۹	۵۳	۵۹/۵۵±۹/۹۳ *
آلکالین فسفاتاز (ALP)	کنترل	۱۶۵/۸	۲۷۶/۴	۲۷۹/۱	۲۵/۹	۳۸/۶	۳۵/۹	۴۶/۹	۴۰/۶۱±۵/۶۷
	تجربی اول	۵۵/۲	۵۲/۵	۶۰/۸	۱۲۹/۹	۱۴۰/۹	۱۴۰/۹	۶۶/۳	۸۸/۰۱±۳۷/۸۷
	تجربی دوم	۱۵۲	۷۱/۸	۱۶۰/۳	۶۳/۵	۷۱/۸	۷۱/۸	۵۸	۹۰/۷۷±۴۵/۰۸
	تجربی سوم	۱۵۴/۷	۱۶۰/۳	۱۰۷/۷	۹۱/۲	۶۹/۱	۱۹۰/۷	۱۳۸/۲	۱۳۰/۲۷±۴۲/۷۹ *
تجربی چهارم	۱۶۵/۸	۲۷۶/۴	۲۷۹/۱	۲۵/۹	۳۸/۶	۳۵/۹	۴۶/۹	۴۰/۶۱±۵/۶۷	

گروه کنترل: دریافت‌کننده آب و غذای استاندارد؛ گروه تجربی اول، دوم، سوم و چهارم به ترتیب دریافت‌کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاوآژ به مدت ۴ هفته. * اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل

دریافت‌کننده دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مشاهده شد (شکل‌های ۵-۱). شکل‌های ۱ و ۲ نرمال است. آسیب درجه یک، آسیب درجه دو و آسیب درجه سه به ترتیب در شکل‌های ۳ و ۴ و ۵ قابل مشاهده است.



شکل ۱: تصاویر آسیب‌شناسی بافت کبد گروه کنترل (بزرگ نمایی ۲۰۰)
 A1 - بافت کبد: هیپاتوسیت‌های نرمال (a)، فضای سینوزوئیدی همراه گلبول‌های قرمز (b)، مجرای صفراوی نرمال (c)، سیاهرگ مرکزی (d)
 A2 - بافت کبد: هیپاتوسیت‌های نرمال (a)، فضای سینوزوئیدی کبدی (b)، سیاهرگ مرکزی (c)

پزشکی گلستان اندازه‌گیری شدند. در نهایت بعد از جدا کردن کبد، تغییرات هیستوپاتولوژیک نمونه‌های بافت کبد با ضخامت ۵ میکرون به روش رنگ‌آمیزی H&E و تهیه لام، توسط متخصص پاتولوژیست حیوانی مورد بررسی قرار گرفتند.

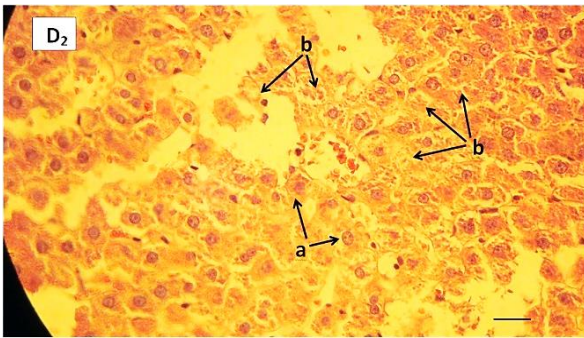
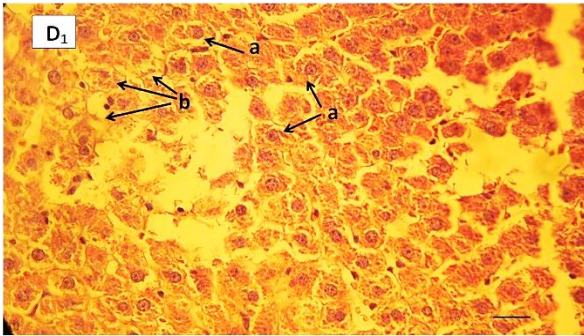
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-26 تجزیه و تحلیل شدند. در صورت همگون بودن داده‌ها از آزمون ANOVA و در صورت ناهمگون بودن داده‌ها از آزمون Welch و ارزیابی گروه‌ها از post Hoc test شامل Dunnett's T3 استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

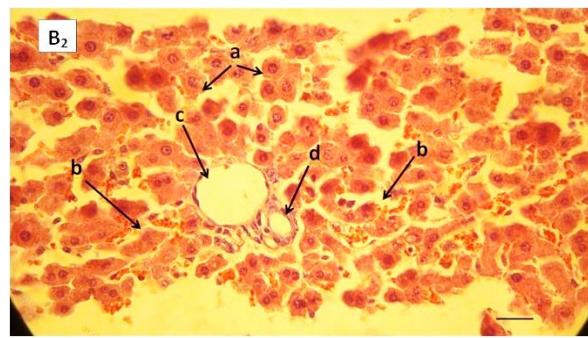
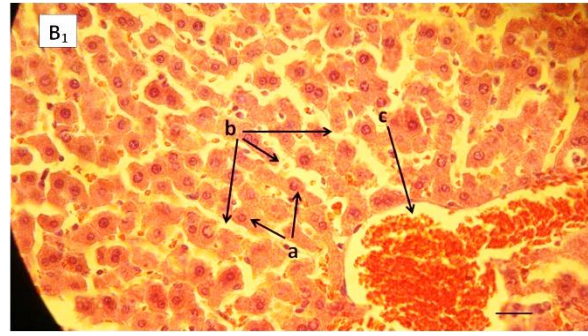
میزان AST و ALT سرم در همه گروه‌های تجربی به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت ($P < 0.05$) (جدول یک).

میزان ALP سرم فقط در گروه دریافت‌کننده دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان در مقایسه با گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) (جدول یک). بیش از نیمی از موش‌های دریافت‌کننده دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان تلف شدند. لذا میزان خطای تصادفی به دلیل تعداد کم نمونه افزایش یافت و به همین دلیل نتایج ALP معنی‌دار نبود.

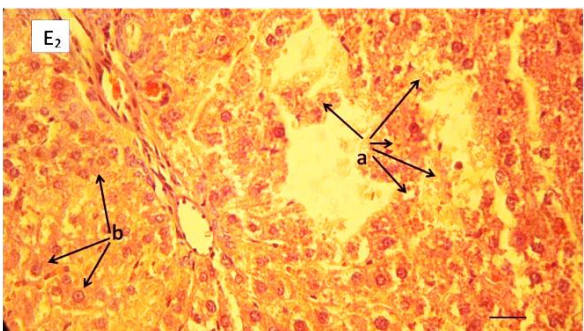
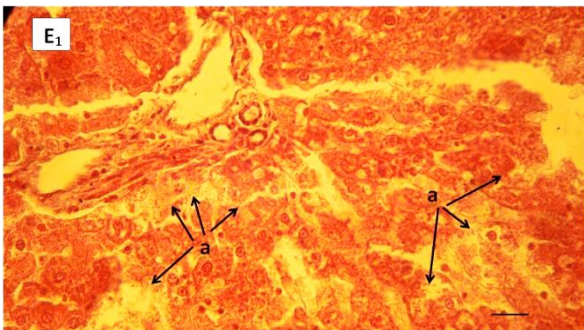
آسیب‌های بافتی در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان مشاهده شد و بیشترین آسیب کبدی شامل دژنه شدن گسترده هیپاتوسیت‌ها و نکروز هیپاتوسیت‌های کبدی در گروه‌های



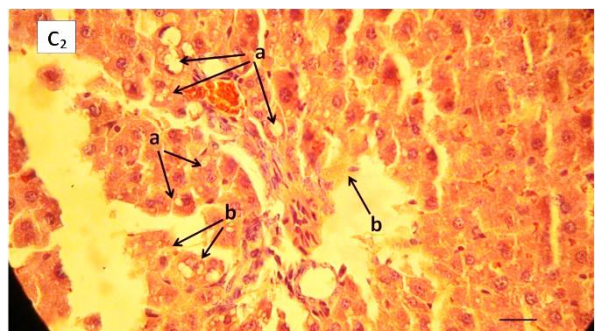
شکل ۴: تصاویر آسیب شناسی بافت کبد گروه تجربی سوم (دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت ۴ هفته)
 D1 - بافت کبد: دژتره شدن گسترده هیپاتوسیت‌های کبدی (a)، نکروز هیپاتوسیت‌های کبدی (b)
 D2 - بافت کبد: دژتره شدن گسترده هیپاتوسیت‌های کبدی (a)، نکروز هیپاتوسیت‌های کبدی (b)



شکل ۲: تصاویر آسیب شناسی بافت کبد گروه تجربی اول (دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت ۴ هفته)
 B1 - بافت کبد: هیپاتوسیت‌های نرمال (a)، فضای سینوزوئیدی کبدی نرمال (b)، سیاهرگ مرکزی (c)
 B2 - بافت کبد: هیپاتوسیت‌های نرمال (a)، فضای سینوزوئیدی کبدی نرمال (b)، سیاهرگ مرکزی (c)، مجرای صفراوی نرمال (d)



شکل ۵: تصاویر آسیب شناسی بافت کبد گروه تجربی چهارم (دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت ۴ هفته)
 E1 - بافت کبد: نکروز گسترده هیپاتوسیت‌های کبدی (a)
 E2 - بافت کبد: نکروز گسترده هیپاتوسیت‌های کبدی (a)، دژتره شدگی هیپاتوسیت‌های کبدی (b)



شکل ۳: تصاویر آسیب شناسی بافت کبد گروه تجربی دوم (دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت گاواژ به مدت ۴ هفته)
 C1 - بافت کبد: واکونوله شدن سیتوپلاسم هیپاتوسیت‌ها (a)
 C2 - بافت کبد: واکونوله شدن سیتوپلاسم هیپاتوسیت‌ها (a)، دژتره شدگی هیپاتوسیت‌های کبدی (b)

بحث

Alpinia officinarum پرداخته شده است؛ مقادیر بالای کامپفرول در این عصاره شناسایی گردید.^۵ همچنین نتیجه مطالعه دیگری نشان داد که کامپفرول سبب آسیب به DNA و تشدید لیپید پراکسیداسیون در هپاتوسیت‌های موش‌های صحرایی می‌شود.^{۱۱} یافته‌های مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که آسیب‌های سلولی به دنبال تجویز عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان رخ داده است که نتایج مطالعات پیشین^{۱۲} با مطالعه حاضر مطابقت دارد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده سمیت سلولی این عصاره به صورت بررسی استرس اکسیداتیو در سلول‌های کبدی و نیز بررسی پتانسیل غشای میتوکندری، لیپیدپراکسیداسیون و سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن در هپاتوسیت‌ها مورد ارزیابی قرار گیرند. زیرا تمام یافته‌های مطالعه ما حاکی از سمیت سلولی وابسته به دوز ناشی از این عصاره بود.

نتایج مطالعه کنونی بیانگر احتمال بروز آسیب کبدی در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و بیشتر است. با توجه به این که ماکزیمم دوز مصرفی در انسان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن است؛ توصیه می‌شود مطالعات بعدی به منظور بررسی هپاتوتوکسیسیته در انسان با دوز کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن انجام شود. با توجه به اثرات آسیب کبدی این عصاره در موش‌های صحرایی، بهتر است تا انجام مطالعات انسانی، مصرف آن در بین بیماران مبتلا به بیماری‌های زمینه‌ای کبد محدود شود. با توجه این که این عصاره می‌تواند اثراتی بر سایر ارگان‌ها به ویژه کلیه‌ها داشته باشد؛ توصیه می‌شود مطالعه‌ای با حجم نمونه بیشتر و با ارزیابی همزمان آسیب کبدی و کلیوی انجام گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان با دوز بیش از ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌تواند سبب آسیب کبدی شود و در دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مرگ آور است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه آقای وکیل ندیمی برای اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته پزشکی عمومی (شماره ۱۰۲۲ - پ ۱۸۰۸) از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. بدین وسیله از همه همکاران گرامی شاغل در آزمایشگاه فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی گلستان سپاسگزاری می‌گردد. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

1. Yang B, Xie Y, Guo M, Rosner MH, Yang H, Ronco C. Nephrotoxicity and Chinese Herbal Medicine. Clin J Am Soc Nephrol. 2018 Oct; 13(10): 1605-11. DOI: 10.2215/CJN.11571017
2. Gotmi S, Parag J, Ravindra P, Shiv Shankar S. Toxicity profile of traditional herbal medicine. J Ayu Herb Med. 2015; 1(3): 81-90. DOI: 10.31254/jahm.2015.1306

با توجه به نتایج این مطالعه، سطح آنزیم‌های ALT و AST در گروه‌های دریافت کننده عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان به مدت ۲۸ روز در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت. این موضوع موید آن است که این عصاره موجب هپاتوتوکسیسیته در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار می‌شود. در مقایسه بین گروه‌هایی که دوزهای متفاوت از این عصاره را دریافت کرده بودند؛ با افزایش دوز عصاره مقادیر این آنزیم‌ها افزایش یافت که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین سه گروه دریافت کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن وجود نداشت. با توجه به مرگ ۴ موش صحرایی (بیش از نیمی از موش‌های صحرایی) در گروه دریافت کننده دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، می‌توان LD50 این عصاره را ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعیین کرد. بین سطح آنزیم‌های ALT و AST در سه گروه دریافت کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، در مقایسه با گروه دریافت کننده دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تفاوت آماری معنی‌دار وجود داشت.

تجویز عصاره آبی ریزوم گیاه خولنجان سبب افزایش آماری معنی‌دار سطح ALP در گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل گردید و در گروه‌های دریافت کننده دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره در مقایسه با گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری دیده نشد. با توجه به این که سطح ALP به دنبال آسیب‌های انسدادی کبد افزایش می‌یابد؛ می‌توان حدس زد که احتمالاً آسیب‌های بافتی ناشی از خولنجان، آسیب سلولی است. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی به بررسی مکانیسم‌های سمیت سلولی ناشی از این عصاره در دوزهای ذکر شده پرداخته شود.

در مطالعه حاضر آسیب بافتی در گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیده شد. آسیب بافتی در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیده نشد که نشان می‌دهد آسیب‌های بافتی ناشی از خولنجان وابسته به دوز است. احتمالاً افزایش سطح آمینوترانسفرازهای کبدی در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیانگر علائم اولیه آسیب کبدی قبل از شروع آسیب بافتی است.^{۱۱}

در مطالعه پیشین که به بررسی و آنالیز عصاره ریزوم گیاه

3. Vikramjit M, Jane M. Metabolic functions of the liver. Anaesth. Intensive Care Med. 2009 Jul; 10(7): 334-35. DOI: 10.1016/j.mpaic.2009.03.011
4. Nejad SR, Motevalian M, Fatemi I, Shojaii A. Anticonvulsant Effects of the Hydroalcoholic Extract of *Alpinia officinarum* Rhizomes in Mice: Involvement of Benzodiazepine and Opioid Receptors. J Epilepsy Res. 2017 Jun; 7(1): 33-38. DOI: 10.14581/jer.17006

5. Abass SA, Abdel-Hamid NM, Abouzed TK, El-Shishtawy MM. Chemosensitizing effect of *Alpinia officinarum* rhizome extract in cisplatin-treated rats with hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother.* 2018 May; 101: 710-18. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.02.128
6. Abubakar IB, Malami I, Yahaya Y, Sule SM. A review on the ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Alpinia officinarum* Hance. *J Ethnopharmacol.* 2018 Oct; 224: 45-62. DOI: 10.1016/j.jep.2018.05.027
7. Basri AM, Taha H, Ahmad N. A Review on the Pharmacological Activities and Phytochemicals of *Alpinia officinarum* (Galangal) Extracts Derived from Bioassay-Guided Fractionation and Isolation. *Pharmacogn Rev.* 2017 Jan-Jun; 11(21): 43-56. DOI: 10.4103/phrev.phrev_55_16
8. Chen JK, Chen TT, Crampton L, Funk C, Friesen R. *Chinese Medical Herbology & Pharmacology.* 1st ed. Art of Medicine Press. 2004.
9. Qureshi S, Shah AH, Ageel AM. Toxicity studies on *Alpinia galanga* and *Curcuma longa*. *Planta Med.* 1992 Apr; 58(2): 124-27. DOI: 10.1055/s-2006-961412
10. Al-Adhroey AH, Nor ZM, Al-Mekhlafi HM, Mahmud R. Median lethal dose, antimalarial activity, phytochemical screening and radical scavenging of methanolic *Languas galanga* rhizome extract. *Molecules.* 2010 Nov; 15(11): 8366-76. DOI: 10.3390/molecules15118366
11. Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology.* 2008 Mar; 245(3): 194-205. DOI: 10.1016/j.tox.2007.11.021
12. Zhang Z, Chen S, Mei H, Xuan J, Guo X, Couch L, et al. *Ginkgo biloba* leaf extract induces DNA damage by inhibiting topoisomerase II activity in human hepatic cells. *Sci Rep.* 2015; 5: 14633. DOI: 10.1038/srep14633