

Protective Effects of Cinnamon Bark Hydroalcoholic Extract on Inhibition of Isoniazid-Induced Liver Damage in Male Wistar Rats

Reza Valizadeh¹,
Hamidreza Mohammadi²,
Ali Ghaffarian Bahraman³,
Mohsen Mohammadi⁴,
Javad Ghasemian Yadegari⁵

¹ Pharmacy Student, Student Research Committee, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

² Assistant Professor, Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

³ Assistant Professor, Occupational Environment Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Hepatitis Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

(Received October 29, 2022 ; Accepted May 17, 2023)

Abstract

Background and purpose: Acute liver failure is caused by several factors including drugs. Isoniazid, which is used as an effective drug in treatment of tuberculosis, is considered a strong toxic agent for the liver. The purpose of this study was to investigate the effects of cinnamon extract on isoniazid-induced hepatotoxicity in rats.

Materials and methods: In this experimental study, 60 male Wistar rats were randomly divided into six groups. Liver damage and oxidative stress were induced by administration of isoniazid (300 mg/kg/day) for 14 consecutive days. Different doses of cinnamon extract (50, 100, and 200 mg/kg) were administered by gavage. Liver damage caused by isoniazid was evaluated by examining serum biochemical factors, amount of reactive oxygen species, glutathione, antioxidant capacity, lipid peroxidation, and histopathological changes in liver tissue. Data analysis was performed in Prism software applying one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test.

Results: Isoniazid at 200 mg/kg caused liver damage and significantly increased liver damage biomarkers (biochemical biomarkers, oxidative stress indices, and histopathological changes) ($P < 0.05$). On the other hand, different doses of cinnamon extract significantly reduced the biomarkers of liver damage caused by isoniazid ($P < 0.05$) and also improved the histopathological changes of liver tissue.

Conclusion: Cinnamon extract with antioxidant properties protects the liver against oxidative damage caused by isoniazid.

Keywords: Isoniazid, cinnamon extract, hepatotoxicity, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (221): 1-11 (Persian).

Corresponding Author: Hamidreza Mohammadi - Faculty of Pharmacy, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran. (E-mail: hamidrezamohammadi65@yahoo.com)

اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی پوست دارچین بر مهار آسیب کبدی ناشی از داروی ایزونیازید در موش‌های صحرایی نر ویستار

رضا ولیزاده¹
حمیدرضا محمدی²
علی غفاریان بهرمان³
محسن محمدی⁴
جواد قاسمیان یادگاری⁵

چکیده

سابقه و هدف: نارسایی حاد کبد در اثر عوامل متعددی از جمله داروها ایجاد می‌شود. ایزونیازید که به عنوان یک داروی مؤثر برای درمان بیماری سل مورد استفاده قرار می‌گیرد، یک عامل توکسیک قوی برای کبد به شمار می‌رود. هدف از این مطالعه بررسی اثرات تجویز عصاره دارچین بر سمیت کبدی ناشی از داروی ایزونیازید در موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی 60 سر رت نر نژاد ویستار در 6 گروه به صورت تصادفی قرار گرفتند. آسیب کبدی و القا استرس اکسیداتیو با تجویز ایزونیازید (300mg/kg/day) برای مدت 14 روز متوالی ایجاد شد. دوزهای مختلف عصاره دارچین (50، 100 و 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت گاوژ به موش‌ها تجویز شد. آسیب کبدی ناشی از ایزونیازید با بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم، میزان گونه‌های فعال اکسیژن، گلوکاتینون، ظرفیت آنتی اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار prism و آزمون آماری واریانس یک طرفه، آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: تجویز داروی ایزونیازید به میزان 200mg/kg باعث ایجاد آسیب کبدی شد که با افزایش معنی‌دار بیومارکرهای آسیب کبدی (بیومارکرهای بیوشیمیایی، شاخص‌های استرس اکسیداتیو و تغییرات هیستوپاتولوژیک) همراه بود ($P < 0/05$). از سوی دیگر تجویز دوزهای مختلف عصاره دارچین به‌طور معنی‌داری بیومارکرهای آسیب کبدی ناشی از ایزونیازید را کاهش داد ($P < 0/05$) و هم‌چنین باعث بهبود تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد شد.

استنتاج: عصاره دارچین با خواص آنتی اکسیدانی، کبد را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از ایزونیازید محافظت می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ایزونیازید، عصاره دارچین، سمیت کبدی، استرس اکسیداتیو

مقدمه

کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن بوده و به عنوان اولین سد دفاعی، نقشی ممتاز و اساسی در سم‌زدایی عوامل توکسیک، آلاینده‌های محیطی و داروهای شیمیایی دارد (1).

نارسایی حاد کبد در اثر عوامل متعددی از جمله هپاتیت‌های ویروسی، سموم، داروها و ایسکمی ایجاد می‌شود. آسیب کبد در اثر این عوامل اغلب به شکل نکروز هپاتوسیت‌ها

E-mail: hamidrezamohammadi65@yahoo.com

مؤلف مسئول: حمیدرضا محمدی - خرم‌آباد: دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده داروسازی

1. دانشجوی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
2. استادیار، گروه سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
3. استادیار، مرکز تحقیقات محیط کار، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
4. دانشیار، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات هپاتیت، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
5. استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

تاریخ دریافت: 1401/11/5 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1401/11/30 تاریخ تصویب: 1402/2/17

بروز می کند (2). استرس اکسیداتیو نقش اساسی را در صدمات بافت کبد در اثر داروها و سموم برعهده دارد. این در حالی است که آسیب های کبدی در اثر عوامل ویروسی و ایمنولوژیک به طور عمده از طریق فعال سازی مسیر آپوپتوزی مرگ سلول اتفاق می افتد (3). بیماری سل هم چنان به عنوان یک مسئله بهداشت عمومی در سراسر جهان مطرح می باشد به خصوص این که با شیوع بیماری، ایدز یکی از عوامل عمده منجر به فوت در مبتلایان بزرگسال می باشد (4). ایزونیازید که به عنوان یک داروی مؤثر به طور معمول برای درمان بیماری سل مورد استفاده قرار می گیرد، یک عامل توکسیک قوی برای کبد به شمار می رود (5،6). از آن جایی که کبد مکان اصلی سم زدایی داروی ضد سل ایزونیازید می باشد، بنابراین تجویز آن اختلالات متعدد متابولیک و مورفولوژیک را در کبد ایجاد می کند (7). این دارو توسط مکانیسم های متعددی باعث بروز هپاتیت می شود که با کاهش غلظت سرمی آلبومین و افزایش گلوبولین های سرمی بسته به شدت و مدت بیماری، مشخص می شود (8). نشان داده شده است که پراکسیداسیون لیپیدهای آندوزن اصلی ترین فاکتور در سیتوتوکسیسیته ایزونیازید می باشد. آسیب های اکسیداتیو ناشی ایزونیازید به تشکیل گونه های بسیار فعال اکسیژن که باعث پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب و آسیب غشاهای لیپیدی می شوند، نسبت داده می شود (9،5). تغییر در مکانیسم های متعدد تدافعی سلول شامل اجزای آنزیماتیک و غیر آنزیماتیک (گلو تاتیون احیاء reduced glutathione) در هپاتوتوکسیسیته ناشی از ایزونیازید گزارش شده است (10،5). استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان طیف وسیعی از بیماری ها، به سرعت در حال توسعه می باشد. توجه ویژه ای به اثرات محافظتی آنتی اکسیدان های با منشأ طبیعی در برابر مسمومیت های ناشی از عوامل شیمیایی شده است (11). داروهای شیمیایی همگی به نوعی دارای آثار و عوارض جانبی ناخواسته و غیر قابل کنترل هستند. در حالی که داروهای گیاهی در مقایسه با داروهای فارماکولوژیک

عوارض جانبی کمتری دارند (12). دارچین با نام علمی *Cinnamomum Zeylanicum* است. پودر پوست خشک شده آن به عنوان ماده معطر و چاشنی در تهیه انواع غذاها، شیرینی ها، کیک ها و دیگر خوردنی ها کاربرد دارد (13). دارچین حاوی سینامیک اسید، سینام آلدئید، سینامیل الکل، لینالول، سافرول، لیمونن، تانن، کومارین، فلاندرین، مانیتول و انواع فلاونوئیدها از جمله چالکون می باشد (14). این گیاه از نظر درمانی دارای اثرات آنتی اسپاسمودیک، ضد نفخ، ضد اسهال، آنتی باکتریال و ضد انگل است. هم چنین برای درمان بی اشتهایی، کولیک روده، اسهال اطفال، سرماخوردگی، آنفلونزا و به خصوص برای کولیک همراه با نفخ و اختلالات گوارشی همراه با تهوع مفید است (15). چالکون موجود در دارچین یک عامل کاهنده قند خون است و در کاهش بروز بیماری های قلبی عروقی و در کاهش لیپیدهای سرمی نقش دارد (16). دارچین یک ضد رادیکال آزاد بسیار قدرتمند می باشد (17). با توجه به مطالب ذکر شده و با در نظر گرفتن خواص مستند آنتی اکسیدانی دارچین فرض بر این است که دارچین می تواند کبد را در برابر اثرات سمی اکسیداتیو داروی ایزونیازید محافظت کند. بنابراین، مطالعه حاضر برای اولین بار جهت ارزیابی اثرات محافظتی عصاره دارچین بر سمیت کبدی ایزونیازید در موش صحرایی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر به روش تجربی در مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان در سال 1401 انجام شد. در این مطالعه، تمام ملاحظات اخلاقی و پروتکل های کاروری حیوانات آزمایشگاهی توسط کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی لرستان (کد: IR.LUMS.REC.1401.038) انجام شد.

روش عصاره گیری

برای عصاره گیری دارچین، بعد از مورد تایید قرار گرفتن گونه *cinnamomum zeylanicum* پوسته دارچین به قطعات ریز خرد و در سایه در دمای اتاق خشک شد و سپس پودر شد، هر گرم از این پودر به همراه 10ml الکل 50 درصد در دستگاه در دمای 50 درجه سانتی گراد و به مدت 5 ساعت سوکسله شد، به منظور حذف حلال، عصاره حاصل در دستگاه روتاری تحت عملیات تقطیر در خلاء در دمای 50-55 قرار گرفت. عصاره حاصل در ظرف شیشه ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شد (13).

سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی مورد بررسی نیز با استفاده از کیت های تجاری موجود (Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute, Nanjing, China) انجام شد. برای انجام این مطالعه، تعداد 60 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 200 ± 20 گرم، به طور تصادفی به 6 گروه 10 تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

- 1) گروه کنترل سالم که فقط نرمال سالین دریافت کردند.
 - 2) گروه کنترل بیمار که فقط ایزونیازید (برای 14 روز متوالی 300mg/kg/day) دریافت می کنند.
 - 3) گروهی که ایزونیازید (برای 14 روز متوالی 300mg/kg/day) + عصاره دارچین (برای 14 روز متوالی 50mg/kg/day) دریافت نمودند.
 - 4) گروهی که ایزونیازید (برای 14 روز متوالی 300mg/kg/day) + عصاره دارچین (برای 14 روز متوالی 100mg/kg/day)
 - 5) گروهی که ایزونیازید (برای 14 روز متوالی 300mg/kg/day) + عصاره دارچین (برای 14 روز متوالی 200mg/kg/day)
 - 6) گروه دریافت کننده ی بالاترین دوز عصاره دارچین (برای 14 روز متوالی 200mg/kg/day) دریافت نمودند.
- شرایط تغذیه و نگهداری برای تمام گروه ها یکسان (به صورت 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و دمای 21 ± 2 درجه سانتی گراد) در نظر گرفته شد.

روش تجویز عصاره دارچین در این مطالعه با توجه

به وزن حیوانات دوزهای لازم 50 و 100 و 200 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن تهیه شد. از قرص های 300 میلی گرمی ایزونیازید با توجه به وزن حیوانات دوز لازم در نرمال سالین تهیه شد، نمونه ها (نرمال سالین، ایزونیازید و دوزهای مختلف عصاره دارچین) با سرنگ در حجم 0/5 میلی لیتر به مدت 14 روز به صورت گاوآژ، به تعداد دفعات یکبار در روز براساس دوزهایی که از مطالعات پیشین اقتباس می شوند، تجویز شد. لازم به ذکر است که عصاره هیدروالکلی یک ساعت قبل از تجویز داروی ایزونیازید گاوآژ شد (10، 18).

در پایان دوره آزمایش و 24 ساعت پس از آخرین گاوآژ، جهت اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی شامل: آلانین آمینو ترانسفراز (ALT; Alanine Aminotransferase)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST; Aspartate Amino Transferase)، بیلی روبین تام (TB; Total Bilirubin) و لاکتات دهیدروژناز (LDH; Lactate dehydrogenase)، نمونه خون ناشتا از ناحیه سینه و از سمت چپ بدن حیوان گرفته شد و سرم نمونه های خون با سانتریفوژ (سرعت 2500 دور در دقیقه، به مدت 15 دقیقه در دمای 30 درجه سانتی گراد) جدا شد. برای تعیین وضعیت آنتی اکسیدانی کبد، همه موش ها همزمان با ایجاد دررفتگی در مهره گردن به راحتی کشته شدند. کبد موش ها سریعاً خارج و در نرمال سالین بسیار سرد شستشو داده شد، سپس هموژنات 10 درصد در 1/15 درصد کلرید پتاسیم هیه شد. هموژنات با سرعت 7000 دور در دقیقه و به مدت 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد (19). از محلول رویی جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید از طریق اندازه گیری مقدار مالون دی آلدئید (Malondialdehyde) و هم چنین برای اندازه گیری گونه های فعال اکسیژن و ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان گلو تاتیون احیا استفاده شد. پراکسیداسیون چربی در کبد با روش رنگ سنجی به وسیله اندازه گیری TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) انجام شد. به طور خلاصه، 0/1 میلی لیتر

همژنات بافتی با 2 میلی لیتر معرف TCA-HCL (Trichloro acetic acid)-TBA (Thiobarbituric Acid) (37 درصد TBA، 0/25 مول HCL و 15 درصد TCA به نسبت 1:1:1) مخلوط شد و پس از 15 دقیقه قرارگیری در بن ماری جوش خنک شده و با سرعت 3500 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق سانتیفریوژ شد. شدت جذب محلول رویی شفاف در 535 نانومتر در مقابل بلانک اندازه گیری شد (20). اندازه گیری میزان تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) در این مطالعه به شرح زیر می باشد، 500 میلی گرم از بافت کبد به 5 میلی لیتر بافر خنک تریس - هیدروکلراید اضافه شد و سپس با دستگاه هموژنایزر هموژن شد. 100 میکرولیتر از مخلوط هموژن به 1 میلی لیتر بافر خنک تریس - هیدروکلراید (40 میلی مولار، pH=7/4) و 7، 2-دی کلرو فلورسین دی استات اضافه شد. نمونه ها، به مدت 15 دقیقه در دمای 37 درجه و در تاریکی انکوبه شدند. در نهایت شدت فلوروسانس نمونه ها در طول موج تحریک 485 نانومتر و نشر 525 نانومتر با استفاده از دستگاه فلوریمتر اندازه گیری شد (20). برای اندازه گیری GSH در بافت کبد ابتدا 0/5 میلی لیتر از مخلوط کبد هموژن شده را با سمپلر برداشته و به محیطی که از قبل آماده کرده ایم و حاوی 4 میلی لیتر آب مقطر و 1 میلی لیتر TCA 50 درصد می باشد اضافه کرده، سپس مخلوط به دست آمده در دور 3000 و به مدت 15 دقیقه سانتیفریوژ شد. 2 میلی لیتر از مایع رویی برداشته شد و با 4 میلی لیتر از بافر تریس 0/4 مولار و 0/1 میلی لیتر DTNB 0/01 مولار مخلوط شد، خوب تکان داده شد و در طی 5 دقیقه جذب آن در 412 نانومتر خوانده شد (21). روش اندازه گیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (FRAP)، 100 میکرولیتر از مخلوط هموژن بافت کبد به 3 میلی لیتر از محلول FRAP (حاوی، 2/5 میلی لیتر بافر استات (pH=3; 300mM)، 0/25 میلی لیتر محلول کلرید آهن دو آب (20mM) و 0/25 میلی لیتر محلول TPTZ افزوده و در دمای اتاق به مدت 5 دقیقه انکوبه شد. پس از

سانتریفیوژ (1 دقیقه، 10000g)، جذب نمونه ها با اسپکتروفتومتر در طول موج 593 نانومتر ثبت شد (22). در پایان، یافته های حاصل از دستگاه اسپکتروفتومتری در فرمول منحنی استاندارد گذاشته شد و با ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (میکرومولار ویتامین C) محاسبه شد (22). برای آسیب شناسی بافتی کبد، نمونه از بافت کبد برداشته شد. نمونه ها در فرمالین بافری 10 درصد فیکس شدند، سپس برش هایی با ضخامت 5 میکرون و با روش رنگ آمیزی معمول هماتوکسیلین - ائوزین از بافت ها تهیه شد (20). برش ها با بزرگنمایی 100 و 5 میدان میکروسکوپی، به طور تصادفی با میکروسکوپ نوری مدل نیکون (ECLIPSE E200، ساخت کشور ژاپن) بررسی شدند.

نحوه تجزیه و تحلیل اطلاعات و روش های آماری مورد استفاده تجزیه و تحلیل داده ها به وسیله آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و سپس تست مقایسه چند گانه Tukey انجام شد. در صورت نرمال نبودن داده ها در برخی آزمایشات، از تست های ناپارامتریک جهت سنجش های آماری استفاده شد. میزان $P < 0/05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

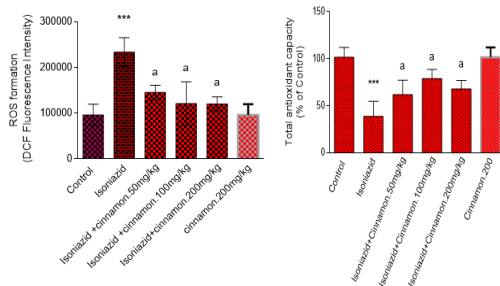
یافته ها

نتایج حاصل از بررسی بیومارکر های بیوشیمیایی در این مطالعه نشان داد، در موش های گروه داروی سمی (دریافت کننده ایزونیازید)، سطوح سرمی آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در مقایسه با گروه شاهد، به طور معنی داری ($P < 0/05$) افزایش یافت. در گروه درمان با عصاره دارچین سطوح افزایش یافته سرمی آنزیم های ALT، AST و LDH ناشی از ایزونیازید را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0/05$) (نمودار شماره 1).

نتایج حاصل از بررسی شاخص های استرس اکسیداتیو در این مطالعه نشان داد، سطح پراکسیداسیون لیپیدی و

داده‌ها به عنوان $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ برای ده حیوان در هر گروه نمایش داده شده است. ***: نشان دهنده‌ی افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (Vehicle-treated) است ($P < 0/05$).

a: بیانگر کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروهی است که تنها ایزونیازید را دریافت کرده‌اند ($P < 0/05$).
ns: بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($P < 0/05$).



نمودار شماره 2: نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در مطالعه حاضر می‌باشد. داده‌ها به عنوان $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ برای ده حیوان در هر گروه نمایش داده شده است. ***: نشان دهنده‌ی افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (Vehicle-treated) است ($P < 0/05$).
a: بیانگر کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروهی است که تنها ایزونیازید را دریافت کرده‌اند ($P < 0/05$).

جدول شماره 1: بررسی میزان لیپید پراکسیداسیون و سطح گلوکاتینون بافت کبد در گروه‌های مختلف مورد مطالعه و بررسی تاثیر تجویز عصاره دارچین بر آن.

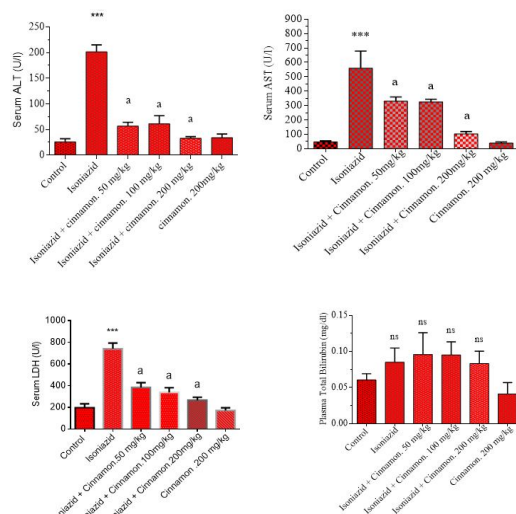
گروه	میزان لیپید پراکسیداسیون	سطح گلوکاتینون
کنترل	8/19±68/35	1/3 1±18
ایزونیازید	4/87*** 19±42	*1/63 8±25
ایزونیازید + عصاره دارچین 50 mg/kg	*6/29 33±77	*1/61 3±68
ایزونیازید + عصاره دارچین 100 mg/kg	*4/51 41±43	*1/4 3±85
ایزونیازید + عصاره دارچین 200 mg/kg	*4/21 46±25	*1/8 3±09
عصاره دارچین 200 mg/kg	5/11 79±19	1/9 1±13

داده‌ها به عنوان $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ برای ده حیوان در هر گروه نمایش داده شده است. ***: نشان دهنده‌ی افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (Vehicle-treated) است ($P < 0/05$).
a و #: بیانگر کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروهی است که تنها ایزونیازید را دریافت کرده‌اند ($P < 0/05$).

جدول شماره 2: آسیب هیستوپاتولوژیک بافت کبد در حیوانات دریافت کننده داروی ایزونیازید و تاثیر عصاره دارچین

گروه	نکروز	تهاب	تکثر	مرحله
کنترل	-	-	-	نرمال
ایزونیازید	++	+++	++	4
ایزونیازید + عصاره دارچین 50 mg/kg	+	+	+	3
ایزونیازید + عصاره دارچین 100 mg/kg	-	+	+	2
ایزونیازید + عصاره دارچین 200 mg/kg	-	+	+	1

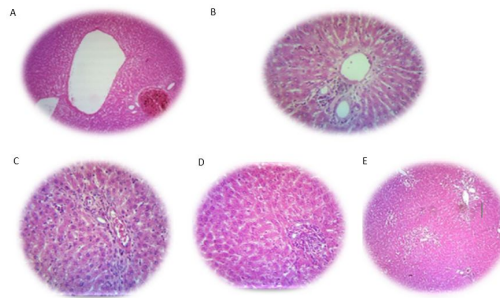
گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در حیوانات دریافت کننده ایزونیازید بالاتر از گروه کنترل است. استفاده از عصاره دارچین باعث تخفیف پراکسیداسیون لیپیدی و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه شد (نمودار شماره 2، جدول شماره 1). سطح گلوکاتینون احیا و میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد نیز مورد سنجش قرار گرفت (نمودار شماره 2، جدول شماره 1). مشاهده شد که سطح گلوکاتینون و میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد در گروهی که در معرض داروی ایزونیازید قرار می‌گیرند به پایین‌ترین سطح خود می‌رسد (نمودار شماره 2، جدول شماره 1). استفاده از عصاره دارچین باعث جلوگیری از تخلیه گلوکاتینون در گروه‌های مختلف مورد مطالعه شد (جدول شماره 1). تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد حیوانات مورد آزمایش در جدول شماره 2 نمایش داده شده است. هنگامی که داروی ایزونیازید به حیوانات تجویز می‌شود، تغییرات بافت کبد به صورت نکروز، احتقان سینوزویدی و التهاب مجاری پورت در بافت کبد بروز می‌کند (جدول شماره 2). در گروه‌های دریافت کننده عصاره دارچین با دوزهای مختلف آسیب‌های بافتی ناشی از تجویز ایزونیازید کاهش یافت (جدول شماره 2 تصویر شماره 1).



نمودار شماره 1: نتایج حاصل از بررسی بیومارکرها بیوشیمیایی در مطالعه حاضر می‌باشد.

ایزونیازید افزایش معنی‌داری در میزان پراکسیداسیون لیپیدی مشاهده شد که این خود در راستای کاهش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است.

در این مطالعه به نظر می‌رسد که رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش متابولیت‌های ایزونیازید با اکسیژن یا واکنش رادیکال‌های سوپراکسید با پراکسید هیدروژن باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و هم‌چنین اسیدهای چرب غیر اشباع داخل سیتوپلاسمی گردیده است که منجر به تشکیل پراکسیدهای لیپیدی از جمله مالون دی‌آلدئید و از بین رفتن تمامیت غشاء سلول و در نهایت آسیب به کبد شده است. افزایش میزان مالون دی‌آلدئید در موش‌های تیمار شده با ایزونیازید، نشان‌دهنده افزایش واکنش‌های پراکسیداسیونی است که به ضعف مکانیسم‌های تدافعی آنتی‌اکسیدانی نیز منجر شده و بدین ترتیب ممانعت از تولید مفرط رادیکال‌های آزاد هم مقدور نخواهد بود. به عبارتی دیگر افزایش میزان مالون دی‌آلدئید در کبد در اثر ایزونیازید حاکی از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی است که منجر به آسیب بافت کبد و هم‌چنین ناتوانی مکانیسم تدافعی آنتی‌اکسیدانی در ممانعت از تشکیل بی‌رویه رادیکال‌های آزاد می‌شود که همسو با مطالعه Celik و همکارانش در سال 2020 می‌باشد (28). در این مطالعه، تجویز ایزونیازید منجر به افزایش معنی‌دار سطوح سرمی آنزیم‌های AST, ALT, LDH و بیلی‌روبین تام در مقایسه با گروه شاهد سالم شد. نتایج بررسی حاضر از این لحاظ با یافته‌های سایر محققین هم‌خوانی دارد (28, 29). در این مطالعه، عصاره دارچین تاثیر بسیار خوبی را بر تغییرات آنزیم‌های شاخص کبدی ناشی از ایزونیازید، از لحاظ برگشت به اندازه طبیعی نشان داد که از این لحاظ با نتایج بررسی Hussain و همکاران در سال 2020 و Abdel در سال 2020 و هم‌چنین Linillos در سال 2023 که همگی بر روی اثرات آنتی‌اکسیدانی دارچین بر کاهش مارکرهای استرس اکسیداتیو پرداخته بودند هم‌خوانی دارد (30-32). که نشان از قابلیت بالای



تصویر شماره 1: تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد در حیوانات تحت درمان با عصاره دارچین
A: کنترل. B: ایزونیازید (300mg/kg/day). C: گروه دریافت‌کننده ایزونیازید + عصاره دارچین (50mg/kg/day). D: گروه دریافت‌کننده ایزونیازید + عصاره دارچین (100mg/kg/day). E: گروه دریافت‌کننده ایزونیازید + عصاره دارچین (200mg/kg/day).

بحث

در این مطالعه، تزریق داخل صفاقی ایزونیازید به میزان 300mg/kg در مدت 14 روز باعث آسیب شدید کبد شد به طوری که افزایش قابل توجه میزان مالون دی‌آلدئید و کاهش میزان گلو‌تاتیون و افزایش بیومارکرهای بیوشیمیایی را دریافت کبد به همراه داشت. نتایج بررسی حاضر از این لحاظ با یافته‌های Yang و همکارانش در سال 2022، Bedir و همکاران در سال 2021 و Bharti و همکاران در سال 2018 هم‌خوانی دارد (23-25). ایزونیازید یک القاء‌کننده قوی سیستم سیتوکروم P450 است که تولید متابولیت‌های سمی داروها و اتصال کووالان آن‌ها به ماکرومولکول‌های کبدی را سبب می‌شود (26). به عبارتی دیگر، بیوترانسفورماسیون ایزونیازید به متابولیت‌های فعال که قادر به اتصال به ماکرومولکول‌های سلول‌های کبدی هستند، منجر به آسیب کبد می‌شود (10).

مطالعات نشان داده است که استرس اکسیداتیو مکانیسم اصلی ایزونیازید در ایجاد اثرات توکسیک در کبد موش‌های صحرایی است (19, 20, 27). یافته‌های مطالعه حاضر الگوی فوق را مورد تأیید قرار می‌دهد به طوری که، در بافت کبد موش‌های گروه دریافت‌کننده

گلوکاتئون پراکسیداز در موش های صحرایی شد که این خود به دلیل تشکیل فراوان آنیون های سوپراکسید، یا القا استرس اکسیداتیو می باشد (36,35) نتایج حاصل مطالعات فوق با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی داشت. از آنجاکه در مطالعات گذشته نشان داده شد که عصاره دارچین دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی می باشد (38,37). که در مطالعه حاضر نیز دارچین از طریق افزایش توان آنتی اکسیدانی منجر به بهبود آسیب های کبدی ناشی از مصرف ایزونیازید شد. در مجموع، نتایج به دست آمده نقش محافظتی عصاره دارچین بر سمیت کبدی ایزونیازید را تصدیق می کند. بنابراین می توان پس از مطالعات کارآزمایی های بالینی تصادفی، عصاره دارچین را در انسان هایی که داروی ایزونیازید مصرف می کنند، جهت پیشگیری از آسیب های جبران ناپذیر کبد مورد استفاده قرار داد. ولی شناخت دقیق ماده یا مواد موثر اصلی این عصاره، تعیین دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم های مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی آن، نیاز به مطالعات آتی دارد.

سپاسگزاری

این مقاله با مساعدت مدیریت آموزش و پژوهش دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام شده است، بنابراین از ایشان کمال قدر دانی و تشکر می شود.

آنتی اکسیدانی دارچین در کاهش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در مطالعات دیگر دارد. به طور کلی در ارزیابی آسیب کبد سنجش سطوح آنزیم هایی نظیر ALT, AST و ALP به طور وسیع مورد استفاده قرار می گیرد (33). وقوع نکروز یا آسیب غشاء سلول باعث رها شدن این آنزیم ها به گردش خون می شود (33). بنابراین سطوح افزایش یافته آنزیم های سرمی فوق حاکی از نشت سلولی بوده و نشانگر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می باشد (34). از سوی دیگر بازگشت سطوح افزایش یافته آنزیم های سرمی به حالت طبیعی توسط عصاره دارچین، در مطالعه حاضر مشاهده شد. که این امر قابلیت بالای عصاره دارچین متعاقب آسیب کبدی در اثر ایزونیازید، با ممانعت از نشت آنزیم های داخل سلولی به دلیل ابقاء تمامیت و پایداری سلامت غشاء سلول و یا نوزایش سلول های آسیب دیده کبد می باشد. در مطالعه Buabeid و همکاران، که به بررسی سمیت کبدی ناشی از ایزونیازید پرداخته بودند، به این نتیجه رسیدند که افزایش شدید آمینوترانسفرازهای کبدی در بیماران دریافت کننده ایزونیازید، رخ داده بود (35). علاوه بر این در مطالعاتی که توسط Cheng و Nwudu انجام شد نشان داد که ایزونیازید باعث افزایش آمینوترانسفرازهای کبدی و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و

References

1. Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell* 2021; 184(10): 2537-2564.
2. Lee WM. Acute liver failure. *N Engl J Med* 1993; 329(25): 1862-1872.
3. Wang Y, Chen Q, Shi C, Jiao F, Gong Z. Mechanism of glycyrrhizin on ferroptosis during acute liver failure by inhibiting oxidative stress. *Mol Med Rep* 2019; 20(5): 4081-4090.
4. Pepperell CS. Evolution of Tuberculosis Pathogenesis. *Annu Rev Microbiol* 2022; 76: 661-680.
5. Anwer T, Alruwaili MN, Alshahrani S, Alqahtani SS, Jali A, Ahmed RA, et al. Hepatoprotective potential of diosmin against hepatotoxic effect of isoniazid and rifampin in wistar rats. *Hum Exp Toxicol* 2023; 42: 09603271221149199.
6. Tseng S-Y, Huang Y-S, Chang T-E, Perng C-L, Huang Y-H. Hepatotoxicity, efficacy

- and completion rate between 3 months of isoniazid plus rifapentine and 9 months of isoniazid in treating latent tuberculosis infection: A systematic review and meta-analysis. *J Chin Med Assoc* 2021; 84(11): 993-1000.
7. Cybulski DJ, White BK. Fatal isoniazid hepatotoxicity in the deployed environment. *Mil Med* 2021; 186(5-6): 619-622.
 8. Franchin TB, Oliveira JAd, Candido CD, Martins EdS, Padilha EC, Campos MLd, et al. Pharmacokinetics of isoniazid in Wistar rats exposed to ethanol. *Braz J Pharm Sci* 2023; 58.
 9. Patel S, Chaturvedi A, Dubey N, Shrivastava A, Ganeshpurkar A. Ascorbic acid ameliorates isoniazid-rifampicin-induced hepatocellular damage in rats. *iLIVER* 2022; 1(1): 72-77.
 10. Qiao P, Zhang Y, Yang Y, Meng R, Xu Z, Jiang X, et al. Oral isoniazid causes oxidative stress, oocyte deterioration and infertility in mice. *Toxicology* 2021; 455: 152749.
 11. Adegbola P, Aderibigbe I, Hammed W, Omotayo T. Antioxidant and anti-inflammatory medicinal plants have potential role in the treatment of cardiovascular disease: a review. *Am J Cardiovasc Dis* 2017; 7(2): 19-32.
 12. Wang W, Zhou H, Liu L. Side effects of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: A systematic review. *Eur J Med Chem* 2018; 158: 502-516.
 13. Parihar AK, Kulshrestha KM, Sahu U, Karbhal K, Inchulkar S, Shah K, et al. Quality control of Dalchini (*Cinnamomum zeylanicum*): a review. *Adv Trad Med* 2021; 23(15): 1-10.
 14. Gruenwald J, Freder J, Armbruester N. Cinnamon and health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 50(9): 822-834.
 15. Azizi Z, Choopani S, Majlessi N. Therapeutic effects of *Cinnamomum zeylanicum* aqueous extract on cognitive deficits in a rat model of Alzheimer's disease. *Ir J Physiol Pharmacol* 2021; 5: 53-61.
 16. Goyal M, Kaur H, Bhandari M, Rizvanov AA, Khaiboullina SF, Baranwal M. Antioxidant and immune effects of water soluble polysaccharides isolated from *Cinnamomum verum* bark. *Bio Nano Science* 2018; 8: 935-940.
 17. Sontakke M, Syed H, Salve R, Shinde E. Studies on antioxidant activity and characterization of essential oil extracted from *Cinnamomum zeylanicum* Bark. *Pharms Innov J* 2019; 8(3): 137-140.
 18. Ghasemian Yadegari J, Heidari G, Adineh A, Ghanadi K, Ghaffarian Bahraman A, Mohammadian M, et al. Investigating the protective effects of cinnamon bark hydroalcoholic extract on the inhibition of liver damage induced by rifampin in male Wistar rats. *Yafteh* 2022; 24(3): 59-71.
 19. Ommati MM, Farshad O, Ghanbarinejad V, Mohammadi HR, Khadijeh M, Negar A, et al. The nephroprotective role of carnosine against ifosfamide-induced renal injury and electrolytes imbalance is mediated via the regulation of mitochondrial function and alleviation of oxidative stress. *Drug Res (Stuttg)* 2020; 70(01): 49-56.
 20. Mohammadi H, Sayad A, Mohammadi M, Niknahad H, Heidari R. N-acetyl cysteine treatment preserves mitochondrial indices of functionality in the brain of hyperammonemic mice. *Clin Exp Hepatol* 2020; 6(2): 106-115.
 21. Ommati MM, Mohammadi H, Mousavi K, Azarpira N, Farshad O, Dehghani R, et al. Metformin alleviates cholestasis-associated nephropathy through regulating oxidative stress and mitochondrial function. *Liver Res* 2021; 5(3): 171-180.

22. Mousavi K, Niknahad H, Ghalamfarsa A, Mohammadi H, Azarpira N, Ommati MM, et al. Taurine mitigates cirrhosis-associated heart injury through mitochondrial-dependent and antioxidative mechanisms. *Clin Exp Hepatol* 2020; 6(3): 207-219.
23. Yang J, Li G, Bao X, Suo Y, Xu H, Deng Y, et al. Hepatoprotective Effects of Phloridzin against Isoniazid-Rifampicin Induced Liver Injury by Regulating CYP450 and Nrf2/HO-1 Pathway in Mice. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2022; 70(11): 805-811.
24. Bedir F, Kocaturk H, Turangezli O, Sener E, Akyuz S, Ozgeris F, et al. The protective effect of lycopene against oxidative kidney damage associated with combined use of isoniazid and rifampicin in rats. *Braz J Med Biol Res* 2021; 54(8): e10660.
25. Bharti U, Kumar NR, Kaur J. Bee pollen attenuates rifampicin and isoniazid in combination induced oxidative stress in testis of SD rats. *Res J Pharm Technol* 2018; 11(3): 1159-1163.
26. Mohan MSG, Ramakrishnan T, Mani V, Achary A. Protective effect of crude sulphated polysaccharide from *turbinaria ornata* on isoniazid rifampicin induced hepatotoxicity and oxidative stress in the liver, kidney and brain of adult swiss albino rats. *Indian Biochem Biophys* 2018; 55: 237-244.
27. Wang J, Luo W, Li B, Lv J, Ke X, Ge D, et al. *Sagittaria sagittifolia* polysaccharide protects against isoniazid-and rifampicin-induced hepatic injury via activation of nuclear factor E2-related factor 2 signaling in mice. *J Ethnopharmacol* 2018; 227: 237-245.
28. Çelik H, Kucukler S, Çomaklı S, Caglayan C, Özdemir S, Yardım A, et al. Neuroprotective effect of chrysin on isoniazid-induced neurotoxicity via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *Neurotoxicology* 2020; 81: 197-208.
29. Multazam E, Renovaldi D, Safitri Y. Antihepatotoxic activity of ethanol extract of *Ocimum americanum* L. on isoniazid-induced hepatotoxicity mice. 1th ed. *Medical Technology and Environmental Health: CRC Press*; 2020. p. 73-78.
30. Linillos-Pradillo B, Rancan L, Paredes SD, Schlumpf M, Lichtensteiger W, Vara E, et al. Low Dose of BPA Induces Liver Injury through Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis in Long-Evans Lactating Rats and Its Perinatal Effect on Female PND6 Offspring. *Int J Mol Sci* 2023; 24(5): 4585.
31. Hussain S, Ashafaq M, Alshahrani S, Siddiqui R, Ahmed RA, Khuwaja G, et al. Cinnamon oil against acetaminophen-induced acute liver toxicity by attenuating inflammation, oxidative stress and apoptosis. *Toxicol Rep* 2020; 7: 1296-1304.
32. Abd El Fadil H, Moustafa A, Khalifa H, Hossam A, Behairy A. Cinnamon Extract Ameliorates Liver Damage And Oxidative Stress Induced By Paracetamol In Male Rats. *Damanhour Journal of Veterinary Sciences* 2020; 3(2): 14-20.
33. Mekonnen AT, Wondmeneh TG. Evaluation of liver function tests to identify hepatotoxicity among acute lymphoblastic leukemia patients who are receiving chemotherapy induction. *Sci Rep* 2022; 12(1): 13215.
34. Al Danaf L, Kamareddine MH, Fayad E, Hussain A, Farhat S. Correlation between Fibroscan and laboratory tests in non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis patients for assessing liver fibrosis. *World J Hepatol* 2022; 14(4): 744-753.
35. Buabeid M, Arafa E-S, Rani T, Ahmad F, Ahmed H, Hassan W, et al. Effects of *Solanum*

- lycopersicum L.(tomato) against isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity in wistar albino rats. Braz J Biol 2022; 84: e254552.
36. Nwidu LL, Oboma YI. Telfairia occidentalis (Cucurbitaceae) pulp extract mitigates rifampicin-isoniazid-induced hepatotoxicity in an in vivo rat model of oxidative stress. J Integr Med 2019; 17(1): 46-56.
37. Ashfaq MH, Siddique A, Shahid S. Antioxidant activity of cinnamon zeylanicum: (A review). Asian J Pharm Res 2021; 11(2): 106-116.
38. Muhammad DRA, Gonzalez CG, Sedaghat Doost A, Van de Walle D, Van der Meeren P, Dewettinck K. Improvement of antioxidant activity and physical stability of chocolate beverage using colloidal cinnamon nanoparticles. Food Bioproc Tech 2019; 12(6): 976-989.