تأثیر عصاره آبی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris L.*) بر روی پارامترهای بیوشیمیایی خون و بافت کبدی در موش‌های صحرایی ماده تحت استرس بی‌حرکتی

رقیه بینا*، رضا حیدری، مهدی محمد زاده و مینو ایلخانی پور

ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش فیزیولوژی جانوری

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۱۶

چکیده

استرس تأثیرات نامطلوب زیادی بر فرایندهای زیستی موجودات زنده می‌گذارد. لذا جایگزین نمودن داروهای گیاهی با عوارض کمتر در درمان بیماری‌ها و بهبود سلامتی حائز اهمیت می‌باشد. در این مطالعه اثر عصاره آبی آویشن بر روی پارامترهای بیوشیمیایی خون و بافت کبدی در موش‌های صحرایی ماده تحت استرس بی‌حرکتی موردبررسی قرارگرفت. در این پژوهش ۲۴ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۲± ۱۷۳ گرم به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی شامل: گروه اول(کنترل)، گروه دوم(گروه تحت استرس بی‌حرکتی) و گروه‌های سوم و چهارم(تحت استرس بی‌حرکتی) با تجویز خوراکی عصاره آبی آویشن به ترتیب با دوزهای mg/kg ۱۰۰ و ۴۰۰ وزن بدن، تقسیم شدند. در پایان دوره تیمار میزان کلسترول، LDL و HDL سرم خون و مالون دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در هموژنات بافت کبدی توسط روش‌های استاندارد تعیین شدند. نتایج نشان‌دهنده‌ی کاهش معنی‌دار میزان کلسترول، LDL و MDA و افزایش معنی‌دار در میزان HDL و TACدر گروه‌های تحت تیمار با عصاره آبی آویشن بود. عصاره آبی آویشن به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی تا حدودی باعث کاهش میزان کلسترول و LDL سرم خون و حفاظت بافت کبدی در برابر اثرات مخرب ناشی از استرس بی‌حرکتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آویشن، استرس بی‌حرکتی، پارامترهای بیوشیمیایی خون، موش صحرایی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۷۲۲۳۴۷۲، پست الکترونیکی: rogayeh.bina@gmail.com

مقدمه

استرس مجموعه واکنش‌هایی است در پاسخ به محرک‌های فیزیکی، روانی و یا هر عامل دیگری که باعث برهم خوردن تعادل درونی بدن (هومئوستاز) می‌شود به وجود می‌آید (۱۱و ۳۰). استرس به‌عنوان یکی از مهم‌ترین دلایل بیماری‌های مختلف شناخته‌شده است (۱۶). مطالعات تجربی نشان داده است میزان تأثیر استرس، به ماهیت عامل استرس‌زا، جنس، مدت‌زمان و شدت آن بستگی دارد که این عوامل الگوی پاسخ‌های عصبی و هورمونی را تعیین می‌کنند (۳۰). محدودیت حرکتی یک روش تجربی مناسب و آسان برای مطالعه هردو نوع مدل استرس روانی (واکنش فرار) و استرس جسمی می‌باشد (۲۷). استرس و اختلالات روانی با فعال کردن مسیر هیپوتالاموسی- هیپوفیزی- فوق کلیوی (Hypothalamic-pituitary-adrenal) و یا تحریک سیستم سمپاتیک اثر خود را اعمال می‌کند که نتیجه آن افزایش کورتیزول و میانجی‌های عصبی (نوروترانسمیترها) می‌باشد (۲۴،۱۹و۳۷) و باعث ایجاد اختلالات زیادی در متابولیسم لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و الکترولیت‌ها و افزایش تولید اکسیدان‌ها و آسیب اکسیداتیو در بافت‌های مختلف بدن موجودات زنده می‌شود (۸ و۳۶). به دلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی موجود، استفاده از گیاهان دارویی دوباره موردتوجه محققان قرارگرفته است. گیاه آویشن بانام علمی *Thymus vulgaris L.* ، متعلق به تیره نعناعیان

(Lamiaceae) از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان به‌حساب می‌آید که معمولاً در طب سنتی به‌عنوان یک ضدعفونی‌کننده، برنشیال و عامل ضد اسپاسم می‌باشد. درواقع این گیاه به‌صورت خوراکی و موضعی بترتیب در درمان اختلالات دستگاه تنفس فوقانی و بیمارهای پوستی مورداستفاده قرارمی‌گیرد (۳۲). مطالعات متعددی نشان دادند این گیاه دارای ترکیباتی ازجمله پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها و همچنین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است (۹). همچنین تحقیقات نشان دادند عصاره گیاه آویشن برای تنظیم ترشح اسید معده مفید می‌باشد (۳۴). کارواکرال (۵-ایزوپروپیل-۲-میتیل فنول) و تیمول (۲-ایزوپروپیل-۵-میتیل فنول) از ترکیبات اصلی آنتی-اکسیدانی عصاره آویشن هستند. بااین‌حال، باتوجه به ساختار فنولی این ترکیبات، برخی از خواص مهم بیوشیمیایی آنها ازجمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا و مهار رادیکال‌های آزاد، کاهش‌دهنده کلسترول و چربی بدخون، تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن، خلط‌آور و ضد سرماخوردگی، ضد دیابت می‌باشد (۲۶). مطالعات متعددی برروی گیاهان حاوی ترکیبات فلاونوئیدی برروی مدل حیوانی کارشده است (۱و۲). هدف اصلی پژوهش حاضر بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی آویشن برروی پارامترهای بیوشیمیایی خون و بافت کبدی در موش‌های صحرایی ماده تحت استرس بی‌حرکتی می‌باشد که تابه‌حال با توجه به مطالعات مروری، کار تجربی آزمایشگاهی در این زمینه صورت نگرفته است.

مواد و روشها

تهیه گیاه و روش تهیه عصاره آبی: نمونه گیاه آویشن بانام علمی *Thymus vulgaris L.* از جنوب استان آذربایجان غربی تهیه گردید و سپس توسط دکتر رجامند کارشناس هرباریم و استاد سیستماتیک گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه مورد شناسی قرارگرفت. سپس در مرحله بعدی جهت عصاره‌گیری گیاه آویشن از روش خیساندن استفاده گردید. به این منظور، ۵۰۰ گرم برگ و سرشاخه-های جوان خشک‌شده گیاه آویشن به‌وسیله آسیاب برقی به‌صورت پودر درآمده، سپس پودر با آب مقطر که سطح آب مقطر چند سانتی‌متر بالاتر از سطح پودر باشد مخلوط و بعد از ۲۴ ساعت فاز بالای عصاره اولیه گیاه آویشن را برداشته شد و روی باقیمانده دوباره آب مقطر ریخته و بطور مناسب مخلوط شد، این کار به مدت ۲ روز تکرار شد تا عصاره اولیه گیاه به‌طور کامل و تا حد امکان خالص استخراج شود. سپس عصاره اولیه بعد از عبور از صافی، بااستفاده از دستگاه تقطیر با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا آب آن به‌تدریج تبخیر و درنهایت ۱۳ گرم عصاره خشک آویشن برای انجام کارهای آزمایشگاهی بدست آید. عصاره خشک حاصله درون ظروف کاملاً دربسته در شرایط دور از نور و رطوبت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس در مراحل بعدی، جهت تهیه محلول‌های با دوزهای مختلف از عصاره با افزودن آب مقطر ۲ بار تقطیر به میزان موردنیاز استفاده شد.

حیوانات آزمایشگاهی: دراین آزمایش، از ۲۴ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۲± ۱۷۳ گرم استفاده شد. حیوانات از خانه‌ی حیوانات دانشکده علوم دانشگاه ارومیه تهیه شدند و سپس در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت نور- ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳±۲۷ درصد) نگهداری شدند. بمنظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل دو هفته پس از استقرار حیوانات در قفس‌های مخصوص، به انجام رسید. لازم به ذکر است در برخورد با حیوانات، کلیه موازین اخلاقی براساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (Guide for the Car and Useof Laboratory Animals) رعایت شدند.

نحوه گروه‌بندی: دراین پژوهش موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه

اول، گروه کنترل که آب و غذای معمولی دریافت می‌کردند و تحت هیچ استرس و تیماری قرارنگرفتند. گروه دوم استرس بی‌حرکتی که علاوه بر آب و غذای معمولی، به مدت ۲۱ روز و روزانه ۲ ساعت تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند (۷). گروه‌های سوم و چهارم گروه‌های تیمار شده با عصاره آبی آویشن، که علاوه بر آب و غذای معمولی و استرس بی‌حرکتی روزانه، به مدت ۲۱ روز عصاره آبی آویشن را به ترتیب در دوزهای ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش به صورت خوراکی دریافت نمودند. باتوجه به مطالعات انجام‌شده روی دوزهای مختلف عصاره آبی آویشن، مشخص گردیده است که دوزهای پایین و بالای عصاره آویشن دارای اثرات مثبت کمی هستند و حتی دوزهای بسیار بالا به دلیل این‌که ترکیبات تیمول و کارواکرال در دوزهای بالا دارای اثرات سمی و مخرب می‌باشند، ولی زمانی که دوزهای متوسط عصاره آویشن استفاده می‌شود، این دوز دارای بیشترین اثرات مثبت است. بنابراین دراین مطالعه دو دوز مختلف استفاده شد تا مشخص شود که مؤثرترین دوز کدام است (۲۱).

طریقه القای استرس بی‌حرکتی: برای القای استرس بی-حرکتی از محفظه بی‌حرکت کننده استفاده شد (یک جعبه مستطیلی شکل فلزی به پهنای ۷ سانتی‌متر و ارتفاع ۵ سانتی‌متر و چهار منفذ در سطح و کف که از طریق این منافذ اکسیژن دریافت می‌کردند). به‌طوری که موش‌ها درون آن قابلیت حرکت را تا حد ممکن از دست بدهند. موش‌های صحرایی روزانه ۲ ساعت (در زمان مشخص روز، بین ۹ تا ۱۱ صبح) در درون این مهارکننده‌ها قرار داده و تا حد امکان از تأثیر عوامل استرس‌زای دیگر مانند صدا و تغییرات نوری و دمایی بر آن‌ها جلوگیری به عمل آمد.

خون‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی: در پایان دروه تیمار موش‌ها، تمامی حیوانات در داخل دسیکاتور بیهوش شدند و پس از خون‌گیری از قلب، همه‌ی تست‌های بیوشیمیایی شامل سنجش میزان کلسترول، HDL، LDL سرم خون بااستفاده از کیت آنزیمی (شرکت زیست‌شیمی) و به‌وسیله دستگاه اتوآنالیزور HITACHI/ ROCHE مدل 917 تعیین گردید. برای سنجش مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما از بافت کبدی موش‌های صحرایی استفاده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) پلاسما با استفاده از روش FRAP (Ferric reducing ability of plasma) و بااستفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد (۶). میزان مالون دی‌آلدیید (MDA) پلاسما نیز جهت بررسی استرس اکسیداتیو بر پایه‌ی واکنش با تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric acid) به نام روش TBA با استفاده از اسپکتروفتومتری در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۷).

آنالیز آماری داده‌ها: تمامی داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست تعقیبی توکی (Tukey) به کمک نرم‌افزار SPSS 20 (نسخه ۲۰) مورد تجزیه‌وتحلیل قرارگرفت. در این بررسی، اختلاف آماری $P<۰/۰۵$ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. نمودارها بااستفاده از نرم‌افزارExcel 2010 (نسخه ۲۰۱۰) رسم شدند.

نتایج

نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی نشان داد که استرس بی-حرکتی باعث افزایش معنی‌داری در میزان کلسترول، LDL و کاهش معنی‌داری در میزان HDL سرم خون در گروه استرس نسبت به گروه کنترل شد. درحالی‌که در گروه‌های تحت تیمار با عصاره آبی آویشن این مقدار نسبت به گروه استرس کاهش نشان داد (جدول ۱).

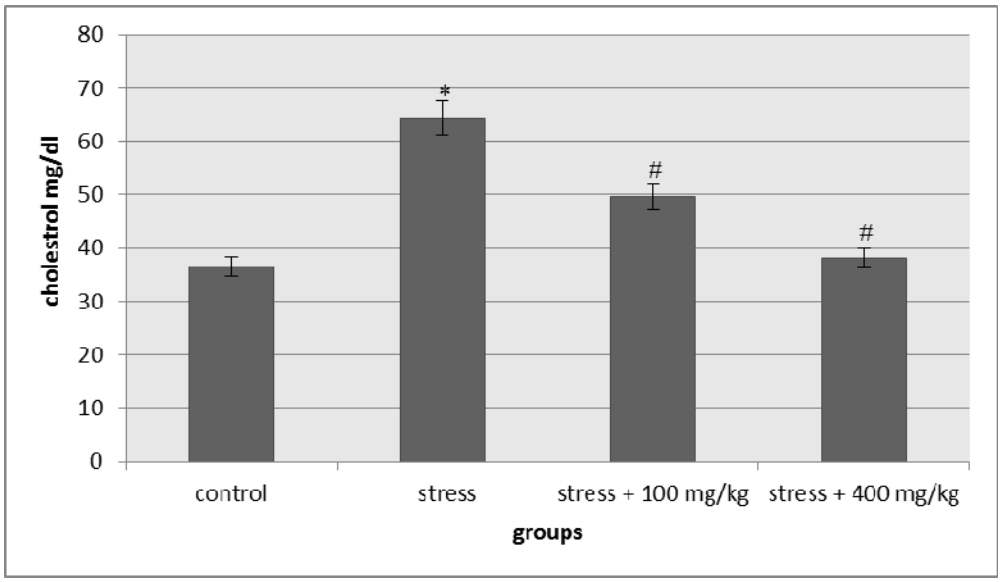
میزان کلسترول در گروه‌های تحت‌تیمار با دوز mg/kg ۱۰۰و۴۰۰ عصاره آبی آویشن نسبت به گروه استرس کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۰۰۱$) (نمودار

۱).

جدول۱- مقایسه‌ی میانگین میزان کلسترول، HDL، LDL سرم خون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبدی در گروه‌های موردمطالعه.

گروه‌ها	کلسترول (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	MDA (nmol/gr tissue)	TAC (mmol Ions of Fe^{2+}/gr tissue)
کنترل	۳۶/۶±۱/۲۱	۱۸/۹±۱/۱۳	۶/۷ ±۲/۲	۱۹/۳۳±۰/۸۱	۴۴/۸۸±۱/۲۸
استرس	۶۴/۴±۱/۷*	۱۳/۳±۰/۷*	۱۴/۸ ±۰/۶۸*	۲۹/۰۷±۱/۳۵*	۳۰/۷۶±۰/۴۴*
استرس + ۱۰۰mg/kg	۴۹/۰۷±۲/۰۸#	۱۵/۴±۱/۰۳#	۱۱/۱ ± ۱/۵۸#	۲۲/۰۹±۱/۱۷#	۴۵/۲۸±۱/۳#
استرس+ ۴۰۰ mg/kg	۳۸/۱±۱/۳۹#	۱۷/۵±۱/۶#	۷/۳ ±۰/۳۹#	۱۸/۷۲±۱/۶۲#	۴۹/۵۵±۱/۱۴#

اختلاف معنی‌دار در سطح بین گروه‌های تجربی و کنترل براساس میانگین ± خطای معیار میانگین (mean ± SEM) آورده شده است.اختلاف معنی-دار نسبت به گروه کنترل با علامت * و اختلاف معنی‌دارگروه های تحت تیمار عصاره آبی آویشن نسبت به گروه استرس با علامت # نشان داده‌شده است.



نمودار ۱- مقایسه میزان کلسترول سرم خون در بین گروهای مورد آزمایش. داده‌ها براساس میانگین mean±SEM در هر گروه آورده شده است. با علامت* در مقایسه با گروه کنترل(P<۰/۰۰۰۱). با علامت # در مقایسه با گروه تحت استرس بدون تیمار(P<۰/۰۰۰۱).

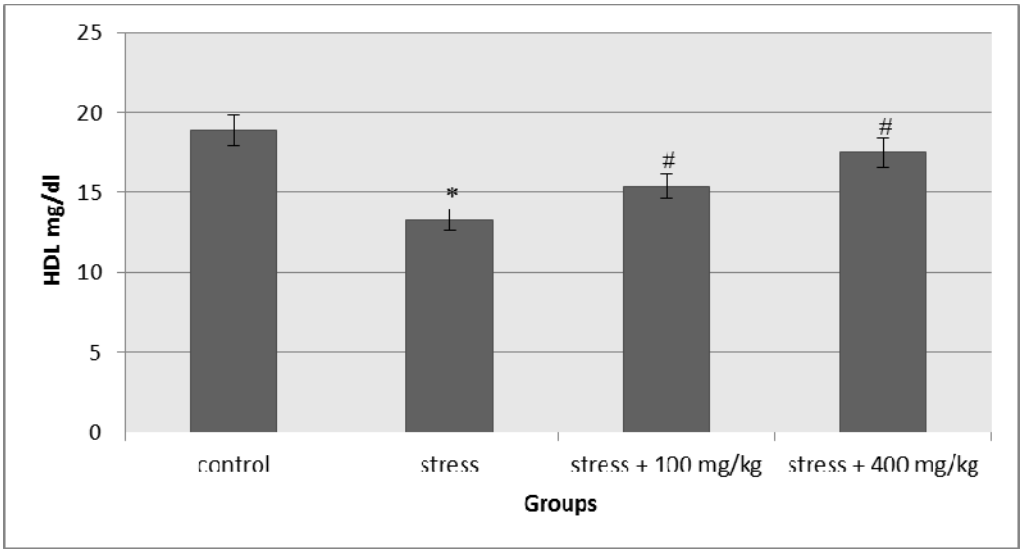
میزان سرمی LDL در گروه ۱۰۰ mg/kg و ۴۰۰ عصاره آبی آویشن، نسبت به گروه استرس، دارای کاهش معنی داری بود. همچنین میزان سرمی HDL در گروه ۴۰۰mg/kg و۱۰۰ عصاره آبی آویشن، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه استرس نشان داد (P<۰/۰۰۱) (نمودارهای ۲ و۳). میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) گروه استرس افزایش معنی‌دار نشان داد، و در گروه‌های تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg و ۴۰۰ عصاره آبی آویشن دارای کاهش معنی‌دار در میزان MDA نسبت به گروه استرس بود (P<۰/۰۰۰۵).

استرس همچنین باعث کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) نسبت به گروه کنترل شد و در گروه‌های تحت تیمار با دوز ۱۰۰ mg/kg و ۴۰۰ عصاره آبی آویشن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام افزایش معنی‌داری نسبت به گروه استرس نشان داد (P<۰/۰۰۰۱) (نمودارهای ۴و ۵).

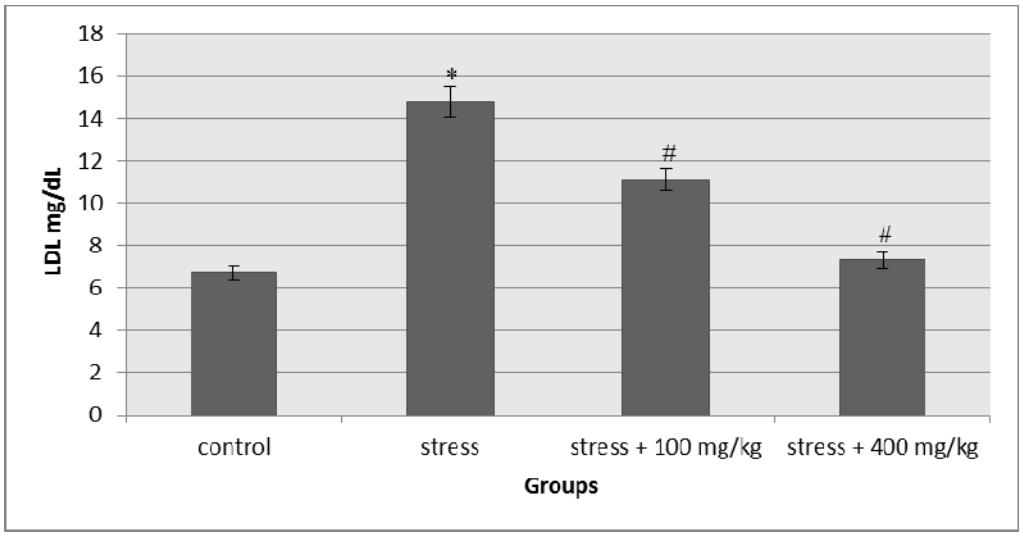
بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشانگر آن است که، در گروه تحت استرس بی‌حرکتی بدون تجویز عصاره آبی

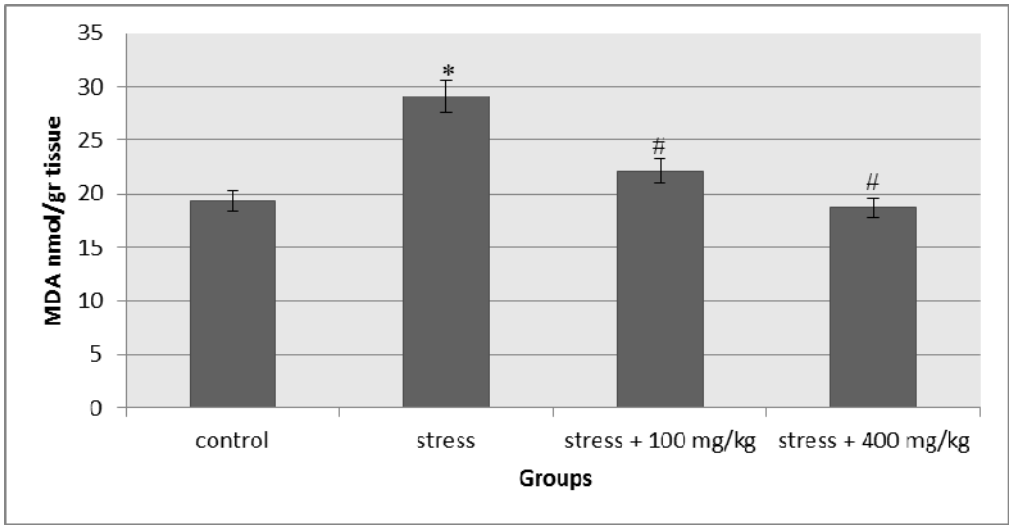
آویشن، افزایش معنی‌داری در میزان کلسترول، LDL سرم خون و مالون دی‌آلدئید (MDA) بافت کبدی و کاهش معنی‌داری در میزان HDL سرم خون و ظرفیت آنتی-اکسیدانی تام (TAC) بافت کبدی در مقایسه با گروه کنترل داشته است که در راستای یافته‌های Nayanatara و همکاران می‌باشد (۲۷). اعتقاد براین است که استرس بی‌حرکتی شدیدترین مدل استرس در جوندگان و دارای اثر تطبیقی با انسان می‌باشد (۲۰). همچنین تحقیقات نشان دادند که استرس در جنس ماده نسبت به جنس نر اثرات تخریبی بیشتری دارد.



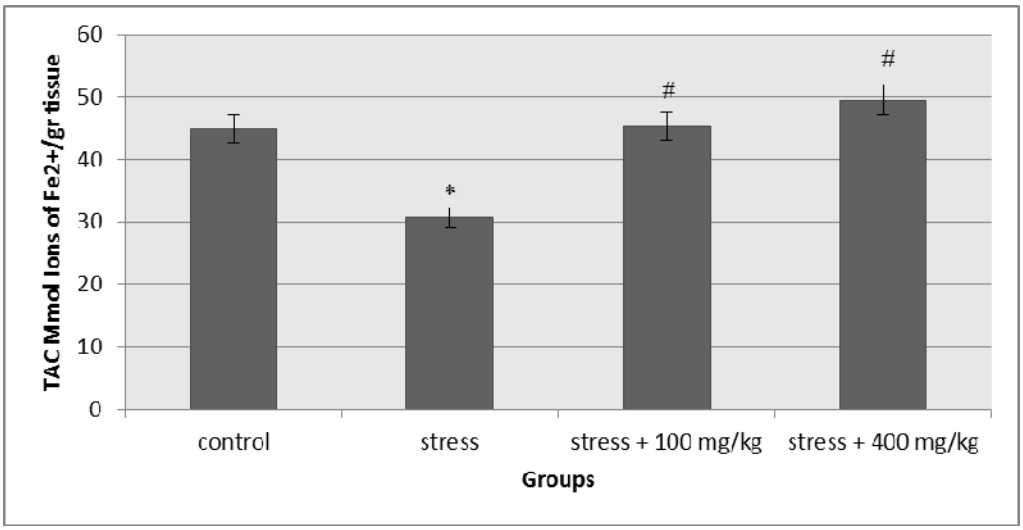
نمودار ۲ – مقایسه میزان HDL سرم خون در بین گرو های مورد آزمایش. داده ها بر اساس میانگین mean±SEM در هر گروه آورده شده است. با علامت * در مقایسه با گروه کنترل (P< ۰/۰۰۱). با علامت # در مقایسه با گروه تحت استرس بدون تیمار (P<۰/۰۰۱).



نمودار ۳ – مقایسه میزان LDL سرم خون در بین گروه های مورد آزمایش. داده ها بر اساس میانگین mean±SEM در هر گروه آورده شده است. با علامت * در مقایسه با گروه کنترل (P< ۰/۰۰۱) . با علامت # در مقایسه با گروه تحت استرس بدون تیمار (P<۰/۰۰۱).



نمودار ۴- مقایسه میزان MDA بافت کبدی در بین گروه های مورد آزمایش داده ها بر اساس میانگین mean±SEM در هر گروه آورده شده است. با علامت * در مقایسه با گروه کنترل(P< ۰/۰۰۰۵). با علامت # در مقایسه با گروه تحت استرس بدون تیمار (P< ۰/۰۰۰۵) .



نمودار ۵ – مقایسه میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) بافت کبدی در بین گروه های مورد آزمایش داده ها بر اساس میانگین mean±SEM در هر گروه آورده شده است. با علامت* در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۰۰۱). با علامت # در مقایسه با گروه تحت استرس بدون تیمار (P<۰/۰۰۰۱).

استرس به روش‌های مختلفی از طریق اختلال در سرعت سنتز و دفع، میزان کلسترول سرم خون را افزایش می‌دهد (۱۲). همچنین نتایج بررسی‌ها در این راستا نشان داده‌اند، این تغییرات به علت اثر اپی‌نفرین بر روی لیپوپروتئین لیپاز، هورمون حساس به لیپاز، و لیپاز کبدی می‌باشد (۲۳و۲۵). پترسون و همکاران پیشنهاد کردند، استرس فیزیولوژیکی سبب کاهش حجم و شکل‌گیری تجمعات خونی می‌شود که ممکن است علت ثانویه افزایش میزان کلسترول سرم خون باشد (۲۵). نتایج آزمایشات تجربی نشان داده است که کاتکول آمین‌ها با فعال کردن لیپولیز در بافت چربی و افزایش جریان ورود اسیدهای چرب به کبد، باعث افزایش سنتز و ترشح‌تری گلیسیریدها می‌شوند. محققان دیگر، افزایش میزان MDA و آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های مختلف، ناشی از استرس را اثبات کردند (۱۸و۲۳). استرس همچنین باعث اختلال در عملکرد آنزیم‌های کبدی می‌شود (۴). از

سویی دیگر، در جنس ماده، استرس مزمن باعث آسیب بافت تخمدان و اختلال در عملکرد تخمک‌گذاری و ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی می‌شود (۲۲). کارن و همکاران نتیجه گرفتند که استرس روزانه شدید باعث کاهش میزان سرمی هورمون‌های (استرادیول) E_2 آزاد، LH و لوتئال پروژسترون و افزایش میزان FSH و همچنین افزایش تخمک‌گذاری نامنظم در مقایسه با استرس کم می‌شود (۲۰). تحقیقات اخیر نشان می‌دهند استرس شدید در شرایط آزمایشگاهی و یا در میان افرادی که استرس‌های خاصی در بین آنها مشترک است، می‌تواند بر عملکرد چرخه قاعدگی زنان تأثیرگذار باشد (۳۳). ازآنجایی‌که میزان سرمی E_2، پروژسترون، LH، FSH، در طی چرخه قاعدگی در واکنش به مکانیسم‌های فیدبک پیچیده با هورمون‌های دیگر تغییر می‌کند و چون نوسانات در این هورمون‌های جنسی ممکن است آسیب‌پذیری استرس را تغییر دهد (۲۸). شرایط استرس یکسان بر روی زنان بیشتر از مردان تأثیر می‌گذارد. مکانیسم‌هایی که کمبود میزان هورمون استروژن منجر به تجمع چربی‌ها در کبد می‌شود، احتمالاً مربوط به اعمال مستقیم استروژن برروی متابولیسم چربی‌ها است (۱۳و۱۴). استروژن برای فعال کردن ژن‌های موردنیاز برای جذب و بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب با فعال کردن پروتئین گیرنده (PPAR-α) و برای کاهش بیان ژن‌های آنزیم‌های موردنیاز برای سنتز لیپید، ازجمله استیل – کوآ- کربوکسیلاز۱ (ACC-1) و اسید چرب سنتتاز (FAS)، به‌وسیله‌ی کنترل منفی پاسخ استرول به عناصر پروتئین متصل شونده (SREBP-1) عمل می‌کند (۲۹).

نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از کاهش میزان کلسترول، LDL و MDA در گروه‌های تیمار شده با عصاره آبی آویشن در مقایسه با گروه استرس بود. سونگ و همکاران در سال ۲۰۰۵ به نتایج ارزنده‌ای در رابطه با خاصیت بسیار بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه آویشن رسیدند که علاوه بر کاهش چربی بد خون می‌تواند در مهار اکسیداسیون LDL هم نقش داشته باشد (۳۵). اکو و همکاران، با بررسی بر روی موش‌ها به‌عنوان یک مدل حیوانی بیان کردند که عصاره آویشن باعث کنترل دیابت و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی و عوارض ناشی از بیماری‌های متابولیک می‌شود (۱۵). همچنین رامچون و همکاران نشان دادند که عصاره آبی آویشن دارای ترکیبات پلی فنول و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتر و بهتری می‌باشد (۳۲). همچنین عصاره گیاهان حاوی ترکیبات فلاونوئیدی مانند گیاه آویشن بدون هیچ آسیب گاستریک باعث کاهش میزان کلسترول، تری گلیسیرید و LDL سرم خون می‌شود (۴). به‌این‌ترتیب عصاره گیاهان دارویی حاوی فلاونوئیدها مانند گل گلرنگ از طریق تأثیر برگیرنده LDL باعث افزایش تعداد این گیرنده‌ها در سطح سلول‌های کبدی می‌شوند. گیرنده LDL با شناسایی آپوپروتئین موجود، به آن متصل شده و LDL به داخل هپاتوسیت‌ها کشیده می‌شود و از جریان خون خارج می‌گردد. گزارش‌شده است که، ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی گیرنده‌های LDL را در سلول‌های هپاتوسیت کبد افزایش می‌دهند (۳). همچنین ترکیبات فلاونوئیدی عصاره گیاه آویشن باعث محدود کردن سرعت آنزیم هیدروکسی متیل گلوتاریل- کوآنزیم آ ردوکتاز (HMGCoA reductase) در مرحله بیوسنتز کلسترول، کاهش بیوسنتز کلسترول و کلسترول پلاسما می‌شود (۱۰). نتایج کوهی حسین‌آبادی و همکاران نشان دادند که عصاره گیاه *T. vulgaris* دارای فعالیت محافظتی در برابر آسیب‌های هیستوپاتولوژیک ناشی از دیابت و چربی خون بالا در بافت‌های کبد و مغز می‌باشد (۲۱). مطالعات رادوان و همکاران نشان دادند که عصاره آویشن ترکیبات مالون دی آلدهید (MDA) را نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد. آنها این نتایج را به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه آویشن نسبت دادند (۳۱). همچنین بهرامی و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که ترکیبات فلاونوئیدی آویشن منجر به افزایش آنزیم‌های کبد شامل آنتی‌اکسیدان‌های سیستم دفاعی، سلول‌های ایمنی بدن می-

شوند (۵). برطبق نتایج تحقیق حاضر عصاره آبی آویشن تا حدودی باعث کاهش میزان کلسترول، LDL. سرم خون و حفاظت بافت کبدی در برابر اثرات مخرب ناشی از استرس بی‌حرکتی می‌شود که باتوجه به مطالب فوق و این‌که عصاره آویشن شامل چندین ترکیب درمانی حیاتی در جلوگیری از بیماریی‌ها و آسیب‌های ناشی از آنها می باشد، مطالب فوق را تأیید می‌کند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر از بین دوزهای استفاده‌شده در این پژوهش، مؤثرترین دوز برای محافظت از اثرات مخرب ناشی از استرس بی‌حرکتی مزمن برروی میزان فاکتورهای بیوشیمیایی خون و بافت کبد دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی آویشن می‌باشد و این دوز بیشترین تأثیر مثبت را داشته است. هرچند تحقیق‌های بیوشیمیایی و بررسی مکانیسم مولکولی بیشتری را باید جهت استفاده از آن را مدنظر قرارداد.

سپاسگزاری: بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه، برای اجرای این تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع

۱- احمدی، ر.، امید علی، ف.، و پیشقدم، س.، ۱۳۹۶. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی پوست دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*) برمیزان سطح هورمون لپتین خون در موشهای سفید بزرگ نژاد ویستار تحت آلودگی هوا، مجله زیست‌شناسی ایران، دوره ۳۰، شماره ۱، صفحات ۲۴-۱۵.

۲- حمایت خواه جهرمی، و.، فروزانفر، م.، فرجمند، م.، و کارگر جهرمی، ح.، ۱۳۹۲. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی پوست گیاه لیمو آب (*Citrus aurantifolia*) بر هورمون‌های محور هیپوفیز- گناد و اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر بالغ، مجله زیست‌شناسی ایران، دوره ۲۶، شماره ۴، صفحات ۳۹۳-۳۸۴.

۳- عسگری، ص.، رحیمی، پ.، مدنی، ح.، محزونی، پ.، و کبیری، ن.، ۱۳۹۲. اثر عصاره هیدروالکلی گل گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در پیشگیری از دیابت قندی نوع اول در رتهای نر بالغ، مجله زیست‌شناسی ایران، دوره ۲۶، شماره ۱، صفحات ۱۴۵-۱۵۳.

4- Avci, G., Kupeli, E., Eryavu, A., Yesilada, E., and Kucukkurt, I., 2006. Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. 107(3), PP: 418-423.

5- Bahrami, M., Shariatmadari, M., Karimi, F., and Torshizi, M. A., 2011. Effect of dietary extract of thyme and Peppermint and vitamin E supplementation on immune responses of Laying hen in heat stress and content of peroxidation egg during storage. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic plant, 27 (2), PP: 326-337.

6- Benzie, I. F., and Strain, J. J., 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol, 299, PP: 15-27.

7- Bowman, R. E., Zrull, M. C., and Luine, V. N., 2001. Chronic restraint stress enhances radial arm maze performance in female rats. Brain Res. Jun 22; 904(2), PP: 279-89.

8- Bròdano, G., Colangeli, S., Babbi, L., Gasbarrini, A., Bandiera, S., and Terzi, S., 2011.Osteoporotic vertebral fractures: a disabling and expensive disease of our century. A minimally invasive surgical technique to reduce the pain, the hospitalization, and restore the function. *Eur Rev Med Pharmacol S*, 15(12), PP: 1473-1477.

9- Brunetton, J., 1993. Pharmacognosie phytochimie plantes rnedicinales. Lavoisier.

10- Cadirci, E., et al., 2010. Atorvastatin reduces tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: biochemical and histopathologic evaluation. Naunyn-Schmied Arch Pharmacol 381, PP: 455–466.

11- Carrasco, G. A., and Van de Kar, L. D., 2003. Neuroendokrine pharmacology of stress. Eur J Pharmacol, 463, PP: 235-272.

12- Champe, P. C., and Harvey, R. A., 1994. Lippincott-Raven Publishers. Biochemistr, 2, PP: 47-60.

13- Chen, J., and Brown, T. R. J., 2009. RussoRegulation of energy metabolism pathways by estrogens and estrogenic chemicals and potential implications in obesity associated with increased exposure to endocrine disruptors BBA-Mol. Cell. Res, 1793, PP: 1128-1143.

14- D'Eon, T. M., Souza, S. C., Aronovitz, M., Obin, M. S., and Fried, S. K ., 2005. Greenberg Estrogen regulation of adiposity and fuel partitioning. Evidence of genomic and non-genomic regulation of lipogenic and oxidative pathways J. Biol. Chem, 280, PP: 35983-35991.

15- Ekoh, S. N., Akubugwo, E. I., Ude, V. C., and Edwin, N., 2014. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effect of spices (*Thymus vulgaris, Murraya koenigii, Ocimum gratissimum and Piper guineense*) in alloxaninduced diabetic rats International, J Biosci, 4, PP: 179–187.

16- Emel, Ş., and Saadet, G., 2007. Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system .Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 144, PP: 342–347.

17- Esterbauer, H., and Cheeseman, K. H., 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol, 186, PP: 407-21.

18- Fontella, F. U., Siquiera, I. R., Vasconcellos, A. P., Tabajara, A. S., Netto, C. A., and Dalmaz, C., 2005. Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. Neurochem Res, 30(1), PP: 11-150.

19- Fuchs, E., Flugge, G., Ohl, F., Lucassen, P., Vollmann- Honsdorf, G. K., and Michaelis ,T., 2001. Psychosocial stress, glucocorticoids, and structural alternation in the tree shrew hippocamous. Physiol Beha,73, PP: 258-291.

20- Karen, C., Schliep Sunni, L., Mumford, Catherine, J., Vladutiu, Katherine, A., Ahrens Neil, J., and Perkins Lindsey, A., 2015. Perceived stress, reproductive hormones, and ovulatory function: a prospective cohort study. Epidemiology. available in PMC. Mar, 26(2), PP: 177–184.

21- Koohi-Hosseinabadi, O., Moini, M., Safarpoor, A., Derakhshanfar, A., and Seperhrimanesh, M., 2015. Effects of dietary *Thymus vulgaris* extract alone or with atorvastatin on the liver, kidney, heart, and brain histopathological features in diabetic and hyperlipidemic male rats. Springer-Verlag Londo, 24(6), PP: 1311-1315.

22- Lovick, T. A., and Braz, J., 2012. Estrous cycle and stress influence of progesterone on the female brain. Med Biol Res, 45(4), PP: 314-320.

23- Lunderberg, U., Fredrikson, M., Wallin, L., Melin, B., and Frankenhaeuser, M., 1989. Pharmacol Biochem Behav, 33, PP: 381-386.

24- Mamalaki, E., Kvetnansky, R., Brady, L. S., Gold, P. W., and Herkenham, M., 1992. Repeated immobilization stress alters tyrosine hydroxylase, corticotrophin- reeasing homone and corticosteroid receptor messenger ribonucleic Acid levels in rat brain, Jneuroendocrinol, 4, PP: 685-699.

25- Muldoon, M. F., Herbert, T. B., Patterson, S. M., Kameneva, M., and Raible, R., 1995. Manuck SB. Arch Intern Med, 155, PP: 615-620.

26- Numpaque, M. A., Oviedo, L. A., Gil, J. H., García, C. M., and Durango, D. L., 2011. Thymol and carvacrol: biotransformation and antifungal activity against the plant pathogenic fungi Colletotrichum acutatum and Botryodiplodia theobromae. Trop Plant Pathol, 36, PP: 3–13.

27- Nayanatara, A. K., Tripathi, Y., Nagaraja, H. S., Jeganathan, P. S., Ramaswamy, C., Ganaraja, B., Sheila, R., Pai., and Asha, k., 2012. Effect of Chronic Immobilization Stress on some selected Physiological, Biochemical and Lipid Parameters in Wistar Albino Rats. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.volum, 3, PP: 34-42.

28- Ossewaarde, L., Hermans, E. J., van Wingen, G. A., Kooijman, S. C., Johansson, I. M., Bäckström, T., and Fernández, G., 2010. Neural mechanisms underlying changes in stress-sensitivity across the menstrual cycle. Psychoneuroendocrinology. 35, PP: 47–55.

29- Paquette, A., Wang, D., Jankowski, M., and Gutkowska, J., 2008. LavoieEffects of ovariectomy on PPAR-α, SREBP-1c and SCD-1 gene expression in the rat liver Menopause, 15, PP: 1169-1175.

30- Puzserova, A., Csizmadiova, Z., Andriansitohaina, R., and Bernatova, I., 2006. Vascular effects of red wine polyphenols in chronic stress-exposed Wistar-Kyoto rats. Physiol Res, 55, PP: 390 47.

31- Radwan, N. l., Hassan, R. I., Qota, E. M., Fayek, H. M., 2008. Effect of natural anti-oxidant on oxidative stability of eegs and productive and preproductive performance of laying Hens. International Journal of Poultry Science, 7 (2), PP: 134-150.

32- Ramchoun, M., Harnafi, H., Alem, C., Benlyas, M., Elrhaffari, L., and Amrani, S., 2009. Study on antioxidant and hypolipidemic effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus vulgaris*

and Lavendula multifida. Pharmacogn Res Research, 1, PP: 106–112.

33- Robins, J. M., Hernán, M. A., and Brumback, B., 2000. Marginal structural models and causal inference in epidemiology. Epidemiology, 11, PP: 550–560

34- Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A., and Khalel, K. I., 2013. Evaluation of antioxidant Activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris L.),* sage (*Salvia officinalis L.*), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Ind Crop Prod, 43, PP: 827–831.

35- Seung-Joo, L., and Katumi, U., 2005. Department of food science and technology. Identification of volatile components in basil (Ocimumbasilicuml) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L*) and their antioxidant properties. Dongguk University, PP: 37-137.

36- Turakulov, Y., and Burikhanov, R., 1993. Role of norepinephrine in the regulation of thyroid gland functional activity in rabbits. *Probl Endokrinol (Mosk)*, 39(4), PP: 45-48.

37- Wang, J., Roy, S., Roderick, A., Loh, H. H., and Charboneau, R., 2002. Mu-Opioid receptor mediates chronic restraint stress-induced lymohocyte apoptosis. J Immunol, 169, PP: 3630-3636.

Effects aqueous extract of thyme *Thymus vulgaris L* on blood biochemical parameters and liver tissue in female rats under immobilization stress

Bina R., Heidari R., Mohammadzadeh M., Ilkhanipour M

Dept. of Biology, Faculty of Science, Urmia University., Urmia, I.R. of Iran

Abstract

Stress has different adverse effects on the biological processes of living organisms. Therefore, replacing herbal medicines with fewer side effects in the treatment of diseases and improving health is the most important. In this study the effect of aqueous extracts of thyme on blood biochemical parameters and liver tissue in female rats under immobilization stress were studied. In present experimental study, 24 adult female Wistar rats in weight range of 173±12 g were randomly divided into four groups of six rats in each: group1, Control, group2, the group immobilized stress, groups 3and 4, groups to immobilized stress by oral prescription extract of thyme the doses of 100 and 400 mg/kg respectively. At the end of the studies, serum cholesterol, LDL and HDL and MDA, TAC in liver tissue homogenates were estimated. The results indicated significant reduction in the level of cholesterol, LDL, MDA in treated groups with aqueous extract of thyme and a significant increase in HDL, TAC. The extract of *Thymus vulgaris L* be due their antioxidant can partly reduction the serum level of cholesterol, LDL and liver tissue protection against the damaging effects of immobilization stress.

Key words: *Thymus vulgaris L*, Immobilization stress, Blood biochemical parameter, Rat**.**