# Hepatoprotective effects of green tea (*Camellia sinensis*) on diazinon induced liver damage in female mice

***Mahnaz Mohammadi***[1]***, Firozeh KaramBeigi***[2]***, Zahra Jamshidi***[3] ***, Hoam MohseniKochesfehani***[4]***, Zeinab Rezaei***[5]
[1] *Associate Professor, Faculty of Biological Sciences, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran*
[2] *MSC, Department of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran*
[3] *Teacher, Department of Biology, Payamnoor University, Ilam, Iran*
[4] *Associate Professor, Faculty of Biologyicsl Sciences Kharazmi University, Tehran, Iran*
[5] *Department of biology, Islamic Azad University, Kazeron Branch, Kazeron, Iran*

## Abstract

**Background**: Diazinon increases the production of free radicals and hurts the body tissues. The aim of this study was to evaluate the effect of green tea on tissue and liver enzymes in diazinon-treated rats.
**Materials and methods**: In this experimental study, 40 NMRI female mice were divided into 8 groups: control group1 did not receive substance; control group 2 and control group 3 received olive oil and saline, respectively, for 7 days; shamgroup 1 received IP injection of diazinon in dose of 60 mg/kg for 7 days; the sham group 2 and sham group3 received green tea extracts with 200 and 300 mg/kg for 28 days. Experimental group 1 and 2 were treated with 200 and 300 mg/kg green tea extract for 28 days, respectively. Diazinon was prescribed with dose of 60 mg/kg since 14- day for 7 consecutive days in the experimental groups. 48 hours after the last injection, liver tissue was studied for histopathologic examination. The level of liver enzymes activity was evaluated. Data were analyzed by ANOVA.
**Results**: The activity of liver enzymes in the control group 1 increased compared to the control group, which decreased after application of green tea extract in experimental groups 1 and 2. The histopathological results showed that hepatocytes were destroyed in the control group 1, while tissue necrosis was not observed in experimental groups 1 and 2.
**Conclusion**: It could be concluded that the consumption of *Camellia sinensis* normalizes liver enzyme levels and improves liver tissue changes due to diazinon.
**Keywords**: *Green tea, Diazinon, Liver, Liver enzyme.*

**Cited as:** Mohammadi M, KaramBeigi, Jamshidi Z، MohseniKochesfehani H, Rezaei Z. Hepatoprotective effects of green tea (*Camellia sinensis*) on diazinon induced liver damage in female mice. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2019; 29(1): **37-47.**

**Correspondence to:** Mahnaz Mohammadi
***Tel:*** *+98 9127669588*
***E-mail:*** mh_mohamadi@yahoo,com
**ORCID ID:** 0000-0002-3376-2762
**Received:** 6 Aug 2018; **Accepted:** 2 Oct 2018

Original Article

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۹، شماره ۱، بهار ۹۸، صفحات ۳۷ تا ۴۷

# اثر حفاظت کبدی عصاره چای سبز (*Camellia sinensis*) در سمیت کبدی ناشی از سم دیازینون در موش‌های ماده

**مهناز محمدی[۱]، فیروزه کرم بیگی[۲]، زهرا جمشیدی[۳]، هما محسنی کوچصفهانی[۴]، زینب رضایی[۵]**

[۱] استادیار، گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر دانشگاه آزاد اسلامی ، اسلامشهر، ایران
[۲] کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۳] مدرس، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران
[۴] دانشیار، گروه سلولی- تکوینی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۵] دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری،دانشگاه آزاد،واحدکازرون

## چکیده

***سابقه و هدف:*** *دیازینون سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب به بافت‌های بدن می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثر چای سبز روی بافت و آنزیم‌های کبد در موش های تیمار شده با دیازینون بود.*

***روش بررسی:*** *در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش ماده نژاد NMRI به ۸ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل۱ ماده‌ای دریافت نکرد؛ گروه کنترل۲ و کنترل۳ به ترتیب روغن زیتون و سالین را به مدت ۷ روز دریافت کردند؛ گروه شاهد۱ تزریق IP سم دیازینون را به مقدار ۶۰mg/kg به مدت ۷ روز و گروه شاهد۲ و شاهد۳ عصاره چای سبز را به ترتیب با دوز ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg به مدت ۲۸ روز دریافت کردند؛ گروه آزمایشی ۱و۲ تحت تیمار با عصاره چای سبز و دیازینون قرار گرفتند، به طوری که ابتدا به ترتیب دوزهای ذکر شده چای سبز را برای ۲۸ روز و دیازینون را به مقدار ۶۰mg/kg از روز ۱۴ به مدت ۷ روز متوالی دریافت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق بافت کبد جدا شد و بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و سطح فعالیت آنزیم های کبدی بررسی شد. داده‌ها با آزمون ANOVA تحلیل شدند.*

***یافته‌ها:*** *فعالیت آنزیم‌های کبدی در گروه شاهد۱ نسبت به گروه کنترل افزایش داشت که پس از به کارگیری عصاره چای سبز در گروه‌های آزمایشی ۱و۲ کاهش نشان داد (P>۰/۰۵). نتایج هیستوپاتولوژیکی نشان داد که در گروه شاهد۱ تخریب هپاتوسیت‌های کبدی به همراه نکروز بافتی دیده می‌شود که این تغییرات در گروه‌های آزمایشی۱ و ۲ دیده نشد.*

***نتیجه‌گیری:*** *می‌توان نتیجه گرفت که مصرف چای سبز سطح آنزیم‌های کبدی را به حالت نرمال برمی‌گرداند و تغییرات بافتی کبد که در اثر دیازینون ایجاد می‌شود را بهبود می‌بخشد.*

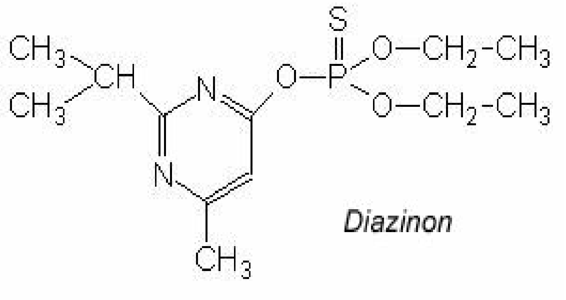
**واژگان کلیدی:** *چای سبز، دیازینون، کبد، آنزیم‌های کبدی.*

## مقدمه

امروزه سموم ارگانوفسفره به صورت گسترده در کشاورزی و صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱). در جنگ تحمیلی، این ترکیبات چندین بار توسط عراق مورد استفاده قرار گرفتند (۲). ارگانوفسفره‌ها به دلیل سمیت بالا، سالانه مسئول مسمومیت صدها هزار نفر در دنیا هستند (۳). دیازینون با نام دیمپلیت (Dimpylate) و نام شیمیایی آیوپاک با فرمول o و o دی اتیل–o -۲– ایزو پروپیل–s– متیل پیریمیدین– ۴ – اتیل– فسفوروتیوات یکی از مهم‌ترین آفت کش‌های ارگانوفسفره است که برای کنترل انواع

آدرس نویسنده مسئول: اسلامشهر،گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر دانشگاه آزاد اسلامی، مهناز محمدی (**email**: mh_mohamadi@yahoo,com)
**ORCID ID:** 0000-0002-3376-2762
تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۵/۱۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/۷/۱۰

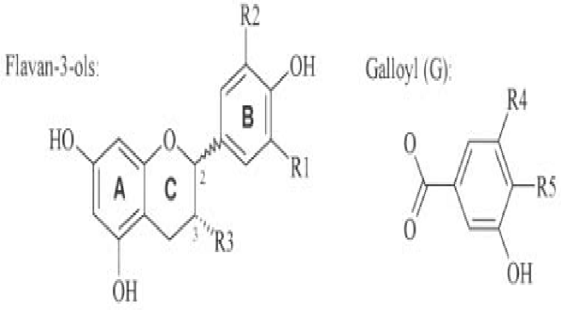
حشرات در کشاورزی و برای سم پاشی ساختمان‌های مسکونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). در ایران، دیازینون به عنوان علت اصلی مرگ و میر ناشی از مسمومیت شناخته می‌شود (۵). یکی از مهم‌ترین اثرات دیازینون همانند سایر سموم ارگانوفسفره غیر فعال کردن آنزیم استیل کولین استراز است. مکانیسم این عمل بدین شرح است که دیازینون با فسفریله کردن اسید آمینه سرین در جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز موجب غیر فعال شدن این آنزیم و در نتیجه تجمع استیل کولین در سیناپس‌های کولینرزیک و سپس آسیب به سیستم عصبی می‌شود (۶). دیازینون می‌تواند از طریق پوست، خوردن و آشامیدن و تنفس وارد بدن شود (۷). دیازینون بر سیستم عصبی، سیستم تنفسی، دستگاه گوارشی و پوست انسان اثرات مخرب زیادی دارد. همچنین این سم می‌تواند باعث تغییرات بیوشیمیایی و خونی در بدن شود (۸). برخی از علایم مسمومیت با این سم شامل سردرد، ضعف، احساس خستگی، گشاد شدن مردمک چشم و عدم توانایی دید صحیح است (۹). علاوه بر این دیازینون باعث اثرات سمی در سلول‌های خونی طحال، تیموس و غده‌های لنفاوی می‌شود (۱۰). دیازینون به آسانی از طریق روده جذب و به سرعت طی چند ساعت وارد خون می‌شود، سپس وارد کبد شده و در کبد توسط سیستم سیتوکروم P450 و آنزیم‌های میکروزومال موجود در کبد اکسید شده و از طریق دسولفوراسیون اکسیداتیو به متابولیت فعال سمی خود یعنی دیازوکسان، هیدروکسی دیازوکسان و هیدروکسیل دیازینون تبدیل می‌شود (۱۱، ۱۲). دیازینون در کبد سبب تغییر در آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی و تورم میتوکندری در هپاتوسیت‌ها و مرگ سلولی در هپاتوسیت‌ها می‌شود (۱۳).در حالت طبیعی، در اثر فعالیت و متابولیسم سلول‌ها مقداری رادیکال آزاد تولید می‌شود که در نهایت توسط عوامل آنتی اکسیدانی موجود در بدن نظیر سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون خنثی می‌شوند. در بدن بین تولید و خنثی شدن رادیکال‌های آزاد همواره تعادل وجود دارد. اما هنگامی که در اثر عوامل غیرطبیعی تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد، استرس اکسیداتیو به وجود می‌آید که در نهایت سبب تغییرات پاتولوژیک و آسیب جدی به سلول‌ها می‌شود (۱۴، ۱۵). تحقیقات نشان می‌دهد که دیازینون از طریق افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (۱۶، ۱۷). اگر بافت کبد دچار استرس اکسیداتیو شود، افزایش حضور آنزیم‌های شاخص در خون بیانگر آسیب به بافت کبد است (۱۸). آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترنسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) حساس‌ترین آنزیم‌های تشخیصی بافت کبد هستند (۱۹). ساختار شماتیک دیازینون به صورت شکل ۱ است (۲۰):




**شکل ۱.** نمایی شماتیک از ساختار دیازینون

از آنجایی که بیشترین اثر تخریبی دیازینون بر بافت کبد است، استفاده از ترکیبی که بتواند اثر آن را خنثی کند ضروری به نظر می‌رسد. استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها از دیر باز در جوامع بشری مرسوم بوده و تا حدود نیم قرن پیش گیاهان یکی از مهم ترین منابع تامین دارو برای درمان بیماری ها به شمار می‌رفتند. در سال‌های اخیر به ضرورت بررسی گیاهان دارویی توجه بسیاری شده است. چای سبز نوشیدنی مرسوم در دنیا است و دارای خواص آنتی اکسیدانی و سم زدایی است. چای سبز از گیاه *Camelia sinensis* از خانواده Theaceae گرفته شده است (۲۱). ترکیبات موجود در چای سبز عبارتند از: اسیدهای آمینه، کربوهیدرات، مواد معدنی، لیپید، ویتامین، گزانتیک اسید، زیر واحدهای فرار و پلی فنول‌ها (۲۲). مهم‌ترین زیرواحد زیستی چای سبز، پلی فنول است. اکثر پلی فنول‌های چای سبز، فلاونول‌ها هستند که به عنوان کاتچین شناخته می‌شوند. این پلی فنول‌ها نوعی آنتی اکسیدان هستند (۲۳). آنتی اکسیدان‌ها قابلیت مبارزه با سلول‌های سرطانی را دارند (۲۴). از دیگر اثرات چای سبز القای آپوپتوز (۲۵) و ممانعت از متاستاز در سلول های سرطانی (۲۶)، جلوگیری از بیماری‌های قلبی، کاهش کلسترول بد خون، کاهش تری گلیسیرید، کاهش فشار خون، جلوگیری از دیابت (۲۷)، کاهش وزن بدن (۲۸)، استحکام دندان‌ها و استخوان ها، ضد استرس، سم زدایی از کبد و پیشگیری از آلزایمر است (۳۱-۲۹). چای سبز از کبد در برابر مواد سمی محافظت می‌کند (۳۲). همچنین Sano و همکارانش گزارش کردند که کاتچین‌های چای سبز از پراکسیداسیون لیپیدی

که توسط مواد شیمیایی در کبد ایجاد می‌شود جلوگیری می‌کند (۳۳). چای سبز به دلیل دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی بتا کاروتن، ویتامین C و ویتامین E از سلول‌های کبدی محافظت می‌کند (۳۴). همچنین عصاره چای سبز دارای خواص آنتی اکسیدانی و زدایندگی رادیکال‌های آزاد است (۳۵). ساختار شماتیک چای سبز به صورت شکل ۲ است (۳۶):




**شکل ۲.** نمایی شماتیک از ساختار چای سبز

با توجه به اینکه آنتی اکسیدان‌ها از کبد در مقابل رادیکال‌-های آزاد و عوامل آسیب رسان محافظت می‌کنند (۳۷)، در این مطالعه سعی شد که اثر عصاره چای سبز به عنوان یک منبع غنی از آنتی اکسیدان روی بافت کبد و سطح آنزیم‌های کبدی در مقابل دیازینون ارزیابی شود. مطالعه حاضر برای نخستین بار، به منظور بررسی اثر محافظتی عصاره چای سبز روی بافت کبد و سطح آنزیم های کبدی در موش‌های ماده تیمار شده با سم دیازینون انجام گرفت. هدف از این مطالعه تعیین اثر تخریبی دیازینون و میزان اثر بخشی چای سبز و بررسی اثر توام چای سبز و دیازینون بر بافت کبد و سطح آنزیم های کبدی بود.

## مواد و روشها

### حیوان مورد آزمایش و شرایط نگهداری حیوانات

در این مطالعه تجربی، موش‌های سوری ماده نژاد NMRI در محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم به تعداد ۴۰ سر از انستیتو پاستور تهران واقع در خیابان پاستور خریداری شدند و در اتاق حیوانات در دانشگاه خوارزمی تهران تحت شرایط استاندارد با رطوبت ۷۰-۶۰ درصد با دسترسی به آب و غذا، دوره تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و حرارت ۲۴-۱۸ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و مورد آزمایش قرار گرفتند. تمام نمونه گیری‌ها در یک زمان مشخص یعنی در ساعت ۸ الی ۱۰ صبح انجام گرفت.

### روش عصاره گیری

چای سبز مورد استفاده در این آزمایش در فروردین ماه سال ۱۳۹۲ از باغ های سبز لاهیجان تهیه شد و عصاره گیری در دانشگاه شهید بهشتی تهران انجام شد. برای تهیه عصاره چای سبز ابتدا برگ های چای سبز توسط آسیاب برقی پودر شده و بعد در اتانول ۰/۸۰ خیسانده شد. سپس محلول به دست آمده با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شده و با روش تغلیظ در خلا عصاره گیری به عمل آمد (۴۰-۳۸). غلظت موثر از عصاره چای سبز به صورت تازه در هر روز از رقیق کردن عصاره غلیظ شده با محلول سالین تهیه شد (۴۱).

### سم مورد مطالعه

سم دیازینون( خلوص ۱۰۰ درصد) متعلق به شرکت Supelco آمریکا است که از شرکت سیگما خریداری شد. سم دیازینون با روغن زیتون رقیق شد. لازم به ذکر است که تمام نمونه‌ها در اولین روز آزمایش در صفر توزین شدند و قبل از تزریق ابتدا سطح پوست با استفاده از الکل ضدعفونی و سپس در تمام موارد، تزریق توسط سرنگ انسولین و به روش IP انجام شد.

### گروه‌های مورد مطالعه

موش‌ها در این آزمایش به هشت گروه پنج تایی تقسیم شدند: گروه کنترل ۱ به مدت بیست و هشت روز هیچ گونه ماده ای دریافت نکردند. برای اثبات این موضوع که آیا روغن زیتون (که به عنوان رقیق کننده دیازینون استفاده شد) به تنهایی دارای اثر پاتولوژیک است یا نه، علاوه بر گروه کنترل۱(که هیچ ماده ای دریافت نکردند)، گروه کنترل۲ نیز مورد بررسی قرار گرفتند. گروه کنترل ۲، به مدت هفت روز روغن زیتون دریافت کردند. همچنین گروه کنترل ۳ نیز به مدت هفت روز برای بررسی اثر سالین (که به عنوان رقیق کننده چای سبز استفاده شد) این حلال را دریافت کردند. گروه شاهد ۱، سم دیازینون را به مقدارmg/kg ۶۰ به مدت هفت روز متوالی دریافت کردند. گروه شاهد ۲، عصاره چای سبز را با دوز mg/kg ۲۰۰ و گروه شاهد ۳، عصاره چای سبز را با دوز mg/kg ۳۰۰ به مدت بیست و هشت روز دریافت کردند. گروه آزمایشی ۱، عصاره چای سبز را با دوز ۲۰۰mg/kg به مدت بیست و هشت روز دریافت کردند و از روز چهاردهم نیز به همراه تزریق عصاره چای سبز، دیازینون را به مقدار mg/kg ۶۰ به مدت هفت روز متوالی دریافت کردند. گروه آزمایشی ۲، عصاره چای سبز را با دوز mg/kg ۳۰۰ به مدت بیست و هشت روز دریافت کردند و از روز چهاردهم نیز به همراه تزریق عصاره چای سبز، دیازینون را

به مقدار mg/kg ۶۰ به مدت هفت روز متوالی دریافت کردند.

انتخاب مقدار غلظت موثر چای سبز تزریق شده به این صورت بود که LD50 آن mg/kg ۵۰۰ در نظرگرفته شد، زیرا پس از تزریق این دوز بیش از نیمی از موش ها مردند و پس از تزریق دوز mg/kg ۴۰۰ نیز نزدیک به نیمی از موش‌ها مردند و بنابراین دوزهای ۲۰۰ و mg/kg ۳۰۰ مناسب تشخیص داده شدند تحقیقات دیگر نیز درستی این امر رانشان داده‌اند (۴۲). غلظت موثر چای سبز در این مطالعه دوز mg/kg ۳۰۰ بود. بر اساس تحقیقات انجام گرفته توسط شکرزاده و همکارانشان، غلظت کشنده دیازینون در موش سوری ۸۵ تا mg/kg ۱۳۵ است (۴۳). با تزریق دوز ۷۰mg/kg نزدیک به نیمی از موش‌ها مردند، پس در این آزمایش برای تزریق دیازینون از دوز mg/kg ۶۰ استفاده شد. مطالعات دیگر نیز درستی این امر را نشان دادند (۴۴).

**زمان خون‌گیری و جداسازی نمونه‌ها**

دو روز پس از آخرین تزریق، موش‌ها تحت بیهوشی قرار گرفتند و از قلب حیوان جهت اندازه گیری میزان سطح آنزیم‌های کبدی خون‌گیری انجام شد. بعد از کالبد شکافی، کبد حیوانات جهت بررسی هیستوپاتولوژی خارج شد.

**روش بررسی هیستوپاتولوژی**

کبد موش‌ها خارج شد و به مدت پنج دقیقه با محلول سالین شستشو داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. سپس نمونه‌ها در پارافین قالب گیری و توسط میکروتوم چرخشی برش هایی به صورت سریالی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. مقاطع میکروسکوپی تهیه شده سپس با استفاده از روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند و سپس نمونه های رنگ آمیزی شده با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند و با دوربین معمولی تصویر تهیه شد.

**بیوشیمیایی**

پس از جمع آوری خون، نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شد تا منعقد گردند. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ده دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم‌ها جدا شدند و برای اندازه گیری سطح آنزیم‌های کبدی به آزمایشگاه تشخیص طبی ارسال شدند.

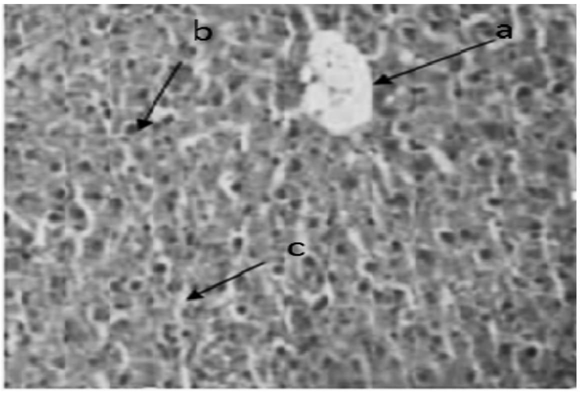
**محاسبات آماری**

میانگین و انحراف معیار سطح آنزیم‌های کبد این هشت گروه محاسبه شدند و توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی توکی تحلیل آماری انجام شد. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

**بررسی‌های هیستوپاتولوژیک**

در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک سعی شد که گروه‌ها فقط بر اساس تغییرات پاتولوژیکی بافت کبد مطالعه شوند و هیچ گونه سنجش کمی روی بافت انجام نشد. در نمونه‌های کنترل ۱ که هیچ ماده‌ای دریافت نکرده بودند، بافت کبد کاملا سالم دیده شد، یعنی دارای لوبول‌های کبدی با ورید مرکزی مشخص، هپاتوسیت‌های چندضلعی و دارای سیتوپلاسم قرمز و هسته کروی و سینوزوئیدهای واضح بودند (شکل ۱).

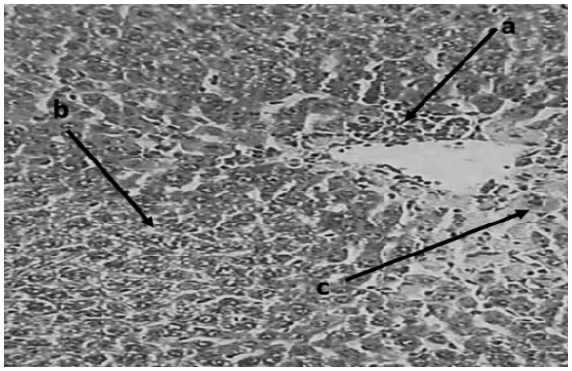



**شکل ۱.** رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی۴۰۰ برابر. A: ورید مرکزی واضح دیده می شود؛ b: هپاتوسیت ها طبیعی و دارای ساختار چند ضلعی هستند؛ c: سینوزوئیدها دارای ساختار مشخص هستند.

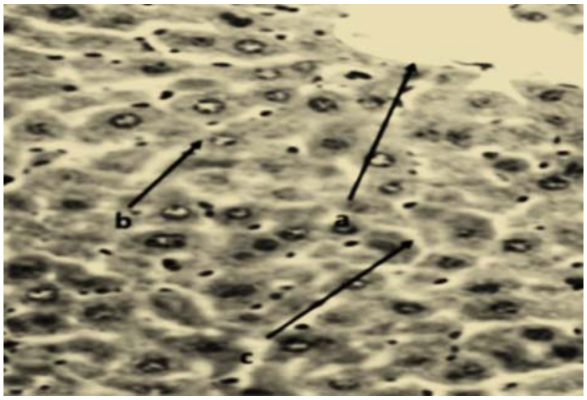
در گروه کنترل ۲ و ۳ که به ترتیب روغن زیتون و سالین دریافت کردند، بافت کبد کاملا طبیعی و مشابه گروه کنترل۱ مشاهده شد و هیچگونه تغییر هیستوپاتولوژیکی دیده نشد.

در تمام نمونه‌های گروه شاهد ۱ که سم دیازینون دریافت کرده بودند، تورم هپاتوسیت‌ها و نکروز دیده شد و همچنین سینوزوئیدها باریک و نامشخص مشاهده شد و نظم لوبول‌های کبدی تا حد زیادی به هم ریخته بود (شکل ۲).

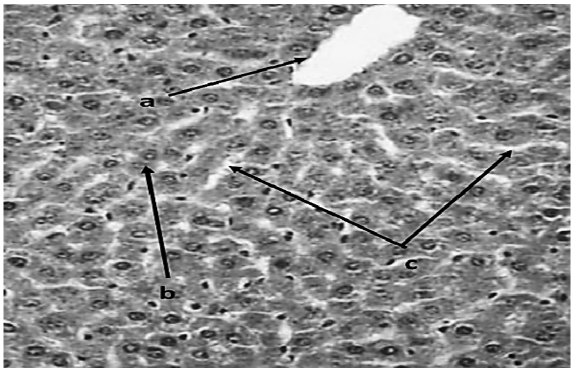
در گروه شاهد ۲ و ۳ که عصاره چای سبز را با دوز ۲۰۰ و mg/kg ۳۰۰ دریافت کرده بودند، تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده نشد. سلول‌های کبدی هیچ‌گونه التهابی را نشان ندادند و نکروز هم مشاهده نشد و سینوزوئیدها کاملا واضح دیده شدند (شکل ۳).




**شکل ۲.** رنگ آمیزیH&E، بزرگنمایی۴۰۰×. A:نکروز در حاشیه ورید مرکزی وجود دارد؛b: سینوزوئیدها باریک و نامشخص هستند؛ c: تورم هپاتوسیت ها دیده می شود.




**شکل ۳.** رنگ آمیزیH&E، بزرگنمایی۴۰۰×. A: ورید مرکزی دارای ساختار طبیعی است؛ b: هپاتوسیت های چند ضلعی دارای ساختار طبیعی هستند؛ c: سینوزوئیدها مشخص و واضح هستند.




**شکل ۴.** رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰۰×a: در حاشیه ورید مرکزی نکروز دیده نمی شود؛ b: هپاتوسیت ها فاقد تورم هستند؛ c: سینوزوئیدها دارای ساختار طبیعی هستند.

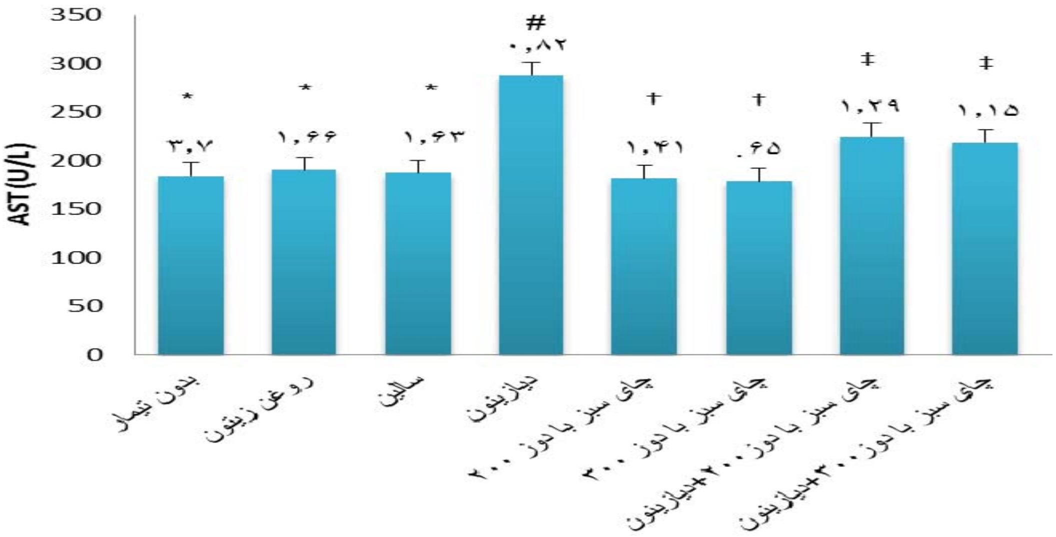
در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ که عصاره چای سبز (به ترتیب با دوز ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg) و سم دیازینون دریافت کرده بودند، بافت کبد هیچ‌گونه التهاب و نکروزی را نشان نداد (شکل ۴).

**بررسی‌های بیوشیمیایی**

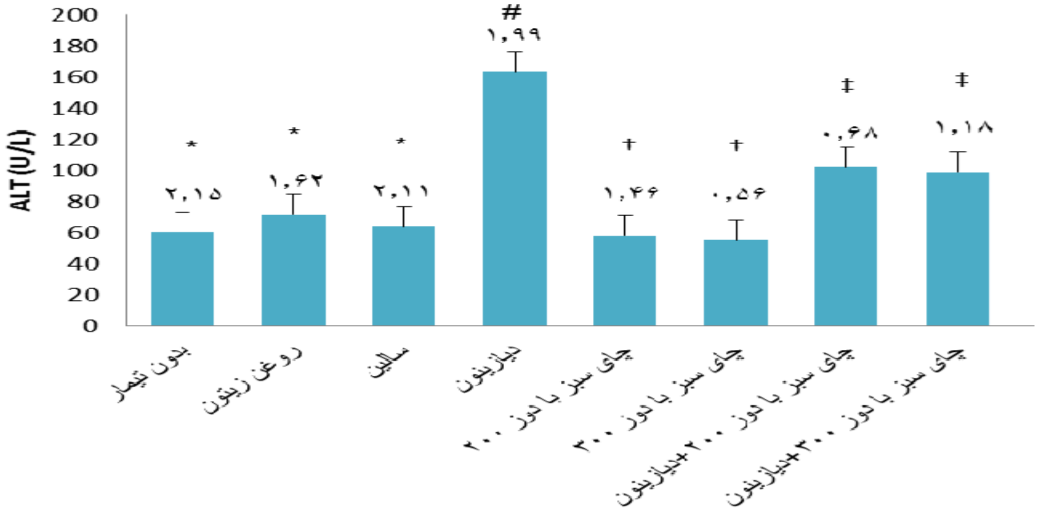
نتایج بیوشیمیایی حاصل از اندازه گیری سطح آنزیم‌های کبد، در این گروه ها تغییرات معنی‌داری را نشان داد. نتایج بررسی های انجام شده توسط ازمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی توکی نشان داد که شاهد ۳ پایین‌ترین میزان آنزیم‌های کبد و شاهد ۱ بالاترین میزان آنزیم‌های کبدی را دارد، به طوری که میانگین میزان سطح آنزیم AST در گروه شاهد ۳، ۱۷۸/۸ U/L و در گروه شاهد۱، ۲۸۷/۷ U/L بود. میانگین میزان سطح آنزیم ALT در گروه شاهد۳، ۵۴/۸ U/L و در گروه شاهد۱، ۱۶۳/۲ U/L بود. میانگین میزان سطح آنزیم ALP در گروه شاهد۳، U/L ۲۸۱/۷ و در گروه شاهد۱، U/L ۳۹۰/۵ بود. داده‌ها نشان دادند که میانگین میزان سطح آنزیم AST در گروه شاهد ۱، ۲۸۷/۷ U/L و در گروه کنترل۱، U/L ۷/ ۱۸۴ بود. میانگین میزان سطح آنزیم ALT در گروه شاهد۱، ۱۶۳/۲ U/L و در گروه کنترل۱، ۶۰ U/L بود. میانگین میزان سطح آنزیم ALP در گروه شاهد۱، ۳۹۰/۵ U/L و در گروه کنترل۱، U/L ۲۸۶ بود. اعداد به دست آمده از این آزمون مشخص می‌کند که میزان آنزیم‌های کبدی در گروه دریافت کننده دیازینون نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (P<۰/۰۵). در گروه آزمایشی ۱و ۲ نسبت به گروه شاهد ۱ میزان سطح آنزیم های کبدی کاهش یافت (P<۰/۰۵)، اما اختلاف میانگین میزان آنزیم‌های کبدی در گروه کنترل ۱و۲ بسیار ناچیز بود (P>۰/۰۵). در گروه شاهد۳ نسبت به شاهد۲ به مقدار جزیی نیز کاهش در سطح این آنزیم ها دیده شد و میزان سطح آنزیم‌های کبدی در گروه شاهد ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ولی این تفاوت‌ها در این گروه‌ها معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

## بحث

امروزه برای کنترل و درمان بیماری‌ها، به طور گسترده از گیاهان دارویی استفاده می‌شود. علت این امر کم ضرر بودن و اثرات مفید گیاهان دارویی است. این مطالعه با هدف تعیین اثر حفاظتی عصاره چای سبز روی بافت کبد و سطح آنزیم‌های کبدی در موش‌های تیمار شده با سم دیازینون انجام شد. دیازینون می‌تواند سبب القا استرس اکسیداتیو و تولید فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد شود که بیشترین اثر




**نمودار ۱.** مقایسه میزان میانگین آنزیم AST در گروه های مختلف( برحسب واحد در لیتر). * در مقایسه با شاهد ۱،آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، # در مقایسه با کنترل ۱، کنترل۲، کنترل۳، شاهد۲، شاهد۳، آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، † در مقایسه با شاهد۱، آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، ‡ در مقایسه با کنترل۱، کنترل۲، کنترل۳، شاهد۱، شاهد۱، شاهد۳

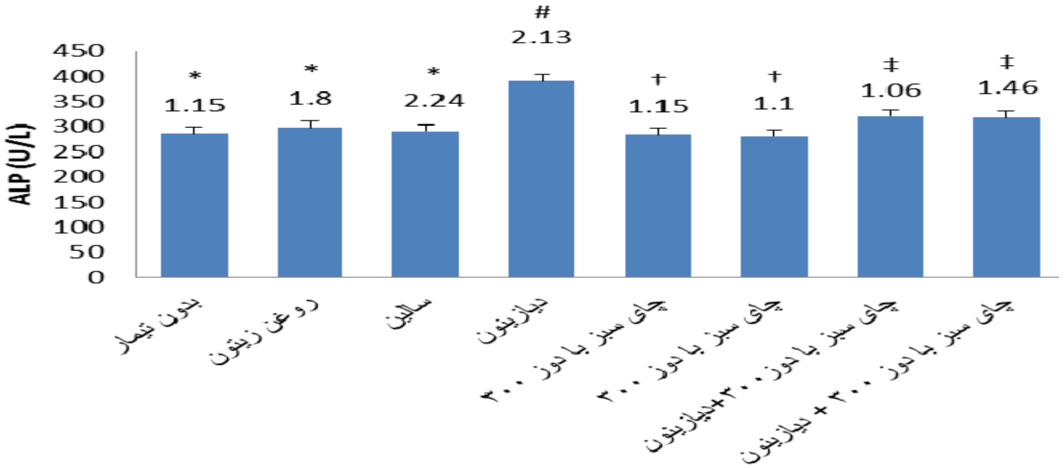



**نمودار ۲.** مقایسه میزان میانگین آنزیمALT درگروههای مختلف( برحسب واحددرلیتر). * در مقایسه با شاهد ۱،آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، # در مقایسه با کنترل ۱، کنترل۲، کنترل۳، شاهد۲، شاهد۳، آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، † در مقایسه با شاهد۱، آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، ‡ در مقایسه با کنترل۱، کنترل۲، کنترل۳، شاهد۱، شاهد۲، شاهد۳ (P<۰/۰۰۱)

تخریبی دیازینون و رادیکال‌های آزاد حاصل از متابولیسم آن بر بافت کبد است (۴۳). تحقیقات انجام گرفته توسط Sung نشان داد که چای سبز به علت داشتن خواص آنتی اکسیدانی خود نقش مهمی را در بهبود شرایط پاتولوژیکی ناشی از عوامل آسیب رسان در کبد دارد (۴۵). در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که عصاره چای سبز تغییرات هیستوپاتولوژیکی و بیوشیمیایی ایجاد شده توسط سم دیازینون را بهبود می‌بخشد.

در این مطالعه نیز در اثر دریافت سم دیازینون، تغییرات هیستوپاتولوژیکی در بافت کبد مشاهده شد، به طوری که در این مطالعه در اثر دریافت سم دیازینون، تغییر شکل هپاتوسیت‌ها، لوبول‌ها و سینوزوئیدهای کبدی دیده شد.

در گروه‌هایی که سم دیازینون و عصاره چای سبز را دریافت کرده بودند (گروه آزمایشی ۱و۲)، سلول‌ها مشابه گروه کنترل دیده شدند و هیچ‌گونه تغییر شکل پاتولوژیکی و نکروز دیده نشد. بنابراین تورم هپاتوسیت‌ها و نامشخص




**نمودار ۳.** مقایسه میزان میانگین آنزیمALP درگروههای مختلف( برحسب واحد در لیتر). * در مقایسه با شاهد ۱،آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، # در مقایسه با کنترل ۱، کنترل۲، کنترل۳، شاهد۲، شاهد۳، آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، † در مقایسه با شاهد۱، آزمایشی۱، آزمایشی۲(P<۰/۰۰۱)، ‡ در مقایسه با کنترل۱، کنترل۲، کنترل۳، شاهد۱، شاهد۲، شاهد۳ (P<۰/۰۰۱)

شدن سینوزوئیدها و نامنظم شدن لوبول‌های کبدی که در اثر دریافت دیازینون ایجاد شد، در حضور عصاره چای سبز بهبود یافته بود و هیچگونه تغییرات هیستوپاتولوژیکی دیده نشد. یکی از مواردی که می‌تواند کاهش عملکرد کبد را نشان دهد، اندازه گیری میزان آنزیم‌های کبدی است (۴۶). این آنزیم‌ها به طور طبیعی در سلول‌های کبدی وجود دارند. هنگام آسیب این سلول‌ها به علت تورم، نکروز یا تغییر شکل آنها و یا متلاشی شدن این سلول‌ها، آنزیم‌های کبدی به درون خون تخلیه شده و باعث افزایش سطح این آنزیم‌ها در خون می‌شوند؛ بنابراین افزایش غلظت این آنزیم‌ها، معیار مناسبی برای ارزیابی میزان آسیب کبدی به شمار می‌رود (۴۷). نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که دریافت عصاره چای سبز با کاهش عمده‌ای در افزایش پاتولوژیک این آنزیم‌ها همراه است. اثرات جانبی سم دیازینون و عصاره چای سبز از نظر بیوشیمیایی با اندازه گیری سطح آنزیم‌های AST، ALT و ALP مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در یافته‌ها بیان شد، میزان سطح این آنزیم‌ها در گروه دریافت کننده دیازینون با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم (گروه شاهد۱) از همه گروه‌ها بالاتر بود. در این آزمایش در گروه شاهد ۱ که تنها سم دیازینون دریافت کرده بودند به علت آسیب هپاتوسیت‌ها، لوبول‌ها و سینوزوئیدهای کبد و در نتیجه کاهش عملکرد کبد افزایش سطح این آنزیم‌ها در خون دیده شد. مطالعات انجام شده توسط خرسندی و همکارانش نشان داد که بعضی از ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در چای سبز دارای اثرات محافظتی در آسیب بافتی به کبد و بهبود وضعیت سلول‌های کبدی و افزایش دهنده کارایی کبد هستند (۳۲). در این مطالعه نیز در گروه‌های دریافت کننده چای سبز (گروه شاهد ۲و ۳)، سطح آنزیم‌های کبدی در خون پایین می‌آید (اندکی پایین‌تر از سطح این آنزیم‌ها در گروه کنترل) که نشان دهنده تاثیر مثبت چای سبز بر افزایش توانایی و کارآمدی کبد و در نتیجه کاهش سطح این فاکتورها در خون است. مطالعات نسبتا زیادی در مورد اثرات چای سبز و آنتی اکسیدان‌های مختلف روی کبد و سطح آنزیم‌های کبدی انجام گرفته است. بر اساس مطالعات Crespy و Williams، عصاره چای سبز دارای خواص آنتی اکسیدانی و زدایندگی رادیکال‌های آزاد است (۴۸). در مطالعات Guo و همکارانش، اثرات محافظتی پلی فنل‌های چای سبز در برابر آپوپتوزیس در سلول‌های کبدی بررسی شد (۴۹). Sai و همکارانش اثرات محافظتی چای سبز را در برابر سمیت کبدی و پرولیفراسیون سلولی در کبد موش صحرایی به اثبات رساندند (۵۰). Mehana و همکارانش در مطالعات خود نشان دادند که عصاره چای سبز قادر است کبد را در برابر سمیت کبدی سرب محافظت کند (۵۱). در مطالعه‌ای که توسط Sugiyama و همکارانش انجام شد مشخص شد که عصاره چای سبز مسمومیت کبدی ناشی از بتا- د- گالاکتوزآمین را بهبود می‌بخشد (۵۲). نتایج حاصل از مطالعه حاضر با یافته‌های فوق همخوانی دارد. در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که عصاره چای سبز تغییرات هیستوپاتولوژی و بیوشیمیایی ایجاد شده توسط سم دیازینون را بهبود می‌بخشد و بنابراین در گروه‌های

دریافت کننده چای سبز و دیازینون (گروه آزمایشی ۱و ۲) نیز هپاتوسیت‌ها، سینوزوئیدها و لوبول‌های کبد مشابه گروه کنترل بودند و سطح آنزیم‌های کبد نیز نسبت به گروه دریافت کننده سم دیازینون (شاهد۱) پایین می‌آید که نشان می‌دهد که تاثیر مثبت عصاره چای سبز بیشتر از تاثیر منفی دیازینون است و عصاره چای سبز با افزایش توانایی و کارایی کبد باعث کاهش سطح آنزیم‌های کبد در خون می‌شود. با توجه به بهبود هپاتوسیت‌ها، لوبول‌ها و سینوزوئیدهای کبد و کاهش سطح آنزیم‌های کبد و کاهش سطح آنزیم‌های کبد در موش‌هایی که فقط عصاره چای سبز را دریافت کرده‌اند (شاهد ۲ و ۳) می‌توان نتیجه گرفت که عصاره گیاه چای سبز با دوزهای مذکور، به تنهایی فاقد اثرات نامطلوب بر بافت کبد و سطح آنزیم‌های کبدی است. در مطالعات انجام گرفته توسط محققان نشان داده شده است که ماده موثر در گیاه چای سبز اغلب کاتچین است که دارای خواص آنتی اکسیدانی بسیار قوی است (۵۳). در بررسی‌های انجام گرفته توسط مهاجری و همکارانش نشان داده شد که کاتچین در کبد علت اصلی تخریب رادیکال‌های آزاد است (۳۳). مطالعه Sung و همکارانش نشان داد که مکانیسم محافظتی چای سبز ممکن است به علت خاصیت آنتی اکسیدانی آن باشد (۴۵). در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد که تجویز عصاره چای سبز باعث کاهش تغییرات هیستوپاتولوژی و بیوشیمیایی کبد ناشی از دیازینون می‌شود و به نظر می‌رسد که بهبود بافت کبد و کاهش سطح آنزیم‌های کبد در گروه‌های آزمایشی ۱و۲ به علت خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز است. علاوه بر عصاره چای سبز، گیاهان دارویی دیگر نیز در کاهش سطح آنزیم‌های کبدی و افزایش توانایی کبد موثر هستند. در مطالعه‌ای که توسط نامجو و همکارانش انجام شد نشان دادند که عصاره هیدروالکلی گیاه بادرنجبویه باعث کاهش سطح آنزیم‌های کبد می‌شود (۵۴). در مطالعه دیگری که توسط زارع و همکارانش بر روی گیاه جاشیر در موش‌های دیابتی انجام گرفت نشان دادند که عصاره هیدروالکلی این گیاه سبب بهبود بافت کبد و کاهش آنزیم‌های کبدی می‌شود (۵۵). جدیدالاسلام و همکارانش نشان دادند که عصاره گیاه صبر زرد باعث کاهش معنی‌داری در آنزیم‌های AST، ALT و ALP می‌شود (۵۶). در پژوهشی دیگر که توسط بابایی و همکارانش بر روی عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران انجام شد، مشخص شد که عصاره این گیاه سبب افزایش کارایی کبد و کاهش سطح آنزیم‌های کبدی می‌شود. در مقایسه بین پژوهش حاضر با مطالعات انجام گرفته بر روی گیاهان دارویی دیگر نتیجه گرفته شد که تاثیر عصاره چای سبز بر بهبود بافت کبد و کاهش سطح آنزیم‌های کبدی در مقایسه با گیاهان دارویی دیگر بیشتر است (۳۳).در این مطالعه مشخص شد که دوزهای ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره چای سبز اثرات حفاظتی نزدیکی بر سطح آنزیم‌های کبدی دارد و تفاوت چشم‌گیری در اثرات این دو دوز وجود ندارد، اما با این حال استفاده از دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سطح آنزیم‌های کبدی خون را بیشتر کاهش می‌دهد که نشان دهنده تاثیر مثبت بیشتر این دوز در بافت کبد و سطح آنزیم های کبدی است.

با توجه به مطالعات قبلی انجام شده و مطالعه حاضر این گونه نتیجه‌گیری می‌شود که تجویز عصاره چای سبز، اثرات جانبی سم دیازینون را از نظر هیستوپاتولوژی و بیوشیمیایی کاهش می‌دهد. اگر چه مکانیسم اثر حفاظتی چای سبز در این مطالعه نشان داده شده است، اما توصیه می شود برای اثبات این اثر و همچنین بررسی مکانیسم عملکرد آن مطالعات وسیع‌تری در سطح فراساختاری و مولکولی انجام گیرد.

## *REFERENCES*

1- Garfitt SJ, Jones K, Mason HJ, Cocker J. Exposure to the organophosphate diazinon: data from ahuman volunteer study with oral and dermal dose. Toxicol Lett 2002;134:105-13.

2- Storm JE, Rozman KK, Doull J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. Toxicology 2002;150:1-29.

3- Sudakin DL, Power LE. Organophosphate exposures in the united states: a longitudinal analysis of incidents reported to poison centers. J Toxicol Environ Health A 2007;70:141-7.

4- Khanjani M, Poormirza A. Toxicology. Booali Sina University.2005.

5- Peter J, Cherian A. Organic insecticides. Anaesth Intens Care 2000;28:11-21.

6- Shadnia S, Azizi E, Hosseini R, Khoei S, Fouladdel S, Pajoumand A, et al. Evalution of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. Hum Exp Toxicol 2005;24:439-45.

7- Zhang H, Sultafos L. Biotransformation of the organophosphorus insecticides parathion and methyl effect oof black tea extract. Clin Chim Acta 2005;358:1-138.

8- Chambers J, Oppenheimer SF. Organophosphates, serine esterase inhibition, and modeling of organophosphate toxicity. Toxicol Sci 2004;77:185-7.

9- Girdano G, Afsharine Z, Guizzetti M, Vitalone A, Kavanagh TJ, Costa LG. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. Toxicol Appl Pharmacol 2007;219:801-900.

10- Hariri AT, Moallem SA, Mahmoudi M, Hosseini Zadeh H. The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. Phytomedicine 2011;18:449-504.

11- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrel RW. The estimation of red cell superoxide activity. J Lab Clin Med 1975;85:337-41.

12- Garfitt SJ, Jones K, Mason H, Cocker J. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. Toxicol Lett 2002;134:105-13.

13- Kalender S, Ogutcu A, Uzunhis M, Acikgoz F, Durak D. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. Toxicology 2005;211:197-206.

14- Meister A. Glutathione metabolism. Methods Enzymol 1995;251:3-7.

15- Cruc E. Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of cyprinus carpio. Environ Toxicol 2010;26:571-8.

16- Jafari M, Salehi M, Asgari A, Ahmadi S. Effects of paraoxon on serum biochemical parameters and oxidative stress induction in various tissues of wistar and Norway rats. Environ Toxicol Pharmacol 2012;34:876-87.

17- Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M. Induction of oxidative stress and acetyl cholinesterase inhibition in organiphosphorous pesticide manufacturing workers. Hum Exp Toxicol 2002;21:179-82.

18-Hansch C, Mckarns S, Smith C, Dodittle D. Comparative QSAR evidence for a free-radical mechanism of phenolin duced toxisity. Chem Biol Inter 2000;127:61-72.

19- Giannini E, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alternation: a guide for clinicians. CMAJ 2005;172:367-79.

20- R Dehghani, B Fathi, Z Aboo-Saaidi, A Jalalati, M Ramezani, M Nohi. Epidemiology of Poisonings in Shahid Beheshti Hospital in Kashan, Iran. IJMTFM 2015;5.

21- Ogle N. Green tea Camellia Sinensis. J Australian Herbalism 2009;21:7-44.

22- Demeule M, Levesque J, Annabi B, Gingras D. Green tea catechins as novel antitumor and antiangiogenic compound. Curr Med Chem 2002;2:441-63.

23- Brown D. Green tea (camellia sinensis) extract and its possible role in the prevention of cancer. Altern Med Rev 1999;4:360-70.

24- Sato K, Sueoka K, Tanigaki R, Tajima H, Nakabayashi A, Yoshimura Y, et al. Green tea extract attenuate doxorubicin-inducced spermatognic disorders in conjunction with higher telomerase activity in mice. J Assist Reprod Genet 2010;27:501-8.

25- Singh M, Tyagi S, Bhui K, Prasad S. Regulation of cell growth through cell cycle arrest and apoptosis in HPV. Ann Pharmacol 2009;33:17-30.

26- Thangapazham R, Passi N, Maheshwari RK. Green tea polyphenol and Epigallocathecin gallate induced apoptosis and inhibit invasion in human breast cancer cells. Cancer Biol Ther 2007;6:1938-43.

27- Tsuneki H, Ishizuka M, Terasaw M, Wu JB, Sasaoka T, Kimura L. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. BMC Pharmacol 2004;4:18.

28- Tokimitsu I. Effects of tea catechins on lipid metabolism and body fat accumulation. Biofactors 2004;22:141-3.

29- Luo T, Wang J, Yin Y, Hua H, Jing J, Sun X, et al. epigallocatechin gallate sensitize breast cancer cells to paclitaxel in a murine model of breast carcinoma. Breast Cancer Res 2010;12:R8.

30- Tahssein A, Dawser K, Shawi N. The possible protective effect of different concentrations of Aqueous green tea extract (AGTE) Against Hepatic Toxicity induced by DDT rats. J Pharm Sci 2011;2:157-67.

31- El-Beshbishy HA. Hepatoprotective effect of green tea (Camellia sinensis) Extract against Tamoxifen-induced Liver Injury in Rats. J Biochem Mol Biol 2005;38:563-70.

32- Khorsandi LS, Javadnia F, Orazizadeh M, Abd Elahi M. Effect of green tea extract on acetaminophen induced acute hepatotoxicity in mice. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2010;26:9-22.

33- Sano M, Takahashi Y, Yoshino K, Shimoi K, Nakamura Y, Tomita I, et al. Effect of tea on lipid peroxidation in rat liver and kidney: a comparision green and black tea feeding . Biol Pharm Bull 1995;18:1006-8.

34- Pietta P, Simonetti P, Gardana C, Brusamolino A. Catechin metabolites after intake of green tea infusions. Biofactors 1998;8:111-8.

35- Rice-Evans C, Miller N. Measurement of the ontioxidant status of dietary constituents, low-density lipoproteins and plasma. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1997;57:449-505.

36- Jamshidi Z, Taheri E, Mohammadi M, Kohseni Kouchesfehani H. The protective effect of green tea extract on kidney tissues and blood factors of kidney functions in male mice treated with paclitaxel. J Med Plants 2017;16:47-59.

37- Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. J Nutr 2003;133:3275S-84.

38- Perva A, Skerget M, Knez Z, Weinreich B . Extraction of active ingredients from green tea (Camellia sinensis): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. Food Chem 2006;96:597-605.

39- Ahmadian N, Azhdari H, Ruzeh S. Antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of green tea in male mice. KUMS 2014;597-605.

40- Heidari E, Ghoreishi M. Experimental Optimization of Modified Supercritical Extraction of Epigallocatech in Gallate from Green Tea with Ethanol Co- Solvent. J Sep Sci Engineering 2012;39-48.

41- Mohseni KH, Nabiuni M, Mortazavi Asl SS, Nazari Z, Amiri F. Effect of green tea hydro alcoholic extract on aquaporin4 expression in cerebral cortex, as a potential therapeutic way to alleviate edema symptoms. J Cell Tissue 2014;5:309-16.

42- Kenji S, Kou S, Reiko T, Hroto T. Green tea extracts attenuate doxorubicin-induced spermatogenic disorders in conjunction with higher telomerase activity in mice. J Assist Reprod 2010;27:501-8.

43- Shokrzadeh M, Ahangar N, Abdollahi M, Shadboorestan A, Omidi M. Diazinon effects on hepatic glutathione levels in rats and protective role of selenium on L-Carnitine. J Mazand Univ Med Sci 2012;22:8-31.

44- Hajigholamali M, Jafari M, Hajihosseini R, Asgari A. Evaluation of oxidative stress biomarkers of rat liver exposed to acute doses of diazinon. JQUMS 2011;15:9-20.

45- Sung H, Nah J, Chum S, Park H, Yang SE, Min WK. Invivo antioxidant effect of greentea. Eur J Clin Nutr 2005;4:527-9.

46- Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM; Public Policy Committee of the American Association for the Study of Liver Disease. Serum activity of alanine aminotransferase as an indicator of health and disease. Hepatology 2008;47:1363-70.

47- Kramer J, Hoffman W. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press 1997;303-57.

48- Crespy V, Williamson G. Areview of the health effects of green tea catchins in invivo animal models. J Nutr 2004;134:3431-40.

49- Guo Q, Zhao B, Li M, Shen S, Xin W. Studies on protective mechanism of four component of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosome. Biochim Biophys Acta 1996;1304:210-22.

50- Sai K, Kai S, Umemora T, Tanimora A, Hasegava R, Inoue T, et al. Protective effect of green tea on hepatotoxisity, oxidative DNA damage and cell proliferation in the rat liver induced by repeat oral administration of 2-nitropropane. Food Chem Toxicol 1998;36:1043-51.

51- Mehana EE, Meki AR, Fazili KM. Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxisity in rats. Exp Toxicol Pathol 2012;64:291-5.

52- Sharangi AB. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (camellia sinensis L.). food Res 2009;42:529-35.

53- Namjoo A, Mirvakili M, Rafieian-Kopaei M. Histopatological and biochemical effects of subcute toxisity of lemon balm hydroalcoholic extract on liver and kidney tissues in the surri mice. J Shahrekord Univ Med Sci 2013;15:62-72.

54- Zare T, Mokhtari M, Mohammdi J. The effect of hydroalcoholic extracts of prangos ferulacea on blood factors of kidney and liver function in diabetic male wistar rats. J Fasa Univ Med Sci 2012;2:174-80.

55- Jadidoleslame M, Shahraki M, Abasnejad M. The survey of aleovera agueous extra and glibenclamid interaction on blood glucose, LFT and lipids diabetic induced male rats by streptozotocin. J Rafsanjan Univ Med 2011;9:185-94.

56- Babaei A, Arshami J, Haghparast A, Danesh Mesgaran M. Effects of crocus sativus extract on biochemical blood parameters in male rats. J Arak Univ Med Sci 2013;16:14-21.