

## اثر چای کومبوجا بر آسیب کبدی ناشی از تیواستامید در موش صحرایی

نجمه کبیری\*<sup>۱</sup>، محبوبه آهنگر دارایی<sup>۲</sup>، دکتر پروین محزون<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اصفهان.

۳- دانشیار گروه آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

### چکیده

**زمینه و هدف:** چای کومبوجا، چای شیرین شده با شکر و حاصل فرایند تخمیر ناشی از وجود استیک اسید باکتری و مخمر است. این مطالعه به منظور تعیین اثر چای کومبوجا بر آسیب کبدی ناشی از تیواستامید در موش صحرایی انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی در گروه‌های کنترل، کنترل مثبت دریافت کننده ۴۰۰ mg/kg تیواستامید به مدت دو هفته، گروه درمانی کومبوجا که ابتدا با ۴۰۰ mg/kg تیواستامید و سپس چای کومبوجا تیمار شدند و گروه پیشگیری کومبوجا که ابتدا با کومبوجا (۵۰ mg/kg) به مدت سه هفته و سپس با ۴۰۰ mg/kg تیواستامید تیمار شدند. سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلانین ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، لاکتات دهیدروژناز و بیلی‌روبین توتال اندازه‌گیری شد. مطالعه هیستوپاتولوژیک نمونه‌های کبد گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از رنگ‌آمیزی H&E انجام شد.

**یافته‌ها:** سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلانین ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، لاکتات دهیدروژناز و بیلی‌روبین توتال در گروه تیواستامید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ( $P < 0/05$ ). در حالی که کومبوجا در گروه‌های درمانی و در گروه پیشگیری موجب کاهش معنی‌داری در سطح سرمی آنزیم‌ها در مقایسه با گروه کنترل مثبت گردید ( $P < 0/05$ ). تغییرات هیستوپاتولوژیک سلول‌های کبدی شامل افزایش میتوز و آپاپتوز در گروه تیواستامید ایجاد شد که این تغییرات در گروه‌های مصرف کننده چای کومبوجا کاهش داشت.

**نتیجه‌گیری:** چای کومبوجا دارای اثرات حفاظتی و درمانی در برابر مسمومیت کبدی ناشی از تیواستامید در موش است.

**کلید واژه‌ها:** چای کومبوجا، تیواستامید، کبد، موش صحرایی

\* نویسنده مسؤول: نجمه کبیری، پست الکترونیکی kabiri\_s97@yahoo.com

نشانی: رحمتیه، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دانشکده پزشکی، تلفن ۰۳۸۱-۳۳۳۹۹۴۰، نمابر ۳۳۳۹۹۱۱

وصول مقاله: ۹۱/۶/۱۴، اصلاح نهایی: ۹۲/۴/۱۰، پذیرش مقاله: ۹۲/۴/۲۵

### مقدمه

درون کبدی را القاء می‌کند (۵ و ۴).

در حال حاضر استفاده از میوه‌جات و سبزیجات به علت اثر حفاظتی آنها در برابر بیماری‌هایی نظیر سرطان و بیماری‌های قلبی - عروقی و کبدی روز به روز افزایش می‌یابد (۷ و ۶). این خاصیت اغلب به علت وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان است که موجب جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۸-۱۰).

قارچ کومبوجا یا قارچ منچوری اجتماعی از چند مخمر و باکتری (*Acetobacter xylinum*) است که آن را برای رشد در چای قرار می‌دهند. چای کومبوجا یک چای تخمیری سنتی با گذشته‌ای چندین هزار ساله در شرق است و امروزه در غرب نیز کاملاً رایج شده است. محصول نهایی حاصل از فرآیند تهیه آن، یک نوشیدنی اندکی شیرین و اسیدی متشکل از شکر، اسیدهای

سرطان کبد به عنوان پنجمین بیماری شایع در دنیا بوده و حدود ۸۳ درصد از بیماری‌های کبد را تشکیل می‌دهد. عفونت هپاتیت ویروسی، مواد افزودنی غذا، الکل، سموم قارچی، مواد شیمیایی صنعتی، آلاینده‌های هوا و آب از عوامل خطر مطرح هستند (۲ و ۱). یکی از این ترکیبات سمی تیواستامید است که در صنعت کاربرد زیادی دارد. تیواستامید به صورت پودر سفید یا بیرنگ با بوی ملایمی از مرکابتان است. این ماده قابل حل در آب و اتانول و به‌طور اندکی در اتر قابل حل است. زمانی که برای تجزیه گرم شود؛ گازهای سمی اکسیدهای نیتروژن و اکسیدهای سولفور آزاد می‌کند (۳). تیواستامید باعث تخریب سلول‌های کبدی و القاء سیروز می‌گردد. این ماده یک سم کبدی است و روی سنتز DNA، rRNA، پروتئین و محتوای گلوکوتایون اثرگذار است که تغییرات

تعیین اثر چای کومبوجا بر آسیب کبدی ناشی از تیواستامید در موش صحرایی انجام شد.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۲۰ سر موش صحرایی نر سفید بالغ نژاد ویستار با سن تقریبی ۸ هفته و وزن ۳۰۰-۲۲۰ گرم استفاده شد.

موش‌های صحرایی از حیوانخانه دانشکده پزشکی اصفهان خریداری و در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان نگهداری شدند. قفس‌ها قبل از شروع آزمایش به منظور ضد عفونی شدن با فرمال ۵ درصد شسته شدند. موش‌های صحرایی در شرایط استاندارد و یکسان از نظر آب و غذا و رطوبت مناسب و با چرخه روشنایی - تاریکی ۲۴ ساعته نگهداری شدند. درجه حرارت لانه حدود ۲۳ درجه سانتی‌گراد به همراه رطوبت مناسب و نور کافی تنظیم شد. تغذیه موش‌های صحرایی با استفاده از مواد غذایی جبه‌ای آماده استاندارد شامل ۲۰ درصد پروتئین، ۵۰ درصد نشاسته، ۱۰ درصد سلولز، ۱۵ درصد چربی و مقداری مواد افزودنی مثل ویتامین‌ها انجام شد (۲۶). در این مطالعه تمام نکات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی زیر نظر افرادی که تجربه کار با حیوانات را داشتند؛ رعایت گردید.

مواد لازم برای تهیه چای کومبوجا شامل الف) قارچ کومبوجا، ب) آب (یک لیتر)، ج) شکر (۸۰ گرم)، د) چای سیاه کیسه‌ای (۲ عدد) بود (۲۷).

برای تهیه چای کومبوجا ابتدا آب را در ظرف سالم و بدون خراش جوشانده شد. سپس ظرف از روی شعله برداشته شد و چای به آن اضافه گردید. پس از کمی سرد شدن ۸۰ گرم شکر به آن اضافه شد و سپس به ظرف شیشه‌ای منتقل شد و قارچ بر روی آن قرار داده شد. این قارچ به اکسیژن زیادی نیاز دارد؛ لذا هر چه سطح تخمیر بزرگ‌تر باشد؛ امکان رشد بهتری دارد. روی ظرف با پارچه تمیزی پوشانده شد و در محیط پاکیزه و تاریک برای مدت یک هفته قرار داده شد. پس از این مدت زمان، چای آماده استفاده بود (۲۸).

موش‌ها به طور تصادفی در ۴ گروه ۵ تایی قرار گرفتند. گروه اول (کنترل): تزریق درون صفاقی سرم فیزیولوژی. گروه دوم (کنترل مثبت): تزریق درون صفاقی تیواستامید (۴۰۰ mg/kg/bw) به مدت دو هفته و سه روز در میان. گروه سوم: تزریق درون صفاقی (۴۰۰ mg/kg/bw) تیواستامید، سپس تیمار با چای کومبوجا (۵۰ mg/kg) به مدت سه هفته (به عنوان نوشیدنی).

گروه چهارم: ابتدا تیمار با چای کومبوجا (۵۰ mg/kg) به مدت سه هفته (۲۳) و سپس تزریق (۴۰۰ mg/kg/bw) تیواستامید.

حیوانات هر گروه به طور انفرادی در قفس‌های جداگانه با

آلی، اجزاء چای، ویتامین‌ها و مواد معدنی شبیه آب سیب است (۱۴-۱۱).

متابولیت‌های اصلی شناسایی شده در نوشیدنی تخمیر شده شامل اسیدهای لاکتیک، استیک، گلوکونیک و گلوکونورونیک، اتانول و گلیسرول است. غلظت و ترکیب متابولیک به منبع قارچ چای، غلظت شکر و دوره زمانی تخمیر بستگی دارد. فرآیند تخمیر، سنتز کمپلکس ویتامین‌های B و اسیدفولیک را القاء می‌کند. مقدار pH کومبوجا در طول فرآیند تخمیر به دنبال افزایش در محتوای آلی اسید کاهش می‌یابد. چای سبز و سیاه که بهترین سوبسترا برای تولید استیک اسید و گلوکونیک اسید هستند؛ به ترتیب الویت مناسب برای کشت کومبوجا را دارند. پلی‌فنول‌های چای [اپی‌گالوکاتچین گالات (EGCG)، اپی‌گالوکاتچین (ECG)، اپی‌کاتچین (EC) و تئوفیلین (TF)] و اسیدهای آلی اجزاء فعال در چای کومبوجا هستند که دارای اثرات گسترده مفیدی هستند (۱۷-۱۵). مزایای گوناگونی برای چای کومبوجا مانند درمان ایدز، کاهش کچلی، کاهش علائم دیابتی، آرتروز، طولانی کردن عمر، کاهش وزن، بهبود ظرفیت فکری و روانی، معالجه سرطان، کاهش فشارخون، افزایش قدرت پایداری، افزایش مقادیر سلول T، از بین بردن آکنه، کاستن درد آرتروز، حذف چین و چروک، تمیز کردن کیسه صفرا، تسکین یبوست و حتی برگرداندن موی خاکستری به رنگ اصلی آن ادعا شده است (۱۵ و ۱۸). فعالیت ضد میکروبی چای کومبوجا در برابر هیلکوباکتر پیلوری، *E. coli*، *Staphylococcus aureus* و *Agrobacterium tumefaciens* به محتوای اسید استیک مربوط است (۱۹ و ۱۱). اثرات توفقی چای کومبوجا در برابر باکتری‌ها به پلی‌فنول‌ها به‌ویژه کاتچین‌ها مربوط است. چای سبز دارای محتوای کاتچین بالاتری نسبت به چای سیاه است. در نتیجه چای سبز ممکن است دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به چای سیاه باشد (۱۱ و ۲۰). نتایج مطالعات *Bhattacharya* و همکاران نشان داد که چای کومبوجا اثر بهبود دهنده قوی تری بر فشارهای اکسیداتیو ناشی از تری بوتیل هیدروپراکساید نسبت به چای سیاه است (۱۸). Ibrahim نشان دادند که چای کومبوجا اثر حفاظتی بر فشارهای اکسیداتیو ایجاد شده توسط کادمیم و پرتوهای گاما بر کبد و کلیه دارد (۲۲). تحقیقات *Gharib* نشان داد که کومبوجا موجب بهبود آسیب‌های ناشی از آلانندهای محیطی مانند تری کلرواتیلن می‌شود و برای افرادی که در معرض این آلانندها قرار دارند؛ مفید است (۲۳).

با وجود مزایای درمانی گوناگون مربوط به این نوشیدنی و با وجود این که به طور گسترده‌ای در بسیاری از جمعیت‌ها در سراسر جهان مصرف می‌شود؛ هنوز اثرات مفید و نیز اثرات ناسازگار جانبی آن به طور کافی مطالعه نشده است (۲۴ و ۲۵). این مطالعه به منظور

جدول ۱: میزان درجه بندی بافت‌ها

درجه ۴	درجه ۳	درجه ۲	درجه ۱	درجه صفر	
-	شدید	متوسط	خفیف	فاقد التهاب	درجه التهاب
-	در اطراف سیاهرگ‌های مرکزی در اکثریت سیاهرگ‌ها	در اطراف سیاهرگ‌های مرکزی در بعضی سیاهرگ‌ها	کانونی	وجود نداشت	نکروز در سایر نواحی
-	شدید	متوسط	خفیف	وجود نداشت	نکروز در اطراف فضای پورت
-	تمام سلول‌ها دارای هسته درشت	نیمی از سلول‌ها دارای هسته درشت	یک سوم سلول‌ها دارای هسته درشت	-	بزرگ شدن هسته‌ها
بیش از ۱۰	۵-۱۰	۲-۴	۱ یا کمتر	فقدان آپتوز	تعداد آپتوز
-	بیش از ۵	۳-۵	۱-۳	فقدان میتوز	تعداد میتوز

اسید سولفانیل‌یک و اکنش داده و ایجاد رنگ آزو می‌نماید که در pH قلیایی قرمز رنگ است. بیلی‌روبین مستقیم پس از ایجاد این کمپلکس به رنگ صورتی در می‌آید؛ ولی بیلی‌روبین کل (توتال) با افزودن محلول تسریع کننده و در pH قلیایی سبز رنگ می‌گردد.

پس از پایان دوره آزمایش، همه موش‌های صحرایی با کلروفورم بیهوش شدند. پس از کالبدگشایی کبد آنها برداشته شد و در فرمالین بافر خنثی ۱۰ درصد تثبیت گردید. پس از گذراندن مراحل آماده‌سازی بافتی و تهیه بلوک‌های پارافینی، مقاطعی به ضخامت ۴-۵ میکرون بریده شد و به روش هماتوکسیلین و انوزین (H&E) رنگ آمیزی گردید. تمامی مطالعات بافت‌شناسی زیر نظر پاتولوژیست انجام گرفت. نوع درجه بندی براساس هر متغیر مطابق با جدول یک بود که در هر گروه تیماری میزان درجه بنا بر هر متغیر تعیین گردید و سپس این درجه‌های تعیین شده با یکدیگر جمع گردید و در نهایت نوع درجه بافت بر اساس متغیرهای مذکور تعیین شد (جدول یک).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-13، مقایسه میانگین‌ها و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

مقدار وزن بدن در گروه کنترل نسبت به گروه آزمایش (مسمومیت با تیواستامید) کاهش معنی داری نشان داد ( $P < 0/05$ ) در گروه پیشگیری کومبوگا نسبت به گروه آزمایش افزایش معنی داری

دسترسی آزادانه به آب و مواد غذایی نگهداری شدند. همچنین تمام گروه‌ها به صورت یک روز در میان وزن شدند. میزان آب و غذای مصرفی گروه‌ها نیز به طور روزانه اندازه‌گیری شد.

چای کومبوگا به عنوان نوشیدنی و به میزان ۵۰ میلی‌لیتر به ازاء هر موش صحرایی در ظرف آب آشامیدنی و به مدت سه هفته در اختیار موش‌های صحرایی قرار داده شد. میزان مصرف موش‌های صحرایی در طول آزمایش در هر شبانه‌روز اندازه‌گیری شد تا مقدار مصرف چای کومبوگا لازم برای هر موش صحرایی محاسبه و روزانه به طور تازه به آب اضافه گردد.

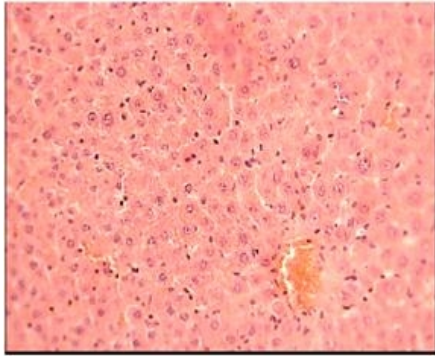
برای خونگیری از قلب، ابتدا حیوانات با کلروفورم بیهوش شدند. سپس قفسه سینه باز و به طور مستقیم از قلب خون گرفته شد. بعد از حدود ۲۰ دقیقه نمونه‌های خون سانتریفوژ و پلاسما جدا شد. نمونه‌های سرم حاصله در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان سطح سرمی آنزیم‌های آمینوترانسفراز (AST)، آلانین ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) برحسب U/l به روش آنزیمی و با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون در مرکز تحقیقاتی قلب و عروق صدیقه طاهره اندازه‌گیری شد. همچنین لاکتات دهیدروژناز (LDH) برحسب U/l به روش آنزیمی و با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید.

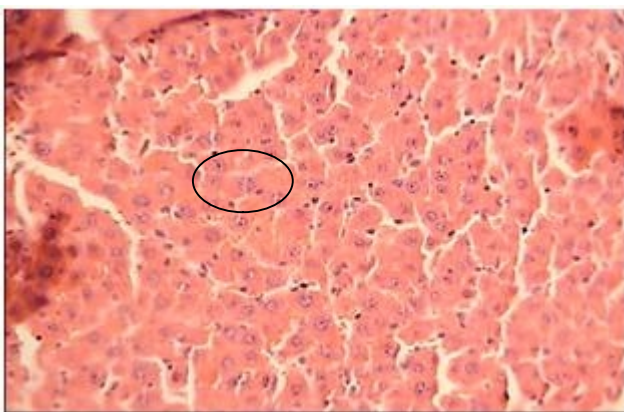
بیلی‌روبین برحسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر با نمک دی‌آزونیوم

جدول ۲: مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های کبدی، بیلی‌روبین، وزن بدن، وزن کبد و درصد میانگین وزن کبد به وزن بدن در گروه‌های آزمایشی

گروه درمانی کومبوگا	گروه پیشگیری کومبوگا	گروه مسمومیت با تیواستامید	کنترل	
۱۲۶/۶۷±۳۰/۰۵	۱۰۶/۷۵±۲۰/۲۹	۷۶۷±۱۶/۹۷	۱۴۸±۲۶/۰۵	آلانین ترانسفراز (U/L)
۱۳۰/۶±۱۴/۵۷	۱۳۰/۷۵±۸۱/۲	۶۵۳±۵۳/۰۳	۱۸۴/۳۳±۶۲/۳۲	آمینوترانسفراز (U/L)
۹۴۷/۳۳±۷/۵۰	۱۲۶۱/۵±۲۶۱/۱۴	۱۵۹۳/۵±۲۱۴/۲۵	۶۱۴/۶۷±۱۹۶/۳۹	آلکالین فسفاتاز (U/L)
۸۰۸±۱۹۱/۹۰	۶۷۱/۷۵±۱۲۷/۲۴	۱۲۶۹/۵±۶۳/۳۶	۱۱۱۶/۳۳±۷۴/۲۷	لاکتات دهیدروژناز (U/L)
۰/۵۱±۰/۰۲	۰/۴۵±۰/۰۴	۱/۰۵±۰/۶۳	۰/۴۸±۰/۰۲	بیلی‌روبین (mg/dl)
۱۸۶/۵۹±۱۸/۷۶	۲۰۸/۵۵±۲۶/۳۴	۱۹۱/۹۳±۱۰/۹۰	۲۴۴/۷۶±۳۲/۷۱	وزن بدن (گرم)
۷/۸۷±۰/۵۲	۹/۲۴±۰/۸۸	۷/۳۸±۰/۷۲	۸/۴۷±۰/۳۲	وزن کبد (گرم)
۴/۲۴±۰/۰۳	۴/۴۳±۰/۰۳	۳/۸۴±۰/۰۱	۳/۴۶±۰/۰۲	درصد میانگین وزن کبد به وزن بدن



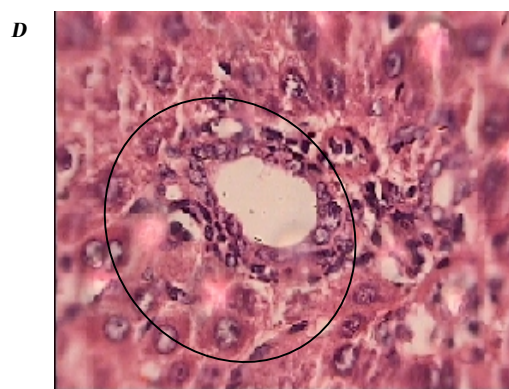
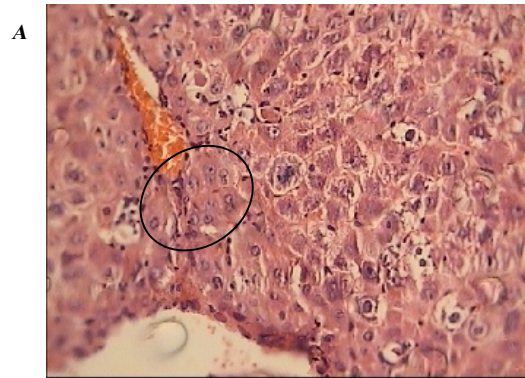
شکل ۲: برش بافت کبد در گروه پیشگیری کومبوجا که بافت به میزان بسیار زیادی به حالت طبیعی برگشته است. هسته‌ها در اندازه طبیعی هستند و میتوز و آپوپتوز دیده نمی‌شود (بزرگ‌نمایی ۴۰).



شکل ۳: برش بافت کبد در گروه درمانی کومبوجا که هسته‌ها و هستک‌ها کوچک شده و آپوپتوز دیده نمی‌شود؛ ولی تعداد اندکی از هسته‌ها درشت هستند (بزرگ‌نمایی ۴۰).

نشان داد ( $P < 0.05$ ). مقدار وزن کبد در گروه کنترل نسبت به گروه آزمایش تفاوت معنی‌داری نشان نداد و این مقدار در گروه درمانی و پیشگیری کومبوجا نیز نسبت به گروه آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد. درصد میانگین وزن کبد به میانگین وزن بدن در گروه‌های آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری با گروه کنترل منفی نشان نداد. میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، ALP و AST در گروه مصرف‌کننده استامید نسبت به گروه کنترل افزایش آماری معنی‌دار نشان داد ( $P < 0.05$ ). مقدار فعالیت آنزیم‌ها در گروه درمانی و پیشگیری کومبوجا در مقایسه با گروه مصرف‌کننده استامید کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.05$ ). میزان آنزیم LDH در گروه کنترل با گروه آزمایش از نظر آماری معنی‌دار نبود و مقدار آن در گروه درمانی و پیشگیری کومبوجا کاهش آماری معنی‌داری با گروه آزمایش داشت ( $P < 0.05$ ). مقدار بیلی‌روبین در گروه کنترل نسبت به گروه آزمایش تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد و مقدار آن در سایر گروه‌ها نیز با گروه دوم کاهش معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

بافت کبد در گروه کنترل طبیعی بود و اثری از ضایعاتی نظیر



شکل ۱: (A) برش بافت کبد در گروه آزمایش که میتوز غیرطبیعی را نشان می‌دهد (بزرگ‌نمایی ۴۰). (B) برش بافت کبد در گروه آزمایش که نشان‌دهنده آپوپتوز است (بزرگ‌نمایی ۴۰). (C) برش بافت کبد در گروه کنترل که التهاب در اطراف فضای پورت را مشخص کرده است (بزرگ‌نمایی ۱۰۰). (D) برش بافت کبد در گروه آزمایش که وجود میتوز در سلول‌ها را نشان می‌دهد (بزرگ‌نمایی ۴۰).

موثر است (۱۸).

ویژگی سم‌زدایی این نوشیدنی احتمالاً به دلیل ظرفیت گلوکوروونیک اسید برای باند شدن به مولکول‌های سمی و افزایش ترشح آن از ارگانسیم توسط کلیه یا روده‌ها است (۱۶). در سال ۱۹۵۱ مرکز تحقیقات سرطان‌شناسی علوم در مسکو دریافت که مصرف روزانه کومبوجا به مقاومت بی‌نهایت بالا نسبت به سرطان مربوط است. بیمارانی که از سرطان رنج می‌برند؛ L-لاکتیک اسید را در بافت‌های همبندشان ندارند و دارای pH خون بالاتر از ۶ یا ۷/۵ هستند. کومبوجا می‌تواند pH خون و غلظت اسید لاکتیک را تعدیل کند. به‌طور خلاصه می‌توان گفت که اثرات مفید کومبوجا به حضور پلی‌فنول‌های چای، گلوکونیک اسید، گلوکوروونیک اسید، لاکتیک اسید، ویتامین‌ها، آمینواسیدها، آنتی‌بیوتیک‌ها و گستره‌ای از میکرو مغذی‌های تولید شده در طول تخمیر مربوط است (۱۵ و ۱۶).

چای کومبوجا یک ارتباط همزیست میان باکتری و مخمر است. در مطالعه Jayabalan و همکاران محتوای مخمرها و باکتری‌ها به سرعت تا روز نهم تخمیر افزایش یافت و پس از آن نیز این روند ادامه پیدا نمود. تعداد افزایش یافته باکتری و مخمر پس از ۹ روز احتمالاً توسط شوک اسیدی (pH پایین) ایجاد می‌گردد که روی تکثیر باکتری و مخمر اثرگذار است (۱۶).

Mayser و همکاران تایید کردند که ترکیب مخمر کلنی به میزان بالایی متغیر است. همچنین آنها به سرعت کم ترکیب میکروارگانسیم‌های ضد مضر توجه کردند و نتیجه گرفتند که کومبوجا می‌تواند به‌طور مناسب در خانه بدون خطر پاتوژنیک تهیه شود (۲۹). چنانچه در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که کومبوجا به راحتی در محیط آزمایشگاه تهیه می‌شود و نه تنها اثرات سوء ندارد؛ بلکه نتایج نشان‌دهنده اثرات مثبت محافظتی آن بر روی کبد است.

سنجش میزان وزن کبد در مطالعه ما نشان می‌دهد که مقدار آن در گروه‌های تیماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارد و این مقدار در گروه پیشگیری کومبوجا نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر است. مقایسه وزن بدن در طول آزمایش تغییرات چندانی را در بین گروه‌ها نشان نداد. میزان مصرف روزانه آب و غذا نشان داد که مقادیر آن در زمان تزریق تیواستامید کاهش می‌یابد؛ اما پس از شروع دوره‌های تیماری با چای کومبوجا افزایش نشان داد. همچنین میانگین وزن کبد در گروه پیشگیری کومبوجا نسبت به بقیه گروه‌ها بیشتر و میانگین وزن بدن موش‌های صحرائی در گروه درمانی کومبوجا کمتر از بقیه بود.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که چای کومبوجا در کاهش اثرات افزایش آنزیم‌های ناشی از تیواستامید مفید است.

آپوپتوز، سیتولیز و میتوز دیده نشد.

در گروه تیمار شده با تیواستامید (شکل یک) این ماده شیمیایی باعث تغییرات شدیدی در سلول‌های کبدی گردید. تغییرات مشاهده شده شامل افزایش تعداد میتوز و سلول‌های آپوپتوزی، تعدد هسته‌ها، بزرگ شدن سلول‌ها و هسته آنها، اسیدوفیل شدن سیتوپلاسم، غیرطبیعی بودن میتوز و سیتولیز بود. این ضایعات بیشتر در اطراف سیاهرگ‌های مرکزی مشاهده شد و در فضای پورت نیز واکنش‌های التهابی به ندرت دیده شد. بازوفیلی سیتوپلاسم سلول‌های مجاری صفراوی، واکوئولیزه شدن سیتوپلاسم و تغییراتی در اندازه و شکل آنها که در اثر تیمار با تیواستامید ایجاد می‌گردند؛ مشاهده نگردید.

تمام گروه‌های تیمار دارای اثر حفاظتی بر روی سلول‌های کبدی بودند و در تمامی آنها تعداد میتوز و آپوپتوز کاهش یافت. اندازه هسته‌ها به حالت طبیعی برگشت و التهاب نیز کمتر مشاهده گردید. تغییرات ایجاد شده در گروه‌های تیمار شده با چای کومبوجا نیز مشابه بود. در گروه درمانی کومبوجا هنوز میتوز و بزرگ شدن هسته سلول‌ها وجود داشت؛ ولی در گروه پیشگیری کومبوجا این تغییرات دیده نشد. آپوپتوز در هر دو گروه وجود نداشت (شکل‌های ۲ و ۳).

در هر گروه آزمایشی میزان هر یک از متغیرها با توجه به درجات آنها تعیین شد. به طوری که گروه کنترل مثبت (تیمار شده با TAA) دارای بیشترین تغییرات تخریب کبدی و بالاترین درجه (درجه ۱۵) و گروه درمانی کومبوجا (درجه ۴) و گروه پیشگیری کومبوجا دارای کمترین درجه (درجه ۳) و در نتیجه بهترین اثر حفاظتی بر روی کبد بود.

### بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که چای کومبوجا باعث کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های AST، ALT و ALP شده است. این امر نشان‌دهنده اثر حفاظتی چای کومبوجا بر روی سلول‌های کبدی آسیب دیده است. نتایج بافت‌شناسی نیز مؤید اثر مثبت چای کومبوجا در برابر آسیب‌های ایجاد شده توسط تیواستامید بود. این اثر در گروه پیشگیری بهتر از گروه درمانی مشاهده شد. نتایج بافت‌شناسی و بیوشیمیایی نشان دادند که گروه پیشگیری کومبوجا نسبت به بقیه گروه‌ها نیز دارای اثرات حفاظتی بهتر و بیشتری بر روی سلول‌های کبدی آسیب دیده است.

در مطالعاتی چای کومبوجا از سمیت کبدی القاء شده با پاراستامول و استرس اکسیداتیو ایجاد شده با کرومات در موش‌های صحرائی سفید ممانعت می‌کند (۲۹ و ۳۰). در مطالعه Bhattacharya و همکاران چای کومبوجا موجب تعدیل فشارهای اکسیداتیوی که موجب مرگ سلول‌های کبدی از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی گردید و نتیجه گرفته شد که برای بسیاری از بیماری‌های کبدی

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه محبوبه آهنگر دارابی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی از دانشکده علوم دانشگاه اصفهان بود. بدین‌وسیله از کارکنان محترم آزمایشگاه مرکز

تحقیقات قلب و عروق اصفهان آن دانشگاه برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی و کارکنان محترم آزمایشگاه بافت‌شناسی برای انجام آزمایش‌های بافت‌شناسی قدردانی می‌شود.

## References

- Pérez-Carreón JI, Cruz-Jiménez G, Licea-Vega JA, Arce Popoca E, Fattel Fazenda S, Villa-Treviño S. Genotoxic and anti-genotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in rat liver cell cultures treated with diethylnitrosamine. *Toxicol In Vitro*. 2002 Jun; 16(3):253-8.
- Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rosen RT. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chemistry*. 2004 Mar;85(1):19-26.
- Fraschini F, Demartini G, Esposti D. Pharmacology of Silymarin. *Clin Drug Invest*. 2002; 22(1): 51-65.
- Fan S, Chen H, Wang Ch, Tseng W, Hsu H, Weng Ch. Toona sinensis Roem (Meliaceae) leaf extract alleviates liver fibrosis via reducing TGFβ1 and collagen. *Food Chem Toxicol*. 2007 Nov; 45(11): 2228-36.
- Ahmad A, Pillai KK, Najmi AK, Ahmad SJ, Pal SN, Balani DK. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. *J Ethnopharmacol*. 2002 Jan;79(1):35-41.
- Mitra SK, Venkataranganna MV, Sundaram R, Gopumadhavan S. Protective effect of HD-03, a herbal formulation, against various hepatotoxic agents in rats. *J Ethnopharmacol*. 1998 Dec; 63(3):181-6.
- Sun F, Hayami S, Ogiri Y, Haruna S, Tanaka K, Yamada Y, et al. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Feb;1500(2):181-5.
- Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr*. 2001;21:381-406.
- Farazi PA, DePinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nat Rev Cancer*. 2006 Sep; 6(9):674-87.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007 Jan-Feb;57(1):43-66.
- Greenwalt CJ, Ledford RA, Steinkraus KH. Determination and Characterization of the Antimicrobial Activity of the Fermented TeaKombucha. *LWT. Food Sci Technol*. 1998 Apr; 31(3): 291-6.
- Kurtzman CP, Robnett CJ, Basehoar-Powers E. *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, a new ascosporegenous yeast from 'Kombucha tea'. *FEMS Yeast Res*. 2001 Jul;1(2):133-8.
- Teoh AL, Heard G, Cox J. Yeast ecology of Kombucha fermentation. *Int J Food Microbiol*. 2004 Sep;95(2):119-26.
- Malbaša R, Lončar ES, Vitas JS, Čanadanović-Brunet JM. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chem*. 2011; 127(4):1727-31.
- Dufresne C, Farnworth E. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Res Int*. 2000 Jul; 33(6): 409-21.
- Jayabalan R, Marimuthu S, Swaminathan K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chem*. 2007; 102(1):392-8.
- Won YS, Lee SW. Targeted retardation of hepatocarcinoma cells by specific replacement of alpha-fetoprotein RNA. *J Biotechnol*. 2007 May;129(4):614-9.
- Bhattacharya S, Manna P, Gachhui R, Sil PC. Protective effect of kombucha tea against tertiary butyl hydroperoxide induced cytotoxicity and cell death in murine hepatocytes. *Indian J Exp Biol*. 2011 Jul;49(7):511-24.
- Hara-Kudo Y, Yamasaki A, Sasaki M, Okubo T, Minai Y, Haga M, et al. Antibacterial action on pathogenic bacterial spore by green tea catechins. *J Sci Food Agric*. 2005; 85(14):2354-61.
- Dashti M, Morshedi A, Rafati A. The effect of kombucha tea on learning and memory in rats. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. 2001; 14: 15-19.
- Malbaša R, Lončar E, Djurić M, Došenović I. Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molasses. *Food Chem*. 2008 Jun; 108(3): 926-32.
- Ibrahim NK. Possible protective effect of Kombucha tea ferment on cadmium chloride induced liver and kidney damage in irradiated rats. *International Journal of Biological and Life Sciences*. 2013; 9(1): 8-11.
- Gharib OA. Review Article: Does kombucha tea attenuate the hepato-nephrotoxicity induced by a certain environmental pollutant? *Egypt Acad J Biol Sci*. 2010;2(2):11-18.
- Phan TG, Estell J, Duggin G, Beer I, Smith D, Ferson MJ. Lead poisoning from drinking Kombucha tea brewed in a ceramic pot. *Med J Aust*. 1998 Dec;169(11-12):644-6.
- Srinivasan R, Smolinske S, Greenbaum D. Probable gastrointestinal toxicity of Kombucha tea: is this beverage healthy or harmful? *J Gen Intern Med*. 1997 Oct;12(10):643-5.
- Bhattacharya S, Gachhui R, Sil PC. Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology*. 2011 Jun;18(3):221-34.
- Pauline T, Dipti P, Anju B, Kavimani S, Sharma SK, Kain AK, et al. Studies on toxicity, anti-stress and hepato-protective properties of Kombucha tea. *Biomed Environ Sci*. 2001 Sep; 14(3):207-13.
- Sai Ram M, Anju B, Pauline T, Dipti P, Kain AK, Mongia SS, et al. Effect of Kombucha tea on chromate(VI)-induced oxidative stress in albino rats. *J Ethnopharmacol*. 2000 Jul;71(1-2):235-40.
- Mayser P, Fromme S, Leitzmann C, Gründer K. The yeast spectrum of the 'tea fungus Kombucha'. *Mycoses*. 1995 Jul-Aug; 38(7-8):289-95.
- Roussin MR. 1999. Available at: <http://www.kombucha-research.com>

Original Paper

## Effect of Kombucha tea on rat liver histopathological alterations due to Thioacetamide

Kabiri N (MSc)\*<sup>1</sup>, Ahangar Darabi M (MSc)<sup>2</sup>, Mahzooni P (MD)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>MSc in Biology, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. <sup>2</sup>MSc in Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran. <sup>3</sup>Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

---

### Abstract

**Background and Objective:** Kombucha (fungus) tea is a sugar sweetened black tea obtained through a fermentation process containing symbiotic culture of acetic acid bacteria and yeasts. This study was done to determine the effect of Kombucha tea on rat liver histopathological alterations due to Thioacetamide (TAA).

**Materials and Methods:** In this experimental study, 20 adult male Wistar rats randomly allocated into four groups as follow: 1) control, 2) TAA group, treated with (TAA), (400 mg/kg/bw) for two weeks, 3) treated with (TAA), (400 mg/kg/bw) and then with Kombucha tea (50 mg/kg) and finally 4) preventive, treated with Kombucha tea, (50 mg/kg) and then (TAA), (400 mg/kg) for three weeks. The serum level of aminotransferase (AST), Alanine transaminase (ALT), Alkaline phosphatase (ALP), Lactate dehydrogenase (LDH) and total bilirubin were measured and liver tissue samples were stained by hematoxylin and eosin.

**Results:** Serum level of AST, ALT, ALP, LDH and total bilirubin significantly increased in TAA group compare to control group ( $P < 0.05$ ). Serum level of AST, ALT, ALP, LDH and total bilirubin significantly reduced in treated and protective groups in comparison with TAA group ( $P < 0.05$ ). Mitosis and apoptosis increased in TAA group. These liver histopathological alterations reduced in treated and protective groups.

**Conclusion:** Kombucha tea contains therapeutic and protective effects on enzymes and liver histopathological damage due to Thioacetamide in rat.

**Keywords:** Kombucha tea, Thioacetamide, Liver, Enzyme, Rat

---

\* Corresponding Author: Kabiri N (MSc), E-mail: kabiri\_s97@yahoo.com

Received 4 September 2012

Revised 1 July 2013

Accepted 16 July 2013