

## استخلاص معقد السيلمارين من بذور شوك الحليب (*Silybummarianum*) ودراسة تأثيره في وظائف الكبد وبعض مضادات الأكسدة في الجرذان

\*سميرة محمد الكاتب      الاع هاشم طه

فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والأدوية/ كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل

\*Email: samar.alkatib@gmail.com

(أستلم 2019/10/15 ؛ قُبل 2020/1/19)

DOI: [10.33899/rjs.2020.164484](https://doi.org/10.33899/rjs.2020.164484)

### الملخص

شملت الدراسة استخلاص معقد السيلمارين من بذور شوك الحليب ودراسة تأثير التراكيز المختلفة من هذا المعقد في وظائف الكبد ومستويات بعض مضادات الأكسدة في الجرذان المعرضة للأذى الكبدي المحدث بواسطة الايثانول ومن ثم دراسة تأثير هذه التراكيز على إصلاح الأذى الكبدي المحدث بالايثانول من خلال إجراء الفحص النسيجي لأكيادماجاميع الحيوانات، حيث تم استخدام 60 ذكرا من ذكور الجرذان البالغة بعمر 3-4 اشهر، قسمت إلى ستة مجاميع: (1) مجموعة سيطرة أعطيت ماء الشرب الاعتيادي (2) مجموعة أعطيت 5% ايثانول في ماء الشرب (3) مجموعة أعطيت 5% ايثانول و 1 ملغم من معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم (4) مجموعة أعطيت 5% ايثانول و 2 ملغم من معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم (5) مجموعة أعطيت 5% ايثانول و 4 ملغم من معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم (6) مجموعة أعطيت 5% ايثانول و 8 ملغم من معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم. وفي نهاية فترة التجربة البالغة ثلاثة أسابيع تم قتل مجاميع الحيوانات وجمع عينات الدم والكبد لغرض قياس متغيرات وظائف الكبد وبعض مضادات الأكسدة في مصل الدم وإجراء الفحص النسيجي على الكبد.

أدت المعاملة بالايثانول ارتفاعا معنويا في زمن تخثر الدم وزيادة فعالية أنزيمي الالانين ترانساميناز (ALT) و اسبارتنتتر انسامينيز (AST) ومستوى البليروبين الكلي والبليروبين المباشر والمالوندايديهايدوجذيربيريكي نترت وفعالية أنزيم زانثيناوكسيديز، وانخفاضا معنويا في مستوى الالبومين وفيتامين C وفيتامين E و الكلوتاتايونوالسيرولوبلازمين في مصل الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة ( $P \leq 0.05$ ). وأظهرت التراكيز المختلفة من السيلمارين تأثيرات مختلفة في خفض او الحد من الأذى الكبدي المحدث بالايثانول حيث أدت إلى إعادة المتغيرات إلى ما يقارب المستويات الطبيعية. وتمكنت التراكيز 1 و 2 ملغم من معقد السيلمارين تقليل الأذى الكبدي المتمثل بالتغيرات الدهنية، بينما تمكنت التراكيز 4 و 8 ملغم من إيقاف الأذى الكبدي المتمثل بالتغيرات الدهنية والتقليل من الآفات المرضية المتمثلة بالنخر والالتهاب.

**الكلمات الدالة:** السيلمارين، شوك الحليب، وظائف الكبد، مضادات الأكسدة

### المقدمة

تعد أمراض الكبد المزمنة مثل التهاب الكبد الفيروسي وامراض الكبد الناجمة عن تناول الكحول من اهم الامراض التي تؤدي الى الموت حيث تسبب زيادة في نسبة الوفيات في مختلف أنحاء العالم (Diehl, 2002).

ويعد نبات شوك الحليب *thistle Milk* احد النباتات الطبية الذي برزت أهميته لامتلاكه خصائص وقائية استثنائية حيث تبين ان هذا النبات ينفرد باحتوائه على معقد السيلمارين *Silymarin* الذي يشكل 70-80 % من مكونات الفلافونويدات الموجودة فيه (Ball and Kowdley, 2005).

يتكون معقد السيلمارين من أربع مجاميع من المركبات متعددة الكحول وهي *Silybin* ، *Isosilybin* ، *Silydianin* ، *Silychristin* (Simanek *et al.*, 2000) ويطلق عليها اسم *flavanolignans*. وهي مركبات كيميائية متعددة الفينول تتواجد في النباتات وذات خصائص مانعة للأكسدة (Samer *et al.*, 2009; Milder *et al.*, 2005). ومن خلال الدراسة التي أجريت على الإنسان والحيوانات لوحظ أن هذه المركبات تحمي الكبد من مواجهة العديد من المكونات السامة مثل الكحول والنباتات السامة وبعض المواد الكيميائية والأدوية (Fraschini *et al.*, 2002). وقد استخدمت هذه المركبات في علاج الحالات الحادة والحالات المزمنة مثل التهاب الكبد الفيروسي نوع C و B والتسمم بالكحول (Rambaldi *et al.*, 2007) وفي الوقت الحاضر أصبحت مستحضرات السيلمارين الصيدلانية متوفرة في العديد من الدول تحت علامة تجارية مختلفة مثل (Legalon70 ، Siliphos ، Thisilyn).

إن آلية عمل هذه المركبات لازالت غير واضحة غير أنه يعتقد بان مركبات السيلمارين في شوك الحليب تحمي خلايا الكبد عن طريق خواصها المضادة للأكسدة والكاسحة للعوامل المؤكسدة ودورها كمنظمات لمحتوى الكلوتاثاين داخل خلايا الكبد وكذلك تأثيراتها المضادة للالتهاب والسرطان حيث تساعد الكبد على المحافظة على الخلايا من التورم المسئول عن الأذى الكبدي (Sagar, 2007) وتعمل كمثبطات لتكوين الخلايا الليفية العضلية *myofibroblast* وتكوين التشمع الكبدي (Lian *et al.*, 2008) كما توفر الاستقرار لغشاء الخلية ومنظمة لنفوذ الغشاء الخلوي حيث تمنع العوامل السامة للكبد من الدخول إلى الخلايا الكبدية، كذلك تغيير الطبقة الخارجية لخلايا الكبد ومساعدة الكبد على نمو خلايا جديدة من خلال تحفيز بناء RNA الريبوسومي وبذلك تعمل على إعادة تجديد الكبد، بالإضافة إلى تحفيزها للجهاز المناعي (Wilsrusmee *et al.*, 2002)، ولذلك كان الهدف من الدراسة استخلاص معقد السيلمارين من بذور شوك الحليب الجافة ودراسة تأثيرها على وظائف الكبد ومستويات بعض مضادات الأكسدة في الجردان المعرضة للأذى الكبدي المحدث بالايثانول ومن ثم دراسة تأثيرها على إصلاح الأذى الكبدي المحدث بالايثانول من خلال دراسة المقاطع النسيجية للكبد.

#### المواد وطرائق العمل

**تحضير الايثانول:** استخدم الايثانول بتركيز 100% من الجهاز من شركة (GCC, Deeside CLWYD، U.K.) وتم تخفيفه بواسطة ماء الشرب الاعتيادي لغرض تحضير محلول بتركيز 5%. حضر المحلول يوميا واعطي لحيوانات التجربة في القناني الخاصة المعدة لماء الشرب طيلة فترة التجربة البالغة ثلاثة اسابيع .

**استخلاص السيلمارين:** تم طحن 30 غم من البذور الجافة لنبات شوك الحليب بواسطة الطاحونة الكهربائية ثم فصل الجزء الدهني من البذور المطحونة بواسطة جهاز الاستخلاص المستمر *apparatussoxhlet* والحاوي على ثنائي ايثيل ايثر *diethyl ether* وأجريت عملية الفصل باستخدام الحمام المائي بدرجة 45-48 م°. تم استخلاص معقد السيلمارين من الجزء المتبقي من البذور بواسطة الكحول الأيثلي المطلق بدرجة 50-60 م° وكانت نسبة الكحول الى المادة الصلبة 1:10 (Wallace *et al.*, 2003). ثم رشح المحلول تحت الضغط المخلخل وتم تركيز الراشح باستخدام جهاز التبخير تحت الضغط المخلخل *vacumevaporater rotary*. ثم جفف المحلول تماما عن طريق امراره في فرن هوائي بدرجة 35-40 م°. وأخيرا استخدم الايثر البترولي لغرض الحصول على المعقد النقي (Subramanian *et al.*, 2007). حضرت محاليل مختلفة بتركيز 1،2،4،8 ملغم واعطيت الى حيوانات التجربة عن طريق الفم يوميا ولمدة 3 اسابيع.

**حيوانات التجربة:** استخدم 60 ذكراً من ذكور الجرذان البالغة من نوع Albino male rats بعمر 3-4 أشهر وبأوزان تراوحت بين 250-300 غم تم تربية الحيوانات في حقل كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل في غرفة خاصة تتوفر فيها الشروط الصحية لتربية الحيوانات من تغذية ودرجة حرارة وإضاءة وتهوية. قسمت الحيوانات إلى 6 مجاميع بواقع 10 حيوانات لكل مجموعة وعوملت لمدة 3 اسابيع وكما يأتي:

**المجموعة الأولى:** أعطيت ماء الشرب الاعتيادي طيلة فترة التجربة وعدت مجموعة سيطرة

**المجموعة الثانية:** أعطيت ماء الشرب الحاوي على 5% كحول اثيلي.

**المجموعة الثالثة:** أعطيت ماء الشرب الحاوي على 5% كحول اثيلي و 1 ملغم معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم.

**المجموعة الرابعة:** أعطيت ماء الشرب الحاوي على 5% كحول اثيلي و 2 ملغم معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم.

**المجموعة الخامسة:** أعطيت ماء الشرب الحاوي على 5% كحول اثيلي و 4 ملغم معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم.

**المجموعة السادسة:** أعطيت ماء الشرب الحاوي على 5% كحول اثيلي و 8 ملغم معقد السيلمارين جرعة يومية عن طريق الفم.

وبعد انتهاء فترة المعاملة البالغة 3 اسابيع تم قتل مجاميع الحيوانات وجمع عينات الدم والكبد.

**جمع عينات الدم والكبد:** قسمت نماذج الدم إلى جزأين، تم جمع الجزء الأول في أنابيب شعرية خالية من مانع التخثر لغرض تعيين زمن التخثر اما الجزء الثاني فقد تم جمعه في أنابيب الجهاز الطارد حيث تم سحب الدم من وريد العين بواسطة أنبوبة شعرية غرست في الزاوية الداخلية لمحجر العين وتم حفظ نماذج مصل الدم في درجة -20م لغرض إجراء الاختبارات الكيميائية الحياتية اللاحقة، أما أنسجة الكبد فقد تم حفظها في محلول الفورمالين لغرض إجراء الفحص النسيجي حيث قطعت الى قطع صغيرة ثم مررت بالكحول اتوالزليلول والشمع، وحضرت منها قوالب شمعية ثم قطعت الى شرائح بسماك 5-6 مايكرون باستخدام المشرح Microtome و صبغت بصبغة الهيماتوكسلين-ايوسين (Luna, 1968).

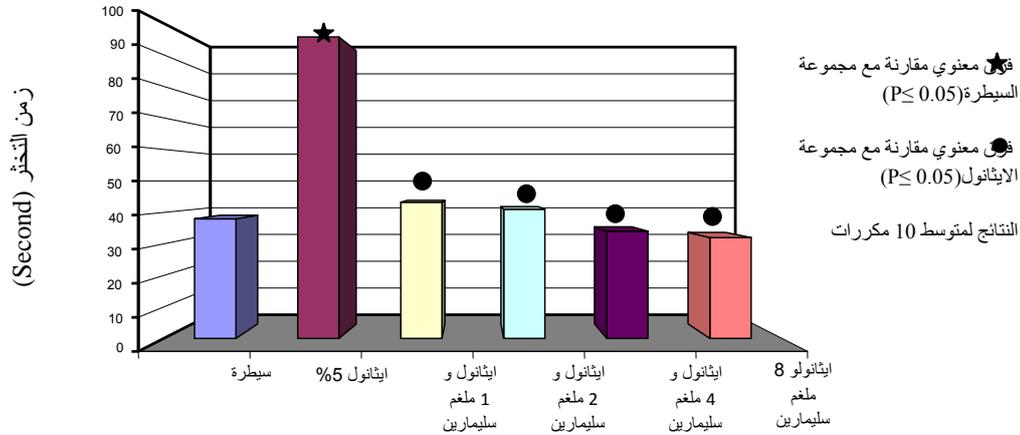
**الاختبارات الكيميائية:** تم استخدام أنابيب شعرية خاصة لقياس زمن التخثر حيث ملئت الانبوبة الشعرية بالدم الذي تم سحبه من وريد العين مباشرة وتم تقطيت اجزاء صغيرة من الانبوبة كل 30 ثانية الى حين ملاحظة خيط الليفين، وتم تحديد زمن التخثر بالثانية مع ظهور خيوط الليفين (Coles, 1980).

تم استخدام عدة التحليل Kit المجهزة من شركة Biomerieux الفرنسية في قياس فعالية انزيم ALT وAST بينما استخدمت عدد التحاليل Kits المجهزة من شركة Biolabo-Maizy-France في تقدير مستوى كل من الألبومينوالبيروبين الكلي والبيروبين المباشر. تم تقدير فيتامين C باستخدام الطريقة المتبعة من قبل (Colowick and Kaplan, 1979). تم تقدير فيتامين E باستخدام الطريقة المتبعة من قبل (Varley et al., 1976)، واستخدمت طريقة المان Ellman في تقدير مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم (Burtis and Ashwood, 1999) وتم تقدير مستوى المالدوندايالديهايد MDA باستخدام محلول الثايوباربيتوريك Thiobarbituric acid في وسط حامضي (Beuge and Aust, 1978). تم تقدير مستوى جذر بيروكسي نترت بالاعتماد على الطريقة المحورة المستخدمة من قبل (Vanuffelen et al., 1998) تم تقدير السيروبلازمين في مصل الدم باستخدام الطريقة المحورة (Menden et al., 1977). تم تقدير فعالية أنزيم زانثينا وكسيديز باستخدام الطريقة المستخدمة من قبل الباحثان (Ackermann and Brill, 1974).

**التحليل الإحصائي:** حللت النتائج باستخدام البرنامج الاحصائي SPSS وتم حساب المعدل والخطأ القياسي واستخدم اختبار التداخل الاحادي One way analysis of varianc (ANOVA) لتحديد الاختلافات الإحصائية بين المجاميع المختلفة وكان الاختلاف المعنوي لجميع الاختبارات عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.05$ ) (Steel and Torrie, 1981)

### النتائج والمناقشة

تأثير السيلمارينفي زمن تخثر الدم: أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (1) ارتفاعا معنويا في زمن تخثر الدم للمجموعة المعاملة بالايثانول مقارنة مع مجموعة السيطرة ( $P \leq 0.05$ )، في حين أظهرت المعاملة بالتركيز المختلفة من السيلمارين انخفاضا معنويا في زمن التخثر مقارنة مع المجموعة المعاملة بالايثانول ( $P \leq 0.05$ ).

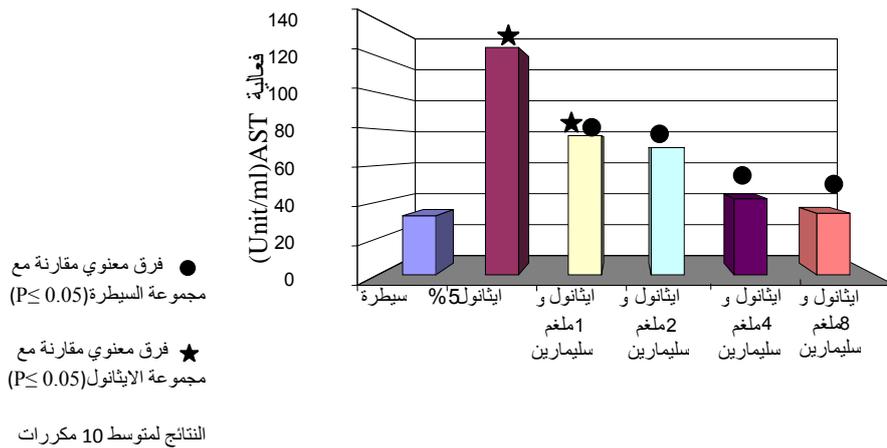


الشكل 1: تأثير السيلمارين في زمن تخثر الدم.

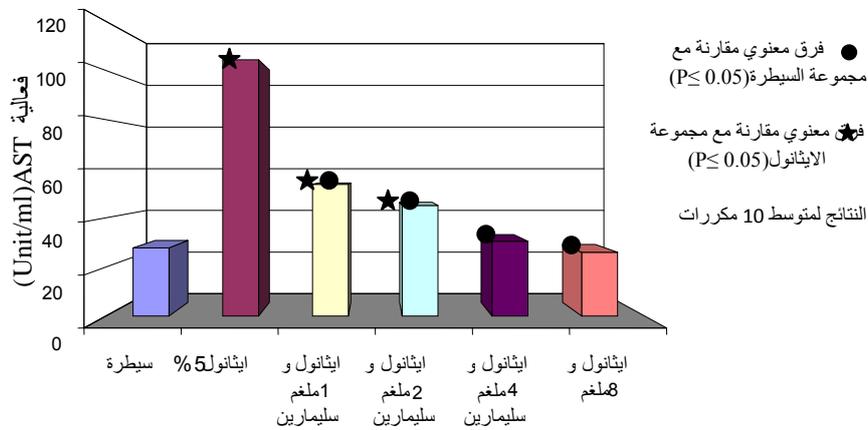
وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي اشارت الى دور الايثانول ونواتج تحلله وخاصة الالاسيتالديهيد في أحداث الأذى الكبدي مما يؤدي الى انخفاض قابلية الكبد على تصنيع البروتينات وبالتالي أطالة زمن تخثر الدم (Brecher and Dubord, 2008; Suchoki and Brecher, 2007).

وأشار (Castelino and Salem, 1997) ان زمن تخثر الدم يكون غير طبيعي في حالة الإصابة بأمراض الكبد بسبب أعاقَة تصنيع عوامل التخثر مثلا لبروثرومبينو الفايبرينوجينو التي يتم تصنيعها في الكبد . أدت التراكيز المختلفة من السيلمارينالي خفض زمن تخثر الدم مقارنة مع المجموعة المعاملة بالايثانول، وهذه النتائج تتفق مع ما أشار إليه (Floersheim *et al.*, 1978) من ان إعطاء معقد السيلمارين بتركيز 30 ملغم / كغم قبل 24 ساعة من إعطاء الجرعة السامة لفطر Amanita أدى الى خفض زمن التخثر في الكلاب الناجم عن التسمم بالفطر. ولوحظت نفس النتائج عند إعطاء الـ silybin بنفس الجرعة من قبل (Vogel *et al.*, 1984).

تأثير السيلمارينفي فعالية انزيمات ALT و AST في مصل الدم: بينت النتائج ظهور ارتفاع معنوي في فعالية انزيمات ALT و AST في مصل الجردان المعاملة بالايثانول مقارنة مع مجموعة السيطرة، لقد أشار (Pari and Karthikesan , 2007) الى الالذى الشديد الذي يحدثه الايثانول لتركيب الخلايا الكبدية وعضياتها مما يؤدي الى تحرر هذه الانزيمات من سايتوبلازم ومايتوكوندريا الخلايا الكبدية وبالتالي ارتفاع مستواها في مصل الدم .



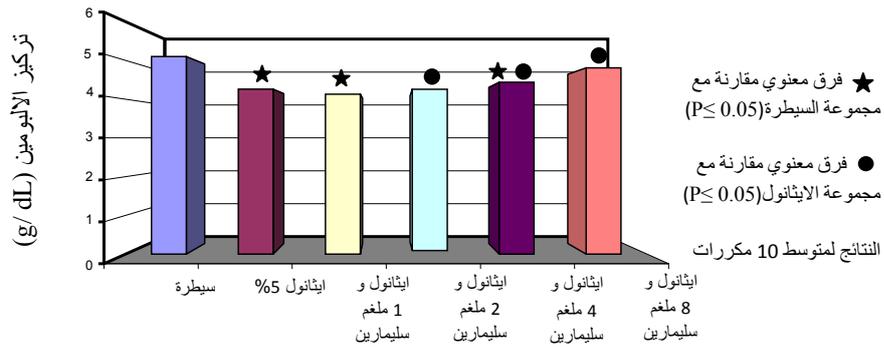
الشكل 2: تأثير السليمارين على فعالية انزيم AST.



الشكل 3: تأثير السليمارين على فعالية انزيم ALT.

أدت التراكيز المختلفة من السليمارين الى خفض فعالية انزيمات ALT و AST مقارنة مع المجموعة المعاملة بالايثانول الشكل (2) والشكل (3) وهذه النتائج تتفق مع نتائج (Wang et al., 1996) حيث أوضح في تجاربه على حيوانات مختلفة ان المعاملة بالايثانول الى زيادة واضحة في فعالية ALT و AST. وأشار (Prmyothin et al., 2006) ان اعطاء السليمارين بتركيز 5 ملغم / كغم ولمدة 7 ايام في الجرذان ادى الى انخفاض فعالية ALT و AST. وفي دراسة اجراها (Flora et al., 1998) على مرضى الكبد الكحولي، تم علاجهم بجرعة 560 ملغم من السليمارين يوميا لمدة 8 اسابيع اشار الى انخفاض فعالية ALT و AST بمعدل 36% و 34% على التوالي.

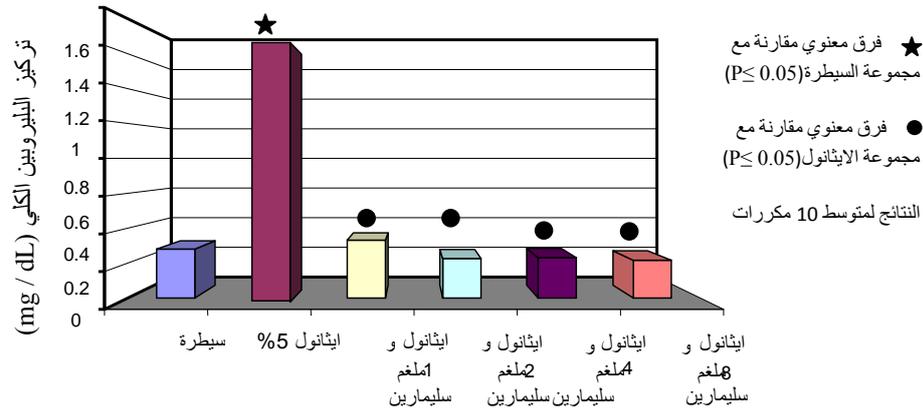
اشار (Valenzuela and Garrido, 1994) ان انخفاض فعالية ALT و AST من قبل السليمارين تعود إلى امتلاكه تأثيرات منظمة لنفوذية الغشاء الخلوي مما ينتج عنه زيادة في استقرارية الغشاء ضد تخريب الاجسام الغريبة. تأثير السليمارين في مستوى الالبومين في مصل الدم: أوضحت النتائج في الشكل (4) ظهور انخفاض معنوي في مستوى الالبومين في المجموعة المعاملة بالايثانول مقارنة بمجموعة السيطرة ( $P \leq 0.05$ ) وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Ramirez - Farias et al., 2008) حيث اشار الى ان تأثير الايثانول السمي على الخلايا الكبدية يؤدي الى انخفاض في تركيز الالبومين وبشكل مباشر ومرافق مع انخفاض انتاج ATP في الكبد.



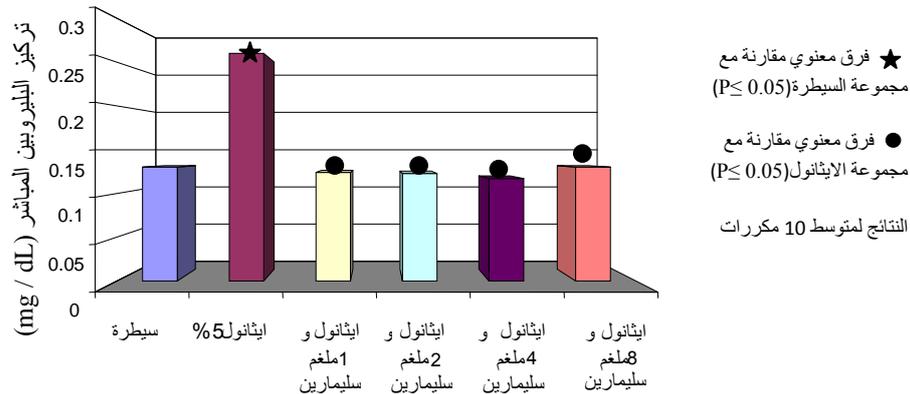
الشكل 4: تأثير السليمارين في مستوى الالبومين.

واشار (Saravananetal., 2006) ان الازى الكبدي الناجم عن تعاطي الايتانول في الجرذان يؤدي الى اعاقه وظيفة الكبد وبالتالي انخفاض تركيز الالبومين في الدم. ولقد وجد ان الاسيتالديهيد الناتج من اكسدة الايتانول له القابلية على الارتباط مع بروتينات خلايا الكبد (Medina et al., 1985) وهذا بدوره يؤدي الى مسخ البروتينات وبالتالي فقدان فعاليتها الحيوية. وقد أظهرت التراكيز المختلفة من السليمارين ارتفاعا معنويا في مستوى الالبومين مقارنة بالمجموعة المعاملة بالايتانول وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Sambath et al., 2005) من ان إعطاء السليمارين بتركيز 25 ملغم/كغم عن طريق الفم لمدة 10 ايام ادى الى ارتفاع معنوي في مستوى البروتين الكلي في الجرذان المعاملة ب  $CCl_4$  وعزى ذلك الى قابلية السليمارين على إعادة تجديد الانسجة الكبدية والتي ادت الى زيادة تصنيع البروتين و تحسين الحالة الوظيفية للخلايا الكبدية .

تأثير السليمارين في مستوى البليروبين الكلي والمباشر في مصل الدم: أظهرت النتائج ارتفاعا معنويا في مستوى البليروبين الكلي والمباشر في المجموعة المعاملة بالايتانول مقارنة مع مجموعة السيطرة الشكل (5) والشكل (6) .



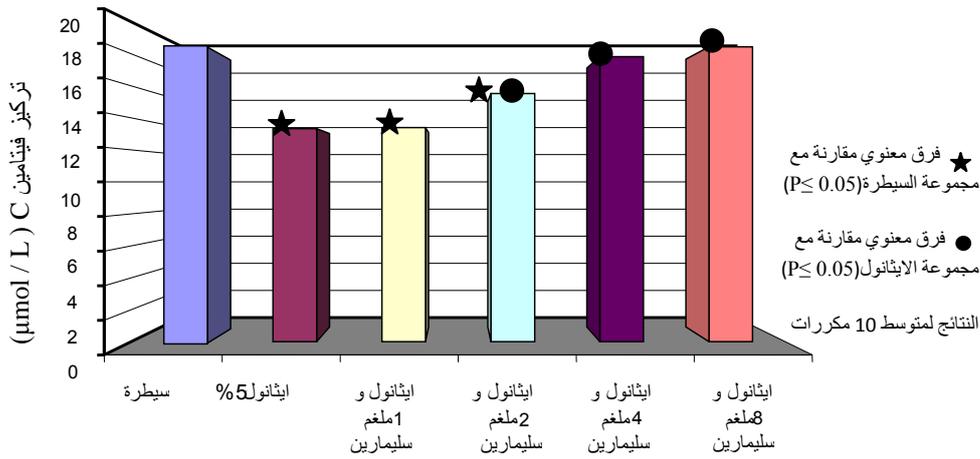
الشكل 5: تأثير السليمارين في مستوى البليروبين الكلي.



الشكل 6: تأثير السليمارين في مستوى البليروبين المباشر.

وقد أوضح (Kaplan *et al.*, 2003) ان الاذى الكبدي المحدث بالايثانول قد يسبب حدوث ركود صفراوي رجعي مؤديا الى بطئ جريان الصفراء بسبب إصابة الخلايا المبطنة للقنوات الصفراوية مما ينتج ارتشاح البليروبين من خلال الجدار وارتفاع مستواه في الدم. وقد تمكنت التراكيز المختلفة من السيلمارينمن خفض تركيز البليروبين المباشر و الكلي في مصل الدم وهذا يتفق مع ( Saravananetal., 2006) حيث أشار أن إعطاء السيلمارين بتركيز 20 ملغم / كغم لمدة 30 يوما ادى الى منع ارتفاع البليروبين المحدث بالايثانول في الجرذان. وقد اشار (Wellington and Jarvis , 2001) أن إعطاء السيلمارين بتركيز 420 ملغم يوميا اظهر تحسنا في وظائف الكبد وادى الى خفض تركيز البليروبين في الاشخاص المصابين بتشمع الكبد الكحولي .

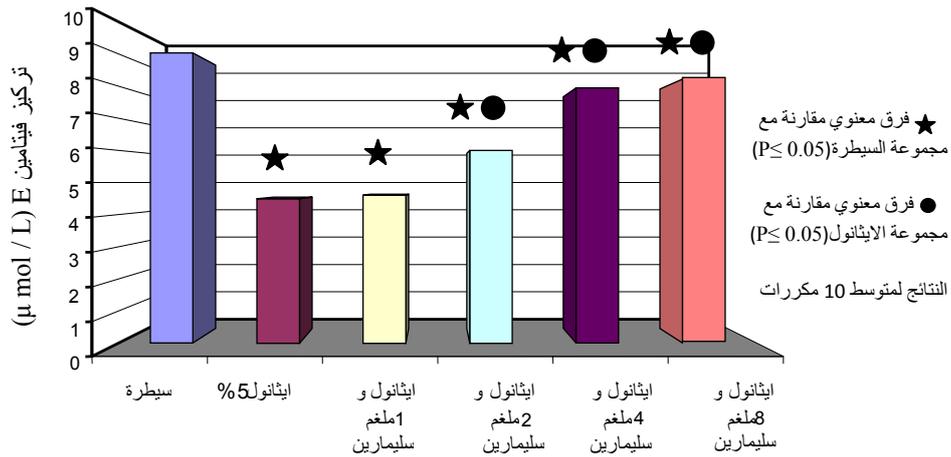
**تأثير السيلمارين في مستوى فيتامين C في مصل الدم:** أوضحت النتائج في الشكل (7) انخفاضاً معنوياً في مستوى فيتامين C في المجموعة المعاملة بالايثانول مقارنة بمجموعة السيطرة وهذا يتفق مع دراسة (Ramirez – Farias *et al.*, 2008) من ان الاجهاد التأكسدي الناجم عن تعاطي الكحول في الجرذان يؤدي الى خفض مستوى فيتامين C مؤكدا دور الايثانول في استنزاف مضادات الاكسدة .



الشكل 7: تأثير السيلمارين في مستوى فيتامين C

وقد أظهرت المجاميع المعاملة بالتراكيز 2 و 4 و 8 من السيلمارين ارتفاعاً معنوياً في مستوى فيتامين C مقارنة بالمجموعة المعاملة بالايثانول وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Singanan *et al.*, 2007) ان اعطاء السيلمارين بتركيز 0.1 غم / كغم مرتين باليوم ولمدة 21 يوماً اظهر ارتفاعاً معنوياً في مستوى فيتامين C عزى ذلك إلى دور السيلمارين في إعادة توليد GSH الذي يعمل على إعادة توليد فيتامين C. ان معقد السيلمارين يمتلك فعالية مضادة للاكسدة تفوق فعالية فيتامين C او فيتامين E باكثر من 10 مرات وتعد هذه احدى الاليات التي يعمل بها السيلمارين في الحماية من الاذى الكبدي ( Michael Murray and Josephizzorno , 1991)

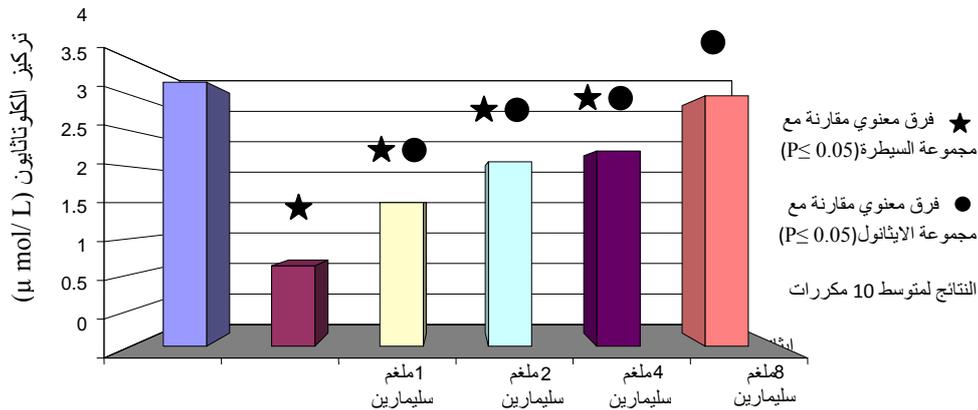
**تأثير السيلمارين في مستوى فيتامين E في مصل الدم:** أوضحت النتائج في الشكل (8) انخفاضاً معنوياً في مستوى فيتامين E في المجموعة المعاملة بالايثانول مقارنة بمجموعة السيطرة (P ≤ 0.05). أشار الباحث (Buettner , 1993) ان فيتامين E يعد من اكثر مضادات الاكسدة اهمية في خلايا الحيوان حيث بإمكانه الحماية من العوامل الكيميائية والنمو السرطان.



الشكل 8: تأثير السليمارين في مستوى فيتامين E.

أحدثت المعاملة بالتركيز 2 و 4 و 8 ومن السليمارين ارتفاعاً معنوياً في مستوى فيتامين E مقارنة مع المجموعة المعاملة بالايثانول وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Psotova et al., 2001) الى دور المركبات الفلافونويدية متعددة الفينول الموجودة في شوك الحليب في التقليل من الاجهاد التأكسدي وارتفاع مستوى فيتامين E في المرضى المصابين بالتهاب الكلية المزمن حيث اوضح ان اعطاء السليمارين بتركيز 858 ملغم يوميا ولمدة شهرين ادى الى ارتفاع معنوي في مستوى مضادات الاكسدة الكلية في مصل الدم ومنها فيتامين E مقارنة بالمجموعة المعاملة بالادوية المعتمدة.

تأثير السليمارين في مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم: أوضحت النتائج في الشكل (9) انخفاضا معنوياً في مستوى الكلوتاثيون في المجموعة المعاملة بالايثانول مقارنة مع مجموعة السيطرة . اشار كل من ( Saravanan et al., 2006 ; ) (Hussein et al., 2007).

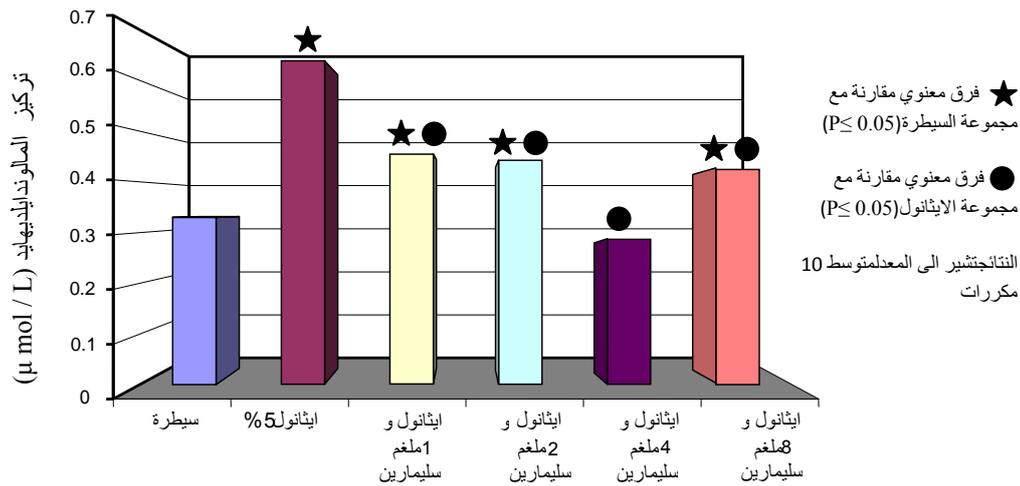


الشكل 9: تأثير السليمارين في مستوى الكلوتاثيون

الى تأثير الايثانول على تنظيم عملية إعادة الأكسدة والاختزال للكلوتاثيون، حيث لوحظ اعاقه في دورة اعادة تصنيع الكلوتاثيون المختزل GSH في اكباده الجردان المعاملة بالايثانول بسبب انخفاض في فعالية انزيمات كلوتاثاينونريدكتيز Glutathione reductase وكلوتاثاينونبيروكسيداز Gutathione peroxidase، وبينت هذه الدراسات ان انخفاض فعالية انزيم - 6 Glucose phosphate dehydrogenase بسبب الايثانول يؤدي دوراً مهماً في حدوث هذه الاعاقه حيث يعمل هذا الانزيم على تجهيز NADPH من خلال اكسدة الكلووز، ويدخل NADPH كمرافق انزيمي للكلوتاثاينونريدكتيز للحصول على الكلوتاثيون بشكله المختزل (Oh et al., 1997).

أظهرت التراكيز المختلفة من السليمارين ارتفاعا معنويا في مستوى الكلوتاثايون مقارنة بالمجموعة المعاملة بالايثانول وهذا يتفق مع نتائج (Singanan et al., 2007 ; Preetha et al., 2006) من اعطاء السليمارين للجرذان بتركيز 100 ملغم / كغم عن طريق الفم لمدة 7 ايام يحمي من الاذى الكبدي المحدث بـ Aflatoxin B1 وأشار الى دور السليمارين في تحفيز انزيم كلوتاثايونريدكتيز .

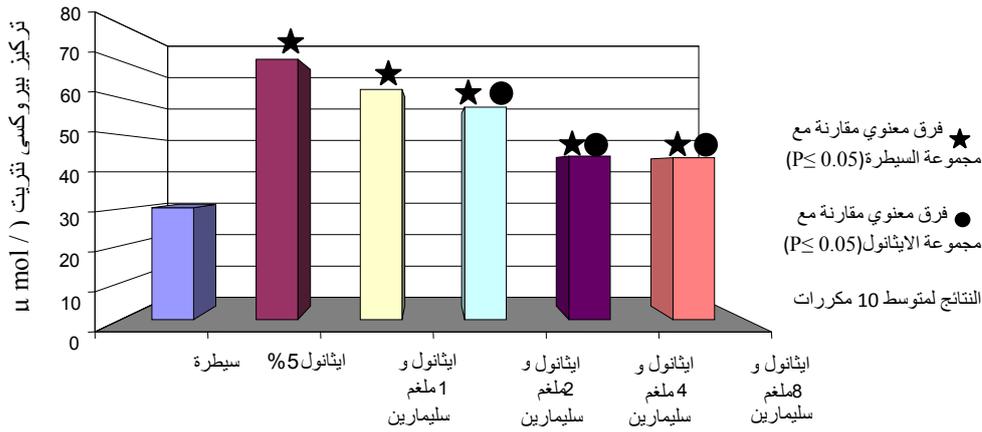
**تأثير السليمارين في مستوى المالوندايالديهايد في مصل الدم:** أدت المعاملة بالايثانول إلى ارتفاع معنوي في مستوى MDA في مصل الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة شكل (10) وهذا يتفق مع ما جاء به (Bailey and Cunningham, 2002) ان مايتوكونديريا الكبد تعتبر العضية الهدف للتسمم بالايثانول وبذلك فان الاجهاد التأكسدي في المايتوكونديريا يؤدي دورا مهما في امراضية وتطور الأذى الكبدي الناجم عن الكحول.



الشكل 10: تأثير السليمارين في مستوى المالوندايالديهايد

وقد أظهرت التراكيز المختلفة من السليمارين انخفاضا معنويا في مستوى MDA في مصل الدم مقارنة مع المجموعة المعاملة بالايثانول. وهذا يتفق مع الدراسات التي أجراها كل من (Singanan et al., 2007) في الجرذان والفئران . واجري (Lucena et al., 2002) دراسة على 60 مريضا مصابا بتشمع الكبد الكحولي لاحظ ان اعطاء السليمارين بتركيز 150 ملغم يوميا عن طريق الفم ولمدة 3 اشهر ادى الى انخفاض في مستوى MDA في مصل الدم لهؤلاء المرضى .

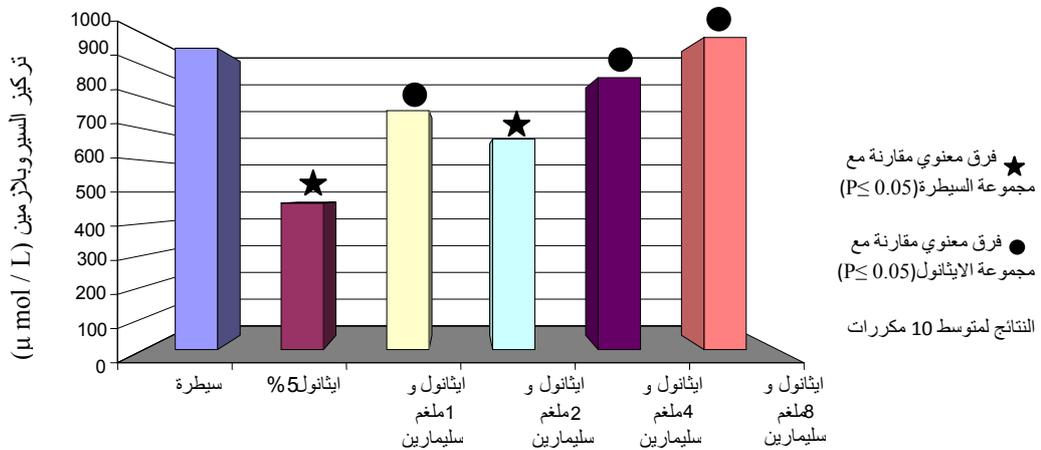
**تأثير السليمارين في مستوى بيروكسي نترت في مصل الدم:** اظهرت المجموعة المعاملة بالايثانول ارتفاعا معنويا في مستوى جذر بيروكسي نترت مقارنة مع مجموعة السيطرة (P ≤ 0.05) كما في الشكل (11)، وهذا ما أشار إليه كل من (Fromenty and Pessayre, 1995, Kessova et al., 2003) الى ارتفاع فعالية انزيم زانثيناوكسيداز وانزيم NADPH اوكسيداز نتيجة تعاطي الايثانول، وهي الانزيمات المسؤولة عن تكوين جذر السوبر اوكسايد السالب وبالتالي إنتاج جذر بيروكسي نترت الذي يعد من أهم أصناف الأوكسجين الفعالة في تحطيم الخلية.



الشكل 11: تأثير السليمارين في مستوى بيروكسي نترت

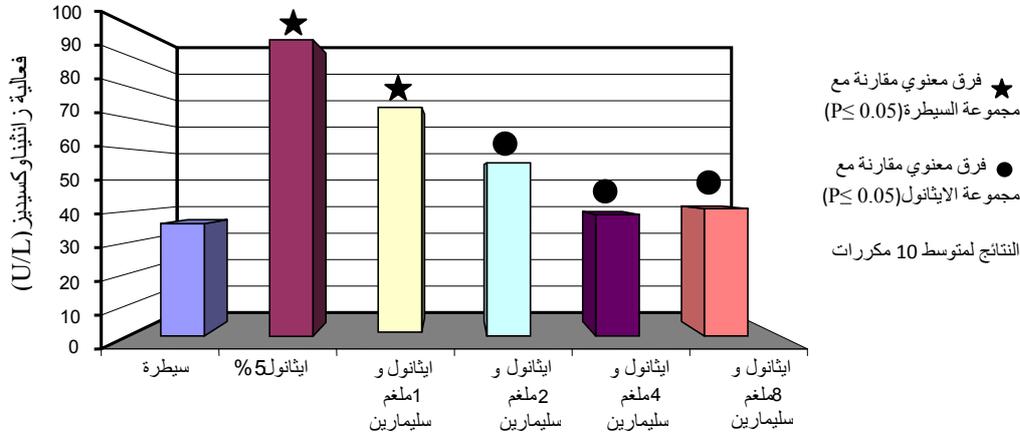
ويعد جذر بيروكسي نترت من العوامل المؤكسدة القوية التي تؤدي الى تحطيم المايونوكندريا والاحماض النووية وتكوين بيروكسدة الدهون (Radi *et al.*, 1991) ونيترية البروتينات فقد لوحظت قابلية جذر بيروكسي نترت على نيترية التايروسين الحر او التايروسين الذي يدخل في تركيب البروتينات بالإضافة الى نيترية المركبات الفينولية الأخرى (Crow *et al.*, 1997). أظهرت المعاملة بالتراكيز 2، 4، 8 ملغم من السليمارين انخفاض في مستوى جذر بيروكسي نترت مقارنة مع المجموعة المعاملة بالايثانول الشكل (11). وهذه النتائج تتفق مع (Lee *et al.*, 2003) منان اعطاء السليمارين للجردان بتركيز 100 ملغم / كغم عن طريق الفم مرتين يوميا ولمدة يومين ادى الى ارتفاع فعالية انزيم سوبر اوكسايدديسميوتيز SOD وانخفاض تركيز بيروكسي نترت في الكبد. وأوضح (Mansour *et al.*, 2006) انخفاض مستوى اوكسيد النترت وارتفاع SOD في الدم والكبد عند حقن السليمارين داخل الغشاء البريتوني بتركيز 100 ملغم / كغم يوميا لمدة 5 ايام في الجردان المعاملة بعقار Cisplatin.

تأثير السليمارين في مستوى السيروبولازمين في مصل الدم: أظهرت النتائج في الشكل (12) انخفاضا معنويا في مستوى السيروبولازمين في مصل الدم للمجموعة المعاملة بالايثانول مقارنة مع مجموعة السيطرة (P ≤ 0.05)، وهذه النتائج تتفق مع نتائج (Singh and Gupta, 2008) حيث اشار الى ظهور انخفاض معنوي في مستوى السيروبولازمين في مصل الدم والكبد للجردان المعاملة بالايثانول بتركيز 30% .



الشكل 12: تأثير السليمارين في مستوى السيروبولازمين

أدت التراكيز 1 و 8 ملغم من السليمارين الى ارتفاع مستوى السيروبلازمين مقارنة بالمجموعة المعاملة بالايثانول والدراسات حول هذا الموضوع قليلة غير ان هناك دراسة توصل اليها (Singh *et al.*, 2006) ان إعطاء السليمارين بتركيز 100 ملغم / كغم يوميا عن طريق الفم لمدة 21 يوما أدى إلى ارتفاع مستوى السيروبلازمين في مصل الجرذان المعاملة بالايثانول .  
تأثير السليمارين في فعالية انزيم زانثيناوكسيديز في مصل الدم: أظهرت النتائج ارتفاعا معنويا في فعالية أنزيم زانثيناوكسيديز في المجموعة المعاملة بالايثانول مقارنة مع مجموعة السيطرة الشكل (13).

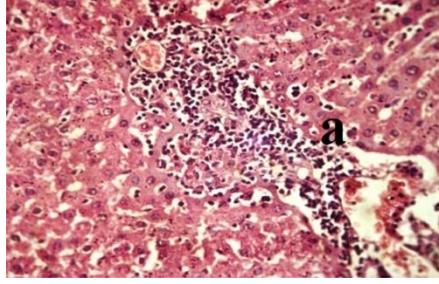


الشكل 13: تأثير السليمارين في فعالية انزيم زانثيناوكسيديز

وقد وجد ان تعاطي الايثانول يعمل على شحة ورود الأوكسجين hypoxia للخلايا الكبدية وعند إعادة توليد الأوكسجين فان الزانثيناوكسيديز يتفاعل مع جزئية الأوكسجين لينتج جذر السوبر اوكسايد السالب والذي يساهم في إحداث الأذى الكبدية ( Zhong *et al.*, 1989) وهذا ما تم تأكيده من قبل (Zima *et al.*, 1993) حيث اشار الى ان الإعطاء الحاد للايثانول أدى إلى زيادة فعالية انزيم زانثين اوكسيديز في مصل دم الجرذان.

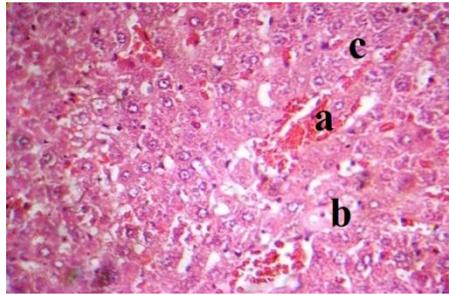
وقد أظهرت المعاملة بالتراكيز 2 و 4 و 8 ملغم من السليمارين انخفاضا معنويا في فعالية انزيم زانثين اوكسيديز مقارنة مع المجموعة المعاملة بالايثانول، لقد أوضح (Sheu *et al.*, 1998) ان هناك العديد من المركبات الفينولية قد تم اختبار تأثيراتها المثبطة لانزيم زانثيناوكسيديز وأشار الى معقد السليمارين. لوحظ ان معظم الخصائص العلاجية لمركبات السليمارين تعود لقابليتها الكاسحة للجذور الحرة والمضادة للاكسدة. وان انزيم زانثيناوكسيديز يعتبر واحد من اهم الانزيمات التي تنتشط فعاليته بواسطة Silybin (Varga, 2003).

تأثير السليمارين في اصلاح الأذى الكبدية المحدث بالايثانول: أظهرت الدراسة النسيجية على اكباج الجرذان المعاملة بالايثانول 5% تغيرات مرضية متعددة تمثلت بوجود حويصلات دهنية Microvesicular متراكمة في سايتوبلازم الخلايا الكبدية مع وجود بؤر نخرية وارتشاح خلايا التهابية وحيدة النواة مقارنة مع المجموعة غير المعاملة الشكل (14)، وهذا يتفق مع ما أشار له (Singh and Gupta, 2008; Hussein *et al.*, 2007) من ان اعطاء الايثانول وبتراكيز مختلفة أدى الى تجمع الدهون الثلاثية Triglycerids على شكل فجوات صغيرة داخل الخلايا الكبدية تدعى Microvesicular fatty change، وتتحد هذه الفجوات مع بعضها البعض لتكوين Macrovesicular fatty change. وقد تترافق التغيرات الدهنية مع حدوث الالتهاب الكحولي Alcoholic steatohepatitis وهذا ما لوحظ في نتائجنا عند استخدام الايثانول بتركيز 5%.

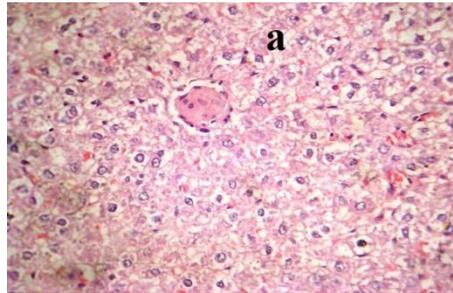


الشكل 14: مقطع عرضي لكبد جرذي معاملة بـ 5% إيثانول لمدة ثلاثة أسابيع. يلاحظ وجود بؤرة من النخر المرتشحة بالخلايا الالتهابية وحيدة النواة X 370 . (a) صبغة الهيماتوكسيلينوالايوسين.

أظهرت التراكيز المختلفة من السليمارين تحسنا واضحا في أنسجة الكبد حيث اظهرت المعاملة بالتراكيز 1 و 2 ملغم اختزال في كمية الحويصلات الدهنية والنخر والارتشاح للخلايا الالتهابية وحيدة النواة، في حين اظهرت المعاملة بالتراكيز 4 و 8 ملغم انعدام التغير الدهني وفقدان الحويصلات الدهنية وانعدام ارتشاح الخلايا الالتهابية، الاشكال (15)(16)(17)(18).



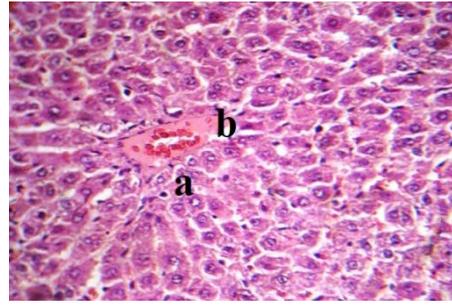
الشكل 15: مقطع عرضي لكبد جرذي معاملة بـ 5% إيثانول و 1 ملغم سليمارين لمدة ثلاثة أسابيع يوضح إحتقان الاوعية الدموية والجيبانيات (a) النخر التجلطي في خلايا الكبد (b) واختزال في التغيرات الدهنية (c) . X 370 صبغة الهيماتوكسيلينوالايوسين .



الشكل 16: مقطع عرضي لكبد جرذي معاملة بـ 5% إيثانول و 2 ملغم سليمارين لمدة ثلاثة أسابيع يوضح النخر التجلطي X 370 (a) صبغة الهيماتوكسيلينوالايوسين



الشكل 17: مقطع عرضي لكبد جرذي معاملة بـ 5% إيثانول و 4 ملغم سليمارين لمدة ثلاثة أسابيع يوضح بؤرة من النخر (a) وارتشاح للخلايا الالتهابية حول الاوعية الدموية (b) وانعدام التغيرات الدهنية (c) . X 90 صبغة الهيماتوكسيلينوالايوسين



الشكل 18: مقطع عرضي لكبد جرذني معاملة بـ 5% إيثانول و 8 ملغم سليمارين لمدة ثلاثة أسابيع يوضح انعدام التغيرات الدهنية وانعدام ارتشاح الخلايا الالتهابية (a) احتقان الوريد المركزي (b) . صبغة الهيماتوكسيلينوالايوسين X 370

#### المصادر

- Ackermann, E.; Brill, A.S. (1974). "Xanthine Oxidase Activity. In Method of Enzymatic Analysis". Bergmeyer H.U., 2<sup>nd</sup> ed., Academic press Inc., USA., pp. 512 – 522 .
- Bailey, S.M.; Cunningham, C.C. (2002). Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcoholic liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*. **32**(1),11-16.
- Ball, K.R.; Kowdley, K.V. (2005). A review of silybummarium (Milk thistle) as a treatment for alcoholic liver disease. *J. Clin. Gastroenterol.*, **39**(6), 520-528.
- Beuge, J.A.; Aust, S.D. (1978). "Estimation of Serum Malondialdehyde Level. Methods in Enzymology". Academic Press, London, 51: 302p.
- Brecher, S.; Dubord, R. (2008). Captopril, lisinopril decrease acetaldehyde effects upon the prothrombin time. *Digestive Dis. and Sci.*, **53**(5), 1334-1338.
- Buettner, G.R. (1993). The pecking order of free radicals, antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol; ascorbate . *Arch. Biochem. Biophys.* **300**, 535-43
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. (1999). "Tietz Textbook of Clinical Chemistry". 3<sup>rd</sup> ed. Vol. 2, pp.1145-1150.
- Castelino, D.J. ; Salem, H.H. (1997). Natural anticoagulant; the liver. *J. Gastroenterol. Hepatol.*,**12**, 77-83.
- Coles, E.H. (1980). "Veterinary Clinical Pathology". 3<sup>rd</sup> ed. Saunder S.W.B. Compony Ch.7, pp.183-213.
- Colowick, S.P. ; Kaplan, N.O. (1979). "Methods in Enzymology". Vol. 62, Partp, Academic Press Inc., USA, 7p.
- Crow, J. P.; Ye, Y.Z.; Strong , M.; Kirk, M.; Barnes, S.; Bechman, J. S. (1997). Superoxide dismutase catalyzes nitration of tyrosine by peroxynitrite in the rod ; head domains of neurofilament . *L. J. Neurochem .*, **69**, 1945-1953.
- Das, S.K.; Vasudevan, D.M. (2006). Protective effect of silymarin, amilk thistle (silybummarium) derivative on ethanol induced oxidative stress in liver. *Indian. J. Biochem. Biophys. Biophys.*, **43**(5), 356-11
- Diehl, A.M. (2002). Liver disease in alcohol abusers: *Clin. Perspective Alcohol.*, **27**(1), 7-11.
- Floersheim, G.L.; Eberhard, M.; Tschumi, P. (1978). Effects of pencillin; silymarin on liver enzymes and blood clotting factors in dogs given aboiled preparation of Amanita phalloides . *Toxicol . Appl. Pharmacol.*, **46**, 455-62
- Flora, K.; Hahn, M.; Rosen, H.; Benner, K. (1998). Milk thistle (Silybummarium) for the therapy of liver disease. *J. Gastroenterol.* **93**, 139-43.
- Fraschini, F.; Demartini, G.; Esposti, D. (2002). Pharmacology of silymarin. *Clin. Drug.Invest.* **22**(1), 51-65.
- Fromenty, B.; Pessayre, D. (1995). Inhibition of mitochondria beta-oxidation as a mechanism of hepatotoxicity. *Pharmacol. Ther.* **67**, 101-154

- Hussein, J.S.; Oraby, F.S.; AL-Shafey, N. (2007). Antihepatotoxic effect of garlic ; onion oils on ethanol-induced liver injury in rats. *J. Appl. Sci. Research.*, **3**(11), 1527-1533
- Kaplan, L.A.; Pesce, A.J.; Kazmierczak, S.C. (2003). "Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation". 4<sup>th</sup> ed. USA Mosby, Inc. Ch. 34., 651p., Ch. 35., 673p.
- Kessova, I.G.; HO, S.; Thung, S.; Cederbaum, A.I. (2003). Alcohol-induced liver injury in mice lacking Zn – Superoxide dismutase. *Hepatology.* **38**(5), 1136-1145.
- Lee, T.Y.; Mai, L.; Wang, G.J.; Chiu, J.H.; Lin, Y.L. ; Lin, H.C.(2003). Protective mechanism of salvia miltiorrhiza on carbon tetra chloride-induced acute hepatotoxicity in rats. *J. Phrma-col. Sci.*, **91**, 202-210
- Lian, L.Y.; Chao, H.Y.; Tsung, C.Y.; Tsau, H.Y. (2008). Antibiotic effects of aherbal combination Regimen on hepatic fibrotic Rats . *Phyto Therapy Research*, **22**(1), 69-76
- Lucena, M.I.; Andrad, R.J.; De LA Cruz, J.P.; Rudriguez-Mendizabal, M.; Blanco, E.; Sanchez de La Cuesta, F. (2002). Effects of silymarin MZ-80 on oxidative stress in patients with alcoholic cirrhosis.Result of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Int J. Clin. Pharmacol. Ther.* **40**, 2-8.
- Luna, L.G. (1968). "Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Instate of Pathology". 3<sup>rd</sup> ed., McGraw-Hill Book Company, 3 p.
- Mansour, H.B.; Hafez, F.H.; Fahmy, N.M. (2006). Silymarin modulates cisplatin-induced oxidative stress ; hepatotoxicity in rats . *J. Biochemist. Molecul. Biol.*, **39**(6), 656-661.
- Medina, V.A.; Donohue, T.M.; Sorrell, M.F.; Tuma, D.J. (1985). Covalent binding of acetaldehyde to hepatic proteins during ethanol oxidation. *J. Lab ;Clin. Med.*, **105**, 5-10.
- Menden E.E.; Boiano, H. M.; Murthy, L.; Petering, H.G. (1977). Modification of phenylenediamine oxidase method to permit non – antomatedceruloplasmin determination in batches of rat serum of plasma microsamples . *Analytical.*, **10**, 197 – 204.
- Michael Murray, N.D.; Josephizzorno, N.D. (1991). "Encyclopedia of naturalmedicine". Rocklin, California: Prima Publishing. 82p.
- Midler, I.E.; Arts, I.C.; Vandeputte, B.; Vanema, D.P. ; Hollman, P.C. (2005). Lignan contents of Dutch plant foods . *Br. J. Nutr.*, **93**(3), 393-402.
- Oh, S.I.; Kim, C.I.; Chun, H.J.; Park, S.C. (1997). Chronic ethanol consumption Affects glutathione status in rats liver. *American. Soci. Nutr. Sci.* **128**, 758-763.
- Pari, I.; Karthikesan, K. (2007). Protective role of coffeic acid against alcohol-induced biochemical changes in rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, **21**(4), 355-61.
- Pramyothin, P.; Samosorn, P.; Pounghompoo, S. ; Chayo. (2006). The protective effect of phyllanthusemblica Linn. extract on ethanol induced rat hepatic injury. *J. Ethno. Pharmacology.*, **107**(3), 361-364
- Preetha, S.P.; Kanniappan, M.; Selvakumar, E.; Nagaraj, M. ;Varalakshmi, P. (2006). Cupeol ameliorates aflatoxin B1-induced peroxidative hepatic damage in arts. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, **143**(3), 333-9
- Psotova, J.; Zahalkova, J.; Hrbac, J.; Samanek, V.; Bartek, J. (2001). Determination of total antioxidant capacity in plasma by cyclic voltammetry two case report. *Biomed. Papers.* **145**(2), 81-83.
- Radi, R.; Beckman, J. S.; Bush , K. M. ; Free, B. A . (1991) . Peroxynitrite induced membrane lipid peroxidation : the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch. Biochem. Biophys.*, **288**, 481-487.
- Rambaldi, A.; Jacobs, B.; Gluud, C. (2007). Milk thistle for alcoholic and / or hepatitis B or C virus liver diseases. *Rev Cochrane Database System.* **17** (4).
- Ramirez-Farias, C.; Madrigal-Santillan, E.; Gutierrez-Salinas, J.; Rodriguez-Sanchez, N.; Valle-Jones, I.; Gramlich-Martinez, I.; Hernandez-Ceruelos, A.; Morales-Gonzlez, J. (2008). Protective effect of some vitamins against the toxic action of ethanol on liver regeneration induce hepatectomy in rats. *J. world .Gastro Enter.*, **14**(6), 899-907

- Sagar, S.M. (2007). Future directions for research on silybummarianum for cancer patients. *Integrative Cancer Therapies.*, **6**(2),166-173.
- Sambath, K.R.; Sivakumar, T.; Sivakumar, P.; Nethaji, R.; Vijayabasker, M.; Perumal, P.; Malaya Gupta ; KantiMazumder, U. (2005). Hepatoprotective; invivo antioxidant effects of car-eyaarborea against carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Inter. J. Molecular Medicine ;advan. Sci.*, **1**(4), 418-423.
- Al- Katib, S. M.; Al- Khashab, E. M.; Kalo, M. S.; Hamdoon, A. A. (2009). The Antioxidant effect of flavonoids and non flavonoids part extracted from Ginger (Zingiberofficinalis ) Root. *Raf. J. Sci.*, **20** ( 3 ) , 18-31.
- Saravanan, R.; Viswana, P.; Pugalendi, K.V. (2006). Protective effect of ursolic acid on ethanol-mediated experiment and liver damage in rats. *Life Sci.*, **78**, 713-718.
- Sheu, S. Y.; Lai, C. H. ; Chiang, H.C. (1998). Inhibition of xanthine oxidase by purpurogallin and silymarin group. *J. Anticancer Res.*, **18**(1), 263-267.
- Simanek, V.; Kren, V.; Ulrichova, J.; Vicar, J.; Cavk, L. (2000). Silymarin What is in the name?. *Hepatology.* **32**, 442-443.
- Singanani, V.; Singanan, M. ; Begun, H. (2007). The hepatoprotective effect of Bael leaves (AegleMarmelos) in alcohol induced liver injury in albino rats. *Inter. Sci. Techno.*, **2**(2), 83-92.
- Singh, D.; Gupta, R.S. (2008). Modulatory influence of abutilon indium Leaves on hepatic antioxidant status ; lipid peroxidation against Alcohol-induced liver damage in rats. *Pharmacology on line.*1, 253-262.
- Singh, R.P.; Deep, G.; Chittezhath, M.; Kaur, M.; Dwyer-Nield, L.D.; Malkinson, A.M.; Agarwal, R. (2006). Effect of silybin on the growth and progression of primary lung tumors in mice . *J. Natl. Cancer Inst.*, **98**(12), 846-55.
- Song, Z., Ion, D., Song, M.,Y-W, L. D., Liu ,Y., Ji X., Craig, M. (2006). Silymain protects against acute ethanol- induced hepato toxicity in mice. *Alcoholism, Clin. Experi. Reser.*, **30**(3), 407-413.
- Subramanian, S.; Vaughn, K.; Carrier, D.J. ; Clausen, E.C.(2007). Pretreatment of milk thistle seed to increase the silymarin Yield :An alternative to petroleum ether defatting. *Bioresour. Technol.*, **99**(7), 2501-2506.
- Suchocki, E.A.; Brecher, S. (2007). The effect of Acetaldehyde on human plasma factor XIII function. *Dig. Dis. Sci.* **52**(12), 3488-34
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H.(1981). "Principle and Procedures of Statistics: A biometrical Approach". McGraw-Hill International Book Company, New York.
- Valenzuela, A.; Garrido, A. (1994). Biochemical bases of the pharmacological action of flavonoidsilymarin and of its structural isomer silybin. *Bio. Res.*, **27**, 105-12.
- Vanuffelen, B.E.; Van Derzec, J. ;Deskoster, B.M. *Biochem. J.* 330 : 719 , 1998. ( Cited by AL-Zamely , O.M.; Al-Nimer , M.S. ; Muslih, R.K. (2001). Detection the level of peroxy nitrite and related with antioxidant status in the serum of patient with acute myocardial infarction. *Nat. J. Chem.*, **4**, 625-637
- Varga, Z. (2003). Effect of Silybin on phorbolmyristate acetate induced protein kinase C translocation, NADPH oxidase activity; apoptosis in human *neutrophils*. *Phytomedicine*, **11**(2-3), 206-212.
- Varley, H.; Gowenlock, A.H.; Bell, M.(1976). "Practical Clinical Biochemistry: hormones, Vitamins, drugs and poisons". 5<sup>th</sup> ed. Vol. 2, William Heinemann medical Books Ltd., London, 223p.
- Vogel, G.; Tuchweber, B.; Trost, W. ; Mengs, U. (1984). Protection by silybin against Amanita phalloides intoxication in beagles. *Toxicol.; Applpharma.*, **73**(3), 355-362
- Wallace, S.N.; Caryier, D.J.; Clausen, E. (2003). Extraction of nutraceuticals from milk thistle. Part II Extracion with organic solvents. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 105-108, 891-90.

- Wang, M.; Grang, L.L.; Tao, J. (1996). Hepatoprotective of silybummarianum herbal preparation on ethanol-induced liver damage. *Fitoterapia*, **67**, 167-171
- Wellington, K. ; Jarvis, B. (2001). Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders. *Bio. Drugs.*, **15**(7), 465-89
- Wilsrusmee, C.; Kittur, S.; Shah, G.; Siddiqui, J. ; Beruch, D.; Wilasrumee, S.; Kittur , D.S. (2002). Immunostimulatory effect of silybummarianum (milkthistle) extract. *Med. Sci. Monit.*, **8**(11), 439-43.
- Zhong, Z.; Lemasters, J.J. ; Thurman, R.G. (1989). Role of Purines ; xanthine oxidase in reperfusion injury in perfused rat liver. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **250**, 470-475
- Zima, T.; Novak, L.; Stipek, S.(1993). Plasma xanthine oxidase level and alcohol administration. *Alcohol and Alcoholism.*, **28**(6), 693-694.

---

## **Extraction of Silymarin Complex from Milk Thistle (*Silybummarianum*) Seeds and Study its Effect on the Liver Functions and some Antioxidants in Rats**

**Samera M. Alkatib**

**Alaa H. Taha**

*Department of Physiol. and Biochem. and Pharmacol./ College of Veterinary Medicine /  
University of Mousl*

### **ABSTRACT**

This study included extraction of silymarin complex from milk thistle seeds and study the effect of different concentrations of this complex on the liver functions and levels of some antioxidants in rats exposed to liver injury induced by ethanol, then study the effect of these concentrations on the repair of liver injury induced by ethanol by evaluating the hepatic pathology of different animal groups. Sixty male rats with the age of 3-4 months were divided into 6 groups: Group (1) control which received drinking tap water, group (2) treated with 5% ethanol in drinking water, group (3) treated with 5% ethanol and 1 mg silymarin complex by oral dose once daily, group (4) treated with 5% ethanol and 2 mg silymarin complex by oral dose once daily, group (5) treated with 5% ethanol and 4 mg silymarin complex by oral dose once daily, group (6) treated with 5% ethanol and 8 mg silymarin complex by oral dose once daily, by the end of the experimental period of 3 weeks all animals groups were killed and collection of blood samples and liver tissues for the measuring of liver functions parameters and some antioxidants in blood, and processing the histological examination of liver.

Treatment with ethanol revealed a significant prolongation of the coagulation time and a significant increase of Alanine transaminase (ALT) and Aspartate transaminase (AST) enzymes activity, total and direct bilirubin, malondialdehyde, peroxy nitrite radical and xanthine oxidase activity and a significant decrease of albumin, Vit. C, Vit. E, glutathione and ceruloplasmin levels in serum comparing with the control group ( $P < 0.05$ ).

Different concentrations of silymarin complex have different effects on the protection from the liver injury induced by ethanol, and return these parameters to about normal ranges. Concentrations of 1 and 2 mg of silymarin complex can reduce the fatty changes induced by ethanol, while the concentrations of 4 and 8 mg led to reduce the necrosis and inflammation in addition to fatty changes.

**Keywords:** Silymarin, Milk Thistle Seeds, Liver Functions, Antioxidants.