مقاله تحقیقی

تعیین نقش آنتی‌اکسیدانتی اوژنول در مهار آثار سیتوتوکسیک رتینوییک اسید در کبد موش

علی امینی .Ph.D*، مرتضی نجفی مهر .M.Sc*، حسن کریمی .M.Sc*، ابراهیم چراغی .M.Sc*، حمیرا مرادی .M.Sc**

* گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی

** گروه زیست‌شناسی دانشگاه لرستان

تاریخ وصول: مرداد ماه ۸۳، تاریخ پذیرش: مهر ماه ۸۳

چکیده

هدف: این مطالعه به‌منظور دستیابی به اثرهای آنتی‌اکسیدانتی اوژنول برای مهار آثار سیتوتوکسیک رتینوییک اسید در کبد موش نژاد NMRI انجام شده است.

مواد و روشها: جانوران مورد مطالعه در این تحقیق موشهای بارداری هستند که در گروههای مجزا تحت تأثیر رتینوییک اسید، اوژنول و همچنین در معرض هر دو ماده به‌طور توأم قرار گرفتند. برای مقایسه، گروههای شاهد و گروه تجویز شده توسط حلال رتینوییک اسید (روغن زیتون) نیز انتخاب شد. تجویز رتینوییک اسید (۶۰mg/kg) فقط در روز دهم ولی اوژنول (۱۰۰mg/kg) از روز پنجم تا دهم بارداری و همچنین اثر متقابل هر دو ماده نیز به همان ترتیب و از طریق روش گاواژ (gavage) انجام شد. در روز هجدهم بارداری، موشها سزارین شده و سپس کبد همه جنینها و موشها، برای مطالعات بافت‌شناسی بررسی شدند.

یافته‌ها: در نتیجه اثر مهاری اوژنول نسبت به رتینوییک اسید، طول و مساحت سلول و نیز مساحت هسته‌های پلی‌پلوییید در سلولهای کبدی مادر و جنین به طرف حالت عادی متمایل شد. همچنین مساحت هسته‌های کوچک و حداکثر قطر سینوزوییدهای کبدی نیز تعدیل یافته و به طرف حالت عادی متمایل شده است.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها بیان نمودند که تجویز دوز معینی از اوژنول سبب مهار فعالیت رتینوییک اسید در کبد موشهای مادر و جنین شده و موجب جلوگیری از فعالیت تراتوزنی رتینوییک اسید شده و خصوصیات ساختاری سلولهای کبدی را در شرایط عادی حفظ می‌نماید.

کلید واژه‌ها: رتینوییک اسید، اوژنول، آنتی‌اکسیدانت، کبد، هپاتوسیتها

مقدمه

هدف ما از انجام این مطالعه یافتن ماده‌ای با خواص طبیعی برای جلوگیری از آثار سمی رتینوییک اسید بود تا بتوان از اثرهای مخرب این ترکیب که حاصل مصرف بیش از حد آن است جلوگیری نمود.

اوژنول با نام علمی ۴ - الیل ۲ - متوکسی فنل جزء اصلی روغن درخت میخک را تشکیل می‌دهد و به‌عنوان چاشنی غذا استفاده می‌شود [۱]. این ماده فاقد آثار سرطان‌زایی و جهش‌زایی بوده و تحت عنوان محافظت‌کننده غذایی و دارویی شناخته شده است [۱، ۲ و ۳]. اوژنول فاقد فعالیت اتصال به رشته DNA است ولی سبب مهار اکسیداسیون پلی‌لیپیدهای غیراشباع در میکروزومهای کبدی می‌شود [۴، ۵ و ۶]. این عمل ناشی از توانایی تخریب رادیکالهای آزاد اکسیژن توسط اوژنول بوده و منجر به مهار عمل رتینوییک اسید در این مورد می‌شود. همچنین سطح سرمی آنزیمهای SGOT[1] و SGPT[2] را در موشهای تیمار شده با آهن کاهش داده در نتیجه سمیت آهن را تخفیف می‌دهد [۶]. این ترکیب به‌عنوان داروی کاهش‌دهنده

آدرس مکاتبه: کرمانشاه، دانشگاه رازی، گروه زیست‌شناسی، کد پستی ۶۷۱۴۵
Email: aminial@yahoo.com

1. Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase
2. Serum Glutamic Puric Transaminase

ضایعات ناشی از موادی از جمله تتراکلرید کربن، پراکسیدها، آفلاتوکسین، سیکلوفسفامید معرفی شده و این اثر را در مورد آهن مازاد بر نیاز بدن نیز انجام می‌دهد [۶ و ۷]. نشان داده شده است که اوژنول سطح آنزیمهای LDH[1] ، ASAT[2] ، ALAT[3] ، ALP[4] در رت تیمار شده با آهن را کاهش داده در نتیجه سمیت آهن را با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها از بین می‌برد [۵ و ۷]. همچنین اوژنول می‌تواند تنفس سلولی را در میتوکندریهای کبد موش مهار نماید [۶].

رتینوییک اسید یکی از متابولیت‌های طبیعی ویتامین A است که در مراحل تکامل جنین به‌عنوان عامل مورفوژن عمل نموده و به این ترتیب در الگوهای شکل‌گیری بدن مهره‌داران نقش اساسی دارد [۸، ۹ و ۱۰]. این ماده از طریق تحریک و مهار ژنهای خاص نقش مهمی در تکثیر و تمایز سلول‌ها ایفا می‌کند و این عمل را توسط اتصال به رسپتورهای خود انجام می‌دهد [۹ و ۱۱]. این رسپتورها روی نقاط خاصی از ژن‌های هدف قرار دارند و با اتصال به نواحی مخصوصی از توالی‌های رشته DNA نقش فاکتورهای رونویسی را ایفا می‌کنند [۱۰ و ۱۱].

رتینوییک اسید در شرایط عادلی نسبت به بیان ژنهای Hox و سایر ژنهای وابسته به خود در نواحی بسیاری از بدن جنین اعمال نفوذ دارد ولی تغییر در بیان طبیعی ژنهای تحت نفوذ آن می‌تواند منجر به بروز آثار تراتوژنتیکی متنوعی شود [۱۱ و ۱۲]. رتینوییک اسید، فعالیت اکسیدازهای پراکسی زومی را در هپاتوسیتهای کبد افزایش داده و با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب اکسیداسیون لیپیدها و سایر ترکیبات سلولی می‌شود [۱۲، ۱۳ و ۱۴]. پراکسیداسیون لیپیدها منجر به ناپایداری غشای سلول و فراهم شدن زمینه بعضی از بیماری‌ها نظیر بیماریها نظیر بیماریهای التهابی می‌شود [۱۴ و ۱۵]. رتینوییک اسید و رتینول فعالیت آنزیم آسیل‌کوآنزیم A اکسیداز را در هپاتوسیت‌های خرگوش به میزان ۶۰ درصد در هپاتوسیت‌های رت حدود ۳۰ درصد افزایش می‌دهند [۱۴]. میزان پراکسیدهای پلاسما و کبد در اثر تجویز رتینوییک اسید افزیش می‌یابند ولی میزان ویتامین E و رتینول کبدی و پلاسمایی دچار کاهش می‌شود [۱۵ و ۱۶]. به دنبال تجویز رتینوییک اسید، نسخه‌برداری پروموتورهای الکالین فسفاتاز در سلولهای کبد، استخوان و کلیه افزایش می‌یابد و در نتیجه مقدار این آنزیم نیز در آنها به سطح بالاتر از حالت عادی می‌رسد [۱۷]. نشان داده شده است که تجویز همزمان رتینوییک اسید و اوژنول در موش سبب شده است که بعضی از نقایص اندامهای حرکتی و ناهنجاریهای ناحیه صورت و جمجمه که از رتینوییک اسید ناشی شده‌اند در سطح معنی‌دار کاهش یابد [۱۸].

مواد و روشها

این تحقیق روی موشهای نژاد NMRI که از مؤسسه سرم‌سازی رازی تهیه شده‌اند صورت گرفت. حیوانات مورد مطالعه در قفسهای مخصوص و تحت شرایط کنترل شده نگهداری شدند. دمای محیط ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتیگراد، رطوبت آن ۳۰ تا ۴۰ درصد و زمان تابش نور در شبانه روز شامل یک دوره متناوب ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی بود. تغذیه حیوانات با پلت آماده (تهیه شده از شرکت خوراک دام پارس) و آب مصرفی آنها از طریق آب لوله‌کشی شهر تأمین شده است. موشهای ماده و نر (۲و۱) در طی یک شبانه روز با هم آمیزش داده شدند و روز پیدایش واژینال پلاک به‌عنوان روز صفر بارداری تعیین شد و براساس آن نیز روزهای بارداری و سن جنینها مشخص شد.

حیوانات مورد ازمایش در این تحقیق به پنج گروه تقسیم شدند:

۱- گروه شاهد که هیچ ماده‌ای به آنها تجویز نشد.

۲- گروه تجربی ۱ یا گروه حلال که از روز پنجم تا دهم بارداری (به مدت شش روز) روزانه مورد تجویز تک دوز حلال رتینوییک اسید (روغن زیتون) به میزان ۳۰ میکرولیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفتند.

۳- گروه تجربی ۲ که فقط در روز دهم بارداری تک دوز ۶۰mg/kg رتینوییک اسید به آنها تجویز شد.

۴- گروه تجربی ۳ که از روز پنجم تا دهم بارداری (به مدت

1. Lactate dehydrogenase
2. Aspartate aminotransferase
3. Alanin aminotransferase
4. Alkalin phophatase

شش روز) روزانه مورد تجویز تک دور اوژنول به میزان mg/kg ۱۰۰ قرار گرفتند.

۵- گروه تجربی ۴ که از روز پنجم تا دهم بارداری، روزانه مورد تجویز اوژنول به میزان ۱۰۰mg/kg قرار گرفته و علاوه بر آن در روز دهم نیز توسط تک دوز رتینوییک اسید به میزان ۶۰mg/kg مورد تجویز واقع شدند.

اوژنول مورد نیاز این تحقیق از شرکت مرک (Merk) و رتینونیک اسید مصرفی نیز از شرکت سیگما (Sigma) تهیه شد. برای تجویز مواد از روش گاواژ و با کمک سوزن مخصوص شماره ۲۰ استفاده شد. موشها در روز ۱۸ بارداری، با روش جابه‌جایی مهره گردنی کشته شده و جنینهای آنها خارج شد. سپس کبد متعلق به جنینها و موشهای مادر از بدن خارج و نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. مقاطع ۶ و ۷ میکرونی از کبد تهیه و به روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه قرار گرفتند. مطالعات مورفومتریک روی سلول‌های کبدی موشهای مادر و جنینهای آنها با استفاده از میکروسکوپ معمولی و توسط عدسی چشمی مدرج صورت گرفت.

این مطالعه در زمینه مساحت سلول (Cell area)، مساحت هسته‌های کوچک (Nuclear area)، مساحت هسته‌های پلی‌پلوئید (Polyloid nuclear area) و حداکثر قطر سینوزوییدها (Maximum sinusoid diameter) و طول سلول (Cell perimeter) انجام شد.

در این مطالعه به منظور تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات به دست آمده از نرم‌افزار Spss و روش آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و Tukey's Test استفاده شد.

یافته‌ها

۱- بررسی نتایج در موشهای باردار

از آن‌جا که در مشاده نتایج میکروسکوپی تیمارهای گروه کنترل و T_2 تفاوتی مشاده نشد بنابراین برای جلوگیری از تکرار مطالب به مقایسه نتایج حاصل از تیمارهای گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ۴ با گروه شاهد بسنده شد. نتایج نشان داد که روغن زیتون و اوژنول هر کدام به تنهایی و به‌طور جداگانه هیچ‌گونه تغییر بافتی و سلولی ایجاد نکرده و در این مورد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

تغییرات معنی‌دار که در سلولهای کبد موشهای باردار گروه T_3 ایجاد شده بود عبارتند از کاهش مساحت سلولها و کاه مساحت هسته‌های پلی‌پلوییید. گروههای تجربی ۳ و ۴ دارای وضعیت عادی هستند. شکلهای شماره ۱ و ۳ وضعیت بافت کبد را به ترتیب در گروههای شاهد و تجربی ۳ و ۴ نشان داده‌اند. میانگین مقادیر مورفومتریک ساختارهای بافت کبدی هر یک نیز در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

تغییرات دیگری که در موشهای گروه تجربی ۲ ظاهر شده ولی از نظر آماری معنی‌دار نبودند عبارتند از؛ تغییرات تعدادی از سلولها، ایجاد گسیختگی در بافت همبند کبد، افزایش تعداد سلولهای کوپفر، افزایش حداکثر قطر سینوزییدها و جداشدن سلولهای آندوتلیالی سینوزوییدها در کبد.

جدول ۱. میانگین ساختارهای مورد مطالعه در سلولهای کبدی موش باردار

پارامترها	گروه شاهد	گروه تجربی ۲ (رتینوییک اسید)	گروه تجربی ۳ (اوژنول)	گروه تجربی ۴ (رتینوییک اسید + اوژنول)
طول سلولها (میکرومتر)	۳۹/۴۰۸	۳۳/۸۳۱*	۳۴/۴۰۵*	۴۱/۵۵
مساحت سلول (میکرومترمربع)	۱۰۸۹/۶	۸۳۶/۱۸**	۱۱۷۸	۱۰۶۹/۳
مساحت هسته‌های پلی‌پلوییید (میکرومترمربع)	۲۳۵/۰۴	۱۷۱/۹۳**	۱۹۱/۴۸	۱۹۷/۰۷
مساحت هسته‌های کوچک (میکرومترمربع)	۱۵۹/۴۱	۱۴۳/۷۷	۱۵۰/۰۷	۱۵۲/۶۹

** : $p<0.01$ و * : $p<0.05$

۲- بررسی نتایج در جنینهای مورد آزمایش

تغییرات ایجاد شده در کبد جنینهای متعلق به تیمارهای گروه تجربی ۲ که در سطح معنی‌دار صورت گرفته‌اند عبارتند از: کاهش مساحت سلولها کاهش مساحت هسته‌های کوچک و کاهش مساحت هسته‌های پلی‌پلوئیدی. جنینهای گروه‌های تجربی ۳ و ۴ دارای وضعیت عادی هستند. شکل شماره ۴

وضعیت جنین کنترل را نشان می‌دهد. شکلهای شماره ۵ و ۶ وضعیت ایجاد شده را به ترتیب در بافت کبد جنینهای گروه‌های تجربی ۲ و ۴ نمایش داده‌اند. میانگین مقادیر مورفومتریک ساختارهای بافت کبدی هر یک نیز در جدول شماره ۲ خلاصه شده است.

تغییرات دیگری که در کبد جنینهای گروه تجربی ۲ به وقوع پیوسته ولی از نظر آماری معنی‌دار به نظر نمی‌رسند عبارتند از؛ تخریب از سلولها، ایجاد گسیختگی در بافت همبند کبد، افزایش حداکثر قطر سینوزوییدها و جدا شدن سلولهای آندوتلیالی سینوزوییدها و کاهش طول سلولها.

جنینهایی که مادران آنها تحت تأثیر رتینوییک اسید و اوژنول بوده‌اند دارای وضعیت عادی هستند. زیرا اوژنول اثر تراتوژنیک رتینوییک اسید را خنثی نموده و طول و مساحت سلولها، مساحت هسته‌های پلی‌پلوییدو تقطر سینوزوییدها را به حالت عادی برگردانده است.

جدول ۲. میانگین ساختارهای مورد مطالعه در سلولهای کبد جنینهای ۱۸ روزه موش

پارامترها	گروه شاهد	گروه تجربی ۲ (رتینوییک اسید)	گروه تجربی ۳ (اوژنول)	گروه تجربی ۴ (رتینوییک اسید + اوژنول)
طول سلولها (میکرومتر)	۱۹/۵۲۵	**۱۵/۸۰۶	**۲۱/۴۵۴	۲۰/۱۵۵
مساحت سلول (میکرومترمربع)	۳۲۲/۷۶	***۲۱۴/۶۷	**۳۸۸/۸۹	۳۳۶/۱
مساحت هسته‌های پلی‌پلوویید (میکرومترمربع)	۶۱/۳۷۲	***۴۶/۶۸۳	۵۷/۳۲۹	۵۸/۵۲۲
مساحت هسته‌های کوچک (میکرومترمربع)	۵۵/۶۰۶	***۴۰/۹۰۷	۳۷/۹۲۳	۴۸/۵۹۲

* : $p<0.05$ و ** : $p<0.01$

نتایج نشان داد که اوژنول، اثر تراتوژنیک رتینوییک اسید که باعث کاهش طول سلولها شده بود را خنثی و به حالت عادی برگردانده است. نتایج مشاهده شده در کبد جنینهایی که مادران آنها تحت تأثیر متقابل رتینوییک اسید و اوژنول بوده‌اند؛ این است که اوژنول اثر تراتوژنیک رتینوییک اسید را خنثی نموده و طول و مساحت سلولها، مساحت هسته‌های پلی‌پلوویید و قطر سینوزوییدها را به حالت عادی برگردانده است.

بحث

این تحقیق با هدف تعیین پاره‌ای از آثار بیولوژیکی اوژنول و نیز آثار توام آن با رتینوییک اسید انجام شده است. اوژنول به علت داشتن طعم و عطر مخصوص به‌عنوان چاشنی غذا محسوب شده و از جنبه‌های بیولوژیکی متعدد نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد.

افزودنی‌های غذایی دسته‌ای از ترکیبات طبیعی یا مصنوعی هستند که در سطح گسترده‌ای استفاده می‌شوند. از این مواد به‌عنوان محافظت کننده مواد غذایی، برای ایجاد طعم مطبوع در غذاها یا از لحاظ کاربردهای پزشکی استفاده‌های متعدد به‌عمل می‌آید [۱ و ۲]. اوژنول ترکیبی است طبیعی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانت، خواص ضدالتهاب و خاصیت ضدحساسیت بوده و علاوه بر آن فاقد اثرهای سرطانزایی و جهش‌زایی است؛ بنابراین به‌عنوان محافظت کننده غذایی و دارویی تلقی می‌شود [۱، ۲ و ۳]. اوژنول فاقد فعالیت اتصال به DNA است ولی با مهار اکسیداسیون پلی‌لیپیدهای غیراشباع در میکروزومهای کبدی که ناشی از توانایی تخریب رادیکالهای آزاد اکسیژن اسیت، سبب مهار عمل رتینوییک اسید در این مورد می‌شود [۴ و ۵]. اوژنول از اکسیداسیون لیپیدهای غیراشباع میکروزومی جلوگیری می‌کند. همچنین نشان داده شده است که این ماده می‌تواند تنفس سلولی را در میتوکندریهای کبد موش مهار نماید [۵].

مطالعه حاضر نشان داد با وجودی که رتینوییک اسید از متابولیت‌های طبیعی ویتامین A است ولی به دلیل داشتن خاصیت مورفوژنیک و نیز به علت نقش اکسیدانتی ماده‌ای تراتوژن است. از طرف دیگر اوژنول قادر است این آثار تراتوژنیک را کاهش دهد. نوع و میزان تغذیه در دوران بارداری به‌عنوان یکی از عوامل قابل توجه و مهم تلقی می‌شود. در این رابطه یکی از ترکیباتی که در فرایندهای متابولیکی تولید می‌شود رتینوییک اسید است [۱۰]. این ماده یکی از متابولیت‌های بیولوژیکی فعال است که از ویتامین A و مواد

کارتنویید ایجاد می‌شود [۱۰].

رتینوییک اسید در شرایط عادی نسبت به بیان ژنهای Hox و سایر ژنهای وابسته به خود در مناطق مختلف بدن جنین اعمال نفوذ دارد ولی تغییر در بیان طبیعی ژنهای تحت نفوذ آن می‌تواند منجر به بروز اثرات تراتوژنیکی متنوعی گردد [۸، ۹ و ۱۰]. بنابراین حضور بیش از حد این ماده در مراحل تمایز سلولهای جنین می‌تواند از طریق تحریک یا مهار ژنهای خاص وابسته به خود سبب تغییر در الگوهای تمایز و تخصصی شدن سلولها شود [۹ و ۱۰].

رتینوییک اسید فعالیت اکسیدازهای پراکسی زومی را در هپاتوسیتهای کبد افزایش داده و با تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن سبب اکسیداسیون لیپیدها و سایر ترکیبات سلول می‌شود [۱۳ و ۱۹]. پراکسیداسیون لیپیدها منجر به ناپایداری غشای سلول و پدیدار شدن بعضی از زمینه‌های پاتولوژیک نظیر بیماری‌های التهابی می‌شود [۱۱ و ۱۲]. رتینوییک اسید و رتینول فعالیت آنزیم آسیل کوآنزیم A اکسیداز را در هپاتوسیتهای خرگوش به میزان ۶۰ درصد و در هپاتوسیتهای رت حدود ۳۰ درصد افزایش می‌دهند [۱۳ و ۱۴].

رتینوییک اسید طی دوران تکامل جنین به‌عنوان مورفوژن عمل می‌نماید [۱۲]. به علاوه در علوم پزشکی از ترکیبات سنتتیک این ماده برای درمان بعضی از بیماریها از جمله آکنه، پسوزیازیس و لوسمی استفاده‌های متعدد به‌عمل می‌آید [۲۰].

براساس مطالعات ناگابابو (Nagababu) اوژنول بادوز 5mg/kg به‌عنوان داروی کاهش دهنده ضایعات ناشی از موادی از جمله تتراکلرید کربن، پراکسیدها، آفلاتوکسین، سیکلوفسفامید و آهن مازاد برنیاز بدن عمل می‌کند [۱].

طبق مطالعات نانجی (Nanjee) در سال ۱۹۹۶ دوز 150mg/kg اوژنول افزایش قابل توجهی در آپولیپو پروتئینهای پلاسما، کلسترول و فسفولیپیدهای HDL ندارد [۲۱].

هیوم (Hume) در سال ۱۹۸۴ نشان داد که اوژنول در سلول‌های کبد موش در غلظت 10^{-6} مولار کمترین و در غلظت 6×10^{-4} مولار بیشترین اثر را بر تنفس سلولی دارد [۲۲].

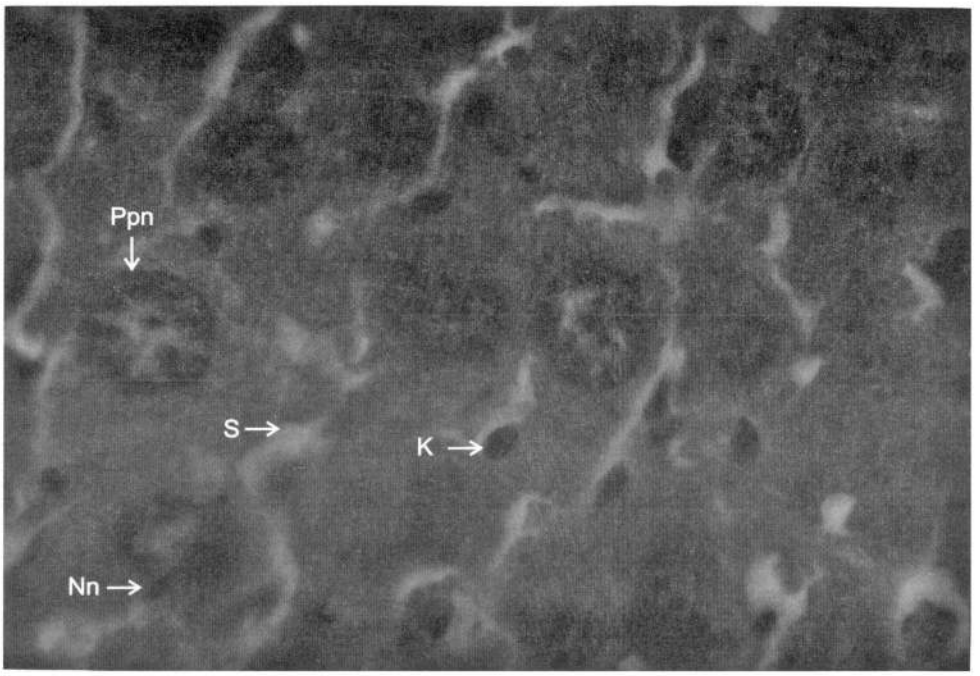
امینی (Amini) و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که تجویز همزمان رتینوییک اسید و اوژنول در موش سبب شد تا بعضی از نقایص اندامهای حرکتی و ناهنجاری‌های ناحیه صورت و جمجمه که از رتینوییک اسید ناشی شده‌اند در سطح معنی‌دار کاهش یابند [۱۸].

اوژنول قادر است آثار زیان‌بار رتینوییک اسید بر بافتهای مختلف بدن جنین و مادر را تخفیف داده و بافت‌های صدمه دیده را مجدداً احیا و اصلاح نماید.

References

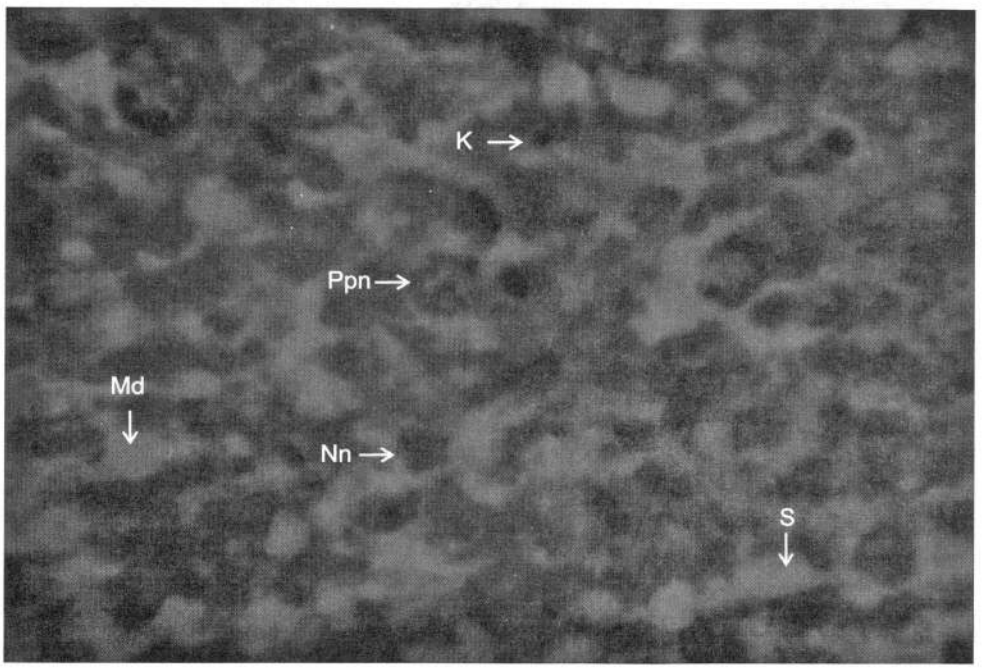
1. **Nagababu E, Lakshmaiah N.** Inhibition of lipoxygenase mediated lipid peroxidation by eugenol in liposome system. J Clin Biochem Nutr 1996; 21: 123-9.
2. **Seiichiro F, Toshiko A, Yoshinori K, Hiroshi S.** Antioxidant and prooxidant action of eugenol related compounds and their cytotoxicity. Toxicology 2002; 177: 39-54.
3. **Dengler HJ, Fischer Iu, Von-Unruh GE.** The metabolism of eugenol in man. Xenobio 1990; 10(2): 202-22.
4. **Rompelberg CJ, Stenhuis WH.** Antimutagenicity of Eugenol in the Rodent Bone Marrow Micronculeus Test. Mutat Res 1995; 346(2): 69-75.
5. **Philips DH.** Further evidence that eugenol does not bind to DNA in vivo. Mutat Res 1990; 245: 23-6.
6. **PullaReddy AC, Lockesh BR.** Studies on the spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. Mol Cell Biochem 1992; 111: 117-124.
7. **Souza MF, Tome AR, Rao VS.** Inhibition by the bioflavenoid ternation of Aflatoxin B1 induced lipid peroxidation in rat liver. J Pharm Pharmacol 1999; 51(2): 125-29.
8. **Lohnes D, Mark M, Mendelsohn C, Dolle P, Dierich A.** Function of the retinoic acid receptors (RARs) during development. Development 1994; 2723-48.
9. **Tocci A, Parolin I, Gabbianelli M.** Dual action of retinoic acid on human embryonic-fetal hematopoisis: Blockade of primitive progenitor and shift from multipotent-erythroid-monocytic to granulocytic differentiation program. Blood 1996; 88: 2878-88.
10. **Ross AS, Mc Caffery P, Darager U, De Luca L.** Retinoids in Embryonal Development. Physiol Rev 2000; 80: 1021-54.

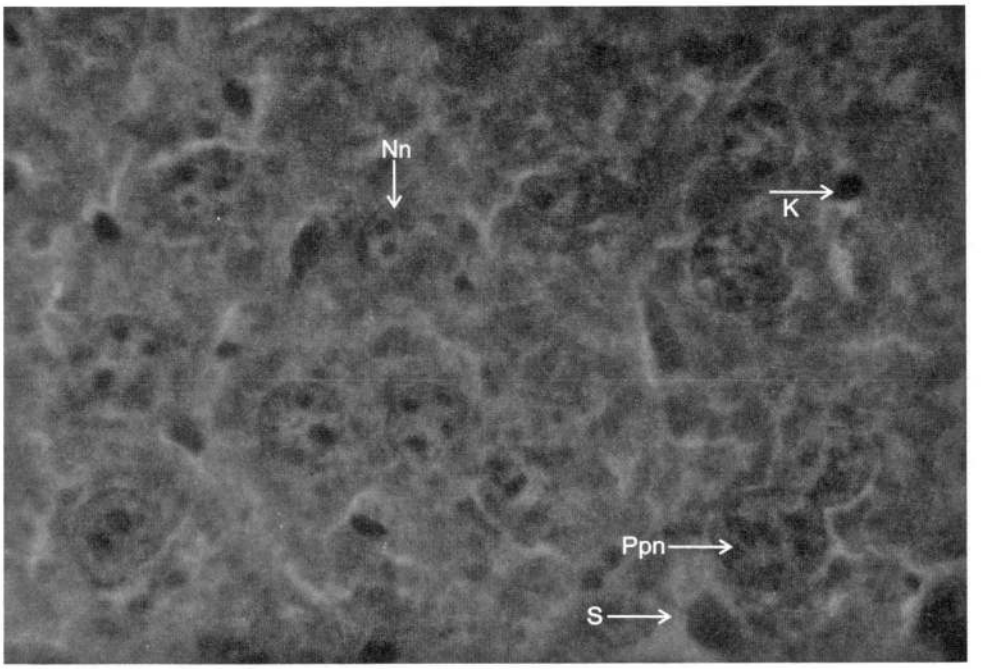
11. **Desbois C, Aubert D, Legrand C, Pain B, Samarut J.** A novel mechanism of action for v-ErbA: Abrogation of the inactivation of transcription factor AP-1 by retinoic acid and thyroid hormone receptors. Cell 1991; 67: 731-40.
12. **Abu-Abed S, MacLean G, Fraulon P, Petkovich M, Pascal D.** Differential expression of the Retinoic Acid-metabolizing Enzymes CYP26A1 and CYP26B1 During Murine Organogenesis. Mechanisms Dev 2002; 110: 173-7.
13. **Machlin LJ, Bendich A.** Free Radical tissue Damage: Protective Role of Antioxidant Nutrients. FASEB J 1987; 1: 441-5.
14. **Farrants AK, Nilsson a, Teroen G, Blomboff R, Pedersen JI.** The effects of retinoids and clofibric acid on the peroxisomal oxidation of palmitic acid and of 3 alpha, 7 alpha, 12 alpha-trehydroxy-5 beta - cholestanoic acid in rat and rabbit hepatocytes. Biochim Biophys Acta 1993; 1168(1): 100-7.
15. **Capasso R, Pinto L, Vuotto ML, Dicarlo G.** Preventive Effect of Eugenol on PAF and ethanol-induced gastric mucosal damage. Fitoterapia 2000; 71: s131-s137.
16. **Alam SQ, Alam RS.** Lipid peroxide alpha-tocopherol and retinoid levels in plasma and liver of rats fed diets containing beta-carotene and 13-cis-retinoic acid. Nutrition 1983; 113(12): 2608-14.
17. **Heath JK, Suva LJ, Yoon K, Kiledijian M, Martin TJ, Rodan GA.** Retinoic acid stimulates transcriptional activity from the alkaline phosphatase promoter in the immortalized rat clavarial cel line, RCT-1. Mol Endocrinol 1992; 6(4): 636-46.
18. **Amini A, Cheraghi E, Safaei Shirazi MR.** The role of eugenol in the reduction of teratogenic effects of retinoic acid on skeletal morphology of mice emberyo. Yakhteh 2003; 4(16): 195-200.
19. **Hurnanen D, Chan HM, Kubow S.** The protective effect of metallothionein against lipid peroxidation caused by retinoic acid in human breast cncer cells. J Pharmacol Exp Therap 1997; 283: 1520-8.
20. **Leyden JJ, Shalita AR.** Rational therapy for acne vulgaris: an update on topical treatment. J Am Acad Dermatol 1986; 15: 907-15.
21. **Nanjee M, Vehagen H.** Do dietary phytochemicals with cytochrome p-450 enzymeinducing activity increase high density-lipoprotein concentration in humans. Am J Clin Nutr 1996; 64(5): 706-711.
22. **Hume W, Veco N, Becker R.** Concentration-dpendent depression of cellular respiration by eugenol. J Dent Res 1982; 61: 202-7.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپی کبد موش کنترل که دارای شرایط طبیعی است. Ppn: هسته پلی‌پلوئید، Nn: هسته معمولی، K: سلول کوپفر، S: سینوزوئید. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۱۰۰ ×

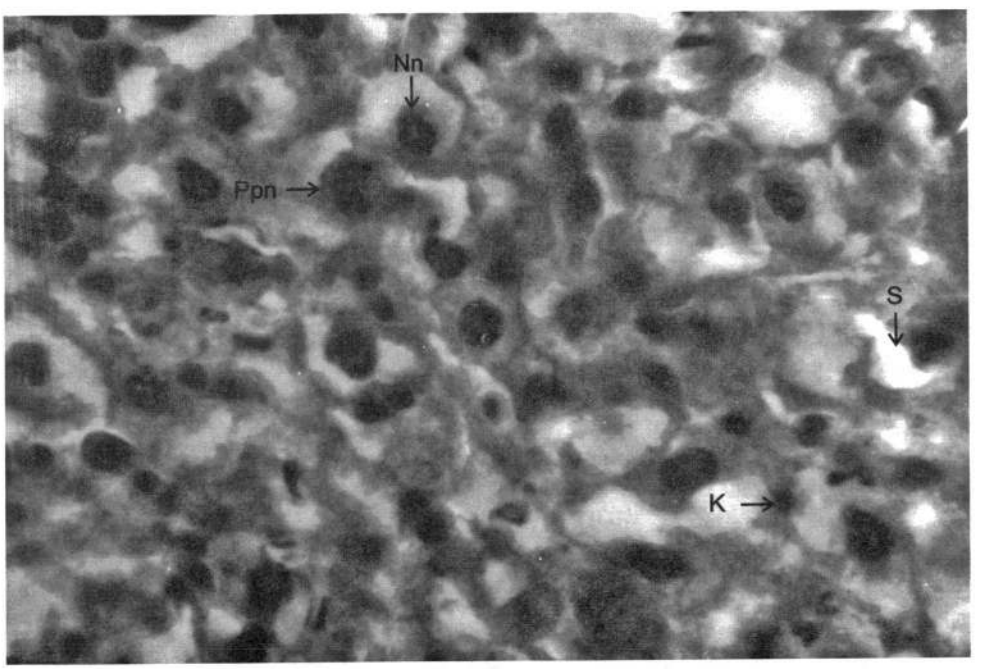
شکل ۲. تصویر میکروسکوپی کبد موش باردار گروه تجربی ۲ که رتینوئیک اسید دریافت نموده است. رتینوئیک اسید در بعضی نواحی سبب گسیختگی غشای سلول شده، مساحت سلول و مساحت هسته‌های پلی‌پلوئید را نیز کاهش داده است. Ppn: هسته پلی‌پلوئید، Nn: هسته معمولی، K: سلول کوپفر، S: سینوزوئید، Md: گسیختگی غشاء سلول. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۱۰۰ ×

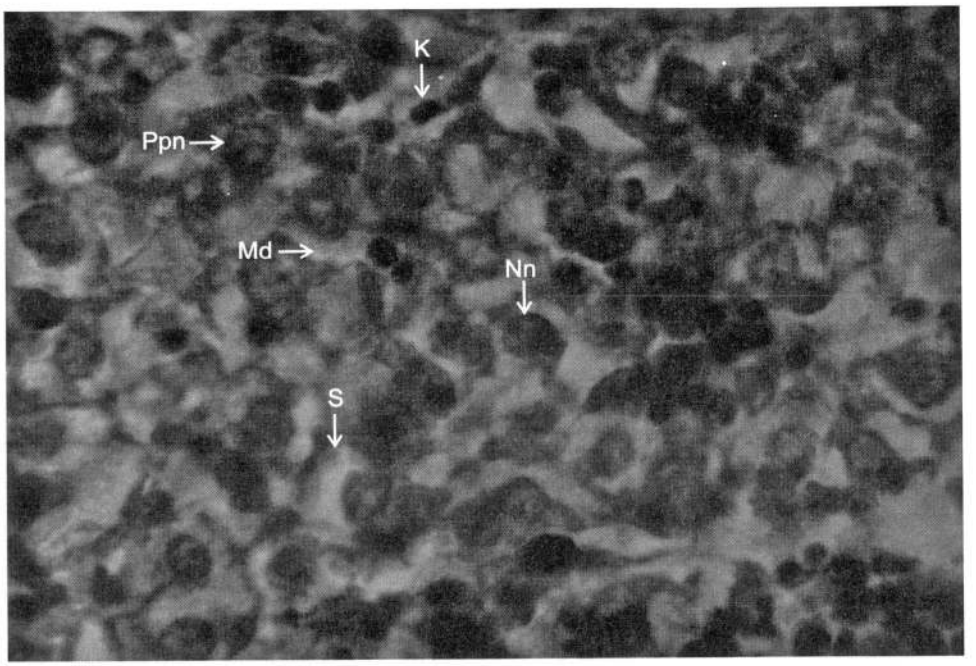




شکل ۳. تصویر میکروسکوپی کبد موش باردار گروه تجربی ۴ که تحت تأثیر رتینوئیک اسید و اوژنول قرار گرفته است. اوژنول اثرات سیتوتوکسیک رتینوئیک اسید را مهار نموده و مانع از تخریب سلولها شده است. Ppn: هسته پلی‌پلوئید، Nn: هسته معمولی، S: سینوزوئید، K: سلول کوپفر. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۱۰۰ ×

شکل ۴. تصویر میکروسکوپی کبد جنین موش کنترل که دارای وضعیت طبیعی است. Ppn: هسته پلی‌پلوئید، Nn: هسته معمولی، S: سینوزوئید، K: سلول کوپفر. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۱۰۰ ×





شکل ۵. تصویر میکروسکوپی کبد جنین موش گروه تجربی ۲ که تحت تأثیر رتینوئیک اسید قرار گرفته است. رتینوئیک اسید سبب گسیختگی غشای سلول شده و به‌دنبال آن مساحت سلول، مساحت هسته‌های کوچک و مساحت هسته‌های پلی‌پلوئید نیز کاهش یافته است. Ppn: هسته پلی‌پلوئید، Nn: هسته معمولی، Md: گسیختگی غشاء سلول، S: سینوزوئید، K: سلول کوپفر. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۱۰۰ ×

شکل ۶. تصویر میکروسکوپی کبد جنین موش گروه ۴ که تحت تأثیر رتینوئیک اسید و اوژنول قرار گرفته است. اوژنول اثرات سیتوتوکسیک رتینوئیک اسید را مهار نموده و مانع از تخریب سلولها شده است. Ppn: هسته پلی‌پلوئید، Nn: هسته معمولی، K: سلول کوپفر، S: سینوزوئید. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۱۰۰ ×