اثرات آنتی اکسیدانی عصاره آبی میوه عناب بر استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول در کبد و کلیه موش‌های صحرایی نر

مجید طاعتی[1]، مسعود علیرضایی[2]، محمد هادی مشکوت السادات[3]، بهرام رسولیان[4]، امید دزفولیان[5]، شیما نعمتی[6]

۱-استادیار، بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان
۲-استادیار، بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان
۳-استادیار، گروه شیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه لرستان
۴-استادیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان
۵-استادیار، بخش پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان
۶- کارشناس، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره سیزدهم / شماره ۲ / تابستان ۹۰ / مسلسل ۴۸

چکیده

دریافت مقاله: ۸۹/۱۱/۲۲ ، پذیرش مقاله: ۹۰/۱/۲۱

* **مقدمه:** به خوبی می‌دانیم که بیماریزائی اتانول در کبد و کلیه‌ها در ارتباط مستقیم با افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است که منجر به اختلالات ساختمانی و عملکردی در این دو ارگان حیاتی می‌شود.

* **مواد و روش‌ها:** ۵۶ عدد موش بزرگ آزمایشگاهی نر از نژاد ویستار در ۸ گروه قرار گرفته و به ترتیب زیر درمان شدند: گروه کنترل(سالین نرمال)،گروه اتانول (اتانول ۴ گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، ۳ گروه سه دوز از عصاره میوه عناب (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم وزن بدن)، و۳ گروه سه دوز از عصاره میوه عناب و اتانول(با همان سه دوز در کنار اتانول ۴ گرم بر کیلوگرم وزن بدن). همه درمان‌ها روزی یک مرتبه بصورت داخل معده‌ای به مدت ۶۰ روز پیاپی صورت گرفت. نمونه‌های سرمی و بافت کبد و کلیه جهت ارزیابی ترکیبات سرمی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافتی، و نیز میزان مواد واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید از موش‌ها اخذ شد.

* **یافته‌ها:** فعالیت کبدی آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز(GPx)در گروه اتانول، در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت، در حالیکه عصاره میوه عناب(۲۰۰ میلی‌گرم) توانست تنها فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را بطور معنی‌دار افزایش دهد. فعالیت GPx کلیوی در مصرف اتانول به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. همچنین فعالیتGPx در گروه عصاره میوه عناب و الکل(۲۰۰ میلی گرم و ۴ گرم) نسبت به گروه اتانول کاهش معنی‌دار نشان داد. در مطالعه حاضر میزان TBARS که نشان‌دهنده پروکسیداسیون چربی است در بافت کبد گروه اتانول،در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد($p < ۰/۰۵$).

* **بحث و نتیجه‌گیری:** عصاره آبی میوه عناب بعنوان پیش درمان، کبد و کلیه را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از اتانول محافظت می‌نماید.

* **واژه‌های کلیدی:** عناب، آنتی اکسیدان،اتانول، استرس اکسیداتیو،کبد،کلیه

آدرس مکاتبه: خرم آباد،کمالوند، دانشگاه لرستان، دانشکده دامپزشکی، بخش بیوشیمی
پست الکترونیک: alirezaei_m54@yahoo.com

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

مقدمه

بیماریزائی اتانول در کبد و کلیه ها در ارتباط مستقیم با افزایش رادیکالهای آزاد و استرس اکسیداتیو در این دو عضو است که منجر به اختلالات ساختمانی و عملکردی در آنها می شود (۷-۱). در مقابل یک سیستم حفاظت کننده آنتی اکسیدان پیچیده شامل سیستم های آنزیمی و غیر آنزیمی با حذف و خنثی سازی رادیکال های آزاد از اثرات مخرب این مواد بر ماکروملکول های سلولی جلوگیری می کند. سیستم دفاع آنزیمی آنتی اکسیدان عمدتا شامل آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز می باشد(۸). مصرف طولانی مدت اتانول نه تنها تولید رادیکالهای آزاد را افزایش می دهد بلکه سطوح فعالیت سیستم های دفاع آنتی اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی را نیز کاهش میدهد که این موضوع منجر به استرس اکسیداتیو با نتایج مخرب می شود (۹). متابولیسم اتانول عمدتاً از طریق اکسیداسیون آن در کبد به انجام می رسد. با این حال سایر بافت ها مانند کلیه نیز می توانند در متابولسیم اتانول شرکت نمایند(۱۰).

در سال های اخیر استفاده از گیاهان داروئی با ویژگیهای آنتی اکسیدان جهت پیشگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف طولانی مدت اتانول مورد توجه قرار گرفته است (۱۵- ۱۱و ۸). گونه های زیزیفوس (خانواده رامناسه آ) در نواحی وسیعی از آسیا، افریقا و آمریکای جنوبی یافت می شود. گونه خاصی از آن با نام عناب (زیزیفوس جوجوبا) در مناطق زیادی از ایران برای استفاده از میوه آن کشت می شود. میوه، برگ و حتی ریشه این گیاه به‌طور گسترده ای در طب سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها مانند اختلالات گوارشی، ضعف، اختلالات کبدی، چاقی، مشکلات کلیوی، دیابت، تب، کم خونی، بی خوابی و ضد درد مورد استفاده قرار می گیرد (۱۷،۱۶). مطالعات فیتوشیمی بر روی گونه های مختلف زیزیفوس منجر به جدا سازی و مشخص نمودن آلکالوئید های سیکلوپپتیدی، فلاونوئیدها، استرول ها، تانن ها و ساپونین های تری ترپنوئید گردیده است(۱۶).

علاوه بر این تجزیه کیفی ترکیبات نشان داده است که در میوه زیزیفوس جوجوبا (عناب) میزان بالائی از ترکیبات آنتی اکسیدان مانند پلی فنل ها از قبیل تانن ها و فلاونوئید ها وجود دارد(۱۶،۱۷). همچنین نقش کلیدی ترکیبات فنولیک در پاک سازی رادیکال های آزاد به اثبات رسیده است (۱۹، ۱۸، ۱۶).

تجویز خوراکی عصاره برگ زیزیفوس ماریتیانا بدلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدان توانسته از آسیب کبدی ناشی از اتانول جلوگیری نماید(۱۴). علاوه بر آن عصاره ریشه زیزیفوس جوجوبا و زیزیفوس اسپاینا کریستی(سدر) از صدمات اکسیداتیو دیابت در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی کاسته است(۲۰). با توجه به مطالب مورد اشاره و اینکه میوه عناب به میزان زیادی در ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیرخواص آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه عناب برعملکرد کبد و کلیه بدنبال تجویز خوراکی و طولانی مدت اتانول در موش صحرایی نر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره آبی میوه عناب بر اساس روش نالینا و رحیم صورت گرفت (۲۱). بطور خلاصه، پس از جدا نمودن هسته، بافت گوشتی میوه در سایه خشک شده و با استفاده از خرد کن به قطعات بسیار ریز تبدیل گردید. این مواد با آب مقطر مخلوط و به مدت نیم ساعت جوشانده شده و این مخلوط پس از سرد شدن، بمدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ در دقیقه تحت سانتریفوژ قرار گرفت. مایع روئی جمع آوری گردیده و در فشار و دمای پائین بصورت پودر در آمد. این پودر تا زمان مورد استفاده در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. در زمان انجام آزمایشات با اضافه نمودن آب مقطر به این پودر و تهیه محلولی با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر محلول مورد نیاز بدست آمد.

۵۶ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر از نژاد ویستار با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم از موسسه پاستور خریداری و به مرکز تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انتقال داده شد. محل نگهداری

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

این حیوانات از شرایط استاندارد دما (۲۴-۲۱ در جه سانتیگراد) و تهویه بر خوردار بوده و دوره تاریکی/ روشنائی نیز شامل ۱۲/ ۱۲ ساعت بود. این مطالعه بر اساس آئین نامه نحوه استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به اجرا درآمد. حیوانات بطور تصادفی در ۸ گروه ۷ تائی بصورت زیر تقسیم بندی شده و سرم فیزیولوژی، اتانول و عصاره میوه عناب را به مدت ۶۰ روزپیوسته بصورت خوراکی با استفاده از گاواژ دریافت کردند:گروه کنترل (دریافت کننده ۲ میلی لیتر سرم فیزیولوژی،گروه اتانول (اتانول ۴ گرم بر کیلو گرم وزن بدن)، گروه های عصاره میوه عناب (۲۰۰،۱۰۰،۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن)، .گروهای عصاره میوه عناب و اتانول (۲۰۰،۱۰۰،۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم یک ساعت بعد اتانول ۴ گرم بر کیلو گرم وزن بدن). در خاتمه آزمایش پس از بیهوشی خفیف با دی اتیل اتر، از تمام حیوانات به روش داخل قلبی خون گیری بعمل آمده و پس از جدا سازی سر، کبد وکلیه سریعاً از محوطه بطنی خارج گردیدند. بخشی از بافت کبد وکلیه جهت آزمایشات بافت شناسی در فرمالین ۱۰٪ و بخش دیگر جهت آزمایشات آنزیمی بلافاصله در ازت مایع قرار داده شد و سرم جدا سازی شده از نمونه های خون جهت ارزیابی ترکیبات سرمی تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

بافتهای کبد و کلیه به سرعت از حالت انجماد خارج گشته و به صورت دستی با بافر فسفات pH=۷/۴ بر روی ازت مایع هموژنیزه شدند. با استفاده از سانتریفوژ، ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه، مواد جامد آن ته نشین و محلول بالائی برای آزمایشات بیوشیمیائی جدا گردید. میزان پروتئین در محلول بالائی بافت های کبد و کلیه برای ارزیابی فعالیت آنزیم های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و نیز تعیین میزان مواد واکنش دهنده به اسید تیوباربیتوریک با استفاده از روش لوری تعیین گردید(۲۲).

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از کیت و بر اساس دستورالعمل سازنده آن (راندوکس، انگلیس) اندازه گیری شد. ارزیابی فعالیت بوسیله اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام گرفت. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بصورت میلی واحد در میلی گرم پروتئین بافت (mU/mg protein) بیان شد. یک واحد از آنزیم چنین تعریف می شود: میزانی از آنزیم است که یک میکرومول ازNADH را در واحد زمان یک دقیقه تبدیل به NAD^+می کند(۲۳).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از کیت و بر اساس دستورالعمل سازنده آن (راندوکس، انگلیس) اندازه‌گیری شد. یک واحد از سوپراکسید دیسموتاز مقداری از آنزیم است که موجب مهار ۵۰٪ از واکنش احیاء ۲-۴-یدوفنیل۳-۴نیتروفنل۵-فنیل تترازولیوم(I.N.T) تحت شرایط آزمایش می شود. ارزیابی فعالیت بوسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۵ نانومتر انجام گرفت و بصورت واحد در میلی‌گرم پروتئین بافت (U/mg protein) بیان گردید(۲۳).

میزان پراکسیداسیون چربی در بافت کبد و کلیه بوسیله تعیین مقدار مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک(TBARS) بر اساس روش سوبائو و همکاران اندازه گیری شد(۲۴). بطور خلاصه ۴۰ میکرولیتر از بافت هموژنیزه به ۴۰ میکرولیتر سدیم کلرید ۰/۹ ٪ و ۴۰ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه اضافه شده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس با استفاده از ۶۰۰ میکرولیتر اسید هیدروکلریک ۰/۸ مولار که حاوی اسید تری کلرواستیک ۱۲/۵ ٪ است واکنش متوقف گردید. پس از اضافه نمودن ۷۸۰ میکرولیتر تیوباربیتوریک اسید ۱٪ ، محلول به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شده و در دمای ۴ درجه سانتیگراد سرد گردید. محلول سرد بمدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ گردید و میزان جذب نور آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل بلانک، برای محاسبه مقدار مواد واکنش دهنده به اسید تیوباربیتوریک بکار گرفت. این میزان بصورت نانو مول در میلی گرم پروتئین بافت (nmol/mg protein) بیان گردید.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

ارزیابی مقادیر سرمی ازت اوره خون(BUN)، کراتینین، تری گلیسیرید، کلسترول و فعالیت سرمی آنزیمهای ALT,AST,ALP با استفاده از روش کلریمتریک و بوسیله کیت های شرکت زیست شیمی به روش دستی با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. برای تهیه مقاطع بافتی نمونه های بافت کبد و کلیه با قطر ۵ میکرومتر تهیه و با رنگ هماتوکسیلین- ائوزین برای بررسی های بافت شناسی رنگ آمیزی شد.

میانگین مربوط به تمام مقادیر بدست آمده در گروه های هشت گانه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) با هم مقایسه شدند. در صورت معنی دار بودن تفاوت ها از آزمون Tukey برای مقایسه جفت گروهها استفاده گردید و سطح معنی دار $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

جدول شماره۱- بیانگر افزایش معنی دار فعالیت سرمی آنزیمهای ALT,AST,ALP در گروه اتانول نسبت به گروه کنترل می باشد($p < ۰/۰۵$). علاوه بر این نشان می دهد که استفاده از عصاره میوه عناب (دوزهای ۱۰۰ و۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) مانع از افزایش فعالیت هر سه آنزیم در گروه هائی که همزمان اتانول را نیز دریافت داشته می گردد.

جدول شماره۲- بیانگر افزایش معنی دار مقادیر سرمی تری گلیسرید، کلسترول ،کراتینین و ازت اوره خون(BUN) در گروه اتانول نسبت به گروه کنترل می باشد($p < ۰/۰۵$). در حالیکه پیش درمانی با عصاره میوه عناب با دوز۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم در کنار اتانول توانست این مقادیر را نسبت به گروه اتانول به میزان معنی‌داری کاهش دهد ($p < ۰/۰۵$).

جدول شماره۳- بیانگر کاهش معنی دار فعالیت آنزیمهای سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز (SOD, GPx) در بافت کبد گروه اتانول در مقایسه با گروه کنترل می باشد($p < ۰/۰۵$). پیش درمانی با دوز ۲۰۰ میلی گرم برکیلو گرم عصاره میوه عناب توانست تنها فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را نسبت به گروه کنترل بطور معنی دار افزایش دهد، گرچه بر فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز تاثیر معنی داری نداشت($p < ۰/۰۵$). در این مطالعه میزان TBARS در بافت کبد گروهی که اتانول دریافت داشته بودند در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی دار نشان داد. درحالیکه در گروه عصاره عناب و اتانول (۲۰۰ میلی گرم و ۴ گرم بر کیلوگرم) میزان TBARS تا حد گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد($p < ۰/۰۵$).

جدول شماره۴- بیانگر کاهش معنی دار فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز کلیوی در گروه اتانول نسبت به گروه کنترل می باشد($p < ۰/۰۵$). در حالیکه پیش درمانی با عصاره میوه عناب (دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) در کنار اتانول توانست افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل ایجاد کند. جالب اینکه فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز کلیوی پس از مصرف اتانول بطور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. پیش درمانی با عصاره میوه عناب با دوز۲۰۰ میلی گرم در کنار اتانول باعث کاهش معنی داری در فعالیت GPx نسبت به گروه کنترل گردید($p < ۰/۰۵$). در این مطالعه تغییرمعنی داری در میزان TBARS که نشاندهنده پراکسیداسیون چربی است، بدنبال مصرف اتانول در کلیه مشاهده نشد. شکل شماره ۱- بیانگر تغییرات بافتی کبد در گروههای کنترل(A)، اتانول(B)، عصاره عناب با دوز ۲۰۰ میلی گرم (C)، و عصاره عناب با دوز ۲۰۰ میلی گرم و اتانول (D) می باشد. رسوب گلیکوژن در سیتوپلاسم جمعیت کثیری از سلولهای کبدی گروه اتانول (B) مشاهده می گردد که باعث ایجاد دژنراسیون واکولار و تخریب بافت شده است، در حالیکه پیش درمانی با عصاره میوه عناب مانع از بروز این تغییرات شده است (D).

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

جدول شماره ۱- مقایسه فعالیت سرمی آنزیم‌های ALT,AST,ALP بر اساس IU/lit در گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی نر#

گروهها	(ALP) آلکالین فسفاتاز	(AST) آسپارتات آمینو ترانسفراز	(ALT) آلانین آمینو ترانسفراز
کنترل	۵۹/۷۸±۲/۵۹*	۸۲/۶۷±۴/۱*	۳۲/۵±۳/۱۳*
اتانول ۴ گرم	۹۸/۴۳±۵/۴۵**	۱۹۳/۴۱±۵/۳۲**	۶۶/۳۴±۴/۲۶**
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم	۵۳/۷۷±۳/۳۵*	۷۶/۶۹±۲/۹۴*	۳۵/۴۵±۲/۱۴*
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم	۶۱/۷۴±۱/۷۱*	۶۹/۵۴±۱/۴۸*	۳۰/۶۷±۳/۰۹*
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم	۵۴/۷۱±۲/۱۹*	۷۳/۶۷±۲/۳۸*	۳۶/۸۹±۱/۵۴*
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم+ اتانول ۴گرم	۸۲/۶۴±۳/۸۴**	۱۴۴/۹۵±۶/۶۳***	۷۵/۷۲±۴/۲**
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم + اتانول۴گرم	۶۷/۳۷±۲/۷۲*	۹۸/۵۶±۳/۴۴*	۳۵/۸۷±۱/۲۶*
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم + اتانول۴گرم	۶۵/۱۶±۱/۷۵*	۱۰۷/۳۵±۳/۸۴*	۳۹/۰۷±۰/۹۲*

*، **،***در هر ستون نشاندهنده تفاوت معنی دار (p< ۰/۰۵) بین گروه ها است. #مقادیر بر اساس SD± میانگین بیان شده است.

جدول شماره۲- - مقایسه ازت اوره خون(BUN)،کراتینین،کلسترول،تری‌گلیسرید سرم بر اساس mg/dlit در گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی نر#

گروهها	تری گلیسرید	کلسترول	کراتینین	BUN
کنترل	۷۱/۷۲±۴/۱۴*	۵۵/۴±۲/۳۷*	۸۹/۲۵±۲/۷۱*	۳/۷۲±۰/۴۶*
اتانول ۴ گرم	۱۱۵/۵۲±۶/۲۹**	۸۴/۶۲±۳/۸۳**	۱۳۴/۶۷±۴/۵۶**	۸/۲۲±۱/۹۲**
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم	۶۴/۸۹±۴/۲۷*	۵۳/۶۷±۲/۴۲*	۷۵/۳۶±۳/۲۴*	۴/۴۹±۱/۳۴*
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم	۶۷/۲۳±۲/۹۳*	۵۹/۲۹±۱/۴۶*	۷۰/۷۲±۳/۸۶*	۳/۸۹±۰/۷۸*
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم	۷۵/۴۹±۳/۳۶*	۶۰/۹۲±۱/۷۲*	۹۱/۴۳±۴/۲۲*	۴/۲۱±۱/۴۷*
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم و اتانول۴ گرم	۱۰۸/۶۳±۱/۷۳**	۷۱/۸±۲/۳۸*	۱۲ ۳/۸۸±۵/۱۹**	۷/۹۸±۱/۱۲**
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم و اتانول۴ گرم	۹۹/۸۶±۲/۵۷**	۷۹/۵۶±۴/۳۹**	۱۲۹/۶۱±۴/۳۸**	۹/۰۹±۱/۳۹**
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم و اتانول۴ گرم	۸۰/۶۲±۳/۴۵*	۶۴/۲۷±۲/۵۲*	۱۰۲/۹۴±۲/۴۸**	۵/۲۸±۰/۸۴*

*، **در هر ستون نشاندهنده تفاوت معنی دار (p< ۰/۰۵) بین گروه ها است. #مقادیر بر اساس SD± میانگین بیان شده است.

جدول شماره۳- مقایسه فعالیت آنزیم هایGPx, SOD و میزانTBARS بافت کبد در گروههای مختلف موشهای صحرایی نر#

گروهها	گلوتاتیون پراکسیداز(GPx) mU/mg protein	سوپراکسید دیسموتاز(SOD) U/mg protein	TBARS nmol/mg protein
کنترل	۸/۶۴±۱/۶۷*	۷/۴۳±۰/۷۸*	۱/۰۴±۰/۱۳*
اتانول ۴ گرم	۳/۷۸±۰/۶۹**	۳/۸۲±۰/۵۶**	۲/۲±۰/۰۹**
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم	۷/۲۷±۱/۳۷*	۸/۰۵±۲/۶۸*	۰/۸۶±۰/۰۶*
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم	۶/۶۲±۰/۷۶*	۷/۸۱±۰/۸۱*	۱/۱±۰/۱۲*
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم	۷/۹۸±۱/۲۸*	۶/۹۵±۱/۳۷*	۰/۹۸±۰/۳*
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم+ اتانول۴گرم	۵/۸۳±۰/۸۴**	۴/۷۱±۰/۶۶**	۲/۸۶±۰/۸**
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم + اتانول۴گرم	۴/۷۷±۱/۳۲**	۲/۵۶±۰/۷۱*	۳/۱۸±۰/۴۹**
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم + اتانول۴گرم	۷/۷۴±۱/۵۸*	۴/۰۹±۱/۳۷**	۱/۲±۰/۲۸*

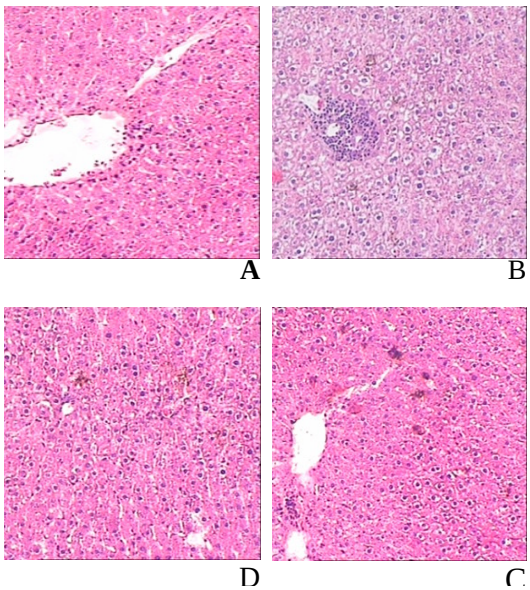
*، **در هر ستون نشاندهنده تفاوت معنی دار (p< ۰/۰۵) بین گروه ها است. #مقادیر بر اساس SD± میانگین بیان شده است.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

جدول شماره۴- مقایسه فعالیت آنزیم هایGPx, SOD و میزانTBARS بافت کلیه در گروههای مختلف موشهای صحرایی نر#

گروهها	گلوتاتیون پراکسیداز(GPx) mU/mg protein	سوپراکسید دیسموتاز(SOD) U/mg protein	TBARS nmol/mg protein
کنترل	۵/۳۳±۱/۶۹*	۱۰/۴۲±۲/۲۹*	۰/۹۷±۰/۰۴
اتانول ۴ گرم	۱۱/۵۸±۲/۴۷ **	۶/۴۷±۰/۴۳**	۱/۰۶±۰/۳۱
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم	۴/۹۵±۱/۵۳ *	۹/۵۱±۱/۳۲*	۰/۸۶±۰/۱۱
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم	۶/۰۴±۰/۹۸ *	۸/۳۴±۲/۸۲*	۰/۷۹±۰/۰۹
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم	۵/۷۶±۱/۲۷ *	۱۱/۰۱±۱/۹۵*	۱/۰۴±۰/۲۳
عصاره عناب ۵۰ میلی گرم+ اتانول ۴گرم	۹/۷۶±۲/۵۴ **	۵/۸۷±۱/۱۱**	۰/۹۱± /۰۴
عصاره عناب ۱۰۰ میلی گرم + اتانول ۴گرم	۱۲/۴۱±۱/۴۴ **	۹/۸۳±۱/۷۴*	۱/۱۱± /۲۸
عصاره عناب ۲۰۰ میلی گرم + اتانول۴ گرم	۷/۵۲±۱/۱۵ *	۸/۶۵±۲/۶۳*	۰/۸۱±۰/۰۷

*، **در هر ستون نشاندهنده تفاوت معنی دار (p< ۰/۰۵) بین گروه ها است. در میزان TBARS تفاوت معنی داری بین گروهها وجود ندارد. #مقادیر بر اساس SD± میانگین بیان شده است



شکل ۱- تغییرات بافت کبد بر اساس رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین در گروههای مختلف موش صحرایی نر. A: بافت کبد در حیواناتی که سرم فیزیولوژی دریافت کردند (گروه کنترل) B : بافت کبد پس از دریافت طولانی مدت اتانول (۴ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) C: بافت کبد پس از دریافت عصاره میوه عناب(دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)..D: بافت کبد پس از دریافت عصاره میوه عناب و یک ساعت بعد اتانول(۲۰۰ میلی گرم و ۴ گرم بر کیلوگرم وزن بدن). به رسوب گلیکوژن در سیتوپلاسم جمعیت کثیری از سلولهای کبدی گروه اتانول(B) که باعث ایجاد دژنراسیون واکولار و تخریب بافت شده است توجه شود در حالیکه پیش درمانی با عصاره میوه عناب مانع از بروز این تغییرات شده است(D).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه از این فرضیه پشتیبانی می کند که پیش درمانی با عصاره میوه عناب مانع از بروز سندرم کبد-کلیه حاصل از اتانول می گردد و احتمالاً این کار را از طریق افزایش سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان(GPx,SOD) در بافت کبد و کلیه انجام می دهد. علاوه براین وجود آسیب کبدی-کلیوی ناشی از اتانول ازطریق افزایش آنزیم های سرمی ALT,AST,ALP، افزایش فاکتورهای سرمی و تغییرات بافت کبد تائید گردید.

ارزیابی آنزیم های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در سرم از روش های قابل اطمینان برای بررسی فعالیت وآسیب کبد می باشد(۴). افزایش آلانین آمینو ترانسفراز عموماً مارکر اختصاصی برای اختلال عملکرد کبد محسوب می شود. بر اساس این مطالعه تجویز طولانی مدت اتانول موجب افزایش معنی دار فعالیت هر سه آنزیم در سرم رت ها گردید که نشاندهنده افزایش نفوذ پذیری، آسیب شدید به غشاء و یا نکروز سلول های کبدی در این گروه است (۲۵). این نتایج مطابق با یافته های مطالعات قبلی(۲۷،۲۶،۱۵،۸،۱۱) و تغییرات بافت کبد است.

سلول های کبدی اولین و مهمترین محل اکسیداسیون اتانول می باشند. متابولیسم اتانول از طریق الکل دئیدروژناز و CYP2E1 منجر به تولید استآلدئید سیتوتوکسیک شده که آن نیز توسط آلدئید اکسیداز یا زانتین اکسیداز به استات اکسیده می

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

شود. این روند تولید گونه های فعال اکسیژن را بالا برده و پراکسیداسیون چربی ها را موجب می گردد. پراکسیداسیون چربی های غشاء توسط رادیکال های آزاد یکی از علل عمده آسیب های غشائی در مسمومیت با اتانول است (۸) که موجب نشت آنزیم های کبدی به درون گردش خون می شود (۲۸). در مطالعه حاضر، استفاده از عصاره میوه عناب (۱۰۰ و۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) مانع از افزایش فعالیت هر سه آنزیم در گروه هائی که اتانول را نیز دریافت داشته بودند گردید که نشاندهنده حفظ سلامت غشاء در برابر اثرات سمی اتانول است.

در این مطالعه میزان کلسترول و تری گلیسریدهای سرم در گروهی که اتانول را دریافت داشته اند بطور معنی داری افزایش یافت. در حالیکه استفاده از عصاره میوه عناب (۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) در کنار اتانول توانست این مقادیر را به میزان معنی دار کاهش دهد. مطالعات متعددی نشان داده که مصرف اتانول همراه با تغییرات قابل توجه در غلظت چربی های پلاسما و تعادل کل چربی بدن است (۲۹). در این خصوص، قبلا استفاده از عصاره های گیاهی با خواص آنتی اکسیدان قوی نتایج مشابهی را در کاهش کلسترول و تری گلیسریدهای خون در مصرف طولانی مدت اتانول بدنبال داشته است (۱۱، ۳۰).

در مطالعه حاضر تجویز داخل معده ای اتانول (۴گرم برکیلوگرم وزن بدن) به مدت ۸ هفته موجب بالا رفتن معنی دار غلظت کراتینین و ازت اوره خون نسبت به گروه کنترل گردید که نشاندهنده اختلال درعملکرد کلیه بر اثر مصرف طولانی مدت اتانول می باشد. در مطالعات قبلی تجویز خوراکی ۵ گرم برکیلوگرم وزن بدن اتانول به مدت ۸ هفته (۳۱) و نیز ۱/۶ گرم برکیلوگرم وزن بدن در روز به مدت ۱۲ هفته (۳۲) نتایج مشابهی با یافته های این مطالعه داشته اند در حالیکه در مطالعه دیگری مصرف خوراکی اتانول همراه با مقادیر پائین کراتینین و ازت اوره خون بوده است (۳۳). در مواردی گفته شده که مصرف مزمن اتانول بخودی خود دارای اثرات سمی بر کلیه نبوده و کلیه تنها عضوی است که در الکلیسم بدون بیماری کبدی پیشرفته دچار مشکل نمی شود. با اینحال، مورد قبول همگان می باشد که مقادیر زیاد و طولانی مدت اتانول دارای اثرات زیان بخش بر کلیه است (۴،۱۳).

نتایج حاصل از این مطالعه همچنین نشان می دهد که فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در کبد رت هائیکه به مدت ۸ هفته اتانول دریافت داشته اند، در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری کاهش یافته است. سوپر اکسید دیسموتاز با تبدیل رادیکال های سوپراکسید به پراکسید ئیدروژن در پاکسازی آنها وارد عمل می شود. میزان سوپر اکسید دیسموتاز در بافتها متفاوت بوده، در کبد میزان آن بیشتر از سایر آنزیم های دفاع آنتی اکسیدان است (۳۴). سه نوع سوپر اکسید دیسموتاز خالص سازی شده است : CuZn-SOD (نوع سیتوسولی)، Mn-SOD (نوع میتوکندریائی) و EC-SOD (خارج سلولی) (۴). در اکثر مطالعات قبلی نیز کاهش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در کبد بدنبال مصرف اتانول گزارش شده است (۳۵،۲۶،۱۵،۸،۱۱،). با این حال در بعضی از مطالعات فعالیت این آنزیم پس از مصرف طولانی مدت اتانول افزایش یافته (۳۵، ۳۴) که آن را به افزایش بیان ژن مربوط به Mn-SOD نسبت داده اند (۳۶).

برای کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز کبدی در مصرف اتانول دلایل مختلفی آورده شده است. عده ای بر این باورند که کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز ناشی از شرکت این آنزیم در دیسموتاسیون پراکسید های تولید شده در طول متابولیسم اتانول می باشد (۳۹,۳۷). و اما بر اساس نظریه دیگر، کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز ممکن است ناشی از غیر فعال شدن آنزیم بر اثر رادیکال های آزاد و یا کاهش سوبسترا های گلوتاتیون احیاء و نیکوتین آمید آدنوزین دی نوکلئوتید فسفات احیاء در شرایط مسمومیت با اتانول باشد (۴۰). علاوه براین، کاهش شدید

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

گلوتاتیون احیاء کبدی بدنبال مصرف اتانول به اثبات رسیده است (۱۱،۱۹،۱۵،۴۲،۴۱،۲۵،۳۸). از طرف دیگر نشان داده شده که بدنبال مصرف اتانول فعالیت آنزیم گلوکز ۶-فسفات دئیدروژناز که مسئول برقراری غلظت مورد نیاز نیکوتین آمید آدنوزین دی نوکلئوتید فسفات احیاء است شدیدا کاهش یافته و در نتیجه میزان آن که برای چرخه احیاء گلوتاتیون ضروری است کاهش می یابد (۴۴, ۴۳). به هر حال، پیش درمانی با عصاره میوه عناب(۲۰۰ میلی گرم برکیلو گرم) توانست تنها فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را در رت ها ئیکه همزمان بمدت ۸ هفته اتانول دریافت داشته بودند بطور معنی داری افزایش دهد اگرچه بر فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز تاثیری معنی داری نداشت.

آسیب اکسیداتیو حاصل از اتانول را می توان با اندازه گیری فرآورده های پراکسیداتیو مانند Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) و ئیدروپراکسیدازها مورد ارزیابی قرار داد (۴۵). در مطالعه حاضر میزانTBARS در بافت کبد گروهی که اتانول دریافت داشته بودند در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد که مطابق با نتایج حاصل از مطالعات قبلی است (۴۶ ,۱۱ ,۴۷ ,۱۵ ,۳۴). میزان بالای TBARS نشانگر پراکسیداسیون چربی است که در نتیجه استرس اکسیداتیو روی می دهد (۱). رادیکال های آزاد قدرت زیادی برای واکنش سریع با چربی های غشاء دارند که حاصل آن پراکسیداسیون چربی است (۲۸). پراکسیداسیون چربی های غشاء موجب آسیب ساختمانی در غشاء شده و از این نظر افزایش آنزیم های کبدی در این مطالعه توجیه می شود. استرس اکسیداتیو یک پدیده زود هنگام در الکلیسم است که اغلب قبل از تست های کارکرد کبدی (آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز) تغییرات را نشان می دهد (۱۵). بطور کلی میزان بالای TBARS می تواند ناشی از افزایش تولید رادیکال های آزاد یا کاهش سطح آنتی اکسیدان های آندوژن باشد (۴۴ ,۳۵ ,۴۸ ,۴۹ ,۴۰). در این خصوص در مطالعه حاضر در گروهی که عصاره عناب (۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) را در کنار اتانول دریافت داشته بودند میزان TBARS تا حد گروه کنترل کاهش یافت. می توان چنین نتیجه گرفت که کاهش پراکسیداسیون چربی در سلول های کبدی این گروه بدلیل حضور ترکیبات آنتی اکسیدان در عصاره عناب می باشد. با توجه به افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کبد و کاهش آنزیم های کبدی در سرم رت هایی که عصاره را در کنار اتانول دریافت داشته اند این فرضیه تقویت می شود.

مشاهدات مقاطع بافتی تهیه شده نشان می دهد که در کبد گروهی که اتانول دریافت کردند رسوب گلیکوژن در سیتوپلاسم جمعیت کثیری از سلولهای کبدی مشاهده گردید که باعث ایجاد دژنراسیون واکولار و شفافیت بافت شده است. هسته ها کاملا در مرکز سلول مستقر بوده و ضایعه عمدتا از نواحی مرکز لبولی شروع شده و به اطراف گسترش یافته است. گاهی اوقات نکروز انعقادی هپاتوسیتها به صورت پراکنده مشاهده گردید. نفوذ لکوسیتهای پلی مورفو نوکلئار و حتی سلولهای تک هسته ای نظیر ماکروفاژ و لنفوسیت به درون فضای پورت که گاها به درون پارانشیم نیز وارد شده اند از دیگر یافته های هیستوپاتولوژیک است. درسیتوپلاسم تعدادی از هپاتوسیتها اجرام ائوزینوفیلیک و هیالینه مشاهده شد که به عنوان اجسام مالوری شناخته شده وحضور آن بیانگر شدت آسیب به بافت کبد ناشی از اتانول می‌باشد(شکل B). این یافته مطابق با مطالعات قبلی است که در آنها نیز به تاثیر مخرب اتانول بر بافت کبد اشاره شده است(۱۱,۵۰). استفاده از عصاره میوه عناب بعنوان پیش درمان در کنار اتانول مانع از تغییرات پاتولوژیک دربافت کبد گردید (شکل D)

در این مطالعه فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، که بخشی از دفاع مهم آنزیماتیک بر علیه استرس اکسیداتیو در سلول ها است، پس از ۸ هفته تجویز خوراکی اتانول در گروه اتانول نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد. اگرچه بیان

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

شده است کـه فعالیـت سوپراکـسید دیـسموتاز بوسـیله ROS و پراکسیداسیون چربی افزایش می یابد (۵۱)، امـا تـاثیر اتـانول بـر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت کلیه در مطالعات اندکی که انجام گرفته با نتایج متناقـضی همـراه بـوده اسـت. بعنـوان مثـال، کاهش معنی داری در فعالیت سوپراکسید دیـسموتاز در کلیـه تـا ۸۳٪ مقادیر کنترل پس از خوراندن اتـانول گـزارش شـده اسـت (۳۵). با اینحـال یـک افـزایش ۴ برابـری در فعالیـت سوپراکـسید دیسموتاز کلیه پس از ۱۲ هفته تجویز داخل معده ای نـشان داده شده است(۴۹). از طرف دیگر، داس و همکـاران نـشان دادنـد کـه فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در هفته ۱۲ پس از تجویز خـوراکی ۱/۶ گرم اتانول برکیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل کـاهش معنی داری داشته اما در هفته ۴ پس از تجـویز هـیچ تغییـری در فعالیت این آنزیم مشاهده نگردیده است (۳۲). در مطالعه دیگـری نیز در هفتـه هـای ۱۰ و ۳۰ پـس از تجـویز خـوراکی ۲ گـرم بـر کیلوگرم وزن بدن اتانول تغییری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مشاهده نشد (۵۲)، در حالیکه اخیراً شان موگام و همکاران نـشان دادند که مصرف ۲ گرم اتانول بر کیلوگرم وزن بدن روزانـه بمـدت ۳۰ روز می تواند کاهش معنی داری در میـزان فعالیـت آن ایجـاد نماید. بنابر این به نظـر مـی رسـد ظرفیـت فعالیـت سوپراکـسید دیسموتاز در پاسخ به اتانول تا حد زیادی تحت شرایط مختلـف از جمله مقدار اتانول مصرفی راه تجـویز و سـن حیوانـات مـی توانـد متفاوت باشد (۱۳). در مطالعه حاضر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز دربافت کلیه رت هائی که عصاره میوه عنـاب (۱۰۰ و ۲۰۰ میلـی گرم برکیلوگرم) را به تنهائی و یـا در کنـار الکـل مـصرف نمودنـد افزایش یافت. این افزایش ممکن اسـت ناشـی از حـضور ترکیبـات فعال بیولوژیک آنتی اکسیدان مانند ترکیبـات فنولیـک در عـصاره میوه عناب باشد.

نتایج حاصل از ایـن مطالعـه نـشان مـی دهـد کـه فعالیـت گلوتاتیون پراکسیداز کلیوی، بخش دیگری از دفاع آنزیماتیک مهم بر علیه استرس اکسیداتیو در سلول هـا، ۸ هفتـه پـس از مـصرف اتانول بطور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته اسـت. این یافته مطابق با مطالعه قبلی است که در آن اتانول به میـزان ۲ گرم برکیلوگرم وزن بدن/روزانه بمدت ۱۰ هفتـه توانـست فعالیـت گلوتاتیون پراکسیداز را بـالا ببـرد (۵۲). داس وهمکـاران گـزارش کردند که تجویز خوراکی اتانول به میزان ۱/۶ گرم برکیلـوگرم وزن بدن روزانـه تنهـا پـس از ۱۲ هفتـه توانـست فعالیـت گلوتـاتیون پراکسیداز را در کلیه کـاهش دهـد، در حالیکـه هـیچ تغییـری در هفته چهارم پس از تجویز این مقدار اتانول مشاهده نـشد(۳۲). در مطالعه دیگری نیز مصرف خوراکی و طولانی مدت اتـانول موجـب افت شدید گلوتاتیون پراکسیداز گردید (۳۵). در حالیکـه مـصرف مقدار زیاد اتانول در کوتاه مدت فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را بـه میزان معنی داری افزایش داده است (۴). بطور کلی تاثیر اتانول بر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کلیه در مطالعات مختلف بـا نتایج متفاوتی همراه بوده که به نظر می رسد در ارتبـاط بـا طـول مدت متفاوت مصرف اتانول در این مطالعات است.

در مطالعه حاضر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز دربافـت کلیـه رت هائی که عصاره میوه عناب (۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) را بـه تنهائی و یا در کنار الکل مصرف نمودند کاهش معنی دار نشان داد. تفاوت در نتایج این مطالعه و سایرین به نظر می رسد در ارتباط با مقدار اتانول بکار رفته و مدت آن باشد. متابولیـسم اتـانول توسـط سیتوکروم های P450 منجر به تولید پراکسید ئیدروژن می شود که یک پـیش سـاز بـرای رادیکـال ئیدروکـسیل اسـت. پراکـسید ئیدروژن در غلظت های بالا توسط کاتالاز و در غلظت های پـائین توسط گلوتاتیون پراکسیداز خنثی می شود. مشخص شـده اسـت که در مصرف طولانی مدت اتانول، گلوتاتیون پراکسیداز مـاکزیمم فعالیت خود را نشان می دهـد (۵۲). افـزایش فعالیـت گلوتـاتیون پراکسیداز همزمان با کاهش میـزان کلیـوی گلوتـاتیون احیـاء در پاسخ به مـصرف طـولانی مـدت اتـانول روی مـی دهـد. بنـابراین

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

گلوتاتیون احیاء بعنوان یک سوبسترا و احیاء کننده در واکنش های آنتی اکسیدان آنزیماتیک توسط گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون s- ترانسفراز به مصرف رسیده و کاهش می یابد (۵۲).

در مطالعه حاضر تغییر معنی داری در میزان مواد واکنش دهنده به اسید تیوباربیتوریک (TBARS) که نشاندهنده پراکسیداسیون چربی است، بدنبال مصرف اتانول در کلیه مشاهده نگردید. نتایج حاضر مطابق با یافته های قبلی است که در آنها تجویز خوراکی مزمن (۲ ،۴۶) و یا حاد اتانول (۵۳) تغییر معنی داری در میزان مالون دی آلدئید، بعنوان مارکر پراکسیداسیون چربی، نشان نداد. بطور کلی نتایج در ارتباط با پراکسیداسیون چربی در کلیه بدنبال مصرف اتانول متناقض می باشد. بعنوان مثال، گزارش شده که تجویز خوراکی اتانول به میزان ۱/۶ گرم برکیلوگرم وزن بدن بمدت ۱۲ هفته میزان TBARS را بطور معنی دار افزایش داده (۳۲) و متناسب با افزایش مقدار اتانول، پراکسیداسیون چربی افزایش می یابد(۴). در حالیکه در مطالعه دیگری ۲ گرم اتانول بر کیلوگرم وزن بدن روزانه حتی بمدت ۳۰ هفته بدون تاثیر بر میزان TBARS کلیه بوده است (۵۲). در این خصوص، حساسیت کلیه ها نسبت به آسیب اکسیداتیو تا حدودی به میزان بالای اسید های چرب غیر اشباع با زنجیر بلند در این بافت نسبت داده می شود (۵۴). در مقایسه با کلیه، کبد به میزانی بیشتر و سریعتر از آن بر اثر اتانول دچار آسیب اکسیداتیو می شود (۵۶،۵۵،۴۵). در واقع تجمع آهن در کبد بدنبال مصرف اتانول روند پراکسیداسیون را تسهیل می کند (۵۷).

در این مطالعه بررسی بافت شناسی کلیه تغییر قابل مشاهده ای بدنبال مصرف اتانول نشان نداد. و این در حالی است که در مطالعات قبلی اتانول به میزان ۱/۶ گرم بر کیلوگرم وزن بدن بمدت ۱۲ هفته توانسته تغییرات هیستوپاتولوژی مشخصی در بافت کلیه بصورت افزایش فضای کپسولی، دژنراسیون و نکروز اپی تلیال توبولی ایجاد نماید (۳۲). احتمالاً طول مدت تجویز اتانول جهت ایجاد آسیب ساختمانی در مطالعه حاضر کافی نبوده است. با توجه به کاهش مشخص در عملکرد کلیه و تغییر در وضعیت دفاع آنتی اکسیدان آن، تغییرات فرا ساختاری سلولی ناشی از اتانول در این مطالعه دور از انتظار نخواهد بود. تغییرات فراساختاری ناشی از اتانول در عملکرد کلیه اهمیت زیادی دارد (۲۷). استرس اکسیداتیو و رادیکال های آزاد از اولین علل این تغییرات در کلیه بوده (۳) و نقش مرکزی در آسیب ناشی از اتانول دارند (۴،۳،۲). استآلدئید بعنوان فرآورده بسیار سمی حاصل از اکسیداسیون اتانول در کلیه ها، علاوه بر آسیب مستقیم میتواند با افزایش ROS (اکسیداسیون استآلدئید تولید رادیکال های آزاد می کند) در ایجاد استرس اکسیداتیو و نتایج مخرب حاصل از آن در مصرف مزمن اتانول نقش داشته باشد. عصاره میوه عناب با دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدان و پاکسازی رادیکال های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو از اثرات مخرب الکل بر کلیه جلوگیری کرده است.

در مجموع ارزیابی سرمی در کنار بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و پروکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد و کلیه نشان می‌دهد که مصرف اتانول با اختلال در سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی و ایجاد استرس اکسیداتیو در کبد و کلیه موجب افت عملکرد این دوعضو می گردد و بنظر می رسد که عصاره میوه عناب با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بمدت ۸ هفته بصورت پیش درمانی مانع از بروز سندرم کبد-کلیه حاصل از اتانول می گردد. با این حال لازم است که مطالعات آینده بر روی آنالیز ترکیبات عصاره میوه عناب تمرکز کنند تا مشخص گردد کدام ترکیب یا ترکیبات مسئولیت آنتی اکسیدانی عصاره را بر عهده دارند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان برخود لازم می دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به جهت حمایت مالی مشترک در این طرح تشکر نمایند..

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

References

1. Macdonald I.O, Olusola O.J, Osaigbovo U.A. Effects of Chronic Ethanol Administration on Body Weight, Reduced Glutathione (GSH), Malondialdehyde (MDA) Levels and Glutathione-s-transferase Activity (GST) in Rats. New York Sci J, 2010; 3(4):39-47.
2. Rodrigo R, Rivera G, Orellana M, Araya J, Bosco C. Rat kidney antioxidant response to long-term exposure to flavonol rich red wine. Life Sci, 2002; 71: 2881–2895.
3. Rodrigo R, Trujillio M.D, Bosco C, Orellana M, Thielmann L, Araya J. Changes in (Na+K)-adenosine triphosphatase activity and ultrastructure of lung and kidney associated with oxidative stress induced by acute ethanol intoxication. Chest, 2002; 121: 589–596.
4. Scott R.B, Reddy K.S, Husain K, Schlorff E.C, Rybak L.P, Somani S.M. Dose response of ethanol on antioxidant defense system of liver, lung, and kidney in rat. Pathophysiol, 2000; 7(1): 25-32.
5. Jurczuk M, Moniuszko-Jakoniuk J, Brzoska M, Rogalska J, Roszczenko A, Kulikowska-Karpinska E. Evaluation of chosen parameters of oxidative stress in rats exposed to lead and ethanol. Pol. J. Environ. Stud, 2003; 12: 187-194.
6. Das S.K, Vasudevan D.M. Alcohol-induced oxidative stress. Life Sci, 2007; 81: 177-87.
7. Dey A, Cederbaum A.I. Alcohol and oxidative liver injury. Hepatology, 200643; 63-74.
8. Esmaeili M. A, Sonboli A, Kanani M. R, Sadeghi, H. Salvia sahendica prevents tissue damages induced by alcohol in oxidative stress conditions: Effect on liver and kidney oxidative parameters. J Med Plants Res, 2009; 3(4): 276-283.
9. Albano E, French S, Ingelman-Sundberg M. Cytochrome P450 2E1, hydroxyl ethyl radicals, and immune reaction associated alcoholic liver injury. Alcoh: Clin Exp Res, 1994; 18:1057-1068.
10. Riveros-Rosas H, Julian-Sanchez A, Pina E. Enzymology of ethanol and acetaldehyde metabolism in mammals. Arch Med Res, 1997; 28:453–471.
11. Hussein J.S, Oraby F.S, El-Shafey N. Antihepatotoxic Effect of Garlic and Onion Oils on Ethanol-induced Liver Injury in Rats. J Appl Sci Res, 2007; 3(11): 1527-1533.
12. Kim B, Cui Z.G, Lee S. R, Kim S.J, Kang H.K, LeeY.K, Park D.B. Effects of asparagus officinalis extracts on liver cell toxicity and ethanol metabolism. J food Sci, 2009; 74: 7-15.
13. Shanmugam K. R, Ramakrishna C. H, Mallikarjuna K, Sathyavelu Reddy K. Protective effect of ginger against alcohol-induced renal damage and antioxidant enzymes in male albino rats. Ind J Exp Biol, 2010; 48 :143-149.
14. Dahiru D, Obidoa O. Pretreatment of albino rats with aqueous leaf extract of Ziziphus mauritiana protects against alcohol-induced liver damage. Trop J Pharml Res, 2007; 6(2) 705-710.
15. Devipriya N, Srinivasan M, Sudheer A. R, Menon V .P. Effect of ellagic acid, a natural polyphenol, on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance: a drug dose

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

dependent study. Singapore Med J, 2007; 48 (4): 311-315.

16. Pawlowska A.M, Camangi F, Bader A, Braca A. Flavonoids of Zizyphus jujuba l, and Zizyphus spina-christi (L.) Willd (Rhamnaceae) fruits. Food Chem, 2009; 112: 858-862.
17. Al- Reza S. M, Bajpai V. K, Kang S. C. Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from Zizyphus jujuba. Food Chem Toxicol, 2009; 47; 2374-2380.
18. Guil-Guerreo J. L, Diaz Delgado A, Gonzalez M..C.M, Torija Isasa M. E. Fatty acids and carotenes in some ber (Zizyphus Jujuba Mill) Varieties. Plant Foods Hum. Nutr, 2004; 59: 23-27.
19. Adzu B, Amos S, Wambebe C, Gamaniel K. Antinociceptive activity of Zizyphus spina Christi root bark extract. Fitoterapia, 2001; 72: 344-350.
20. Hussein H.M, El-Sayed E.M, Said A.A. Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of Zizyphus spina Christi and Zizyphus jujuba in Alloxan Diabetic Rats. Inter J Pharm, 2006; 2(5): 563-570.
21. Nalina T, Rahim Z. H. A. Effect of Piper betle L. Leaf Extract on the Virulence Activity of Streptococcus mutans-An in vitro Study. Pak J Biol Sci, 2006; 9 (8):1470-1475.
22. Lowry O, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurements with the Folin phenol reagent. J Biol Chem, 1951;193:265–75.
23. Kheradmand A, Alirezaei M, Asadian P, Rafiei Alavi E, Joorabi S. Antioxidant enzyme activity and MDA level in the rat testis following chronic administration of ghrelin. Andrologia, 2009; 41:335–40.
24. Subbarao KV, Richardson JS, Ang L. Autopsy samples of Alzheimer's cortex show increase peroxidation in vitro. J Neurochem, 1990; 55:342–5.
25. Saravanan R, Viswana P, Pugalendi K.V. Protective effect of ursolic acid on ethanol-mediated experimental liver damage in rats. Life Sci, 2006; 78: 713-718.
26. Chen Y, Chang S, Lu T.The in vivo deleterious effects of ethanol. Inter J Sport Exer Sci, 2007; 1(3):81-86.
27. Pari L, Karthikesan K. Protective role of caffeic acid against alcohol – induced biochemical changes in rats. Fund Clin pharmacol, 2007; 21(4): 355-361.
28. Rukkumani R, Aruna K, Varma P. S, Rajasekaran K. N, Menon V. P. Comparative effects of curcumin and an analog of curcumin and PUFA induced oxidative stress. J Pharm Sci, 2004; 7: 274-83.
29. Siler S.Q, Neese R. A, Hellerstein M. K. De novo lipogenesis lipid kinetics, and whole-body lipid balances in humans after acute alcohol consumption. Am J Clin Nutr, 1999;70(5): 928-936.
30. Mukherjee M, Das A.S, Mitra S, Mitra C. Prevention of Bone loss by oil extract of garlic (Allium sativum Linn.) in an ovariectomized rat model of osteoporosis. Phyto . Res, 2004; 18: 389-394.
31. Saravanan N, Nalini N. Impact of Hemidesmus indicus R.Br. extract on ethanol-mediated oxidative damage in rat kidney. Redox Rep, 2007; 12(5): 229-35.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

32. Das S. K, Varadhan S, Dhanya L, Mukherjee S, Vasudevan D. M. Effects of chronic ethanol exposure on renal function tests and oxidative stress in kidney. Ind J Clin Biochem, 2008; 23 (4): 341-344.
33. Chan-Yeung M, Ferreira P, Frohlich J, Schulzer M, Tan F. The effects of age, smoking and alcohol on routine laboratory tests. Am J Clin Pathol, 1981; 75(3): 320-6.
34. Das S.K, Vasudevan D.M. Effect of ethanol on liver antioxidant defense systems: a dose dependent study. Ind J Clin Biochemy, 2005; 20 (1) 80-84.
35. Husain K, Scott B.R, Reddy S.K, Somani S.M. Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. Alcohol, 2001; 25:89–97.
36. Koch O, Farre S, De Leo M.E, Palozza P, Palazzotti B, Borrelo S, Palombini G, Cravero A, Galeotti T. Regulation of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in chronic experimental alcoholism: effects of vitamin E-supplemented and E-deficient diets. Alcohol Alcohol, 2000; 35(2), 159-16.
37. Polavarapu R, Spitz D.R, Sim J.E. Increased lipid peroxidation and impaired antioxidant enzyme function is associated with pathological liver injury In experimental alcoholic liver disease in rats fed diets high in corn oil and fish oil. Hepatology, 1998; 27: 1317-1322.
38. Jurczuk M, Moniuszko-Jakoniuk J, Rogalska J. Glutathione-Related Enzyme Activity in Liver and Kidney of Rats Exposed to Cadmium and Ethanol. Polish J. of Environ. Stud. 2006; 15(6): 861-868.
39. Dupont I, Klucas D, Clot P, Menez C, Albano E. Cytochrome P4502E1 inducitibility and hydroxyethyl radical formation among alcoholics. J. Hepatol. 1998; 28, 564-568.
40. Chandra R, Aneja R, Rewal C, Konduri R, Dass S.K, Agarwal S. An opium alkaloid-Papaverine ameliorates ethanol-induced hepatotoxicity: diminution of oxidative stress. Ind. J. Clin. Biochem, 2000; 15(2): 155-160.
41. Jaya D.S, Augstine J, Menon V.P. Role of lipid peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in alcohol and drug toxicity. Indian J Exp Biol, 1993; 31:453-9.
42. Fernandez V, Videla I.A. Effect of acute and chronic ethanol ingestion on the content of reduced glutathione on various tissues of the rat. Experientia, 1981; 37:392-4.
43. Szweda L.I, Uchida K, Tasi L, Stadtman E.R. Inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4- hydroxy-2-nonenal. J. Biol. Chem, 1993; 268, 3342-47.
44. Oh S.I, Kim C.I, Chun H.J, Park S.C. Chronic ethanol consumption affects glutathione status in rat liver. J. Nutr, 1998; 128(4): 758-763.
45. Pillai C.K, Pillai K.S. Antioxidants in health. Indian J Physiol Pharmacol, 2002; 46:1-15.
46. Jurczuk M, Brzoska M.M, Moniuszko-Jakoniuk J, Gaztazym-Sidorczuk M, Kulikowska-Karpi´nska E. Antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to cadmium and ethanol. Food Chem Toxicol, 2004;42:429–438.
47. Helen A, Rajasree C.R, Krishnakumar K, Augustlk T, Vijayammal P.L. Antioxidant role of oils isolated from garlic and onion. On

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

nicotine induced lipid peroxidation. Vet Human Toxicol, 1999; 41(5): 316-319.

48. Husain K, Somani S.M. Interaction of exercise training and chronic ethanol ingestion on hepatic and plasma antioxidant system in rat. J. Appl. Toxicol, 1997; 17(3), 189-194.
49. Dinu V, Zamfir O. Oxidative stress in ethanol intoxicated rats. Rev. Roum. Physiol, 1991; 28(1- 2): 63-67.
50. Mac Sween R.N, Burt A.D. Histological spectrum of alcoholic liver disease. Sem liver Dise. 1986; 6(3): 221-232
51. Bondy S.C. Ethanol toxicity and oxidative stress. Toxicol Lett, 1992; 63: 231–241.
52. Dinu D, Nechifor M.T, Movileanu L. Ethanol-Induced Alterations of the Antioxidant Defense System in Rat Kidney. J Biochem Mol Toxicol, 2005; 19: 6-12.
53. Witek B, Kolataj A. Effect of ethanol administration on activities of some lysosomal hydrolases in the mouse.Gen Pharmacol, 1999; 32:163–168.AA
54. Das S.K, Vasudevan D.MAlcohol induced effects on kidney. Ind J Clin Biochem, .2008; 23 (1): 4-9.
55. Sun A.Y, Ingelman-Sundberg M, Neve E, Matsumoto H, NishitaniY, MinowaY, FukuiY, Bailey S.M, Patel V.B, Cunningham C.C, Zima T, Fialova L, Mikulikova L, Popov P, Malbohan I, Janebova M, Nespor K, Sun G.Y. Ethanol and oxidative stress. Alcohol Clin Exp Res, 2001; 25: 237S–243S.
56. Seo H.J, Jeong K.S, Lee M.K, Park Y.B, Jung U.J, Kim H.J, Choi M.S. Role of naringin supplement in regulation of lipid and ethanol metabolism in rats. Life Sci, 2003; 73: 933–946.
57. Chen J.J, Schenker S, Henderson G.I. 4-Hydroxynonenal levels are enhanced in fetal liver mitochondria by in utero ethanol exposure. Hepatology; 1997; 25:142–147.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-05-01]