مطالعه هیستوپاتولوژی تاثیر عصاره الکلی ریشه شلغم بر آسیب ایسکمی- باز خونرسانی کلیه در موش صحرایی

داریوش مهاجری[1*]، غفور موسوی[2]، پدرام محمدی[3]

۱.دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، تبریز، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تبریز، ایران
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، دانش آموخته دامپزشکی، تبریز، ایران
** نویسنده مسئول مکاتبات: mohajeri@iaut.ac.ir*

(دریافت مقاله: ۹۱/٤/۲۵، پذیرش نهایی: ۹۱/۸/٤)

چکیده

آسیب ایسکمی – باز خونرسانی کلیه یکی از مهمترین عوامل نارسایی حاد کلیه به شمار می‌رود که در بسیاری از موارد بالینی با آن برخورد می‌شود. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات پیش درمانی با عصاره الکلی ریشه گیاه شلغم بر هیستوپاتولوژی کلیه و شاخص‌های سرمی آسیب آن در آسیب ناشی از ایسکمی – باز خونرسانی کلیه در موش صحرایی طراحی گردید. در مجموع ۸۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی در ٤ گروه: شاهد جراحی، مدل ایسکمی – باز خونرسانی و ۲ گروه ایسکمی – باز خونرسانی + تیمار با عصاره الکلی ریشه شلغم (۱٪ و ۲٪) با ۲۰ سر موش صحرایی در هر گروه تقسیم گردید. موش‌های گروه ایسکمی – باز خونرسانی به مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در معرض ایسکمی و به مدت ۳۰ دقیقه در معرض باز خونرسانی قرار گرفتند. ٢٤ ساعت پس از دوره باز خونرسانی موش‌ها آسان کشی شدند. آزمون‌های عملکرد کلیه و آسیب شناسی بافتی کلیه در مورد گروه‌های مورد آزمایش انجام گردید. نتایج به‌دست آمده با گروه شاهد جراحی مورد مقایسه قرار گرفت. افزایش کراتینین سرم، اوره خون و اسید اوریک در موش‌های گروه ایسکمی – باز خونرسانی در مقایسه با گروه شاهد جراحی مشاهده شد. پیش تیماری عصاره الکلی شلغم به مدت ۳۰ روز قبل از القاء ایسکمی – باز خونرسانی عملکرد کلیه را بهبود بخشیده و آسیب ناشی از آماس و استرس اکسیداتیو را کاهش داد. نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره الکلی ریشه شلغم به‌طور معنی‌داری از آسیب عملکردی و بافتی کلیه در اثر ایسکمی – باز خونرسانی جلوگیری کرد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۹۱، دوره ٦، شماره ۲، پیاپی ۲۲، صفحات: ۱۵۵۹-۱۵٤۹.
کلید واژه‌ها: عصاره الکلی ریشه شلغم، ایسکمی – باز خونرسانی، کلیه، موش صحرایی

مقدمه

مسیرهای پاتولوژیک مختلفی برای آسیب بافت‌های بدن در روند ایسکمی-بازخونرسانی، معرفی شده است. در اکثر بافت‌ها آسیب ناشی از ایسکمی-بازخونرسانی، عمدتاً توسط رادیکال-های آزاد اتفاق می‌افتد. با تولید رادیکال‌های آزاد بسیار فعال اکسیژن یعنی سوپر اکسید و رادیکال هیدروکسیل طی روند ایسکمی- بازخونرسانی، بافت‌ها متحمل آسیب‌های ساختاری و عملکردی متعددی می‌گردند به طوری که آسیب‌های پاتولوژیکِ شدیدتر در فاز بازخونرسانی

Archive of SID
www.SID.ir

اتفاق می‌افتد (۲۲). آسیب ایسکمی زمانی اتفاق می‌افتد که جریان خون به یک بافت قطع شود، اما به صورت متناقض آسیب بافتی بیشتر موقعی روی می‌دهد که جریان خون دوباره در طی رپرفیوژن برقرار شود (۱۸). کلیه یکی از ارگان‌هایی است که از این سندروم بالینی (آسیب ایسکمی- رپرفیوژن) آسیب می‌بیند. مثلاً در پی کاهش جریان خون به کلیه به دلیل خونریزی، شوک، اعمال جراحی بزرگ و یا قطع کامل جریان خون به این ارگان در حین انتقال از دهنده به گیرنده در طی پیوند کلیه این وضعیت اتفاق می‌افتد. علت اصلی عملکرد تأخیری بافت پیوندی آسیب ایسکمی- رپرفیوژن (I/R) می‌باشد. هرچه قدر شدت آسیب اولیه ناشی از I/R بیشتر باشد، موارد رد پیوند یا اختلال عملکردی آن افزایش می‌یابد. بنابراین، کاهش در آسیب I/R اولیه منجر به نتیجه بهتر برای بقا آلوگرافت در کوتاه مدت و دراز مدت می‌شود (۱٦). پاسخ التهابی کوتاه مدت آغاز شده به دلیل I/R ، توسط القاء آبشار سیتوکاین‌های پیش التهابی، بیان ملکول‌های اتصالی و ارتشاح سلولی مشخص می‌شود. IL-1 و α - TNF به‌عنوان سیتوکاین‌های پیش التهابی هستند که نقش مهمی را در آسیب I/R بعد از پیوند ارگان دارند (۱٦).

بروز ایسکمی- بازخونرسانی در کلیه نیز با تولید رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون لیپیدی شده که منجر به نارسایی حاد کلیوی می‌شود (۱۳ و ۲٤). استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها، به سرعت در حال توسعه بوده و توجه ویژه‌ای به اثرات محافظتی آنتی اکسیدان‌های با منشاء طبیعی در برابر بیماری‌ها شده است (۱۲). گیاهان دارویی فراوانی با خواص آنتی‌اکسیدانی وجود دارند، که گمان می‌رود در پیشگیری از آسیب ایسکمی- بازخونرسانی بافت‌ها موثر باشند. از جمله گیاهانی که ترکیبات آن دارای خواص قوی آنتی‌اکسیدانی است گیاه شلغم می‌باشد (۵).

شرایط پاتولوژیک نظیر سرطان‌ها، پیری، بیماری‌های قلبی- عروقی، ایسکمی و آماس در تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن دخیل هستند (۱ و ۹). بنابراین، از بین بردن گونه‌های رادیکال اکسیژن یک راهکار تدافعی موثری در برابر بیماری‌های مختلف قلمداد می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که در صورت وجود در غذاها و بدن، حتی در مقادیر ناچیز، می‌توانند بدن را در مقابل انواع مختلف آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن محافظت کنند (۲۸). گیاهان دارویی به علت سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و صرفه اقتصادی، به عنوان جایگزین‌های شایسته داروهای صناعی، همواره مورد توجه بوده و از چند دهه اخیر به‌طور خاص مورد توجه محققین قرار گرفته است. مواد بیولوژیک با منشأ گیاهی شاخه‌ای از فارماکوتراپی مدرن بیماری‌ها را تشکیل می‌دهند. اگر چه عوامل دارویی متنوعی برای درمان انواع بیماری‌ها وجود دارد، لکن اغلب بیماران قادر به تحمل اثرات جانبی داروهای شیمیایی نیستند و از سوی دیگر اکثر گیاهان اثرات جانبی بسیار اندکی در روی بیماران به جای می‌گذارند. با انجام این مطالعه خاصیت دارویی عصاره شلغم در محافظت از بافت کلیه در شرایط ایسکمی-بازخونرسانی برای اولین بار از طریق آسیب شناسی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که در صورت تایید می‌تواند به عنوان یک منبع قابل دسترس با خاصیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گیرد. بدیهی است قبل از آن‌که دارویی جدید وارد عرصه طب شود، لازم است مطالعات متعددی در چندین مرحله روی دارو انجام شود. در اولین مرحله، دارو در محیط‌های بی-جان (in vitro) و نیز روی حیوانات زنده (in vivo) بررسی می‌شود که در این مرحله ویژگی‌های کلی را روی مورد مطالعه (Pharmacological profile) مورد بررسی قرار می‌دهند. بعد از این مرحله است که دارو روی انسان آزمایش می‌شود.

با توجه به اینکه شلغم دارای اثرات آنتی اکسیدانی می‌باشد انتظار می‌رود که مصرف این گیاه بتواند از آسیب ایسکمی- بازخونرسانی جلوگیری نماید. با عنایت به اینکه اثر گیاه مذکور بر آسیب ایسکمی- بازخونرسانی با جنبه هیستوپاتولوژیک مورد مطالعه قرار نگرفته است، هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات

Archive of SID

www.SID.ir

محافظتی عصاره الکلی شلغم بر آسیب ایسکمی-بازخونرسانی کلیه با جنبه آسیب‌شناسی در موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی می‌باشد. برای انجام این مطالعه، از تعداد ۸۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰ ± ۲۰۰ گرم و در محدوده سنی ۹ هفته استفاده شد. شرایط تغذیه و نگه‌داری برای تمام گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ۲ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد بود. جیره غذایی یکسان و آب نیز به‌طور آزاد در دسترس قرار گرفته و پس از یک هفته عادت به شرایط جدید، آزمایش شروع شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ٤ گروه مساوی شامل: ۱- گروه شاهد (Sam I/R) ۲- گروه ایسکمی- بازخونرسانی (I/R) ۳- گروه ایسکمی-بازخونرسانی+ تیمار با دز پایین عصاره (low dose extract+ I/R) ٤- گروه ایسکمی-بازخونرسانی + تیمار با دز بالای عصاره (high dose extract + I/R) تقسیم شد.

ریشه شلغم مورد استفاده در این بررسی پس از تهیه، توسط دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز تأیید شد. ریشه‌های تازه با آب تمیز به‌طور کامل شستشو شده و پس از برش، سه بار توسط اتانول عصاره‌گیری شد. محلول عصاره صاف گردیده و توسط دستگاه روتاری اواپوراتور تحت خلأ کاملاً خشک شد. عصاره خشک شده تا زمان استفاده در یخچال و تحت شراط انجماد نگه‌داری شد. در این مطالعه، تیمار با عصاره ریشه گیاه شلغم به مدت ۳۰ روز طول کشید. از زمان شروع، در گروهای ۱ (Sam I/R) و ۲ (I/R) صرفاً از جیره پایه و در گروه‌های ۳ (سالم تیمار با low dose green tea+ I/R) و ٤ (high dose green tea+ I/R) به ترتیب از جیره حاوی عصاره بر اساس میزان مصرف ۱٪ و ۲٪ ریشه خام در جیره پایه (به ترتیب ۲ و ۵ گرم ماده خام ریشه گیاه شلغم در ۱۰۰گرم جیره پایه)، استفاده شد. شرایط نگه‌داری در سایر موارد برای تمامی گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد. پس از ۳۰ روز، برای ایجاد ایسکمی و برقراری مجدد خونرسانی، همه گروه‌ها توسط تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (۵۰ mg/kg) بیهوش گردیده و رهیافت تهیگاه به طور دو طرفی برش داده شد. در گروه شاهد (Sam I/R) فقط به دستکاری سرخرگ کلیوی اکتفا کرده (از گیره استفاده شد) و در سایر گروه‌ها سرخرگ‌های کلیوی به مدت ٦٠ دقیقه به‌وسیله گیره‌های نان-تروماتیک عروقی مسدود شد. پس از برداشتن گیره و رفع انسداد، حفره شکمی بخیه زده شده و حیوانات به قفس‌های خود باز گردانده شد.

پس از ٢٤ ساعت بازخونرسانی، جهت اندازه‌گیری برخی فاکتورهای بیوشیمیایی شامل اوره (۱۱)، اسید اوریک (٤) و کراتینین (۲۹)، نمونه خون نیز از سینوس پشت کره چشم (retro-orbital plexus) اخذ گردید. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد. هم‌زمان همه موش‌ها با ایجاد دررفتگی در مهره‌های گردن (Cervical dislocation) به راحتی کشته شدند. کلیه موش‌ها متعاقب پرفوزیون کلیوی از طریق سرخرگ کلیه توسط سرم فیزیولوژی سرد، سریعاً خارج و در فرمالین بافری ۱۰ درصد پایدار شد. از نمونه‌های فوق با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع هیستوپاتولوژی، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون و با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین تهیه شد (۲۰). مقاطع بافتی کلیه، تهیه شده از گروه‌های مختلف آزمایشی به‌شکل دو سو بی‌خبر از لحاظ تغییرات پاتولوژیک از جمله: تورم حاد سلولی بافت پوششی توبول‌ها، پرخونی و خونریزی، اتساع توبولی و نکروز سلول‌های پوششی توبول‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و از لحاظ شدت آسیب بر اساس روش Bhalodia و همکاران در سال ۲۰۰۹ به صورت آسیب ملایم (+۱)، آسیب متوسط (+۲)، آسیب شدید (+۳) رتبه بندی شد (۳).

Archive of SID
www.SID.ir

تحلیل آماری

داده‌های به‌دست آمده کمی، به صورت mean±S.E.M ارائه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ توسط نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

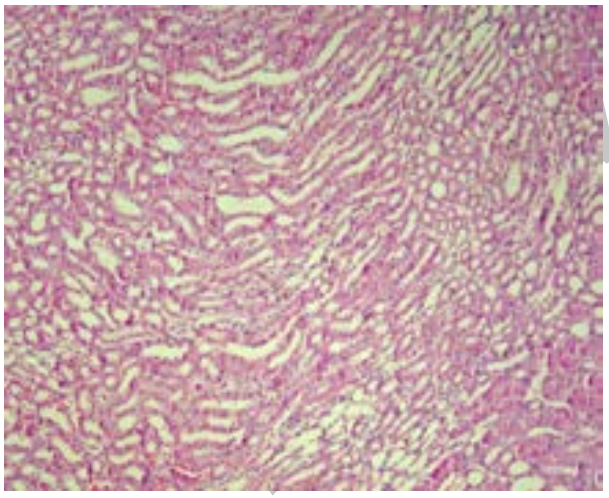
یافته‌های آسیب‌شناسی

تغییرات هیستوپاتولوژی گروه‌های مختلف آزمایشی شامل: شم، ایسکمی-بازخونرسانی، ایسکمی-بازخونرسانی+ عصاره الکی شلغم (١٪) و ایسکمی-بازخونرسانی+ عصاره الکی شلغم (٢٪) در نگاره‌های ١ تا ٨ نشان داده شده و شدت تغییرات در جدول ١ ارائه گردیده است. در گروه شم، ساختار بافت کلیه طبیعی بوده و تغییر پاتولوژیک خاصی در آن مشاهده نگردید. در گروه ایسکمی-بازخونرسانی تغییرات دژنراتیو سلول‌های توبولی، نکروز حاد توبول‌ها، ادم، پرخونی و خونریزی شدید بینابینی مشاهده گردید. پرخونی و خونریزی شدید گلومرولی بسیار واضح بود. در گروه ایسکمی-بازخونرسانی+ عصاره الکی شلغم (١٪)، پیش‌تیماری توسط عصاره الکی شلغم به میزان ١٪ بهبود قابل توجهی در بروز تغییرات پاتولوژیک مشاهده گردید. تغییرات پاتولوژیک مشاهده شده در این گروه شامل ادم، پرخونی و خونریزی متوسط در گلومرول و بافت بینابینی کلیه و همچنین تغییرات ملایم دژنراتیو همراه با نکروز خفیف سلول-های اپیتلیال توبولی در مناطق قشری و مرکزی کلیه بود. مقاطع تهیه شده از کلیه گروه ایسکمی-بازخونرسانی+ عصاره الکی شلغم (٢٪)، بهبود قابل توجهی را در بروز تغییرات پاتولوژیک نشان داد. تنها تغییر پاتولوژیک مشاهده شده در این گروه شامل واکوئولاسیون خفیف سلول‌های توبولی و پرخونی جزئی بود.

جدول ١- آسیب کلیه در موش‌های صحرایی

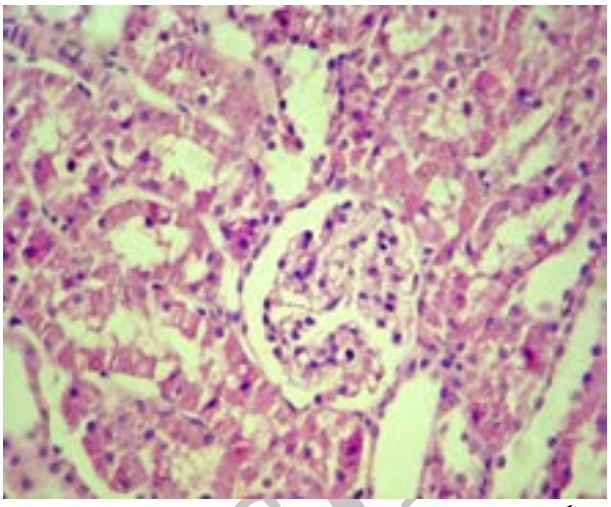
گروه‌ها	تورم حاد سلولی	پرخونی و خونریزی	اتساع توبولی	نکروز سلول‌های پوششی توبول‌ها
شم	-	-	-	-
ایسکمی-بازخونرسانی	+++	+++	+++	+++
ایسکمی-بازخونرسانی + عصاره الکی شلغم (١٪)	+++	++	++	++
ایسکمی-بازخونرسانی + عصاره الکی شلغم (٢٪)	++	+	+	+

علامت منفی نشان‌دهنده عدم مشاهده تغییر پاتولوژیک و علامت مثبت نشان‌دهنده تغییرات پاتولوژیک می‌باشد.

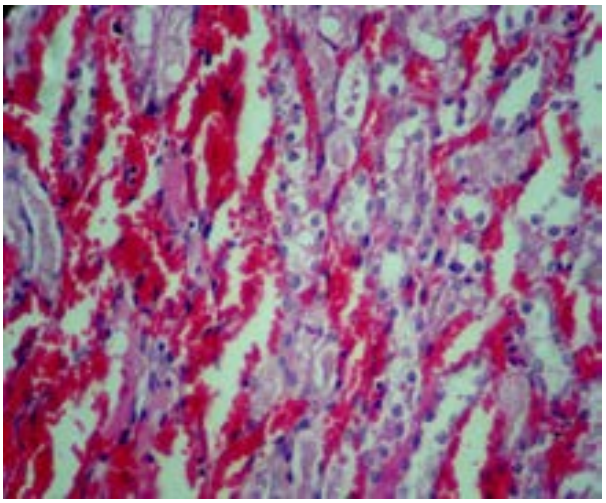


نگاره ١- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه کنترل جراحی (شم). ساختار بافت کلیه در کورتکس و مدولا سالم بوده و تغییر پاتولوژیک خاصی در آن مشاهده نمی‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ٤٠×).

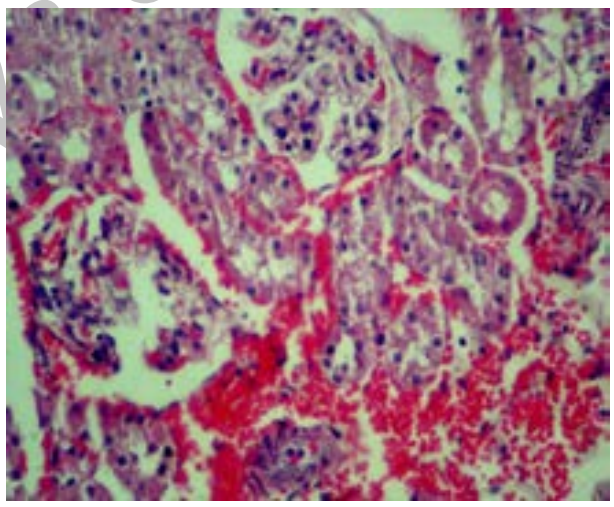
Archive of SID



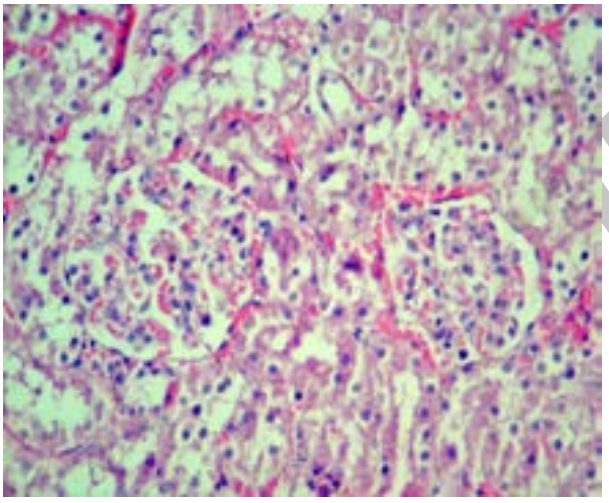
نگاره ٢- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه کنترل جراحی (شم). ساختار بافت کلیه در منطقه قشر سالم بوده و تغییر پاتولوژیک قابل توجهی در آن مشاهده نمی‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ٢٥٠×).



نگاره ٤- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه تحت ایسکمی/ بازخونرسانی. پرخونی و خونریزی شدید در بافت بینابینی کلیه و همچنین تغییرات شدید دژنراتیو همراه با نکروز سلول‌های اپیتلیال توبول‌ها در قسمت مرکزی کلیه قابل توجه می‌باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ٢٥٠×)

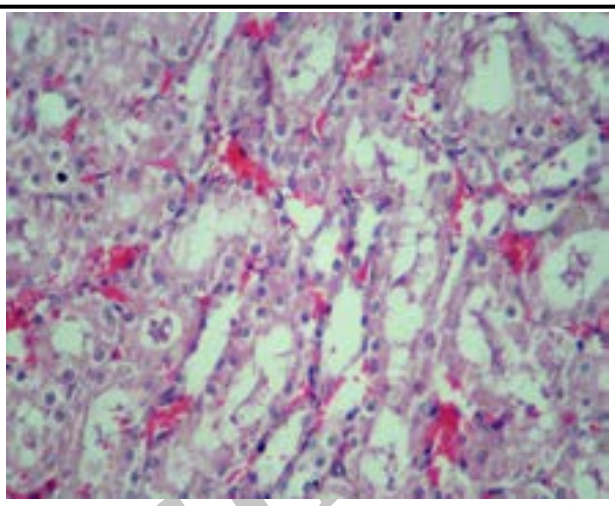


نگاره ٣- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه تحت ایسکمی/ بازخونرسانی. به پرخونی و خونریزی شدید در گلومرول و بافت بینابینی کلیه و همچنین تغییرات شدید دژنراتیو همراه با نکروز سلول‌های اپیتلیال توبولی در منطقه قشری کلیه توجه نمائید (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ٢٥٠×).

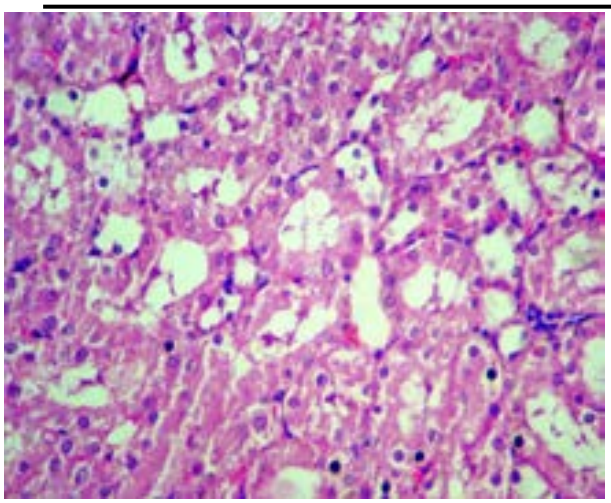


نگاره ٥- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه تحت ایسکمی/ بازخونرسانی به‌علاوه تیمار با دز پائین (١٪) عصاره الکلی ریشه شلغم. به پرخونی و خونریزی متوسط در گلومرول و بافت بینابینی کلیه و همچنین تغییرات ملایم دژنراتیو همراه با نکروز خفیف سلول‌های اپیتلیال توبولی در منطقه قشری کلیه توجه نمائید (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ٢٥٠×).

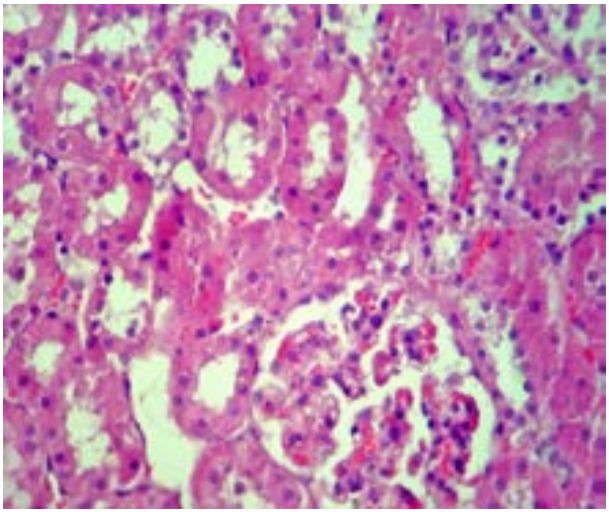
www.SID.ir



نگاره ٦- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه تحت ایسکمی/ بازخونرسانی به‌علاوه تیمار با دز پائین (١٪) عصاره الکلی ریشه شلغم. پرخونی و خونریزی ملایم تا متوسط در بافت بینابینی کلیه و همچنین تغییرات ملایم دژنراتیو همراه با نکروز خفیف سلول‌های اپیتلیال توبول‌ها در قسمت مرکزی کلیه قابل توجه می‌باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ٢٥٠×).



نگاره ٨- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه تحت ایسکمی/ بازخونرسانی به‌علاوه تیمار با دز بالای (٢٪) عصاره الکلی ریشه شلغم. تغییرات ملایم دژنراتیو همراه با نکروز خفیف سلول‌های اپیتلیال توبول‌ها در قسمت مرکزی کلیه قابل مشاهده می‌باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، بزرگنمایی ٢٥٠×).



نگاره ٧- نمای ریزبینی از بافت کلیه موش صحرائی گروه تحت ایسکمی/ بازخونرسانی به‌علاوه تیمار با دز بالای (٢٪) عصاره الکلی ریشه شلغم. پرخونی ملایم در بافت بینابینی کلیه و همچنین تغییرات ملایم دژنراتیو همراه با نکروز جزئی سلول‌های اپیتلیال توبولی در منطقه قشری کلیه قابل مشاهده می‌باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، بزرگنمایی ٢٥٠×).

یافته‌های بیوشیمیایی

تغییرات بیوشیمیایی سرم و مقایسه آماری گروه‌های مختلف آزمایشی شامل: شم، ایسکمی-بازخونرسانی، ایسکمی-بازخونرسانی+شلغم (١٪) و ایسکمی-بازخونرسانی+شلغم (٢٪) در جدول ٢ ارائه گردیده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- تاثیر پیش درمانی شلغم بر پارامترهای سرمی کراتینین، اوره و اسیداوریک

گروه	سرم کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	ازت اوره خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	اسید اوریک (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
شاهد	۱/۵۵ ± ۰/۰۹	٦١/٣٢± ٥/٨	۰/۷۹ ± ۰/۱۱
ایسکمی-بازخونرسانی	٤/٢٣ ±٠/٢١ [a]	١٤٢/٩٥ ±١٢/٧٥ [a]	١/٨٢ ±٠/١٨[a]
ایسکمی- بازخونرسانی+ شلغم (۱٪)	٢/٦٢ ±٠/١١[b]	١٠٣/٩٥ ±٧/٣٢ [b]	١/٣٠ ±٠/١٢ [b]
ایسکمی- بازخونرسانی+ شلغم (۲٪)	١/٨٠ ±٠/٠٨ [c]	٧١/٣٥ ±٤/٣ [c]	٠/٨٨ ±٠/١٥ [c]

a: $p<$ ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شم، b: ۰/۰۵ $>p$ و c: ۰/۰۱ $>p$ در مقایسه با گروه ایسکمی-بازخونرسانی

بحث و نتیجه‌گیری

مصرف گیاهان جنس شلغم با سلامت انسان در ارتباط بوده و باعث کاهش خطر ابتلا به برخی از بیماری‌های مزمن نظیر اختلالات قلبی‌عروقی (۵) و سرطان (۳۰) می‌گردد. در مطالعات انجام شده توسط Kim و همکارانش در سال ۲۰۰٦ اثرات محافظتی عصاره ریشه گیاه شلغم در برابر سمیت کلیوی سیسپلاتین به اثبات رسیده است (۱۹). مطالعات انجام شده توسط Rafatullah و همکارانش در سال ۲۰۰٦ نشان داده است که تیمار با عصاره شلغم مانع از بروز آسیب سلول‌های کبدی توسط تتراکلرید کربن (CCl4) می‌شود. طبق نظر ایشان اثر محافظتی عصاره شلغم احتمالاً به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن بوده است (۲۵). در مطالعه‌ای که توسط Choi و همکارانش در سال ۲۰۰٦ انجام شده، اثرات آنتی‌اکسیدانی و هپاتوپروتکتیو عصاره اتانولی شلغم در هر دو شرایط in vivo و in vitro مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه ایشان تجویز خوراکی عصاره اتانولی شلغم به موش‌های صحرایی که کبد آنها توسط d-Galactosamine آسیب دیده بود، منجر به بهبود وضعیت کبد گردیده است (۷). Jung و همکارانش با تحقیق در مورد موش‌های دیابتیک نشان داده‌اند که عصاره ریشه گیاه شلغم با افزایش متابولیسم گلوکز و چربی دارای اثرات ضد دیابتی در دیابت نوع ۲ می‌باشد (۱۷). تحقیقات نشان داده است که ایزوتیوسیانات‌ها(Isothiocyanates) و متابولیت‌های ایندول گلوکوزینولات (indole glucosinolate metabolites) دو گروه عمده از مشتقات گلوکوزینولات‌ها هستند که هر دوی آنها دارای اثرات ضد سرطانی در برابر طیف وسیعی از کانسرها چه در شراط درون‌تنی (in vivo) و چه در شرایط برون تنی (in vitro) می‌باشند (۲۳ و ۳۲).

این اثرات اغلب به گیاشیمی این گیاه به‌خصوص گلوکوزینولات‌ها (glucosinolates) (۲۳ و ۲٦) و ترکیبات فنولیک (phenolic compounds) (۱۰ و ۱۵) آن، نسبت داده می‌شود که تنوعی از اعمال فیزیولوژیک شامل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، تنظیم و کنترل آنزیم‌ها و کنترل و مهار آپوپتوز و چرخه سلول را القاء می‌کنند. ترکیبات فنولیک، گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه این سلسله گیاهی به‌شمار می‌روند. این ترکیبات بر اساس ساختار مولکولی خود و تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و سایر گروه‌های استخلافی به گروه‌ها و تحت گروه‌هایی طبقه‌بندی می‌گردند. گسترده‌ترین و متنوع‌ترین گروه از پلی‌فنول‌ها، فلاوونوئیدها می‌باشند. فلاوونوئیدها

Archive of SID
www.SID.ir

(Flavonoids) و مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید (hydroxycinnamic acid derivatives) به‌وفور در این گیاهان وجود داشته و از ترکیبات فعال بیولوژیکی مهم رژیم غذایی انسان به‌شمار می‌روند (٦، ٢١ و ٣١). این ترکیبات دارای اثرات مستقیم آنتی‌اکسیدانی و فعالیت‌های زدایندگی رادیکال آزاد هستند و همچنین می‌توانند باعث بیان تنوعی از ژن‌های دخیل در کدگذاری (encoding) آنزیم‌های متابولیکی مؤثر در کاهش خطر ابتلا به گروهی از بیماری‌ها و اختلالات، گردند (٢).

یکی از مسائل بسیار مهم در ایسکمی-بازخونرسانی آسیب سلولی می‌باشد، برقراری مجدد جریان خون به شکل متناقضی باعث تشدید آسیب سلولی در بافت می‌گردد، بنابراین علاوه بر سلول‌هایی که تا انتهای دوره ایسکمی دچار آسیب غیرقابل برگشت شده بودند، سلول‌های دیگری نیز در بافت از می‌روند (٨). نتایج حاصل از مطالعه ما نشان می‌دهد پیش درمانی با شلغم اثرات پیشگیرانه محافظتی و درمانی در برابر آسیب ایسکمی-بازخونرسانی کلیوی دارد که این موضوع را با ازمایشات بیوشیمیایی و پاتولوژیکی ثابت کردیم.

در آزمایشات ما حیواناتی که دچار اسیب ایسکمی-بازخونرسانی شده بودند آسیب‌های کلیوی را نشان دادند که شامل کاهش عملکرد کلیه به صورت افزایش سطح اوره، اسید اوریک و کراتینین سرم بود.

تغییرات حاصل از ایسکمی-بازخونرسانی آسیب‌های گسترده هیستوپاتولوژیکی را مانند واکوئله شدن سلول‌ها، ادم بینابینی، پرخونی، خونریزی، نکروز توبولی و تغییرات گلومرولی را نشان می‌دهد.

با استفاده ازشلغم به عنوان پیش درمان در حیواناتی که دچار آسیب ایسکمی باز خونرسانی شدند تغییرات و آسیب‌های بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیکی کاهش چشمگیری پیدا کرد. مقدار سرم کراتینین، ازت اوره خون و اسیداوریک نشان دهنده میزان فیلتراسیون گلومرولی هستند.

در این مطالعه میزان سرم کراتینین، ازت اوره خون و اسیداوریک در گروه ایسکمی-بازخونرسانی به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بودند. نتایج حاصل از آزمایشات ما نشان می‌دهد که پیش درمانی با شلغم افزایش ازت اوره خون، سرم کراتینین و اسیداوریک را که حاصل اسیب ایسکمی-بازخونرسانی است را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد همچنین ما به این نتیجه رسیدیم که اثر پیش درمانی شلغم در جلوگیری از اختلال عملکردی حاصل از ایسکمی-بازخونرسانی وابسته به دوز مصرفی شلغم می‌باشد.

نارسایی حاد کلیوی ایجاد شده توسط آسیب ایسکمی-بازخونرسانی با نشانه‌های هیستوپاتولوژیکی که از بافت کلیه به‌دست آمد آسیب گسترده توبول کلیوی، نکروز سلول‌های توبولی،آسیب گلومرولی، انسداد توبول کلیوی با لاشه‌های سلولی را برای ما نشان داد. بخش عمده‌ای از این اختلالات توبولی و گلومرولی در طول دوره برقراری مجدد جریان خون به دنبال انفجار اکسیداتیو رخ می دهد و مقدار زیادی گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود که یکی از عوامل مهم آسیب رسانی در آسیب ایسکمی-باز خونرسانی می‌باشند. گونه‌های فعال اکسیژن مسئول پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای بیولوژیکی هستند که در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شوند. حفاظت ایجاد شده توسط زدآینده‌های رادیکال‌های آزاد در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در طی آسیب ایسکمی-بازخونرسانی نشان می‌دهد که گونه‌های رادیکال آزاد در پاتوژنز سلول‌های دچار ایسکمی بازخونرسانی دخیل می‌باشند.

در مجموع مکانیسم اثر حافظتی شلغم در آسیب ایسکمی-بازخونرسانی کلیوی را می‌توان با فعالیت آنتی اکسیدانی آن توجیه کرد (٥). سیستم رنین- آنژیوتانسین یک نقش محوری را در تنظیم فشار خون ایفا می‌کند. رنین در تبدیل آنژیوتانسین به آنژیوتنسین I و آنژیوتنسین I به آنژیوتنسین II با کمک آنزیم مبدل آنژیوتانسین نقش دارد. شواهد جمع‌آوری شده نشان می‌دهد آنژیوتنسینII در تحریک تولید فرم‌های داخل سلولی

Archive of SID

www.SID.ir

گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید و هیدروژن پر اکسید که منجر به آسیب کلیوی می‌شود نقش دارد (١٤). مدت زمان تشکیل فرم‌های فعال اکسیژن یکی از عوامل مهم در ایجاد و کمک به به آسیب بازخونرسانی می‌باشد.

استرس‌های اکسیداتیو می‌تواند منجر به افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن یا کاهش توانایی مهار فرم‌های فعال اکسیژن گردد، بنابراین فرم‌های فعال اکسیژن متصل شده به اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای لیپیدی ممکن است در نتیجه پراکسیداسیون منجر به هم ریختگی ساختاری و عملکردی سلولی شود. پس از بازخونرسانی و باز اکسیژن رسانی عدم تعادل باز اکسیژن رسانی و عملکرد تنفسی در میتوکندری منجر به تولید نسل عظیمی آنیون سوپراکسید در میتوکندری می‌شود (٢٧).

تحت این شرایط سیستم دفاعی آنتی اکسیدان و آنزیم‌های آنتی اکسیدان راتشخیص می‌دهد اما نمی‌تواند از فرار گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری کند به خصوص در میتوکندری و همین‌طور نمی‌تواند از اثرات آنها در فضاهای داخل سلولی دیگر جلوگیری کند. بنابراین این آبشار حوادث به عنوان سیستم آسیب باز خونرسانی شناخته می‌شود.

این نظرات و آزمایشات نشان می‌دهد پیش درمانی با شلغم کلیه‌هایی که دچار ایسکمی-بازخونرسانی شده بودند را در برابر پراکسیداسیون لیپیدی محافظت می‌کند و کلیه‌ها را از افزایش شدید فرم‌های فعال اکسیژن و تخلیه سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز وگلوتاتیون پراکسیداز محافظت کرده و میزان گلوتاتیون را در موش‌هایی که کلیه‌هایشان در معرض ایسکمی-بازخونرسانی قرار دارد کاهش می‌دهد.

به هرحال، نتایج این مطالعه نشان داد که پیش درمانی با عصاره الکلی شلغم به میزان قابل توجهی از آسیب ایسکمی-بازخونرسانی کلیوی در موش‌های صحرایی کاهش داده و نقش محافظتی را انجام می‌دهد. در این مطالعه ما مشاهده کردیم که عصاره الکلی شلغم می‌تواند وضعیت شاخص‌های عملکردی آسیب کلیه و نیز خصوصیات بافتی و ساختاری این اندام را در موش‌های صحرایی که تحت آسیب ایسکمی-باز خونرسانی قرار گرفته‌اند، بهبود بخشد. لکن، شناخت دقیق ماده یا مواد موثر اصلی این محصول گیاهی، تعیین دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم‌های مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی آن در این مورد نیاز به مطالعات آتی دارد.

منابع

1. Barber, DA. and Harris, SR. (1994) Oxygen free radicals and antioxidants: a review. Am. Pharm. NS34, pp. 26–35.
2. Bennett, R.N., Rosa, E.A.S. Mellon, F.A. and Kroon, P.A. (2006) Ontogenic profiling of glucosinolates, flavonoids, and other secondary metabolites in Eruca sativa (salad rocket), Diplotaxis erucoides (wall rocket), Diplotaxis tenuifolia (wild rocket), and Bunias orientalis (Turkish rocket). J Agric Food Chem. 54(11):4005-4015.
3. Bhalodia, Y., Kanzariya, N., Patel, R., Patel, N., Vaghasiya, J., Jivani, N. and Raval, H. (2009) Renoprotective Activity of Benincasa Cerifera Fruit Extract on Ischemia/Reperfusion-Induced Renal Damage in Rat. IJKD. 3(2): 80-85.
4. Caraway, WT. (1955) Determination of uric acid in serum by carbonate method, Am. J. Clin. Pathol; 25: 840–845.
5. Cartea M.E. and Velasco, P. (2008) Glucosinolates in Brassica foods: bioavability in food and significance for human health.Phytochem. Rev. 7: 213-229.

Archive of SID
www.SID.ir

6. Cermak, R., Landgraf, S. and Wolffram, S. (2003) The bioavailability of quercetin in pigs depends on the glycoside moiety and on dietary factors. J Nutr. 133(9):2802-2807.
7. Choi HJ, Han MJ, Baek NI, Kim DH, Jung HG, Kim NJ. (2006) Hepatoprotective effects of Brassica rapa (Turnip) on d-Galactosamine induced liver injured rats. Kor J Pharmacogn. 37(4):258-65.
8. Cotran, SR., Kumar, V. and Robbins, LS. (1989) Robbins Pathologic Basis of Disease, W.B. Saunders Company, USA, 4th ed., pp:1-50.
9. Das, DK. and Maulik, N. (1994) Antioxidant effectiveness in ischemia–reperfusion tissue injury. Methods Enzymol. 233, pp. 601–610.
10. Duthie, G.G., Duthie, S.J. and Kyle, J.A.M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants'. *Nutrition Research Reviews*, vol 13, no. 1, pp. 79-106.
11. Fawcett, JK. and Scott, JE. (1960) A rapid and precise method for the determination of urea, J. Clin. Pathol 1960; 13: 156–159.
12. Frei, B. and Higdon, J. (2003) Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies, J Nutr 133:3275-3284.
13. Garcia-Criado, FJ., Eleno, N., Santos-Benito, F., Valdunciel, JJ., Reverte, M., Lozano-Sanchez, FS., Ludena, MP., Gomez-Alonso, A. and Lopez-Novoa, JM. (1998) Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia–reperfusion. Transplantation 66, pp. 982–990.
14. Gavras, HP, Salerno, CM. (1996) The angiotensin II type 1 receptor blocker losartan in clinical practice: a review. Clin Ther. 18:1058-67.
15. Hertog, M.G.L. (1996) Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. Proc Nutr Soc. 55: 385-397.
16. Hidehisa, K. and et al. (2002) Attenuation of renal ischemical reperfusion junury by FR167653 in dogs. Surgery; 131: 654-62.
17. Jung UJ, Baek NI, Chung HG, Bang MH, Jeong TS, Lee KT, Kang YJ, Lee MK, Kim HJ, Yeo J and Choi MS. (2008) Effects of the ethanol extract of the roots of Brassica rapa on glucose and lipid metabolism in C57BL/KsJ-db/db mice. Clinical Nutrition. 27(1):158-167.
18. Kapil, A. and Sharma, S (1995) Effect of oleanolic Acid on complement in Adjuvant and Carrageenan-induced Inflammation in Rats, J. Pharm. Pharmacol, 47, pp:585-587.
19. Kim YH, Kim YW, Oh YJ, Back NI, Chung SA, Chung HG, Jeong TS, Choi MS, Lee KT. (2006) Protective effect of the ethanol extract of the roots of Brassica rapa on cisplatin-induced nephrotoxicity in LLC-PK1 cells and rats. Biol Pharm Bull. 29(12):2436-41.
20. Lee, G. and Luna, HT. (1988) Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. Third Edition. The Blakiston Division Mc Graw. Hill Book Company, pp: 32- 107.
21. Llorach, R., Gil-Izquierdo, A., Ferreres, F. and Tomas-Barberan, F.A. (2003) HPLC-DAD-MS/MS ESI characterization of unusual highly glycosylated acylated flavonoids from cauliflower (Brassica oleracea L. var. botrytis) agroindustrial byproducts. J Agric Food Chem. 51(13):3895-3899.
22. McCord, JM. (1985) Mechanisms of disease: oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New Engl. J. Med. 312, pp. 159–163.
23. Mithen R, Faulkner K, Magrath R, Rose P, Williamson G, Marquez J. (2003) Development of isothiocyanate enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. Theor. Appl. Genet. 106:727. 106:727–734.
24. Paller, MS., Hoidal, JR. and Ferris, TF. (1984) Oxygen free radicals in ischemia acute renal failure in the rat. J. Clin. Invest. 74, pp. 1156–1164.
25. Rafatullah S, Al-Yahya M, Mossa J, Galal A, El-Tahir K. Preliminary Phytochemical and Hepatoprotective Studies on Turnip Brassica rapa L. International Journal of Pharmacology. 2(6): 670-73.
26. Rosa, E.A.S., Heaney, R.K., Fenwick G.R. and Portas, C.A.M. (2006) Glucosinolates in crop plants. *Horticult. Rev*. 19: 99-215.

Archive of SID

www.SID.ir

27. Sachse A, Wolf G. (2007) Angiotensin II-induced reactive oxygen species and the kidney. J Am Soc Nephrol.18:2439- 46.
28. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, JA. and Saura-Calixto, F. (1999) Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Res. Int., 32: 407-412.
29. Teitz, NW. (1987) Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia: NB Saunders Company. pp: 638.
30. Traka, M. and Mithen, R. (2008) Glucosinolates, isothiocyanates and human health. Phytochem. Rev. 8: 293.
31. Vallejo, F.A., Tomás-Barberán, F.A. and Ferreres, F. (2004) Characterisation of flavonols in broccoli (Brassica oleracea L. var. italica) by liquid chromatography-UV diode-array detection-electrospray ionization mass spectrometry. J. Chromatogr. 1054, 181–193.
32. Zhang Y, Kensler T W, Cho C G, Posner G H, and Talalay P. (1994) Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates. 91(8): 3147–3150.

Archive of SID

www.SID.ir