Archive of SID

An Investigation of the Impact of *Ginkgo biloba* L. Extracts in Decreasing t-BHP-Induced Hemolysis in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficient Erythrocytes

Karimi M[1], Foroughinia F[2*], Imanifard J[3], Zarshenas MM[4]

[1]Ph.D., Associate Professor, Hematology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[2]Ph.D., Assistant Professor, Department of clinical pharmacy, School of pharmacy, Shiraz University of medical sciences, Shiraz, Iran
[3]MSc., Instructor, Thalassemia and Hemophillia Genetic, PND Research Center, Dastgheib Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[4]Ph.D., Assistant Professor, Department of Phytopharmaceuticals (Traditional Pharmacy), School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Abstract

Background: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (G6PD) is the most common form of enzymopathy of red blood cells that has affected more than 400 million people worldwide. G6PD deficient erythrocytes show decreased levels of antioxidant capacity and they make one susceptible to chemical induced hemolysis such as drugs and oxidant food ingredients. To this end, antioxidants can play a pivotal role in the prevention of oxidative damage to the erythrocyte membrane in such patients. The present study was conducted with the aim of investigating the impact of Ginkgo biloba in preventing t-BHP-induced hemolysis in G6PD deficient patients.

Methods: Twenty-one male G6PD deficient patients all of whom had experienced at least one hemolytic attack were included in the study. To assess the property of Ginkgo biloba extract (EGb) to prevent hemolysis in G6PD deficient erythrocytes, tert-butyl hydroperoxide (t-BHP), an oxidant, was used to induce hemolysis. Different concentrations of EGb (100, 200, 300, 400 µg/ml) were used in this experiment.

Results: Erythrocytes incubated with t-BHP released 30.47±1.61% (mean ± SD) hemoglobin in the supernatant which decreased in the presence of EGb in the concentration dependent manner. Concentrations of 300 µg/ml and 400 µg/ml EGb showed significant reduction in hemolysis compared to the control group.

Discussion & Conclusion: Based on the results of this study, we propose that EGb may decrease chemical induced hemolysis and the following complications in G6PD deficient patients. Therefore, it may be possible to recommend Ginkgo supplement to these patients before exposure to oxidant agents.

Keywords: Ginkgo biloba extracts, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, t-BHP-induced hemolysis

Sadra Med Sci J 2020; 8(1): 29-38.
Received: Jul. 27th, 2019
Accepted: Jan. 21st, 2020

*Corresponding Author: **Foroughinia F.** Assistant Professor, Ph.D., Department of clinical pharmacy, School of pharmacy, Shiraz University of medical sciences, Shiraz, Iran, farzanehforoughinia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مجـــــله علـــــوم پزشکی صدرا
دوره ۸، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۸، صفحات ۲۹ تا ۳۸
تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۰۱ تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۰۵

مقاله پژوهشی
(Original Article)

بررسی اثر عصاره جینکو بیلوبا در کاهش همولیز القا شده توسط ماده اکسیدان t-BHP در گلبول‌های قرمز بیماران با کمبود آنزیم گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز

مهران کریمی[۱]، فرزانه فروغی نیا[۲*]، جابر ایمانی فرد[۳]، محمدمهدی زرشناس[۴]

[۱]دکتری، دانشیار، مرکز تحقیقات هماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
[۲]دکتری، استادیار، گروه داروسازی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
[۳]کارشناسی ارشد، مربی، مرکز تحقیقات تالاسمی و هموفیلی، بیمارستان دستغیب، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
[۴]دکتری، استادیار، گروه داروسازی سنتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

مقدمه: کمبود آنزیم گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز (G6PD)، یکی از شایع‌ترین اختلالات آنزیمی گلبول‌های قرمز خون است که بیش از ۴۰۰ میلیون نفر را در جهان درگیر کرده است. گلبول‌های قرمز با کمبود G6PD، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمی داشته و نسبت به همولیز ناشی از ترکیبات شیمیایی مانند داروها و مواد خوراکی اکسیدان مستعد می‌کند. بر این اساس، آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند نقشی حیاتی در پیشگیری از بروز آسیب اکسیداتیو به گلبول‌های قرمز در این بیماران بازی می‌کنند. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره جینکو بیلوبا در پیشگیری از همولیز گلبول‌های قرمز ناشی از تماس با ماده شیمیایی t-BHP در بیماران مبتلا به کمبود این آنزیم انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۲۱ بیمار مرد با تشخیص قطعی کمبود شدید آنزیم (G6PD) که همگی حداقل یک اپیزود حمله همولیتیک را تجربه کرده‌اند وارد مطالعه شدند. جهت القا همولیز نمونه خون بیماران در معرض t-BHP، ماده اکسیدان، قرار گرفت. در مرحله بعد غلظت‌های مختلف عصاره جینکو بیلوبا جهت بررسی پیشگیری از بروز همولیز گلبول‌های قرمز مورداستفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره جینکو بیلوبا موجب کاهش وابسته به غلظت همولیز گلبول‌های قرمز در معرض t-BHP می‌شود. غلظت‌های۳۰۰µg/m و۴۰۰µg/m عصاره جینکو بیلوبا منجر به کاهش قابل توجه در همولیز نسبت به گروه کنترل شدند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتیجه این مطالعه، عصاره جینکو بیلوبا می‌تواند باعث کاهش همولیز ناشی از ترکیبات اکسیدان در بیماران مبتلا به کمبود آنزیم G6PD و مشکلات ناشی از آن شود؛ بنابراین می‌توان به بیمار توصیه کرد که مکمل جینکو را قبل از تماس با مواد اکسیدان مصرف کند.

واژگان کلیدی: عصاره جینکوبیلوبا، ماده اکسیدانt-BHP ، کمبود آنزیم گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز، گلبول قرمز

*نویسنده مسئول: **فرزانه فروغی نیا**، دکتری، استادیار، گروه داروسازی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران،
farzanehforoughinia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کمبود آنزیم گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز (G6PD)، یکی از شایع‌ترین اختلالات آنزیمی گلبول‌های قرمز خون است که بیش از ۴۰۰ میلیون نفر را در جهان درگیر کرده است. گلبول‌های قرمز این بیماران در معرض ترکیبات اکسیدان دچار همولیز می‌شوند. این مسئله آن‌ها را نسبت به همولیز ناشی از مواد خوراکی مانند باقلا و داروهای اکسیدان مانند داروهای ضد مالاریا، ضد تب و مسکن مستعد می‌کند (۱).

گلوتاتیون یک آنتی‌اکسیدان داخل سلولی قوی است که از اکسیداسیون هموگلوبین به مت هموگلوبین جلوگیری می‌کند و نقش مهمی در محافظت گلبول‌های قرمز در برابر استرس اکسیداتیو بازی می‌کند. در داخل گلبول‌های قرمز مسیر هگزوز مونو فسفات با تأمین NADPH گلوتاتیون را به فرم احیا آن (GSH) نگه می‌دارد. آنزیم G6PD، آنزیم محدودکننده برای احیا NADP به NADPH می‌باشد، بنابراین در بیمارانی که کمبود این آنزیم را دارند مقدار کافی NADPH برای نگه‌داری گلوتاتیون در حالت احیا وجود ندارد. درنتیجه رادیکال‌های آزاد در داخل سلول تجمع یافته و هموگلوبین را به مت هموگلوبین اکسیده کرده و نهایتاً bodies heinz (تجمع هموگلوبین‌های دناتوره شده و رسوب یافته) در داخل گلبول‌های قرمز این بیماران تشکیل می‌شود (۱).

کمبود آنزیم G6PD یک بیماری شایع در مناطق مدیترانه‌ای، آفریقا و آسیای جنوب شرقی است. دو تا از شایع‌ترین انواع این بیماری عبارت‌اند از: ۱. نوع آفریقایی و ۲. نوع مدیترانه‌ای. نوع مدیترانه‌ای شدیدترین فرم بیماری است که با فعالیت پایین (برای مثال کمتر از ۱٪ فعالیت نرمال) آنزیم G6PD در ارتباط می‌باشد. در معرض ترکیبات اکسیداتیو خارجی، این بیماران در ریسک بروز آنمی همولیتیک حاد قرار می‌گیرند. همولیز حاد یک مشکل جدی در نوزادان به‌حساب می‌آید چراکه منجر به تولید مقادیر بسیار زیاد بیلی روبین غیرگانژوگه از گلبول‌های قرمز لیز شده می‌شود که می‌تواند از سد خونی-مغزی رد شده و باعث ایجاد عوارض جدی نورولوژی ازجمله عقب‌ماندگی ذهنی، ناشنوایی و حتی مرگ شود. همچنین هموگلوبین‌های آزاد شده از گلبول‌های لیز شده می‌توانند توبول های کلیوی را مسدود کرده و منجر به نارسایی کلیوی و حتی مرگ بیمار شود (۲ و ۳).

در حال حاضر، درمان خاصی برای بیماران مبتلا به کمبود آنزیم G6PD وجود ندارد و درمان محدود به قطع مواجهه با ترکیبات و داروهای اکسیدان می‌باشد. با توجه به مکانیسم حملات همولیز که با افزایش سطح آسیب اکسیداتیو و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی همراه می‌باشد، در مطالعات مختلف، اثر ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلف ازجمله ویتامین C و D در پیشگیری از حملات همولیتیک در این بیماران بررسی شده است (۴).

عصاره جینکو بیلوبا، یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب، توجه محققین زیادی را در درمان شرایط اکسیداتیو مختلف مانند سمیت کبدی ناشی از داروها، بیماری‌های نورودژنراتیو (۵) و بیماری‌های قلبی-عروقی (۶) به خود جلب کرده است. مشخص شده است که عصاره جینکو بیلوبا نقش پیشگیری‌کننده در گلبول‌های قرمز، مشابه سایر بافت‌ها، در مقابل آسیب اکسیداتیو دارد (۷). در یک مطالعه به نقش محافظتی عصاره جینکو بیلوبا در مقابل پراکسیداسیون لیپید القا شده توسط پراکسید هیدروژن در بیماران با کمبود آنزیم G6PD اشاره شده است (۸).

بیماری کمبود آنزیم G6PD در کشور ایران، شایع می‌باشد. در یک مطالعه مشخص شد که میزان بروز این بیماری ژنتیکی در بین نوزادان تازه متولد شده در پایتخت ایران، تهران، در حدود ۲/۱ درصد می‌باشد که درصد نسبتاً بالایی می‌باشد (۹). شیوع و بروز بالای این بیماری در کشور، بر اهمیت اسکرین کردن نوزادان تازه به دنیا آمده و یافتن راه‌کارهای درمانی جدید و مؤثر تأکید می‌کند. بر این اساس در این مطالعه، بر آن شدیم تا اثر پیش درمانی با عصاره جینکو بیلوبا در پیشگیری از همولیز

www.SID.ir

Archive of SID

گلبول‌های قرمز ناشی از تماس با ماده شیمیایی t-BHP در بیماران مبتلا به کمبود این آنزیم را بررسی کنیم.

مواد و روش

این پژوهش یک مطالعه آزمایشگاهی است که در آن ۲۱ بیمار با جنسیت مذکر مبتلا به کمبود آنزیم G6PD مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات خون دانشگاه علوم پزشکی شیراز در بازه زمانی فروردین ۸۷ تا تیر ۸۷ وارد این مطالعه شدند. تمامی این بیماران از نظر ابتلا به کمبود آنزیم G6PD مورد ارزیابی قرار گرفتند. علاوه بر گزارش سابقه پزشکی مثبت از این بیماری (تمامی بیماران قبلاً حداقل یک حمله همولیز را تجربه کرده‌اند)، با استفاده از کیت ارزیابی استاندارد شرکت کیمیا پژوهان، ابتلا به فرم شدید این بیماری تأیید شد. رنج سنی بیماران ۵ تا ۱۰ سال (میانگین،۱/۵۲ ± ۶/۷۵ سال) گزارش شد.

در زمان مطالعه، بیماران در شرایط باثبات بیماری قرار داشتند و حداقل یک ماه از آخرین حمله همولیز آن‌ها گذشته بود. قبل از انجام مطالعه، پژوهش برای بیماران توضیح و فرم رضایت آگاهانه توسط تمامی بیماران/ ولی بیماران پر شد. این مطالعه طرح مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز با کد ۳۸۷۸-۸۶ می‌باشد و بر اساس اصول کمیته اخلاق این دانشگاه انجام شده است.

عصاره جینکو بیلوبا مصرف شده در این مطالعه که بر اساس ۶۰ درصد ترپن و ۲۴ درصد فلاونویید استاندارد شده بود از شرکت Willmar Schwabe Pharmaceutical Industry (Karlsruhe, Germany) تهیه شد. سایر مواد از شرکت‌های Sigma (WGK. Germany) و Merck (Hohenrunn. Germany) خریداری شد و تمامی مواد شیمیایی استفاده‌شده در بالاترین درجه خلوص خود بودند.

نمونه خونی مورداستفاده از ورید antecubital گرفته شد و در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد. شمارش تعداد گلبول‌های سفید و میزان هموگلوبین با استفاده از دستگاه cell counter (Sysmex KX-21) انجام شد. نمونه‌های خونی در دور ۱۵۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانترفیوژ شدند. سپس، پلاسما به همراه بافی کت (buffy coat) را خارج کرده و حجم آن به‌طور دقیق اندازه‌گیری شد. گلبول‌های قرمز موجود در لوله سه بار با محلول نمک فسفات با خاصیت بافری (PBS) شستشو داده شده و سپس در ۱۳۸ mM سدیم کلراید (در ۱۰ mM بافر سدیم فسفات) با pH=۷/۴ معلق گردید. در ابتدا سلول‌های قرمز فشرده شده به حجم خون رسانده شدند و برای تهیه سوسپانسیون گلبول‌های قرمز با غلظت ۴۰۰×۱۰^{۶} cells/ml بافر مازاد اضافه گردید. قسمت‌های مساوی از این سوسپانسیون در معرض غلظت‌های متفاوت عصاره جینکو بیلوبا (به کمک PBS غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ µg/ml تهیه شد) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت و سپس در معرض t-BHP با غلظت ۰/۵ mM در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت قرار داده شد. همچنین حجم‌های یکسان از سوسپانسیون با بافر (به عنوان کنترل) و آب مقطر (به عنوان همولیز کامل) انکوبه شد. در پایان زمان انکوباسیون، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانترفیوژ شدند. میزان هموگلوبین در سوپرناتانت (supernatant) به وسیله اسپکتروفوتومتر Milton Roy با ثبت چگالی نوری (optical density) در طول موج ۵۴۰ nm تخمین زده شد. در ادامه درصد همولیز با تقسیم جذب خوانده شده از لوله‌های مطالعه بر میانگین عدد همولیز کامل القا شده توسط آب مقطر ضربدر عدد ۱۰۰ محاسبه شد. تمامی محلول‌های استفاده‌شده در مطالعه به‌طور تازه و در بافر تهیه شد (۱۰).

تست تعیین درصد همولیز برای هر نمونه سه بار انجام گردید. آنالیزهای آماری با برنامه نرم‌افزاری SPSS17 انجام شد. میانگین درصد همولیزها به کمک تست فریدمن (تست غیر پارامتری) مقایسه شدند. نتایج به صورت

www.SID.ir

Archive of SID

میانگین و انحراف معیار نشان داده شدند و حد معنی‌دار $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، درصد همولیز در نمونه کنترل ۱/۶۱ ±۳۰/۴۷ گزارش شد. درصد همولیز در نمونه‌های در معرض عصاره جینکوبیلوبا، میزان همولیز کمتری را نسبت به نمونه کنترل بر اساس یک شیب غلظت نشان دادند. تمام غلظت‌های این عصاره، کاهش قابل توجه از نظر آماری در درصد همولیز نسبت به نمونه کنترل ایجاد کردند به جز غلظت‌های ۱۰۰ µg/ml و ۲۰۰ µg/ml.

جدول ۱. درصد همولیز گلبول های قرمز بیماران با کمبود آنزیم گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز در حضور غلظت های مختلف عصاره جینکو بیلوبا

	غلظت های مختلف عصاره جینکو بیلوبا (µg/ml)							
	control	100	200	250	300	350	400	450
درصد همولیز	30.47 ± 1.61	14.77 ± 0.88	13.60 ± 1.06	12.46 ± 1.22	11.30 ± 1.04	10.32 ± 0.95	9.41 ± 1.12	8.65 ± 1.26
p-value	-	> 0.05	> 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

بحث

شیوع بالای بیماران مبتلا به کمبود آنزیم G6PD در کشور ایران که می‌تواند منجر به عواقب جدی و تهدیدکننده حیات در بیماران شود و همچنین عدم وجود درمان مناسب و کافی در این بیماران، محققین را بر این داشته تا به دنبال داروها و درمان‌های جدید برای این بیماری باشند. بر این اساس در این مطالعه، اثرات عصاره جینکو بیلوبا در پیشگیری از همولیز گلبول‌های قرمز بیماران با کمبود آنزیم G6PD در مواجهه با ماده اکسیدان t-BHP بررسی گردید.

مکانیسم دقیق لیز سلول‌ها در این بیماران به‌طور کامل مشخص نشده است ولی به‌طورکلی می‌توان آن را به دو دسته طبقه‌بندی کرد: ۱. آسیب مستقیم سلولی ۲. آسیب ناشی از تغییرات در تراوایی غشا سلولی (۱۱).

گلبول‌های قرمز دارای میزان زیاد لیپیدهای غیراشباع و ذخایر اکسیژن و فلزات واسط هستند که این مسئله این سلول‌ها را مستعد پراکسیداسیون لیپیدی می‌کند. در مقابل انواع مختلفی از رادیکال‌های آزاد مانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به دنبال واکنش گلبول‌های قرمز با مواد خارجی ایجاد می‌شود (۱۲). استرس‌های اکسیداتیو منجر به تخریب غشا لیپیدی دو لایه سلول و ایجاد تغییرات در خواص پروتئین‌های سلولی می‌شود؛ بنابراین هر ترکیبی که پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش دهد می‌تواند آسیب‌پذیری به گلبول‌های قرمز را افزایش داده و منجر به افزایش حساسیت آن‌ها به همولیز شود (۱۳).

سیستم‌های محافظتی متعددی در داخل بدن وجود دارند که موجب خنثی شدن استرس اکسیداتیو در داخل سلول‌ها می‌شوند ازجمله پروتئین‌هایی چون superoxide dismutase (SOD)، glutathione peroxidase (GPx)، کاتالاز و همچنین مولکول‌های

www.SID.ir

Archive of SID

مهارکننده رادیکال‌های آزاد مانند گلوتاتیون و ویتامین E (۱۲).

گلبول‌های قرمز بیماران با کمبود آنزیم G6PD توانایی کافی برای تخریب پراکسیدها را ندارند به همین دلیل به دنبال مواجهه با ترکیبات اکسیدان نمی‌توانند در برابر همولیز مقاومت کنند. مشخص شده است که مولکول NADPH مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان برای محافظت هموگلوبین در مقابل میزان زیاد پراکسید خارج سلولی که به صورت حاد در معرض گلبول‌های قرمز قرار می‌گیرد می‌باشد درحالی‌که در مولکول GSH جهت محافظت در برابر میزان کم پراکسید که به صورت مزمن در داخل سلول تولید می‌شود، مورد نیاز است (۱۴).

آقای Johnson و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که در بیماران با کمبود آنزیم G6PD، میزان کم GSH و نه آنزیم G6PD، با آسیب به پروتئین‌ها و عدم پایداری غشا سلول در ارتباط است (۱۵). همچنین مشخص شده است که آسیب اکسیداتیو غشا شاخص مهم‌تری برای بروز همولیز نسبت به تخریب هموگلوبین می‌باشد (۱۶).

جهت پیشگیری از ایجاد آسیب به غشا گلبول‌های قرمز، در مطالعات بالینی متعدد، ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلفی بررسی شده است اگرچه در خصوص کارایی این ترکیبات تناقض‌هایی وجود دارد.

توانایی آنتی‌اکسیدانی عصاره جینکو بیلوبا بر روی گلبول‌های قرمز و پلاکت‌های انسان‌های سالم و بیماران مبتلا به بیماری‌های کمبود آنزیم G6PD(۸ و ۱۷-۱۸) و بهجت (Behest) (۱۹) قبلاً در مطالعاتی بیان‌شده است. این خاصیت وابسته به دو مؤلفه دوز و مدت زمان انکوباسیون است. در مطالعه‌ای که جهت بررسی اثرات آنتی‌اکسیدان عصاره جینکو بیلویا در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی القا شده توسط پراکسید هیدروژن بر روی گلبول‌های قرمز سالم انجام شد مشخص شد که در دوزهای بالاتر و مدت زمان انکوباسیون بالاتر عصاره خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری دیده می‌شود (۱۷). در مطالعه دیگری اثرات آنتی‌اکسیدان عصاره جینکو بیلویا بر روی مهار لیز گلبول‌های قرمز سالم القا شده توسط پراکسید هیدروژن، با آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب (اسکوربیک اسید. اوریک اسید) و محلول در چربی (آلفا توکوفرول و رتینول استات) مقایسه شد. بر اساس نتایج این مطالعه، اثرات آنتی‌اکسیدانی این عصاره در حدود آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده مانند آلفا توکوفرول و اوریک اسید می‌باشد (۱۸).

در مطالعه‌ای که بر روی گلبول‌های قرمز بیماران بهجت انجام شد، عصاره جینکو بیلوبا، آسیب اکسیداتیو ناشی از تماس با پراکسید هیدروژن را به صورت وابسته به دوز کاهش داد (۱۹). در مطالعه دیگری که بر روی گلبول‌های قرمز بیماران مبتلا به کمبود آنزیم G6PD در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدان این عصاره در کاهش همولیز ناشی از مصرف پراکسید هیدروژن انجام شد، مشخص گردید که در شرایط استرس اکسیداتیو مصرف این عصاره می‌تواند باعث کاهش همولیز در این بیماران شود (۸). در مطالعه حاضر از ماده آنتی‌اکسیدان دیگری تحت عنوان t-BHP استفاده شد. نتایج این مطالعه همانند مطالعه پیشین اثرات وابسته به دوز عصاره جینکو بیلوبا در کاهش همولیز گلبول‌های قرمز در معرض ماده اکسیدان در بیماران با کمبود آنزیم G6PD را نشان داد.

اگرچه به اثرات سودمند آنتی‌اکسیدانی این عصاره در چندین مطالعه اشاره شده است، مکانیسم دقیق این اثرات هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. عصاره جینکو بیلوبا موجود در بازار بر اساس ۶٪ جز ترپنی و ۲۴٪ هتروزیدهای فلاونول (flavonol) استاندار شده است. اثرات آنتی اکسیدان این عصاره به دلیل دو جز گلیکوزیدهای فلاونوئیدی (از بین برنده رادیکال‌های سوپراکسید) و ترپونوئیدها ((terpenoids) از بین برنده رادیکال‌های هیدروکسیل) می‌باشد. همچنین این عصاره به

www.SID.ir

Archive of SID

صورت مستقیم و غیرمستقیم بر روی فعالیت آنزیم SOD اثر می‌گذارد و اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را نشان می‌دهد (۲۰). مشخص شده است که عصاره جینکو بیلوبا سیالیت غشا سلول‌های مغز و گلبول‌های قرمز که به ترکیبات لیپیدی غشا مربوط می‌شود را بهبود می‌بخشد. اسیدهای چرب غیراشباع چند باند (PUFAs) موجود در غشا در بهبود سیالیت غشا و پاسخ به آسیب اکسیداتیو نقش دارند و دیده شده است که عصاره جینکو بیلوبا به میزان قابل توجهی سطح این اسیدهای چرب را در غشا گلبول‌های قرمز افزایش می‌دهد که احتمالاً از طریق اثر بر روی سنتز و کاتابولیسم آن‌ها می‌باشد (۲۱)؛ بنابراین می‌توان گفت که در حضور عصاره جینکو بیلوبا، این افزایش در سطح PUFAs باعث تسریع ترمیم غشا در معرض اکسیدان‌ها و نگه داشتن عملکرد غشا در حد نرمال می‌شود. آخرین مکانیسم پیشنهادی برای این عصاره در کاهش همولیز در بیماران با کمبود آنزیم G6PD را می‌توان به اثرات تنظیم‌کنندگی این عصاره بر روی آنزیم heme oxygenase-1 (HO-1) نسبت داد. این عصاره باعث افزایش بیان ژن این آنزیم و همچنین فعالیت آن می‌شود (۲۲). بر اساس مطالعات، القا HO-1 می‌تواند ظرفیت تحمل سلول در مقابل بسیاری از استرس‌های اکسیداتیو را افزایش دهد (۱۹).

نتیجه‌گیری

با توجه به اثرات قابل توجه عصاره جینکو بیلوبا در کاهش همولیز گلبول‌های قرمز خون بیماران مبتلا به کمبود آنزیم G6PD که در محیط آزمایشگاه در معرض ماده اکسیدان t-BHP قرار گرفته بودند و با توجه به مکانیسم‌های گزارش شده برای این عصاره در جلوگیری از شرایط اکسیداتیو، می‌توان مصرف این ماده را قبل از تماس با مواد و شرایط اکسیدان به منظور پیشگیری از حملات همولیز در این بیماران پیشنهاد کرد. به منظور تأیید کارآمدی جینکو در این بیماران، انجام مطالعات کارآزمایی بالینی توصیه می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۳۸۷۸-۸۶ با عنوان «بررسی اثر عصاره جینکو بیلوبا در کاهش همولیز القا شده توسط ماده اکسیدان t-BHP در گلبول‌های قرمز بیماران با کمبود آنزیم گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز» که اعتبار آن توسط دانشگاه علوم پزشکی شیراز تأمین شده است، می‌باشد. لذا از تمامی کسانی که ما را در این راه یاری نموده‌اند تشکر می‌کنیم.

تضاد منافع

در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

منابع

1. Kasper D, Fauci F, Hauser S, Longo D, Jameson J.L, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine. 20rd Ed. McGraw-Hill, 2018.

2. Ko CH, Li K, Ng PC, Fung KP, Wong RP, Chui KM, et al. Pro-oxidative effects of Chinese herbal medicine on G6PD-deficient erythrocytes in vitro. Toxicol In Vitro. 2008; 22(5): 1222-7.

3. Balaka, B, Agbere, D, Bonkoungou, P,

www.SID.ir

Archive of SID

Dos Santos LF, Marques AC, Pedrazzoli J Jr, et al. Protective effects of chronic treatment with a standardized extract of Ginkgo biloba L. in the prefrontal cortex and dorsal hippocampus of middle-aged rats. Behav Brain Res. 2016; 313: 144-150.

8. Sarikçioğlu SB, Oner G, Tercan E. Antioxidant effect of EGb 761 on hydrogen peroxide-induced lipoperoxidation of G-6-PD deficient erythrocytes. Phytother Res. 2004;18(10): 837-40

9. Abolghasemi H, Mehrani H, Amid A. An update on the prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal jaundice in Tehran neonates. Clin Biochem. 2004; 37(3): 241-4.

10. Sharma S.C, Sharma S, Gulati O.P. Pycnogenol prevents haemolytic injury in G6PD deficient human erythrocytes. Phytother Res. 2003; 17(6): 671–674.

11. cruz-silva MM, Madeira VM, Almeida LM, Custódio JB. Hydroxytamoxifen interaction with human erythrocyte membrane and induction of permeabilization and subsequent hemolysis. Toxicol In Vitro. 2002;

Gnamey D, Kessie K, Assimadi K. Post-hemolytic renal failure in children with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency at the University Hospital Center in Lome. Med Trop (Mars). 2003; 63(2): 151–154.

4. Hafez M, Amar ES, Zedan M, Hammad H, Sorour AH, el-Desouky ES, et al. Improved erythrocyte survival with combined vitamin E and selenium therapy in children with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and mild chronic hemolysis. J Pediatr. 1986; 108(4): 558-61.

5. Li H, Sun X, Yu F, Xu L, Miu J, Xiao P. In Silico Investigation of the Pharmacological Mechanisms of Beneficial Effects of Ginkgo biloba L. on Alzheimer's Disease. Nutrients. 2018; 10(5). pii: E589.

6. Panda VS, Naik SR. Cardioprotective activity of Ginkgo biloba Phytosomes in isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats: a biochemical and histoarchitectural evaluation.ExpToxicolPathol. 2008; 60(4-5): 397-404.

7. Ribeiro ML, Moreira LM, Arçari DP,

www.SID.ir

Archive of SID

Protective effect of Ginkgo biloba extract (EGb 761). J Int Med Res.1995; 23(1): 1–8.

18. Shi C, Fang L, Yew DT, Yao Z, Xu J. Ginkgo biloba extract EGb761 protects against mitochondrial dysfunction in platelets and hippocampi in ovariectomized rats. Platelets. 2010; 21(1): 53-9.

19. Köse K, Doğan P, Aşçioğlu M, Aşçioğlu O. In vitro antioxidant effect of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on lipoperoxidation induced by hydrogen peroxide in erythrocytes of Behçet's patients. Jpn J Pharmacol. 1997; 75(3):253-8.

20. Ozkur MK, Bozkurt MS, Balabanli B, Aricioglu A, Ilter N, Gürer MA, et al. The effects of EGb 761 on lipid peroxide levels and superoxide dismutase activity in sunburn. Photodermatol Photoimmunol Photomed.2002;18(3): 117–120

21. Drieu K, Vranckx R, Benassayad C, Aricioglu A, Ilter N, Gürer MA, et al. Effect of the extract of Ginkgo biloba (EGb 761) on the circulating and cellular profiles of polyunsaturated fatty acids: correlation with the anti-oxidant properties of the extract. 15(6): 615-622.

12. Kuypers FA. Red cell membrane lipids in hemoglobinopathies. Curr Mol Med. 2008; 8(7):633-8.

13. Morabito R, Romano O, La Spada G, Marino A. H2O2-Induced Oxidative Stress Affects SO4= Transport in Human Erythrocytes. PLoS One. 2016; 11(1): e0146485.

14. Hochstein P. Perspective on hydrogen peroxide and drug-induced hemolytic anemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Free RadicBiol Med.1988; 5(5-6): 387-392.

15. Ingrosso D, Cimmino A, D'Angelo S, Alfinito F, Zappia V, Galletti P. Protein methylation as a marker of aspartate damage in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient erythrocytes: role of oxidative stress. Eur J Biochem. 2002; 269(8): 2032-9.

16. Dremza IK, Lapshina EA, Kujawa J, Zavodnik IB. Oxygen-related processes in red blood cells exposed to tert-butyl hydroperoxide. Redox Rep. 2006; 11(4): 185-92.

17. Kose K, Dogan P. Lipoperoxidation induced by hydrogen peroxide in human erythrocyte membranes. 1.

www.SID.ir

Archive of SID

upregulated by Ginkgo biloba extract: potential protection against ethanol-induced oxidative liver damage. Food ChemToxicol. 2007; 45(8):1333-42.

Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2000; 63(5): 293-300.

22. Yao P, Li K, Song F, Zhou S, Sun X, Zhang X, et al. Heme oxygenase-1

Cite this article as:
Karimi M, Foroughinia F, Imanifard J, Zarshenas MM. An Investigation of the Impact of *Ginkgo biloba* L. Extracts in Decreasing t-BHP-Induced Hemolysis in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficient Erythrocytes. Sadra Med Sci J 2020; 8(1): 29-38.

www.SID.ir