

بررسی اثر دریافت آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر سطح اسیداوریک سرم، بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و فعالیت کبدی آنزیم گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز در موش‌های صحرایی هایپراورسمیک

فاطمه حیدری*، محمدرضا رشیدی**، حمیدرضا حیدری***، مجید محمد شاهی****، دکتر سیدعلی کشاورز*****
* استادیار تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
** استاد شیمی دارویی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.
*** مربی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.
**** دانشجوی دکتری علوم تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.
***** استاد تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف

کنترل تولید اسیداوریک مهم‌ترین عامل پیشگیری‌کننده و درمان‌کننده هایپراورسمی است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر سطح اسیداوریک سرم، بیومارکرهای استرس اکسیداتیو (ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی و میزان پراکسیداسیون لیپیدی) و فعالیت کبدی آنزیم گزانتین اکسیداز/دهیدروژناز در موش صحرایی نرمال و هایپراورسمیک بود.

روش بررسی

۳۶ سر موش صحرایی نر از گونه ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۸۰ گرم، به شش گروه تقسیم شدند: (۱) نرمال، (۲) نرمال + آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)، (۳) نرمال + آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، (۴) هایپراورسمیک، (۵) هایپراورسمیک + آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)، (۶) هایپراورسمیک + آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم). ترکیبات مورد آزمایش، روزانه یک بار و به مدت ۱۴ روز به حیوانات گروه‌ها گاوژ گردید. برای ایجاد مدل حیوانی هایپراورسمیک، از تجویز داخل صفاقی پتاسیم اکسونات (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده شد.

یافته‌ها

سطح سرمی اسید اوریک در گروه‌هایپراورسمیک دریافت‌کننده آلبالو در پایان مداخله به طور معنی‌داری در یک الگوی وابسته به زمان کاهش یافت ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم‌های گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز بعد از انجام مداخله به طور معنی‌داری در هر دو گروه نرمال و هایپراورسمیک دریافت‌کننده آلبالو مهار شد ($P < 0.05$). دریافت آلبالو هم‌چنین موجب بهبود قابل ملاحظه بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در حیوانات مورد مطالعه گردید. با وجود آن‌که اثرات هایپراورسمیک آلپورینول در مقایسه با آلبالو بیشتر بود، ولی آلپورینول توانست بیومارکرهای استرس اکسیداتیو را به طور معنی‌داری تغییر دهد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه، می‌توان از این ماده غذایی غنی از پلی‌فنل به عنوان مکمل درمانی همراه با داروی آلپورینول برای کاهش عوارض جانبی آلپورینول در درمان هایپراورسمی و بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: پلی‌فنل‌ها؛ هایپراورسمی؛ گزانتین اکسیداز؛ استرس اکسیداتیو.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات علوم بهداشتی، تهران، ایران؛

تلفن: +۹۸-۲۱-۸۸۹۷۴۴۶۳ آدرس پست الکترونیکی: dr.ali.keshavarz@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۶/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۵/۲

www.SID.ir

مقدمه

هایپراوریسمی اختلال متابولیکی شایعی است که همراه با افزایش غیرطبیعی سطح سرمی اسید اوریک می‌باشد. این بیماری در ارتباط با بروز اختلال در مسیر متابولیسم پورین‌هاست و یکی از ریسک فاکتورهای مهم نقرس و بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو مثل سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی به شمار می‌رود (۱). بر اساس گزارش مطالعات اپیدمیولوژیک شیوع هایپراوریسمی در جوامع ۳۰-۵٪ می‌باشد (۲). کنترل تولید اسید اوریک مهم‌ترین عامل پیشگیری‌کننده و درمان‌کننده هایپراوریسمی است (۳). گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز کیدی، آنزیم کلیدی مسیر کاتابولیسم پورین‌هاست، واکنش اکسیداسیون هیپوگزانتین به گزانتین و گزانتین به اسید اوریک را کاتالیز می‌کند. فرم فعال آنزیم در شرایط فیزیولوژیک گزانتین دهیدروژناز است ولی در شرایط پاتولوژیک هم‌زمان با تجزیه ATP به آدنین و گزانتین، گزانتین دهیدروژناز به گزانتین اکسیداز تبدیل می‌شود. آنزیم اخیر هم‌زمان با تولید اسید اوریک منجر به تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و پراکسید می‌شود بنابراین گزانتین اکسیداز یکی از منابع عمده تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) محسوب می‌گردد (۴). داروی آلپورینول تنها مهارکننده این آنزیم است و موارد مصرف بالینی دارد؛ این دارو به عنوان مهم‌ترین داروی کاهشدهنده اسید اوریک در طی چهاردهه گذشته در درمان هایپراوریسمی و نقرس مورد استفاده بوده است. متأسفانه مصرف این دارو موجب بروز برخی اثرات جانبی مخرب مثل واکنش‌های آلرژیک، عدم تحمل گوارشی و اختلالات سیستم اعصاب مرکزی در بیماران می‌شود، لذا استفاده از آن در طب با محدودیت‌هایی رو به رو است (۱). با توجه به اثرات جانبی متعدد آلپورینول از سال‌ها پیش جستجو برای کشف عوامل درمانی جایگزین یا تکمیلی با منشأ گیاهی که دارای خاصیت درمانی بیشتر و عوارض جانبی کمتر باشند، توجه بسیاری از محققان را به خود معطوف داشته است. مطالعات *In Vitro* متعددی حاکی از اثرات مهارکنندگی برخی از فیتوکمیکال‌های موجود در مواد غذایی مثل پلی‌فنل‌ها بر فعالیت گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز می‌باشد (۷-۵). بنابراین درمان ترکیبی با استفاده از منابع غذایی غنی از پلی‌فنل و دوزهای پایین‌تر داروهای مورد استفاده به منظور به حداقل رساندن عوارض جانبی مخرب ناشی از آن‌ها، می‌تواند یکی از راهکارهای امیدبخش برای درمان هایپراوریسمی و عوارض مرتبط با آن باشد. آلبالو یکی از منابع غذایی غنی از پلی‌فنل می‌باشد. ترکیبات پلی‌فنلی موجود در آلبالو عمدتاً شامل آنتوسیانین‌ها است. آنتوسیانین‌ها از جمله مهم‌ترین ترکیبات پلی‌فنلی هستند که توزیع گسترده‌ای در طبیعت دارند و دارای طیف وسیعی از اثرات بیوشیمیایی و فارماکولوژیک می‌باشند (۸،۵). بر اساس مطالعات انجام یافته، مکانیسم اثرات بیولوژیک این ترکیبات مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی، توانایی پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و مهار فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیرهای متابولیکی است (۵،۶).

بر این اساس، هدف از تحقیق حاضر بررسی *In Vivo* اثر آلبالو به عنوان یک منبع غنی از آنتوسیانین در مقایسه با آلپورینول بر سطح سرمی اسید اوریک، بیومارکرهای استرس اکسیداتیو (ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی و میزان پراکسیداسیون لیپیدی) و فعالیت کیدی آنزیم گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز در موش صحرایی نرمال و هایپراوریسمیک می‌باشد.

روش بررسی

مواد: پتاسیم اکسونات، گزانتین، نیکوتین، آمیدآدنین دی‌نوکلئوتید (NAD⁺)، اسید اوریک، آلپورینول، تتراآتوکسی پروپان، تری کلرواستیک اسید، تیوباربتوریک اسید، ۶-مرکاتوپورین، کیت Bicinchoninic Acid و کیت FRAP از شرکت Sigma (Steinheim, Germany) خریداری شد. حلال‌های مورد استفاده در سیستم HPLC از شرکت (Darmstadt, Germany) Merk تهیه گردید.

حیوانات: موش‌های صحرایی نر آلبینو از گونه ویستار، با محدوده وزنی ۱۸۰-۲۰۰ گرم در گروه‌های شش تایی در قفس‌های استاندارد، در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی در دمای معمول آزمایشگاه (۳ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند و تا زمان انجام آزمایش آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند.

نحوه هایپراوریسمیک کردن موش‌های صحرایی: به منظور ایجاد مدل حیوانی هایپراوریسمیک از مهارکننده آنزیم اوریکاز یعنی پتاسیم اکسونات استفاده شد. مطابق روش در ابتدا پتاسیم اکسونات با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۰/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین ۰/۹٪ حل شد و سپس داروی مذکور به صورت تزریق داخل صفاقی یک بار در روز و دقیقاً یک ساعت قبل از گاوژ ماده غذایی مورد آزمایش در روزهای اول، هفتم و چهاردهم به حیوانات تزریق گردید (۹).

طراحی مطالعه: حیوانات مورد مطالعه به طور تصادفی به شش گروه شش تایی شامل گروه یک: نرمال؛ گروه ۲: نرمال+آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)؛ گروه ۳: نرمال+آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)؛ گروه ۴: هایپراوریسمیک؛ گروه ۵: هایپراوریسمیک+آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)؛ گروه ۶: هایپراوریسمیک+آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. ترکیبات مورد آزمایش روزانه یک بار و به مدت ۱۴ روز به حیوانات گروه‌های فوق گاوژ گردید.

آماده‌سازی نمونه‌های سرم و کبد: قبل از شروع مداخلات و هم‌چنین در طی روزهای اول و هفتم و چهاردهم مداخله، یک ساعت بعد از گاوژ ترکیب مورد آزمایش از همه گروه‌های مورد مطالعه یک نمونه خون گرفته شد. خون‌گیری با چیدن ۰/۵ سانتی‌متر انتهایی دم موش انجام گرفت. نمونه‌های خونی در میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتر جمع‌آوری و به منظور ایجاد لخته به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شد، سپس در سانتریفوژ ۶۰۰۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید تا سرم به دست آید. نمونه‌های سرم تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در پایان دوره مداخله حیوانات به وسیله اتر بیهوش گردیده و کبد آن‌ها با باز نمودن حفره شکمی بلافاصله خارج و سپس با محلول نرمال سالین ۰/۹٪ شستشو داده شد. پس از جدا نمودن صفرا و لایه‌های چربی، کبد باقی‌مانده توزین و به صورت تکه‌های کوچک خرد و سپس ۵ حجم بافر سدیم پیروفسفات mM ۸۰ (pH=۷/۴) به آن اضافه و با استفاده از دستگاه هموژنایزر هموژنیزه گردید. مخلوط هموژن شده سپس با استفاده از سانتریفوژ یخچال‌دار در ۶۰۰۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. لایه لیپیدی به‌دقت حذف و فراکسیون شناور باقی‌مانده مجدداً در ۱۲۰۰۰ گرم به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید (۹). محلول شناور بالایی که محتوی فراکسیون کیدی می‌باشد برای ارزیابی فعالیت آنزیم گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز کیدی تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

یافته‌ها

همان‌گونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود تجویز خوراکی آلبالو به مدت ۱۴ روز موجب کاهش معنی‌دار سطح اسیداوریک سرم در گروه هایپراوریسمیک گردید ($P < 0.05$)، ولی در گروه‌های نرمال کاهش مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$) در مقابل، تجویز آلپورینول پس از ۱۴ روز توانست سطح سرمی اسیداوریک را به طور معنی‌داری هم در موش‌های صحرایی نرمال ($P < 0.01$) و هم در موش‌های صحرایی هایپراوریسمیک ($P < 0.01$) کاهش دهد. نتایج هم‌چنین نشان می‌دهد که اثر هایپراوریسمیک آلبالو در موش‌های صحرایی هایپراوریسمیک وابسته به زمان بود.

جدول شماره ۱: اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر سطح اسیداوریک سرم موش‌های صحرایی نرمال و هایپراوریسمیک

گروه	غلظت اسیداوریک سرم میلی‌گرم بر دسی‌لیتر		
	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
نرمال	۱/۶۵±۰/۲۶ ^{###}	۱/۶۲±۰/۲۳ ^{###}	۱/۶۸±۰/۲۹ ^{###}
نرمال+آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)	۱/۵۲±۰/۲۱ ^{###}	۱/۵۵±۰/۲۵ ^{###}	۱/۶۰±۰/۳۰ ^{###}
نرمال+آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱/۵۲±۰/۳۳ ^{###}	۱/۳۷±۰/۱۸ ^{###}	۰/۸۹±۰/۴۱ ^{###}
هایپراوریسمیک (کنترل بیمار)	۳/۴۹±۰/۵۶ ^{###}	۳/۵۴±۰/۵۸ ^{###}	۳/۶۱±۰/۴۴ ^{###}
هایپراوریسمیک+آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)	۳/۴۶±۰/۷۱ ^{###}	۳/۱۱±۰/۵۲ ^{###}	۲/۸۹±۰/۴۳ ^{###}
هایپراوریسمیک+آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲/۴۹±۰/۲۳ ^{###}	۱/۹۲±۰/۲۳ ^{###}	۱/۲۲±۰/۲۲ ^{###}

داده‌ها به صورت Mean ± SD بیان شده اند (n=۶). * معادل ($P < 0.05$), ** معادل ($P < 0.01$), *** معادل ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه نرمال و # معادل ($P < 0.05$), ## معادل ($P < 0.01$), ### معادل ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه هایپراوریسمیک می‌باشد.

اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر فعالیت آنزیم گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز کبدی پس از چهارده روز در جدول شماره ۲ خلاصه شده است.

جدول شماره ۲: اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر فعالیت کبدی آنزیم گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز موش‌های صحرایی نرمال و هایپراوریسمیک

گروه	فعالیت آنزیمی (IU/mg protein)			درصد مهار (%)
	گزانتین اکسیداز	گزانتین	گزانتین دهیدروژناز	
نرمال	۲/۵۰±۰/۶۳	۳/۸۰±۰/۳۸	-	-
نرمال+آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)	۲/۱۷±۰/۶۸	۲/۹۵±۰/۴۹ ^{**}	۱۳/۲۰	۲۲/۳۶
نرمال+آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱/۱۷±۰/۲۸ ^{###}	۱/۴۷±۰/۴۰ ^{###}	۵۳/۲۰	۶۱/۳۱
هایپراوریسمیک (کنترل بیمار)	۲/۴۹±۰/۵۲	۳/۸۲±۰/۶۲	-	-
هایپراوریسمیک+آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم)	۱/۹۹±۰/۱۵ [#]	۲/۶۹±۰/۳۲ ^{###}	۲۰/۰۸	۲۹/۵۸
هایپراوریسمیک+آلپورینول (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱/۰۵±۰/۱۸ ^{###}	۱/۲۷±۰/۳۳ ^{###}	۵۷/۸۳	۶۶/۷۵

داده‌ها به صورت Mean ± SD بیان شده‌اند (n=۶). * معادل ($P < 0.05$), ** معادل ($P < 0.01$), *** معادل ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه نرمال و # معادل ($P < 0.05$), ## معادل ($P < 0.01$), ### معادل ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه هایپراوریسمیک می‌باشد.

نتایج نشان می‌دهد که در گروه‌های نرمال دریافت‌کننده آلبالو، فعالیت گزانتین دهیدروژناز به طور معنی‌داری کاهش یافت [۲۲/۳۶% ($P < 0.01$)]. ولی کاهش مشاهده شده در فعالیت گزانتین اکسیداز در این گروه

اندازه‌گیری سطح اسیداوریک سرم: مقادیر اسیداوریک نمونه‌های سرم در روز اول، هفتم و چهاردهم مداخله (چهار مرحله) به روش HPLC و با استفاده از ستون C₁₈ column {250*4.6 mm} Perfectsil Target ODS-3 (5Mμ), و با استفاده از فاز متحرک ۹۷:۳ {Methanol:KH₂PO₄ (10 mili molar)} و با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر می‌نیم و با استفاده از UV دکتور در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۷). به عنوان استاندارد داخلی (Internal Standard) از ۶-مرکاپتوپورین با غلظت ۵۰ میکرومتر استفاده شد. مقادیر مربوطه به صورت میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گزارش گردید. پروتئین نمونه‌های سرمی قبل از تزریق به سیستم HPLC به کمک متانول رسوب داده شد.

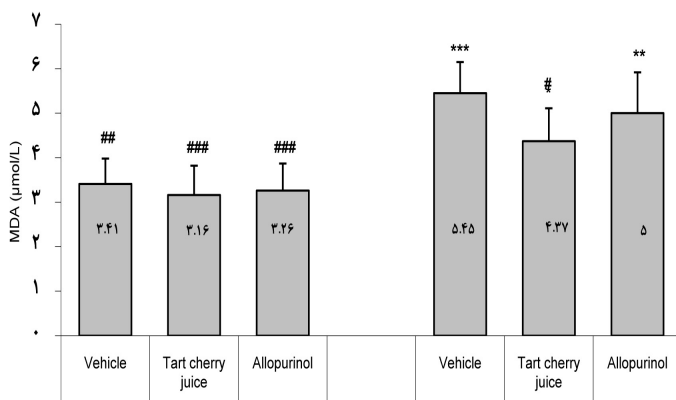
ارزیابی فعالیت آنزیم گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز کبدی: فعالیت آنزیم گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز کبدی به وسیله کنترل تشکیل اسیداوریک با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری ارزیابی گردید. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات ۵۰ میکرومتر (pH=۷/۵) و ۱۰۰ میکرولیتر هموژن کبدی بود. برای ارزیابی فعالیت گزانتین دهیدروژناز، ۲۰۰ میکرومتر NAD⁺ نیز به محیط اضافه شد. بعد از آنکوباسیون اولیه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر گزانتین میکرومتر ۵۰ شروع گردید و بعد از ۱۰ دقیقه واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک (۰/۶M) متوقف گردید. سپس جذب محلول در ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر UV اندازه‌گیری شد (۹). فعالیت آنزیم به صورت protein-nmol/min/mg (protein IU/mg) بیان و هر آزمایش ۲ بار انجام شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین فراکسیون کبدی: با توجه به آن‌که اندازه‌گیری پروتئین برای گزارش فعالیت آنزیم در میلی‌گرم پروتئین هموژن کبدی لازم است، لذا غلظت پروتئین فراکسیون کبدی با استفاده از کیت Pierce Bicininic Acid (BCA) و روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۶۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۰).

ارزیابی ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی سرم: برای ارزیابی ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی از کیت Ability of Plasma FRAP (Ferric Reducing) و روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۹۳ نانومتر استفاده شد (۱۱). در این روش از سولفات فرو به عنوان استاندارد استفاده گردید. ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی سرم بر حسب میکرومتر بیان شد.

ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی: جهت ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی، سطح مالون دی‌آلدئید سرم به عنوان مهم‌ترین شاخص پراکسیداسیون لیپیدی به روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۲). غلظت مالون دی‌آلدئید بر حسب میکرومتر گزارش شد. برای رسم منحنی استاندارد از مالون دی‌آلدئید استاندارد استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: کلیه داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و تفاوت‌های موجود بین هر یک از گروه‌های مداخله (تحت درمان با آلبالو و آلپورینول) با گروه نرمال و گروه هایپراوریسمیک (کنترل بیمار) با آزمون آماری Sample T-Test Independent بررسی شدند. مقادیر ($P < 0.05$) معنی‌دار تلقی گردید.



نمودار شماره ۲: اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر غلظت

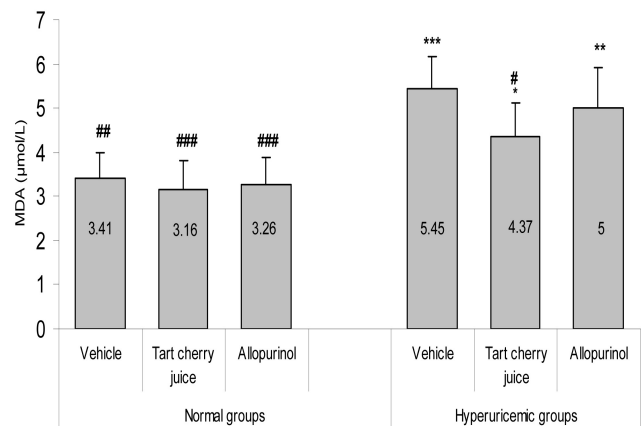
مالون دی آلدئید سرم پس از ۱۴ روز

داده‌ها به صورت $Mean \pm SD$ بیان شده‌اند (n=۶). * معادل (P<۰/۰۵)، ** معادل (P<۰/۰۱)، *** معادل (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه نرمال؛ # معادل (P<۰/۰۵)، ## معادل (P<۰/۰۱)، ### معادل (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه هایپرواوریسیمیک می‌باشد.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که تجویز خوراکی آلبالو (۵ گرم بر کیلوگرم) اثر هایپواوریسیمیک قابل ملاحظه‌ای در Vivo دارد. شدت اثر کاهش‌دهندگی اسیداوریک در گروه هایپرواوریسیمیک درمان شونده با آلبالو بیشتر از گروه نرمال بود. Kong و همکاران نیز نشان دادند که عصاره آبی Ermiao Wan (نوعی گیاه دارویی که در چین برای درمان بیماری نقرس به کار می‌رود) و آلپورینول در گروه‌های نرمال اثر کمتری بر کاهش سطح اسیداوریک در مقایسه با گروه‌های هایپرواوریسیمیک داشت (۱۳). مقایسه اثرات هایپواوریسیمیک آلپورینول به عنوان مهم‌ترین داروی کاهش‌دهنده اسیداوریک با آلبالو نشان می‌دهد که هم در گروه نرمال و هم در گروه هایپرواوریسیمیک اثر آلپورینول در مقایسه با آلبالو بیشتر است. همان طور که در جدول شماره ۱ نشان داده شد در گروه نرمال دریافت آلبالو به مدت ۱۴ روز تغییری در سطح سرمی اسیداوریک ایجاد نکرد. هم‌چنین در گروه هایپرواوریسیمیک تحت درمان با آلبالو نیز هر چند اثر هایپواوریسیمیک مشاهده گردیده، پس از ۱۴ روز معنی‌دار بود، ولی در مقایسه با اثر هایپواوریسیمیک آلپورینول شدت کمتری داشت؛ به طوری که آلپورینول توانست در طی مدت مشابه سطح سرمی اسیداوریک را در هر دو گروه هایپرواوریسیمیک و نرمال به کمتر از حد نرمال کاهش دهد. عدم بروز اثر هایپواوریسیمیک آلبالو در گروه نرمال را می‌توان یک مزیت برای این ماده غذایی غنی از پلی‌فنل به‌شمار آورد. زیرا همان طور که می‌دانیم اسیداوریک دارای فعالیت دوگانه پرواکسیدانی/آنتی‌اکسیدانی است و هر چند که افزایش سطح سرمی اسیداوریک موجب هایپرواوریسیمی و پیامدهای اکسیداتیو ناشی از آن می‌شود (۱۴)، ولی در عین حال اثرات آنتی‌اکسیدانی آن و مخصوصاً جلوگیری از آسیب‌دیدگی مولکول‌های اسیدهای نوکلئیک نیز به خوبی ثابت شده است (۱۵). از سوی دیگر همان طور که در جدول شماره

از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) در مقابل آلپورینول توانست به طور معنی‌داری فعالیت هر دو آنزیم فوق را در موش‌های صحرایی نرمال مهار کند [به ترتیب ۶۱/۳۱٪ (P<۰/۰۰۱) و ۵۳/۲۰٪ (P<۰/۰۰۱)]. در گروه‌های هایپرواوریسیمیک درمان‌شونده با آلبالو نیز کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های گزانتین دهیدروژناز و گزانتین اکسیداز در مقایسه با گروه هایپرواوریسیمیک (کنترل بیمار) مشاهده گردید. درصد مهار آنزیم‌های فوق در این گروه به ترتیب ۲۹/۵۸٪ (P<۰/۰۱) و ۲۰/۰۸٪ (P<۰/۰۵) بود. در گروه هایپرواوریسیمیک تحت درمان با آلپورینول فعالیت آنزیم‌های گزانتین دهیدروژناز و گزانتین اکسیداز در پایان مطالعه به ترتیب ۶۶/۷۵٪ (P<۰/۰۰۱) و ۵۷/۸۳٪ (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل بیمار کاهش یافت. در نمودار شماره ۱ اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی سرم نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌گردد. دریافت آلبالو موجب افزایش معنی‌دار ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی سرم در گروه‌های نرمال و هایپرواوریسیمیک شد (P<۰/۰۵) در مقابل، اثر دریافت آلپورینول بر افزایش ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی سرم در هیچ یک از گروه‌ها معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).



نمودار شماره ۱: اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر ظرفیت

توتال آنتی‌اکسیدانی سرم پس از ۱۴ روز

داده‌ها به صورت $Mean \pm SD$ بیان شده‌اند (n=۶). * معادل (P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه نرمال؛ # معادل (P<۰/۰۵)، ## معادل (P<۰/۰۱) و ### معادل (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه هایپرواوریسیمیک می‌باشد.

اثر تجویز خوراکی آلبالو در مقایسه با آلپورینول بر سطح مالون دی‌آلدئید سرم پس از ۱۴ روز در نمودار شماره ۲ خلاصه شده است. همان طور که نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد سطح سرمی مالون دی‌آلدئید، به عنوان بیومارکر پراکسیداسیون لیپیدی، در گروه کنترل بیمار به طور معنی‌داری بالاتر از سطح سرمی آن در گروه نرمال بود (P<۰/۰۰۱). آلبالو موجب کاهش معنی‌دار سطوح مالون دی‌آلدئید در گروه هایپرواوریسیمیک دریافت‌کننده آلبالو شد (P<۰/۰۵)، ولی نتوانست مقادیر آن را به حد نرمال برساند. در گروه نرمال کاهش معنی‌داری در سطوح مالون دی‌آلدئید پس از دریافت آلبالو مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

یکی از منابع مهم تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد. این مسأله به درک ارتباط مثبت میان هایپراوریسمی و بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو کمک می‌کند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز خوراکی آلبالو اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای در Vivo در دپ دارد؛ به طوری که توانست به طور معنی‌داری ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی سرم را افزایش و سطح پراکسیداسیون لیپیدی (غلظت مالون دی‌آلدئید) سرم را کاهش دهد. اثرات آنتی‌اکسیدانی آلبالو را می‌توان به حضور ترکیبات پلی‌فنلی موجود در آن نسبت داد. مطالعات متعدد نشان می‌دهند که ترکیبات پلی‌فنلی موجود در منابع گیاهی به دلیل دارا بودن عوامل هیدروکسیل متعدد در ساختمانشان، توانایی خنثی کردن رادیکال‌های اکسیژن آزاد و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو در In Vitro و In Vivo دارند و می‌توانند تغییرات اکسیداتیو ناشی از هایپراوریسمی را متوقف نمایند (۸۵). بر خلاف آلبالو، درمان با آلوپورینول نتوانست به طور معنی‌داری بیومارکرهای استرس اکسیداتیو را در حیوانات مورد مطالعه بهبود بخشد. با این حال Lee و همکاران گزارش کردند که مهار آنزیم گزانتین اکسیداز به وسیله آلوپورینول می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب‌های کبدی مرتبط با آن را کاهش دهد (۱۹). به نظر می‌رسد تفاوت مشاهده شده در نتایج به علت استفاده از دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوپورینول در مطالعه Lee و همکاران در مقایسه با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوپورینول در مطالعه حاضر باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده و با در نظر گرفتن این‌که آلبالو به عنوان یکی از منابع غذایی غنی از ترکیبات پلی‌فنلی می‌تواند بدون داشتن عوارض جانبی در دراز مدت مورد استفاده قرار گیرد، می‌تواند در آینده از کنستانتتره‌های آن و مکمل‌های حاوی ترکیبات پلی‌فنلی (به خصوص آنتوسیانین‌ها) به عنوان آلترناتیو احتمالی برای آلوپورینول یا حداقل در ترکیب با آلوپورینول برای به حداقل رساندن عوارض جانبی ناشی از آن بهره برد. بدیهی است لزوم تحقیقات وسیع‌تر در مورد بررسی کینتیک پلاسمایی، تعیین دوز اپتیمم و سایر اثرات بیولوژیک این ترکیبات در نمونه‌های انسانی به چشم می‌خورد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران به جهت تأمین هزینه‌های مالی این پژوهش و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به جهت همکاری‌های علمی و تکنیکی سپاسگزاری می‌نمایند. این پژوهش در بهار سال ۱۳۸۷ در دانشگاه علوم پزشکی تهران و با همکاری دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده است.

۱ مشاهده می‌گردد، الگوی تغییرات سطح اسیداوریک سرم در گروه هایپراوریسمیک درمان شونده با آلبالو وابسته به زمان بود. به این ترتیب که در این گروه کاهش سطح اسید اوریک در روز اول و هفتم مداخله معنی‌دار نیست، ولی در روز چهاردهم مداخله، کاهش مشاهده شده از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$) این در حالی است که اثر هایپراوریسمیک آلوپورینول در موش‌های صحرایی هایپراوریسمیک حتی در روز اول مداخله معنی‌دار بود و حاکی از اثر هایپراوریسمیک مستقل از زمان و شروع سریع‌تر اثر آلوپورینول در مقایسه با آلبالو می‌باشد. در تحقیق حاضر اثر مهارکنندگی دریافت آلبالو بر فعالیت آنزیم‌های گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز در شرایط In Vivo مورد تأیید قرار گرفت. گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز از جمله مهم‌ترین آنزیم‌های شرکت‌کننده در کاتابولیسم پورین‌هاست که در تولید اندوژن اسیداوریک نقش به‌سزایی دارد. ترکیبات پلی‌فنلی موجود در آلبالو به دلیل ساختمان‌های شیمیایی مسطح و حضور عوامل هیدروکسیل متعدد در ساختارشان قادرند با جایگاه فعال آنزیم مذکور برهم‌کنش و موجب مهار فعالیت آن گردند (۶،۲). بنابراین بخش عمده‌ای از اثر هایپراوریسمیک ناشی از آلبالو در مطالعه حاضر را می‌توان به اثر مهاری آن‌ها بر فعالیت گزانتین اکسیداز/گزانتین دهیدروژناز نسبت داد. در هر حال، اثر مهاری آلوپورینول، به عنوان مهم‌ترین مهارکننده آنزیم گزانتین اکسیداز، قوی‌تر از اثرات مهاری آلبالو بر فعالیت آنزیم‌های مذکور می‌باشد. Zhao و همکاران در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ در مورد اثرات هایپراوریسمیک Cassia Oil انجام دادند، نتایج مشابهی گزارش کردند (۱۶). بر اساس مطالعات انجام یافته مکانیسم‌های دیگری هم‌چون افزایش کلرانس اسیداوریک و یا مهار دیگر آنزیم‌های متابولیسم‌کننده پورین‌ها ممکن است در ایجاد بخشی از اثر هایپراوریسمیک مشاهده شده آلبالو نقش داشته باشد (۱۸-۱۶). از سوی دیگر در این تحقیق وضعیت هایپراوریسمی در ارتباط با افزایش سطح استرس اکسیداتیو بود؛ به طوری که سطح اسیداوریک با غلظت مالون دی‌آلدئید ارتباط مثبت ($R = 0.542, P = 0.000$) و با سطح توتال آنتی‌اکسیدانی ارتباط منفی ($R = -0.141, P = 0.046$) داشت. تصور می‌شود کاهش مشاهده شده در ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدانی سرم و افزایش مشخص گردیده در سطح مالون دی‌آلدئید سرم در گروه کنترل بیمار نسبت به گروه نرمال مربوط به تزریق داخل صفاقی پتاسیم اکسونات می‌باشد. این ترکیب موجب مهار انتخابی آنزیم اوریکاز و در نتیجه افزایش سطح اسیداوریک می‌گردد (۹). افزایش تولید اسیداوریک در شرایط پاتولوژیک به دلیل افزایش تبدیل فرم گزانتین دهیدروژناز به فرم گزانتین اکسیداز، در ارتباط با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد که این مسأله نقش مهمی در پیشرفت استرس اکسیداتیو دارد (۱۴). اخیراً ثابت شده است که گزانتین اکسیداز

References:

1. Strazzullo P, Puig JG. Uric Acid and Oxidative Stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007;17(6):409-414.
2. Mo SF, Zhou F, Lv YZ, Hu QH, Zhang DM, Kong LD. Hypouricemic Action of Selected Flavonoids in Mice: Structure-Activity Relationships. *Biol Pharm Bull* 2007;30(8):1551-1556.
3. Liote F. Hyperuricemia and Gout. *Curr Rheumatol Rep* 2003;5:227-234.
4. Maia L, Duarte RO, Freire AP, Moura JJG, Mira L. NADH Oxidase Activity of Rat and Human Liver Xanthine Oxidoreductase: Potent Role in Superoxide Production. *J Biol Inorg Chem* 2007;12:777-787.
5. Potapovich AI, Kostyuk VA. Comparative Study of Antioxidant Properties and Cytoprotective Activity of Flavonoids. *Biochemistry* 2003;68(5):514-519.
6. Lin CM, Chen CS, Chen CT, Liang YC, Lin JK. Molecular Modeling of Flavonoids That Inhibits XO. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;294(1):167-172.
7. Nguyen MTT, Awale S, Tezuka Y, Tran QL, Watanabe H, Kadota S. Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Vietnamese Medicinal Plants. *Biol Pharm Bull* 2004;27(9):1414-1421.
8. Kinoshita T, Lepp Z, Kawai Y, Terao J, Chuman H. An Integrated Database of Flavonoids. *Biofactors* 2006;26(3):179-188.
9. Hall IH, Scoville JP, Reynolds DJ, Simlot R, Duncan P. Substituted Cyclic Imides as Potential Anti-Gout Agents. *Life Sci* 1990;46(26):1923-1927.
10. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of Protein Using Bicinchoninic Acid. *Anal Biochem* 1985;150(1):76-85.
11. Benzie IF, Strain JJ. Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: the FRAP Assay. *Anal Biochem* 1996;239:70-76.
12. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid Peroxidation in Maternal and Cord Blood and Protective Mechanism Against Activated-Oxygen Toxicity in the Blood. *Am J Obst Gynecol* 1979;135(3):372-376.
13. Kong LD, Yang C, Ge F, Wang HD, Song Guo Y. A Chinese Herbal Medicine Ermiao Wan Reduces Serum Uric Acid Level and Inhibits Liver Xanthine Dehydrogenase and Xanthine Oxidase in Mice. *J Ethnopharmacol* 2004;93(2-3):325-330.
14. Nuki G. Gout. *Medicine* 2006;34(10):417-423.
15. Stinefelt B, Leonard SS, Blemings KP, Shi X, Klandorf H. Free Radical Scavenging, DNA Protection, and Inhibition of Lipid Peroxidation Mediated by Uric Acid. *Ann Clin Lab Sci* 2005;35(1):37-45.
16. Zhao X, Zhu JX, Mo SF, Pan Y, Kong LD. Effects of Cassia Oil on Serum and Hepatic Uric Acid Levels in Oxonate-Induced Mice and Xanthine Dehydrogenase and Xanthine Oxidase Activities in Mouse Liver. *J Ethnopharmacol* 2006;103(3):357-365.
17. Wang Y, Zhu JX, Kong LD, Yang C, Cheng CHK, Zhang X. Administration of Procyanidins from Grape Seed Reduces Serum Uric Acid Levels and Decreases Hepatic Xanthine Dehydrogenase/Oxidase Activities in Oxonate-Treated Mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004;94(5):232-237.
18. Zhu JX, Wang Y, Kong LD, Yang C, Zhang X. Effects of Biota Orientalis Extract and Its Flavonoid Constituents, Quercetin and Rutin on Serum Uric Acid Levels in Oxonate-Induced Mice and Xanthine Dehydrogenase and Xanthine Oxidase Activities in Mouse Liver. *J Ethnopharmacol* 2004;93(1):133-140.
19. Lee YW, Lee MS. Synergistic Protective Effect of Ischemic Preconditioning and Allopurinol on Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Liver. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;349(3):1087-1093.

Archive of ScienceDirect

Effects of Cherry in Take Versus Allopurinol on Serum Uric Acid Levels, Biomarkers of Oxidative Stress and Hepatic Xanthine Oxidase/Xanthine Dehydrogenase Activity in Hyperuricemic Rats

F. Haidari, PhD*; M.R. Rashidi, PhD**; H.R. Haidari, MSc***; M. Mohammad Shahi, PhD****; S.A. Keshavarz, PhD*****

*Assistant Professor of Nutrition, Faculty of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran.

**Professor of Drug Chemistry, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

***Instructor of Occupational Health, Faculty of Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

****PhD Student of Nutrition Sciences, Faculty of Health and Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

*****Professor of Nutrition, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background and Objectives

Prevention and treatment of hyperuricemia are based on control of uric acid levels. The aim of this study was to investigate the effect of oral administration of sour cherry and allopurinol on serum uric acid levels, biomarkers of oxidative stress (total antioxidant capacity and malondialdehyde concentration), and hepatic xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase activity in normal and hyperuricemic rats.

Methods

A total of 36 male Wistar rats (Weights: 180-200 g) were randomly divided into six equal groups. These groups were normal; normal+cherry tart (5 g/kg); normal+allopurinol (5 mg/kg); hyperuricemic; hyperuricemic+sour cherry (5 g/kg); hyperuricemic+allopurinol (5 mg/kg). Every group received their treatment once a day for 14 days. Hyperuricemia in rats was induced by intraperitoneal injection of potassium oxonate (250 mg/kg).

Results

Oral administration of sour cherry for 14 days significantly reduced the serum uric acid levels of hyperuricemic rats in a time-dependent manner. Hepatic xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase activity was significantly inhibited in both normal and hyperuricemic rats. Oral administration of cherry tart led to a significant improvement in biomarkers of oxidative stress in rats. Although the hypouricemic effect of allopurinol was much higher than that of sour cherry, allopurinol could not significantly change oxidative stress biomarkers.

Conclusion

The results indicate that cherry, as a polyphenols-rich food could be used as a possible therapeutic supplement to minimize the side effects of allopurinol in treating hyperuricemia and oxidative stress diseases.

Keywords: Polyphenols; Hyperuricemia; Xanthine Oxidase; Oxidative Stress.

Corresponding Author: Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Phone No.: (+98)21-88 97 44 63;
Received: 23 Jul, 2008

Email: dr.ali.keshavarz@gmail.com
Accepted: 8 Sep, 2008