Archive of SID

دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هجدهم، شماره ۳، صفحه ۴۹۶ - ۴۸۶ (مرداد و شهریور ۱۳۹۴)

ISMJ 2015; 18(3): 486-496

اثر عصاره آبی خرفه بر آسیب ایسکمی–خون‌رسانی مجدد کلیه موش صحرایی

سیدرضا فاطمی طباطبایی [۱]، مجید عسکری‌پور [۱*]، فروزان حسینی [۲]، حسین نجف‌زاده‌ورزی [۳]

[۱] گروه علوم پایه، بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
[۲] بخش فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
[۳] گروه علوم پایه، بخش فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

(دریافت مقاله: ۹۳/۱/۲۰- پذیرش مقاله: ۹۳/۳/۲۶)

چکیده

زمینه: گیاه خرفه دارای اثرات آنتی اکسیداتیو است و عوامل متعددی از جمله استرس اکسیداتیو در آسیب ایسکمی- خون رسانی مجدد (I/R) کلیه نقش دارد. لذا اثرات تجویز خوراکی عصاره آبی خرفه بر I/R، در موش صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: حیوانات نفرکتومی کلیه راست شده و پس از ۲۰ روز در ۵ گروه (n=۶) قرار گرفتند: گروه‌های شاهد و I/R دریافت کننده سرم فیزیولوژی، کنترل دریافت کننده دوز۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی خرفه و گروه‌های I/R دریافت کننده دوز ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی خرفه و بر حسب گروه به مدت ۵ روز به‌صورت خوراکی با مقادیر ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی خرفه یا سرم فیزیولوژی تیمار شدند. در روز ۵ تیمار، کلیه چپ تحت عمل I/R (۴۵ دقیقه ایسکمی و ۲۴ ساعت خون‌رسانی مجدد) یا شاهد قرار گرفت و مقادیر اوره، کراتینین در سرم و مالون دی‌آلدیید، سوپراکساید دیسموتاز، گلوتاتیون و فعالیت تام آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD انجام شد. در تمامی موارد P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: القای I/R باعث افزایش اوره و کراتینین سرم شد. استفاده از عصاره‌های آبی در حیوانات ایسکمی نشده بر سطح اوره و کراتینین تاثیری نداشت ولی باعث افزایش آن‌ها، در گروه‌های I/R و تیمار شد. سطح سوپراکساید دیسموتاز در تمامی گروه‌ها به استثنای گروه کنترل عصاره خرفه با دوز ۳۰۰، به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. ولی سطوح مالون دی‌آلدیید، گلوتاتیون و فعالیت تام آنتی اکسیدانی گروه‌های I/R و تیمار در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عصاره آبی گیاه خرفه در این مطالعه نتوانسته است از آسیب ناشی از ایسکمی- خون رسانی مجدد بکاهد و حتی احتمالاً وجود برخی مواد درآن سبب تشدید عوارض I/R در کلیه گردیده است.

واژگان کلیدی: خرفه، ایسکمی– خون‌رسانی مجدد، کلیه، موش صحرایی

اهواز، بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

E-mail: askaripour-m@mscstu.scu.ac

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آسیب حاد کلیوی (ARF)[1] از سندروم‌های کلینیکی رایج است (۱) که با از دست دادن سریع توانایی کلیه‌ها برای دفع مواد زاید، نگهداری الکترولیت‌ها و حفظ تعادل مایعات مشخص‌می‌شود (۲). ایسکمی– خون‌رسانی مجدد کلیه (I/R، Ischemia/Reperfusion) از شایع‌ترین عوامل مسبب ARF می‌باشد (۱).

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در علم پزشکی و مراقبت بیماران، آسیب I/R به عنوان مشکل و معضل مهم بالینی با درجه شیوع بالا و نرخ مرگ ومیر بالای ۶۰ درصد در بخش‌های مراقبت ویژه است (۳).

I/R کلیه در بعضی از رویدادهای کلینیکی مهم مانند شوک، کاهش شدید فشار خون و احیای مجدد، پیوند کلیه و جراحی عروق آئورت (آنوریسم) رخ می‌دهد (۴ و ۵).

یکی از رویدادهای اصلی در I/R کلیه، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[2] است (۶) که در طی خون‌رسانی مجدد کلیه باعث اثرات سیتوتوکسیک‌متعددی از قبیل آسیب DNA، اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و تولید مالون‌دی‌آلدیید (MDA، Malondialdehyde)، و القاء آپوپتوز می‌شوند (۷).

آنتی اکسیدان‌های درون‌زاد از قبیل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD، Superoxide Dismutase) و گلوتاتیون (GSH، Glutathione) که مسئول دفاع در برابر ROSهای تولید شده در خلال آسیب‌ها و همچنین آسیب خون‌رسانی مجدد هستند، نقش مهمی در کاهش آسیب I/R کلیه دارند (۸). از دیگر رویدادهایی که پس از I/R کلیوی رخ می‌دهد القاء پاسخ التهابی و افزایش ورود نوتروفیل‌ها در بافت کلیه است که نقش مهمی در گسترش آسیب ناشی از ایسکمی دارند (۳، ۹ و ۱۰).

امروزه به دلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی و هزینه‌های بالا درمان، تلاش زیادی در زمینه استفاده از گیاهان دارویی برای بهبود و درمان بیماری‌های مختلف صورت گرفته است. خرفه یا پرپین با نام علمی Portulaca Oleracea یک گیاه پرکاربرد در بین گیاهان دارویی است و نشان داده شده است که منبع قوی از اسیدهای چرب اُمگا-۳، بتاکاروتن، گالوتانین‌ها[3]، کامپفرول[4]، کوارستین[5]، اپیگنین[6]، گلوتاتیون (۱۱)، نورآدرنالین و دوپامین می‌باشد (۱۲). در مطالعات متعدد، اثرات آنتی‌اکسیدانی خرفه گزارش شده (۱۵-۱۳) همچنین اثرات محافظتی آن در نفروتوکسیسیتی و دیابت مشاهده گردیده است (۱۸-۱۶).

لذا با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص اثرات احتمالی خرفه بر آسیب ناشی از ایسکمی- خون‌رسانی مجدد در کلیه صورت نگرفته است، هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره آبی خرفه بر عملکرد و وضعیت اکسیداتیو بافت کلیه، متعاقب القای آسیب I/R کلیوی است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره خرفه

بخش‌های هوایی گیاه خرفه که برای انجام برخی مطالعات در محوطه دانشگاه رامین اهواز کشت شده بود، تمیز و عمل خشک کردن در کارخانه سبزی خشک‌کنی شوین واقع در دزفول انجام گرفت و توسط دکتر محمدرضا قربانی عضو هیات علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به بخش

[1] Acute renal failure
[2] Reactive oxygen spicease

[3] gallotannins
[4] kaempferol
[5] quercetin
[6] apigenin

www.SID.ir

Archive of SID

فیزیولوژی اهدا شد. به منظور تهیه عصاره آبی خرفه از روش خیساندن استفاده شد. پودر خشک شده خرفه در یک ارلن تمیز با ۵ برابر وزنی آب مقطر به خوبی مخلوط و پس از بستن درب ظرف به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد. سپس مخلوط همگن شده صاف و تفاله‌ها و اضافات از آن جدا شد. مایع همگن حاصل در حمام آب گرم رطوبت‌گیری شد.

حیوانات

مطالعه روی ۳۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار (۳۰۰-۲۵۰ گرم) انجام شد، که در خانه حیوانات بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز پرورش یافته بودند. حیوانات در اتاق با تهویه مناسب تحت ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی و دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. مطالعه بر اساس رعایت کلیه کدهای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی تدوین شده توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به انجام رسید.

تمامی حیوانات ۲۰ روز قبل از شروع آزمایش، نفرکتومی راست شدند (۱۹) و سپس به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم و تحت تیمار قرار گرفتند. کلیه تیمارها به روش خوراکی بود و حجم محلول‌ها در تمامی گروه‌ها با استفاده از سرم فیزیولوژی در حد ۴/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم تنظیم شد. تمامی گروه‌ها پس از پنج روز تیمار، تحت جراحی شاهد (Sham) یا I/R قرار گرفتند. گروه‌های شاهد و I/R توسط سرم فیزیولوژی، گروه‌های AEPO150+I/R و AEPO300+I/R به‌ترتیب توسط دوزهای ۱۵۰و۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی خرفهو گروه AEPO300 توسط دوز۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، از عصاره آبی خرفه تیمار شدند.

روش جراحی

برای انجام جراحی و القا آسیب I/R بر روی گروه‌های آزمایش از روش کنبک (Canbek) و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شد (۲۰). ابتدا حیوانات با ترکیب کتامین (۸۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. دمای بدن حیوانات در طول انجام جراحی از طریق مقعد ثبت و با استفاده از کیسه آب گرم در حدود ۳۷ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. پس از تراشیدن موهای ناحیه شکم و ضدعفونی موضعی محل جراحی، یک برش طولی داده شد. پس از مشخص شدن پدیکل کلیه چپ، القای ایسکمی با کلمپ پدیکل به مدت ۴۵ دقیقه صورت پذیرفت. کلمپ پس از مدت زمان ۴۵ دقیقه جدا و دیوار شکم توسط نخ ابریشمی ۳ صفر بخیه شد. به جز کلمپ پدیکل کلیه چپ، تمام مراحل جراحی روی گروه‌های Sham و AEPO300 انجام شد. حیوانات پس از ۲۴ ساعت خون‌رسانی مجدد دوباره بیهوش شدند و پس از خون‌گیری از آئورت، کلیه چپ آن‌ها سریعاً از بدن حیوان خارج و پس از شسته شدن با سرم فیزیولوژی، برای اندازه‌گیری SOD، GSH، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAA)[7] و MDA، در فریزر منهای ۷۰ نگهداری شد. پس از سانتریفوژ نمونه‌های خون، سرم آن‌ها جدا شد تا با تعیین سطوح کراتینین واوره، عملکرد کلیه مورد ارزیابی قرار گیرد.

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه، پس از خارج نمودن نمونه‌ها از فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد با اضافه نمودن بافر فسفات به بافت کلیه (نسب ۱:۱۰) و با استفاده از دستگاه هموژنایزر (میکرا آلمان) عمل هموژنیزاسیون در دمای زیر ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. مخلوط

[7] Total Antioxidant Activity

www.SID.ir

Archive of SID

هموژن شده توسط سانتریفیوژ در RPM ۱۲۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و محلول شفاف فوقانی جدا شد (۲۱).

برای اندازه‌گیری MDA در بافت کلیه از روش و بیوج و آست (۱۹۷۸) استفاده شد (۲۲). اساس این روش بر مبنای اندازه‌گیری مواد واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید و تولید کمپلکس قرمز رنگ می‌باشد. گلوتاتیون به روش المن اندازه‌گیری شد (۲۳). اساس این روش برمبنای واکنش گلوتاتیون با دی تیو بیس نیترو بنزوات است. برای تعیین TAA از روش بنزی و استراین (۱۹۹۶) استفاده شد که در طی آن توانایی نمونه مورد نظر در احیای یون فریک (FRAP)[8] شاخص ظرفیت تام آنتی اکسیدانی است (۲۴). فعالیت آنزیم SOD با استفاده از کیت تجاری سنجش سوپر اکسید دیسموتاز (رندوکس- انگلستان) اندازه‌گیری شد. غلظت کراتینین و اوره سرم به‌ترتیب به روش ژافه (۲۵) و روش آنزیمی با استفاده از کیت‌های تجاری (شرکت پارس آزمون– کرج) اندازه‌گیری شدند. در تمام مواردی که نیاز به خواندن جذب نوری نمونه‌ها وجود داشت از دستگاه فتومتر (Convergys 100-Germany) استفاده شد. اندازه‌گیری پروتئین بافتی نیز به کمک کیت تشخیص پروتئین (شرکت پارس آزمون- کرج) به روش فتومتریک انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج حاصله توسط نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc، Chicago، Il، USA) ویرایش ۱۶ انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین ± خطای معیار (Mean±SEM) ذکر گردیدند. برای آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one- Way ANOVA) و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از آزمون تعقیبی LSD استفاده گردید. در تمامی موارد (P<۰/۰۵) به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقدار اوره در گروه I/R (۳۷±۱۶۸میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) نسبت به گروه شاهد (۵±۵۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۰۱). سطح اوره در گروه AEPO300 (۳±۳۶ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در مقایسه با گروه شاهد تفاوتی نداشت (P>۰/۰۵) ولی در گروه‌های AEPO150+I/R (۲۵±۲۳۲ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و AEPO300+I/R (۱۲±۲۹۴ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) با افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد (p<۰/۰۰۱) و I/R (p<۰/۰۵) همراه بود (نمودار ۱–A).

مقدار کراتینین در گروه I/R (۱/۱۷±۴/۹۸ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) نسبت به گروه شاهد (۰/۰۶±۱/۶۸ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۱) و در گروه AEPO300 (۰/۰۵±۱/۷۵ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) در مقایسه با گروه شاهد تفاوتی نداشت (p>۰/۰۵) ولی در گروه AEPO150+I/R (۰/۷۹±۶/۰۳ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) با افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد (p<۰/۰۰۱) و در گروه AEPO300+I/R (۰/۳۴±۷/۴۰ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) با افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های شاهد (p<۰/۰۰۱) و I/R (p<۰/۰۵) همراه بود (نمودار ۱–B).

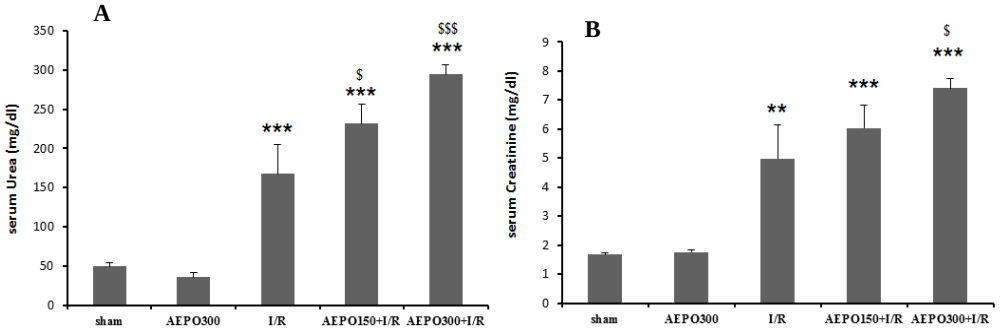
همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود سطح SOD بافتی در گروه I/R به صورت معنی‌داری بیشتر

[8] Ferric Reducing Ability of Plasma

www.SID.ir

Archive of SID

از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵) و در گروه AEPO300 در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۱) ولی در گروه‌هایAEPO150+I/R و AEPO300+I/R سطح SOD نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (به‌ترتیب P<۰/۰۱، P<۰/۰۰۱). سطح MDA، GSH و TAA درگروه I/R نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین در تمام گروه‌های تیمار با عصاره آبی خرفه تفاوت معنی‌داری در سطح MDA، GSH و TAA در مقایسه با گروه‌های شاهد و I/R مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



نمودار ۱) اثر عصاره آبی خرفه برغلظت اوره (A) و کراتینین (B) سرم به دنبال آسیب ایسکمی– خون‌رسانی مجدد کلیه در گروه‌های تحت بررسی. نتایج به صورت میانگین±خطای معیار بیان شده است و(n=۶). ** و***: بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد به ترتیب با: p<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ . $ و $$$: بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه I/R به‌ترتیب با P <۰/۰۵ و P<۰/۰۰۱ . Sham: گروه شاهد؛ AEPO300: گروه تیمار با عصاره آبی با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن بدون آسیب ایسکمی– خون‌رسانی مجدد کلیوی؛ I/R: گروه القاء آسیب ایسکمی– خون رسانی مجددکلیوی؛ AEPO۱۵۰ + I/R: گروه تیمار با عصاره آبی با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن با القاء آسیب ایسکمی – خون‌رسانی مجددکلیوی؛ AEPO۳۰۰+I/R :گروه تیمار با عصاره آبی با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن با القاء آسیب ایسکمی – خون‌رسانی مجدد کلیوی؛ mg/dl: میلی‌گرم/ دسی لیتر.

جدول ۱) اثر عصاره آبی خرفه بر سطوح آنتی اکسیدان و لیپیدپراکسیداسیون، به دنبال آسیب ایسکمی- خون‌رسانی مجدد کلیوی. نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است و n=۶

گروه	مالوندی آلدیید(میکرومول/گرم پروتئین)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین‌الملل/ گرم پروتئین)	گلوتاتیون (میلی‌مول/گرم پروتئین)	ظرفیت تام آنتی اکسیدانی(میکرومول/گرم پروتئین)
Sham	۱۲/۹±۰/۷	۱۰۷±۱۶/۴	۰/۶±۰/۰۴	۷۶/۵±۴/۱
R/I	۱۵/۸±۲/۸	۱۶۹±۲۴/۱*	۰/۷±۰/۰۶	۹۲/۴±۱۱/۶
AEPO۳	۱۵/۶±۱/۲	۴۲/۲±۲۶/۶**	۰/۷±۰/۰۷	۷۷±۷/۱
AEPO۱۵۰+I/R	۱۲/۰۲±۰/۶	۱۸۰/۱±۱۵/۲**	۰/۶±۰/۰۷	۸۳/۳±۶/۵
AEPO۳۰۰+I/R	۱۲/۵±۱/۱	۲۰۷/۶±۱۴/۱***	۰/۷±۰/۱	۹۷/۱±۵/۸

* بیانگر اختلاف معنی‌دار باگروه sham (*: p<۰/۰۵، **:P<۰/۰۱، ***: P<۰/۰۰۱)

بحث

در مطالعه حاضر، مدل I/R کلیوی با کلمپ پدیکل کلیه چپ موش صحرائی به مدت ۴۵ دقیقه و خون‌رسانی مجدد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. نتایج نشان‌دهنده افزایش میزان اوره و کراتینین به دنبال القای ایسکمی– خون رسانی مجدد و حتی تشدید این افزایش در گروه تیمار با عصاره بود. از طرف دیگر در میان شاخص‌های اکسیداتیو بافتی فقط SOD تغییرات معنی‌دار داشت، به‌طوری که در گروه کنترل عصاره کاهش و در سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

گروه شاهد پیدا کرد.

افزایش اوره و کراتینین به دنبال القای ایسکمی- خون رسانی مجدد که نشان‌دهنده ایجاد آسیب گلومرولی می‌باشد توسط سایر تحقیقات تأیید شده است (۲۱ و ۲۶) که می‌تواند ناشی از کاهش دفع کلیوی این مواد باشد، به خصوص در مورد کراتینین که پس از فیلتراسیون تقریباً مورد بازجذب و ترشح کلیوی قرار نمی‌گیرد، به گونه‌ای که میزان دفع کلیوی آن به عنوان شاخصی از فیلتراسیون کلیوی مورد استفاده می‌باشد (۲۷).

مطالعات گذشته نشان داده‌اند که تجویز خوراکی و داخل صفاقی عصاره آبی و الکلی خرفه باعث بهبود عملکرد کلیه‌ها به دنبال اثر سمیت جنتامایسین و سیسپلاتین بر کلیه شدند (۱۶ و ۱۷). همچنین استفاده از آب خرفه موجب افزایش سطح دفاع آنتی اکسیدان و کاهش سطح اوره، کراتینین و آنزیم‌های کبدی شد (۱۴). بنابراین به نظر می‌رسد یافته‌های مطالعه ما با مطالعات فوق مطابقت ندارد. یکی از توجیهات این تفاوت می‌تواند پاسخ التهابی باشد که در ابتدای مرحله خون‌رسانی مجدد آغاز می‌شود (۲۸). پاسخ التهابی و متعاقب آن فعالیت ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها وپلاکت‌ها، موجب تولید رادیکال‌های آزاد و تخریب‌های ناشی از آن‌ها می‌شوند (۲۹). با توجه به این که دیده شده، خرفه دارای اثرات تنظیمی و تحریکی بر سیستم ایمنی است و موجب افزایش گلوبولین‌ها (۳۰)، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها، می‌شود (۳۴-۳۱)، شاید یکی از دلایل تشدید آسیب ایسکمی- خون‌رسانی مجدد کلیه در مطالعه حاضر، تحریک سیستم ایمنی و تشدید پاسخ‌های التهابی در اثر پیش درمانی با خرفه باشد.

در مطالعه حاضر عدم تغییر مشهود در سطح پراکسیداسیون لیپیدی (MDA)، GSH و TAA ممکن است ناشی از روش استفاده شده در این مطالعه باشد. در این مطالعه همه حیوانات ۲۰ روز قبل از القای I/R کلیوی نفرکتومی کلیه راست شدند. ایجاد تغییرات جبرانی سریع در عملکرد کلیه باقیمانده پس از نفرکتومی یکطرفه کلیه‌ی گوسفند از طریق افزایش نرخ فیلتراسیون گلومرولی و جریان پلاسمایی در کلیه باقیمانده به اثبات رسیده است (۳۵). در مطالعه‌ای که روی موش‌هایی انجام شد که ژن Mn-SOD[9] آن‌ها حذف شده بود، برخلاف انتظار علی‌رغم برخی تغییرات در ساختار توبول‌های دیستال، حذف این ژن باعث تشدید آسیب‌های ناشی از I/R کلیوی نشد.

نویسندگان بر اساس شواهدی که بیانگر برخی تغییرات در بیوژنز و تکثیر میتوکندری‌ها بود به این نتیجه رسیدند که تحریک استراتژی‌های متعدد و هماهنگ به دنبال استرس اکسیداتیو مزمن باعث افزایش مقاومت در مقابل استرس اکسیداتیو حاد ناشی از I/R کلیوی شده است (۳۶). در مطالعه حاضر نیز نفرکتومی ۲۰ روز قبل شاید باعث فعال شدن مکانیسم‌هایی شده باشد که بر سیستم‌های اکسیدان- آنتی اکسیدان کلیه تأثیرگذار بوده است و از این طریق باعث افزایش دفاع آنتی اکسیدان شده است. همچنین باید به این موضوع توجه کرد که مدت زمان خون‌رسانی مجدد برسطوح مارکرهای آسیب I/R کلیوی مؤثر است.

مطالعات نشان داده است که سطح MDA پس از ۵ دقیقه خون‌رسانی مجدد افزایش معنی‌داری یافته و بعد از ۲۴ ساعت به میزان طبیعی بازمی‌گردد (۳۷) درحالی که سطح اوره و کراتینین مدت زمان طولانی پس از آسیب ایسکمی کلیه همچنان بالا باقی می‌ماند (۳۸ و ۳۹).

در مطالعه احمدی اصل و همکاران (۲۰۱۴) نیز همانند

[9] Manganese SOD

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه حاضر، افزایش در سطح MDA و TAA پس از القای ایسکمی- خون رسانی مجدد مشاهده شد اما این افزایش معنی‌دار نبود در حالی که سطح کراتینین افزایش معنی‌داری یافت. افزایش MDA را به دلیل پراکسیداسیون لیپید در طی استرس اکسیداتیو و افزایش TAA را به دلیل پاسخ دفاعی سلول در تولید ROS توجیه کرده‌اند (۴۰) این در حالی است که در مطالعه حاضر نیز میزان TAA و MDA در گروه I/R افزایش یافته است اما معنی‌دار نبود.

در مطالعه حاضر، SOD تنها آنتی‌اکسیدانی بود که تغییرات معنی‌داری داشت. میزان فعالیت SOD در گروه I/R افزایش معنی‌داری یافت که هم راستا با مطالعات پیشین است (۲۰ و ۲۱). نویسندگان این یافته را به افزایش فعالیت Mn-SOD در مرحله خون‌رسانی مجدد و بالا بودن بیان mRNA ژن Mn-SOD در طی آسیب خون‌رسانی مجدد نسبت دادند (۴۱ و ۴۲).

بنابراین در مطالعه حاضر علی‌رغم انتظار، تیمار با عصاره خرفه شاخص‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو را بهبود نبخشید و حتی باعث بدتر شدن عملکرد کلیوی شد. در این راستا اخیراً برخی مطالعات اثرات زیان باری را به خرفه نسبت داده‌اند. به عنوان مثال اثرات زیانبار بر سیستم تولید مثل موش صحرایی نر (۴۳ و ۴۴) و افزایش سطح آنزیم‌های کبدی آلانین ترانس‌آمیناز و آسپارتات ترانس‌آمیناز (۳۳-۳۱) به دنبال استفاده از عصاره‌های خام خرفه و فراکشن‌های آن گزارش شده است. همچنین مطالعه اوبید (Obied) و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان داد که مصرف گیاه خرفه در بزغاله نژاد نوبیان موجب اثرات مخرب متعددی از قبیل نکروز توبولی و انقباضات گلومرولی کلیه، تراوش لنفوسیت‌ها از مخاط روده، تغییرگویچه‌های قرمز در طحال، افزایش سطح سرمی آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز و اوره شد (۴۵).

میراب‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ارزیابی اثرات مخرب مصرف عصاره آبی دانه خرفه در طب سنتی ایران، بیان کرده‌اند که وجود ترکیباتی از قبیل کاتکول-آمین‌ها (نوراپی نفرین و دوپامین) و نیاسین در گیاه خرفه نقش مؤثری در اثرات مضر این گیاه دارد و دلیل آن را فعال شدن واکنش‌های مخرب تاکی‌کاردی، تپش، انقباض عروق، سوزش، حساسیت و مشکلات تنفسی به واسطه کاتکول‌آمین‌ها و نیاسین اعلام کردند (۴۶). همچنین در مطالعه شافی و تبسم نشان داده شده است که مصرف خوراکی دوز ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن و بالاتر خرفه موجب اثرات سمی می‌شد (۴۷) گرچه در این مطالعه دوزهای پایین‌تری از عصاره بر اساس اثرات آنتی‌اکسیدانی گزارش شده در سایر مطالعات مورد استفاده قرار گرفت (۱۸، ۵۰-۴۸). اما به نظر می‌آید که وجود ترکیبات دیگر در عصاره خرفه منجر به عدم مشاهده اثرات مفید آنتی‌اکسیدانی آن در مطالعه حاضر شده است.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد عصاره آبی گیاه خرفه در این مطالعه نتوانسته است از آسیب ناشی از ایسکمی- خون‌رسانی مجدد بکاهد و حتی احتمالاً وجود برخی مواد در آن سبب تشدید عوارض I/R در کلیه گردیده است، لذا لازم است در این زمینه مطالعات بیشتری انجام شود.

سپاس و قدردانی

نویسندگان بدین‌وسیله مراتب سپاس خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه‌ی انجام این تحقیق را در قالب پایان نامه‌ی

www.SID.ir

Archive of SID

دانشجویی تأمین نمود و همچنین از آقای دکتر قربانی که گیاه خرفه را به صورت خشک در اختیار ما قرار داد، اعلام می‌دارند.

References:

1.Clarkson MR, Friedewald JJ, Eustace JA, et al. Acute kidney injury. IN: Brenner BM, Livine SA, Editors. Brenner and Rectore's the kidney. 8nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2008: 943-86.
2.Hosseniakbari HM, Rasoulian B, Mofid M, et al. The effect of short ischemic periods in reducing subsequent rat renal ischemic injury. Physiol Pharmacol 2008; 12: 149-57.
3.Lee HT, Kim M, Kim M, et al. Isoflurane protects against renal ischemia and reperfusion injury and modulates leukocyte infiltration in mice. Am J Physiol Renal Physiol 2007; 293: 713-22.
4.Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. The molecular events underlying ischemia-reperfusion injury. Transplant Proc 2002; 34: 2518-9.
5.Landry GJ, Lau IH, Liem TK, et al. Adjunctive renal artery revascularization during juxtarenal and suprarenal abdominal aortic aneurysm repairs. Am J Surg 2010; 199: 641-5.
6.Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. J Am Soc Nephrol 2006; 17: 1503-20.
7.Rodrigo R, Bosco C. Oxidative stress and protective effects of polyphenols: comparative studies in human and rodent kidney. A review. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2006; 142: 317-27.
8.Pincemail J, Defraigne JO, Detry O, et al. Ischemia-reperfusion injury of rabbit kidney: comparative effects of desferrioxamine and N-acetylcysteine as antioxidants. Transplan Proc 2000; 32: 475-6.
9.Donnahoo KK, Meng X, Ayala A, et al. Early kidney TNF-alpha expression mediates neutrophil infiltration and injury after renal ischemia-reperfusion. Am J Physiol 1999; 277: 922-9.
10.Mizutani A, Okajima K, Uchiba M, et al. Activated protein C reduces ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation. Blood J 2000; 95: 3781-7.
11.Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids and antioxidants in edible wild plants. Biol Res 2004; 37: 263-77.
12.Miladi-Gorgi H, Vafaei AA, Taherian AA, et al. The effects of aqueous extracts of Purtulaca oleracea on withdrawal syndrome in mice. J Med Plants 2009; 8: 51-7.
13.Ahmed OM, Hozayen WG, Sree HTA, et al. Effects of ethanolic purslane shoot and seed extracts on doxorubicin-induced hepatotoxicity in albino rats. Nature and Science 2013;11: 206-11.
14.Dkhil M, Abdel Moniem A, Al-Quraishy S, et al. Antioxidant effect of purslane (Portulaca oleracea) and its mechanism of action. J Med Plant Res 2011; 5: 1589-93.
15.Zarei A, Changizi Ashtiyani S , Taheri S. The effects of hydroalcoholic extract of Portulaca oleracea on the concentreation serum of hepatic enzymes on rats. ISMJ. In press 2013.
16.Hozayen W, Bastawy M, Elshafeey H. Effects of aqueous purslane (portulaca oleracea) extract and fish oil on gentamicin nephrotoxicity in albino rats. Nature and Science 2011; 9: 47-62.
17.Karimi GH, Khouei A, Omidi A, et al. Protective effect of aqueous and ethanolic extracts of portulaca oleracea against cisplatin induced nephrotoxicity. IJBMS 2010; 13: 31-5.
18.Lee AS, Lee YJ, Lee SM, et al. An aqueous extract of Portulaca oleracea ameliorates diabetic nephropathy through suppression of renal fibrosis and inflammation in diabetic db/db mice. Am J Chin Med 2012; 40: 495-510.
19.Abotaleb N, Pazouki HR, Homayoonfar H, et al. Simvastatin-induced renal protection against ischemia- reperfusion injury mediated by activation of ATP-sensitive potassium channels. IJMS 2011; 71: 7-13.
20.Canbek M, Ustuner MC, Kabay S, et al. The effect of gallic acid on kidney and liver after experimental renal ischemia/reperfusion injury in the rats. Afr J Pharm Pharmacol 2011; 5: 1027-33.
21.Rasoulian B, Jafari M, Noroozzadeh A, et al. Effects of ischemia-reperfusion on rat renal tissue antioxidant systems and lipid peroxidation. Acta Med Iran 2008; 46: 353-60.
22.Buege J, Aust DS. Microsomal lipid

www.SID.ir

Archive of SID

peroxidation. IN: Fleisscher S, Packer L, Editors. Methods in enzymology. New York: Academic Press; 1978: p. 302-11.
23.Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys 1959; 82: 70-7.
24.Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239: 70-6.
25.Slot C. Plasma creatinine determination. A new and specific Jaffe reaction method. Scand J Clin Lab Invest 1965; 17: 381-7.
26.Najafi A, Kadkhodaee M, Seifi B, et al. Evaluation of protective effects of postconditioning on ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. Pejouhandeh 2011; 15: 280-6.
27.Koeppen BM, Stanton BA. Berne and Levy Physiology. IN: Rastegar A, Editor. Renal System. 6nd ed. Tehran: Andisherafi; c2010: p. 655-6.
28.Aktan OA, Yalcin SA. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites, and the surgeon. Turk J Med Sci 1998; 28: 1-5.
29.De GH, Rauen U. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. Transplant Proc 2007; 39: 481-4.
30.Modaresi M, Naderi B. Effect of purslane (Portulaca oleracea) extracts on the electrophoretic pattern of blood proteins in mice. QHMSJ 2014; 4: 206-11.
31.Oyedeji KO, Adegoke AO, Oladosu IA. Effect of fraction 3 of portulaca oleracea on haematological and plasma biochemical parameters in male albino rats. Int J Pharm Sci Rev Res 2013; 21: 364-8.
32.Oyedeji KO, Adegoke AO, Oladosu IA. Effect of fraction 5 of portulaca oleracea on haematological and plasma biochemical parameters in male albino rats. Int J Pharm Sci Rev Res 2013; 63: 369-72.
33.Oyedeji KO, Bolarinwa AF, Adegoke AO. Effect of chromatographic fraction of portulaca oleracea on haematological and plasma biochemical parameters in male albino rats. Int J Pharm Sci Rev Res 2013; 20: 278-81.
34.YouGuo C, Zong S, XiaoPing C. Evaluation of free radicals scavenging and immunity-modulatory activities of Purslane polysaccharides. Int J Biol Macromol 2009; 45: 448-52.
35.Ziada G, Youseif H, Khalil M. Compensatory changes in the funtion of remaining kidney immediately after unilateral nephrectomy in sheep. Tohoku J Exp Med 2009; 219: 165-8.
36.Parajuli N, MacMillan-Crow LA. Role of reduced manganese superoxide dismutase in ischemia-reperfusion injury: a possible trigger for autophagy and mitochondrial biogenesis? Am J Physiol Renal Physiol 2013; 304: 257-67.
37.JuniorI ST, CarvalhoII RM, CeliniIII FM, et al. Rnal ischemia and reperfusion injury: influence of chorpromazine on renal function and lipid peroxidation1. Acta Cir Bras 2008; 23: 42-6.
38.Molina A, Ubeda M, Escribese MM, et al. Renal ischemia/reperfusion injury: functional tissue preservation by anti-activated β1 integrin therapy. J Am Soc Nephrol 2005; 16: 374-82.
39.Roberts J, Chen B, Curtis LM, et al . Detection of early changes in renal function using 99mTc-MAG3 imaging in a murine model of ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol Renal Physiol 2007; 293: 1408-12.
40.Ahmadiasl N, Banaei S, Alihemmati A, et al. The anti-inflammatory effect of erythropoietin and melatonin on renal ischemia reperfusion injury in male rats. Adv Pharm Bull 2014; 4: 49-54.
41.Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, et al. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. Mol Cell Biochem 2000; 205: 1-11.
42.Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radic Biol Med 2001; 31: 1287-312.
43.Oyedeji KO, Adegoke AO, Oladosu IA. Effect of faction 3 of portulaca oleracea on reproductive functions in male albino rats. Int J Pharm Sci Rev Res 2013; 21: 345-9.
44.Oyedeji KO, Bolarinwa AF. Effects of crude extracts of portulaca oeracea on male reproductive functions in albino rats. IOSR-JPBS 2013; 4: 71-9.
45.Obied WA, Mohamoud EN, Mohamed OSA. Portulaca oleracea (purslane): nutritive composition and clinico-pathological effects on nubian goats. Small Rumin Res 2003; 48: 31-6.
46.Mirabzadeh M, Sahraee Z, Rahimi R. Evaluation of adverse events reported in traditional iranian medicine following administration of aqueous extract of herba portulacae oleraceae seed. J Tradit Chin

www.SID.ir

Archive of SID

Med 2013; 33: 535-7.
47.Shafi S, Tabassum N. Acute oral toxicity and hypoglycaemic study of ethanolic extract of portulaca oleracea (whole plant) in swiss albino mice. Int J Pharm Pharm Sci 2013; 5: 389-93.
48.Karimi G, Aghasizadeh M, Razavi M, et al. Protective effects of aqueous and ethanolic extracts of Nigella sativa L. and Portulaca oleracea L. on free radical induced hemolysis of RBCs. DARU 2011; 19: 295.
49.Hussein MA. Purslane extract effects on obesity-induced diabetic rats fed a high-fat diet. Mal J Nutr 2010; 16: 419-29.
50.Lee AS, Lee YJ, Lee SM, et al. Portulaca oleracea ameliorates diabetic vascular inflammation and endothelial dysfunction in db/db mice. Evid Based Complement Alternat Med 2012; 2012: 741824.

www.SID.ir

Archive of SID

ISMJ 2015; 18(3): 486-496

Original Article

The effect of Aqueous Purslane (Portulaca Oleracea) Extract on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat

SR. Fatemi Tabatabaei [1], M. Askaripour [1], F. Hosseini [2], H. NajafzadehVarzi [3]*

[1] *Department of physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran*

[2] *Department of physiology, Kurdistan University of medical sciences, Sanandaj, Iran*

[3] *Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.*

(Received 9 Apr, 2014 Accepted 16 Jun, 2014)

Abstract

Background: According to the previous studies *Portulaca oleracea* (PO) has antioxidative effects and several factors such as oxidative stress is involved in the renal injury caused by ischemia - reperfusion (I/R). Therefore, the goal of present study is to evaluate the renal I/R injury in rats received aqueous extracts of PO (AEPO).

Material and Methods: First, the right nephrectomy was performed in adult male Wistar rats and after 20 days they were divided into 5 groups (6=n). Sham operated+vehicle (sham), sham operated+ AEPO300mg/kg (AEPO group), I/R, AEPO150+I/R and AEPO300+I/R. Each group was treated orally for 5 consecutive days by 150 or 300 mg/kg of either AEPO or saline. On the fifth day of treatment, I/R (45 min ischemia/24 hours reperfusion) or sham operation was performed on the left kidney and amounts of urea and creatinine in serum and malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and total antioxidant activity (TAA) in the kidney tissue were measured. Comparisons between groups were analyzed by ANOVA and LSD test. P values of 0.05 or less were considered statistically significant.

Results: Induction of I/R increased urea and creatinine levels. AEPO had no effect on serum urea and creatinine, of non-ischemic animals, but increased the levels of urea and creatinine in I/R and treatment groups. SOD activity was significantly higher in all groups (except AEPO300 group) compared to the sham group. However the levels of MDA, GSH and TAA of I/R and treatment groups did not show any significant differences in comparison to sham group.

Conclusion: According to the results of this study, the PO aqueous extract did not ameliorate the I/R injury and even possibly some ingredients in the extract aggravate the renal I/R injury.

Key words: Portulaca oleracea, I/R injury, kidney, rat

*****Address for correspondence*: Department of physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. E-mail: askaripour-m@mscstu.scu.ac.ir

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

www.SID.ir