





Research Article

The Effect of Resveratrol against Acrolein Toxicity in Mitochondria isolated from Rat Liver


Behnaz Shafie¹ , Jalal Pourahmad², Mohsen Rezaei^{3,*} ¹ MSc Student of Toxicology, Department of Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran² Professor of Toxicology and Pharmacology, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran³ Assistant Professor of Toxicology, Department of Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*** Corresponding author:** Mohsen Rezaei, Assistant Professor of Toxicology, Department of Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: Rezaei.m@modares.ac.irDOI: [10.21859/nkjmd-110107](https://doi.org/10.21859/nkjmd-110107)**How to Cite this Article:**Shafie B, Pourahmad J, Rezaei M. The Effect of Resveratrol against Acrolein Toxicity in Mitochondria isolated from Rat Liver. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2019; **11**(1):51-57. DOI: 10.21859/nkjmd-110107**Received:** 24 Apr 2018**Accepted:** 29 Oct 2018**Keywords:**Acrolein
Mitochondria
Resveratrol
Stress Oxidative

© 2019 North Khorasan Medical Sciences

Abstract**Introduction:** Acrolein is an important environmental, food and water pollutant that plays an important role in the development of several diseases. Resveratrol is a phenolic compound with antioxidant properties found in fruits such as grapes, berries and peanuts. The purpose of this study was to evaluate the protective effect of resveratrol in preventing Acrolein-induced toxicity in isolated mitochondria from the rat liver.**Methods:** Rat liver mitochondria were isolated by differential centrifugation. Different concentrations of Acrolein (100 μ M to 2000 μ M) were used to obtain an IC₅₀. Different concentrations of resveratrol (2.5 μ M to 40 μ M) were then applied on mitochondria in the presence of Acrolein toxicity.**Results:** Acrolein IC₅₀ was obtained via MTT assay as 400 μ M. No toxic effect was observed for resveratrol and in the presence of Acrolein, there was a significant reduction in mitochondrial survival even at high concentrations of resveratrol compared to the control group ($P < 0.001$).**Conclusions:** The results of these study showed that resveratrol failed to exhibit a protective effect against acute Acrolein toxicity and just because a protective substance could be a marvelous antioxidant does not mean that it can prevent the mitochondrial damage resulted from any toxicant.



بررسی اثر رزوراترول بر سمیت آکروئین در میتوکندری های جدا شده از کبد موش صحرایی

بهناز شفیعی^۱، جلال پورا احمد^۲، محسن رضایی^{۳*} 

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، گروه سم شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ استاد، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

^۳ استادیار، گروه سم شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: محسن رضایی، استادیار، گروه سم شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. ایمیل:

Rezaei.m@modares.ac.ir

DOI: 10.21859/nkjms-110107

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۴
مقدمه: آکروئین یک آلاینده مهم زیست محیطی، غذایی و آبی می باشد که نقش مهمی در بروز چندین بیماری نظیر آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، بیماری آلزایمر، بیماری های قلبی و عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی ایفا می کند. رزوراترول یک ترکیب فنولی با خواص آنتی اکسیدانی است که در میوه هایی مانند انگور، انواع توت و بادام زمینی وجود دارد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر محافظتی رزوراترول در جلوگیری از سمیت ناشی از آکروئین بر میتوکندری های جدا شده از کبد موش صحرایی می باشد.	تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۷
روش کار: میتوکندری های کبد موش صحرایی با دوره های مختلف سانتریفیوژ جدا گردیدند. غلظت های مختلفی از آکروئین (μM ۱۰۰ تا $2000 \mu\text{M}$) برای به دست آوردن دوز IC_{50} استفاده شد. غلظت های مختلفی از رزوراترول ($2/5 \mu\text{M}$ تا $40 \mu\text{M}$) برای سنجش بقای میتوکندری ها در حضور آکروئین مورد ارزیابی قرار گرفت.	واژگان کلیدی: آکروئین میتوکندری رزوراترول استرس اکسیداتیو
یافته ها: در این مطالعه IC_{50} آکروئین با روش MTT Assay معادل 400 میکرومولار محاسبه گردید. هیچ اثر سمی برای رزوراترول مشاهده نشد و در حضور آکروئین، کاهش معنی داری در بقاء میتوکندری ها حتی در غلظت های بالای رزوراترول، در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0/001$).	تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی محفوظ است.
نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که رزوراترول در غلظت های استفاده شده در این مطالعه اثرات محافظتی بر سمیت حاد آکروئین نداشته است و اینکه یک ماده محافظ می تواند یک آنتی اکسیدان قوی باشد، به این معنی نیست که می تواند از آسیب های میتوکندریایی ناشی از هر سمی جلوگیری کند.	

مقدمه

قرار بگیرد [۳، ۴]. این ماده به عنوان یک واسطه ضروری برای سنتز تعداد زیادی از مواد شیمیایی و آلی در مقیاس صنعتی تولید می شود [۲]. علاوه بر صنعت در محیط زیست، در طول احتراق ناقص سوخت های نفتی (دود خارج شده از آگزوز خودروها)، پلاستیک، کاغذ و چوب منتشر می شود و بخش عمده ای از دود سیگار حدود $(25-140 \mu\text{g}/\text{cigarette})$ را شامل می شود [۵]. از طرفی دیگر این ماده در روغن های گیاهی و حیوانی که در حین پخت و پز حرارت بالا می بینند تولید می شود و همینطور در آب آشامیدنی هم وجود دارد و یک الکتروفیل بسیار قوی است که در داخل بدن تا چندین روز هم فعال باقی می ماند [۶]. آکروئین هم در تماس مزمن و هم در تماس حاد اثرات قابل توجهی دارد. این ماده بسیار محلول در آب است و به سرعت می تواند وارد بافت های بدن شود. مکانیسم های مستقیم سمیت آکروئین مانند اضافه شدن به پروتئین و DNA، و مکانیسم های غیر مستقیم شامل القاء استرس اکسیداتیو، اختلال در میتوکندری و

کبد نقش اساسی در متابولیسم چربی ها و سوخت و ساز بدن دارد، میتوکندری سلول های کبدی (هیپاتوسیت ها) منابع اصلی تولید ATP می باشند. این اندامک نقش مهمی در میزان تولید ATP و ظرفیت آنتی اکسیدانی، اکسیداسیون چربی و فرآیند مرگ سلولی بر عهده دارد. عوامل سمی بسیاری از طریق افزایش سطح استرس اکسیداتیو سبب سرکوب عملکرد میتوکندری سلول می شوند [۱]. پروپنال یا آکروئین یک آلدئید الکتروفیل غیر اشباع α و β می باشد که در دمای اتاق به صورت بی رنگ و قابل اشتعال با بوی تحریک کننده و بسیار فرار وجود دارد [۲]. این ماده یک آلاینده مهم زیست محیطی، غذایی و آبی می باشد که توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا به عنوان یکی از ۱۸۸ آلاینده پر خطر شناسایی شده است که اهمیت مواجهه با آن را در تماس های روزانه افراد از طریق تنفسی، پوستی و خوراکی دو چندان می کند و می تواند در ایجاد بسیاری از بیماری ها از جمله آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، بیماری آلزایمر، بیماری های قلبی و عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی مورد توجه

[۱۱]. سپس سوپرناتانت به دست آمده با سرعت ۱۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت دوم حاوی قطعات میکروزومال و میتوکندری های شکسته شده است. رسوب پایینی دوباره در بافر مانیتول پیتناژ شده و در ۱۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای خالص سازی این مرحله چندبار تکرار شد. سوسپانسیون میتوکندری های جدا شده در محلول بافری بالا در دمای ۴°C برای سنجش های مورد نظر مورد استفاده قرار گرفت [۱۲].

تعیین میزان پروتئین

رسوب میتوکندریایی با بافر تخلیص به حجم مشخص رسانده شد، سپس میزان پروتئین آن با روش برادفورد سنجش گردید. حجم نهایی سوسپانسیون میتوکندری حاوی 1 mg protein/ml در نظر گرفته شد. سوسپانسیون میتوکندری به دست آمده در گروه های مختلف و در معرض غلظت های مختلفی از زوراترول (۵، ۲/۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میکرومولار) قرار گرفت [۱۳، ۱۴].

سنجش Viability و میزان IC50 به وسیله روش MTT assay

این روش رنگ سنجی، معیاری کمی برای تعیین زنده ماندنی است که در آن نمک زرد رنگ تترازولیوم (MTT) توسط آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی احیا و شکسته می گردد و موجب تشکیل کریستال های بنفش رنگ فورمازان غیر محلول می شود، بنابراین از حلال DMSO استفاده شد تا کریستال های فورمازان را حل کند [۱۵].

به ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون میتوکندریایی غلظت های مختلفی از ماده محافظتی زوراترول (۵، ۲/۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میکرومولار) به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تماس داده شد و سپس با دوز IC50 به دست آمده از آکرولئین به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تماس داده شد. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT با غلظت نهایی ۰/۵ mg/ml را به هر میکروتیوب حاوی سوسپانسیون میتوکندریایی تیمار شده اضافه گردید و به مدت ۴۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۲۰-۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا انکوبه گردد. سپس به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید. در نهایت جذب در طول موج ۵۷۰ nm در دستگاه الیزا ریدر قرائت شد. درصد مهار میتوکندری با غلظت های مختلف آکرولئین (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۶۰۰، ۲۰۰۰ میکرومولار) طبق رابطه زیر محاسبه شد و با استفاده از نرم افزار Excel میزان IC50 در غلظت ۴۰۰ میکرومولار محاسبه شد.

$$100 \times \frac{\text{جذب ماده سمی} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} = \text{درصد مهار میتوکندری}$$

آنالیز آماری

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. برای هر سری از داده ها میانگین سطح متغیر به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ بیان شده و برای مقایسه میانگین ها از آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد. برای بررسی و تعیین اختلاف میانگین ها و معنی دار بودن نتایج آنالیز از One way ANOVA و $P < 0/05$ به عنوان سطح معناداری اختلاف از لحاظ آماری، در نظر گرفته شد.

استرس در شبکه آندوپلاسمی می باشد که ارگان ها و شرایط پاتولوژیکی را تحت تأثیر قرار می دهد [۷].

مسیر اصلی حذف آکرولئین توسط کنزوگه شدن با گلوپاتین (GSH) در کبد است. تماس با آکرولئین به سرعت و به طور چشمگیری گلوپاتین داخل سلولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی را کاهش می دهد و سبب اختلال در میتوکندری می شود [۸]. زوراترول (۳، ۴، ۵ - تری هیدروکسی - ترانس - استیل بن) یک پلی فنول طبیعی است که در منابع مختلفی از جمله پوست انگور، انواع توت ها و بادام زمینی وجود دارد. این ماده ارزشمند ترکیب مفیدی برای سلامتی انسان است. زوراترول می تواند از پیشرفت بسیاری از بیماری ها که شامل بیماری های مرتبط با التهاب از جمله سرطان، بیماری های نورودژنراتیو، بیماری های مزمن قلبی عروقی، آسیب های ایسکمیک و عفونت های ویروسی و نیز افزایش مقاومت به استرس، جلوگیری کند. یافته های تجربی نشان می دهد که زوراترول بر چندین هدف سلولی مانند تکثیر و رشد سلولی، آپوپتوز، التهاب، آنژیوژنز و متاستاز اثرات قابل توجهی را دارد. شواهد *Invitro* اثرات مهاری زوراترول را در سرطان کبد بر سلول های HepG2 نشان می دهد [۹]. در مطالعه صورت گرفته در محیط *Invitro*، زوراترول با افزایش سطح دفاع آنتی اکسیدانی طبیعی در انواعی از سلول های چشم سبب کاهش استرس اکسیداتیو شده است [۱۰]. با توجه به خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی زوراترول، در این مطالعه اثر زوراترول بر سمیت ناشی از آکرولئین در میتوکندری های جدا شده از سلول های کبد موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

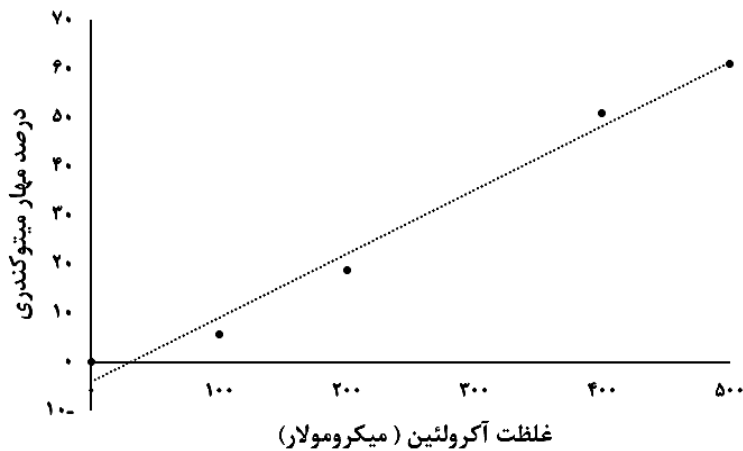
روش کار

مواد: در این تحقیق آکرولئین، زوراترول و سایر مواد از کمپانی سیگما مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات: موش های صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفتند. در این مطالعه از کبد موش های صحرایی سالم، میتوکندری تخلیص شده و مورد استفاده قرار گرفته است. هر آزمایش حداقل ۳ بار در روزهای متفاوت تکرار شده است. موش ها یک هفته قبل از شروع آزمایش در شرایط کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی با در نظر گرفتن دوره نوری از ۷ صبح تا ۷ شب، دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۲۵ تا ۳۰ درصد در شرایط طبیعی و رژیم غذایی طراحی شده (غذای مخصوص موش صحرایی) نگهداری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند. در کار با حیوان آزمایشگاهی منشور اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تربیت مدرس ملاک عمل این تحقیق بود.

ابتدا موش صحرایی با کتامین ۹۰ mg/kg و زایلازین ۱۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی بیهوش گردید. کبد موش صحرایی از بدن حیوان جدا و سپس در بافر مانیتول که شامل ۱۰ mM HEPES، ۲۰۰ mM سوکروز و ۷۰ mM EGTA ۱ شستشو داده شدند. و در پلیت بر روی یخ وزن گردید و با قیچی قطعه قطعه شد. کبد قطعه قطعه شده بر روی یخ به آرامی با هموژنایزر دستی همراه با بافر مانیتول هموژنیزه گردید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰g در دمای ۴°C به وسیله سانتریفیوژ یخچال دار، سانتریفیوژ شد. در این مرحله هسته و سلول های شکسته شده و دیگر بافت های سلولی حذف می شوند

میتوکندری در نمودار قرار داده و غلظت ۴۰۰ میکرومولار به عنوان غلظت IC50 محاسبه شد.

به دست آوردن غلظت IC50 در حضور آکرولتین بر میتوکندری های تخلیص شده؛ جذب خوانده شده از غلظت های مختلفی از آکرولتین را در سنجش زنده مانای میتوکندری ها با استفاده از فرمول درصد مهار



تصویر ۱: محاسبه غلظت IC50 آکرولتین

مانی میتوکندری ها از طریق سنجش تست MTT پس از چهار دقیقه تماس میتوکندری ها با غلظت های مختلف رزوراترول انجام شد و جذب آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الیزاریدر قرائت گردید. در این بررسی رزوراترول در همه غلظت ها تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل در زنده مانای میتوکندری نداشته است.

سوسپانسیون میتوکندری به مدت چهار دقیقه در معرض غلظت های مختلف رزوراترول قرار گرفت سپس به مدت چهار دقیقه با معرف MTT انکوبه شد و جذب آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزاریدر خوانده شد.

سوسپانسیون میتوکندری به مدت چهار دقیقه در معرض غلظت های مختلف آکرولتین قرار گرفت سپس به مدت چهار دقیقه با معرف MTT انکوبه شد و جذب آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزاریدر خوانده شد. نتایج حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

یافته ها

بررسی اثر غلظت های مختلف رزوراترول بر سنجش زنده مانای میتوکندری های تخلیص شده از سلولهای کبدی موش صحرایی: زنده



تصویر ۲: اثر غلظت های مختلف رزوراترول بر میزان تبدیل MTT

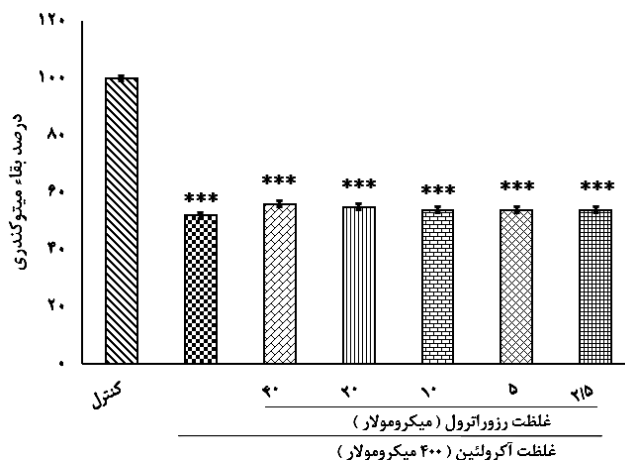
زنده مانای میتوکندری ها از طریق سنجش تست MTT پس از چهار دقیقه تماس میتوکندری ها با غلظت های مختلف رزوراترول و سپس چهار دقیقه تماس با غلظت 400 μM آکرولتین (غلظت IC50) انجام شد. رزوراترول در تمام غلظت ها نتوانسته در حضور آکرولتین اثر

نتایج به صورت mean±SE حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده و برای مقایسه میانگین ها از آنالیز آماری (ANOVA) استفاده شد. بررسی اثر محافظتی رزوراترول بر سنجش زنده مانای میتوکندری در حضور آکرولتین:

دستگاه الیزاریدر خوانده شد. نتایج به صورت $mean \pm SE$ حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز آماری (ANOVA) استفاده شد.

محافظتی خود را بر میتوکندری‌ها اعمال کند و تفاوت معناداری با گروه کنترل داشته است.

پس از تماس میتوکندری‌ها با غلظت‌های مختلفی از رزوراترول و چهل دقیقه تماس با غلظت ۴۰۰ میکرومولار آکرولئین (غلظت IC50) و معرف MTT، جذب حاصل در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله



تصویر ۳: اثر محافظتی رزوراترول در حضور آکرولئین

*** نشان دهنده اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل می‌باشد ($P < 0.001$).

بحث

امروزه نقش میتوکندری در سن شروع بیماری، شدت بیماری‌ها، آپوپتوزیس و مرگ سلولی مشخص شده است [۱۶]. اهمیت مطالعه میتوکندری‌ها به علت نقش این ارگانل در پاتولوژی بسیاری از بیماری‌ها و پیری است [۱۷]. آکرولئین نقش مهمی را در چندین بیماری از جمله آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، بیماری آلزایمر، بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی ایفا می‌کند. قرار گرفتن در معرض آکرولئین در سطح سلولی، اثرات سمی گوناگونی از جمله adduct شدن با DNA و پروتئین، استرس اکسیداتیو، اختلال در میتوکندری، آسیب غشایی، استرس در شبکه آندوپلاسمی و اختلال در عملکرد ایمنی و ایجاد التهاب را در پی دارد [۱۷]. در مطالعه سلولی که در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت، آکرولئین سبب افزایش نفوذ پذیری میتوکندری و اختلال در عملکرد آن و افزایش استرس اکسیداتیو در هیاتوسیت‌ها گردید. در این مطالعه زنده‌مانی هیاتوسیت‌ها، در حضور آکرولئین به مدت ۲۴ ساعت نشان داد که از غلظت ۲/۵ میکرومولار تا غلظت ۲۵ میکرومولار آکرولئین تفاوت معناداری با گروه کنترل وجود ندارد و غلظت مهاری ۵۰٪ از هیاتوسیت‌ها بین غلظت ۵۰ و ۷۵ میکرومولار اندازه‌گیری شده است [۸]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت، نشان داده شد که آکرولئین به عنوان سم میتوکندریایی سبب ایجاد اختلال در عملکرد آن می‌شود و سمیت آکرولئین نقش مهمی در سمیت سلول‌های کبدی و بیماری‌های مرتبط با سیگار کشیدن ایفا می‌کند. در این بررسی آکرولئین به صورت وابسته به دوز، سبب مهار NADH و سوکسینات مرتبط با زنجیره تنفسی میتوکندریایی، تغییر در نفوذپذیری غشای میتوکندری، افزایش در کربونیل‌های پروتئینی و مهار انتخابی آنزیم‌های کمپلکس I و II میتوکندری، پیرووات دهیدروژناز، آلفا

کتوگلوکوتارات دهیدروژناز شد. در این مطالعه پس از ۶۰ دقیقه تماس میتوکندری‌ها با آکرولئین، فعالیت کمپلکس I میتوکندریایی در غلظت ۵۰۰ میکرومولار شروع به کاهش یافت و با افزایش غلظت آکرولئین به آهستگی کاهش یافت و فعالیت کمپلکس II از غلظت ۱۰۰ میکرومولار شروع به کاهش یافت و با افزایش غلظت آکرولئین به شدت کاهش یافت [۱۸].

بر طبق مطالعات قبلی صورت گرفته بر روی میتوکندری از غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار برای به دست آوردن IC50 در این مطالعه استفاده شد (تصویر ۱). با به دست آوردن غلظت مهاری ۵۰٪ از میتوکندری‌ها (IC50) در غلظت ۴۰۰ میکرومولار، نتایج نشان می‌دهند که اثرات سمی آکرولئین بر میتوکندری‌های تخلیص شده از سلول‌های کبدی موش صحرایی در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار بروز می‌کند که در مطالعات سلولی در غلظت‌های پایین‌تر از ۱۰۰ میکرومولار این نتایج به دست آمده است. یک منبع مهم تولید آکرولئین در سلول پراکسیداسیون لیپید مرتبط با استرس اکسیداتیو می‌باشد که آکرولئین را به عنوان یک محصول جانبی تولید می‌کند. آکرولئین یک ترکیب بسیار واکنش‌پذیر با خاصیت الکتروفیلی است که با نوکلئوفیل‌های سلولی واکنش می‌دهد و سبب تخلیه آن‌ها می‌شود. آکرولئین به سرعت ظرفیت آنتی‌اکسیدانت گلوکوتاتیون را کاهش می‌دهد و قادر به ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد [۱۹]. علاوه بر این که آکرولئین محصول جانبی پراکسیداسیون لیپیدی است، خودش هم به تنهایی می‌تواند سبب القای پراکسیداسیون لیپیدی شود. این آلدئید واکنش‌پذیر در ایجاد آسیب اکسیداتیو در سلول‌ها و بافت‌ها نقش بالقوه‌ای ایفا می‌کند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ انجام شد، نشان داد که غلظت‌های آکرولئین در محیط *In vivo* با افزایش زمان

مطالعات بسیاری وجود دارند که نشان می‌دهد رزوراترول به عنوان یک جاروب کننده و آنتی اکسیدان می‌تواند اثرات محافظتی خودش را اعمال کند [۲۶]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ در محیط بافری و غیر بیولوژیک انجام شد نشان می‌دهد که برهمکنش دو ماده آکرولئین و رزوراترول می‌تواند اثرات سمی آکرولئین را کاهش دهد، در حالی که غلظتی از رزوراترول که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است، معمولاً در شرایط فیزیولوژیک به دست نمی‌آید [۲۷]. در مطالعه حاضر در محیط بیولوژیک، آکرولئین در غلظت IC50 و در حضور رزوراترول باعث تخریب میتوکندری‌ها شده است. بررسی انجام شده نشان می‌دهد که رزوراترول نمی‌تواند پیشگیری لازم را انجام دهد و آکرولئین سبب کاهش زنده‌مانی میتوکندری‌ها در حضور رزوراترول شده است و تفاوت معناداری در تمام غلظت‌های رزوراترول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (تصویر ۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که میتوکندری می‌تواند به عنوان ارگان هدف برای سمیت ناشی از آکرولئین مطرح باشد و نقش مهمی را در سمیت هپاتوسیت‌ها و آسیب کبدی ایفا کند. بر طبق مطالعات قبلی، آکرولئین بیشترین اثرات سمی خود را از طریق استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید و کاهش گلوکوتائین اعمال می‌کند. با توجه به اینکه رزوراترول در شرایط استفاده شده نتوانسته در مقابل سمیت میتوکندریایی آکرولئین، اثرات محافظتی خود را اعمال کند، آنتی اکسیدان بودن به این معنی نیست که می‌تواند مانع از تخریب میتوکندری و مرگ نهایی آنها شود. از آنجایی که مکانیسم سموم مختلف متفاوت است، در سمیت‌های مختلف مواد محافظت کننده اثرات متفاوتی دارند و هر ماده‌ی محافظتی نمی‌تواند در مقابل هر سمی اثرات خود را اعمال کند. این یافته برای پیشگیری و یا درمان بیماری‌های وابسته به اختلال عملکرد میتوکندری می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان نامه کد ۱۲۸۲۷۳۵ مورخه ۹۶/۱۲/۱۶ دانشگاه تربیت مدرس مورد حمایت قرار گرفته است. بدین وسیله از کلیه کسانی که ما را یاری دادند صمیمانه سپاسگزاریم.

References

1. Song BJ, Akbar M, Abdelmegeed MA, Byun K, Lee B, Yoon SK, et al. Mitochondrial dysfunction and tissue injury by alcohol, high fat, nonalcoholic substances and pathological conditions through post-translational protein modifications. *Redox Biol.* 2014;3:109-23. doi: 10.1016/j.redox.2014.10.004 pmid: 25465468
2. Avezov K, Reznick AZ, Aizenbud D. LDH enzyme activity in human saliva: the effect of exposure to cigarette smoke and its different components. *Arch Oral Biol.* 2014;59(2):142-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.11.003 pmid: 24370185
3. Joshi-Barve S, Amancherla K, Patil M, Bhatnagar A, Mathews S, Gobejishvili L, et al. Acrolein, a ubiquitous pollutant and lipid hydroperoxide product, inhibits antiviral activity of interferon-alpha: relevance to hepatitis C. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(1):47-54. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.03.021 pmid: 19345260
4. Stevens JF, Maier CS. Acrolein: sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease.

پس از ایجاد آسیب، افزایش یافته است و از طرفی پراکسیداسیون لیپید یک واکنش زنجیره‌ای است و علاوه بر این، سلول‌های مرده آکرولئین را از سیتوزول به محیط خارج سلولی آزاد می‌کنند [۲۰]. با توجه به این که مواجهه با آکرولئین در محیط اجتناب ناپذیر است می‌توان از مواد طبیعی استفاده کرد که با اثر بر روی میتوکندری سمیت میتوکندری را کاهش می‌دهد.

رزوراترول یک پلی فنول طبیعی است که تعدد اثرات بیولوژیکی آن عمدتاً به واسطه فراوانی و تنوع اهداف مولکولی این ترکیب می‌باشد. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که رزوراترول دارای اثرات محافظتی بر قلب و عروق، ضد پلاکتهای خونی، آنتی اکسیدانت، ضد التهاب، پایین آورنده قند خون، چاقی، فعالیت‌های ضد سرطان و اثر محافظتی بر بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر می‌باشد [۲۱]. رزوراترول بیشترین اثر محافظتی خود بر روی کبد را از طریق مکانیسم دفاع آنتی اکسیدانی و اثرات ضد التهابی اعمال می‌کند. این ماده فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و گلوکوتائین پراکسیداز را افزایش داده است و همچنین سبب کاهش NF-kappaB در کبد موش‌های دیابتی شده است [۲۲]. در مطالعه حاضر، از غلظت‌های مختلف رزوراترول (۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار) بر میتوکندری‌های جدا شده از کبد استفاده شد و در همه غلظت‌ها هیچگونه سمیتی بر میتوکندری‌ها مشاهده نشد و تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل نداشتند (تصویر ۲). اثر رزوراترول بستگی به وضعیت ردوکس دارد که ممکن است نقش آنتی اکسیدان و یا پرواکسیدان را ایفا کند. غلظت رزوراترول و نوع سلول هم اهمیت دارد. اثرات اکسیدانی رزوراترول در مطالعات نشان داده شده است که سبب انفارکتوس میوکارد و آپوپتوز کاردیومیوست‌ها با دوزهای پایین و بالای رزوراترول در محیط *In vivo* شده است. در این مطالعه اثر محافظتی رزوراترول بر قلب، وابسته به دوز بوده است به دلیل اینکه در غلظت‌های پایین (۵ میکرومولار-۱۰ میکرومولار) رزوراترول فعالیت‌های آنتی اکسیدانی داشته است و در غلظت‌های بالا نقش اکسیدانی داشته است [۲۳]. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که اثرات نوروپروتکتیو رزوراترول در سلول‌های استروسیت هیپوکمپ، بیشتر با فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی مرتبط است [۲۴]. رزوراترول اثرات ضد توموری دارد و در حال حاضر برای پیشگیری و درمان سرطان روده در انسان مورد بررسی قرار گرفته است [۲۵].

5. Mol Nutr Food Res. 2008;52(1):7-25. doi: 10.1002/mnfr.200700412 pmid: 18203133
6. Bui LC, Manaa A, Xu X, Duval R, Busi F, Dupret JM, et al. Acrolein, an alpha,beta-unsaturated aldehyde, irreversibly inhibits the acetylation of aromatic amine xenobiotics by human arylamine N-acetyltransferase 1. *Drug Metab Dispos.* 2013;41(7):1300-5. doi: 10.1124/dmd.113.052258 pmid: 23633528
7. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9-19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613 pmid: 23268465
8. Moghe A, Ghare S, Lamoreau B, Mohammad M, Barve S, McClain C, et al. Molecular mechanisms of acrolein toxicity: relevance to human disease. *Toxicol Sci.* 2015;143(2):242-55. doi: 10.1093/toxsci/kfu233 pmid: 25628402
9. Mohammad MK, Avila D, Zhang J, Barve S, Arteel G, McClain C, et al. Acrolein cytotoxicity in hepatocytes involves endoplasmic

- reticulum stress, mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;265(1):73-82. doi: [10.1016/j.taap.2012.09.021](https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.09.021) pmid: 23026831
9. Bishayee A, Politis T, Darvesh AS. Resveratrol in the chemoprevention and treatment of hepatocellular carcinoma. *Cancer Treat Rev.* 2010;36(1):43-53. doi: [10.1016/j.ctrv.2009.10.002](https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2009.10.002) pmid: 19910122
 10. Lancon A, Frazzi R, Latruffe N. Anti-Oxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Properties of Resveratrol in Ocular Diseases. *Molecules.* 2016;21(3):304. doi: [10.3390/molecules21030304](https://doi.org/10.3390/molecules21030304) pmid: 26950104
 11. Mohammadi-Bardbori A, Ghazi-Khansari M. The inhibitory effect of captopril on paraquat toxicity in mitochondria isolated from the rat liver. *Toxicol Lett.* 2006;164:S246. doi: [10.1016/j.toxlet.2006.07.172](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.07.172)
 12. Hosseini MJ, Shaki F, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of copper on isolated liver mitochondria: impairment at complexes I, II, and IV leads to increased ROS production. *Cell Biochem Biophys.* 2014;70(1):367-81. doi: [10.1007/s12013-014-9922-7](https://doi.org/10.1007/s12013-014-9922-7) pmid: 24691927
 13. Bastianetto S, Menard C, Quirion R. Neuroprotective action of resveratrol. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1852(6):1195-201. doi: [10.1016/j.bbadis.2014.09.011](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.09.011) pmid: 25281824
 14. Sheu SJ, Liu NC, Ou CC, Bee YS, Chen SC, Lin HC, et al. Resveratrol stimulates mitochondrial bioenergetics to protect retinal pigment epithelial cells from oxidative damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(9):6426-38. doi: [10.1167/iovs.13-12024](https://doi.org/10.1167/iovs.13-12024) pmid: 24008411
 15. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983;65(1-2):55-63. doi: [10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
 16. Luo Z, Harada T, London S, Gajdusek C, Mayberg MR. Antioxidant and iron-chelating agents in cerebral vasospasm. *Neurosurgery.* 1995;37(6):1154-8; discussion 8-9. doi: [10.1227/00006123-199512000-00015](https://doi.org/10.1227/00006123-199512000-00015) pmid: 8584156
 17. Kaeidi A, Esmaeili-Mahani S, Abbasnejad M, Sheibani V, Rasouljan B, Hajjalizadeh Z, et al. Satureja khuzestanica attenuates apoptosis in hyperglycemic PC12 cells and spinal cord of diabetic rats. *J Nat Med.* 2013;67(1):61-9. doi: [10.1007/s11418-012-0646-y](https://doi.org/10.1007/s11418-012-0646-y) pmid: 22391800
 18. Sun L, Luo C, Long J, Wei D, Liu J. Acrolein is a mitochondrial toxin: effects on respiratory function and enzyme activities in isolated rat liver mitochondria. *Mitochondrion.* 2006;6(3):136-42. doi: [10.1016/j.mito.2006.04.003](https://doi.org/10.1016/j.mito.2006.04.003) pmid: 16725382
 19. Roy J, Palapati P, Bettaieb A, Tanel A, Averill-Bates DA. Acrolein induces a cellular stress response and triggers mitochondrial apoptosis in A549 cells. *Chem Biol Interact.* 2009;181(2):154-67. doi: [10.1016/j.cbi.2009.07.001](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2009.07.001) pmid: 19596284
 20. Tanel A, Averill-Bates DA. Activation of the death receptor pathway of apoptosis by the aldehyde acrolein. *Free Radic Biol Med.* 2007;42(6):798-810. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2006.12.009](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.12.009) pmid: 17320762
 21. Kursvietiene L, Staneviciene I, Mongirdiene A, Bernatoniene J. Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicina (Kaunas).* 2016;52(3):148-55. doi: [10.1016/j.medici.2016.03.003](https://doi.org/10.1016/j.medici.2016.03.003) pmid: 27496184
 22. Szkudelski T, Szkudelska K. Resveratrol and diabetes: from animal to human studies. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1852(6):1145-54. doi: [10.1016/j.bbadis.2014.10.013](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.10.013) pmid: 25445538
 23. Dudley J, Das S, Mukherjee S, Das DK. Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. *J Nutr Biochem.* 2009;20(6):443-52. doi: [10.1016/j.jnutbio.2008.05.003](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.05.003) pmid: 18789672
 24. Bellaver B, Souza DG, Souza DO, Quincozes-Santos A. Resveratrol increases antioxidant defenses and decreases proinflammatory cytokines in hippocampal astrocyte cultures from newborn, adult and aged Wistar rats. *Toxicol In Vitro.* 2014;28(4):479-84. doi: [10.1016/j.tiv.2014.01.006](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.01.006) pmid: 24462605
 25. Bishayee A. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials. *Cancer Prev Res (Phila).* 2009;2(5):409-18. doi: [10.1158/1940-6207.CAPR-08-0160](https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-08-0160) pmid: 19401532
 26. Gambini J, Ingles M, Olaso G, Lopez-Grueso R, Bonet-Costa V, Gimeno-Mallench L, et al. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:837042. doi: [10.1155/2015/837042](https://doi.org/10.1155/2015/837042) pmid: 26221416
 27. Wang W, Qi Y, Rocca JR, Sarnoski PJ, Jia A, Gu L. Scavenging of Toxic Acrolein by Resveratrol and Hesperetin and Identification of Adducts. *J Agric Food Chem.* 2015;63(43):9488-95. doi: [10.1021/acs.jafc.5b03949](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03949) pmid: 26457480