Archive of SID

Original Article

Protective Effects of Gamma Oryzanol on Renal and Brain Damage Following Experimental Renal Ischemia-reperfusion Injury among Rats

Yasin Bagheri[1], Daryoush Mohajeri[2*], Davoud Kazemi[3]

[1] PhD Student of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

[2] Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

[3] Assistant Professor, Department of Veterinary Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

***Corresponding Author:**
Daryoush Mohajeri;
Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

Email:
daryoushmohajeri@yahoo.com

Received: 28 Oct, 2020
Accepted: 20 Feb, 2021

Abstract

Background and Objectives: Renal ischemia/reperfusion injury is one of the major causes of acute renal failure. This study aimed to investigate the effects of gamma oryzanol administrated by gavage and intraperitoneal methods on the antioxidant function and status of the kidneys and brain tissue after the induction of ischemia-reperfusion injury in the kidneys of rats.

Methods: The statistical population of this study consisted of 24 male rats divided into four 6-member groups, including the sham group without ischemia, control group with ischemia-reperfusion induction, ischemia-reperfusion group receiving treatment with 100 mg/body weight intraperitoneally, and ischemia-reperfusion group administered with a dose of 100 mg/body weight by gavage method. Gamma oryzanol was administered 1 h followed by the onset of left renal ischemia for 30 min. After 6 h of reperfusion, blood creatinine and urea and antioxidant function of the kidneys and brain tissue were measured.

Results: The results showed that the administration of gamma oryzanol by both methods of intraperitoneal injection and gavage caused a significant reduction in creatinine and blood urea levels, compared to the control group ($P<0.05$). Moreover, the amounts of glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase, and total oxidant capacity of kidney and brain tissue were significantly increased in the groups receiving treatment with gamma oryzanol; however, malondialdehyde level was significantly reduced in the same group, compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: Based on the results, gamma oryzanol improved renal function and reduced the negative severity of ischemia-reperfusion injury in renal and brain tissues. It was also found that the gavage method performed better than the intraperitoneal injection method.

Keywords: Brain; Gamma oryzanol; Ischemia; Kidney; Rat.

DOI: 10.29252/qums.14.11.69

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره چهاردهم، شماره یازدهم، بهمن ۹۹
صفحه ۶۹ الی ۷۷

Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

بررسی اثرات محافظتی گاماوریزانول بر آسیب کلیوی و مغز متعاقب ایسکمی-بازخون‌رسانی تجربی کلیه در موش صحرایی

یاسین باقری[۱]، داریوش مهاجری[۲*]، داوود کاظمی[۳]

[۱] دانشجوی دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

[۲] استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

[۳] استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
داریوش مهاجری؛ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
daryoushmohajeri@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۲

چکیده

زمینه و هدف: آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی مجدد کلیه یکی از مهم‌ترین عوامل نارسایی حاد کلیوی به شمار می‌رود. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات گاماوریزانول (GO: Gamma Oryzanol) به دو روش تجویز گاواژ و داخل صفاقی بر عملکرد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کلیه و بافت مغز پس از القای آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی در کلیه موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه، ۲۴ سر موش صحرایی نر به چهار گروه شش‌تایی شامل: گروه شم بدون ایجاد ایسکمی، گروه کنترل به همراه القای ایسکمی- بازخون‌رسانی، گروه ایسکمی- بازخون‌رسانی به همراه تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر وزن بدن به صورت داخل صفاقی و گروه ایسکمی- بازخون‌رسانی به همراه تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر وزن بدن به صورت گاواژ تقسیم شدند. گاماوریزانول یک ساعت قبل از ایجاد ایسکمی کلیه سمت چپ که به مدت ۳۰ دقیقه بود، تجویز گردید. پس از گذشت شش ساعت از بازخون‌رسانی مجدد، کراتینین، اوره خون و عملکرد آنتی‌اکسیدانی بافت کلیه و مغز مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: تجویز گاماوریزانول به روش تزریق داخل صفاقی و گاواژ موجب کاهش معنادار سطوح کراتینین و اوره خون نسبت به گروه کنترل شد ($P<۰/۰۵$). میزان گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و ظرفیت تام اکسیدان بافت مغز و کلیه در گروه‌های تحت تیمار با گاماوریزانول موجب افزایش معنادار و میزان مالون‌دی‌آلدئید گروه‌های تحت تیمار با گاماوریزانول موجب کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل شده است ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که گاماوریزانول موجب بهبود عملکرد کلیه و کاهش شدت آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی در بافت کلیه و مغز می گردد. همچنین تجویز به روش گاواژ، عملکرد بهتری نسبت به روش تزریق داخل صفاقی دارد.

کلیدواژه‌ها: ایسکمی؛ کلیه؛ گاماوریزانول؛ مغز؛ موش صحرایی.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Bagheri Y, Mohajeri D, Kazemi D. Protective Effects of Gamma Oryzanol on Renal and Brain Damage Following Experimental Renal Ischemia-reperfusion Injury among Rats. Qom Univ Med Sci J 2021;14(11):69-77. [Full Text in Persian]

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

مقدمه

نارسایی حاد کلیه ایسکمیک یک سندرم بالینی است که به دنبال قطع یا افت فشار خون کلیه و پیوند آن ایجاد می‌شود (۱). با وجود اقدامات پیشگیرانه و مراقبت‌های درمانی، این بیماری همچنان با مرگ و میر بیش از ۴۵ درصد همراه است (۲). بازگشت مجدد جریان خون به دنبال ایسکمی، موج جدیدی از آسیب را در عضو به بار می‌آورد. آسیب ایسکمیک- خون‌رسانی مجدد (I/R: Ischemia-reperfusion) کلیوی علت اصلی نارسایی حاد کلیه می‌باشد (۳). برقراری مجدد جریان خون سبب فراهم آوردن میزان زیادی اکسیژن برای آن عضو می‌شود. افزایش غلظت اکسیژن باعث افزایش رادیکال‌های آزاد همچون سوپراکسیداز می‌گردد (۱). این رادیکال‌های آزاد دارای اثرات سیتوتوکسیک شامل: اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به DNA (Deoxyribonucleic acid) و القای آپوپتوز می‌باشند (۴). رادیکال‌های آزاد با کمک جریان خون به سایر عضوهای بدن همچون قلب، مغز و کبد منتقل می‌گردند و با ایجاد اختلال در تولید و عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی بافت‌ها موجب آسیب بافتی در آن ارگان‌ها می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD: Superoxide dismutase)، کاتالاز (CAT: Catalase) و گلوتاتیون (GSH: Glutathione) مسئول مقابله با رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌باشند (۵). عدم تعادل بین سیستم اکسیدان و آنتی‌اکسیدان منجر به بیماری‌زایی و اختلالاتی همچون آسیب بافتی می‌شود؛ بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای مهار و درمان این اختلال توجه زیادی را به خود جلب کرده است. اگرچه درمان قطعی برای جلوگیری از آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد موجود نمی‌باشد؛ اما امروزه مداخلاتی مانند انسداد مسیرهای تولید رادیکال‌های آزاد و استفاده از داروهای ضد التهاب جهت کاهش آسیب به بافت صورت می‌گیرد (۶،۷).

شرایط پاتولوژیک نظیر سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی- عروقی، ایسکمی و آماس در تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن دخیل هستند؛ بنابراین از بین بردن گونه‌های رادیکال اکسیژن، یک راهکار تدافعی مؤثر در برابر بیماری‌ها مختلف قلمداد می‌شود (۸). آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که در صورت وجود در غذاها و بدن، حتی در مقادیر ناچیز می‌توانند بدن را در برابر انواع مختلف آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن محافظت کنند (۷).

استفاده از داروهای گیاهی به منظور درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها به سرعت در حال توسعه بوده و توجه ویژه‌ای به اثرات محافظتی آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ طبیعی در برابر بیماری‌ها شده است (۹). مواد بیولوژیک با منشأ گیاهی، شاخه‌ای از فارماکوتراپی مدرن بیماری‌ها را تشکیل می‌دهند و مطالعات متعددی اثرات آن‌ها را در مهار و درمان بیماری‌هایی مانند آسیب I/R کلیوی به اثبات رسانده‌اند (۱۰).

از جمله گیاهانی که ترکیبات آن دارای خواص قوی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، برنج است. برنج یکی از مهم‌ترین مواد غذایی می‌باشد که امروزه در سراسر جهان به صورت روزانه مصرف می‌گردد؛ به طوری که بیش از ۴۰ درصد از مردم دنیا، تغذیه وابسته به برنج دارند (۱۱). گاماوریزانول (GO) یک ماده شیمیایی فعال گیاهی است که به طور طبیعی در روغن سبوس برنج قهوه‌ای در غلظت‌های ۱ تا ۳ درصد وجود دارد. در جو و ذرت نیز به مقدار کمتری یافت می‌شود (۱۱). گاماوریزانول دارای ترکیباتی مانند استرهای اسید فرولیک، فیتواسترول، بتا-سیتوسترول، سیکلوآرتنول و کمپسترول می‌باشد. ثابت شده است که گاماوریزانول می‌تواند به طور کامل به مغز برسد (۱۲). علاوه‌براین، گزارش شده است که گاماوریزانول دارای طیف گسترده‌ای از اثرات درمانی همچون کاهش سطح کلسترول و مهار تجمع پلاکت‌ها می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که گاماوریزانول به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان، ضد دیابت، کاهنده التهاب و بهبوددهنده زخم مطرح می‌باشد (۱۱،۱۲).

اگرچه عوامل دارویی متنوعی برای درمان انواع بیماری‌ها وجود دارد؛ اما اغلب بیماران قادر به تحمل اثرات جانبی داروهای شیمیایی نیستند. از سوی دیگر، اکثر گیاهان اثرات جانبی بسیار کمتری را بر بیماران بر جای می‌گذارند (۱۰). با انجام این مطالعه، خاصیت دارویی گاماوریزانول در محافظت از بافت‌های کلیه و مغز در شرایط ایسکمی- بازخون‌رسانی تجربی کلیه در موش‌های صحرایی مشخص گردید که در صورت تأیید می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی مفید جهت محافظت و کاهش اثرات زیان‌آور ایسکمی- بازخون‌رسانی در بدن مورد استفاده قرار گیرد.

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

با توجه به اینکه گاماوریزانول دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، انتظار می‌رود که تجویز این ماده بتواند از آسیب کلیه و مغز موش‌های صحرایی متعاقب ایسکمی- بازخون‌رسانی تجربی کلیه جلوگیری نماید. با توجه به مطالب بیان شده، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات محافظتی گاماوریزانول بر آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی کلیه با استفاده از دو روش تجویز گاواژ و داخل صفاقی و همچنین بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های کلیه و مغز در موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر- آزمایشگاهی می‌باشد. به منظور انجام این مطالعه، ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰±۲۳۰ گرم از مؤسسه انستیتو پاستور تهران خریداری شدند و در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نگهداری گردیدند. شرایط تغذیه و نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد بود. جیره غذایی یکسان و آب نیز به طور آزادانه در دسترس موش‌ها قرار گرفت و پس از ۱۰ روز عادت به شرایط جدید، آزمایش شروع شد (۱۰). شایان ذکر می‌باشد که در این مطالعه تمام موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (طبق قوانین مصوب کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی) رعایت شده است. موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه شش‌تایی شامل: گروه شاهد (Sham)، گروه ایسکمی- بازخون‌رسانی مجدد (I/R)، گروه ایسکمی- بازخون‌رسانی به همراه تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر وزن بدن گاماوریزانول به صورت داخل صفاقی (I/R+Gip) و گروه ایسکمی- بازخون‌رسانی به همراه تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر وزن بدن گاماوریزانول به صورت گاواژ (I/R+Gg) تقسیم شدند (۱۳).

ماده گاماوریزانول به صورت پودر سفید رنگ کمی متمایل به زرد و محلول در روغن از شرکت Tsuno Rice Fine Chemicals (Wakayama ،Japan) خریداری شد. گاماوریزانول یک ساعت قبل از جراحی با استفاده از روغن زیتون به صورت محلول درآمد و برای گروه‌های تیمار تجویز گردید. قبل از ایجاد ایسکمی و برقراری مجدد خون‌رسانی، تمام گروه‌ها توسط تزریق داخل صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش گردیدند (۱۴) و پس از ضد عفونی ناحیه جراحی، خط وسط در قسمت میانی شکم برش داده شد. شایان ذکر است که در گروه شاهد (Sham)، تنها به دست‌کاری عروق کلیه چپ اکتفا گردید و در سایر گروه‌ها، عروق کلیه چپ به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله گیره غیر ضربه‌ای عروقی مسدود شد (۱۵). پس از برداشتن گیره و رفع انسداد، حفره شکمی بخیه زده شد و حیوانات به قفس‌های خود بازگردانده شدند.

پس از شش ساعت بازخون‌رسانی (۱۵)، موش‌ها مجدداً بیهوش شدند. به منظور اندازه‌گیری برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی شامل: کراتینین (Creatinine) و اوره (Urea)، نمونه خون از بطن چپ اخذ گردید. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ (Germany، Eppendorf) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا شد. پس از خون‌گیری، مغز و کلیه چپ موش‌ها به سرعت از بدن آن‌ها خارج گردید و پس از شسته شدن با سرم فیزیولوژی برای اندازه‌گیری کاتالاز (CAT)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA: Malondialdehyde)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون (GSH)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx: Glutathione peroxidase) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC: Total antioxidant capacity) در فریزری با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه و مغز، پس از خارج نمودن نمونه‌ها از فریزری با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد، هموژنیزاسیون با اضافه نمودن بافر فسفات به بافت‌ها (نسبت ۱:۱۰) و با استفاده از دستگاه هموژنایزر در دمای کمتر از ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس، مخلوط هموژن شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در ادامه، محلول شفاف فوقانی جدا شد و برای اندازه‌گیری MDA، GSH، SOD، TAC، CAT و GPx با استفاده از روش رنگ‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت. آنزیم GSH طبق دستورالعمل کیت (Germany، Darmstadt، Sigma Aldrich) (۱۶)، آنزیم‌های SOD (۱۷)، MDA (۱۸)، CAT (۱۹) و GPX (۲۰) طبق دستورالعمل کیت (Germany، Biocore، Zellbio) و TAC طبق دستورالعمل کیت (USA،

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

Elabscience) مورد سنجش قرار گرفتند.

میزان اوره و کراتینین سرم نیز طبق دستورالعمل کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) و به روش رنگ‌سنجی، اندازه‌گیری شد و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Tokyo ،Japan، Olympus AU-600) اندازه‌گیری صورت گرفت.

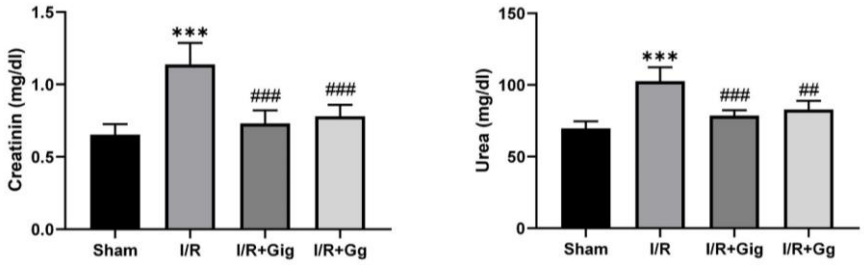
تحلیل آماری

داده‌های کمی به دست آمده به صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شدند. اختلاف معنادار بین گروه‌ها توسط آزمون‌های ANOVA و تعقیبی Tukey در سطح معناداری (P<۰/۰۵) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 23 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، مقدار کراتینین و اوره در گروه I/R (به ترتیب ۰/۱۴±۱/۱۴ و ۹/۷۷±۱۰۲/۵۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به گروه شم (به ترتیب ۰/۰۸±۰/۶۵ و ۴/۹۶±۶۹/۷۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) افزایش معناداری داشته است (P<۰/۰۰۱). گاماوریزانول به دو روش تجویز تزریق داخل صفاقی و گاواژ در گروه‌های I/R+Gip و I/R+Gg توانسته‌اند به طور معناداری موجب کاهش مقدار کراتینین و اوره سرم در گروه‌های تیمار نسبت به گروه I/R شوند (P<۰/۰۱).

بررسی نتایج آنزیم‌های اکسیداتیو در بافت کلیه و مغز نشان می‌دهند (جداول ۱ و ۲) که میزان MDA در گروه I/R نسبت به گروه شم افزایش معناداری داشته است (P<۰/۰۰۱). همچنین این ماده در گروه‌های تیمار با گاماوریزانول موجب کاهش سطح MDA در بافت‌های کلیه (P<۰/۰۰۱) و مغز (Gip: P<۰/۰۵ و Gg: P<۰/۰۱) گردیده است. از سوی دیگر در مقایسه بین دو روش تجویز گاماوریزانول، اختلاف معناداری بین این دو روش (گاواژ و تزریق داخل صفاقی) در MDA در بافت کلیه وجود داشته (P<۰/۰۵) و روش تجویز گاواژ از عملکرد بهتری نسبت به روش تجویز داخل صفاقی برخوردار بوده است (Gip: ۱۵/۴۱±۳۹۲/۱۶ و Gg: ۲۱/۵۲±۳۲۳/۲۳ نانومول بر میلی‌گرم).



نمودار شماره ۱: اثر گاماوریزانول بر غلظت کراتینین و اوره سرم به دنبال آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی کلیه

نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند و n=۶ می‌باشد.

*** بیانگر اختلاف معنادار بین گروه I/R با گروه Sham با سطح معناداری P<۰/۰۰۱؛ ## و ### بیانگر اختلاف معنادار با گروه I/R به ترتیب با سطح معناداری P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱

جدول شماره ۱: اثر گاماوریزانول بر آنزیم‌های اکسیداتیو بافت کلیه به دنبال آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی کلیه

فراسنجه / گروه	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون دی آلدئید (نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بین المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون (نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)
Sham	۰/۴۰±۱۶/۹۳	۱۷/۰۲±۲۰۳/۷۴	۲/۲۹±۳۹/۴۹	۳/۴۹±۶۲/۴۲	۰/۵۶±۳۴/۱۳	۶/۶۴±۱۳۲/۱۶
I/R	۰/۲۸±۱۰/۵۷ ***	۳۳/۷۹±۷۱۰/۶۰ ***	۰/۸۶±۲۶/۰۸ ***	۲/۵۰±۵۱/۹۱ ***	۰/۳۰±۲۰/۲۷ ***	۶/۲۰±۹۷/۶۷ ***
I/R+Gip	۰/۳۳±۱۳/۵۶ ##	b۱۵/۴۱±۳۹۲/۱۶ ###	۱/۱۰±۳۱/۱۵ ##	۲/۷۴±۶۰/۷۲ ##	۰/۵۴±۳۲/۸۸ ##	۸/۳۸±۱۱۷/۷۹ ##
IR+Gg	۰/۲۳±۱۳/۰۵ ##	a۲۱/۵۲±۳۲۳/۲۳ ###	۲/۱۹±۳۱/۶۱ ##	۲/۱۶±۶۰/۲۹ ##	۰/۳۳±۳۰/۲۹ #	۹/۲۲±۱۲۱/۲۴ ##

نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند و n=۶ می‌باشد.

*** بیانگر اختلاف معنادار بین گروه I/R با گروه Sham با سطح معناداری P<۰/۰۰۱؛ #، ## و ### بیانگر اختلاف معنادار با گروه I/R به ترتیب با سطح معناداری P<۰/۰۵، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

جدول شماره ۲: اثر گاماوریزانول بر آنزیم‌های اکسیداتیو بافت مغز به دنبال آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی کلیه

فراسنجه / گروه	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون دی آلدئید (نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بین المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون (نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)
Sham	۱۳/۶۴±۰/۴۰	۱۵۹/۰۵±۱۳/۹۰	۳۱/۴۸±۱/۷۰	۱۱/۹۰±۰/۵۹	۱۲/۱۳±۰/۵۶	۳۸/۱۶±۱/۲۵
I/R	۱۱/۳۵±۰/۲۸ ***	۳۲۲/۷۹±۱۹/۸۷. ***	۲۳/۸۱±۰/۶۸ ***	۹/۵۵±۰/۴۵ ***	۸/۲۷±۰/۳۰ ***	۳۱/۹۰±۱/۰۵ ***
I/R+Gip	۱۲/۶۰±۰/۳۳ ###	۲۸۴/۹۶±۱۸/۴۵ #	۲۶/۵۸±۱/۱۲ #	۱۰/۷۱±۰/۳۶ #	۹/۸۸±۰/۵۴ ##	۳۴/۵۲±۱/۱۹ #
IR+Gg	۱۲/۷۵±۰/۲۳ ###	۲۵۹/۷۷±۱۶/۹۷ ##	۲۸/۶۲±۰/۸۲ ###	۱۰/۵۸±۰/۳۲ #	۹/۲۹±۰/۳۳ #	۳۶/۹۳±۱/۷۹ ##

نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند و n=۶ می‌باشد.

*** بیانگر اختلاف معنادار بین گروه I/R با گروه Sham با سطح معناداری P<۰/۰۰۱؛ #، ## و ### بیانگر اختلاف معنادار با گروه I/R به ترتیب با سطح معناداری P<۰/۰۵، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱

بر مبنای نتایج، گاماوریزانول در هر دو روش تجویز، میزان TAC بافت کلیه و مغز را نسبت به گروه I/R که موجب کاهش این آنزیم در مقایسه با گروه شم شده است (P<۰/۰۰۱) را به طور معناداری افزایش داده است (کلیه: P<۰/۰۱ و مغز: P<۰/۰۵).

همان‌طور که مشاهده می‌شود، آنزیم‌های SOD، CAT، GSH و GPx در گروه I/R نسبت به گروه شم در بافت‌های کلیه و مغز کاهش معناداری داشته است (P<۰/۰۰۱) (جداول ۱ و ۲). در گروه تیمار با گاماوریزانول با روش تزریق داخل صفاقی نیز افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های کلیه (P<۰/۰۱) و مغز (P<۰/۰۵) مشاهده می‌شود. گروه گاماوریزانول با روش گاواژ نیز عملکرد مشابهی با گروه تزریق داخل صفاقی داشته و موجب بهبود و افزایش معنادار سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های کلیه و مغز گردیده است (P<۰/۰۵).

بحث

آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی در کلیه یک پدیده چندین عاملی است و تصور می‌شود که تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن دارای نقش کلیدی در آسیب‌های I/R در کلیه و سایر بافت‌ها داشته باشند (۷). گونه‌های فعال اکسیژن، بسیار واکنش‌پذیر بوده و آسیب‌های جبران‌ناپذیری را به ماکرومولکول‌های بدن جانداران از جمله ژنوم، پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها وارد می‌سازند (۲۱). در شرایط فیزیولوژیک، یون سوپراکسید در میتوکندری توسط آنزیم‌های زنجیره انتقال الکترون، در سیتوزول توسط آنزیم‌هایی نظیر گزانتین اکسیداز و NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase) اکسیداز، در شبکه آندوپلاسمی توسط سیتوکروم P۴۵۰ و در غشای پلاسمایی توسط آنزیم فسفولیپاز A2 طی متابولیسم اسیدهای آراشیدونیک تولید می‌گردد. شایان ذکر است که یون سوپراکسید به وسیله سایر گونه‌های فعال اکسیژن نیز می‌تواند تبدیل شود (۲۱،۲۲). میزان رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها و بافت‌ها در شرایط طبیعی به دلیل تعادل بین تولید و حذف آن‌ها توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در یک حد معین ثابت می‌ماند. چندین سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی مسئول حفاظت از بافت‌ها در برابر استرس اکسیداتیو هستند که از جمله آن‌ها می‌توان به کاتالاز، گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و ویتامین‌هایی چون A و C اشاره کرد (۷). مطالعات متعددی خواص آنتی‌اکسیدانی گاماوریزانول را اثبات نموده‌اند (۱۱). در این راستا، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی گاماوریزانول در محافظت از بافت‌های کلیه و مغز پس از ایسکمی- بازخون‌رسانی کلیه انجام شد.

افزایش غلظت اوره و کراتینین خون که نشان‌دهنده میزان فیلتراسیون گلومرولی و عملکرد کلیه می‌باشد در گروه I/R نسبت به گروه شم کاهش معناداری داشت (P<۰/۰۰۱). همسو با نتایج مطالعات Kirkby و همکاران (۲۰۰۷) و Aboutaleb و همکاران (۲۰۱۹)، آسیب ایسکمی- بازخون‌رسانی بافت کلیه موجب افزایش کراتینین و اوره گردیده و در مقابل، باعث کاهش

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

عملکرد کلیه شده است (۱۵،۲۳). نتایج استفاده از گاماوریزانول در گروه‌های تیمار در نمودار ۱ نشان داده است. این ماده می‌تواند موجب بهبود عملکرد کلیه و کاهش غلظت کراتینین و اوره خون پس از ایسکمی- بازخون‌رسانی گردد.

پس از خون‌رسانی مجدد و بازاکسیژن‌رسانی، عدم تعادل بازاکسیژن‌رسانی و عملکرد تنفسی در میتوکندری منجر به تولید نسل عظیم آنیون سوپراکسید در میتوکندری می‌شود (۲۴). نتایج مربوط به آنزیم‌های اکسیداتیو حاصل از این مطالعه نشان دادند که ایسکمی- بازخون‌رسانی توانسته است موجب اختلال و کاهش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید در کلیه و مغز گردد (جداول ۱ و ۲). نتایج مربوط به گروه‌های تیمار با گاماوریزانول نیز نشان دادند که پیش‌درمانی با گاماوریزانول باعث محافظت در برابر پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد و کلیه و مغز را از افزایش شدید گونه‌های فعال اکسیژن و تخلیه سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون محافظت می‌کند (جداول ۱ و ۲). از سوی دیگر، نتایج مطالعه Kozuka و همکاران (۲۰۱۲) حاکی از آن بودند که گاماوریزانول قادر به مهار رادیکال‌های آلی محلول در لیپیدها می‌باشد (۲۵). همچنین گاماوریزانول توانسته است موجب کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز دوز بالای استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی شود (۱۳). افزایش رادیکال‌های آزاد، ارتباط مستقیمی با میزان تولید فاکتور شبه هسته‌ای مشتق از اریتروئید۲ (Nrf2) دارد (۲۶). Nrf2 در مقادیر زیاد در کلیه‌ها، مغز، کبد و قلب تولید می‌شود و مسئول تنظیم تولید پروتئین‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد. افزایش میزان رادیکال‌های آزاد در بافت موجب تغییر در عملکرد و تولید Nrf2 می‌گردد که خود باعث کاهش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۲۷). مطالعات نشان می‌دهند که افزایش رادیکال‌های آزاد موجب کاهش بیان Nrf2 می‌شوند که خود باعث کاهش میزان تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. کاهش این آنزیم‌ها زمینه‌ساز آسیب بافتی و افزایش رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۲۷،۲۸). نتایج مطالعه Hagle و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که گاماوریزانول، خاصیت محافظتی بر سلول‌های عصبی داشته و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت مغز و همچنین فعالیت میتوکندری‌های موجود در نورون‌ها را از آسیب‌های ناشی از القای پیری محافظت می‌کند (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر بیان گردید که تجویز سه هفته‌ای گاماوریزانول، اختلال عملکرد میتوکندری در موش‌های سوری پیر را جبران کرده است. این بهبودی با افزایش میزان تنفس سلولی و پتانسیل غشایی صورت گرفت. همچنین مقاومت سلول‌های مغزی در برابر سدیم نیتروپروساید افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهند که گاماوریزانول می‌تواند به عنوان یک داروی امیدوارکننده برای پیشگیری از بیماری‌های نورودژنراتیو وابسته به سن مانند بیماری آلزایمر مورد استفاده قرار گیرد (۲۹). در مطالعه حاضر گاماوریزانول توانست با افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بافت مغز را به میزان قابل توجهی از آسیب ناشی از ایسکمی- بازخون‌رسانی تجربی کلیه محافظت کند.

در مطالعه Ghatak و همکاران (۲۰۱۴) که در ارتباط با بررسی اثرات تجویز گاماوریزانول به مدت هشت هفته بر موش‌های صحرایی دیابتی صورت گرفت، نشان داده شد که گاماوریزانول توانسته است سطوح کراتینین، اسید اوریک، نیتروژن اوره خون، آلبومین، پروتئین کل، پروفایل لیپید سرم و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت کلیه را در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به مقدار طبیعی در بدن برساند (۱۳). خاصیت آنتی‌اکسیدانی گاماوریزانول مبنی بر مقاومت در برابر اکسیداسیون و از بین بردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد. عمدتاً این توانایی به دلیل گروه‌های اسید فرولیک گاماوریزانول می‌باشد. گروه هیدروکسیل فنولیک و سیستم کونژوگه در ساختار گروه‌های اسید فرولیک می‌توانند رادیکال‌های آزاد پایداری را ایجاد کرده و از انتقال زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد طی فرایند اکسیداسیون و تولید رادیکال‌های آزاد جلوگیری نمایند (۱۱). گزارش شده است که گاماوریزانول با بهبود ظرفیت اکسایش- کاهش بدن و غلبه بر استرس اکسیداتیو، اثر محافظتی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن دارد (۳۰).

نتیجه‌گیری

تقویت و افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به منظور کاهش استرس اکسیداتیو داخل سلولی می‌تواند یک استراتژی مؤثر برای جلوگیری از آسیب‌های بافت کلیه و مغز پس از ایجاد ایسکمی-

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

بازخون‌رسانی کلیه پس از جراحی‌ها باشد. در مطالعه حاضر پیش‌درمانی با گاماوریزانول به طور قابل توجهی موجب افزایش معنادار سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت‌های کلیه و گردید. در مقایسه بین روش‌های تجویز گاماوریزانول می‌توان گفت که تجویز به روش گاواژ از عملکرد بهتری برخوردار بوده است؛ اما مطالعات بیشتری به منظور شناخت دقیق مکانیسم‌های اثربخشی و محافظتی گاماوریزانول در آسیب‌های ایسکمی- بازخون‌رسانی کلیه مورد نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز می‌باشد. بدین‌وسیله از تمامی مسئولان و کارکنان دانشگاه؛ به ویژه کارشناسان بخش جراحی دانشکده دامپزشکی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

1. Ahmadvand H, Mahdavifard S. Protective effect of thioctic acid on renal ischemia–reperfusion injury in rat. Int J Prev Med 2019;10:176. DOI: 10.4103/ijpvm.IJPVM_396_17
2. Nezamoleslami S, Sheibani M, Dehpour AR, Mobasheran P, Shafaroodi H. Glatiramer acetate attenuates renal ischemia reperfusion injury in rat model. Exp Mol Pathol 2020;112:104329. DOI: 10.1016/j.yexmp.2019.104329
3. Shiva N, Sharma N, Kulkarni YA, Mulay SR, Gaikwad AB. Renal ischemia/reperfusion injury: an insight on in vitro and in vivo models. Life Sci 2020;256:117860. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117860
4. Wu L, Li Q, Liu S, An X, Huang Z, Zhang B, et al. Protective effect of hyperoside against renal ischemia-reperfusion injury via modulating mitochondrial fission, oxidative stress, and apoptosis. Free Rad Res 2019;53(7):727-36. DOI: 10.1080/10715762.2019.1623883
5. Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. Kidney Int 2016;89(3):555-64. DOI: 10.1016/j.kint.2015.11.019
6. Singbartl K, Joannidis M. Short-term effects of acute kidney injury. Crit Care Clin 2015;31(4):751-62. DOI: 10.1016/j.ccc.2015.06.010
7. Buys-Gonçalves GF, Abreu LA, Gregorio BM, Sampaio FJ, Pereira-Sampaio MA, de Souza DB. Antioxidants as renoprotective agents for ischemia during partial nephrectomy. Biomed Res Int 2019;2019:8575398. DOI: 10.1155/2019/8575398
8. Zweier JL, Talukder MH. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. Cardiovasc Res 2006;70(2):181-90. DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.02.025
9. Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. J Nutr 2003;133(10):3275S-84S. DOI: 10.1093/jn/133.10.3275S
10. Mohajeri D, Mousavi G, Mansouri MB. Histopathological study on the effects of turmeric (Curcuma longa linn.) powdwer on renal ischemia-reperfusion injuryin rats. J Vet Clin Pathol 2012;6(1):1493-503.
11. Szcześniak K, Ostaszewski P, Ciecierska A, Sadkowski T. Investigation of nutriactive phytochemical–gamma-oryzanol in experimental animal models. J Anim Physiol Anim Nutr 2016;100(4):601-17. DOI: 10.1111/jpn.12428
12. Akter S, Sasaki H, Uddin KR, Ikeda Y, Miyakawa H, Shibata S. Anxiolytic effects of γ-oryzanol in chronically-stressed mice are related to monoamine levels in the brain. Life Sci 2019;216:119-28. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.11.042
13. Ghatak SB, Panchal SS. Renoprotective effects of oryzanol in an animal model of experimentally induced diabetic nephropathy. Oriental Pharm Exp Med 2014;14(1):55-67. DOI: 10.1007/s13596-013-0119-1
14. Sancaktutar AA, Bodakci MN, Hatipoglu NK, Soylemez H, Basarılı K, Turkcu G. The protective effects of

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

pomegranate extracts against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. Urol Ann 2014;6(1):46-50. DOI: 10.4103/0974-7796.127029

15. Kirkby K, Baylis C, Agarwal A, Croker B, Archer L, Adin C. Intravenous bilirubin provides incomplete protection against renal ischemia-reperfusion injury in vivo. Am J Physiol Renal Physiol 2007;292(2):F888-94. DOI: 10.1152/ajprenal.00064.2006

16. Akerboom TP, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. Methods Enzymol 1981;77:373-82. DOI: 10.1016/s0076-6879(81)77050-2

17. Bolann B, Ulvik R. Improvement of a direct spectrophotometric assay for routine determination of superoxide dismutase activity. Clin Chem 1991;37(11):1993-9. Link

18. Dawn-Linsley M, Ekinci FJ, Ortiz D, Rogers E, Shea TB. Monitoring thiobarbituric acid-reactive substances (TBARs) as an assay for oxidative damage in neuronal cultures and central nervous system. J Neurosci Methods 2005;141(2):219-22. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2004.06.010

19. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clin Chim Acta 1991;196(2-3):143-51. DOI: 10.1016/0009-8981(91)90067-m

20. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson A, Hafeman DG, Hoekstra W. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science 1973;179(4073):588-90. DOI: 10.1126/science.179.4073.588

21. Minutoli L, Puzzolo D, Rinaldi M, Irrera N, Marini H, Arcoraci V, et al. ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation in brain, heart, kidney, and testis ischemia/reperfusion injury. Oxid Med Cell Longev 2016;2016:2183026. DOI: 10.1155/2016/2183026

22. Smith SF, Hosgood SA, Nicholson ML. Ischemia-reperfusion injury in renal transplantation: 3 key signaling pathways in tubular epithelial cells. Kidney Int 2019;95(1):50-6. DOI: 10.1016/j.kint.2018.10.009

23. Aboutaleb N, Jamali H, Abolhasani M, Toroudi HP. Lavender oil (Lavandula angustifolia) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis. Biomed Pharmacother 2019;110:9-19. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.11.045

24. Korkmaz A, Kolankaya D. Protective effect of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. J Surg Res 2010;164(2):309-15. DOI: 10.1016/j.jss.2009.03.022

25. Kozuka C, Yabiku K, Sunagawa S, Ueda R, Taira S-i, Ohshiro H, et al. Brown rice and its component, γ-oryzanol, attenuate the preference for high-fat diet by decreasing hypothalamic endoplasmic reticulum stress in mice. Diabetes 2012;61(12):3084-93. DOI: 10.2337/db11-1767

26. Liu M, Reddy NM, Higbee EM, Potteti HR, Noel S, Racusen L, et al. The Nrf2 triterpenoid activator, CDDO-imidazolide, protects kidneys from ischemia–reperfusion injury in mice. Kidney Int 2014;85(1):134-41. DOI: 10.1038/ki.2013.357

27. Vomund S, Schäfer A, Parnham MJ, Brüne B, Von Knethen A. Nrf2, the master regulator of anti-oxidative responses. Int J Mol Sci 2017;18(12):2772. DOI: 10.3390/ijms18122772

28. Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2013;53:401-26. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320

29. Hagl S, Berressem D, Grewal R, Sus N, Frank J, Eckert GP. Rice bran extract improves mitochondrial dysfunction in brains of aged NMRI mice. Nutr Neurosci 2016;19(1):1-10. DOI: 10.1179/1476830515Y.0000000040

30. Ismail M, Al-Naqeeb G, Mamat WAA, Ahmad Z. Gamma-oryzanol rich fraction regulates the expression of antioxidant and oxidative stress related genes in stressed rat's liver. Nutr Metab 2010;7(1):23. DOI: 10.1186/1743-7075-7-23

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0