Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2016; 18(104): 54-62

Effect of the Alcoholic Extract of *Portulaca Oleracea* on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats

Majid Askaripour[1]*, Syed Reza Fatemi Tabatabaei[2], Hossein NajafzadehVarzi [3], Foruzan Hosseini[4]

1- MSc in Physiology, Department of Physiology, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
2- Associate Professor, Department of Physiology, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
3- Professor, Department of Pharmacology, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.
4- Assistant Professor, Department of Physiology, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Received: 23 Jun 2015, Accepted: 23 Sep 2015

Abstract

Background: Renal injury following ischemia - reperfusion (I/R) is still an unavoidable problem in many remedial and medical situations. *Portulaca oleracea* (PO) has been known for its anti-oxidative effects. Then, the present study aimed to investigate the effect of ethanolic extract of PO (EEPO) on the renal function and antioxidant status after induction of I/R injury in the rat kidney.

Materials and Methods: A total of 30 rats (Wistar) were divided into five groups (n = 6 each). Sham group: underwent laparotomy without I/R, EEPO group: EEPO administered 300 mg/kg then was operated like sham, I/R group: was underwent renal ischemia/reperfusion only, EEPO150+ I/R and AEPO300+ I/R groups: were administered PO 150 and 300 mg/kg then underwent I/R operation. PO extract was administered for 5 days in the relevant groups by gavage. Serum urea and creatinine (Scr), the level of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and total antioxidant activity (TAA) were determined. Data were analyzed by ANOVA and post hoc LSD test. P values of 0.05 or less were considered statistically significant.

Results: Induction of I/R and pretreatment with PO extract, increased the level of superoxide dismutase (SOD) in comparison with sham group ($p<0.05$, $p<0.001$). There were no significant differences in the levels of MDA, GSH and TAA among different groups. On the other hand, the Scr and serum urea of the I/R and treated groups were elevated compared to the sham group ($p<0.001$).

Conclusion: Ethanolic extract of PO did not strongly affect the renal antioxidant status and could not prevent the renal injury following I/R.

Keywords: Antioxidants, Ischemia-reperfusion injury, *Portulaca oleracea*, Rat, Renal function

*Corresponding Author:
Address: Department of Physiology, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
Email: askaripour_m@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۸، شماره ۱۱ (شماره پیاپی ۱۰۴)، بهمن ۱۳۹۴، ۶۲-۵۴

اثر عصاره الکلی خرفه بر آسیب ایسکمی- خون‌رسانی مجدد کلیه موش سفید بزرگ آزمایشگاهی

مجید عسکری پور[۱*]، سید رضا فاطمی طباطبایی[۲]، حسین نجف زاده ورزی[۳]، فروزان حسینی[۴]

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۳- استاد، گروه فارماکولوژی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۴- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱

چکیده

زمینه و هدف: آسیب کلیوی متعاقب ایسکمی- خون رسانی مجدد (I/R) هنوز به عنوان یک مسئله غیرقابل اجتناب در تعداد زیادی از موقعیت‌های پزشکی و درمانی مطرح می‌باشد. گیاه خرفه (Po) از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره الکلی خرفه (EEPO) بر عملکرد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کلیه پس از القای آسیب ایسکمی- خون رسانی مجدد در کلیه موش سفید بزرگ آزمایشگاهی طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۰ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی (نژاد ویستار) به پنج گروه ۶ تایی تقسیم شد؛ گروه شم: لاپاراتومی بدون القای I/R، گروه EEPO: دریافت کننده عصاره با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و جراحی شم، گروه I/R: القای ایسکمی- خون رسانی مجدد بدون درمان، گروه‌های I/R +EEPO150 و I/R +AEPO300: دریافت کننده عصاره با دوز ۱۵۰و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و متعاقب آن القای ایسکمی- خون رسانی مجدد. عصاره در گروه‌های مربوطه به مدت ۵ روز قبل از جراحی از طریق گاواژ تجویز شد. در خاتمه میزان اوره و کراتینین سرم(Scr)، مالون دی آلدئید(MDA)، سوپراکساید دیسموتاز(SOD)، گلوتاتیون (GSH) و فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAA) بافت کلیه سنجیده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD انجام شد و $p<۰/۰۵$ یا کمتر به عنوان سطح آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: القاء I/R و تیمار باعصاره خرفه، باعث افزایش سطح سوپراکسیددیسموتاز نسبت به گروه شاهد گردید($p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۰۱$). هیچ تغییر معنی‌داری در سطوح مالون‌دی‌آلدییید، گلوتاتیون و فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی در بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد. از طرف دیگر سطح اوره و کراتینین سرم در گروه‌های I/R و تیمار با عصاره الکلی خرفه نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌الکلی گیاه خرفه اثر قابل توجهی بر روی وضعیت آنتی‌اکسیدانی کلیه نداشت و نتوانست از آسیب کلیوی متعاقب آسیب I/R جلوگیری کند.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان‌ها، آسیب‌ایسکمی- خون رسانی مجدد، خرفه، موش سفید بزرگ آزمایشگاهی، عملکرد کلیوی

***نویسنده مسئول:** ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران، گروه فیزیولوژی

Email: askaripour_m@yahoo.com

مقدمه

نارسایی حاد کلیه یک سندرم بالینی شایع و جدی می‌باشد که در بسیاری از موقعیت‌های بالینی مانند افت فشار خون شدید و احیا متعاقب جراحی‌های قلبی- عروقی و پیوند کلیه اتفاق می‌افتد(۱). این سندرم شیوع زیادی دارد(۲)، اما با وجود مراقبت‌های شدید، میزان مرگ و میر در بین بیماران بیش از ۴۵ درصد می‌باشد(۳). تحقیقات نشان داده‌اند که آسیب ایسکمی- خون رسانی مجدد (I/R)، علت اصلی ابتلاء به نارسایی حاد کلیوی می‌باشد(۴). عامل اصلی آسیب کلیوی در طی I/R تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) یا گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) است(۵). این رادیکال‌های آزاد دارای اثرات سیتوتوکسیک شامل اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به DNA و القاء آپوپتوز می‌باشند(۶). پاسخ التهابی به I/R فاکتورکلیدی دیگری است که از طریق فعال‌سازی کمپلمان، تولید سیتوکین‌ها و کموکین‌ها در کلیه و هم‌چنین نفوذ لکوسیت‌ها به درون کلیه مشخص می‌شود(۷).

آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زاد مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز و گلوتاتیون (GSH) مسئول مقابله با رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیوهستند. عدم تعادل بین سیستم اکسیدان و آنتی‌اکسیدانی منجر به بیماری‌زایی و اختلالاتی مانند آسیب I/R کلیوی می‌شود(۶). بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های برون‌زاد برای مهار و درمان این بیماری‌ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است(۸).

استفاده از داروهای گیاهی در سال‌های اخیر گسترش زیادی پیدا کرده است و تحقیقات متعددی اثرات آن‌ها را در مهار و درمان بیماری‌هایی مانند آسیب I/R کلیوی به اثبات رسانده‌اند. گیاه‌خرفه (PO) یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی است که سرشار از اسیدهای چرب امگا-۳، گالوتانین‌ها، کامپفرول، کوارستین و اپیگنین(۹) همراه با خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد(۱۰). هم‌چنین اثرات مفید این گیاه در شرایطی مانند سمیت کلیوی در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی به اثبات رسیده است(۱۱،۱۲).

از این رو، با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای در خصوص اثرات احتمالی خرفه بر آسیب ناشی از ایسکمی – خون‌رسانی مجدد در کلیه صورت نگرفته است، هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره الکلی گیاه خرفه (EEPO) بر عملکرد و استرس اکسیداتیو بافت کلیه موش سفید بزرگ آزمایشگاهی متعاقب القای آسیب I/R کلیوی است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی عصاره خرفه

بخش‌های هوایی گیاه خرفه که برای انجام برخی مطالعات در محوطه دانشگاه رامین اهواز کشت شده بود، تمیز گردید و عمل خشک کردن در کارخانه سبزی خشک‌کنی شوین واقع در دزفول انجام گرفت و به بخش فیزیولوژی اهدا شد. به منظور تهیه عصاره الکلی خرفه از روش خیساندن استفاده شد. پودر خشک شده خرفه در یک ارلن تمیز با ۵ برابر وزنی اتانول به خوبی مخلوط گشت و پس از بستن درب ظرف به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد. سپس مخلوط همگن شده، صاف و تفاله و سایر اضافه‌ها از آن جدا شد و برای تبخیر الکل آن از حمام آب گرم استفاده گردید. در نهایت عصاره به میزان مورد نظر در خلاء تلغیظ گردید.

حیوانات

مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار (۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم) انجام شد که در خانه حیوانات بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز پرورش یافته بودند. حیوانات در اتاقی با دمای ۲±۲۳ درجه سانتی گراد که دارای تهویه مناسب بود، به مدت ۱۲ ساعت تحت تاریکی و روشنایی قرار گرفتند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. مطالعه بر اساس رعایت کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی تدوین شده توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش

پزشکی به انجام رسید. کلیه سمت راست همه گروه‌ها ۲۰ روز قبل از شروع آزمایشات برداشته شد. حیوانات به صورت تصادفی به ۵ گروه مختلف تقسیم شدند. گروه‌های شم و I/R دریافت کننده سرم فیزیولوژی بودند، گروه‌های EEPO150+I/R و EEPO300+I/R به ترتیب ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره الکلی خرفه دریافت کردند و گروه EEPO300 یا کنترل با دوز۳۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن عصاره الکلی خرفه تیمار شد. 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 و پس از ۵ روز تیمار، حیوانات تحت جراحی شم یا I/R قرار گرفتند.

روش جراحی

ابتدا حیوانات با ترکیب کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. دمای بدن حیوانات در طول انجام جراحی از طریق مقعد ثبت گردید و با استفاده از کیسه آب گرم با دمای تقریبی ۳۷ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. پس از تراشیدن موهای ناحیه شکم و ضدعفونی کردن محل جراحی، یک برش طولی داده شد. در گروه‌های I/R، 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 به کمک نخ ابریشمی ۳ صفر بخیه شد. به جز کلمپ پدیکل کلیه چپ، تمام مراحل جراحی در گروه‌های شم و EEPO300 مانند گروه‌های I/R 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 اندازه‌گیریSOD، GSH، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAA) و مولانودی آلدئید MDA در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد 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 عمل هموژنیزاسیون با اضافه نمودن بافر فسفات به بافت کلیه (نسب ۱:۱۰) و با استفاده از دستگاه هموژنایزر (میکرا آلمان) در دمای زیر ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس مخلوط هموژن شده به مدت ۱۵ دقیقه تحت دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در 12000 RPM سانتریفیوژ شد و محلول شفاف فوقانی جدا شد و برای اندازه‌گیری MDA، GSH، SOD و TAA مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم SOD با استفاده از کیت تجاری سنجش سوپر اکسید دیسموتاز (رندوکس- انگلستان) اندازه‌گیری شد. گلوتاتیون به روش المن اندازه‌گیری شد(۱۳). درجه پراکسیداسیون لیپیدها در بافت کلیه از طریق روش بیوج و آست اندازه‌گیری شد(۱۴). برای تعیین TAA از روش بنزی و استراین استفاده شد که در طی آن توانایی نمونه مورد نظر در احیای یون فریک (FRAP) به عنوان شاخص ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی است(۱۵).

میزان اوره و کراتینین سرم طبق دستورالعمل کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، کرج، ایران) و به صورت آنزیمی اندازه‌گیری گردید. در تمام مواردی که نیاز به خواندن جذب نوری نمونه‌ها وجود داشت از دستگاه فتومتر (Convergys 100، آلمان) استفاده شد. اندازه‌گیری پروتئین بافتی نیز به کمک کیت تشخیص پروتئین (شرکت پارس آزمون- کرج) و به روش فتومتریک انجام گرفت.

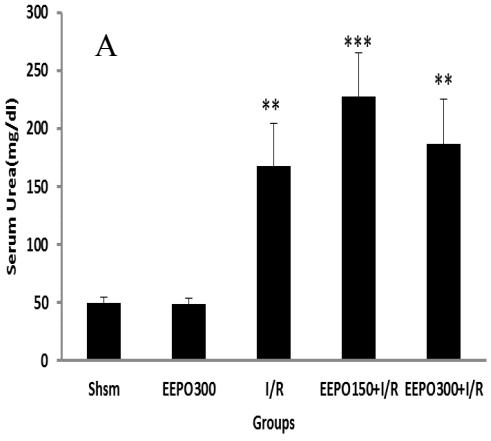
تجزیه و تحلیل آماری

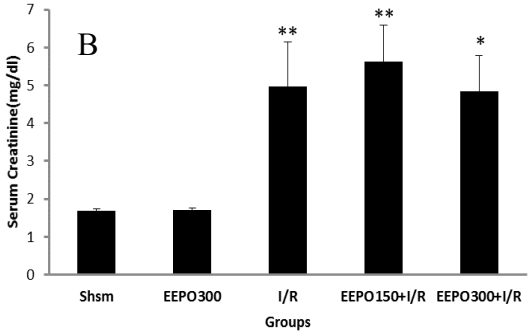
تجزیه و تحلیل نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از آزمون تعقیبی LSD استفاده گردید. در تمامی موارد $p<۰/۰۵$ به عنوان حداقل سطح آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

همان‌طور که در نمودار۱-A نشان داده شده‌است، مقدار اوره سرم در گروه I/R (۳۷±۱۶۸میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به گروه شاهد(۵±۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) افزایش معنی‌داری یافت($p<۰/۰۱$). در گروه‌های EEPO150+ I/R ($p<۰/۰۰۱$، ۱۲±۲۹۴ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) و EEPO300+I/R ($p<۰/۰۱$، ۲۵±۲۳۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) میزان اوره سرم با افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد همراه بود .

مقدار کراتینین در گروه I/R (۱/۱۷±۴/۹۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به گروه شاهد(۰/۰۶±۱/۶۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) افزایش معنی‌داری یافت($p<۰/۰۱$). در گروه‌های EEPO150+I/R ($p<۰/۰۱$، ۰/۳۴±۷/۴۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و EEPO300+I/R ($p<۰/۰۵$، ۰/۷۹±۶/۰۳ میلی‌گرم بر دسی لیتر) مقدار کراتینین سرم با افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد همراه بود (نمودار۱-B).





نمودار ۱. اثر عصاره الکلی خرفه برغلظت اوره (A) و کراتینین (B) سرم به دنبال آسیب ایسکمی – خون رسانی مجدد کلیه در گروه‌های تحت بررسی. نتایج به صورت میانگین±خطای معیار بیان شده است و (n=۶). *، **، *: بیان‌گر اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد به ترتیب با سطح معنی داری: $p<۰/۰۵$، $p<۰/۰۱$ و $p<۰/۰۰۱$. Sham: گروه شاهد، EEPO300: گروه تیمار با عصاره الکلی خرفه با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بدون آسیب ایسکمی – خون رسانی مجدد کلیوی، I/R: گروه القاء آسیب ایسکمی – خون رسانی مجدد کلیوی، EEPO150+I/R: گروه تیمار با عصاره الکلی با دوز ۱۵۰میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باالقاء آسیب ایسکمی – خون رسانی مجدد کلیوی، EEPO300+I/R : گروه تیمار با عصاره الکلی با دوز ۳۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن باالقاءآسیب ایسکمی – خون رسانی مجددکلیوی. mg/dl: میلی‌گرم بر دسی لیتر.**

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، سطح MDA پس از القاء ایسکمی- خون رسانی مجدد افزایش یافت ولی میزان آن معنی‌دار نبود. هم‌چنین میزان تغییرات در سایر گروه‌ها نیز معنی‌دار نبود. سطوح GSH و TAA که به عنوان شاخص‌های وضعیت آنتی اکسیدانی بافت کلیه هستند تغییرات معنی‌داری نداشتند. سطح SOD بافتی در گروه‌های EEPO300 و I/R به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود($p<۰/۰۵$) و هم‌چنین در گروه‌های EEPO150+I/R و EEPO300+I/R سطح SOD نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود($p<۰/۰۱$).

جدول ۱. اثر عصاره الکلی خرفه بر سطوح آنتی‌اکسیدان و لیپیدپراکسیداسیون، به دنبال آسیب ایسکمی – خون رسانی مجددکلیوی.

گروه	مالون دی آلدیید(MDA ، میکرومول/گرم پروتئین)	سوپراکسید دیسموتاز(SOD ، واحدبین الملل/گرم پروتئین)	میلی گلوتاتیون (GSH ، مول/گرم پروتئین)	ظرفیت تام آنتی اکسیدانی(TAA میکرومول/گرم پروتئین)
Sham	۱۲/۹۶±۱/۹	۱۰۷±۱۶/۴	۰/۶±۰/۰۴	۷۶/۵±۴/۱
EEPO300	۱۵/۷۶±۱/۶	*۱۳۷±۳۳	۰/۵۶±۰/۰۲	۶۹/۹±۳/۴
R/I	۱۵/۶۹±۲/۴	*۱۶۹±۲۴/۱	۰/۷±۰/۰۶	۹۲/۴±۱۱/۶
EEPO150+ I/R	۱۱/۶۱±۰/۹	**۲۰۶±۲۸	۰/۵۹±۰/۰۶	۸۰/۱۵±۵/۵
EEPO300+ I/R	۱۵/۲۹±۲	**۱۹۶±۱۲/۳	۰/۵۲±۰/۰۱	۷۳/۳۳±۴/۴

نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است و n=۶. * و **: بیان گر اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد به ترتیب با سطح معنی داری: p<۰/۰۵ و p<۰/۰۱ . Sham : گروه شاهد، EEPO300: گروه تیمار با عصاره الکلی خرفه با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بدون آسیب ایسکمی – خون رسانی مجددکلیوی، I/R: گروه القاء آسیب ایسکمی – خون رسانی مجدد کلیوی،EEPO150+I/R: گروه تیمار با عصاره الکلی با دوز ۱۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باالقاء آسیب ایسکمی – خون رسانی مجددکلیوی ، EEPO300+I/R : گروه تیمار با عصاره الکلی با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باالقاءآسیب ایسکمی–خون رسانی مجددکلیوی.

بحث

مطالعه حاضر، اثر عصاره الکلی گیاه خرفه را بر روی عملکرد کلیوی و سطح آنتی‌اکسیدانی آن متعاقب ایسکمی کلیوی به مدت ۴۵ دقیقه و خون رسانی مجدد به مدت ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان دادند که سطح سرمی اوره و کراتینین در گروه‌های I/R و تیمار با عصاره الکلی خرفه نسبت به شاهد به طور قابل ملاحضه‌ای بالاتر بود. از طرف دیگر، در میان شاخص‌های اکسیداتیو بافتی فقط SOD تغییرات معنی‌داری داشت، به طوری که در همه گروه‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد پیدا کرد.

آسیب I/R در کلیه یک پدیده چندین عاملی است و تصور می‌شود که تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن دارای نقش کلیدی در آسیب I/R کلیه باشند(۱۶). چندین سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی مسئول حفاظت از بافت‌ها در برابر استرس اکسیداتیو هستند که از جمله آن‌ها می‌توان به SOD، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، GSH، ویتامین E، ویتامین A و ویتامین C اشاره کرد(۱۷).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرفه در مطالعات قبلی نشان داده شده است(۱۸). هم‌چنین فواید استفاده از آن در بیماری‌های کلیوی مختلف گزارش شده‌است(۱۲،۱۱). کریمی و همکاران گزارش کردند که عصاره آبی و اتانولی خرفه منجربه کاهش مقدار افزایش یافته اوره و کراتینین سرم و هم‌چنین تغییرات هیستولوژی در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی که در معرض سمیت کلیوی ناشی از سیسپلاتین قرار گرفته‌اند، می‌شود(۱۱). هوزاین و همکاران اثرات عصاره آبی گیاه خرفه را بر روی سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی نژادآلبینو مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که استفاده هم‌زمان از عصاره خرفه و روغن ماهی تغییرات نامطلوب به وجود آمده در عملکردکلیوی را از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش میزان پراکسیداسیون بهبود می‌بخشد(۱۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره خرفه باعث افزایش میزان SOD در گروه‌های کنترل و تیمار شد. هم‌چنین میزان MDA، GSH و TAA تقریباً بدون تغییر باقی ماند. این یافته‌ها احتمالاً تا حدی به دلیل روش نفرکتومی و ایسکمی مورد استفاده در تحقیق بوده است. در این مطالعه کلیه راست تمامی حیوانات ۲۰ روز قبل از القاء I/R برداشته شد. تحقیقات نشان داده‌اند که برداشتن یک طرفه کلیه باعث به وجود آمدن تغییرات جبرانی به صورت افزایش میزان فیلتراسیون گلومرلی و هم‌چنین بهبود جریان پلاسمایی در کلیه دیگر می‌شود(۱۹، ۲۰).

در مطالعه حاضر، تغییرات قابل توجهی در میزان اوره و کراتینین سرم مشاهده شد، ولی تغییرات در نشان‌گرهای اکسیدان و آنتی اکسیدان پس از القاء I/R قابل ملاحضه نبود. یکی از احتمالات می‌تواند به دلیل زمان اندازه‌گیری‌ها باشد (۲۴ ساعت پس از خون رسانی مجدد). در تأیید این اظهار، جونیور و همکاران گزارش کردند که میزان MDA در ۵ دقیقه پس از خون رسانی مجدد به صورت چشم‌گیری افزایش پیدا کرده و در ۲۴ ساعت بعدی تقریباً به سطح اولیه برمی‌گردد، اما سطح اوره و کراتینین سرم برای مدت زیادی پس از آسیب I/R در سطوح بالا باقی می‌ماند(۲۱).

در این مطالعه، SOD تنها آنتی اکسیدانی بود که تغییرات چشم‌گیری نشان داد، که این یافته با مطالعات قبلی که افزایش در فعالیت SOD پس از آسیب I/R کلیه را نشان داده‌اند تطابق دارد(۲۲). از طرف دیگر، دوباشی و همکاران گزارش کردند بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان در طی I/R کلیه به صورت هماهنگ صورت نمی‌گیرد(۲۳). آن‌ها مشاهده کردند که ۶۰ یا ۹۰ دقیقه ایسکمی و متعاقب آن صفر، ۲ یا ۲۴ ساعت خون رسانی مجدد باعث کاهش آنتی‌اکسیدان‌های کلیه مثل کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز می‌شود و در مقابل فعالیت MnSOD در طی خون رسانی مجدد افزایش می‌یابد و mRNA، MnSOD در تمام زمان آسیب I/R تنظیم افزایشی دارد و تولید MnSOD زیاد می‌شود(۲۳).

نکته جالب این که نتایج مطالعه ما نشان داد که میزان SOD نه فقط در گروه تیمار بلکه در گروه کنترل و گروه I/R افزایش یافت. به نظر می‌رسد که عصاره خرفه دارای اثر تحریکی بر میزان فعالیت SOD است. مطالعه لیانگ و همکاران نشان داد که ژن SOD و بیان آن باعث کاهش میزان آسیب حاد کلیوی و جلوگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از I/R می‌شود(۲۴). اما در مطالعه حاضر با وجود افزایش میزان SOD، نقش محافظتی آن در عملکرد کلیه گروه‌های تیمار بر روی میزان اوره و کراتینین سرم مشاهده نشد.

یکی از مکانیسم‌های مهم آسیب I/R پاسخ التهابی است که با خون‌رسانی مجدد متعاقب ایسکمی آغاز می‌شود و عناصر سلولی مختلفی از قبیل ماکروفاژها، سلول‌های اندوتلیال، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، پلاکت‌ها، سلول‌های پارانشیمی و هم‌چنین عناصر غیرسلولی در ایجاد آن دخیل‌اند(۲۵). برخی مطالعات قبلی اظهار کرده‌اند که عصاره خرفه دارای اثر تعدیلی بر روی سیستم ایمنی می‌باشد. اویدجی و همکاران نشان دادند که تیمار موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی بادوز ۱ و ۲ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن خرفه باعث افزایش چشم‌گیری در تعداد سلول‌های سفید خون و لنفوسیت‌ها می‌شود(۲۶). مطالعه دیگری نشان داد که پلی‌ساکاریدهای خرفه باعث افزایش تکثیر تیموسیت‌های T و لنفوسیت‌های B در طحال می‌شود(۱۰). بنابراین اثر تحریکی عصاره خرفه بر روی سیستم ایمنی می‌تواند دلیلی بر نتایج مشاهده شده در مطالعه ما باشد.

تولید نیتریک اکسید و متابولیت‌های آن احتمال دیگری برای مکانیسم آسیب‌زایی I/R است و نقش آن در بیماری‌زایی آسیب I/R بحث‌انگیز می‌باشد که دلیل آن پیچیدگی ایزوفرم‌های نیتریک اکسید سنتاز است(۲۷). تولید نیتریک اکسید توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتاز قابل القاء (iNOS) منجر به آسیب سلول‌های کلیوی و فیلتراسیون سلول‌های التهابی می‌شود که در نتیجه آسیب مستقیم به DNA و یا اثرات آپوپتوزی به وجود می‌آیند. از طرف دیگر، کاهش فعالیت نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی (eNOS) از طریق عملکرد نامناسب اندوتلیال و انقباض پیاپی عروق کلیوی منجر به اختلال کلیوی می‌شود(۲۹،۲۸). عباس و همکاران نشان دادند که عصاره خرفه میزان تولید نیتریک اکسید را در یک روند وابسته به غلظت کاهش می‌دهد(۳۰). هم‌چنین نتایج مطالعه فوق احتمال می‌دهد که خرفه باعث متوقف کردن iNOS می‌شود، ولی به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر عصاره خرفه به طور مؤثر باعث توقف تولید نیتریک اکسید به وسیله iNOS نمی‌شود که احتمالاً به دلیل اثر تحریکی عصاره خرفه بر روی سیستم ایمنی و به دنبال آن فعالیت بیشتر iNOS است. مطالعات

بیشتری برای شناسایی مکانیسم دقیق اثرات عصاره خرفه بر روی آسیب I/R کلیه لازم است.

نتیجه گیری

با وجود اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجه، عصاره‌الکلی خرفه نمی‌تواند با غلظت‌ها و روش‌هایی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته، از کلیه در برابر آسیب I/R محافظت نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مراتب سپاس خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه‌ی انجام این تحقیق را در قالب پایان نامه‌ی دانشجویی با شماره ۹۲۲۷۰۵۵ تأمین نمود کمال تشکر و سپاس گزاری را دارند.

منابع

1. Bagshaw SM, Bellomo R. Acute Ren Fail. Surg. 2007; 25: 391-8.
2. Herrera-Gutiérrez ME, Seller-Pérez G, Sánchez-Izquierdo-Riera JA, Maynar-Moliner J, Group CI. Prevalence of acute kidney injury in intensive care units: the "COrte de prevalencia de disFuncion RenAl y DEpuracion en criticos" point-prevalence multicenter study. Journal of critical care. 2013;28(5):687-94.
3. Zhongheng Z, Xiao X, Hongyang Z. Intensive-vs less-intensive-dose continuous renal replacement therapy for the intensive care unit–related acute kidney injury: A meta-analysis and systematic review. Journal of critical care. 2010;25(4):595-600.
4. Star RA. Treatment of acute renal failure. Kidney international. 1998;54(6):1817-31.
5. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. Journal of the American Society of Nephrology. 2006;17(6):1503-20.
6. Vajdovich P. Free radicals and antioxidants in inflammatory processes and ischemia-reperfusion injury. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 2008;38(1):31-123.
7. Thurman JM. Triggers of inflammation after renal ischemia/reperfusion. Clinical immunology. 2007;123(1):7-13.
8. Murphy MP. Antioxidants as therapies: can we improve on nature? Free Radical Biology and Medicine. 2014;66:20-3.
9. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life sciences. 2004;74(17):2157-84.
10. YouGuo C, ZongJi S, XiaoPing C. Evaluation of free radicals scavenging and immunity-modulatory activities of Purslane polysaccharides. International journal of biological macromolecules. 2009;45(5):448-52.
11. Karimi GR, Khouei A, Omidi A, Kalantari M, Babaei J, Taghiabadi E, et al. Protective effect of aqueous and ethanolic extracts of Portulaca oleracea against cisplatin induced nephrotoxicity. 2010; 13(2): 31-5.
12. Hozayen W, Bastawy M, Elshafeey H. Effects of aqueous purslane (portulaca peracea) pxtract and fish oil on gentamicin nephrotoxicity in albino rats. Nat Sci. 2011; 9: 47-62.
13. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. Archives of biochemistry and biophysics. 1959;82(1):70-7.
14 .Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods in enzymology. 1978;52:302-10.
15. Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry. 1996;239(1):70-6.
16. Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: oxidants, antioxidants and disease mechanisms. Redox biology. 2013;1(1):244-57.
17. Sies H. Strategies of antioxidant defense. EJB Reviews 1993. Springer. 1994. p. 101-7.
18. Uddin MK, Juraimi AS, Ali ME, Ismail MR. Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of purslane (Portulaca oleracea L.) at different growth stages. International journal of molecular sciences. 2012;13(8):10257-67.
19. Mulroney SE, Woda C, Johnson M, Pesce C. Gender differences in renal growth and

function after uninephrectomy in adult rats. Kidney international. 1999;56(3):944-53.
20. Ziada G, Youseif H, Khalil M. Compensatory changes in the function of the remaining kidney immediately after unilateral nephrectomy in sheep. The Tohoku journal of experimental medicine. 2009;219(2):165-8.
21. Tucci Junior S, Carvalho RMd, Celini FM, Cologna AJ, Suaid HJ, Tirapelli LF, et al. Renal ischemia and reperfusion injury: influence of chorpromazine on renal function and lipid peroxidation. Acta Cirurgica Brasileira. 2008;23:42-6.
22. Rasoulian B, Jafari M, Noroozzadeh A, Mehrani H, Wahhab-Aghai H, Hashemi M, et al. Effects of ischemia-reperfusion on rat renal tissue antioxidant systems and lipid peroxidation. Acta Medica Iranica. 2008;46(5):353-60.
23. Dobashi K, Ghosh B, Orak J, Singh I, Singh A. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. Molecular and cellular biochemistry. 2000;205(1-2):1-11.
24. Liang HL, Hilton G, Mortensen J, Regner K, Johnson CP, Nilakantan V. MnTMPyP, a cell-permeant SOD mimetic, reduces oxidative stress and apoptosis following renal ischemia-reperfusion. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2009;296(2):F266-F76.
25. Aktan AÖ. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites, and the Surgeon. Cytokines. 1998;28:1-5.
26. Oyedeji K, Bolarinwa A, Adegoke A. 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(2):278-81.
27. Waz WR, Van Liew JB, Feld LG. Nitric oxide metabolism following unilateral renal ischemia/reperfusion injury in rats. Pediatric Nephrology. 1998;12(1):26-9.
28. Betz B, Schneider R, Kress T, Schick MA, Wanner C, Sauvant C. Rosiglitazone affects nitric oxide synthases and improves renal outcome in a rat model of severe ischemia/reperfusion injury. PPAR research. 2012;2012.
29. Gholampour F, Shid Moosavi SM, Owji SM. The role of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in anaesthetized rats. Arak Medical University Journal. 2010;12(4):51-60.[Persian]
30. Abas F, Lajis NH, Israf D, Khozirah S, Kalsom YU. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. Food Chemistry. 2006; 95(4): 566-73.