

Original Article

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

Yasin Bagheri¹ , Daryoush Mohajeri^{2*} , Davoud Kazemi³ 

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 administered 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

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

یاسین باقری^۱ , داریوش مهاجری^{۲*} , داوود کاظمی^۳ 

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 گاما اوریزانول (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. گاما اوریزانول 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 گاما اوریزانول به روش تزریق داخل صفاقی و گاواژ موجب کاهش معنادار سطوح کراتینین و اوره خون نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/05$). میزان گلوکوتایون پراکسیداز، گلوکوتایون ردوکتاز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و ظرفیت تام اکسیدان بافت مغز و کلیه در گروه‌های تحت تیمار با گاما اوریزانول موجب افزایش معنادار و میزان مالون‌دی‌آلدنید گروه‌های تحت تیمار با گاما اوریزانول موجب کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل شده است ($P < 0/05$).

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

کلیدواژه‌ها: ایسکمی؛ کلیه؛ گاما اوریزانول؛ مغز؛ موش صحرایی.

^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

لطفاً به این مقاله به صورت 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]

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 گلوپاتینون (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). گامااوریزانول (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). گامااوریزانول دارای ترکیباتی مانند استرهای اسید فرولیک، فیتواسترول، بتا-سیتوسترول، سیکلوآرتنول و کمپسترول می‌باشد. ثابت شده است که گامااوریزانول می‌تواند به طور کامل به مغز برسد (۱۲). علاوه بر این، گزارش شده است که گامااوریزانول دارای طیف گسترده‌ای از اثرات درمانی همچون کاهش سطح کلسترول و مهار تجمع پلاکت‌ها می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که گامااوریزانول 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 گامااوریزانول 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.

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 دست کاری 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)، گلوکوتایون (GSH)، گلوکوتایون 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، CAT، TAC و GPx با استفاده از روش رنگ‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت. آنزیم GSH طبق دستورالعمل کیت (Darmstadt, Germany)، (Sigma Aldrich) (۱۶)، آنزیم‌های SOD (۱۷)، MDA (۱۸)، CAT (۱۹) و GPX (۲۰) طبق دستورالعمل کیت (Germany, Zellbio, Biocore) و TAC طبق دستورالعمل کیت (USA)

با توجه به اینکه گامااوریزانول 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 گامااوریزانول 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 20 ± 23 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 21 ± 2 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 گامااوریزانول به صورت داخل صفاقی (I/R+Gip) و گروه ایسکمی - بازخون‌رسانی به همراه تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر وزن بدن گامااوریزانول به صورت گاواژ (I/R+Gg) تقسیم شدند (۱۳).

ماده گامااوریزانول به صورت پودر سفید رنگ کمی متمایل به زرد و محلول در روغن از شرکت Tsuno Rice Fine Wakayama Japan Chemicals خریداری شد. گامااوریزانول یک ساعت قبل از جراحی با استفاده از روغن زیتون به صورت محلول درآمد و برای گروه‌های تیمار تجویز گردید. قبل از ایجاد

(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

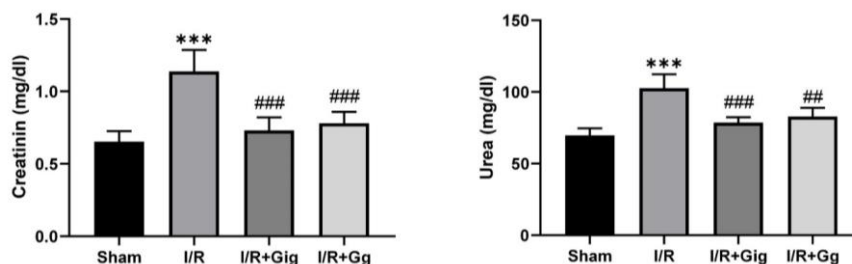
داده‌های کمی به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. اختلاف معنادار بین گروه‌ها توسط آزمون‌های ANOVA و تعقیبی Tukey در سطح معناداری ($P < 0.05$) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 23 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، مقدار کراتینین و اوره در گروه I/R (به ترتیب 1.14 ± 0.14 و 102.58 ± 9.77 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به گروه شم (به ترتیب 0.65 ± 0.08 و

$0.69/74 \pm 4/96$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) افزایش معناداری داشته است ($P < 0.001$). گامااوریزانول به دو روش تجویز تزریق داخل صفاقی و گاوژ در گروه‌های I/R+Gg و I/R+Gip توانسته‌اند به طور معناداری موجب کاهش مقدار کراتینین و اوره سرم در گروه‌های تیمار نسبت به گروه I/R شوند ($P < 0.001$).

بررسی نتایج آنزیم‌های اکسیداتیو در بافت کلیه و مغز نشان می‌دهند (جدول ۱ و ۲) که میزان MDA در گروه I/R نسبت به گروه شم افزایش معناداری داشته است ($P < 0.001$). همچنین این ماده در گروه‌های تیمار با گامااوریزانول موجب کاهش سطح MDA در بافت‌های کلیه ($P < 0.001$) و مغز (Gip: $P < 0.05$ و Gg: $P < 0.01$) گردیده است. از سوی دیگر در مقایسه بین دو روش تجویز گامااوریزانول، اختلاف معناداری بین این دو روش (گاوژ و تزریق داخل صفاقی) در MDA در بافت کلیه وجود داشته ($P < 0.05$) و روش تجویز گاوژ از عملکرد بهتری نسبت به روش تجویز داخل صفاقی برخوردار بوده است (Gip: $0.392/16 \pm 15/41$ و Gg: $0.232/23 \pm 21/52$ نانومول بر میلی‌گرم).



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

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند و $n=6$ می‌باشد.

*** بیانگر اختلاف معنادار بین گروه I/R با گروه Sham با سطح معناداری $P < 0.001$ ؛ ## و ### بیانگر اختلاف معنادار با گروه I/R به ترتیب با سطح معناداری $P < 0.01$ و $P < 0.001$

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

فراسنجه گروه	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون دی‌آلدنید (نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوکاتیون پراکسیداز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوکاتیون (نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	کانالاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)
Sham	16/93 ± 0/40	203/74 ± 17/02	39/49 ± 2/29	62/42 ± 3/49	34/13 ± 0/56	132/16 ± 6/64
I/R	10/57 ± 0/28	710/60 ± 33/79	26/08 ± 0/86	51/91 ± 2/50	20/27 ± 0/30	97/67 ± 6/20
	***	***	***	***	***	***
I/R+Gip	13/56 ± 0/33	639/2/16 ± 15/41	31/15 ± 1/10	60/72 ± 2/74	32/88 ± 0/54	117/79 ± 8/38
	##	###	##	##	##	##
I/R+Gg	13/05 ± 0/23	232/23 ± 21/52	31/61 ± 2/19	60/29 ± 2/16	30/29 ± 0/33	121/24 ± 9/22
	##	###	##	##	#	##

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند و $n=6$ می‌باشد.

*** بیانگر اختلاف معنادار بین گروه I/R با گروه Sham با سطح معناداری $P < 0.001$ ؛ #، ## و ### بیانگر اختلاف معنادار با گروه I/R به ترتیب با سطح معناداری $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$

جدول شماره ۲: اثر گاما اوریزانول بر آنزیم‌های اکسیداتیو بافت مغز به دنبال آسیب ایسکمی - بازخون‌رسانی کلیه						
فراسنجه گروه	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون دی‌آلدئید (نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوکاتایون پراکسیداز (واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین)	ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوکاتایون (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 $n=6$ می‌باشد.

*** بیانگر اختلاف معنادار بین گروه I/R با گروه Sham با سطح معناداری $P<0/001$ ؛ #، ## و ### بیانگر اختلاف معنادار با گروه I/R به ترتیب با سطح معناداری $P<0/05$ ، $P<0/01$ و $P<0/001$

یون سوپراکسید در میتوکندری توسط آنزیم‌های زنجیره انتقال الکترون، در سیتوزول توسط آنزیم‌هایی نظیر گزانتین اکسیداز و Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH oxidase) اکسیداز، در شبکه آندوپلاسمی توسط سیتوکروم P450 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، گلوکاتایون، گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و ویتامین‌هایی چون A و C اشاره کرد (۷). مطالعات متعددی خواص آنتی‌اکسیدانی گاما اوریزانول را اثبات نموده‌اند (۱۱). در این راستا، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی گاما اوریزانول 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 ($P<0/001$). 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

بر مبنای نتایج، گاما اوریزانول 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 ($P<0/001$) را به طور معناداری افزایش داده است (کلیه: $P<0/01$ و مغز: $P<0/05$).

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 ($P<0/001$) (جداول ۱ و ۲). در گروه تیمار با گاما اوریزانول با روش تزریق داخل صفاقی نیز افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های کلیه ($P<0/01$) و مغز ($P<0/05$) مشاهده می‌شود. گروه گاما اوریزانول با روش گاوژ 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 ($P<0/05$).

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،

را از آسیب‌های ناشی از القای پیری محافظت می‌کند (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر بیان گردید که تجویز سه هفته‌ای گامااوریزانول، 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 گامااوریزانول 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 گامااوریزانول 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 گامااوریزانول به مدت هشت هفته بر موش‌های صحرایی دیابتی صورت گرفت، نشان داده شد که گامااوریزانول توانسته است سطوح کراتینین، اسید اوریک، نیتروژن اوره خون، آلومین، 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 گامااوریزانول مبنی بر مقاومت در برابر اکسیداسیون و از بین بردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد. عمدتاً این توانایی به دلیل گروه‌های اسید فرولیک گامااوریزانول 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 گامااوریزانول 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 -

عملکرد کلیه شده است (۱۵،۲۳). نتایج استفاده از گامااوریزانول 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 گامااوریزانول نیز نشان دادند که پیش‌درمانی با گامااوریزانول باعث محافظت در برابر پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد و کلیه و مغز را از افزایش شدید گونه‌های فعال اکسیژن و تخلیه سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و گلوکاتایون محافظت می‌کند (جداول ۱ و ۲). از سوی دیگر، نتایج مطالعه Kozuka و همکاران (۲۰۱۲) حاکی از آن بودند که گامااوریزانول قادر به مهار رادیکال‌های آلی محلول در لیپیدها می‌باشد (۲۵). همچنین گامااوریزانول 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 اریترئوئید ۲ (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 گامااوریزانول، خاصیت محافظتی بر سلول‌های عصبی داشته و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت مغز و همچنین فعالیت میتوکندری‌های موجود در نورون‌ها

بازخون‌رسانی کلیه پس از جراحی‌ها باشد. در مطالعه حاضر پیش‌درمانی با گامااوریزانول به طور قابل توجهی موجب افزایش معنادر سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت‌های کلیه و گردید. در مقایسه بین روش‌های تجویز گامااوریزانول می‌توان گفت که تجویز به روش گاوژ از عملکرد بهتری برخوردار بوده است؛ اما مطالعات بیشتری به منظور شناخت دقیق مکانیسم‌های اثربخشی و محافظتی گامااوریزانول 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. بدین وسیله از تمامی مسئولان و کارکنان دانشگاه؛ به ویژه کارشناسان بخش جراحی دانشکده دامپزشکی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

- Ahmadvand H, Mahdavi 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](https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_396_17)
- 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](https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2019.104329)
- 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](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117860)
- 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](https://doi.org/10.1080/10715762.2019.1623883)
- 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](https://doi.org/10.1016/j.kint.2015.11.019)
- 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](https://doi.org/10.1016/j.ccc.2015.06.010)
- 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](https://doi.org/10.1155/2019/8575398)
- 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](https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.02.025)
- 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](https://doi.org/10.1093/jn/133.10.3275S)
- Mohajeri D, Mousavi G, Mansouri MB. Histopathological study on the effects of turmeric (*Curcuma longa* linn.) powder on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Vet Clin Pathol* 2012;6(1):1493-503.
- Szczeniak K, Ostaszewski P, Ciecierska A, Sadkowski T. Investigation of nutraceutical phytochemical-gamma-oryzanol in experimental animal models. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2016;100(4):601-17. DOI: [10.1111/jpn.12428](https://doi.org/10.1111/jpn.12428)
- 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](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.11.042)
- 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](https://doi.org/10.1007/s13596-013-0119-1)
- Sancaktutar AA, Bodakci MN, Hatipoglu NK, Soylemez H, Basarılı K, Turkcu G. The protective effects of

- pomegranate extracts against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Urol Ann* 2014;6(1):46-50. DOI: [10.4103/0974-7796.127029](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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, Ekinici 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-23)