ORIGINAL ARTICLE

Effect of Hydroalcoholic Extract of Olive Leaves on the Serum Antioxidant Enzymes Level Following Renal Ischemia/reperfusion Injury in Adult Male Rats

Mohammadreza Nasirzadeh[1],
Jafar Rahmani[2],
Mohammad Kazemi[3],
Alireza Khanizadeh[4]

[1] Asistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran
[2] Asistant Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran
[3] Student of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran
[4] Statistical Reaserch Office, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

(Received May 24, 2014 ; Accepted May 5, 2015)

Abstract

Background and purpose: Ischemia-reperfusion (I/R) is present at various degrees in kidney transplants. Several studies suggest that renal ischemia reperfusion (RIR) can induce acute kidney injury. Olive leaf is a significant source of bioactive phenolic compounds. They have better antioxidant capacity, anti-inflammatory and radical scavenging.

Materials and methods: In this study 50 male rats were randomly allocated into 5 groups: control group which were intact animals group-1(receiving I/R 60min+olive leaf extract), group-2(I/R 60min), group-3(I/R 120min+olive leaf extract) and group-4(I/R 120min).The animals received 100 mg/kg olive leaf extract in 0.5 ml drinking water using gavages for 28 days. At the end of the treatment, levels of antioxidant enzymes including SOD, GPX, TAC, and MDA, urea and creatinine level were determined in serum.

Results: Results showed that urea and creatinine level in serum of treated groups was significantly lower than those of the ischemia-reperfusion groups (P=0.00). Also, MDA level in groups-2 and 4 was significantly higher than that of the control group (P=0.00). In addition, activity level of SOD and GPX enzymes in treated groups with olive leaf extract was significantly higher compared to those of the I/R groups (P=0.00).

Conclusion: This study showed protective effect of olive leaf extract against renal ischemic-reperfusion injury.

Keywords: Ischemic injury, kidney reperfusion, antioxidant enzyme, male rat

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(124): (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۲۴ اردیبهشت سال ۱۳۹۴ (۱۵۱-۱۴۳)

تاثیر عصاره الکلی برگ زیتون بر سطح آنزیم های آنتی اکسیدان سرم به دنبال آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد کلیوی در موش های صحرایی نر بالغ

محمدرضا نصیرزاده[۱]
جعفررحمانی[۲]
محمد کاظمی[۳]
علیرضا خانی زاده[۴]

چکیده

سابقه و هدف: ایسکمی- خونرسانی مجدد با درجات مختلف در پیوند کلیه دیده می‌شود. مطالعات چندی نشان داده‌اند که ایسکمی- خونرسانی مجدد می‌تواند باعث آسیب حاد کلیوی گردد. برگ زیتون یک منبع قابل ملاحظه ترکیبات فنلی است که به لحاظ بیولوژیکی فعال هستند و ظرفیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و قدرت پاک کنندگی رادیکالی بهتری دارند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر به ۵ گروه (n=۱۰) به شرح زیر تقسیم شدند: گروه کنترل): حیوانات سالم دست نخورده، گروه ۱): ایسکمی- خونرسانی مجدد ۶۰ دقیقه + دریافت عصاره برگ زیتون، گروه۲) :گروه ایسکمی- خونرسانی مجدد ۶۰ دقیقه، گروه ۳): گروه ایسکمی- خونرسانی مجدد ۱۲۰ دقیقه + دریافت عصاره برگ زیتون و گروه ۴): گروه ایسکمی- خونرسانی مجدد ۱۲۰دقیقه. موش‌ها عصاره را از طریق گاواژ و به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. در پایان دوره، سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و هم‌چنین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و مالون دی آلدئید (MDA)، اوره و کراتینین سرم اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که سطح سرمی اوره و کراتینین در گروه‌های تیمار شده به‌طور معنی‌داری پائین‌تر از گروه‌های ایسکمی- خونرسانی مجدد بود (p =۰/۰۰). هم‌چنین میانگین سطح مالون دی آلدئید در گروه‌های دو و چهار نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (p =۰/۰۰). علاوه بر این، سطح فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های تیمار شده با عصاره برگ زیتون نسبت به گروه‌های ایسکمی- خونرسانی مجدد به طور معنی‌داری بالاتر بود (p =۰/۰۰).

استنتاج: عصاره برگ زیتون با مهار اکسیداسیون لیپیدی وافزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان آسیب اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله ایسکمی- خونرسانی مجدد را کاهش می‌دهد.

واژه های کلیدی: آسیب ایسکمیک، خونرسانی مجدد کلیوی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سرم، موش صحرایی نر

مقدمه

مکانیسم‌های فیزیوپاتولوژی که به آسیب حاد کلیوی منجر می‌شوند به طور کامل شناخته نشده‌اند. با این وجود، یکی از علل اصلی نارسایی حاد کلیوی، ایسکمی- خونرسانی مجدد کلیوی است.

مولف مسئول: محمدرضا نصیرزاده- تبریز: جاده تبریز- تهران، سه راهی اهر، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز E-mail:mr.nasirzadeh@iaut.ac.ir
۱. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۳. دانشجو، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۴. دفتر پژوهش های آماری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۳/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۳/۱۰۲/۷ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۲/۱۵

کلیه از جمله اعضایی است که از این سندروم آسیب می‌بیند. به عنوان مثال، در پی کاهش جریان خون به کلیه به دنبال خونریزی یا قطع کامل جریان خون در حین عمل پیوندکلیه، این وضعیت اتفاق می‌افتد. مطالعات چندی نشان داده‌اند که ایسکمی- خونرسانی مجددکه با درجات مختلف در پیوند کلیه مشاهده می‌شود، می‌تواند باعث آسیب حاد کلیوی گردد(۱۲). بیماری‌های کبدی و اختلالات نورولوژیکی مرتبط با آسیب کلیوی از مشکلات بالینی معمول به شمار می‌روند(۳).

Walker و همکاران گزارش کرده‌اند که رادیکال‌های اکسیژن، میانجی‌های مهم آسیب درطی ایسکمی- خونرسانی مجدد کلیوی هستند(۴). علت اصلی عملکرد تاخیری بافت کلیه به دنبال پیوند، آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد می‌باشد. هر چه میزان آسیب اولیه در اثر ایسکمی- خونرسانی مجدد بیش‌تر باشد، احتمال رد پیوند یا اختلال عملکردی افزایش می‌یابد. بنابراین، کاهش در آسیب اولیه منجر به نتیجه بهتر برای بقا پیوند می‌شود. ایسکمی و به دنبال آن خونرسانی مجدد با تولید رادیکال‌های آزاد موجب آسیب شدید اکسیداتیو در بافت‌ها می‌شوند، اگرچه برای بقاء بافت کلیوی ایسکمیک، خونرسانی مجدد ضروری است(۶،۵).

رادیکال‌های آزاد مشتق ازاکسیژن توسط ارگانیسم‌های هوازی در طی متابولیسم اکسیداتیو میتوکندریایی تولید می‌شوند. این رادیکال‌ها می‌توانند دراثر واکنش با مولکول‌های آلی و ماکرومولکول‌های بافت همبند موجب اختلال در عملکرد سلول شوند. تحت شرایط طبیعی بین میزان تولید رادیکال های آزاد اکسیژن در بدن و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی تعادل وجود دارد. اختلال در تعادل اکسیدان- آنتی‌اکسیدان وضعیت را به سمت استرس اکسیداتیو و تولید بیش‌تر رادیکال‌های آزاد پیش می‌برد(۷).

با وجود قدمت مصرف داروهای گیاهی در درمان بیماری‌ها، در بیش‌تر موارد هنوز ترکیبات شیمیایی واثرات فارماکولوژیکی آن‌ها ناشناخته باقی مانده است. معمول‌ترین ترکیبات فعال موجود در میوه ها، سبزیجات و گیاهان دارویی شامل ترکیبات فنلی، نیتروژنی، ویتامین‌ها، ترپنوئیدها (کاروتنوئیدها وتری‌ترپن‌ها) و آلکالوئیدها هستند. برخی از این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند(۸). برگ زیتون یک منبع قابل ملاحظه ترکیبات فنلی است که به لحاظ بیولوژیکی فعال هستند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و قدرت پاک کنندگی رادیکالی بهتری دارند(۱۰،۹). هم‌چنین، ترکیبات فنلی مشتق از برگ زیتون با داشتن مقادیر قابل توجهی Oleuropein از اکسیداسیون لیپوپروتئینی جلوگیری می‌کنند(۱۱).

اولئوروپین ترکیب اصلی برگ زیتون است که تصور می‌شود مسوول فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن باشد. بیش‌تر مطالعات بر روی ترکیبات فنلی برگ زیتون متمرکز شده‌اند. این در حالی است که به دلیل وجود اثر سینرژیسم بین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و اولئوروپئوزیدها خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره تام برگ زیتون بیش‌تر است. نشان داده شده است که قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره تام برگ زیتون از ویتامین C و E بیش‌تر است. آنتی‌اکسیدان‌ها در حیات انسان نقش مهم واساسی ایفا می‌کنند به طوری که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها با کاهش خطر بیماری‌های قلبی، دیابت و دیگر بیماری‌های مرتبط با پیری از قبیل سرطان همراه است(۱۲،۸). گیاهان دارویی به علت سهولت دسترسی، عوارض جانبی اندک و صرفه اقتصادی، امروزه مورد توجه محققین بوده و می‌توانند جایگزین‌های شایسته داروهای سنتتیک باشند. برگ درخت زیتون در گذشته به عنوان داروی شفابخش در کشورهای اروپایی و مدیترانه استفاده می‌شد. برگ درخت زیتون در رژیم غذایی به صورت عصاره و چای گیاهی قابل مصرف است. به نظر می‌رسد که عصاره برگ زیتون با داشتن ترکیبات متعدد از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد استفاده قرار گیرد(۱۳،۱۲). لذا هدف از انجام این مطالعه ارزیابی

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون بر سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم به دنبال آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد می‌باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر با نژاد ویستار و وزن ۲۰±۲۵۰ گرم به صورت تصادفی انتخاب و به ۵ گروه (n =۱۰) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی هر ۵ گروه از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز تهیه و در آن مرکز در شرایط یکسان با دسترسی آزاد به آب و غذا و در سطحی با دمای 22 ± 2^{0c} و چرخه نوری ۱۲/۱۲ روشنایی- تاریکی نگهداری شدند. حیوانات در ۵ گروه به شرح زیر قرار گرفتند:

گروه کنترل شامل حیوانات سالم دست نخورده؛

گروه یک در برگیرنده گروه ایسکمی –خونرسانی مجدد به مدت ۶۰ دقیقه + دریافت عصاره برگ زیتون؛

گروه دو شامل گروه ایسکمی- خونرسانی مجدد به مدت ۶۰ دقیقه؛

گروه سه شامل گروه ایسکمی- خونرسانی مجدد به مدت ۱۲۰ دقیقه + دریافت عصاره برگ زیتون؛ و

گروه چهار در برگیرنده گروه ایسکمی- خونرسانی مجدد به مدت ۱۲۰دقیقه(۱، ۳).

عصاره گیری

پس از جمع‌آوری برگ زیتون (Olea Europeae L.) از باغات شمال ایران و تایید آن توسط گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، برگ‌ها در سایه خشک گردیدند. جهت تهیه عصاره ۲۰۰ گرم برگ زیتون آسیاب گشته و به صورت پودر درآمد. سپس با استفاده از اتانول ۸۰ درصد عصاره گیری انجام گرفت. پس از تبخیر حلال با استفاده از دستگاه روتاری اواپراتور باقیمانده به عنوان عصاره از راه خوراکی تجویز شد(۱۴). در گروه‌های یک و سه حیوانات عصاره برگ زیتون را به مدت ۲۸ روز قبل از ایسکمی و به میزان ۱۰۰mg/kg از راه خوراکی و از طریق گاواژ دریافت کردند(۱۵). حیوانات گروه‌های دو وچهارهم حجم عصاره (۰/۵ میلی لیتر) سرم فیزیولوژی از طریق گاواژ دریافت کردند.

در پایان دوره تجویز عصاره، حیوانات گروه های مورد مطالعه تحت بیهوشی مورد جراحی (برش در خط وسط شکم و دسترسی به کلیه‌ها پس از کنار زدن چربی‌های دور کلیه) قرار گرفته و پس از دسترسی به عروق کلیوی ایسکمی- خونرسانی دوطرفه با استفاده از کلمپ رگی غیر تروماتیک در نزدیکی ناف کلیه (vascular pedicle) ایجاد و پس از یک ساعت ایسکمی کلیوی دوره پرفوزیون آغاز گردید(۱۶،۱). به ترتیب در گروه‌های یک و دو به دنبال یک ساعت ایسکمی، یک ساعت خونرسانی مجدد انجام گرفت. در گروه‌های دو و چهار نیز به دنبال یک ساعت ایسکمی، دوساعت خونرسانی مجدد صورت گرفت(۱۷،۳). جهت ایجاد بیهوشی از داروهای بیهوشی کتامین به میزان ۴۰ mg/ Kg وزن بدن و زایلازین به مقدار ۱۰mg/ Kg وزن بدن به صورت داخل صفاتی استفاده شد(۱۱) در پایان خونرسانی مجدد نمونه های خون اخذ شد.

اندازه گیری فاکتورها

فاکتورهای بیوشیمیایی اوره و کراتینین در پلاسما با استفاده از کیت‌های استاندارد شرکت زیست شیمی (تهران، ایران) اندازه‌گیری شدند.

اندازه گیری سوپراکسید دسموتاز (SOD)

دراین روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز جهت تولید رادیکال های سوپر اکسید استفاده می شود. این رادیکال‌ها با I.N.T یا واکنش می‌دهند و رنگ قرمز فورمازون تولید می‌کنند که در طول موج ۵۰۵ nm اندازه‌گیری می‌شود(۱۸).

-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride 2-(iodophenyl)

اندازه گیری گلوتاتیون پراکسیداز(GPX)

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) را توسط کومن هیدروپراکسید[1] کاتالیز می‌نماید. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز[2] و گلوتاتیون اکسید شده[3] مجدداً به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود که این احیاء با اکسیداسیون همزمان ADPH به $NADP^+$ همراه است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود(۱۸).

اندازه گیری مالون دی آلدئید (MDA)

این روش بر پایه واکنش با تیو باربیتوریک اسید[4]، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه با منحنی استاندارد می باشد(۱۸).

اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC)

ABTS (2, 2-Azino-di-{3-ethylbenzthiazoline sulphonate}) با یک پراکسیداز و آب اکسیژنه مجاور می‌شود تا رادیکال‌های ABTS+ تولید نماید. این ماده رنگ آبی- سبز دارد که در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه تولید این رنگ را تضعیف می‌کنند. این فاکتورها با استفاده از کیت تجاری Randox ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شدند(۱۹).

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه داده‌های به دست آمده با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون‌های post hoc و Duncan مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی‌دار $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

مقایسه میانگین ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در سرم گروه های مختلف مورد مطالعه نشان داد که بین گروه کنترل با سایر گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری وجود دارد ($p <۰/۰۵$)(جدول شماره ۱). هم‌چنین مشخص گردید که بین گروه‌های یک، دو، سه و چهار اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p >۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). مقایسه میانگین سطح مالون دی آلدئید در سرم حیوانات مورد مطالعه مشخص نمود که بین گروه کنترل با گروه‌های دو و چهار تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p >۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). هم‌چنین مشخص گردید.

که بین گروه کنترل با گروه‌های یک و سه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($p >۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در سرم گروه کنترل در مقایسه با سایر گروه‌های مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). هم‌چنین مشخص گردید که سطح فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در گروه‌های تیمار شده با عصاره برگ زیتون نسبت به گروه‌های ایسکمی- خونرسانی مجدد به‌طور معنی‌داری در سطح بالاتری قرار داشت ($p<۰/۰۵$). با این وجود، بین گروه دو با گروه چهار اختلاف معنی داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$) (جدول شماره ۱).

بررسی آماری نتایج به دست آمده نشان داد که از نظر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سرم حیوانات مورد مطالعه بین گروه کنترل با بقیه گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود دارد($p<۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). هم‌چنین مشخص گردید که سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های تیمار شده با عصاره برگ زیتون نسبت به گروه‌های ایسکمی- خونرسانی مجدد به‌طور معنی‌داری بالاتر است($p<۰/۰۵$). علاوه براین، نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سرم حیوانات گروه یک به طور معنی‌داری بالاتر از گروه سه است ($p<۰/۰۵$) (جدول شماره ۱)، اما بین گروه دو با گروه چهار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت($p>۰/۰۵$) (جدول شماره ۱).

1. Cumene Hyroperoxide
2. NADPH
3. GSSG
4. TBARS

جدول شماره ۱: میانگین سطح اوره، کراتینین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سرم موش‌های صحرایی نر بالغ در گروه های مختلف مورد مطالعه (میانگین± انحراف معیار)

پارامتر / گروه	Urea mg/dl	Creatinin mg/dl	TAC mmol/l	MDA µmol/l	SOD U/ml	GPX U/gHb
کنترل	۴۱/۰۰ ± ۰/۴۵a	۱/۲۱ ±۰/۰۴a	۳/۸۷ ±۰/۰۱a	۶/۶۰ ±۰/۱۱a	۵/۶۲ ±۰/۰۷a	۶۲/۶۲ ±۰/۴۹a
گروه یک	۶۱/۲۶ ±۰/۳۹b	۱/۷۵ ±۰/۰۵c	۳/۴۶ ±۰/۰۴b	۶/۸۰ ±۰/۱۲b	۴/۶۲ ±۰/۱bc	۵۵/۱۸ ±۰/۰۱b
گروه دو	۷۲/۹۲ ±۰/۴۲d	۲/۲۰ ±۰/۰۴b	۳/۲۹ ±۰/۰۲b	۷/۱۴ ±۰/۰۶b	۴/۲۲ ±۰/۰۶d	۴۹/۵۲ ±۰/۲۸d
گروه سه	۷۰/۷۲ ±۰/۴۳c	۱/۸۸ ±۰/۰۵c	۳/۴۳ ±۰/۰۶b	۶/۹۵ ±۰/۰۸ab	۴/۸۲ ±۰/۰۴b	۵۳/۱۸ ±۰/۰۲c
گروه چهار	۷۰/۳۴ ±۰/۴۳c	۱/۹۸ ±۰/۰۲cd	۳/۲۸ ±۰/۰۳b	۷/۷۳ ±۰/۰۵c	۴/۳۸ ±۰/۰۸cd	۴۹/۴۳ ±۰/۰۴d

میانگین های دارای حروف غیرمشابه در یک ستون اختلاف معنی دار دارند.

برای تمامی گروه ها سطح معنی دار p <۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

مقایسه میانگین غلظت سرمی اوره در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که بین گروه کنترل با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین مشخص شد که بین گروه یک با بقیه گروه‌های مورد مطالعه نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد(p<۰/۰۵) (جدول شماره۱). مقایسه میانگین غلظت سرمی کراتینین در گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان داد که بین گروه کنترل با سایر گروه ها تفاوت معنی داری وجود دارد. هم‌چنین مشخص گردید که بین گروه دو با بقیه گروه‌های مورد مطالعه نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد(p<۰/۰۵) (جدول شماره ۱).

بحث

اعتقاد بر این است که گونه‌های واکنشی اکسیژن نقش کلیدی در مکانیسم‌هایی دارند که به نکروز توبولی و کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی منجر می‌شوند. گونه‌های واکنشی اکسیژن فاکتور داخل هسته‌ای به نام کاپا B را فعال می‌کنند که این فاکتور در آغاز فرایند التهاب اهمیت فراوانی دارد(۱۴). در مراحل ابتدایی آسیب کلیوی، افزایش کراتینین شاخص قوی‌تری از اوره پلاسما می‌باشد زیرا غلظت سرمی اوره پس از آسیب پارانشیمی شروع به بالا رفتن می‌کند(۱۴). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که غلظت سرمی اوره و کراتینین در گروه هایی که ایسکمی– خونرسانی مجدد را تحمل کرده بودند به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۵). افزایش قابل ملاحظه اوره و کراتینین حاکی از آسیب عملکرد کلیوی در اثر ایسکمی– خونرسانی مجدد می باشد. این نتایج با یافته‌های مطالعات قبلی مطابقت دارد(۲۰،۱۴). هم‌چنین نتایج حاصل نشانگر تاثیر مثبت عصاره برگ زیتون بر آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد است به‌طوری‌که در گروه‌های یک و سه در مقایسه با گروه‌های دو و چهار غلظت سرمی کراتینین به طور معنی‌داری پائین‌تر بود (p<۰/۰۵). استرس‌های اکسیداتیو می‌توانند موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و یا کاهش توانایی سیستم‌های آنتی اکسیدان در مهار رادیکال‌های آزاد گردند. بنابراین، در غشا لیپیدی گونه‌های فعال اکسیژن به اسیدهای چرب غیر اشباع متصل شده و باعث تغییرات ساختاری و عملکردی سلول می‌شوند. به دنبال خونرسانی مجدد عدم تعادل ایجاد شده در اکسیژن‌رسانی و عملکرد تنفسی موجب تولید مقادیر فراوان آنیون سوپراکسید در میتوکندری می گردد(۲۱) اکسیژن واکنشی پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها را تغییر داده، انتقال‌دهنده‌ها وآنزیم‌ها را غیرفعال ساخته و به ماشین نسخه برداری و DNA آسیب می‌زند. هم‌چنین اکسیژن واکنشی زنجیره‌ای از واکنش‌ها را آغاز می‌کند که موجب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپیدهای غشا می‌شود(۱۸).

برگ زیتون حاوی ترکیبات پلی فنلی از جمله اولئوروپین، فلاونوئیدها و تری‌ترپن‌ها می‌باشد که در برابر استرس اکسیداتیو اثر محافظت‌کنندگی دارند(۲۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میانگین سطح TAC

در سرم گروه‌هایی که روند ایسکمی- خونرسانی مجدد را تحمل بودند نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری پائین‌تر بود(p<۰/۰۵). هم‌چنین مشخص گردید که تجویز عصاره برگ زیتون نتوانسته است میانگین سطح ظرفیت تام آنتی اکسیدانی را در مقایسه با گروه‌های ایسکمیک به طور معنی داری افزایش دهد(p>۰/۰۵). Tukez و همکاران در سال ۲۰۱۲ طی مطالعه‌ای نشان دادند که عصاره برگ زیتون در برابر آسیب اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله پرمترین اثرات محافظتی داشته است. به عبارتی، تجویز خوراکی عصاره برگ زیتون موجب افزایش سطح ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در سرم موش‌های صحرایی شد(۲۲).

Tavafi و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون را در برابر سمیت کلیوی جنتامایسین بررسی کرده و دریافتند که تجویز خوراکی عصاره برگ زیتون به همراه جنتامایسین در موش‌های صحرایی موجب کاهش سطح سرمی مالون دی آلدئید می‌شود(۱۴).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطح مالون دی آلدئید در گروه های دو و چهار که ایسکمی را تحمل کرده بودند به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۵). هم‌چنین مشخص گردید که بین گروه کنترل با گروه های یک و سه که با عصاره برگ زیتون تیمار شده بودند، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (p>۰/۰۵). این نتایج نشانگر تاثیر مثبت عصاره در پاک کردن رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر ایسکمی می‌باشد. موافق با نتالیج مطالعه حاضر، برخی مطالعات نشان داده‌اند که سطح مالون دی آلدئید پلاسما در رت‌های دیابتی افزایش می‌یابد که نشانگر افزایش اکسیداسیون چربی به دلیل افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و نیز کاهش توان سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و یا هر دو می‌باشد(۲۴،۲۳).

بررسی نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم‌ها در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌های مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (p<۰/۰۵). هم‌چنین مشخص گردید که بین گروه‌های دو و چهار از نظر فعالیت سوپر اکسید دسموتاز (p>۰/۰۵) و نیز گلوتاتیون پراکسیداز (p>۰/۰۵) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. علاوه بر این، برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که در موش‌های صحرایی بالغ میزان مالون دی آلدئیدافزایش و فعالیت سوپر اکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز کاهش می‌یابد(۲۶،۲۵) سوپر اکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم های آنتی‌اکسیدان مهمی هستند که در پاک کردن سوپر اکسید و آب اکسیژنه شرکت می‌کنند و بدین ترتیب در حفظ ساختار و فعالیت بیولوژیکی غشاها موثر هستند(۲۷). سوپر اکسید دسموتاز به عنوان شاخص بیوشیمیایی جهت بررسی وضعیت آسیب در استرس اکسیداتیو به کار می رود و به همراه آنزیم کاتالاز نخستین خط دفاعی بدن را در برابر آنتی اکسیدان ها تشکیل می‌دهد(۲۴).

فعالیت پائین سوپر اکسید دسموتاز در موش‌های صحرایی پیر ممکن است ناشی از تولید بیش از حد اکسیژن واکنشی باشد(۲۸). به طور کلی، پذیرفته شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها قدرت پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد را دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها (مهارکننده‌های پراکسیداسیون چربی) نه تنها به عنوان نگهدارنده‌های غذایی بلکه به عنوان عوامل دفاعی سلول‌های زنده در برابر آسیب اکسیداتیو محسوب می‌شوند(۸).

این نتایج موافق با مطالعات دیگر نشان داد که در اثر ایسکمی- خونرسانی مجدد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش می‌یابد. در مطالعات مشابه اثرات محافظت‌کنندگی مواد آنتی‌اکسیدان در آسیب ایسکمی – خونرسانی مجدد گزارش شده است(۲۹،۴).

در پایان می توان نتیجه گیری کرد که عصاره برگ زیتون با مهار اکسیداسیون لیپیدی وافزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان آسیب اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله ایسکمی– خونرسانی مجدد را کاهش می‌دهد. با

این وجود، تعمیم نتایج در انسان به مطالعات بیش‌تری نیاز دارد.

References

1. Nahed S, Hanan AM. Effects of renal ischemia reperfusion on brain, liver & kidney tissues in adult male rats. Life Science Journal 2011; 8(1): 204-212.
2. Esposito C, Grosien F, Torreggiani M, Esposito V, Manqione F, Villa Fetal, et al. Sirolimus Prevents Short-Term Renal Changes Induced by Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. Am J Nephrol 2011; 33(3): 239-249.
3. Kurcer Z, Oguz E, Ozbilge H, Baba F, Aksoy N, Celik H, et al. Melatonin protects from ischemia/ reperfusion-induced renal injury in rats: this effect is not mediated by proinflammatory cytokines. J Pineal Res 2007; 43(2): 172-178.
4. Walker LM, York JL, Imam SZ, Ali SF, Muldrew KL, Mayeux PR. Oxidative Stress and Reactive Nitrogen Species Generation during Renal Ischemia. Toxicol Sci 2001; 63(1): 143-148.
5. Tan DX, Manchester LC, Sainz RM, Mayo JC, León J, Reiter RJ. Physiological Ischemia/ Reperfusion Phenomena and Their Relation to Endogenous Melatonin Production. Endocrine 2005; 27(2): 149-157.
6. Cong G, Cui L, Zang M, Hao L. Attenuation of renal ischemia reperfusion injury by a polysaccharide from the root of Dipsacus asperoeides. Int J Biol Macromol 2013; 56: 14-19.
7. Dominguez C, Ruiz E, Gussinye MA. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. Diabetes Car 1998; 21(10): 1736-1742.
8. Özlem S, Aslan T, Tülay AÇ. Antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of extracts from medicinal plant Euphorbia platyphyllos L. J Med Plan 2013; 7(19): 1293-1304.
9. Lee OH, Lee BY, Lee J, Lee HB, Son JY, Park CS and etal. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. Bioresour Technol 2009; 100(23): 6107-6113.
10. Omar SH. Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. Sci Pharm 2010; 78(2): 133-154.
11. Omar SH. Cardio protective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. Saudi Pharm J 2010; 18(3):111-121.
12. Dekanski D, Ristic S, Radonjic NV, Petronigevic ND, Dekanski A, Itrovic DM. Olive leaf extract modulates cold restraint stress-induced oxidative changes in rat liver. J Serb Chem Soc 2011; 76(9): 1207-1218.
13. Lee OH, Lee BY. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in Olea europaea leaf extract. Bioresour Technol 2010; 101(10): 3751-3754.
14. Tavafi M, Ahmadvand H, Toolabi P. Inhibitory Effect of Olive Leaf Extract on Gentamicin-induced Nephrotoxicity in Rats. Iran J Kidney Dis 2012; 6(1): 25-32.
15. Mohagheghi F, Bigdeli MR, Rasoulian B, Hashemi P, Pour MR. The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. Phytomedicine 2011; 18(2-3): 170-175.

16. Aragno M, Cutrin JC, Mastrocola R, Perrelli MG, Restivo F, Poli G, et al. Oxidative stress and kidney dysfunction due to ischemia/ reperfusion in rat: Attenuation by dehydroepiandrosterone. Kidney Int 2003; 64(3): 836-843.
17. Ersoz N, Guven A, Cayci T, Uysal B, Turk E, Oztas E. Comparison of the efficacy of melatonin and 1400W on renal ischemia/ reperfusion injury: a role for inhibiting iNOS. Ren Fail 2009; 31(8): 704-710.
18. Somi MH, Hajipour B, Asl NA, Estakhri R, Azar AN, Zade MN, et al. Pioglitazone Attenuates Ischemia/Reperfusion–Induced Liver Injury in Rats. Transplat Proc 2009; 41(10): 4105-4109.
19. Kurcer Z, Oguz E, Ozbilge H, Baba F, Aksoy N, Celik H, et al. Melatonin protects from ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats: this effect is not mediated by proinflammatory cytokines. J Pineal Res 2007; 43(2): 172-178.
20. Rasoulian B, Jafari M, Noroozzadeh A, Mehrani H, Wahhab-Aghai H, Hashemi-Madani SMH, et al. Effects of Ischemia-reperfusion on rat renal tissue antioxidant system and lipid peroxidation. Acta Med 2008; 46(5): 353-360.
21. Sachse A, Wolf G. Angiotensin II-induced reactive oxygen species and the kidney. J Am Soc Nephrol 2007; 18(9): 2439-2446.
22. Turkez H, Togar B, Polat E.Olive leaf extract modulates permethrin induced genetic and oxidative in rats. Cytotechnology 2010; 64(4): 459-464.
23. Bree AJ, Puente EC, Daphna-Iken D, Fisher SJ. Diabetes increases brain damage caused by severe hypoglycemia. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009; 297(1): 194-201.
24. Patra RC, Swarup D, Dwivedi SK. Antioxidant defense and lipid peroxide level in liver and kidneys of lead exposed rats. Asian-Australas J Anim Sci 2000; 13(10): 1433-1439.
25. Li XM. Protective effect of Lycium barbarum polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats. Int J Biol Macromol 2007; 40(5): 461-465.
26. Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S .Effects of Nigella sativa on oxidative stress and βcell Damage in streptozotocin- induced Diabetic rats. Anat Rec A Discov Mol 2004; 279(1): 685-691
27. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative Stress. Am J Med 2000; 108(8): 652-659.
28. Huang SZ, Luo YJ, Wang L and et al. Effect of ginkgo biloba extract on livers in aged rats. World J Gastroenterol 2005; 11(1):132-135.
29. Korkmaz A, Kolankaya D.The protective effects of ascorbic acid against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. Ren Fai 2009; 31(1): 36-43.