

Effects of Sodium Nitrite on Liver Enzymes and Histological Structure of Liver in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Fatemeh Ramezani Noroozani¹,
Dorna Ojinejad²,
Ali Ghorbani Ranjbary^{2,3}

¹ Assistant Professor, Department of Sciences, School of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

² General Practitioner, Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

³ Ph.D in Biotechnology, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received February 1, 2016 Accepted August 22, 2016)

Abstract

Background and purpose: Nitrite is used for preserving food, especially in processed meat products. Processed foods containing nitrite are highly used in many countries. This harmful substances in water, soil and ecosystem endanger the health of people. In this study, we examined the effect of sodium nitrite on liver enzymes and histological structure of the liver in streptozotocin-induced diabetic rats.

Materials and methods: In this study, 60 adult male Wistar rats were divided into six groups (n= 10 per group): a control group, experimental groups receiving 175 and 350 mg/kg/day sodium nitrite, a diabetic control group, and diabetic groups receiving 175 and 350 mg/kg/day sodium nitrite for 60 days. Diabetes was induced in rats by intraperitoneal administration of streptozotocin (65 mg/kg). Blood samples were collected after anesthesia and the serum AST, ALP, and ALT were measured. Also, liver tissues were removed to investigate the histological changes. Statistical analysis was done by one way variation and student's ANOVA Test. P values less than 0.05 were considered significant.

Results: The AST, ALP, and ALT levels significantly increased in diabetic groups and the group receiving 175 and 350 mg/kg sodium nitrite ($P < 0.05$). The mean levels of AST, ALP, and ALT levels in the diabetic group receiving 350 mg/kg sodium nitrite were 239 ± 3.8 , 286 ± 3.5 , 162 ± 3.6 , respectively.

Conclusion: The results showed that sodium nitrite can induce adverse effects on the liver, especially on the liver in diabetic rats.

Keywords: sodium nitrite, liver enzymes, streptozotocin, rats

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26 (144): 171-179 (Persian).

بررسی اثرات نیتريت سدیم بر آنزیم های کبدی و ساختار بافتی کبد در موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

فاطمه رمضانی نوروزانی^۱درنا اوجی نژاد^۲علی قربانی رنجبری^{۳*}

چکیده

سابقه و هدف: نیتريت ماده مورد استفاده در صنعت، جهت نگهداری مواد غذایی به خصوص سوسیس و کالباس می باشد. با توجه به مصرف زیاد غذاهای فسفیت در جامعه و بالا بودن نیتريت در آن ها و همچنین وجود این ماده مضر در آب، خاک و اکوسیستم، سلامتی بسیاری از انسان ها را به خطر می اندازد. در این پژوهش اثرات نیتريت سدیم بر آنزیم های کبدی و ساختار بافتی کبد در موش صحرایی دیابتی شده، مورد بررسی قرار می گیرد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی شامل گروه کنترل، گروه های تجربی دریافت کننده ۱۷۵ و ۳۵۰ mg/kg/day نیتريت سدیم، گروه کنترل دیابتی (دیابتی شده با استرپتوزوتوسین) و گروه دیابتی دریافت کننده ۱۷۵ و ۳۵۰ mg/kg/day نیتريت سدیم به مدت ۶۰ روز، تقسیم شدند. پس از بیهوشی و خونگیری، سرم برای بررسی فاکتورهای ALT، AST و ALP و بافت کبد جهت بررسی تغییرات بافتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۷ و آزمون های آماری Anova Test شامل (Tukey، Duncan، Sheffe) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p \leq 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: در مطالعه حاضر، گروه دریافت کننده دوز ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم و گروه های دیابتی، افزایش معنی داری را در آنزیم های ALT، AST و ALP نشان دادند ($p < 0/05$). بیش ترین میزان ALT، AST و ALP در گروه دیابتی دریافت کننده ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم به ترتیب برابر با $239 \pm 3/8$ ، $286 \pm 3/5$ و $162 \pm 3/6$ مشخص گردید.

استنتاج: بر اساس نتایج حاصل، نیتريت سدیم می تواند بر بافت کبد به خصوص در موش دیابتی اثرات مخرب را القا کند.

واژه های کلیدی: نیتريت سدیم، آنزیم های کبدی، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی

مقدمه

در مرکز واکنش های اکسیداسیون و احیا قرار گرفته است و می تواند به رادیکال بسیار فعال و بیولوژیکی NO احیا یا به طور فراوان به آنیون نیترات اکسید تبدیل شود (۲). عملکرد

امروزه استفاده از افزودنی ها در مواد غذایی افزایش یافته است و انسان ها به طور گسترده در معرض این نگهدارنده ها از قبیل نیتريت سدیم قرار دارند (۱). نیتريت

مؤلف مسئول: علی قربانی رنجبری - کازرون: دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان E-mail: dr_alighorbani87@yahoo.com

۱. استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۲. پزشک عمومی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۳. دکترای تخصصی بیوتکنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۶/۱

ضد بوتولینی نیتريت در جلوگیری از رشد و تولید سم باکتری کلستریديوم بوتولینوم از اهمیت زیادی برخوردار است. به علاوه نیتريت یک آنتی اکسیدان بسیار خوب است و از اکسیده شدن چربی های فرآورده های گوشتی در طول نگهداری آن ها جلوگیری می کند (۳). در حقیقت میزان سمیت نیتريت نسبت به نیترات، تا ده برابر بیش تر می باشد (۴). سرعت جذب نیترات و نیتريت توسط دستگاه گوارش، در گونه های مختلف جانوران، متفاوت می باشد. به طوری که سرعت جذب در دستگاه گوارش انسان ها و رت ها نسبتاً زیاد اما در نشخوارکنندگان سرعت جذب کم تر می باشد. نیترات ها و نیتريت ها در اکثر گونه ها از قسمت بالایی روده - شکمبه به خوبی جذب می شوند و بعد از مصرف یک وعده غذایی سرشار از نیترات، سطح این ماده در پلاسما افزایش یافته و تا مدت طولانی در آن حد باقی می ماند (نیمه عمر پلاسمایی نیترات ۵-۶ ساعت می باشد). علاوه بر این، میزان نیتريت پلاسما نیز پس از مصرف نیترات افزایش می یابد (۵،۶). نیترات ها و نیتريت ها به صورت دائمی از طریق ادرار دفع می شوند، هرچند سرعت دفع نیترات نسبت به نیتريت کم تر می باشد و قسمت عمده (۸۰ درصد) نیترات موجود در ادرار اولیه به وسیله مکانیسم انتقال فعال به خون منتقل می شود (۷). هنگامی که pH معده اسیدی باشد و باکتری های روده ای در روده موجود باشند، نیتريت به آسانی با آمین های ثانویه و آمیدها واکنش می دهد و ترکیبات سرطانزای N-nitrose را تولید می کند. سرعت تشکیل نیتروزاسیون با آمین های ثانویه متناسب با مجذور غلظت نیتريت می باشد (۱،۵). مطالعات متعدد اثرات گشادکنندگی عروق، توسط نیتريت در دوزهای پایین در موش های صحرایی، گوسفند، سگ، پریمات و انسان را تأیید شده است و بیش از نیم قرن است که دانشمندان نقش فیزیولوژیکی این یون در اتساع عروق را بررسی می کنند (۶،۷). در مطالعاتی که توسط Chan و همکاران در سال ۲۰۰۱ به بررسی اثر نیتريت سدیم به مدت ۱۴ هفته بر روی موش های صحرایی پرداختند، به این نتیجه

دست یافتند که نیتريت سدیم باعث تخریب بافت بیضه و کاهش حرکت اسپرم ها می شود و در ماده ها نیز طول سیکل جنسی افزایش می یابد (۸).

فاکتورهای ژنتیکی متفاوتی منجر به دیابت نوع یک و دیابت ملیتوس نوع دو می گردند. افراد مبتلا مستعد بروز عوارضی مانند نفروپاتی، رتینوپاتی اعصاب محیطی و افزایش فشار خون هستند (۹،۱۰). بیماری دیابت به عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی در ایالت متحده آمریکا محسوب می شود. بسیاری از تحقیقات نشان می دهند که بیماری کبدی یکی از علل مهم مرگ و میر در دیابت تیپ دو می باشد (۱۱،۱۲). از این رو، شیوع بالای بیماری های کبدی در بیماران دیابتی و نیز بروز دیابت در بیماران کبدی گزارش شده است. به نظر می رسد که بروز بیماری های کبدی بیش تر در دیابت نوع دو اتفاق می افتد که عوارضی هم چون غیرطبیعی بودن آنزیم های کبدی، کبد چرب غیر الکلی، سیروز، کارسینومای سلول های کبدی و نارسایی حاد کبدی را در بر دارد (۴). افزایش خفیف ترانس آمینازها اغلب در بیماران دیابتی تیپ دو وجود دارد. علاوه بر آن، برای کنترل عوارض کبدی دیابت، اقداماتی نظیر همودیالیز یا فوتوکواگولاسیون شبکه موجود نمی باشد. بنابراین، با وجود این که عوارض کبدی دیابت، کم تر معمول می باشد، ولی می توان آن را در کنار عوارضی هم چون گلو مریولوپاتی، رتینوپاتی و نفروپاتی قرار دارد. آزمایشات سالانه برای مشخص شدن بیماری کبدی می تواند به وسیله آنالیزهای بیوشیمیایی ساده مثل بررسی آلانین آمینوترانسفراز انجام شود (۵). با توجه به این که امروزه از محصولات صنعتی نظیر سوسیس، کالباس و دیگر مواد غذایی حاوی نیتريت سدیم به وفور توسط افراد مختلف جامعه به خصوص افراد مبتلا به بیماری های کبدی و دیابتی استفاده می شود، لذا بررسی تاثیرات این ماده نگهدارنده بر دستگاه های مختلف بدن در حالت های مختلف ضروری است. از طرف دیگر با توجه به این که متابولیسم و سم زدایی مواد مصرفی در کبد انجام می شود

و هم چنین اهمیت نقش کبد در ارتباط با متابولیسم نیتريت سدیم و سنتز پروتئين های پلاسما و استفاده روز افزون از مواد غذایی حاوی نیتريت سدیم، مطالعه حاضر جهت بررسی اثرات نیتريت سدیم بر آنزیم های کبدی و ساختار بافتی کبد در موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی ابتدا در قالب طرح مطرح و با کد ۹۳۲۴۴۵ به تایید کمیته اخلاقی رسید. سپس ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی 230 ± 10 گرم و سن حدود ۲-۳ ماه استفاده و از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و در شرایط آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی کازرون نگهداری شدند. موش های صحرایی در ۶ گروه ده تایی به شرح زیر طبقه بندی شدند:

(۱) گروه کنترل: روزانه از آب آشامیدنی شهرستان کازرون و غذای استاندارد آزمایشگاهی (رژیم سالم و طبیعی) به طور آزادانه در طی آزمایش استفاده می کردند و تحت هیچ گونه تیمار خاصی قرار نگرفتند.

(۲) گروه کنترل دیابتی: به وسیله استرپتوزوتوسین دیابتی گردیدند و روزانه از آب آشامیدنی شهرستان کازرون و غذای استاندارد آزمایشگاهی (رژیم سالم و طبیعی) به طور آزادانه در طی آزمایش استفاده می کردند.

(۳) گروه تیمار با دوز ۱۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن: روزانه مقدار ۱۷۵ میلی گرم به ازای یک کیلو گرم وزن بدن خود، نیتريت سدیم به صورت محلول در آب آشامیدنی شهرستان کازرون به همراه رژیم غذایی سالم و طبیعی دریافت می کردند.

(۴) گروه تیمار با دوز ۳۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن: روزانه مقدار ۳۵۰ میلی گرم به ازای یک کیلو گرم وزن بدن خود نیتريت سدیم به صورت محلول در آب آشامیدنی شهرستان کازرون به همراه رژیم غذایی سالم و طبیعی دریافت می کردند.

(۵) گروه دیابتی تیمار شده با دوز ۱۷۵ میلی گرم به ازای یک کیلو گرم وزن: ابتدا موش ها به وسیله استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. سپس روزانه مقدار ۱۷۵ میلی گرم به ازای یک کیلو گرم وزن بدن خود نیتريت سدیم به صورت محلول در آب دریافت نمودند.

(۶) گروه دیابتی تیمار شده با دوز ۳۵۰ میلی گرم به ازای یک کیلو گرم وزن: ابتدا به وسیله استرپتوزوتوسین دیابتی گردیدند. سپس روزانه مقدار ۳۵۰ میلی گرم به ازای یک کیلو گرم وزن بدن خود نیتريت سدیم به صورت محلول در آب دریافت نمودند.

برای دیابتی کردن موش ها، استرپتوزوتوسین (ساخت شرکت سیگما، آلمان) با تک دوز ۶۵ میلی گرم بر کیلو گرم به صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از ۱۸ ساعت، حیوانات ناشتا با سطح گلوکز خون بیش تر از $16/5 \text{ mmol/L}$ ، دیابتی در نظر گرفته شدند (۱۳).

پس از دوره ۶۰ روزه تیمار، در روز ۶۱، موش ها با استفاده از پنبه آغشته به اتر در جار بیهوشی، بیهوش گردیدند. از حیوان بیهوش شده به صورت مستقیم خونگیری از قلب به عمل آمد و برای ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس سانتریفوژ شده (سانتریفوژ مدل EBA21 ساخت Hettich آلمان) و سرم آن جداسازی شد. بیومارکرهای سرمی فعالیت کبد شامل ALT، AST، ALP (۱۵، ۱۴) با استفاده از کیت های تجاری موجود (کیت پارس آزمون) اندازه گیری شدند. پس از آسان کشی موش ها توسط دوز بالای ماده بیهوشی (کتامین)، کبد موش ها خارج و نمونه گیری بافتی انجام و پس از پایدارسازی در فرمالین بافر ۱۰ درصد و قالب گیری در پارافین، برش هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و مقاطع هیستوپاتولوژیک با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین تهیه گردید. از میکروسکوپ نوری NIKON مدل ECLIPSE E200 برای بررسی تغییرات بافتی استفاده شد. نتایج داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۷ و آزمون های آماری Anova Test

شامل Duncan, Sheffe, Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p \leq 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در مطالعه حاضر، گروه دیابتی دریافت کننده دوز ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم نسبت به گروه کنترل دیابتی، افزایش معنی داری را در آنزیم های AST و ALT نشان دادند ($p \leq 0/05$)، اما میزان آنزیم ALP تنها در گروه دیابتی دریافت کننده ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم نسبت به کنترل دیابتی افزایش معنی دار را نشان داد ($p \leq 0/05$). بیشترین میزان AST، ALP و ALT در گروه دیابتی دریافت کننده ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم نسبت به سایر گروه ها به ترتیب به میزان $239 \pm 3/8$ ، $286 \pm 3/5$ و $162 \pm 3/6$ مشاهده گردید ($p < 0/05$) (جدول شماره ۱). در موش های گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه های سالم دریافت کننده دوزهای ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم، میزان آنزیم های کبدی (AST، ALP و ALT) به ترتیب برابر با $224 \pm 2/2$ ، $279 \pm 3/5$ و $152 \pm 3/6$ به صورت معنی داری افزایش یافت ($p \leq 0/05$). از طرفی در گروه های سالم دریافت کننده دوزهای ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم، میزان آنزیم های کبدی (AST و ALP) نسبت به گروه کنترل سالم به صورت معنی داری بیش تر بود ($p < 0/05$). اما میزان آنزیم ALT تنها در گروه سالم دریافت کننده ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده گردید ($p < 0/05$).

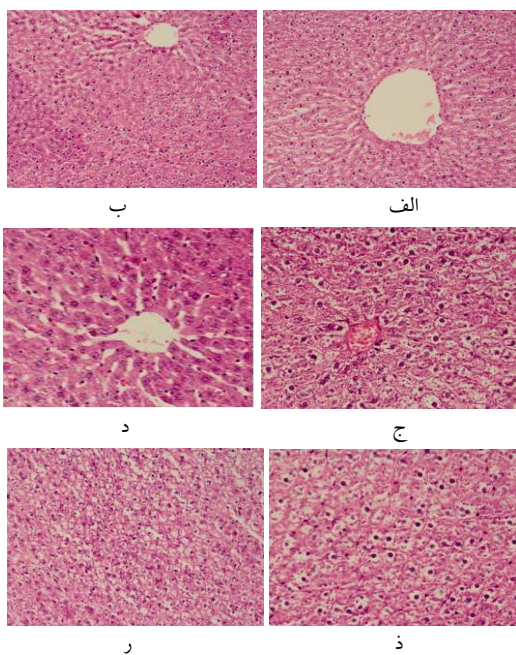
نتایج مربوط به مطالعات میکروسکوپ نوری بافت کبد بررسی بافت شناسی توسط متخصص پاتولوژی در آزمایشگاه پاتولوژیویژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شد. در آسیب شناسی بافتی کبد از گروه کنترل، بافت کبد کاملاً سالم و طبیعی بود (تصویر شماره ۱-الف). در گروه سالم تیمار

با ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم در بافت کبد هیچ گونه تغییر پاتولوژیکی خاصی ایجاد نشده بود (تصویر شماره ۱-ب). اما در گروه دیابتی، تغییر چربی کاملاً مشخصی در نواحی مرکز لوبولی ایجاد شده بود (تصویر شماره ۱-ج). در بافت کبد گروه سالم دریافت کننده دوز ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم و گروه های دیابتی دریافت کننده نیتريت سدیم به میزان ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اتساع و احتقان سینوزوئیدها، همراه با ارتشاح سلول های التهابی تک هسته ایی و پرولیفراسیون سلولی جدار سینوزوئیدها وجود داشت (تصاویر شماره ۱-د، ز، ر).

جدول شماره ۱: مقایسه تاثیر نیتريت سدیم بر شاخص های سرمی آسیب بافت کبدی در موش های صحرایی سالم و دیابتی شده با استرپتوزتوسین

گروه های مورد پژوهش	(U/L) ALT Mean±SD	(U/L) ALP Mean±SD	(U/L) AST Mean±SD
گروه کنترل سالم	78±2/3	192±3/3	161±2/6
گروه کنترل دیابتی	152±3/6	279±3/5	224±2/2
گروه سالم تیمار شده با دوز ۱۷۵ میلی گرم/کیلوگرم	79±1/3	200±5/4*	174±4/3*
گروه سالم تیمار شده با دوز ۳۵۰ میلی گرم/کیلوگرم	81±3/4*	205±3/7*	181±4/1*
گروه دیابتی تیمار شده با دوز ۱۷۵ میلی گرم/کیلوگرم	159±2/1*	280±2/4*	235±2/5*
گروه دیابتی تیمار شده با دوز ۳۵۰ میلی گرم/کیلوگرم	162±3/6*	286±3/5*	239±3/8*

* هر یک از مقادیر نشان دهنده خطای معیار میانگین ± انحراف معیار غلظت پلاسمایی ALT، AST، ALP (U/L)، اختلاف معنی داری در سطح $p \leq 0/05$ نسبت به گروه کنترل سالم را نشان می دهد.



تصویر شماره ۱: نمای بافتی نمونه های مورد بررسی. الف و ب- بافت

کبد در گروه کنترل و گروه سالم دریافت کننده ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم با بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰۰ را نشان می دهد. ج- نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرایی متعلق به گروه دیابتی (بزرگنمایی ۴۰)، د، ذ، ر- به ترتیب متعلق به گروه های سالم دریافت کننده ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم و دیابتی دریافت کننده ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم (بزرگنمایی ۱۰۰).

بحث

در این مطالعه، افزایش شاخص های آسیب های کبدی (ALT، ALP و AST) در گروه سالم دریافت کننده نیتريت سدیم به میزان ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه های دیابتی کنترل و مصرف کننده مقادیر ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نشانگر آسیب سلول های کبدی در زمان مصرف نیتريت سدیم و دیابت تجربی می باشد. این نتیجه با یافته های Ramesh و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد (۱۶). اختلال مارکرهای کبدی در افراد مبتلا به دیابت تیپ ۲ بیش تر از افراد سالم است (۱۷) که این یافته نیز با نتایج ما همخوانی دارد. استرپتوزوتوسین علاوه بر اثرات مخرب و سمی بر سلول های بتای لوزالمعده، بر سایر اندام ها مانند کبد اثر تخریبی دارد. هم چنین به واسطه استرس اکسیداتیو، آثار مخربی بر کبد می گذارد؛ لذا افزایش شاخص های آسیب های کبدی (ALT، ALP و AST) در گروه های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین قابل توجیه است (۱۸، ۱۹). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۹ توسط Stokes و همکارانش انجام گرفت، گزارش داده شد که مصرف نیتريت سدیم به صورت محلول در آب آشامیدنی، میزان نیتريت و نترات در پلاسما، بافت قلب و کبد را افزایش می دهد (۲۰). نتایج مطالعه دیگری نشان می دهد که تجویز نیتريت سدیم به صورت محلول در آب شرب، به مدت ۶۰ روز در موش های صحرایی نر بالغ باعث ایجاد تغییرات محسوسی در بافت کبد می شود (۲۱). پروکسی نیتريت (ONOO⁻) به طور آزادانه از غشا دو لایه فسفولیپیدی عبور می کند و با مولکول های هدف زیادی از قبیل لیپیدها، پروتئین ها و DNA واکنش

می دهد که در نهایت منجر به مرگ سلولی از طریق necrosis و یا apoptosis می شود (۲۲). مطالعات صورت گرفته در سال ۲۰۱۱ توسط Usunomena که بر روی موش صحرایی تیمار شده با DMA-HCL و نیتريت سدیم بر روی آنزیم های کبدی صورت گرفت، نشان داد که در سلول های داخلی کبدی (intra hepatic cell) به دلیل پیش ماده های n-nitrosamine، نکرز سلول ها و آسیب بافتی صورت می گیرد (۲۳).

Maneen در سال ۲۰۰۶ در مطالعه خود بر روی موش صحرایی، نشان داد که پروکسی نیتريت بر روی بافت عضلانی صاف سرخرگ های مغزی از طریق دپلیرازسیون f-اکتین تأثیر می گذارد. پروکسی نیتريت باعث اتساع عروق می شود که این اتساع وابسته به کاهش f-اکتین در ماهیچه صاف عروق و افزایش محتوی G-اکتین می باشد (۲۴). هم چنین پروکسی نیتريت، α-اکتین در میوسیت های قلبی را غیر فعال می سازد (۲۵). به طور کلی بر اساس مطالعات انجام شده، پروکسی نیتريت و نیتريك اکساید به وسیله مکانیسم های مختلف بر روی سیستم قلبی و عروقی تأثیر می گذارد و باعث ایجاد و راه اندازی پروسه مرگ سلولی می شود و آسیب هایی از قبیل اتصال پلاکت ها و منوسیت ها، ترومبوسیت و آسیب های بافتی را به وجود آورده و باعث اتساع عروق می شود که این اتساع وابسته به کاهش f-اکتین در ماهیچه صاف عروق و افزایش محتوی G-اکتین می باشد (۲۶).

Krishnamoorthy و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که مصرف نیتريت سدیم باعث تغییرات در سطح LPO (Lipid peroxidation) و آنزیم های آنتی اکسیدانت می شود. سطح PO و فعالیت آنزیم های مارکر کبدی AST (Aspartate Aminotransferase)، اسید فسفاتاز LDL (Lactate dehydrogenase) به طور معنی داری افزایش می یابد، در حالی که آنزیم های آنتی اکسیدانت و فعالیت SOD (Superoxide dismutase) در موش صحرایی درمان شده با نیتريت سدیم کاهش می یابد.

به طور کلی بر اساس مطالعات انجام شده، پروکسی نیتريت و نیتريك اكساید به وسیله مکانیسم های مختلف بر روی بافت كبد تاثیر می گذارد و باعث ایجاد و راه اندازی پروسه ی مرگ سلولی می شود و آسیب هایی از قبیل اتساع و احتقان سینوزویدها، همراه با ارتشاح سلول های التهابی تك هسته ای و پرولیفراسیون سلولی جدار سینوزویدها را به وجود می آورد (۲۷) که با نتایج حاصل از مطالعات ما همخوانی دارد.

از زمانی که ثابت شد کاربرد زیاد نیتريت و نیتريت در فرآورده گوشتی ایجاد مسمویت می کند، کنترل مقدار آن ها اهمیت پیدا کرد. اكسیداسیون هموگلوبین گلوبول های قرمز خون با نیتريت و تبدیل آن به هموگلوبین و در نتیجه اكسیداسیون در بدن، عامل ایجاد مسمویت

است. از این رو، در اکثر کشورها حد مجاز برای مصرف ترکیبات شیمیایی در نظر گرفته شده است و این مقدار در محصولات گوشتی حدود ۵۰۰ ppm نیتريت و ۲۰۰ نیتريت است (۲۸). بر اساس نتایج حاصل و دیگر مطالعات انجام شده، نیتريت سدیم می تواند بر بافت كبد به خصوص در افراد دیابتی اثرات مخرب را القا کند. لذا لزوم جایگزینی نیتريت سدیم در صنعت الزامی می باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از بخش پژوهشی و معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، آقای دکتر محمد حسین مرحمتی زاده، جهت همکاری تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Abd El Tawab M, Ashraf MM. Microscopic Studies Of The Effect Of Some Food Additives On The Kidney Of Albino Rat. The Egyptian Journal of Hospital Medicine 2003; 12: 12-27.
2. Dezfulian C, Raat N, Shiva S, Gladwin MT. Role of the anion nitrite in ischemia-reperfusion cytoprotection and therapeutics. Cardiovasc Res 2007; 75(2): 327-338.
3. Shahidi F. Flavor of Meat, Meat Products and Seafoods. 2nd ed. Blackie Academic and Professional. UK, London: CRC Press; 1998. p. 290-317.
4. Lundberg JO. Cardiovascular prevention by dietary nitrate and nitrite. Am J Physiol Heart Cric Physiol 2009; 296(5): H1221-1223.
5. Alexander J, Benford D, Cockburn A, Cravedi JP, Dogliotti E, et al. Scientific opinion Nitrite as undesirable substances in animal feed. European Food Safty Authority (EFSA). 2009; 1-47.
6. Gonçalves-Rizzi VH, Possomato-Vieira JS, Graça TU, Nascimento RA, Dias-Junior CA. Sodium nitrite attenuates hypertension-in-pregnancy and blunts increases in soluble fms-like tyrosine kinase-1 and in vascular endothelial growth factor. Nitric Oxide 2016; 57: 71-78.
7. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2008; 7(2): 156-167.
8. Chan PC, Bristol DW, Bucher JR, Chapin RE, Hailey JR, Haseman JK. Toxicology and carcinogenesis studies of sodium nitrite in F344/N B6C3F(1) mice. National Toxicology Program Tech Rep Ser 2002; (504): 1-357.
9. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 2004; 27(5): 1047-1053.
10. Fuccio L, Mussetto A, Laterza L, Eusebi LH, Bazzoli F. Diagnosis and management of gastric antral vascular ectasia. World J

- Gastrointest Endosc 2013; 5(1): 6-13.
11. Tsai S, Shameli A, Santamaria P. CD8+ T cells in type 1 diabetes. *Adv Immunol* 2008; 100: 79-124.
 12. Ghorbani Ranjbary A, Bahadori R, Moridi R. The Study of Milk Containing *Lactobacillus Acidophilus* on Histological and Serum Markers of Liver Tissue Injury in Streptozotocin-3. *J Babol Univ Med Sci* 2015; 17(6): 19-25.
 13. Eddouks M, Maghrani M, Michel JB. Hypoglycaemic effect of *Triticum repens* P. Beauv. In normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2005; 102(2): 228-232.
 14. Kind PR, King EJ. Estimation of plasma phosphates by determination of hydrolyzed phenol with antipyrin. *J Clin Pathol* 1954; 7(4): 322-326.
 15. Reitman S, Frankel S. A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 1957; 28(1): 56-63.
 16. Remmesh B, Viswanathan P, Pugalandi KV. Protective effect of Umbelliferone on membranous fatty acid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2007; 566(1-3): 231-239.
 17. Harris EH. Elevated Liver Function Tests Type 2 Diabetes. *Clinical Diabetes* 2005; 23(3): 115-119.
 18. Kume E, Fujimura H, Matsuki N, Ito M, Aruga C, Toriumi W. Hepatic changes in the acute phase of streptozotocin induced diabetes in mice. *Exp Toxic Pathol* 2004; 55(6): 467-480.
 19. Oyedemi SO, Bradly G, Afolayan AJ. Beneficial effect of aqueous stem bark extract of *strychnos henningsii* Gilg in Streptozotocin – nicotinamid induced type 1 diabetic Wistar rats. *Int J Pharm* 2011; 7(7): 773-781.
 20. Stokes KY, Dugas TR, Tang Y, Garg H, Garg H, Guidry E, et al. Dietary nitrite prevents hypercholesterolemic microvascular inflammation and reverses endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H1281–H1288.
 21. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 271(5 pt 1): C1424-C1437.
 22. Li J, Li W, Su J, Liu W, Altura BT, Altura BM. Peroxynitrite induces apoptosis in rat aortic smooth muscle cells: possible relation to vascular diseases. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004; 229(3): 264-269.
 23. Usunomena U, Sunday JJ, Spencer N, Esosa US, Kingsley O, Emmanuel MN. Toxicity Evaluation of the Liver and in vitro Metabolism in Wistar Rat on Exposure to N-Nitrosamine Precursors. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 2011; 2(3): 138-142.
 24. Maneen MJ, Hannah R, Vitullo L, DeLance N, Cipolla MJ. Peroxynitrite diminishes myogenic activity and is associated with decreased vascular smooth muscle F-actin in rat posterior cerebral arteries. *Stroke* 2006; 37(3): 894-899.
 25. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric Oxide and peroxynitrite in Health and Disease. *Physiol Rev* 2007; 87(1): 315-424.
 26. Juibar F, Tavakoli kazerooni A, Ghorbani ranjbary A. Histopathological effects of sodium nitrite on the spleen of male and female rats. *Iran South Med J* 2015; 17(6): 1160-1167.
 27. Krishnamoorthy P, Sangeetha M. Hepatoprotective effect of vitamin C on sodium nitrite-induced lipid peroxidation in albino rats. *Indian J Biochem Bio (IJBB)* 2008; 45(3): 0301-1208.

28. Joibar F, Khatamsaz S, Ghorbani Ranjbry A. Investigating Sodium Nitrite Effect on Blood Nitric Oxide and Histopathologic Changes on Pulmonary Artery in Adult Male Rats. Journal of Shaid Sadoughi of Medical Sciences and Health Services (JSSU) 2013; 21(5): 609-618.