ORIGINAL ARTICLE

Protective Effects of Naringenin Against Sodium Arsenite-Induced Hepatic Injury in Mice via Nrf2 Signaling

Nastaran Azarbarz[1,2],
Yousef Asadi-Fard[1,2],
Hana Sheykhi[3],
Layasadat Khorsandi[4]

[1]Molecular Medicine Research Center, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
[3] MSc Student in Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[4] Professor, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

(Received January 7, 2024; Accepted March 13, 2025)

Abstract

Background and purpose: Sodium arsenite (SA) is recognized as a common mineral contaminant in drinking water, significantly affecting the cardiovascular, neuroendocrine, urinary, and digestive systems. Naringenin (NG) is a flavonoid with antioxidant and anti-inflammatory properties that can prevent liver damage caused by various factors. This study was conducted to examine the protective role of NG against SA-induced hepatotoxicity in mice.

Materials and methods: In this experimental study, 28 mice were allocated into four groups: (I) Control, (II) NG (50 mg/kg), (III) SA (40 mg/L), and (IV) SA+NG. NG and SA were administered orally for five weeks. Histological changes, hepatic enzyme levels (ALT and AST), oxidative stress markers (SOD, CAT, and MDA), and inflammatory biomarkers (Nrf2 and NF-kB) were assessed using biochemical and histological methods. The data were then analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test in SPSS software.

Results: SA caused histological damage, characterized by a significant increase in the infiltration of inflammatory cells and the accumulation of red blood cells ($P< 0.001$). It also significantly elevated alanine transaminase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels ($P<0.05$). Moreover, SA significantly upregulated nuclear factor kappa B (NF-kB) expression and downregulated nuclear factor-erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) expression. NG reduced ALT and AST activity levels, reversed histological alterations and antioxidant capacity. Furthermore, NG enhanced catalase activity levels, superoxide dismutase (SOD) activity, and Nrf2 expression.

Conclusion: SA induces hepatotoxicity by increasing oxidative stress and inflammatory responses. The administration of NG effectively mitigated the harmful effects of the imbalance of oxidative stress and antioxidant pathways and the histopathological changes observed in SA-intoxicated mice.

Keywords: naringenin, sodium arsenite, hepatotoxicity, oxidative stress, inflammation

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (244): 15-26 (Persian).

Corresponding Author: Yousef Asadi-Fard - Department of Anatomy, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran. (E-mail: usef.fard@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۴۴ اردیبهشت سال ۱۴۰۴ (۲۶-۱۵)

بررسی اثرات محافظتی نارینجنین در آسیب کبدی ناشی از آرسنیت سدیم در موش کوچک آزمایشگاهی از طریق مسیر سیگنالینگ Nrf2

نسترن آذربرز[۱،۲]
یوسف اسدی فرد[۱،۲]
حنا شیخی[۳]
لعیاسادات خرسندی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: آرسنیت سدیم (SA) به عنوان یک آلاینده معدنی رایج در آب آشامیدنی شناخته می‌شودکه تأثیرات قابل توجهی بر سیستم‌های قلبی عروقی، نورواندوکرین، ادراری و گوارشی دارد. نارینجنین (NG) یک فلاونوئید با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی است که می‌تواند از آسیب کبدی ناشی از عوامل مختلف جلوگیری کند. این مطالعه با هدف بررسی نقش محافظتی NG در برابر آسیب کبدی ناشی از SA در موش کوچک آزمایشگاهی، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش سوری به چهار گروه، (I) کنترل، (II) NG (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، (III) SA (۴۰ میلی گرم در لیتر) و (IV) SA+NG، تقسیم شدند. NG و SA به مدت ۵ هفته به حیوانات داده شدند و به صورت خوراکی تجویز شدند. تغییرات بافت‌شناسی، آنزیم‌های کبدی (ALT, AST)، استرس اکسیداتیو(MDA, SOD, CAT) و نشانگرهای التهابی (Nrf2, NF-kB) با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و بافت‌شناسی ارزیابی شدند. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های ANOVA یک‌طرفه و Tukey's تحلیل شدند.

یافته‌ها: SA باعث آسیب بافت کبد از طریق افزایش قابل توجهی در نفوذ سلول‌های التهابی و تجمع گلبول‌های قرمز ($P < ۰/۰۰۱$) و افزایش سطح آنزیم‌های آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) شد ($P <۰/۰۵$). SA به طور معنی‌داری بیان فاکتور هسته‌ای کاپا B را افزایش داد و بیان فاکتور ۲ مرتبط با اریتروئید (Nrf2) را کاهش داد. NG به طور معنی‌داری تولید آنزیم‌های ALT و AST را کاهش داد. NG تغییرات بافتی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را معکوس و هم‌چنین سطوح فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و بیان Nrf2 را افزایش داد.

استنتاج: SA باعث ایجاد سمیت کبدی با افزایش استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی شد. تجویز NG به‌طور مؤثری اثرات مضر عدم تعادل مسیرهای اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی و تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در موش‌های مسموم با SA را کاهش داد.

واژه های کلیدی: نارینجنین، آرسنیت سدیم، آسیب کبدی، استرس اکسیداتیو، التهاب

مولف مسئول: یوسف اسدی فرد –اراک، بلوار کربلا، مجتمع دانشگاهی پیامبراعظم، دانشکده پزشکی **E-mail:** usef.fard@yahoo.com

۱. مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
۲. استادیار علوم تشریح، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۴.استاد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۱۰/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۳/۱۱/۷ تاریخ تصویب : ۱۴۰۳/۱۲/۲۲

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

مقدمه

آلودگی محیطی ناشی از مجموعه‌ای از فلزات سمی به دلیل نیاز روزافزون به غذا و توسعه کارخانه‌ها، جاده‌ها و فعالیت‌های معدنی ایجاد شده است. یکی از این آلاینده‌ها، آرسنیک است که در تولید شیشه، آفت‌کش‌ها و افزودنی‌ها یافت می‌شود(۴ - ۱). به دلیل سمی بودن بالای آن در سطح جهانی، آرسنیک به عنوان یک آلاینده در آب آشامیدنی نگرانی خاصی را در بسیاری از کشورها ایجاد کرده است(۵). هنگامی که آرسنیک وارد محیط زیست می‌شود، می‌تواند از شکل‌های نامحلول به آرسنات و آرسنیت محلول تبدیل شود. این تغییر به آلودگی منابع طبیعی و منابع آب آشامیدنی کمک می‌کند. یک ترکیب خاص، آرسنیت سدیم (SA) است که استرس اکسیداتیو را در بافت‌های مختلف بدن ایجاد می‌کند و به ویژه بر کبد تأثیر می‌گذارد. مکانیزم استرس اکسیداتیو در حال حاضر رایج‌ترین توضیح برای آسیب ناشی از آرسنیک است(۵). آرسنیک با آنزیم‌های میتوکندری تداخل کرده، تنفس سلولی را مختل می‌کند و باعث آسیب سلولی می‌شود. این ماده می‌تواند واسطه های فسفات را در فرآیندهای متابولیک جایگزین کند که ممکن است سرعت متابولیسم را کند کرده و تولید انرژی را مختل کند(۶). مطالعات نشان داده‌اند که بین غلظت آرسنیک و سطح پراکسیداسیون لیپیدی در کبد، کلیه و قلب رابطه مثبت وجود دارد(۷). افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) یا حذف ناکافی آن ها می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو شود که به پروتئین‌ها، لیپید ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌زند(۸). قرارگیری طولانی مدت در معرض سطوح بالای آرسنیک غیر آلی در آب آشامیدنی با چندین مشکل جدی سلامتی از جمله سرطان‌های پوست، ریه، کبد و مثانه، هم‌چنین نئوپلاسم‌های بدخیم، دیابت و بیماری‌های عروقی مرتبط است(۹). علاوه براین، قرارگیری در معرض آرسنیک می‌تواند باعث اختلال عملکرد چندین ارگان از جمله کبد و ریه‌ها شود(۱۰).

کبد هدف اصلی آسیب با آرسنیک به دلیل نقش اساسی آن در متابولیسم آرسنیک است(۱۱). سم زدایی، متابولیسم، سنتز پروتئین، دفاع میزبان و پاسخ ایمنی تنها برخی از عملکردهای اساسی کبد هستند(۱۲). مطالعات متعدد نشان داده اند که قرارگیری مزمن در معرض آرسنیک می‌تواند منجر به آسیب کبدی، اسکلروز هپاتودرمال و سرطان کبد شود(۱۳). با وجود پیشرفت‌هایی که در درک اثرات آسیب کبدی ناشی از قرارگیری در معرض آرسنیک در in vivo حاصل شده است، مکانیزم‌های مولکولی دقیق هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند. شواهد اخیر نشان می‌دهد که التهاب مزمن می‌تواند به طور مداوم گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نیتریک اکسید(NO) را تولید کند که می‌توانند باعث آسیب سلولی شوند، تکثیر سلول را تحریک کنند، آسیب DNA ایجاد کنند و منجر به جهش‌های ژنی شوند که نهایتاً به توسعه تومور کمک می‌کنند(۱۴).

مازاد ROS می‌تواند مسیرهای سیگنال دهی مانند پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن (MAPK) و فاکتور هسته‌ای E2 مرتبط با فاکتور ۲ (Nrf2) را فعال کند که هردو در فرآیندهای سرطان‌زایی دخیل هستند(۱۵). قرارگیری در معرض آرسنیک می‌تواند این مسیرها را فعال کرده و بیان عوامل التهابی مانند IL-1β، TNF-α، IL-6 و IL-12 را تحت تأثیر قرار دهد که منجر به التهاب عصبی و اتوفاژی می‌شود(۱۶). Nrf2 برای محافظت از بافت‌ها در برابر استرس اکسیداتیو بالا و آسیب سمی حیاتی است(۱۷). تحت شرایط عادی، فعالیت Nrf2 به شدت توسط Keap1 در سیتوپلاسم تنظیم می‌شود(۱۸). پس از قرارگیری در معرض محرک‌های خاص، Keap1 از Nrf2 جدا شده و اجازه می‌دهد تا Nrf2 به هسته منتقل شده و ژن‌های هدف را فعال کند(۱۹). این انتقال منجر به فعال‌سازی آنزیم‌ها و پروتئین‌های سم‌زدایی مانند Hmox-1، Nqo1، گلوتاتیون ترانسفراز (GST) و گلوتاتیون (GSH) می‌شود(۲۰). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فعال‌سازی مسیر Nrf2 می‌تواند

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

بیماری‌های مختلف کبدی را کاهش دهد(۲۱). بنابراین داروهای آنتی‌اکسیدان ممکن است آسیب کبدی مرتبط با قرارگیری در معرض آرسنیک را کاهش دهند(۵). فلاونوئیدها، گروه متنوعی از ترکیبات گیاهی هستند که از ارگان‌ها در برابر عوامل مضر مختلف محافظت می‌کنند. بیوفلاونوئید نارینجنین (NG)، که در مرکبات یافت می‌شود، خواص بیولوژیکی و دارویی مختلفی مانند مبارزه با سرطان، کاهش لیپیدها، جمع‌آوری سوپراکسید، پیشگیری از تصلب شرایین و عمل به عنوان یک آنتی‌اکسیدان دارد(۲۵-۲۲). شواهد نشان می‌دهد که NG دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در vivo و in vitro است(۲۴). با توجه به استفاده گسترده از آرسنیک و اثرات مضر آن بر سلامت انسان، شناسایی ترکیباتی که بتوانند اثرات منفی آن را کاهش دهند ضروری است. این مطالعه تأثیرات NG بر آسیب کبدی ناشی از SA در موش را از طریق تعدیل استرس اکسیداتیو و التهاب بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۲۸ موش بالغ نژاد NMRI، در سنین ۶ تا ۸ هفته و با وزن بین ۲۵ تا ۳۰ گرم، از مرکز مراقبت از حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه شد. موش‌ها تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی شامل رطوبت ۵±۵۰ درصد، چرخه نور/تاریکی ثابت ۱۲ ساعته و دمای ۵±۲۲ درجه سانتی‌گراد در طول آزمایش نگهداری شدند. این مطالعه در سال ۱۴۰۳ در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شد. این پروژه مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اراک (IR.ARAKMU.AEC.1403.005) انجام گردید. موش‌های مطالعه به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند که هر گروه شامل هفت حیوان بودند. گروه کنترل، نرمال سالین (همراه با آب آشامیدنی) به مدت ۳۵ روز دریافت کرد. گروه NG (سیگما) که ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (همراه با آب آشامیدنی) به مدت ۳۵ روز تجویز شد(۲۶). گروه SA (سیگما)، ۴۰ میلی‌گرم در لیتر در آب آشامیدنی به مدت ۳۵ روز داده شد(۲۷). گروه NG+ SA، NG و SA به‌طور همزمان به مدت ۳۵ روز دریافت کردند. SA در آب مقطر و NG در نرمال سالین حل و رقیق گردید. یک روز پس از آخرین تجویز، موش‌ها با کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بیهوش شدند و تحت جراحی قرار گرفتند. سپس بافت کبد برداشته و بخشی از آن در فرمالین فیکس شد و بخش دیگر جهت سنجش مارکرهای اکسیداتیو در منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید. نمونه خون از قلب جمع‌آوری و بعد سانتریفیوژ، سرم جداسازی شده و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید.

ارزیابی هیستوپاتولوژیکی

برای سنجش بافت شناسی و بررسی اثرات SA و NG روی کبد، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. پس از پردازش و جاسازی در پارافین با استفاده از پروتکل استاندارد، مقاطع با ضخامت ۵ میکرومتر با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند تا آسیب کبدی ارزیابی شود. مقاطع نمونه با بزرگنمایی ×۱۰۰ برای ارزیابی میزان آسیب کبدی، بررسی شدند. برای تجزیه و تحلیل کمی، تصاویر بافت شناسی با سیستم امتیازدهی ارزیابی شدند. بر اساس میزان نفوذ سلول‌های التهابی و تراکم عروق، امتیازات ۰ (طبیعی)، ۱ (خفیف)، ۲ (متوسط) یا ۳ (شدید) به آن‌ها داده شد. عکس‌های میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ Olympus BX43 (Japan) مجهز به دوربین DP26 گرفته شدند(۲۸).

تعیین سطوح ALT و AST سرم

پس از ۳۵ روز، نمونه‌های سرم از موش‌های گروه‌های کنترل و درمان جمع‌آوری شده و سنجش سطوح AST و ALT با استفاده از کیت‌های تجاری طبق دستورالعمل تولیدکننده (Biorex) انجام شد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی

مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، یک مارکر استرس اکسیداتیو و محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی است. برای اندازه‌گیری MDA، پس از هموژنایز کردن بافت کبد، ۵۰۰ میکرولیتر از سرم رویی با ۱۰ درصد اسید تری کلرو استیک ترکیب شده و در ۷۰۰۰×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به سرم رویی، دو میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک اضافه گردید. پس از افزودن N-butanol، هر نمونه دوباره در ۷۵۰۰×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. چگالی نوری سرم رویی در طول موج ۵۳۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. عدد به دست آمده بیانگر MDA با واحد nmol/mg پروتئین می باشد.

سنجش سطوح آنتی‌اکسیدان‌های SOD و CAT

اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های SOD و CAT با استفاده از کیت‌های شرکت Zellbio و طبق دستورالعمل کیت انجام شد. برای اندازه‌گیری بیومارکرهای اکسیداتیو، بافت کبد هموژنیزه شده را برداشته و به آن تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد اضافه گردید. بعد از ورتکس، مایع هموژن با دستگاه اولتراسانتریفوژ بمدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰×g سانتریفیوژ می گردد، به مایع شفاف رویی دی سدیم هیدروژن فسفات و DTNB، اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد تا واکنش کامل شود. سپس میزان جذب نوری در طول موج ۴۱۲ نانومتر خوانده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بی درنگ (Real time PCR)

ابتدا RNA از بافت‌های کبدی با استفاده از کیت RNeasy تولید شده توسط Qiagen استخراج گردید. از RNA استخراج شده برای سنتز DNA مکمل (cDNA)، بر اساس دستورالعمل شرکت Qiagen استفاده شد. مخلوط واکنش PCR شامل cDNA، آب DEPC، پرایمرهای Forward و Reverse و یک Master Mix (Qiagen) بود. RT-PCR با استفاده از ۴۵ چرخه، ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۵۰ ثانیه، ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۳۵ ثانیه، انجام شد.

بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از GAPDH نرمالیزه شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار REST تحلیل شدند. پرایمرهای،

Nrf2 (F): CAGCATAGAGCAGGACATGGAG: GAACAGCGGTAGTATCAGCCAG: Nrf2 (R)؛

طول پرایمر،

۱۰۷bp ؛NF-kB (F): GCT GCC AAAG AAGG ACAC GACA :NF-kB (R), GGCAG GCTAT TGCTC ATCA CAG؛

طول پرایمر،

۱۳۱bp ؛GAPDH (F): CATC ACTG CCAC CCAG AAGA CTG: ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG :GAPDH (R)؛

طول پرایمر: ۱۵۳ bp برای PCR استفاده شدند.

تحلیل آماری

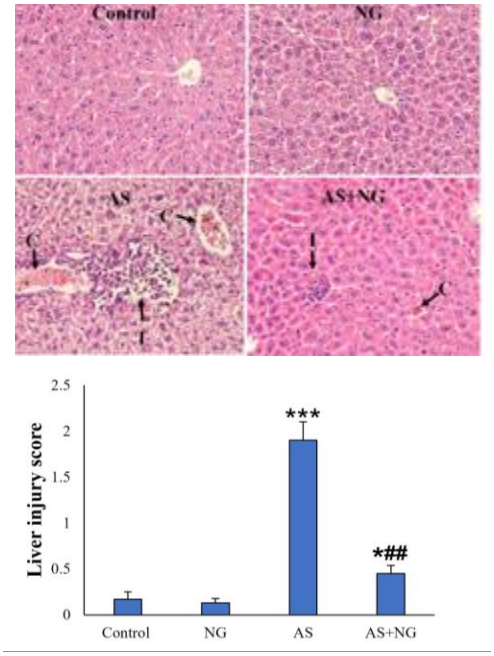
تمامی داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار از سه بار آزمایش مستقل ارائه شد. جهت انجام آنالیز اطلاعات، داده‌ها با استفاده از تکنیک‌های مختلف مانند واریانس آنالیز one-way (ANOVA) و پس از انجام آزمون Tukey (Tukey's test) برای هربار آزمایش، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌های نان پارامتریک توسط آزمون Kruskal-Wallis درکلیه آزمون‌ها سطح معنی‌داری P<۰/۰۵، P<۰/۰۱ و P< ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ارزیابی هیستوپاتولوژیکی

تمامی برش‌های بافت کبد در گروه کنترل و NG (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) ظاهر طبیعی داشتند. در مقابل، تجویز SA منجر به افزایش قابل توجهی در نفوذ سلول‌های التهابی و تجمع گلبول‌های قرمز (RBCs) در مقایسه با گروه کنترل شد (P< ۰/۰۰۱). ترکیب NG با SA منجر به کاهش تجمع RBC و همچنین کاهش نفوذ سلول‌های التهابی در مقایسه با گروه تحت تأثیر SA شد (P< ۰/۰۵) (تصویر شماره ۱).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]



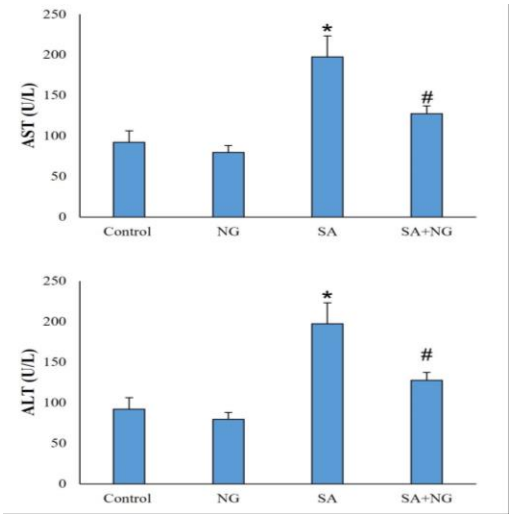
تصویر شماره ۱: عکس میکروسکوپ نوری از بافت‌های کبدی در گروه های مورد مطالعه. گروه کنترل (Control) دارای هیستوپاتولوژی کبدی طبیعی است، گروه آرسنیت سدیم (SA) تغییرات وسیعی را نشان می‌دهد که شامل ارتشاح سلول التهابی (Inflammatory cell infiltration) و احتقان (Congestion) می‌شود، گروه نارینجنین و آرسنیت سدیم (SA+NG) تغییرات متوسطی را نشان می‌دهد. رنگ‌آمیزی H&E؛ بزرگنمایی: ×۴۰۰. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (n = ۴) نمایش داده شده‌اند.* : P< ۰/۰۵، ***: P< ۰/۰۰۱، ## P< ۰/۰۱. نمادها مقایسه با گروه کنترل (*) و گروه SA (#) را نشان می‌دهند.

آنزیم های کبدی

گروه SA افزایش قابل توجهی در سطح سرمی AST و ALT نسبت به کنترل نشان دادند (P< ۰/۰۵). در گروه SA +NG، سطح سرمی AST به طور قابل توجهی توسط NG کاهش یافت (P< ۰/۰۵) در گروه SA +NG، NG به‌طور قابل توجهی سطح ALT سرمی را در مقایسه با گروه تحت تأثیر SA کاهش داد (P< ۰/۰۵) (تصویر شماره ۲).

مارکرهای استرس اکسیداتیو

سطوح آنزیم‌های SOD و CAT در گروه NG نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی را نشان ندادند. در مقابل، گروه تحت تأثیر SA کاهش قابل توجهی در مارکرهای آنتی‌اکسیدانی نسبت به گروه کنترل داشتند (P< ۰/۰۵). به‌طور خاص، سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها در گروه SA+NG به‌طور قابل توجهی بالاتر از گروه SA بودند (P< ۰/۰۵).



تصویر شماره ۲: غلظت‌های AST و ALT در گروه‌های مختلف. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (n = ۴) نمایش داده شده‌اند. *: P< ۰/۰۵، #: P< ۰/۰۵. نمادها مقایسه با گروه کنترل (*) و گروه SA (#) را نشان می‌دهند.

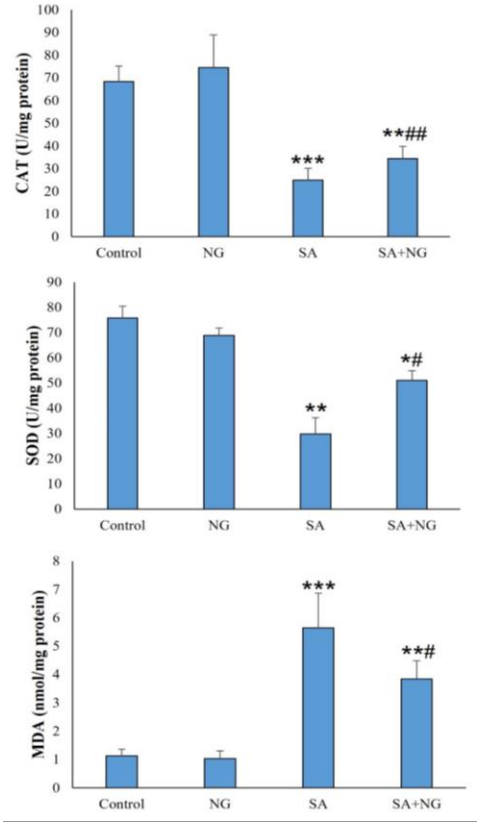
در مورد MDA، تفاوت معنی‌داری در گروه NG نسبت به گروه کنترل وجود نداشت. با این حال، گروه SA افزایش قابل توجهی در میزان MDA را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P< ۰/۰۰۱). به‌طور متقابل، میزان MDA در گروه SA+NG به‌طور قابل توجهی نسبت به گروه SA کاهش یافت (P< ۰/۰۵). این یافته‌ها در تصویر شماره ۳، نشان داده شده‌اند.

نتایج RT-PCR

داده‌های کمی به دست آمده از RT- PCR نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری در بیان ژن‌های Nrf2 و NF-κB در گروه NG مشاهده نشد. در گروه SA، افزایش قابل توجهی در بیان NF-κB نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P< ۰/۰۰۱). بیان NF-κB در گروه SA+NG به‌طور قابل توجهی نسبت به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

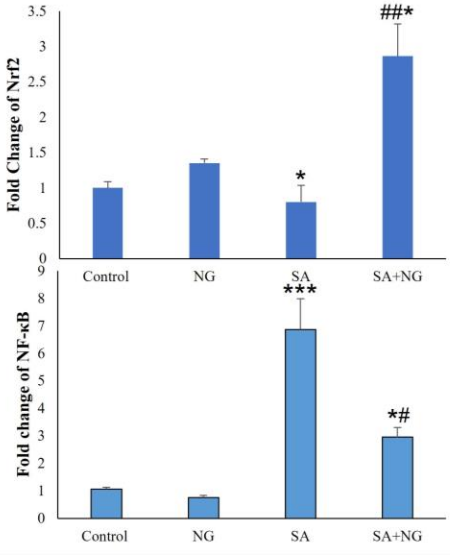
گروه SA کاهش یافت (P< ۰/۰۱). در مقابل، بیان Nrf2 به‌طور قابل توجهی در گروه SA کاهش یافت، در حالی که در گروه SA+NG افزایش یافت (P< ۰/۰۱) (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۳: سطوح MDA و آنتی‌اکسیدان‌ها در گروه‌های مورد مطالعه، داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (n = ۴) نمایش داده شده‌اند. *: P < ۰/۰۵، **: P < ۰/۰۱، ***: P < ۰/۰۰۱، #P < ۰/۰۵، ##P < ۰/۰۱. نمادها مقایسه با گروه کنترل (*) و گروه SA (#) را نشان می‌دهند.

بحث

در مطالعه حاضر به بررسی اثرات محافظتی NG در برابر آسیب ناشی از SA در کبد موش کوچک آزمایشگاهی از طریق بررسی مارکرهای اکسیداتیو و التهابی پرداخته شد. نتایج این مطالعه نشان داد که NG با خواص آنتی‌اکسیدانی خود به‌طور مؤثری از آسیب کبدی ناشی از SA در موش‌ها جلوگیری می‌کند. قرار گرفتن در معرض آرسنیک با تولید رادیکال‌های آزاد می تواند به لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA سلول های بدن آسیب وارد کند(۲۹). یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که آرسنیک غیرآلی باعث اکسیداسیون لیپیدها در کبد می‌شود. این افزایش پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان نتیجه‌ای از استرس اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود و زمانی رخ می‌دهد که پروتئین‌ها و آنتی‌اکسیدان ها در تعادل نباشند(۲۵).



تصویر شماره ٤: بیان ژن در گروه‌های مختلف. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (n = ۴) نمایش داده شده‌اند. *: P < ۰/۰۵ ، ***: P < ۰/۰۰۱، # P < ۰/۰۵، ##P < ۰/۰۱. نمادها مقایسه با گروه کنترل (*) و گروه SA (#) را نشان می‌دهند.

مطالعه حاضر نشان داد که SA منجر به تغییرات ساختاری، افزایش فاکتورهای سرم و استرس اکسیداتیو در کبد می‌شود. هم‌چنین در مطالعه دیگری گزارش کرده اند که SA آسیب کبدی ایجاد کرده، وزن کبد را کاهش داد و عوامل سرمی را افزایش داده است(۳۰). به طور مشابه، Singh و همکاران گزارش کردند که تری‌اکسید آرسنیک به طور قابل توجهی بیومارکرهای سرمی از جمله SGOT، SGPT و کراتینین را کاهش می‌دهد(۳۱). نتایج این مطالعه نشان داد که NG در مدل سمیت کبدی ناشی از SA، دارای اثر محافظت کنندگی است. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که SA التهاب را تحریک کرده، رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند و منجر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

به پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که در نهایت باعث آسیب کبدی می‌شود(۳۲، ۳۳). در این مطالعه، NG از طریق افزایش بیان Nrf2 و کاهش بیان NF-κB از ایجاد پاسخ التهابی در کبد جلوگیری کرد.

ترکیبات متنوعی با خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. NG، یک آنتی‌اکسیدان قوی که به‌طور گسترده به عنوان ادویه در سرتاسر جهان استفاده می‌شود و به خاطر فواید آن در طب سنتی شناخته شده است. بسیاری از مطالعات فواید پزشکی مختلف NG را مورد تأکید قرار داده‌اند که شامل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد التهابی و رادیو محافظتی است. به عنوان مثال، Ji و همکاران نشان داده‌اند که تجویز خوراکی NG با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی داشته و سمیت کبدی ناشی از LPS را کاهش داده است(۳۲). آن ها دریافتند که عوامل التهابی مانند IL-1β، IL-6، MCP-1 و TNF-α پس از درمان با نارنجنین نسبت به گروه LPS به طور قابل توجهی کاهش پیدا کرده‌اند. علاوه بر این، Hernández-Aquino و همکاران گزارش کردند که NG با مسدود کردن مسیرهای سیگنال‌دهی TGFβ–Smad3، JNK-Smad3 استرس اکسیداتیو و التهاب را مهار کرده و اثرات ضد فیبروتیک خود را نشان می‌دهد(۳۳). نتایج مطالعه حاضر با مطالعات قبلی همخوانی دارد. در این مطالعه مشاهده شد که NG در مدل سمیت کبدی ناشی از SA با خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی گزارش شده NG در مطالعات قبلی سازگار است. این نشان می‌دهد که NG ممکن است آسیب کبدی ناشی از SA را مشابه اثرات آن در سایر مدل‌های سمیت کبدی کاهش دهد.

اثر SA بر افزایش سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی مانند AST و ALT به خوبی مستند شده است(۳۷، ۳۸). در این مطالعه، غلظت های سرمی AST و ALT در گروه SA نسبت به کنترل به طور قابل توجهی افزایش یافته بود. اما هنگامی که NG (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تجویز شد، کاهش غلظت‌های سرمی AST و ALT نسبت به گروه SA مشاهده شد. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که SA سطح MDA را افزایش داده و به غشاء لیزوزوم‌ها در بافت کبد آسیب می‌زند(۲۹). در مطالعه فعلی، گروه SA افزایش قابل توجهی در سطح MDA و کاهش سطح SOD و CAT نسبت به کنترل را نشان دادند. اما با تجویز همزمان NG و SA، کاهش قابل‌توجهی در پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) نسبت به گروه SA مشاهده شد. علاوه بر این، NG از کاهش سطوح CAT و SOD نسبت به گروه SA جلوگیری کرد.

مطالعات متعدد گزارش داده‌اند که SA باعث تخریب سلول‌های کبدی و آسیب شدید به ساختار بافت کبد می‌شود(۳۹). یافته‌های هیستوپاتولوژیک در این مطالعه این مشاهدات را تایید کرد. قابل توجه است که تجویز NG شرایط هیستوپاتولوژیک کبد را نسبت به گروه SA به‌طور قابل توجهی بهبود بخشیده است. هر دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی برای پاسخ سلولی به منظور مقابله با استرس اکسیداتیو در شرایط فیزیولوژیکی ضروری هستند. بنابراین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند CAT، SOD و GSH-Px و گیرنده‌های الکترون غیرآنزیمی مانند GSH تحت تأثیر قرار می‌گیرند و به عنوان شاخص‌هایی برای ارزیابی سطح استرس اکسیداتیو استفاده می‌شوند(۴۰). شایان ذکر است، Nrf2 تنظیم کننده اصلی تعادل واکنش های اکسایش و کاهش سلولی است(۳۸). در شرایط فیزیولوژیکی، Nrf2 به پروتئین Keap1 در سیتوپلاسم متصل می‌شود، و آن‌هایی که آزاد هستند، غیر فعال شده و به راحتی تجزیه می‌شوند. با این حال، در شرایط استرس اکسیداتیو، Nrf2 از طریق اصلاح Keap1 یا فسفوریلاسیون Nrf2 از Keap1 جدا شده و در نتیجه فعال می‌شود. Nrf2 فعال شده به هسته منتقل شده و باعث افزایش بیان ژن‌های هدف محافظت کننده سلولی از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های سم‌زدایی می‌شود(۳۹). نشان داده شده است که افزایش فعال‌سازی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

Nrf2توسط مولکول‌های دارویی یا مهندسی ژنتیک از کبد در مدل‌های مختلف استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند(۴۰). در این مطالعه نیز، نارینجنین از طریق افزایش بیان ژن Nrf2، باعث افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و نیز کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شد.

این مطالعه به اهمیت استرس اکسیداتیو در سمیت کبدی ناشی از SA اشاره دارد. با توجه به عوارض جانبی آسیب کبدی، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و عوامل محافظت‌کننده کبد می‌تواند استراتژی مؤثری برای کاهش عوارض مرتبط با مصرف SA باشد. به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که NG با خواص آنتی‌اکسیدانی خود به طور مؤثری از آسیب کبدی ناشی از SA در موش‌ها جلوگیری می‌کند. تحقیقات بیش تری برای تأیید این یافته‌ها و ارائه نتایج قطعی مورد نیاز است.

سپاسگزاری

مطالعه‌ی حاضر بر اساس طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اراک با شماره طرح ۴۴۸۸ انجام شده است. صمیمانه از همه افرادی که با این مطالعه همکاری نمودند، تشکر می‌کنیم.

References

1. Mishra S, Dwivedi S, Gupta A, Tiwari RK. Evaluating the efficacy and feasibility of post harvest methods for arsenic removal from rice grain and reduction of arsenic induced cancer risk from rice-based diet. S Sci Total Environ 2023; 874: 162443 PMID: 36858216.
2. Abdul KSM, Jayasinghe SS, Chandana EP, Jayasumana C, De Silva PMC. Arsenic and human health effects: A review. Environ Toxicol Pharmacol 2015; 40(3):828-846 PMID: 26476885.
3. Barral-Fraga L, Barral MT, MacNeill KL, Martiñá-Prieto D, Morin S, Rodríguez-Castro MC, et al. Biotic and abiotic factors influencing arsenic biogeochemistry and toxicity in fluvial ecosystems: a review. J Environ Res Public Health 2020; 17(7): 2331 PMID: 32235625.
4. Ivy N, Mukherjee T, Bhattacharya S, Ghosh A, Sharma P. Arsenic contamination in groundwater and food chain with mitigation options in Bengal delta with special reference to Bangladesh. Environ Geochem Health 2023; 45(5): 1261-1287 PMID: 35841495.
5. Li S, Ding Y, Niu Q, Xu S, Pang L, Ma R, et al. Lutein has a protective effect on hepatotoxicity induced by arsenic via Nrf2 signaling. Biomed Res Int 2015; 2015(1): 315205 PMID: 25815309.
6. Sarkar M, Chaudhuri GR, Chattopadhyay A, Biswas NM. Effect of sodium arsenite on spermatogenesis, plasma gonadotrophins and testosterone in rats. Asian J Androl 2003; 5(1): 27-31 PMID: 12646999.
7. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002 PMID: 11773609.
8. Chen CJ, Hsueh YM, Lai MS, Shyu MP, Chen SY, Wu MM, etal. Increased prevalence of hypertension and long-term arsenic exposure. Hypertension 1995; 25(1): 53-60 PMID: 7843753.
9. Chen QY, DesMarais T, Costa M. Metals and mechanisms of carcinogenesis. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2019;59(1):537-554 PMID: 30625284.
10. Liu J, Waalkes MP. Liver is a target of arsenic carcinogenesis. Toxicol Sci 2008; 105(1): 24-32 PMID: 18566022.
11. Zhang F, Wang X, Qiu X, Wang J, Fang H, Wang Z, et al. The protective effect of Esculentoside A on experimental acute

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

liver injury in mice. PloS One 2014;9(11): e113107 PMID: 25405982.

12. Singh N, Baby D, Rajguru JP, Patil PB, Thakkannavar SS, Pujari VB. Inflammation and cancer. Ann Afr Med 2019; 18(3): 121-126 PMID: 31417011.
13. Peng L, Hu C, Zhang C, Lu Y, Man S, Ma L. Anti-cancer activity of Conyza blinii saponin against cervical carcinoma through MAPK/TGF-β/Nrf2 signaling pathways. J Ethnopharmacol 2020; 251: 112503 PMID: 31891798.
14. Afolabi OK, Wusu AD, Ogunrinola OO, Abam EO, Babayemi DO, Dosumu OA, et al. Arsenic-induced dyslipidemia in male albino rats: comparison between trivalent and pentavalent inorganic arsenic in drinking water. BMC Pharmacol Toxicol 2015; 16:1-15 PMID: 26044777.
15. Lau A, Whitman SA, Jaramillo MC, Zhang DD. Arsenic- mediated activation of the Nrf2- Keap1 antioxidant pathway. J Biochem Mol Toxicol 2013;27(2):99-105 PMID: 23188707.
16. Hirotsu Y, Katsuoka F, Funayama R, Nagashima T, Nishida Y, Nakayama K, et al. Nrf2–MafG heterodimers contribute globally to antioxidant and metabolic networks. Nucleic Acids Res 2012; 40(20): 10228-10239 PMID: 22965115.
17. Liu D, Duan X, Dong D, Bai C, Li X, Sun G, et al. Activation of the Nrf2 pathway by inorganic arsenic in human hepatocytes and the role of transcriptional repressor Bach1. Oxid Med Cell Longev 2013; 2013(1): 984546 PMID: 23738048.
18. Kudoh K, Uchinami H, Yoshioka M, Seki E, Yamamoto Y. Nrf2 activation protects the liver from ischemia/reperfusion injury in mice. Ann Surg 2014; 260(1):118-127 PMID: 24368646.
19. Qiu M, Wei W, Zhang J, Wang H, Bai Y, Guo DA. A scientometric study to a critical review on promising anticancer and neuroprotective compounds: Citrus flavonoids. Antioxidants 2023;12(3):669-692 PMID: 36978916.
20. Han X, Parker TL. Antiinflammatory activity of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) bark essential oil in a human skin disease model. Phytother Res 2017; 31(7): 1034-1038 PMID: 28444928.
21. Mehranfard N, Ghasemi M, Rajabian A, Ansari L. Protective potential of naringenin and its nanoformulations in redox mechanisms of injury and disease. Heliyon 2023; 9(12): e22820 PMID: 38058425.
22. Elhemiely AA, Yahia R, Gad AM. Naringenin alleviate reproductive toxicity evoked by lead acetate via attenuation of sperm profile and biochemical alterations in male Wistar rat: Involvement of TGFβ/AKT/mTOR pathway. J Biochem Mol Toxicol 2023; 37(6): e23335 PMID: 36807407.
23. Jain A, Yadav A, Bozhkov A, Padalko V, Flora S. Therapeutic efficacy of silymarin and naringenin in reducing arsenic-induced hepatic damage in young rats. Ecotoxicol Environ Saf 2011; 74(4): 607-614 PMID: 20719385.
24. Jin B, Li H, Zhang H, Yang J, Ma W, LV M, et al. Effects of carnosic acid on arsenic-induced liver injury in mice: A comparative transcriptomics analysis. J Trace Elem Med Biol 2022; 71:126953 PMID: 35202923.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

25. Mohammadian M, Mianabadi M, Zargari M, Karimpour A, Khalafi M, Amiri FT. Effects of olive oil supplementation on sodium arsenate-induced hepatotoxicity in mice. Int J Prev Med 2018; 9(1):59-66 PMID: 30079156.
26. Zhou X, Speer RM, Volk L, Hudson LG, Liu KJ. Arsenic co-carcinogenesis: Inhibition of DNA repair and interaction with zinc finger proteins. Semin Cancer Biol 2021 PMID: 33984503.
27. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4- hydroxy- 2- nonenal. Oxid Med Cell Longev 2014; 2014(1): 360438 PMID: 24999379.
28. Barai M, Ahsan N, Paul N, Hossain K, Rashid MA, Kato M, et al. Amelioration of arsenic-induced toxic effects in mice by dietary supplementation of Syzygium cumini leaf extract. Nagoya J Med Sci 2017; 79(2): 167-177 PMID: 28626252.
29. Singh MK, Dwivedi S, Yadav SS, Sharma P, Khattri S. Arsenic-induced hepatic toxicity and its attenuation by fruit extract of Emblica officinalis (amla) in mice. Indian J Clin Biochem 2014; 29: 29-37 PMID: 24478546.
30. Gencer S, Gür C, İleritürk M, Küçükler S, Akaras N, Şimşek H, et al. The ameliorative effect of carvacrol on sodium arsenite- induced hepatotoxicity in rats: Possible role of Nrf2/HO- 1, RAGE/NLRP3, Bax/Bcl- 2/Caspase- 3, and Beclin- 1 pathways. J Biochem Mol Toxicol 2024; 38(10): e23863 PMID: 39318027.
31. Singh S, Sharma A, Monga V, Bhatia R. Compendium of naringenin: Potential sources, analytical aspects, chemistry, nutraceutical potentials and pharmacological profile. Crit Rev Food Sci Nutr 2023; 63(27): 8868-8899 PMID: 35357240.
32. Ji M, Deng Z, Rong X, Li R, You Z, Guo X, et al. Naringenin prevents oxidative stress and inflammation in LPS-induced liver injury through the regulation of LncRNA-mRNA in male mice. Molecules 2022; 28(1): 198-213 PMID: 36615393.
33. Hernández-Aquino E, Quezada-Ramírez MA, Silva-Olivares A, Casas-Grajales S, Ramos-Tovar E, Flores-Beltrán RE, et al. Naringenin attenuates the progression of liver fibrosis via inactivation of hepatic stellate cells and profibrogenic pathways. Eur J Pharmacol 2019; 865: 172730 PMID: 31618621.
34. Duan X, Xu G, Li J, Yan N, Li X, Liu X, et al. Arsenic induces continuous inflammation and regulates Th1/Th2/Th17/Treg balance in liver and kidney in vivo. Mediators Inflamm 2022; 2022(1): 8414047 PMID: 35210942.
35. Santra A, Maiti A, Das S, Lahiri S, Charkaborty SK, Guha Mazumder DN, et al. Hepatic damage caused by chronic arsenic toxicity in experimental animals. J Toxicol Clin Toxicol 2000; 38(4): 395-405 PMID: 10930056.
36. Nozohour Y, Jalilzadeh-Amin G. Histopathological changes and antioxidant enzymes status in oxidative stress induction using Sodium arsenite in rats. J Appl Biotech Rep 2019;6(1):40-44.
37. Mallikarjuna K, Shanmugam K, Nishanth K, Wu MC, Hou CW, Kuo CH, et al. Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

the liver of old rats. Alcohol 2010; 44(6): 523-529 PMID: 20705416.

38. Tang W, Jiang YF, Ponnusamy M, Diallo M. Role of Nrf2 in chronic liver disease. World J Gastroenterol 2014; 20(36): 13079-13087 PMID: 25278702.
39. Zhang Y-KJ, Wu KC, Klaassen CD. Genetic activation of Nrf2 protects against fasting-induced oxidative stress in livers of mice. PloS One 2013;8(3): e59122 PMID: 23527105.
40. Klaassen CD, Reisman SA. Nrf2 the rescue: effects of the antioxidative/electrophilic response on the liver. Toxicol Appl Pharmacol 2010; 244(1): 57-65 PMID: 20122946.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]