زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره چهارم، تابستان ۱۴۰۲، صفحات ۲۷۱- ۲۵۵

مقاله پژوهشی

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی متفاوت زردچوبه و ملاتونین در سه بافت مغز، کبد و کلیه در شرایط اعمال استرس اجتماعی

ایراندخت زینائی[۱]، شهربانو عریان[۲]، محمدرضا واعظ مهدوی[۳*]، اکرم عیدی[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: vaezmahdavi@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸

DOI: 10.22034/ascij.2023.1964029.1406

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی زردچوبه و ملاتونین در سه بافت مغز، کبد و کلیه در شرایط یکسان استرسی می‌باشد. برای این منظور، ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار در شرایط متفاوت نگهداری شد تا استرس‌های مورد نظر به آنها القا شود. استرس‌ها عبارتند از: محدودیت غذایی، تغییر هم‌خانه و مشاهده در شرایط برخوردار و عدم برخورداری از آنتی‌اکسیدان زردچوبه و ملاتونین. رت‌ها ۱۰ هفته در شرایط تعریف شده برای هر گروه نگهداری شدند و پس از اتمام دوره سطح گلوتاتیون موجود در هموژن سه بافت مغز، کبد و کلیه ارزیابی شد. در ابتدا برای اطمینان از القای استرس، میزان گلوتاتیون و مالون دی آلدئید در دو گروه محدودیت غذائی- تغییر هم‌خانه مشاهده و محدودیت غذائی- تغییر هم‌خانه-ایزوله، اندازه‌گیری و نسبت به گروه کنترل مقایسه شد. نتیجه دال بر افزایش گلوتاتیون و مالون دی آلدئید و در واقع القای استرس بود. نتیجه کلی حاکی از تاثیرگذاری و اثر حفاظتی زردچوبه و ملاتونین در مهار استرس اکسیداتیو در هر سه بافت مذکور است اما این تاثیرگذاری در هر سه بافت به یک شدت دیده نمی‌شود. برخلاف اینکه زردچوبه در هر سه بافت مغز، کبد و کلیه توانست سطح مالون دی آلدئید را کاهش داده و نقش آنتی‌اکسیدانی را ثابت کند، در بافت کبدی نتوانست نقش آنتی‌اکسیدانی خود را به خوبی نشان داده و میزان گلوتاتیون کاهش نیافت. برخلاف زردچوبه ملاتونین توانست نقش آنتی‌اکسیدانی‌اش را در سلول‌های بافت کبدی بهتر از بافت مغز و کلیه نشان بدهد به‌طوری‌که توانست سطح گلوتاتیون را در این دو بافت تقلیل دهد. بنابراین آنتی اکسیدان‌ها احتمالاً در بافت‌های مختلف عملکرد متفاوت دارند.

کلمات کلیدی: زردچوبه، ملاتونین، استرس اکسیداتیو، مالون‌دی‌آلدئید، گلوتاتیون.

مقدمه

استرس حلقه موجود بین شرایط اجتماعی و وضعیت سلامت امروز جوامع است. عوامل ژنتیکی هم در بروز استرس دخیل است ولی ژن به تنهایی باعث بروز استرس نمی‌شوند، بطوریکه محیط نقش عمده ای در بروز این ژن‌ها ایفا می‌کند (۳۲). استرس‌های اجتماعی نظیر فقر در بروز بیماری‌های قلبی عروقی نقش دارد (۱۴).

افرادی که از موقعیت اقتصادی و اجتماعی پایین‌تری در جامعه برخوردار هستند میزان مرگ و میر بالاتر و امید به زندگی کمتری دارند (۷). اختلالات روحی و روانی ناشی از استرس اجتماعی خطر ابتلا به بیماریهای قلبی عروقی را افزایش می‌دهد. استرس‌های اجتماعی متابولیسم چربی را از طریق افزایش نسخه-برداری ژن‌های مربوط به سنتز چربی‌ها تغییر می‌دهد (۹).

احتمال بروز اختلالات روحی در افراد بی خانمان، فقرا و افراد با سطح تحصیلی پایین‌تر بیشتر مشاهده می‌گردد. بین سلامت روان و تجربه فقرومحرومیت ارتباط پیچیده‌ای وجود دارد که توسط فاکتورهای متعددی وارد عمل می‌گردد (۱۳). عدم تعادل بین تاثیر سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث حالتی می‌شود که به آن استرس اکسیداتیو می-گویند. استرس اکسیداتیو در نتیجه افزایش تولید اکسیدان‌هایی مثل اکسیژن‌های فعال به وجود می‌آید. این وضعیت ممکن است باعث آسیب سلولی شود (۲، ۵، ۸).

استرس اکسیداتیو در تشکیل رادیکال‌های آزاد در سطح سلول موثر است. رادیکال‌های آزاد عوامل شیمیایی هستند که دارای یک الکترون جفت نشده هستند به همین دلیل برای رسیدن به شرایط پایدار در سلول به اهداف بیولوژیک حمله می‌کنند. رادیکال‌های آزاد بسیار فعال بوده ونیمه عمر کوتاهی دارند. بنابراین در سلول‌ها و مایعات سلولی و بافت‌ها قابل اندازه گیری نمی‌باشد. ترکیبات مولکولی تشکیل شده از واکنش رادیکال‌های آزاد و یا بیومولکول‌ها نسبت به خود رادیکال‌ها ثبات بیشتری داشته ودر نتیجه قابلیت سنجش بیشتری دارند (۹، ۲۸).

تولید رادیکال‌های آزادیک فرایند طبیعی واکنش‌های متابولیسمی بدن است بطوریکه از طریق ترکیب با اکسیدان‌ها از بدن حذف می‌شوند. ترکیبات ناپایدار رادیکال‌های آزاد بر روی چربی، پروتئین DNA، و کربوهیدرات‌های سلول تاثیر گذاشته که ازبین این مواد چربی‌ها نسبت به رادیکال‌های آزاد دارای حساسیت بیشتری بوده و می‌توانند باعث ضایعات اکسیداتیو گردند. اگر تخریب اکسیداسیونی شروع شود به طور زنجیروار ادامه می‌یابد که این وضعیت در نهایت ممکن است باعث مرگ سلولی همراه با علائم گسترده بیماری می‌شود (۳۰، ۳۳). آنتی-اکسیدان ماده‌ای است که برعلیه اکسیدان‌ها وارد عمل می‌شود بطوریکه واکنش‌هایی را که بواسطه اکسیژن یا پراکسیدها پیش می‌روند را مهار می‌کند.

تعریف بیولوژیکی آنتی‌اکسیدان عبارت است از مواد طبیعی یا سنتتیک که به محصولات اضافه می‌شود تا از خراب شدنشان توسط اکسیژن جلوگیری کرده یا اینکه تخریب را به تاخیر اندازد. در بیوشیمی و داروسازی آنتی‌اکسیدان‌ها عمدتا آنزیم‌ها و سایر مواد ارگانیک از قبیل ویتامین E و یا بتا-کاروتن هستند که قادرند اثرات مخرب اکسیداتیو را در بافت‌های جانوری بی‌اثر سازند (۱۱، ۲۱).

رادیکال‌های اکسیژن به عنوان رادیکال‌های آزاد نقش عمده‌ای در تخریب سلواهای مغزی دارند (۱۷).

بافت‌های انسانی حاوی آنزیم‌هایی به نام گلوتاتیون پراکسیدازها هستند که به عنوان آنزیم‌های اصلی برداشت کننده پراکسیداز شناخته شده اند. این آنزیم‌ها از H_{2O2} به منظور اکسید کردن گلوتاتیون اکسید شده استفاده می‌کنند و به این ترتیب با سرعت زیادی H_{2O2} را از محیط خارج می سازند. گلوتاتیون تری پپتیدی است که یک گروه آزاد تیول (SH-) دارد وغلظت آن در سلول‌های پستانداران زیاداست گلوتاتیون در بدن انسان وظایف زیاد دیگری نیزبر عهده دارد. بطور مثال، بسیاری از سموم مانند کلروبنزن‌ها پس از اتصال به گلوتاتیون به فراورده های کم خطر تری تبدیل می-شوند. کاتالیزاین واکنش‌ها توسط آنزیم‌های گلوتاتیون

ترانسفراز انجام می‌شود که بطور گسترده‌ای در سلول‌های پستانداران حضور دارند (۳٤).

برای بررسی پر اکسیداسیون جهت ارزیابی اکسیداتیو استرس از اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید (*MDA*) تولید شده در فرایند لیپد پراکسیداسیون لیپدها تولید می‌شود و میزان تولید آن با شکست و تفکیک اسیدهای چرب غیر اشباع متناسب است. از این رو اندازه‌گیری MDA شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون می باشد (۲۷). ملاتونین از غده پینه‌آل ترشح می‌شود. ملاتونین آندول آمینی است که در تنظیم مرگ سلولی نیز دخالت می‌کند. حداکثر ترشح آن در شب است. اثر ملاتونین روی رادیکال‌های آزاد مطالعه شده و به عنوان یک زباله گرد (*Scavenger*) اطلاق می‌گردد که خاصیت حفاظت کنندگی اعصاب را داشته و القای استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (۱۸).

ملاتنونین از سد خونی مغزی و جفت به آسانی عبور می‌کند. ملاتونین به علت داشتن اندازه کوچک و چربی دوستی زیاد به راحتی از غشای سلول عبور کرده و در کل سلول پخش می‌شود (۲۳). غلظت آن در هسته سلول بسیار بالا بوده و *DNA* را در برابر عوامل مخرب حفظ می‌نماید (۲۵).

خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی ملاتونین می‌تواند فعالیت و یا بیان ژن‌های آنزیم‌های ضداکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون پر اکسید دیسموتاز را تحریک کند (۲۲). ملاتونین اثر التهابی و اکسیداتیو لیپوپلی‌ساکاریدها را کاهش می‌دهد که مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن است (۱۵). خواص آنتی اکسیدانی ملاتونین قوی‌تر از ویتامین E و مانیتول است (۲۲).

زردچوبه گیاهی علفی و پایا به ارتفاع یک تا یک ونیم متر است. دارای ریزوم متورمی است که از ساقه هوائی خارج می‌شود. این گیاه در نواحی شرق هندوستان و چین می‌روید ولی در بسیاری از مناطق حاره‌ای مانند پاکستان، مالزی، اندونزی و همچنین در آفریقا و آمریکای جنوبی نیز کشت می‌شود و تکثیر آن ازطریق کاشت قطعات ریزوم جوانه دارگیاه انجام می‌شود. پس از خروج ریزوم از خاک، ریشه‌های آن را جدا کرده و با آب شسته می‌شود. سپس آن را در آب جوش قرار داده و پس از خروج از آب جوش در گرمای خورشید به مدت چند روز خشک می‌شود. این گیاه بومی ایران نبوده و نام زردچوبه به ریزوم این گیاه که که در بازار موجود است اطلاق می‌گردد (۸).

کورکومین در واقع رنگدانه زردچوبه است که خواص متعددی دارد. مهم‌ترین ماده موثر زردچوبه کورکومین است که حدود ۸-۲ درصدی وزنی زردچوبه را تشکیل می‌دهد (۱٦).

دی‌فرولیل متان ($C_{12}H_2O_6$)، یک پلی‌فنول هیدروفوب مشتق شده از ریزوم گیاه زردچوبه است. ریزوم زردچوبه محتوی سه آنالوگ مهم است. کورکومین، دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین که در مجموع کورکومینوئیدها نامیده می‌شوند. این ترکیبات در موقعیت گروه متوکسی بر روی حلقه آروماتیک با یکدیگر متفاوتند. در میان این سه ماده کورکومین در زردچوبه از همه فراوانتر می‌باشد (۱٦، ۲٦). کورکومین خالص بصورت کریستال و نامحلول در آب بوده و براحتی در حلال‌هایی مانند استون ، اتانل و متانول حل می‌شود (۳۵).

هدف از تحقیق حاضربررسی تاثیر آنتی‌اکسیدان ملاتونین و زردچوبه در سه بافت مغز، کبد و کلیه در شرایط یکسان استرسی است.

محدودیت غذایی، تغییر خانه، شرایط استرسی اعمال شده به منظوربررسی تغییرات شاخص اکسیداتیو یعنی گلوتاتیون و مالون دی آلدئید است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ٤٠ سر رت نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهران خریداری گردید. رت‌ها پس از توزین بطور تصادفی به ۵ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند که تحت شرایط تعریف شده بالا نگهداری می‌شدند. رت‌های هر گروه در دو قفس چهار تایی نگهداری می‌شدند. گروه‌های مورد مطالعه شامل:

۱) گروه کنترل: برخوردار از غذای کافی در طول شبانه روز.

۲) گروه محدودیت غذایی تغییر هم‌خانه–مشاهده (مشاهده سایر گروه‌های برخوردار از غذا و القای حس نابرابری)–ملاتونین: برخوردار از یک سوم غذای مصرفی معمول در تمام طول شبانه‌روز. این گروه در کنار قفس نگهداری گروه کنترل قرار داشتنند. تزریق روزانه ملاتونین هر روز با دوز بصورت زیر صفاقی صورت می‌گرفت.

محدودیت غذایی یعنی برخورداری از فقط یک سوم غذای مصرفی معمول در تمام طول شبانه روز که به عنوان تداعی کننده فقر در رت‌ها در نظر گرفته شد. کلمه مشاهده اشاره به نگهداری قفس رت‌ها در کنار سایر رت‌هایی است که از غذای کافی در طول شبانه روز برخوردارهستند.بنابراین گروه محدودیت غذایی–مشاهده همواره شاهددریافت غذادر سایر رت‌هایی بودند که در کنار آنها نگهداری می‌شدند و همواره بوی غذا را استشمام می‌کردند، بنابراین این رت‌ها در مقایسه با رت‌های گروهی که محدومیت غذایی نداشتند احساس نابرابری می‌کردند. کلمه تغییرهم خانه یعنی دو سر از رت‌هایی که در یک قفس نگهداری می‌شدند پس از دو روز جابجا شده و با دو رت دیگری که در همان شرایط بودند معاوضه می‌شدند. هدف از این جابجایی القا حس عدم ثبات اجتماعی در رت‌ها بود. این گروه فقر، نابرابری، عدم ثبات اجتماعی را در کنار دریافت روزانه ملاتونین تجربه کردند.

۳) گروه محدودیت غذائی–تغییر هم‌خانه – مشاهده: برخوردار از یک سوم غذای مصرفی معمول در تمام طول شبانه روز. این گروه در جایگاه نگهداری گروه کنترل قرار داشتند و هم‌خانه‌هایشان هر دو روز یکبار تعویض می‌شدند. بنابراین این گروه سه استرس فقر، نابرابری و عدم ثبات اجتماعی را تجربه کردند.

٤) گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه - مشاهده–زردچوبه: برخوردار از یک سوم غذای زردچوبه دار (که حاوی ۲ درصدی زردچوبه است) (۳۲) به همراه تعویض هم‌خانه‌ها هر دو روز یکبار. قفس این گروه در کنار گروه کنترل که همیشه برخوردار از غذا بودند نگهداری می‌شدند. این گروه فقر، نابرابری و عدم ثبات اجتماعی را در کنار دریافت خوراکی زردچوبه تجربه کردند.

۵) گروه محدودیت غذائی– تغییر هم‌خانه–ایزوله: در کنار برخورداری از یک سوم غذای مصرفی معمول در تمام طول شبانه روز هم‌خانه‌هایشان هر دو روز یکبار عوض می‌شد. این گروه در محیطی مجزا از سایر رت‌ها قرار داشتند. بنابراین نه شاهد غذا خوردن سایر سایر رت‌ها بودندو نه بوی غذا را پس از اتمام سهم غذای روزانه خود استشمام کردند. بنابراین حس نابرابری را تجربه نکردند ولی فقر و عدم ثبات اجتماعی را تجربه کردند.

رت‌ها به مدت ۱۰ هفته در شرایط تعریف شده برای هر گروه قرار گرفتند. طی دو هفته اول رت‌ها از آب و غذای کافی برخوردار بودند تا با شرایط نگهداری جدید تطبیق یابند. هیچگونه محدودیت، استرس و تیماری در این دو هفته اعمال نشد. رت‌ها در شرایط مطلوب دما و نور (دمای ۲۲–۲٤ درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت تاریکی و روشنائی) نگهداری شدند و میزان غذای مصرفی آنها توزین شد. پس از آن به مدت ۱۰ هفته شرایط طبق نام گذاری گروه‌ها برای هر گروه اعمال شد. پس از هفته دهم رت‌ها با استفاده

از یک پنبه آغشته به اتر بیهوش شده بلافاصله مغز، کبد و کلیه از بدن هر رت خارج شده سپس با نرمال سالین ۰.۹ شستشو داده شدتا خون اضافی روی آنها تمیز شود و سپس هموژن شد. بافت‌ها در بافر تریس (۵۰ میلی‌مولار) در PH=۸ و غلظت ۲۰ درصد هموژنیزه و در درجه حرارت ۷۰- درجه سانتیگراد تا زمان شروع سنجش‌های بیوشیمایی نگه داری شد.

طبق دستورالعمل سنجش هر فاکتور، غلظت مورد نیاز هموژن تهیه گردید و میزان گلوتاتیون، مالون دی آلدئید (MDA) در آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت مورد نیاز سنجش گلوتاتیون ۱۰ درصد است و با استفاده از هموژنات ۲۰٪ و بافر تریس (۰/۲) حاوی ۰/۲ مولار EDTA با pH = ۸/۲ تهیه شد سنجش باروش المان انجام شد. از هموژنات ۲۰ درصد با بافر تریس (۵۰ میلی مولار) با pH = ۸/۲ هموژنات ۱۰ درصد تهیه شد. هموژنات ٪۱۰ را با ۷۵۰ میکرو لیتر بافر تریس ۰/۲ مولار با pH = ۸/۲ و ۵۰ میکرولیتر DTNB با غلظت ۰/۰۱ مولار (محلول در متانول) مخلوط شده و حجم آن با متانول خالص به ۵ میلی‌لیتر رسید. سپس ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. جذب مایع رویی توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ٤١٢ نانومتر خوانده شد (۱۹).

مالون‌دی‌آلدئید که شاخص دیگر استرس اکسیداتیو است با تست *Thio Barbituric Acid* (*TBA*) اندازه گیری می‌شود. افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پر اکسیداسیون لپید شناخته می‌شود (۳٦).

پراکسیداسیون لپید در پلاسما با روش اسپکتروفتومتریک بر پایه واکنش بین مالون دی آلدئید و *TBA* انجام می‌شود. میزان جذب در طول موج ۳۲۵nm اندازه‌گیری می‌شود (۲). غلظت گلوتاتیون و مالون‌دی‌آلدئید در هموژن های مغز، کبد و کلیه رت‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل با نمودارهای استاندارد تطابق داده شد وسطح موجود در نمونه‌ها ارزیابی گردید.

نتایج

گلوتاتیون مغز: کاهش معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) از لحاظ میزان گلوتاتیون در بافت مغز گروه محدودیت- تغییر هم‌خانه-مشاهده در مقایسه با گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه-ایزوله مشاهده شد. کاهش معنی‌داری در گلوتاتیون مغز گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- زردچوبه در مقایسه با گروه محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه-ایزوله مشاهده شد (p ۰/۰۰۱ =). کاهش معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) هم در گلوتاتیون مغز گروه محدودیت غذایی- مشاهده- تغییر هم-خانه- ملاتونین نسبت به گروه محدودیت غذایی- مشاهده -تغییر هم‌خانه-ایزوله مشاهده شد (p ۰/۰۰۱ >).

گلوتاتیون کلیه: بین دو گروه محدودیت تغییر هم-خانه مشاهده و گروه کنترل از نظر میزان گلوتاتیون تفاوت معنی‌داری وجود دارد بطوری که میزان گلوتاتیون در بافت کلیوی گروه محدودیت مشاهده تغییر هم‌خانه افزایش معنی‌داری (p = ۰/۰۰۲) نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد. میزان گلوتاتیون موجود در بافت کلیوی گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده زردچوبه کاهش معنی‌داری را (p = ۰/۰۰۱) را نسبت به گروه محدودیت مشاهده تغییرهم خانه نشان داد. افزایش معنی داری از نظر میزان گلوتاتیون در گروه محدودیت مشاهده تغییر هم‌خانه ملاتونین (p = ۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. میزان گلوتاتیون گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده ملاتونین بیشتر از گروه محدودیت مشاهده زردچوبه است.

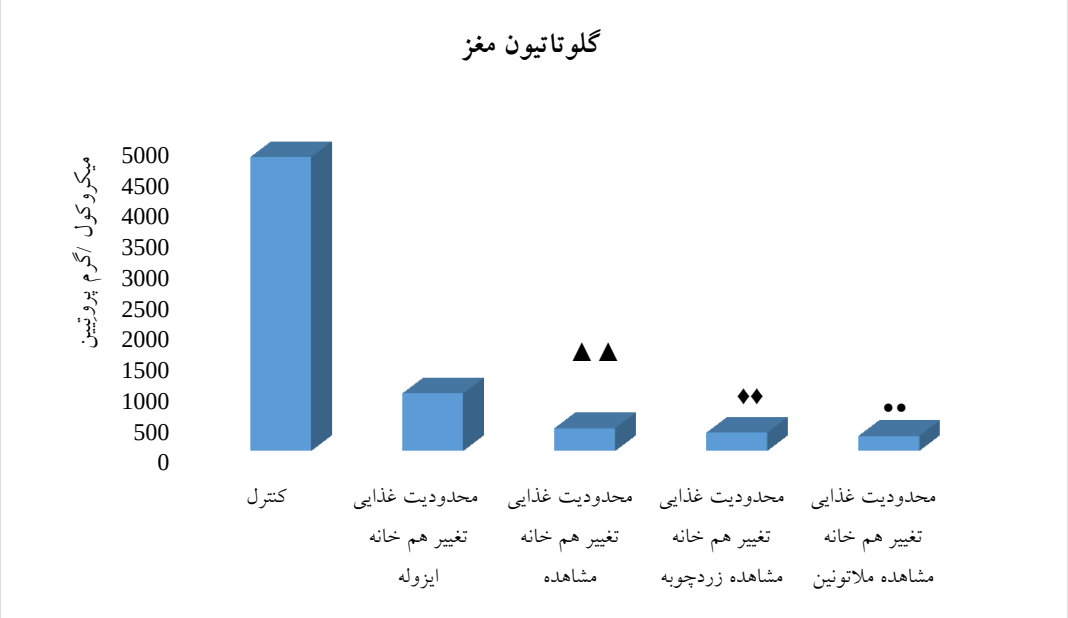
گلوتاتیون کبد: افزایش معنی‌دار (p = ۰/۰۲٤) میزان گلوتاتیون در گروه محدودیت غذایی- تغییرهم خانه-

ایزوله نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. میزان گلوتاتیون موجود در گروه محدودیت غذایی- تغییرهم خانه -مشاهده بطور معنی‌داری ((p ۰/۰۰۱ =) کمتر از گروه محدودیت غذایی - تغییر هم‌خانه - ایزوله است. کاهش معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) در گلوتاتیون گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- ملاتونین نسبت به گروه محدودیت غذایی-تغییر هم-خانه- مشاهده- ایزوله دیده شد.

مالون‌دی‌آلدئید مغز: میزان مالون‌دی‌آلدئید گروه کنترل بطور معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) کمتر از گروه محدودیت -تغییر هم‌خانه - ایزوله بود. افزایش معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) در میزان مالون‌دی‌آلدئید گروه محدودیت -تغییر هم‌خانه-مشاهده در مقایسه با گروه محدودیت -تغییر هم‌خانه-ایزوله دیده شد. کاهش معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) در میزان مالون‌دی-آلدئید گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- زردچوبه نسبت به گروه محدودیت غذایی- مشاهده- تغییر هم‌خانه دیده شد.

مالون‌دی‌آلدئید کلیه: تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و گروه محدودیت غذایی تغییر هم‌خانه- زردچوبه ملاحظه شد، بطوریکه میزان مالون‌دی‌آلدئید گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- زردچوبه کاهش معنی داری (p = ۰/۰۰۱) را نشان داد. همچنین کاهش معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) در میزان مالون‌دی-آلدئید گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- زردچوبه در مقایسه با محدودیت غذایی-تغییر هم-خانه-ایزوله وجود داشت.

مالون‌دی‌آلدئید کبد: میزان مالون‌دی‌آلدئید گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- مشاهده بطور معنی‌داری (p = ۰/۰۶) بیشتر از گروه کنترل بود. بین دو گروه محدودیت غذایی- تغییرهم خانه- مشاهده و محدودیت غذایی- تغییرهم خانه- ایزوله تفاوت معنی‌داری وجوداشت. بطوری که میزان مالون دی آلدئید گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده بطور معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) بیشتر بود. میزان مالون دی آلدئید گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه - زردچوبه بطور معنی‌داری نسبت به گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- مشاهده بطور معنی‌داری (p = ۰/۰۰۱) کاهش یافت.

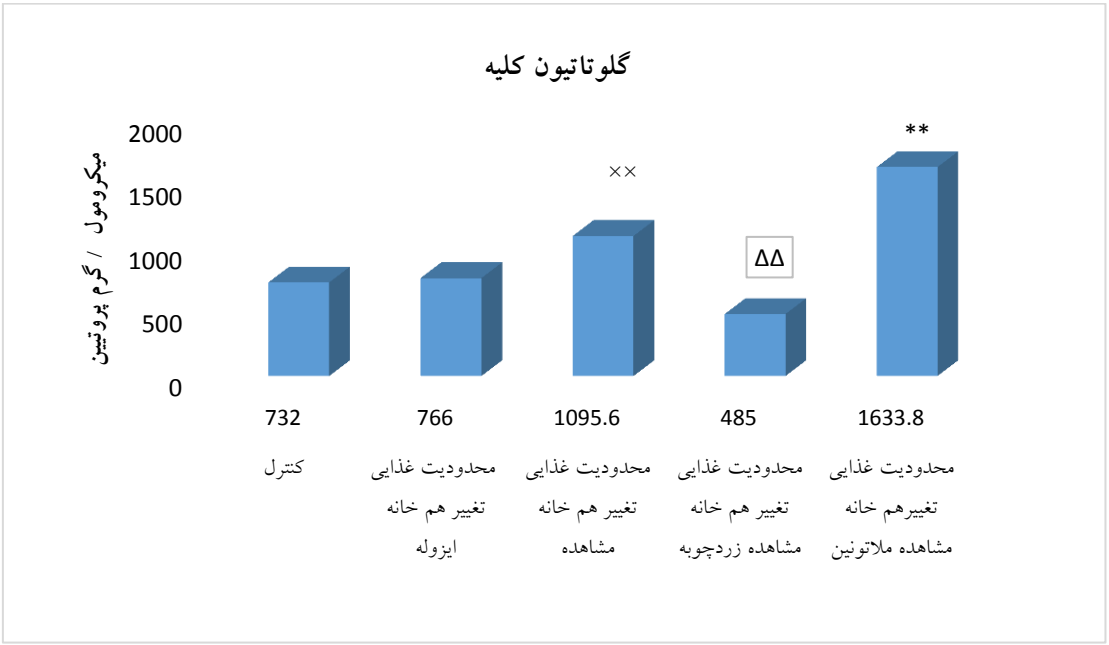


نمودار ۱- تغییرات گلوتاتیون مغز در گروه‌های مختلف

▲: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده نسبت به گروه محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله ($p < ۰/۰۰۱$)

♦: تفاوت معنی‌دار محدودیت تغییر هم‌خانه زردچوبه نسبت به محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله ($p < ۰/۰۰۱$)

•: تفاوت معنی‌دار محدودیت تغییر هم‌خانه ملاتونین نسبت به محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله ($p < ۰/۰۰۱$)

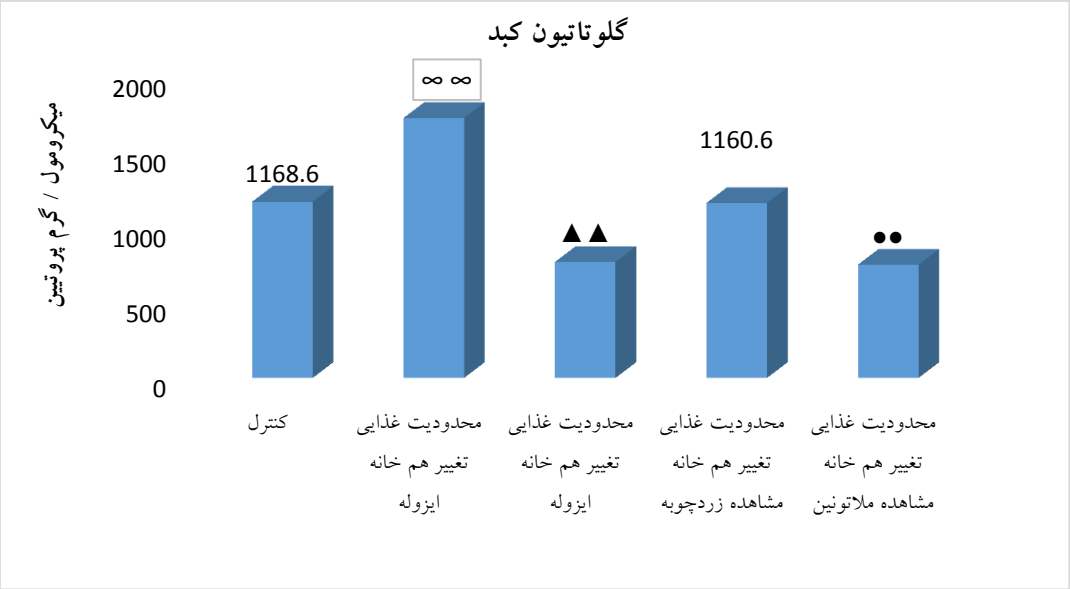


نمودار ۲- تغییرات گلوتاتیون کلیه در گروه‌های مختلف

××: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم خانه مشاهده نسبت به گروه کنترل ($p < ۰/۰۰۱$)

Δ: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم خانه زردچوبه نسبت به گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده ($p < ۰/۰۰۱$)

*: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه ملاتونین نسبت به گروه کنترل ($p < ۰/۰۰۱$)

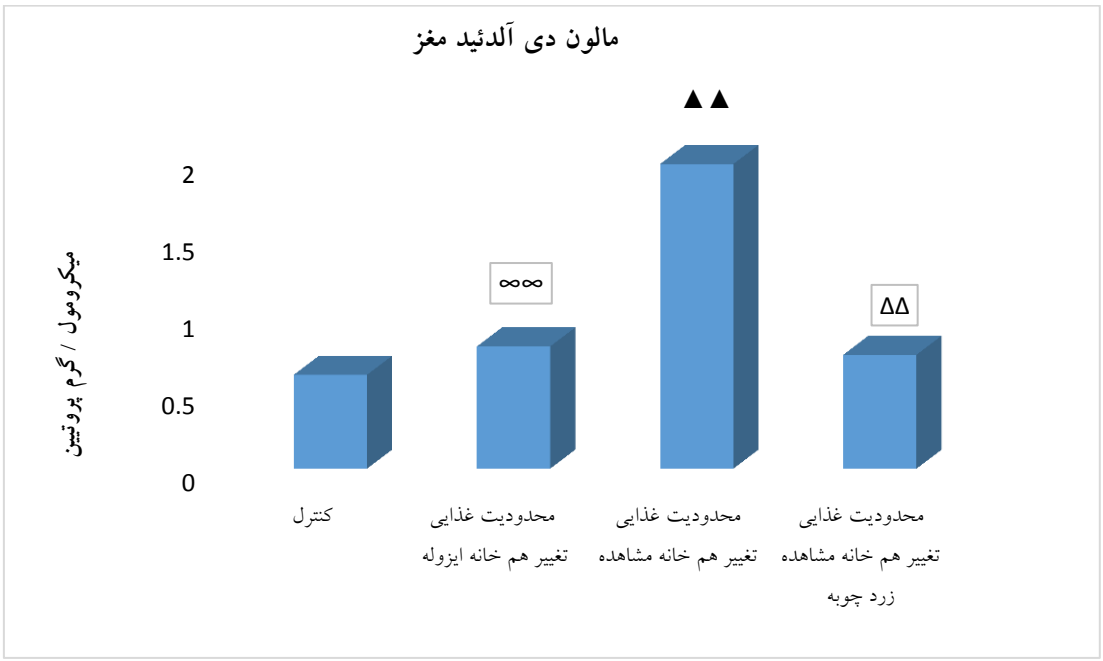


نمودار ۳- تغییرات گلوتاتیون کبد در گروه‌های مختلف

▲: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت- تغییر هم‌خانه- مشاهده نسبت به محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله ($p < ۰/۰۰۱$)

●: تفاوت معنی‌دار محدودیت –تغییر هم‌خانه- ملاتونین نسبت به محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله ($p < ۰/۰۰۱$)

∞ : تفاوت معنی دارگروه محدودیت تغییر–هم‌خانه- ایزوله نسبت به گروه کنترل ($p < ۰/۰۲٤$)

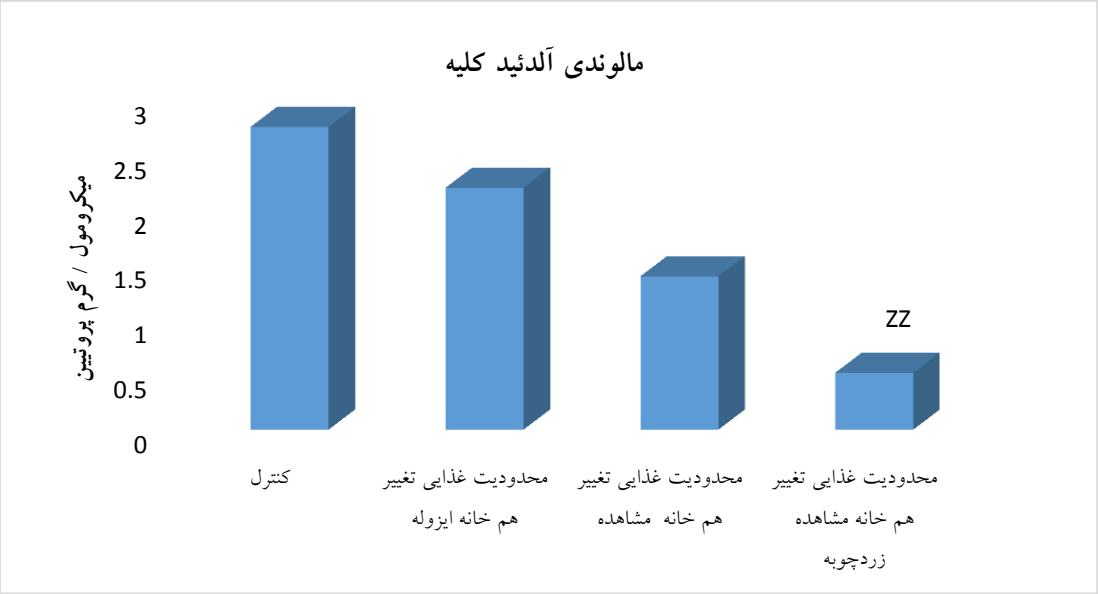


نمودار ٤- تغییرات مالون دی آلدئید مغز در گروه‌های مختلف

▲: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده نسبت به گروه محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله ($p < ۰/۰۰۱$)

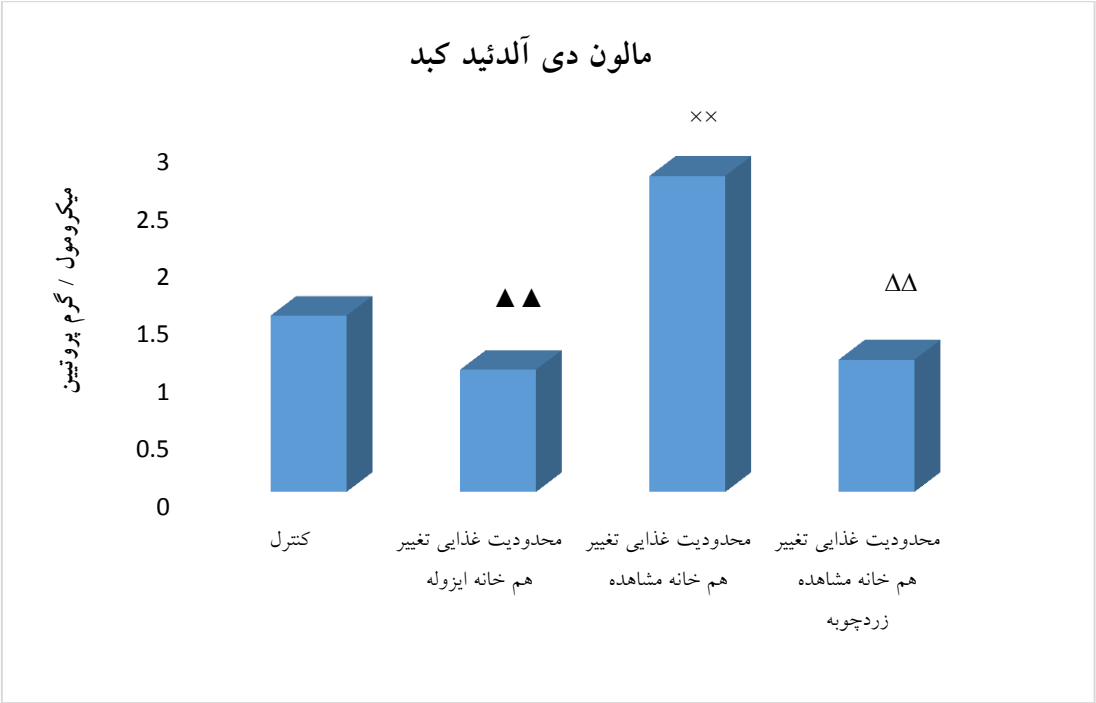
Δ: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه زردچوبه نسبت به گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده ($p < ۰/۰۰۱$)

∞: تفاوت معنی دارگروه محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله نسبت به گروه کنترل ($p < ۰/۰۰۱$)



نمودار ۵- تغییرات مالون دی آلدئید کلیه در گروه‌های مختلف

Z: تفاوت معنی دار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه زردچوبه نسبت به گره کنترل ($p < ۰/۰۰۱$)

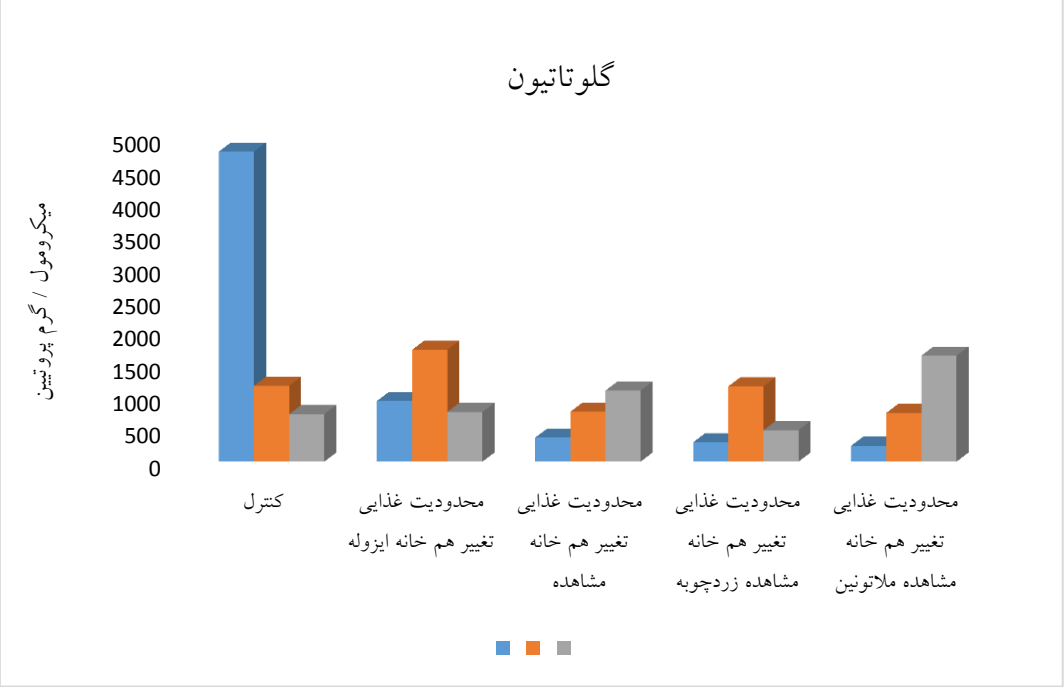


نمودار ٦- تغییرات مالون دی آلدئید کبد در گروه‌های مختلف

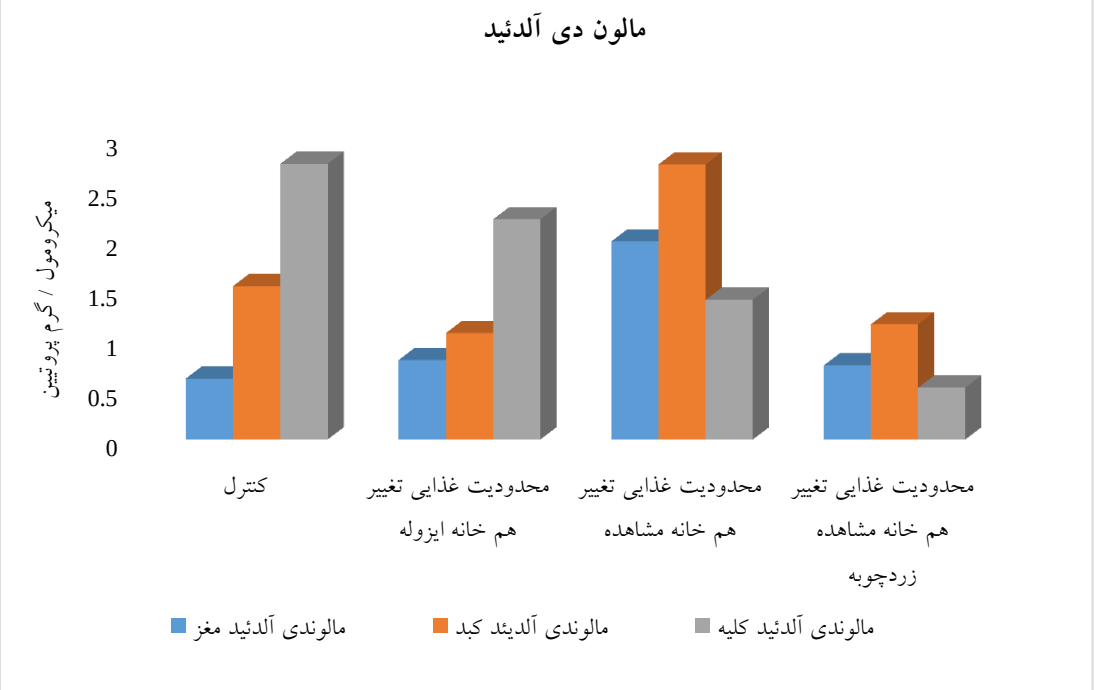
Δ :تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه زردچوبه نسبت به گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده ($p < ۰/۰۰۱$)

×: تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده نسبت به گروه کنترل ($p < ۰/۰۰۱$)

▲: تفاوت معنیدار گروه محدودیت تغییر هم‌خانه مشاهده نسبت به گروه محدودیت تغییر هم‌خانه ایزوله ($p < ۰/۰۰۱$)



نمودار ۷- نمایش همزمان تغییرات گلوتاتیون مغز، کبد و کلیه در گروه‌های مختلف



نمودار ۸- نمایش تغییرات مالون دی آلدئید مغز، کبد و کلیه در گروه‌های مختلف.

بحث

گروه محدودیت غذایی - تغییر هم‌خانه- زردچوبه کاهش معنی‌داری از نظر میزان گلوتاتیون در مقایسه با محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- ایزوله نشان می-دهد. گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- ایزوله از دو استرس محدودیت غذایی و تغییر هم‌خانه رنج می‌برد. درحالیکه گروه محدودیت مشاهده–تغییر هم-

خانه-زردچوبه با وجود سه استرس محدودیت غذایی (فقر)، تغییر هم‌خانه (بی ثباتی) و مشاهده (نابرابری و تبعیض، آنتی‌اکسیدان زردچوبه را دریافت کرده است و میزان گلوتاتیون کمتری را نشان می‌دهد. این بدین معنی است که با وجود سه استرس نام برده، زردچوبه توانسته است نقش خود را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان به خوبی ایفا کرده و میزان گلوتاتیون مغزرا کاهش بدهد. پس زردچوبه توانسته است میزان استرس اکسیداتیو سلول‌های مغزی را کاهش داده و بر استرس غلبه کند. کاهش سطح آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون یعنی عدم نیاز به مقابله با اکسیدان بالا در سلول و این در شرایطی رخ می‌دهد که سطح اکسیدانی سلول پایین باشد. در مجموع مصرف زردچوبه سطح اکسیدانی مغز را کاهش داده بطوریکه نیاز به بالا رفتن سطح آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون نبوده که این خودمی تواند بیانگر نقش مثبت زردچوبه در کاهش اکسیدان سلولی در سطح مغز باشد. مطالعه دیگری هم تاثیر محرومیت از غذا بر سطح اکسیداتیو مغز موش نشان داد که دو ماه کاهش ۵۰ درصدی دریافت غذا باعث افزایش H_2O_2 و کاهش ویتامین E و آنزیم گلوتاتیون می‌شود (۲٤) که تاییدی بر عملکرد آنتی‌اکسیدانی زردچوبه است. ملاتونین در مغز مانع اثرات نکروزی گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. ملاتونین با کاهش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن در محیط داخلی سلول از پیشرفت دژنراسیون نورونی و حساس شدن سیستم عصبی جلوگیری می‌کند. این آنتی‌اکسیدان میزان پراکسیداسیون لپید و نیز فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی گلوتاتیون پر اکسیداز را در عقده‌های بخش خلفی نخاع افزایش می‌دهد (۱).

کاهش معنی‌دار گلوتاتیون گروه محدودیت غذایی- مشاهده-تغییر هم‌خانه- ملاتونین نسبت به گروه محدودیت غذایی-مشاهده -تغییر هم‌خانه هم دلیل براین است که ملاتونین هم نظیر زردچوبه عمل کرده و سلول را در شرایطی قرار داده که دیگر نیاز به بالا رفتن سطح گلوتاتیون به عنوان آنتی اکسیدان آنزیمی سلول به منظور مقابله با اکسیدان‌های سلول‌های مغزی نیست. بطوریکه حضور آنتی کسیدان ملاتونین در شرایط اعمال دو استرس محدودیت غذایی-تغییرهم خانه توانسته است بر تغییر شرایط ایجاد شده در سلول در زمان القای استرس‌های مذکور غالب شده و نتیجه استرس القایی را در سطح سلول‌های مغزی کاهش دهد. فعال شدن گیرنده های ملاتونین، با افزایش آزاد شدن برخی سیتوکین‌های مهار کننده سیستم ایمنی در اثر استرس، سبب پیشگیری از بیماری‌های مهلک می‌شوند (۳، ۳۱). از طرف دیگر ملاتونین از راه کاهش قابلیت اکسیدشدگی لیپوپروتئین‌ها و دیگر پروتئن‌های عملکردی ضروری توسط رادیکال‌های آزاد می‌تواند سطح آسیب اکسیداسیونی را کاهش دهد (٤).

شاید اینها دلیل بر کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌های سلولی در شرایط بهره‌مندی از ملاتونین در شرایط القا استرس می باشد و لذا نیازی به افزایش سطح آنتی-اکسیدان گلوتاتیون برای برقراری تعادل بین اکسیدان-ها و آنتی‌اکسیدان‌های سلول مغزی وجود ندارد. با توجه به نمودار ۷ این احتمال هم وجود دارد که نقش آنتی‌اکسیدانی ملاتونین در سلول‌های مغزی نسبت به زردچوبه بیشتر بوده است.

مقایسه دو گروه محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه-زردچوبه و محدودیت غذایی-تغییر هم خانه-مشاهده نشان دهنده کاهش سطح گلوتاتیون در گروه بهره مند از زردچوبه است. به عبارت دیگر نظیر بافت مغز، بافت کلیه نیز در شرایط دریافت زردچوبه و القائ استرس این زردچوبه است که توانسته نقش آنتی-اکسیدانی را نشان داده و بر شرایط استرسی سلول کلیوی در شرایط فقر و نابرابری غلبه کند.

کاهش معنی‌داری از نظر میزان گلوتاتیون بین گروه محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه- مشاهده و گروه کنترل وجود دارد و این مساله می‌تواند احتمالا بیانگر این باشد که استرس‌های فقر، عدم ثبات اجتماعی و نابرابری باعث القا استرس نسبت به گروه کنترل شده که این القای استرس در سلول‌های کلیوی منجر به افزایش معنی‌دار سطح آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون شده است. مقایسه بین گروه محدودیت غذایی- تغییر هم-خانه- ملاتونین و گروه کنترل افزایش معنی‌دار گلوتاتیون در گروه دریافت کننده ملاتونین را نشان داد که این مطلب شاید دال بر عدم ایفای نقش آنتی-اکسیدانی ملاتونین در سلول های کلیوی باشد. این در حالیست که طبق یک مطالعه اثر ملاتونین بر کاهش مرگ سلولی در شرایط محرومیت همراه با نابرابری بیانگر دخالت ملاتونین بر مکانیسم استرس اکسیداتیو است (۱۸) که بر خلاف نتایج حاصل در مطالعه حاضر است. پس احتمالا استرس‌های اعمال شده در کنار دریافت ملاتونین نتوانسته سطح اکسیدان‌های سلولی در کلیه را کاهش دهد که درنتیجه منجر به افزایش سطح گلوتاتیون برای غلبه بر اکسیدان‌های سلولی شده است. به عبارت دیگر سطح گلوتاتیون در این گروه بالاست چون احتمالا ملاتونین آنتی اکسیدان مناسبی برای تخریب اکسیدان‌ها در سلول های کلیوی نیست. گمان می‌رود که زرد چوبه نسبت به ملاتونین توانایی بیشتری برای مقابله با استرس در سلول‌های کلیوی دارد که دقیقا بر خلاف سلول‌های مغزی است که ملاتونین در کلیه موفق‌تر عمل کرده است. کورکومین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز راافزایش داده و ازاین طریق از پراکسیداسیون لپیدی جلوگیری می‌کند. علاوه براین کورکومین فعالیت آنزیم‌های سم‌زدایی کننده را در کبد و کلیه افزایش می‌دهد و سلول‌های سالم را در برابر پدیده کارسینوژنز محافظت می‌کند. کورکومین فعالیت آنزیم‌هایی نظیر گلوتاتیون ترانسفراز را تقویت می‌کند و میزان گلوتاتیون احیاشده و گروه سولفیدریل آزاد را اقزایش داده و در نهایت سطح آنتی‌اکسیدانی محیط زنده را بالا می برد (۲۰).

مقایسه دو گروه محدودیت غذایی - تغییر هم خانه- ملاتونین و محدودیت غذایی -تغییر هم‌خانه- ایزوله نشانگر کاهش سطح گلوتاتیون در گروه محدودیت غذایی – تغییر هم‌خانه – ملاتونین بصورت معنی داری است. در مطالعه دیگری دیده شده که ملاتونبن میزان گلوتاتیون کبد را کاهش می‌دهد و از ملاتونین به عنوان شاخص غالب برای بررسی نقش حفاظتی ملاتونین بر سلول‌های آسیب دیده یاد می‌شود (۲۹).

از طرف دیگر مقایسه میزان گلوتاتیون در گروه محدودیت- تغییر هم‌خانه-ایزوله و محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه-زردچوبه کاهش گلوتاتیون را بصورت معنی‌داری در گروه برخوردار از غذای زردچوبه‌ای نشان نداد. درحالی که در مطالعه دیگری استفاده ار پودر خوراکی زردچوبه منجر به کاهش سطح گلوتاتیون در بافت کبدی رت‌های دیابتی گردیده است (۱۳).

مطالعه روی رت‌ها نشان داده است که محدودیت غذائی تولید رادیکال آزاد کبدی را مهار کرده و نیز باعث افزایش کاتالاز و گلوتاتیون ترانسفراز می‌شود (۱۸). این مقایسه کاملا نتایج متفاوتی نسبت به مطالعه حاضر نشان می‌دهد.

گلوتاتیون در نقل و انتقال داخل سلولی، تولید هورمون‌ها و محافظت در مقابل استرس‌های اکسیدانی موثر می‌باشند. ملاتونین دارای نقش بازدارندگی از طریق مهار آسیب اکسیداتیو در افزایش فعالیت GST است (۱). می‌توان گفت که برخلاف بافت مغز که هم زردچوبه و هم ملاتونین کاهش دهنده سطح آنتی-اکسیدان گلوتاتیون در شرایط القا استرس بودند در بافت کبدی فقط آنتی‌اکسیدان ملاتونین توانسته در

سلول‌های کبدی ایفای نقش کرده و بر استرس اکسیداتیو ناشی از فقر و عدم ثبات اجتماعی غلبه کند در حالیکه زردچوبه نتوانسته چنین تاثیری را در این مطالعه نشان دهد. به عبارت دیگر در بافت کبدی بطور متفاوت با دو بافت مغز و کلیه ملاتونین بهتر از زردچوبه توانسته نقش آنتی‌اکسیدانی‌اش را آشکار سازد و سطح گلوتاتیون را با وجود استرس پایین نگه دارد (نمودار ۷).

طبق نتایج این تحقیق هرچند که ملاتونین در هر دو بافت مغز و کبد موثر تر از زردچوبه است اما برکاهش سطح آنتی‌اکسیدانی بافت کلیه بی‌تاثیر است. در مجموع آنتی‌اکسیدان زرد چوبه در هر سه بافت مغز، کبد و کلیه موثر است ولی ملاتونین در مغز و کبد موثرتر است در حالیکه در سلول‌های کلیوی احتمالا تاثیری بر غلبه بر اکسیدان‌های سلولی و کاهش سطح گلوتاتیون ندارد.

میزان مالون دی آلدئید در گروه محدودیت غذایی- تغییرهم خانه - ایزوله بطور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است و بیانگر این مطلب است که گروه محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه-ایزوله در مقایسه با گروه کنترل دچار استرس شده ومنجربه افزایش مالون دی آلدئید که شاخص استرس اکسیداتیو می‌باشد، در این گروه شده است. کاهش معنی‌دار در میزان مالون دی آلدئید در گروه محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه- زردچوبه در مقایسه با گروه محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه- مشاهده احتمالا نشانه موثر بودن آنتی-اکسیدان زردچوبه در کاهش سطح اکسیدان‌های سلولی و در نتیجه کاهش معنی‌دار میزان پر اکسیداسیون لپید است.

مطالعات نشان داده است که تزریق زیر صفاقی کورکومین در هیپوکامپ همزمان باتزریق سرب کاهش غیر معنی داری رادر MDA موش‌های صحرایی نشان داده است (۱). مقایسه دو گروه محدودیت غذایی- تغییرهم خانه- ایزوله و محدودیت غذایی- تغییر هم خانه- مشاهده نشان می-دهد که بین این دو گروه که فقط از نظر شرایط نگهداری یعنی ایزوله و مشاهده با هم فرق دارند، از نظر میزان مالون دی آلدئید تفاوت معنی‌داری وجود دارد.این مطلب عنوان می‌کند که ظاهرا مشاهده یا همان درک حس تبعیض و نابرابری استرس بیشتری را به گروه محدودیت –تغییر هم‌خانه مشاهده وارد کرده است. میزان مالون دی آلدئید در گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه -زردچوبه بصورت معنی داری کمتر از گروه محدودیت غذایی – تغییرهم خانه –مشاهده است. این نتیجه می تواند بیانگر این مطلب باشد که زردچوبه به عنوان یک آنتی اکسیدان توانسته است براسترس ناشی از فقر، عدم ثبات اجتماعی و نابرابری چیره شده و میزان استرس اکسیداتیو را تحت این شرایط در سلول‌های کلیوی کاهش دهد به نحوی که از میزان شاخص استرس اکسیداتیو یعنی مالون دی آلدئید در سطح سلول کاسته است. کاهش معنی دار این آنتی اکسیدان در گروه محدودیت غذایی -تغییر هم خانه-ایزوله در مقایسه با گروه محدودیت غذایی- تغییرهم خانه- مشاهده نشان دهنده افزایش القا استرس در گروه محدودیت غذایی- تغییرهم خانه-مشاهده است. افزایش معنی‌دار مالون دی آلدئید در گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه-مشاهده نسبت به گروه کنترل دلیل بر تاثیرگذاری سه استرس محدودیت غذایی، تغییر هم‌خانه و مشاهده است. در مجموع سه استرس فقر، عدم ثبات موقعیت اجتماعی و تبعیض و نابرابری توانسته است در مقایسه با گروه کنترل که هیچ استرسی بر آنها اعمال نمی‌شود سطح مالون دی آلدئید را که شاخص استرس اکسیداتیو است به صورت معنی‌داری در دو گروه محدودیت غذایی-تغییر هم-خانه-ایزوله و محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه-

مشاهده افزایش دهد. مقایسه دو گروه محدودیت غذایی- تغییر هم‌خانه- زردچوبه مشاهده و محدودیت غذایی-تغییر هم‌خانه- مشاهده نشان دهنده کاهش معنی‌دار سطح مالون دی آلدئید در گروه برخوردار از غذای حاوی زردچوبه است. می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که به احتمال زیاد آنتی‌اکسیدان زردچوبه توانسته است محافظتی خود را در قبال استرس‌های اعمال شده ایفا کرده و میزان مالون دی آلدئید و یا به عبارتی سطح استرس اکسیداتیو را در سلول‌های کبدی بصورت معناداری کاهش دهد.

برخلاف اینکه زردچوبه در هر سه بافت مغز ، کبد و کلیه توانست نقش آنتی‌اکسیدانی را نشان دهد و به تبع آن توانست سطح مالون دی آلدئید را کاهش بدهد اما در بافت کبدی نتوانست نقش آنتی اکسیدانی اش را به خوبی چنان نشان دهد که سطح مالون دی آلدئید در سلول‌های کبدی کاهش بدهد. برخلاف زردچوبه، ملاتونین توانست نقش آنتی اکسدانی خود را در سلول‌های بافت کبدی چنان ایفا نماید که نیازی به بالا رفتن گلوتاتیون برای مهار اکسیدان‌های سلولی نباشد (نمودار ۸).

با توجه به اینکه نوع استرس‌های اعمال شده در این تحقیق متفاوت است مستقیما قابل مقایسه با نتایج مطالعات دیگر نیست.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج حاصل از این تحقیق رفتار آنتی اکسیدان-های ملاتونین و زردچوبه در بافت‌های مختلف یکسان نیست. بطوریکه احتمالا ملاتونین در کلیه بهتر از زردچوبه نقش آنتی‌اکسیدانی را ایفا می‌کند. ملاتونین در هر دو بافت مغز و کبد موثر تر از زردچوبه است اما بر کاهش سطح آنتی‌اکسیدانی بافت کلیه بی‌تاثیر است. در حالیکه هم زرد چوبه و هم ملاتونین در مغز قادر به ایفای نقش آنتی‌اکسیدانی شان تاحد قابل توجهی می‌باشند.

تشکر و قدردانی

از تمام اساتید گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد و کارشناس محترم آزمایشگاه که امکان انجام این تحقیق را فراهم کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Abdel-Raheim M.A., Hussein A. 2000. Melatonin reduce oxidative stress induced by ochratoxin A in rat liver and kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 130(2):305-313.

2. Ahmad R., Tripathi K., Tripathi P., Singh, S., Singh R.K. 2008. Malondialdehyde and protein carbonyl as biomarkers for 0xidative stress and disease progression in patients with chronic myeloid leukemia. *National Center for Biotechnology Information*, 22(4):525-528.

3. Col C., Dinler K., Hasdemir O., Buyukasik O., Bugdayci G. 2010. Oxidative stress and lipid peroxidation products: effect of pinealectomy or exogenous melatonin injections on biomarkers of tissue damage during acute pancreastitis. *Hepatobiliary Pancreat Diseases International*, 9(1):78-82.

4. Cruz A., Tasset I., Ramrez L.M., Arjona A., Segura J., Tunez I. 2009. Effect of melatonin on myocardial oxidative stress induced by experimental obstructive jaundice. *Revista Espanola De Enfermedades Digestivas*, 101(7):460-463.

5. Dorman H.J., Bachmayer O., Kosar M. 2004. Antioxidant properties of aqueous extract from selected lamiaceae specious grown in Turkey. *Agriculture and Food Chemistry*, 52(4):762-770.

6. Fattoretti P., Bertoni-Freddari C., Cassoli T. 2002. Morphometry of age pigment (lipofuscin) and of ceroid pigment deposit associated with vitamin E deficiency. *Archives of Gerontology Geriatrics*, 34(3): 263-268.

7. Goldman N. 2001. Social inequalities in health: Disentangling the underlying mechanisms. *Annals of the New York Academy of Science*, 945:118-139.

8. Hatcher H., Planap R, Cho J. 2008. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and Molecular Life Science*, 65(11):1631-1652.

9. Heidary F., Vaeez Mahdavi M.R., Momeni F. 2008. Food inequality negatively impacts cardiac health in rabbits. *PLoS One*, 3(11):e3705.

10. Hosseinzadeh S., Dabidi V. 2011. Effects of curcumin supplementation on BNDF and oxidative/antioxidant process in rat`s hippocampus which exposed to lead. *Journal of Gorgan University of Medical Science*, 13(2):38-46.

11. Jung T., Hohn A., Grune T. 2010. Lipofuscin: detection and quantification by microscope techniques. *Methods in Molecular Biology*, 594: 173-193.

12. Katz ML., Rice LM., Gao CL. 1999 Reversible accumulation of lipofuscin like inclusion in retinal pigment. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 40:175-181.

13. Kim J.D., Carter M.C. 1996. Influence of age, exercise and dietary restriction on oxidative stress in rats. *Aging (Milano)*, 8(2):123-9.

14. Kuruvilla A., Jacobo K.S. 2007. Poverty, social stress and mental health. *Indian Medical Research*, 126(4):273-278.

15. Lee S.T., Kim M. 2006. Aging and neurodegeneration. Molecular mechanisms of neuronal loss in Huntington`s disease. *Mechanisms of Ageing and Development*,127: 432-435.

16. Meaura Y., Weisburger J.H., Williams G. 1984. Dose –dependent reduction of N-2-flurentyl acetamide include liver cancer and enhancement of bladder cancer in rats by BHT. *Cancer Research*, 44(4):1604-1610.

17. Nakanishi H., WU Z. 2009. Roles of microglia lysosome and mitochondria – derived reactive oxygen species in brain aging. *Behavioral Brain Research*, 201(1): 1-7.

18. Nasiraei-Moghadam S., Parivar K., Ahmadiani A., Movahedian M., Vaez Mahdavi M.R., Roughani M. 2012. Study of the therapeutic. Effect of melatonin after food deprivation in apoptosis and oxidative stress in rat. Modare tissue. *Modares Journal of Medical Sciences. Pathology*,15(3): 79-92.

19. Owen J.B., Butterfield D.A., 2010. Measurment of oxidized/reduced glutation ratio. *Methods in Molecular Biology*, (648):269-277.

20. Pulido-Moran M., Moreno–Fernandez J., Ramirez-Tortosca C., Ramirez-Tortosa M. 2016. Curcumin and health. *Molecules*, 21(3):264-268.

21. Ranjbar A., Ghahremani M.H., Sharifzadeh M. 2010. protection by oentoxifylline of malathion – induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain. *Human and Experimental Toxicology*, 29(10):851- 864.

22. Reiter R.J., Tan D.X., Saniz R.M. 2001. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species. *Cell Biochemistry and Biophy*sics, 34(2):237-56.

23. Sanchez-Hidalgo M. 2009. Age related changes in melatonin synthesis in rat extra pineal tissue. *Experimental Gerontology*, 44(5):328-334.

24. Santos R.X., Cardoso S., Silvia S. 2009. Food deprivation promotes oxidative imbalance in rat brain. *Journal of Food Sciences*, 74(1):8-14.

25. Shen Q., Shang N., Li P. 2010. In vitro and in vivo antioxidant activity of Bifidobacterium animals isolated from centers. *Current Microbiology*, 1(7):75-84.

26. Sirvanian M., 1972.Effect of curcumin on blood sugar as seen in a diabetic subject.

32. Vaez Mahdavi M.R., Mojarab S.H., Tarihi T., Roghani M., Faghihzadeh S., Hashem Pour Ezati M. 2010. The effect of food deprivation social status and inequalityon myocardial cell of aging in male rabbit. *Daneshvar Medical Journal*, 17(86):11-18.

33. Wei Y.H., Lu C.Y., Lee Wei C.Y., Ma Y.S., Lee H.C. 2001. Oxidative stress in human aging and mitochondrial disease consequence of defective mitochondriasl respiration and impaired antioxidant enzyme system. *Chinses Journal of Physiology*, 44(1):1-11.

34. Wheeler G.L., Quinne K.A., Peerron, G., 2002. Glutation regulates the expression of gamma-glutamyl systeein synthetasevia the Met transcription factor. *Molecular Microbiology*, 46(2):545-556.

35. Wickenberg J., Ingemenson S.L., 2010. Effects of curcuma longa (turmeric) on post prandial plasma glucose and insulin in healthy subject. *Nutrition Journal*, 9:43.

36. Zielinski S., Portner H.O., 2000. Oxidative stress and antioxidant defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125(2):147-160.

Indian Journal of Medical Sciences, 26 (4):269-270.

27. Sivonova M., Tatakova Z., Durackkova Z., 2007. Relationship between antioxidant potential and oxidative damage to lipid, proteins and DNA in aged rats. *Physiological Research*, 56: 757-764.

28. Sohal R.S., Mokett R.J., Orr W.C., 2002. Mechanisms of aging: An appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5):575-586.

29. Swiderskn-Kolacz G., Klusek J., Koatay A., 2006.The effect of melatonin on glutathione and gluthion transferase and glutathione peroxidase activities in the mouse liver and kidney in vivo. *Neuroendocrinology Letters*, 327(3):365-369.

30. Terman A., Brunk U.K., 1998. Ceroid/ Lipofuscin formation in cultured human fibroblasts. The role of oxidative stress and lysosomal proteolysis. Mechanisms of *Ageing and Development*, 104(3):277-291.

31. Tung L., Shukla P.K., Wang L.X., Wang Z.G. 2006. Trifluoperazine an orally available clinically used drug, disrupt opioid to tolerance. *Neuroscience Letters*, 397(1-2):1-4.

Investigating the Different Antioxidant Effect of Turmeric and Melatonin in Three Tissues of Brain, Liver and Kidney under the Conditions of Social Stress

Irandokht Zeinaei[1], Shahrbanoo Oryan[2], Mohammadreza Vaez Mahdavi[3]*, Akram Eidi[1]

1- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
3- Department of Physiology, Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

The purpose of this research is to investigate the antioxidant effect of turmeric and melatonin in three tissues of brain, liver and kidney under the same stressful conditions. For this purpose, 40 male Wistar rats were kept in different conditions to induce the desired stresses. Stresses include: food restriction, change of roommate and observation in conditions of having and not having turmeric and melatonin antioxidants. The rats were kept for 10 weeks in the defined conditions for each group, and after the completion of the period, the level of glutathione present in the homogenate of the brain, liver and kidney tissues was evaluated. At first, to ensure the induction of stress, the amount of glutathione and malondialdehyde was measured and compared to the control group. The result indicated the increase of glutathione and malondialdehyde and in fact the induction of stress. The general result indicates the effectiveness and protective effect of turmeric and melatonin in inhibiting oxidative stress in all three mentioned tissues, but this effectiveness is not seen in all three tissues with the same intensity. Contrary to the fact that turmeric was able to reduce the level of malondialdehyde and prove its antioxidant role in all three tissues of the brain, liver and kidney, it could not show its antioxidant role well in the liver tissue and the amount of glutathione did not decrease. Unlike turmeric, melatonin was able to show its antioxidant role in liver tissue cells better than in brain and kidney tissue, so that it was able to reduce the level of glutathione in these two tissues. Therefore, antioxidants probably have different functions in different tissues.

Keywords: Turmeric, Melatonin, Oxidative Stress, Malondyaldeheid, Glutathione.