

تأثیر عصاره الکلی برگ زیتون بر آسیب ایسکمی - بازخونسازی کلیوی در موش‌های صحرائی نر بالغ

محمد رضا نصیرزاده*^۱، میرعلیرضا نورآذر^۲، لایلا روشنگر^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، استادیار گروه فیزیولوژی، تبریز، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، استادیار گروه فیزیولوژی، تبریز، ایران.

۳- دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشیار بافت‌شناسی دانشکده پزشکی، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: mr.nasirzadeh@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۲/۹/۹ پذیرش نهایی: ۹۳/۴/۳)

چکیده

ایسکمی-بازخونسازی با درجات مختلف در پیوند کلیه دیده می‌شود. مطالعات چندی نشان داده‌اند که ایسکمی-بازخونسازی می‌تواند باعث آسیب حاد کلیوی گردد. بیماری‌های کبدی و اختلالات عصبی مرتبط با آسیب کلیوی یک مشکل بالینی معمول است. برگ زیتون یک منبع سرشار از ترکیبات فنلی است که به لحاظ بیولوژیکی فعال هستند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و قدرت پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد را دارند. در این مطالعه تعداد ۵۰ سر موش صحرائی نر به‌طور تصادفی به ۵ گروه مساوی شامل: گروه کنترل: حیوانات سالم دست نخورده، گروه یک: ایسکمی-بازخونسازی به مدت ۶۰ دقیقه و دریافت عصاره برگ زیتون، گروه دو: گروه ایسکمی-بازخونسازی به مدت ۶۰ دقیقه، گروه سه: گروه ایسکمی-بازخونسازی به مدت ۱۲۰ دقیقه و دریافت عصاره برگ زیتون و گروه چهار: گروه ایسکمی-بازخونسازی به مدت ۱۲۰ دقیقه تقسیم شدند. حیوانات گروه‌های یک و سه عصاره را به‌صورت محلول در ۰/۵ میلی‌لیتر آب آشامیدنی از طریق گاواژ و به مدت ۳۰ روز با دوز ۱۰۰ mg/kg دریافت کردند. حیوانات سایر گروه‌ها هم‌حجم عصاره، نرمال سالین را از طریق گاواژ دریافت کردند. در پایان دوره، سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و نیز سطح ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و مالون‌دی‌آلدنید (MDA) در بافت کلیه اندازه‌گیری شد. تجویز عصاره برگ زیتون توانست سطح TAC و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان GPX و SOD را در گروه‌های یک و سه به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های دو و چهار افزایش دهد. هم‌چنین سطح آنزیم MDA در بافت کلیه گروه‌های تیمار شده با عصاره برگ زیتون در مقایسه با گروه‌های ایسکمی-بازخونسازی به‌طور معنی‌داری پائین‌تر بود ($P < 0/05$). این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی عصاره برگ زیتون اثرات محافظت‌کنندگی در برابر آسیب ناشی از ایسکمی-بازخونسازی دارد.

کلید واژه‌ها: آسیب ایسکمی-بازخونسازی، کلیه، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، موش صحرائی.

مقدمه

مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژی که به آسیب حاد کلیوی منجر می‌شوند، به‌طور کامل شناخته نشده‌اند. اما یکی از علل اصلی نارسایی حاد کلیوی، ایسکمی-بازخونسانی کلیوی است. بیماری‌های کبدی و اختلالات نورولوژیکی مرتبط با آسیب کلیوی یک مشکل بالینی معمول است (Kurcer *et al.*, 2007). به عنوان مثال در پی کاهش جریان خون به کلیه به دنبال خونریزی یا قطع کامل جریان خون در حین عمل پیوند کلیه، این وضعیت اتفاق می‌افتد. ایسکمی-بازخونسانی مجدد با درجات مختلف در پیوند کلیه دیده می‌شود و مطالعات چندی نشان داده‌اند که می‌تواند باعث آسیب حاد کلیوی گردد (Esposito, 2011; Nahed, 2011). علت اصلی عملکرد تاخیری بافت کلیه به دنبال پیوند، آسیب ایسکمی-بازخونسانی می‌باشد. هر چه میزان آسیب اولیه در اثر ایسکمی-بازخونسانی بیشتر باشد، احتمال رد پیوند یا اختلال در عملکرد آن افزایش می‌یابد. بنابراین، کاهش در آسیب اولیه منجر به نتیجه بهتر برای بقا پیوند می‌شود. ایسکمی و به دنبال آن خونرسانی مجدد با تولید رادیکال‌های آزاد موجب آسیب شدید اکسیداتیو در بافت‌ها می‌شود، اگرچه برای بقاء بافت کلیوی ایسکمیک، خونرسانی مجدد ضروری است (Dun-xian *et al.*, 2005; Hidehisa *et al.*, 2002). والکر و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش کرده‌اند که رادیکال‌های اکسیژن میانجی‌های مهم آسیب در طی ایسکمی-بازخونسانی کلیوی هستند (Walker *et al.*, 2001). کوزیراکی در سال ۲۰۰۸ نشان داد که در روند انتقال کلیه، ایسکمی یک پدیده غیرقابل اجتناب است و در

مرحله نهایی دوره خونرسانی مجدد اتفاق می‌افتد (Kosieradzki *et al.*, 2008). به‌طور کلی، آسیب خونرسانی مجدد به‌صورت یک پاسخ التهابی نسبت به استرس اکسیداتیو شناخته می‌شود (Lee and Lee, 2002; Nuria *et al.*, 2010). اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروزدهنده توموری (TNF- α) به عنوان سیتوکین‌های پیش التهابی هستند که پس از پیوند عضو، نقش مهمی در آسیب ایسکمی-بازخونسانی دارند (Hidehisa *et al.*, 2002).

برگ زیتون یک منبع سرشار از ترکیبات فنلی است که به لحاظ بیولوژیکی فعال هستند و ظرفیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و قدرت پاک‌کنندگی رادیکالی بهتری دارند (Lee *et al.*, 2009; Seyd, 2010).

همچنین، ترکیبات فنلی مشتق از برگ زیتون با داشتن مقادیر قابل توجهی اولئوروپین (Oleuropein) از اکسیداسیون لیپوپروتئینی جلوگیری می‌کنند (Seyd, 2010).

گیاهان دارویی به علت سهولت دسترسی، عوارض جانبی اندک و صرفه اقتصادی، امروزه مورد توجه محققین بوده و می‌توانند جایگزین‌های شایسته داروهای صناعی باشند.

برگ درخت زیتون به عنوان داروی شفابخش باستانی در کشورهای اروپایی و مدیترانه استفاده می‌شود و در رژیم غذایی به‌صورت عصاره و چای گیاهی قابل مصرف است. به نظر می‌رسد عصاره برگ زیتون با داشتن ترکیبات فنلی می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد استفاده قرار گیرد (Lee and Lee, 2010).

با توجه به اینکه تاکنون در این زمینه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. لذا هدف از انجام این مطالعه ارزیابی

اوپراتور، باقیمانده به عنوان عصاره آماده شد (Eidi et al., 2012).

در گروه‌های ۱ و ۳ حیوانات عصاره برگ زیتون را به مدت ۳۰ روز قبل از ایسکمی و به میزان ۱۰۰ mg/kg از راه خوراکی و از طریق گاوآژ دریافت کردند (Mohaghegi et al., 2011). حیوانات گروه‌های ۲ و ۴ همحجم عصاره (۰/۵ میلی‌لیتر) سرم فیزیولوژی از طریق گاوآژ دریافت کردند.

در پایان دوره تجویز عصاره، حیوانات گروه‌های مورد مطالعه تحت بیهوشی مورد جراحی (برش در خط وسط شکم و دسترسی به کلیه‌ها پس از کنار زدن چربی‌های دور کلیه) قرار گرفته و پس از دسترسی به عروق کلیوی ایسکمی-خونرسانی دو طرفه با استفاده از گیره رگی غیرتروماتیک در نزدیکی ناف کلیه ایجاد و پس از یک ساعت ایسکمی کلیوی دوره پرفوزیون آغاز گردید (Manuela et al., 2003; Nahed, 2011). به ترتیب در گروه‌های ۱ و ۲ به دنبال یک ساعت ایسکمی، یک ساعت خونرسانی مجدد انجام گرفت. در گروه‌های ۲ و ۴ به دنبال یک ساعت ایسکمی، دو ساعت خونرسانی مجدد صورت گرفت (Kurcer et al., 2007; Ersoz et al., 2009).

جهت ایجاد بیهوشی از داروهای بیهوشی کتامین به میزان ۴۰ mg/kg و وزن بدن و زایلازین ۱۰ mg/kg وزن بدن و به صورت داخل صفاقی استفاده شد (Syed, 2010). در پایان خونرسانی مجدد نمونه‌های بافت کلیه اخذ شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی

فراسنجه‌های بیوشیمیایی با استفاده از کیت تجاری Randox ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شدند.

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

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 20 ± 250 گرم به صورت تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی مساوی تقسیم شدند. موش‌های صحرایی هر ۵ گروه از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز تهیه و در آن مرکز در شرایط یکسان با دسترسی آزاد به آب و غذا و در سطحی با دمای 21 ± 2 درجه سلسیوس و چرخه نوری ۱۲/۱۲ روشنایی-تاریکی نگهداری شدند. حیوانات در ۵ گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل: حیوانات سالم دست نخورده
گروه ۱: گروه ایسکمی-خونرسانی مجدد به مدت ۶۰ دقیقه به علاوه دریافت عصاره برگ زیتون
گروه ۲: گروه ایسکمی-خونرسانی مجدد به مدت ۶۰ دقیقه
گروه ۳: گروه ایسکمی-خونرسانی مجدد به مدت ۱۲۰ دقیقه به علاوه دریافت عصاره برگ زیتون
گروه ۴: گروه ایسکمی-خونرسانی مجدد به مدت ۱۲۰ دقیقه (Kurcer et al., 2007; Nahed, 2011).

عصاره‌گیری

جهت تهیه عصاره برگ زیتون، مقدار معینی برگ زیتون تازه تهیه و پس از خشک شدن آسیاب گشته سپس با استفاده از هگزان و متانول عصاره‌گیری انجام گرفت. پس از تبخیر حلال با استفاده از دستگاه روتاری

سوپراکسید دیسموتاز (SOD):

در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز جهت تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌شود. این رادیکال‌ها با I.N.T یا 3-(4-nitrophenol)-5-phenyl-2-(iodophenyl) tetrazolium chloride واکنش می‌دهند و رنگ قرمز فورمازون تولید می‌شود که در طول موج ۵۰۵ nm اندازه‌گیری می‌شود.

اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز (GPX):

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) را توسط کومن هیدروپراکسید (Cumene Hydroperoxide) کاتالیز می‌کند. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) مجدداً به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود که این احیاء با اکسیداسیون همزمان ADPH به NADP+ همراه است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود.

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC):

ABTS (2, 2-Azino-di-{3-ethylbenzthiazoline } sulphonate) با یک پراکسیداز و آب اکسیژنه مجاور می‌شود تا رادیکال‌های ABTS+ را تولید کند. این ماده رنگ آبی-سبز دارد که در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه تولید این رنگ را تضعیف می‌کنند (Kurcer et al., 2007).

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA):

اساس اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی، بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBARS)، اندازه‌گیری جذب با روش

اسپکتروفتومتری و مقایسه با منحنی استاندارد می‌باشد (Somi et al., 2009).

اندازه‌گیری پروتئین بافتی

غلظت تام پروتئین با استفاده از روش برد فورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976).

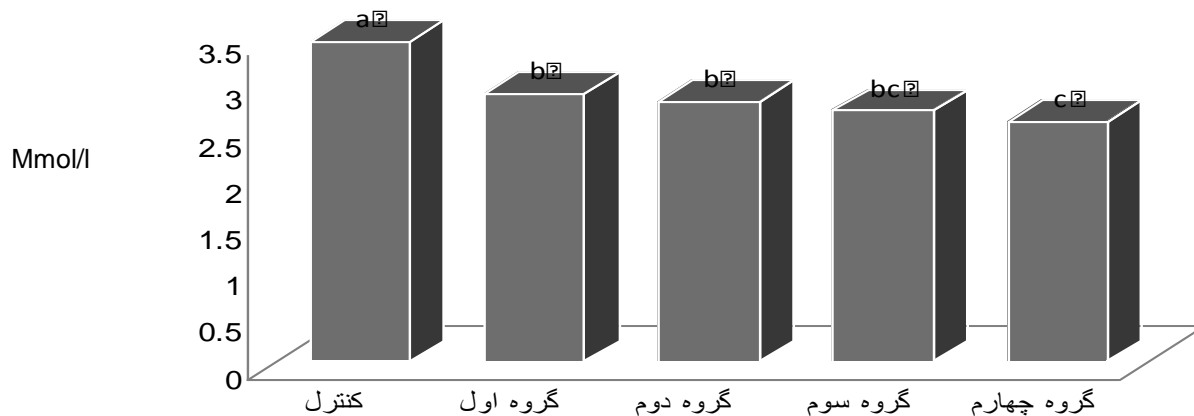
تحلیل آماری

در این مطالعه داده‌های به‌دست آمده با استفاده از روش آماری آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و پس‌آزمون دانکن (Duncan) تجزیه و تحلیل گردید و سطح معنی‌دار ($p < 0.05$) در نظر گرفته شده است. میانگین میزان سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت کلیه حیوانات مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است.

یافته‌ها

مقایسه میانگین سطح ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان داد که بین گروه کنترل با سایر گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$) (نمودار ۱). هم‌چنین مشخص گردید بین گروه دو با چهار اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.05$) اما بین گروه یک با گروه سه اختلاف معنی‌داری دیده نشد (نمودار ۱).

TAC

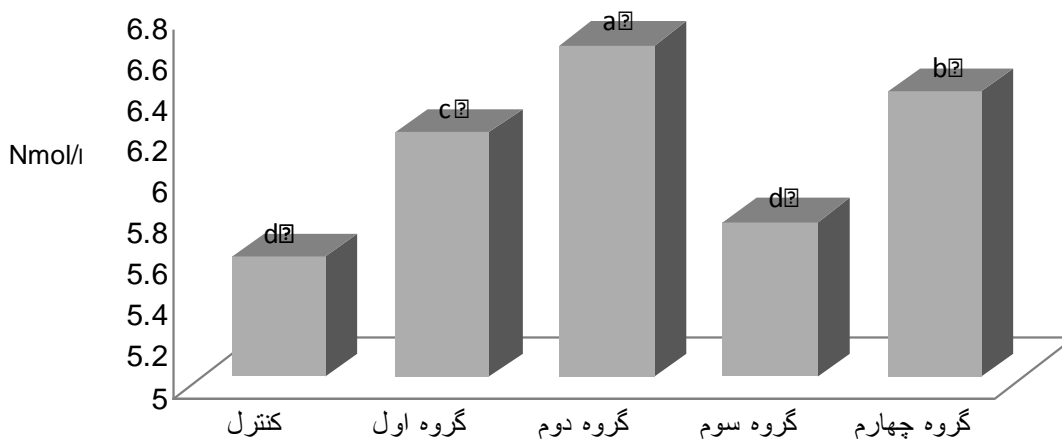


نمودار ۱- مقایسه میانگین سطح ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (Mean±SEM) حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

دارد ($P < 0.05$) (نمودار ۲). هم‌چنین مشخص گردید بین گروه یک با دو و نیز بین گروه سه با چهار تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$) (نمودار ۲).

مقایسه میانگین سطح مالون‌دی‌آلدئید در بافت کلیه حیوانات مورد مطالعه مشخص نمود که بین گروه کنترل با گروه‌های یک، دو و چهار تفاوت معنی‌داری وجود

MDA



نمودار ۲- مقایسه میانگین سطح مالون‌دی‌آلدئید در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (Mean±SEM) حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

اما بین گروه کنترل با گروه‌های یک و سه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (نمودار ۳).

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت کلیه گروه کنترل در مقایسه با گروه‌های دو و چهار به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$) (نمودار ۳).

SOD



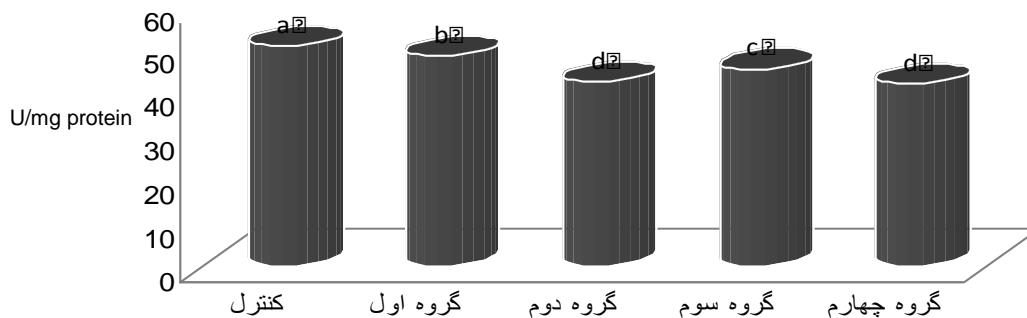
۳- مقایسه میانگین سطح سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (Mean±SEM)

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

مشخص گردید که میزان فعالیت این آنزیم در بافت کلیه حیوانات گروه یک به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه سه است ($P < 0.05$) (نمودار ۴). اما بین گروه دو با گروه چهار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (نمودار ۴).

واکاوی آماری نتایج به‌دست آمده نشان داد که از نظر فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز در بافت کلیه بین گروه کنترل با بقیه گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$) (نمودار ۴). هم‌چنین

GPX



■ GPX

نمودار ۴- مقایسه میانگین سطح گلوکوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (Mean±SEM)

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که یک ساعت ایسکمی و به دنبال آن ۲-۱ ساعت باز خونرسانی موجب اختلال در عملکرد کلیوی می شود. تیمار موش های صحرایی با عصاره برگ زیتون به مدت ۳۰ روز از راه خوراکی می تواند فعالیت کلیوی را بهبود بخشد و باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان بافت کلیوی گردد (Rafighdost et al., 2013). یکی از دلایل آسیب ایسکمی-بازخونرسانی اختلال در مکانیسم های محافظتی آنتی اکسیدان ها در زمان خونرسانی مجدد می باشد (Ozlem et al., 2013).

عصاره برگ زیتون حاوی آنتی اکسیدان های شناخته شده از قبیل اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول، اسید کافئیک و تیروزول است که اولئوروپین و هیدروکسی تیروزول با داشتن ویژگی های آنتی اکسیدانی قوی قادرند گونه های اکسیژن واکنشی را پاک و سیستم آنتی اکسیدانی کلیه را تقویت کنند (بیرانوند و همکاران، ۱۳۸۹; Sache and Wolf, 2007). بنابراین، به نظر می رسد آنتی اکسیدان های موجود در عصاره برگ زیتون می توانند از آسیب کلیوی ایجاد شده در اثر ایسکمی-باز خونرسانی بکاهند.

اولئوروپین ترکیب اصلی برگ زیتون است که تصور می شود مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی آن باشد. بیشتر مطالعات روی ترکیبات فنلی برگ زیتون متمرکز شده-اند. در حالی که، به دلیل وجود اثر هم افزایی بین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و اولئوروپئوزیدها خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره تام برگ زیتون بیشتر است. چنانچه نشان داده شده است که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره تام برگ زیتون از ویتامین C و E بیشتر است.

آنتی اکسیدان ها در حیات انسان نقش مهم و اساسی ایفا می کنند به طوری که مصرف آنتی اکسیدان ها با کاهش خطر بیماری های قلبی، دیابت و دیگر بیماری های مرتبط با پیری از قبیل سرطان همراه است (Dekanski et al., 2011; Ozlem et al., 2013).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره برگ زیتون به طور معنی داری سطح مالون دی آلدئید را در بافت کلیه کاهش می دهد. چنانچه بین گروه یک با دو و گروه سه با چهار تفاوت معنی داری وجود داشت. این آنزیم فرآورده نهایی تشکیل رادیکال های آزاد و پراکسیداسیون چربی و نیز شاخصی از آسیب ناشی از اکسیژن واکنشی می باشد (Somi et al., 2009). تولید مالون دی آلدئید حاصل عدم تعادل بین سیستم های تولید و پاک کننده رادیکال های آزاد است که به آسیب غشا سلول یا DNA منجر می شوند (Maccord, 2000). اکسیژن واکنشی پروتئین ها، کربوهیدرات ها و چربی ها را تغییر می دهد و انتقال دهنده ها و آنزیم ها را غیرفعال نموده و به سیستم نسخه برداری و DNA آسیب می زند. هم چنین زنجیره ای از واکنش ها را آغاز می کند که موجب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپیدهای غشا می شود (Somi et al., 2009). نتایج این تحقیق نشان می دهد که تجویز عصاره برگ زیتون می تواند بافت کلیه حیواناتی را که دچار ایسکمی-بازخونرسانی می شوند، در برابر پراکسیداسیون لیپیدی محافظت نماید. این یافته با مطالعه توفای و همکاران در سال ۲۰۱۰ همخوانی دارد (Tavafi et al., 2010).

از بررسی آماری داده های به دست آمده در این مطالعه مشخص گردید که سطح ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در بافت کلیه حیوانات گروه دو به طور معنی داری نسبت به

این مطالعه نشان داد که از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز بین گروه کنترل با گروه‌های دو و چهار تفاوت معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین مشخص گردید در مورد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل با گروه‌های یک و سه وجود ندارد. به عبارتی عصاره برگ زیتون توانسته است فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره تا حد حیوانات سالم افزایش دهد.

نتایج مطالعه حاضر مشخص نمود که از نظر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بین گروه کنترل با سایر گروه‌های مطالعه شده تفاوت معنی‌داری وجود دارد. به عبارتی ایسکمی-بازخونسازی توانسته است سطح فعالیت آنزیم مورد نظر را در مقایسه با حیوانات سالم کاهش دهد. با تجویز عصاره برگ زیتون به شیوه خوراکی میزان فعالیت این آنزیم بهبود یافته است اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهمی هستند که در پاک کردن سوپراکسید و آب اکسیژنه شرکت می‌کنند و بدین ترتیب در حفظ ساختار و فعالیت بیولوژیکی غشاها موثرند (Mccord, 2000). فعالیت پائین سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های صحرایی پیر ممکن است ناشی از تولید بیش از حد گونه اکسیژن واکنشی باشد (Huang et al., 2005). این نتایج در توافق با مطالعات دیگر نشان داد که در اثر ایسکمی و خونرسازی مجدد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش می‌یابد.

در مطالعات مشابهی اثرات محافظت‌کنندگی مواد آنتی‌اکسیدان در آسیب ایسکمی-خونرسازی مجدد

گروه چهار که روند ایسکمی-خونرسازی مجدد را به مدت ۱۲۰ دقیقه تحمل کرده‌اند، بالاتر است. هم‌چنین مشخص گردید که بین گروه‌های یک با گروه سه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. اما بین گروه یک با گروه چهار تفاوت معنی‌دار دیده شد که نشانگر اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون در بافت کلیه ایسکمیک می‌باشد. هم‌چنین میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه حیوانات گروه‌های یک و سه که عصاره برگ زیتون دریافت کرده بودند به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های دو و چهار بالاتر بود.

شواهدی وجود دارد که آنژیوتانسین II در تحریک تولید گونه‌های داخل سلولی فعال اکسیژن همانند آنیون سوپراکسید و هیدروژن پراکسید نقش دارد. این گونه‌ها باعث آسیب کلیوی می‌شوند. استرس‌های اکسیداتیو می‌توانند منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و یا کاهش توانایی در مهار این گونه‌ها گردند. بنابراین، در غشا لیپیدی، گونه‌های فعال اکسیژن به اسیدهای چرب غیراشباع متصل شده و باعث تغییرات ساختاری و عملکردی سلول می‌شوند. به دنبال خونرسازی مجدد عدم تعادل ایجاد شده در اکسیژن رسانی و عملکرد تنفسی موجب تولید مقادیر فراوان آنیون سوپراکسید در میتوکندری می‌گردد (Tavafi et al., 2010). این ترکیبات موجب آسیب در سلول‌های اپیتلیال توبول‌های کلیوی و القا آپوپتوز در آن‌ها می‌شوند. علاوه بر این مطالعات نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند رادیکال‌های آزاد را پاک نمایند. لذا، قادرند در آسیب ناشی از ایسکمی-بازخونسازی اثرات محافظتی داشته باشند (Seth et al., 2000; Sadeghian et al., 2005).

محافظت نماید، هرچند برای تعمیم نتایج در انسان و شناخت مکانیسم اثر ترکیبات مختلف آن نیاز به مطالعات بیشتری است.

سپاسگزاری

این مقاله از طرح تحقیقاتی که با بودجه پژوهشی و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است، استخراج شده است.

گزارش شده است (Korkmaz and Kolinsky, 2009; Walker *et al.*, 2001).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز خوراکی عصاره برگ زیتون شاخص‌های آسیب ایسکمی-بازخونسازی کلیوی را در موش‌های صحرایی نر بالغ به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهد. به عبارتی دیگر، این عصاره قادر است بافت کلیه را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از روند ایسکمی-بازخونسازی

منابع

- بیرانوند، ا.، رسولیان، ب.، علیرضایی، م.، هاشمی، پ.، پیله‌وریان، ع. و عزت‌پور، ب. (۱۳۸۸). کاهش نسبی آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین در موش‌های صحرایی از طریق پیش‌درمانی با عصاره برگ زیتون. یافته، دوره ۱۱، شماره ۵، صفحات: ۴۴-۳۵.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Dun-Xian, T., Lucien, C.M., Rosa, M.S., Juan, C.M., Josefa, L. and Russel, J.R. (2005). Physiological Ischemia/Reperfusion phenomena and their relation to endogenous melatonin production. *Endocrine*, 27(2): 149-157.
- Dekanski, D., Ristic, S., Radonjic, N.V., Petronigevic, N.D., Dekanski, A. and Irovic, D.M. (2011). Olive leaf extract modulates cold restraint stress-induced oxidative changes in rat liver. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(9): 1207-1218.
- Eidi, A., Eidi, M. and Darzi, R. (2012). Antidiabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 23(3):347-50.
- Ersoz, N., Guven, A., Cayci, T., Uysal, B., Turk, E. and Oztas, E. (2009). Comparison of the efficacy of melatonin and 1400W on renal ischemia/reperfusion injury: a role for inhibiting iNOS. *Renal Failure*, 31(8): 704-710.
- Esposito, C., Grosien, F., Torreggiani, M., Esposito, V., Manqione, F. and Villa, Fetal. (2011). Sirolimus prevents short-term renal changes induced by ischemia-reperfusion injury in rats. *American Journal of Nephrology*, 33(3): 239-249.
- Hidehisa, K., Sugitani, A., Yamamoto, H., Otomo, N., Okabe, Y., Inoue, S., *et al.* (2002). Attenuation of renal ischemia reperfusion injury by FR167653 in dogs. *Surgery*, 131: 654-662.
- Huang, S.Z., Luo, Y.J., Wang, L., *et al.* (2005). Effect of ginkgo biloba extract on livers in aged rats. *World Journal of Gastroenterology*, 11(1): 132-135.
- Kosieradzki, M. (2008). Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention. *Transplantation Proceedings*, 40(10): 3279-3288.

- Kurcer, A., Elif, O., Hatice, O., Fusun, B., Nurten, A., Hakim, E.Z., *et al.* (2007). Melatonin protects from ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats: this effect is not mediated by pro-inflammatory cytokines. *Journal of Pineal Research*, 43(2): 172-178.
- Korkmaz, A. and Kolinsky, D. (2009). The protective effects of ascorbic acid against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Renal Failure*, 31(1): 36-43.
- Lee, O.H. and Lee, B.Y. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101(10): 3751-3754.
- Lee, O.H., Lee, B.Y., Lee, J., Lee, H.B., Son, J.Y., Park, C.S., *et al.* (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100(23): 6107-6113.
- McCord, J.M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative Stress. *American Journal of Medicine*, 108(8): 652-659.
- Mohagheghi, F., Bigdeli, M.R., Rasoulia, B., Hashemi, P. and Pour, M.R. (2011). The neuro-protective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. *Phytomedicine*, 18(2-3): 170-175.
- Manuela, A., Juan, C., Raffaella, M., Maria-Giulia, P., Francesca, R., Giuseppe, P., *et al.* (2003). Oxidative stress and kidney dysfunction due to ischemia/reperfusion in rat: Attenuation by dehydroepiandrosterone. *Kidney International*, 64: 836-843.
- Nahed, S. (2011). Effects of renal ischemia reperfusion on brain, liver & kidney tissues in adult male rats. *Life Science Journal*, 8(1): 204-212.
- Núria, L., Juan, T., Immaculada, H., Josep, M.C., Marta, R., Isabel, H., *et al.* (2002). Post ischemic renal oxidative stress induces an inflammatory response through PAF and oxidized phospholipids: prevention by antioxidant treatment. *The FASEB Journal*, 16(8):908-10.
- Özlem, S., Aslan, T. and Tülay, A.Ç. (2013). Antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of extracts from medicinal plant *Euphorbia platyphyllos* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(19): 1293-1304.
- Rafighdoost, H., Tavafi, M., Jafari pour L. (2013). Effect of Olive Leaf Extract in Inhibition of Renal Ischemia-Reperfusion Injuries in Rat. *Anatomical Science*, 10(3): 44-49.
- Syed H.O. (2010). Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Scientia Pharmaceutica*, 30; 78(2): 133-154.
- Syed H.O. (2010). Cardio protective and neuro-protective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18(3): 111-121.
- Sadeghnia, H.R., Boroushaki, M.T. and Mofidpour, H. (2005). Effect of safranal on lipid peroxidation level during renal ischemia-reperfusion injury in rat. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 8: 179-185.
- Seth, P., Kumari, R., Madhavan, S. and Singh, A. (2000). Prevention of renal ischemia-reperfusion-induced injury in rats by picroliv. *Biochemical Pharmacology*, 59: 1315-1322.
- Somi, M.H., Hajipour, B., Asl, N.A., Estakhri, R., Azar, A.N., Zade, M.N., *et al.* (2009). Pioglitazone Attenuates Ischemia/Reperfusion-Induced Liver Injury in Rats. *Transplantation Proceedings*, 41: 4105-4109.
- Tavafi, M., Ahmadvand, H. and Toolabi, P. (2010). Inhibitory effect of olive leaf extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Iranian Journal Kidney Disease*, 6: 25-32.
- Sachse, A. and Wolf, G. (2007). Angiotensin II-induced reactive oxygen species and the kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18: 2439-2446.
- Walker, L.M., Lyndal, Y.J., Syed, Z.I., Syed, F.A., Kenneth L.M. and Mayeux, P.R. (2001). Oxidative Stress and Reactive Nitrogen Species Generation during Renal Ischemia. *Toxicological Sciences*, 63: 143-148.

Effect of olive leaf alcoholic extract on renal ischemia/reperfusion injury in adult male rats

Nasirzadeh, M.R.^{*1}, Nourazar, A.R.², Roshangar, L.³

1- Assistant Professor, Department of Physiology, College of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Physiology, College of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3- Associate Professor of Histology, Department of Histology, Faculty of Medicine, University of Medical Science, Tabriz, Iran.

*Corresponding author email: mr.nasirzadeh@iaut.ac.ir

(Received: 2013/11/30 Accepted: 2014/6/24)

Abstract

Ischemia-reperfusion (I/R) is present at various degrees in kidney transplants. Several studies suggest that renal ischemia reperfusion (RIR) can induce acute kidney injury. Liver diseases and neurological disorders related to kidney injury is a common clinical problem. Olive leaf is a significant source of bioactive phenolic compounds. They have better antioxidant capacity, anti-inflammatory and radical scavenging. In this study 50 male rats were allocated randomly into 5 groups: control (intact animals), group-1(I/R 60min+olive leaf extract), group-2 (I/R 60min), group-3(I/R 120min+olive leaf extract)and group-4(I/R 120min).The animals received 100 mg/kg olive leaf extract in 0.5 ml drinking water using gavage for 28 days. Other animals received 0.5 ml normal saline by gavages. At the end of the treatment, the level of antioxidant enzymes including TAC, MDA, SOD and GPX were determined in renal tissue. Administration of olive leaf extract can significantly increase activity of TAC, GPX and SOD in group1and 3compared with group2and4. Also, MDA level in renal tissue of treated groups was significantly lower than ischemia-reperfusion groups ($p<0.05$). This study showed that olive leaf extract has protective effects against renal ischemic-reperfusion injury.

Key words: Ischemic-reperfusion injury, Kidney, Antioxidant enzymes, Rat