بررسی اثرات عصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو بر میزان ترشح اسید و تغییرات اکسیداتیو معدی به دنبال آسیب ایسکمی– رپرفیوژن معدی در موش‌های صحرایی نر

زکیه کشاورزی [۱و۲](Ph.D)، مهسا کوثری [۳](M.D Student)، مسعود نظری [۴](M.D)، مرتضی بهنام‌فر [۳](M.D Student)، رضا عزیزی [۳](M.D Student)، امیررضا خوش‌نیت [۳](M.D Student)، کارو ثروت یاری [۵](M.D Student)، فرزانه شاکری [۱و۲*](Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۲- گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۳- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۴- گروه رادیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۵- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۸-۳۱۵۱۳۰۵۱ F_1366_Sh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۹

چکیده

هدف: گردو دارای خواص ضد التهابی و ضد اکسیدانی می‌باشد. از این‌رو در این مطالعه اثرات عصاره الکلی پوسته داخلی مغزگردو بر میزان ترشح اسید و تغییرات اکسیداتیو معدی به دنبال آسیب ایسکمی- رپرفیوژن معدی در موش‌های صحرایی نر بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۴ گروه ۱۰ تایی شامل کنترل (دست نخورده)، گروه آسیب ایسکمی- پرفیوژن مجدد، گروه عصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو با دوز ۲۰mg/kg و ۵۰mg/kg تقسیم شدند. در هر گروه میزان اسید معده، مقادیر سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون دی آلدئید، تیول بافت معدی و هم‌چنین تغییرات بافتی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد القا ایسکمی- پرفیوژن مجدد موجب کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، تیول و اسید معده و افزایش مالون دی آلدئید شد. درمان با عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو، میزان اسید معدی و میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را به طور معناداری افزایش و مقادیر مالون دی آلدئید و تیول را کاهش داد. نتایج هیستوپاتولوژیکی نیز نشان داد که عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو باعث بازسازی بافتی و سلولی شد. تفاوت معنی‌داری بین دو دوز عصاره وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ایسکمی- رپرفیوژن باعث آسیب معده در موش‌های صحرایی می‌شود و درمان با عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو می‌تواند در پیشگیری از عوارض ناشی از ایسکمی معده موثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: پوسته داخلی مغز گردو، آسیب ایسکمی- رپرفیوژن، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون دی آلدئید، تیول، ترشح اسید، موش صحرایی نر

مقدمه

مخاط دستگاه گوارش یکی از اجزاء مهم در دفاع در مقابل اثرات مضر می‌باشد [۱]، به نحوی‌که موکوس معدی به علت محتوای بالای گلیکوپروتئین آن، واجد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بوده که همراه با یون‌های بی‌کربنات نقش مهمی در محافظت مخاط معدی به دنبال آسیب ایسکمی- پرفیوژن مجدد (I/R) دارد [۲]. آسیب ایسکمی- پرفیوژن مجدد (I/R) که اغلب در پاتولوژی‌های جراحی در شرایط شوک مانند هموراژی، سوختگی، تروما، عفونت و یا در فتق‌های مخفی و در چسبندگی‌های فیبروزی ایجاد می‌شود به این علت حائز اهمیت می‌باشد که سبب بروز پاسخ التهابی و آسیب بافتی می‌شود [۵]. دستگاه گوارش یکی از اولین بافت‌هایی است که تحت تأثیر کاهش پرفیوژن به دنبال شوک هموراژیک ناشی از کاهش جریان خون قرار می‌گیرد [۳].

پرفیوژن مخاط معدی یک فاکتور اساسی در توانایی مخاط جهت مقاومت در مقابل اثرات مضر است و مشخص شده که

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

فاکتورهای اصلی تولیدکننده‌ی آسیب القا شده با ایسکمی- رپرفیوژن، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعال‌سازی نوتروفیلی است [۱].

ایسکمی منجر به فعال‌سازی لوکوسیت‌ها گشته و نوتروفیل‌های فعال‌شده گونه‌های اکسیژنی واکنشی (ROS) را ترشح می‌کنند. این مشتقات اکسیژنی، توکسیک بوده و اثر مخرب بر بافت‌ها دارد [۴]. از سوی دیگر، نوتروفیل‌ها با تولید سیتوکین‌هایی مانند IL-1β که یک سیتوکین پیش‌التهابی در فرایند التهاب است، نقش اصلی را در تخریب بافت ایفا می‌کنند [۶].

در میان آنتی‌اکسیدان‌های بیولوژیک بافت که اکثراً مطالعه شده است، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) که یک آنزیم حاوی مس و روی است، اولین خط دفاعی در مقابل آسیب‌های میانجی شده با آنیون سوپراکسید می‌باشد و در دتوکسیفیه کردن پراکسیدهای اندوژن سهیم هستند [۷]. یکی دیگر از معیارهای استرس اکسیداتیو، مالونیل دی آلدهید (MDA) است که از شکسته شدن رادیکال‌های پیروکسیل لیپیدی ناشی می‌شود. بنابراین یک عدم تعادل بین عوامل محافظتی و توکسیک معدی، منجر به التهاب حاد و نقص انسجام مخاط معدی می‌گردد [۶،۸].

با توجه به شیوع بالای آسیب‌های گوارشی به دنبال ایسکمی، یک روش درمانی مناسب، مهار تشکیل مقادیر اضافی رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۹،۱۰]. تعداد زیادی از آنتی‌اکسیدان‌های ساختگی و صنعتی از جمله بوتیلات هیدروکسیانوزیل، بوتیلات هیدوکسی تولوئن و پروپیل گالات برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد استفاده می‌شوند. با این‌حال، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های ساختگی به‌واسطه‌ی ایجاد آسیب‌های کبدی و کارسینوژنز بودنشان با احتیاط انجام می‌شود. بنابراین تلاش زیادی شده است که بتوان از منابع گیاهی و طبیعی آنتی‌اکسیدان‌ها را استخراج کرد [۱۱].

گردو، یک ماده مغزی است که به دلیل غنی بودن مغز آن از اسیدهای چرب امگا- ۳، میزان کلسترول خون را پایین آورده و به حفاظت بدن در برابر امراض قلبی و سرطان کمک می‌کند [۱۲]. سطوح بالای آرژنین موجود در پوسته داخلی مغز گردو می‌تواند به نیتریک اکساید تبدیل و نیتریک اکساید با افزایش آزادسازی هورمون آزادکننده گنادوتروپین، بر روی محور هیپوتالاموس هیپوفیز بیضه اثر گذاشته و آزادسازی گنادوتروپ‌ها را افزایش دهد [۱۳].

در مطالعه‌ای، ثابت شده است که، ژوگلون موجود در برگ درخت گردو به عنوان عامل ضد سرطانی مؤثر در رابطه با مهار تشکیل تومورهای خوش‌خیم یا بدخیم روده‌ای در موش می‌باشد [۱۴]. اسکوآلن، ترکیب دیگری با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گردو می‌باشد که از پراکسید شدن لیپیدها جلوگیری می‌کند [۱۵].

مطالعه Kornsteiner و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد که گردو در مقایسه با دیگر مغزها، دارای مقادیر زیادی از ترکیبات فنولیک بوده که می‌توانند بازدارنده‌ی مناسبی در برابر اکسیداسیون LDL باشد [۱۶].

در مطالعات دیگر نشان داده شد که ترکیبات پیروگالول، وانیلیک اسید، پروتوکاتئوچیک اسید و اتیل گالات از مشتقات فنلی موجود در پوسته داخلی مغز گردو دارای بالاترین خاصیت آنتی‌کسیدانی می‌باشند. ترکیبات فنلی از اکسیداسیون لیپیدی و تولید محصولات اکسیداسیون مانند مالون دی آلدئید که باعث تغییر بو، رنگ و کاهش ارزش تغذیه‌ای و فساد مواد غذایی می‌شود، جلوگیری می‌نمایند [۱۷،۱۸].

فیتواسترول‌های موجود در گردو، دارای ساختاری مشابه با کلسترول هستند، عملکرد سیستم ایمنی را افزایش داده، کلسترول خون را کاهش می‌دهند و سبب کاهش بروز انواع خاصی از سرطان‌ها می‌شود [۱۹]. عصاره پوسته داخلی مغز گردو دارای خواص آنتی‌اکسیدانی وسیع بوده [۲۰] و در کاهش بیماری‌های عروق کرونر قلب و درمان امراض جلدی و فشارخون بالا مفید می‌باشد، هم‌چنین سبب افزایش لیپوپروتئین با وزن مولکولی بالا (HDL) و کاهش لیپوپروتئین با وزن مولکولی پایین (LDL) گشته و در درمان دیابت نوع ۲ و افزایش انعطاف‌پذیری عروق مؤثر می‌باشد [۲۱].

آسیب ایسکمی- رپرفیوژن معدی در واقع همراه با تغییراتی در سیستم استرس اکسیداتیو بوده و از طرف دیگر، پوسته داخلی مغز گردو حاوی ترکیبات مؤثری در کاهش این پاسخ می‌باشد، با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه صورت نگرفته است لذا هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین اثرات عصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو بر میزان ترشح اسید و تغییرات اکسیداتیو بافت معدی به دنبال آسیب ایسکمی- رپرفیوژن معدی در موش‌های صحرایی نر طراحی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط دمایی ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی ـ تاریکی ۱۲ ساعته در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی نگهداری شدند و آب و غذا آزادانه در اختیار آن‌ها قرار داشت. انجام این طرح تحقیقاتی توسط دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی با شماره ۹۳۴پ۹۵ مورد تأیید قرار گرفت و تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شدند. حیوانات به‌طور تصادفی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

به ۴ گروه که هر گروه شامل ۱۰ سر موش صحرایی است تقسیم شدند و در هر گروه میزان اسید معده، مقادیر سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون دی آلدئید و تیول بافت معدی اندازه‌گیری شد [۲۲].

گروه‌های تحت مطالعه شامل:

۱- گروه کنترل (intact)

۲- گروه آسیب ایسکمی- پرفیوژن مجدد: حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه تحت آسیب ایسکمی و سپس به مدت ۲۴ ساعت تحت پرفیوژن مجدد قرار گرفتند و شاخص‌های فوق در آن‌ها ارزیابی گردید.

۳- گروه عصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو با دوز ۲۰mg/kg: دقیقاً قبل از شروع ایسکمی و قبل از شروع پرفیوژن مجدد، پوسته داخلی مغز گردو با دوز ۲۰mg/kg به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

۴- گروه عصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو با دوز ۵۰mg/kg: دقیقاً قبل از شروع ایسکمی و قبل از شروع پرفیوژن مجدد، پوسته داخلی مغز گردو با دوز ۵۰mg/kg به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید [۲۳].

نحوه‌ی تهیه عصاره

مقدار ۳۰۰ گرم پوسته داخلی مغز گردو خشک شده در آسیاب برقی ریخته تا پودر شود. پودر خشک شده را در الکل ۹۶٪ به مدت حداکثر ۴۸ ساعت خیسانده و در طی این مدت چندین بار ظرف تکان داده شده تا الکل به راحتی تبخیر شود. سپس آن را صاف کرده و عصاره الکلی به دست آمده را در لوله آزمایش ریخته و در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۸ دقیقه قرار داده تا ذرات معلق در آن جدا شود. بعد از سانتریفیوژ مایع به دست آمده در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا شیره غلیظی باقی بماند. رسوبات خشک شده را وزن نموده تا وزن مقدار ماده حل نشده به‌دست آید و با کم نمودن از مقدار اولیه، وزن ماده حل شده محاسبه گردید [۲۳].

روش اجرا

روش ایجاد ایسکمی- رپرفوژیون

حیوان توسط تیوپنتال (۵۰mg/kg) به‌صورت IP بی‌هوش شده، یک برش طولی در خط وسط شکمی داده و سپس پوست، فاسیا و عضلات و احشای شکمی، کنار زده شد. سپس شریان سلیاک که شاخه‌ای از آئورت نزولی است از بافت‌های اطراف به‌دقت ایزوله گردید و توسط یک کلیپ میکرواسکولار مسدود گردید. سپس شریان به محل خود برگردانده و ناحیه برش داده شده به‌طور موقت بخیه زده شد. انسداد به مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت و پس از این مدت با لاپاراتومی مجدد کلیپ برداشته شده و گردش خون به مدت ۲۴ ساعت برقرار شد (رپرفوژیون) [۲].

اندازه‌گیری میزان اسید ترشح شده

۲۴ ساعت قبل از آزمایش حیوان از خوردن غذا محروم شد ولی دسترسی آزاد به آب وجود داشت. بعد از بی‌هوشی حیوان لاپاراتومی شده و با ایجاد سوراخی در دئودنوم، معده در دسترس قرار گرفت. برای اندازه‌گیری غلظت اسید معده از روش washout به‌مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. برای تهیه نمونه‌ها، ابتدا ۱ میلی‌لیتر از محلول سرم فیزیولوژی به داخل معده تزریق و پس از پایان ۱۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر از معده کشیده شد. اندازه‌گیری اسید نمونه‌ها، بلافاصله پس از جمع‌آوری در دمای آزمایشگاه و با استفاده از دستگاه تیتراتور دستی صورت گرفت [۲۴].

اندازه‌گیری تیول

ابتدا بافت معده را وزن کرده، سپس با KCl هموژن کرده و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰rpm سانتریفوژ شد. مایع رویی (سوپرناتانت) برداشته، تا برای اندازه‌گیری تیول, MDA و SOD استفاده شود [۲۵]. برای اندازه‌گیری تیول ابتدا یک سی‌سی بافر تریس در لوله آزمایش ریخته، سپس ۵۰ میکرولیتر از سوپر ناتانت برداشته و به آن اضافه گردید. سپس هر نمونه در کوت ریخته و جذبش با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۲nm خوانده شد. در نهایت، به نمونه‌ها و بلانک ۲۰ میکرولیتر محلول DTNB اضافه و ۱۵ دقیقه بعد، دوباره جذب بلانک و بقیه نمونه‌ها خوانده و یادداشت شد.

میزان تیول از فرمول زیر محاسبه گردید:

Thiol (mM) = (A2-A1-B) * 1.07/0.05 *13.6

اندازه‌گیری MDA

برای اندازه‌گیری MDA, یک سی‌سی از سوپرناتانت و دو سی‌سی از محلول TBA درون لوله‌های بزرگ ریخته و در لوله‌ها را با پارافیلم و فویل، محکم بسته شد. سپس لوله‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در آب جوشانده شد. در نهایت محلول به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۵۰۰rpm سانتریفوژ و جذب مایع رویی در ۵۳۵ nm خوانده شد و میزان MDA از فرمول زیر محاسبه گردید [۲۶]:

MDA (mmol/g tissue) = ab/1.56*10^5S

اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز

مقادیر این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت معده در مایع هموژن بافت معده به روش ELISA و طبق کیت‌های مربوطه بررسی گردید [۷].

ارزیابی هیستوپاتولوژیک

به منظور آماده‌سازی نمونه‌ها جهت مطالعه و بررسی هیستوپاتولوژیک آن‌ها، از محل ضایعه ماکروسکوپی مخاطی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

معده به همراه بخش کوچکی از ناحیه سالم نمونه کوچک ۵ سانتی‌متری از دیواره معده در گروه‌های کنترل و آزمایش جدا شد و پس از طی مراحل فیکساسیون، پاساژ بافتی و قالب‌گیری؛ مقاطع نازک ۵ میکرونی به‌وسیله میکروتوم دوار تهیه شد و به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی گردید. مقاطع تهیه شده به‌کمک سیستم مونیتورینگ Olympus CX41 مطالعه، آنالیز و عکس‌برداری گردید.

آنالیز هیستوپاتولوژیک نمونه‌ها با توجه به ساختار طبقات مخاط، زیرمخاط، عضلانی و سروزی از نظر آرایش غدد معدی، علائم اولسر و میزان خونریزی، میزان تخریب طبقه مخاطی و نیز بررسی تراکم سلول‌های حاشیه‌ای در واحد سطح (در وسعت ۰/۰۱ میلی‌متر مربع از بخش میانی تنه غدد معدی شمارش انجام شد).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

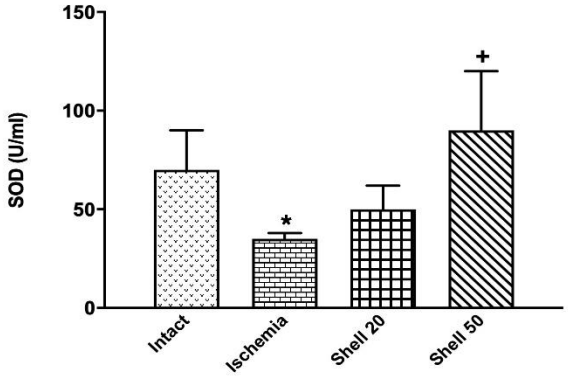
جهت آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS 15 استفاده گردید. نتایج به‌صورت Mean ± SEM شاخص‌ها در هر گروه بیان و به منظور اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرهای کمی از آزمون کولمیوگروف- اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه‌های چندگانه از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن از آزمون LSD و تست تعقیبی توکی استفاده شد. در همه مراحل، $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

به منظور رعایت ملاحظات اخلاقی و جلوگیری از زجر حیوانات، تمامی آن‌ها قبل از انجام اعمال جراحی بی‌هوش شده و سعی شد در حین کار با حیوانات همه اصول مطرح شده راجع به اخلاق پژوهش‌های حیوانی رعایت شود و مجوز کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه (کد ۹۳۴/پ/۹۵) برای کار روی حیوان‌ها اخذ گردید. در انتهای کار جهت حفظ اصول اخلاقی کار، حیوان با تزریق داخل قلبی KCl کشته شد.

نتایج

تغییرات سطح آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گروه‌های مختلف. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشت که معنادار بود ($P=0/042$، ۷/۳۵±۱۶/۱U/ml). هم‌چنین درمان با عصاره دوز ۲۰ و دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به گروه ایسکمی شد که در گروه درمان شده با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این افزایش معنادار نبود ($P=0/253$، ۲۲۷/۵۵±۴۳۹/۱۲ U/ml) ولی در گروه درمان شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنادار مشاهده شد ($P=0/02$، ۳۶/۹۶±۸۲/۲۳ U/ml) (شکل ۱).



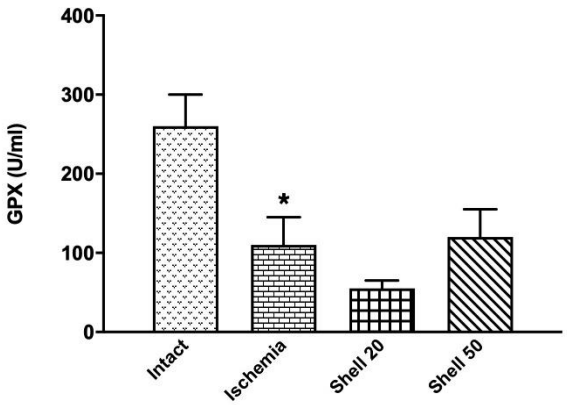
شکل ۱. تاثیرعصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در بافت معده موش های صحرایی دارای ایسکمی – رپرفیوژن القا شده . گروه کنترل، گروه ایسکمی (بدون درمان)، گروه ایسکمی+پوسته (۲۰ mg/kg) و گروه ایسکمی+پوسته(۵۰mg/kg). داده‌ها به صورت (Mean± SEM) گزارش شد. ۰,۰۵ >P* مقایسه گروه ایسکمی با گروه کنترل) و (۰,۰۱ >P+ مقایسه گروه درمان با گروه ایسکمی).

تغییرات سطح آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشت ($P=0/001$، ۴/۱۱۳±۴۷/۲۴U/ml) و در درمان با عصاره غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان فعالیت آنزیم GPX نسبت به گروه ایسکمی کاهش نشان می‌دهد که معنی‌دار نبود (P =۰/۳, U/ml ۱۱۴/۷۶±۱۵/۱۶) و در درمان با عصاره غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان فعالیت آنزیم نسبت به گروه ایسکمی افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود ($P=0/54$، ۵۲/۱۴۰±۰۶۵/۳۱ U/ml) (شکل ۲).

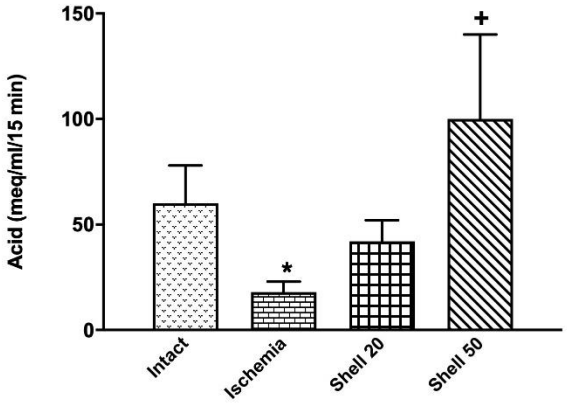
تغییرات غلظت اسید معدی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. در بررسی غلظت اسید معدی، همان‌طوری که در شکل ۳ مشاهده می‌شود غلظت اسید در گروه کنترل ۶۰/۷۱±۱۰/۹۸meq/ml/15min بود که بعد از القای ایسکمی این مقدار به ۲۰/۸۰±۴/۸۸ meq/ml/15min کاهش یافت که تفاوت قابل توجهی با گروه کنترل داشت و معنادار بود. ($P=0/045$) و به ترتیب درمان با دوز ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میزان اسید را نسبت به گروه ایسکمی افزایش داد که پوسته دوز ۵۰ با گروه ایسکمی تفاوت معنادار داشت (meq/ml/15min)(۱۰۶/۲۵±۳۲/۴۹، ($P=0/001$) ولی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

پوسته دوز ۲۰ در مقایسه با ایسکمی معنادار نشد (meq/ml/15min)(۴۳/۲۸±۷/۶۷، (*P*=۰/۳۰۴) (شکل ۳)



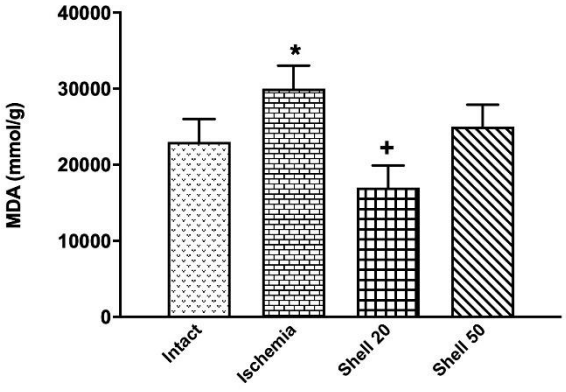
شکل ۲ تاثیرعصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در در بافت معده موش های صحرایی دارای ایسکمی–رپرفیوژن القا شده گروه کنترل، گروه ایسکمی (بدون درمان) ، گروه ایسکمی+پوسته (۲۰ mg/kg) و گروه ایسکمی + پوسته (۵۰mg/kg). داده‌ها به صورت (Mean± SEM) گزارش شد. (P< ۰,۰۱* مقایسه گروه ایسکمی با گروه کنترل)



شکل ۳ . تغییرات غلظت اسید معدی (mEq/ml/15 min)در گروه های مختلف. گروه کنترل، گروه ایسکمی(بدون درمان)، گروه ایسکمی+پوسته (۲۰mg/kg) و گروه ایسکمی+پوسته(۵۰mg/kg). داده‌ها به صورت (Mean± SEM) گزارش شد. (P< ۰,۰۵* مقایسه گروه ایسکمی با گروه کنترل) و(P< ۰,۰۱+ مقایسه گروه درمان با گروه ایسکمی)

تغییرات میزان مالون دی الدئید در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. همان‌طوری که در شکل ۴ مشاهده می‌شود سطح مالون دی آلدئید در گروه ایسکمی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنادار داشت. (*P*=۰/۰۳، ۳۱۳۲۵±۶۹/۱۸۴۷ mmol/g) و هم‌چنین سطح مالون دی آلدئید در گروه درمان با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (*P*=۰/۰۰۲، ۲۰۲۲۵±۹۹۶/۹۷ mmol/g) نسبت به گروه ایسکمی کاهش معناداری داشت. و در گروه درمان با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه ایسکمی افزایش داشت که معنادار نشده است. (*P*=۰/۱۱۲، mmol/g ۲۵۹۰۰±۹۶۱/۷۶), (شکل ۴).

شکل ۴. تاثیر عصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو بر تغییرات سطح مالون دی‌آلدئید در در بافت معده موش های صحرایی دارای ایسکمی-رپرفیوژن القاء شده. گروه کنترل، گروه ایسکمی (بدون درمان)، گروه ایسکمی+پوسته (۲۰mg/kg) و گروه ایسکمی+ پوسته(۵۰mg/kg). داده‌ها به صورت (Mean± SEM) گزارش شد.(P< ۰,۰۵* مقایسه گروه ایسکمی با گروه کنترل) و (P< ۰,۰۱+ مقایسه گروه درمان با گروه

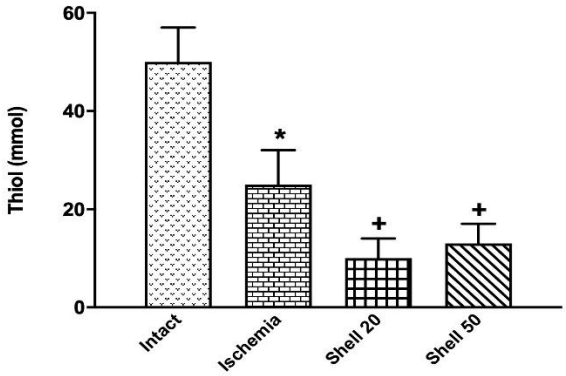


ایسکمی)

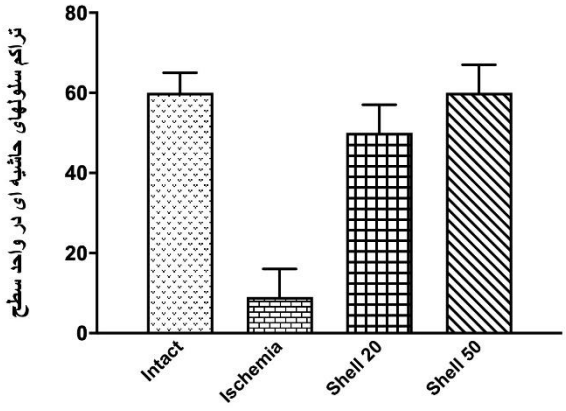
تغییرات سطح تیول در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. نتایج نشان داد در گروه‌های مورد مطالعه تغییراتی معنی‌داری در سطح تیول مشاهده شد. همان‌طوری که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود بر اساس تست LSD، سطح تیول در گروه کنترل mmol ۵۱/۶۴±۴/۷ بود که بعد القا ایسکمی، این مقدار به mmol ۲۷/۱۸±۳/۷ کاهش یافت که تفاوت قابل توجهی و معناداری با گروه کنترل داشت (*P*=۰/۰۲۸). هم‌چنین درمان با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (*P*=۰/۰۰۷، ۸/۹۳±۳/۰۰۰۳mmol) و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (*P*=۰/۰۰۲، ۱۱/۴۶±۲/۷۹۴mmol) سبب کاهش معنی‌دار میزان تیول نسبت به گروه ایسکمی گردید. (شکل ۵)

ارزیابی هیستوپاتولوژیک. ارزیابی هیستولوژیک بافتی معده نشان داد که در گروه کنترل بافت معده نرمال بود. بعد از القای آسیب ایسکمی– رپرفیوژن معدی، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین ائوزین نشان‌دهنده‌ی تخریب غدد دیواره معده در ناحیه آستر مخاط و علائم اولسر و خونریزی بین غدد دیواره معده است. به دنبال ایجاد ایسکمی در گروه بدون درمان میزان تراکم سلول‌های حاشیه‌ای به صورت قابل ملاحظه کاهش یافته است. در گروه‌های تحت درمان با دوزهای مختلف پوسته داخلی مغز گردو اولسر و خونریزی مشاهده نشد و بازسازی سلول‌های حاشیه‌ای در ناحیه آستر مخاط مشاهده شد (شکل ۶).

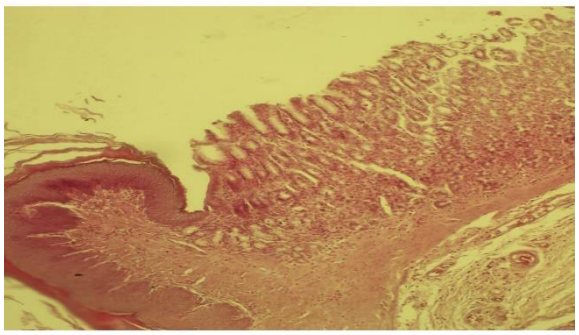
[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]



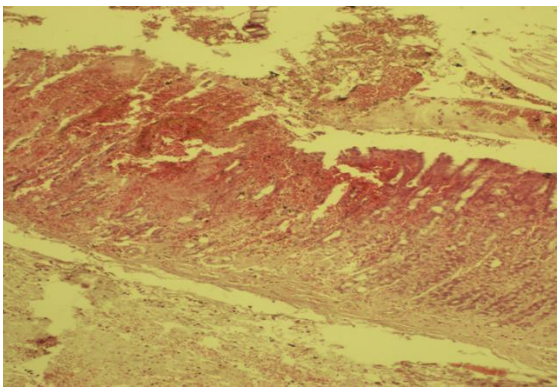
شکل۵. اثرات عصاره الکلی پوسته داخلی مغز گردو بر تغییرات سطح تیول در در بافت معده موش های صحرایی دارای ایسکمی-رپرفیوژن القا شده. گروه کنترل، گروه ایسکمی (بدون درمان)، گروه ایسکمی+پوسته (۲۰ mg/kg) و گروه ایسکمی+پوسته(۵۰mg/kg). داده‌ها به صورت (Mean± SEM) گزارش شد.(۰,۰۵ >P* مقایسه گروه درمان دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه ایسکمی) و (۰,۰۱ >P+ مقایسه گروه ایسکمی با درمان و گروه درمان دوز۲۰میلی گرم بر کیلوگرم با گروه ایسکمی)



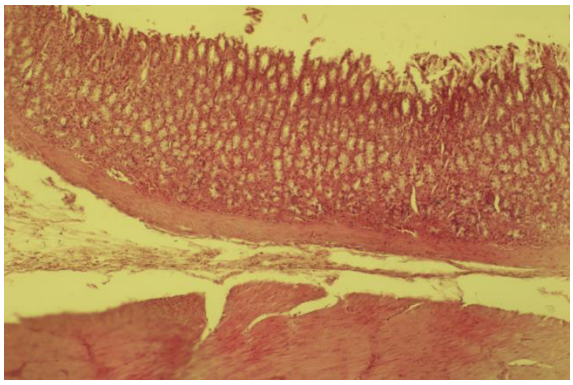
شکل ۶. تراکم سلول های حاشیه ای در واحد سطح



شکل ۷. مقطع میکروسکوپی دیواره معده در گروه کنترل؛ نمونه از مرز بین بخش غده ای و غیر غده ای معده تهیه شده است. غدد دیواره معده در ناحیه آستر مخاط بخش غده ای دیواره معده مشهود است. اپیتلیوم بخش غیر غده ای از نوع سنگفرشی مطبق شاخی شده می باشد. H&E × 400



تشکل ۸. مقطع میکروسکوپی دیواره معده در گروه ایسکمی؛ تخریب غدد دیواره معده در ناحیه آستر مخاط و علائم اولسر و خونریزی بین غدد در این ناحیه از دیواره معده مشهود است. H&E × 400



شکل ۹. مقطع میکروسکوپی دیواره معده در گروه درمان با عصاره پوسته داخلی مغزگردو با غلظت ۵۰ درصد؛ بازسازی غدد دیواره معده در ناحیه آستر مخاط و آرایش نسبتا منظم آنها در لایه آستر مخاط. H&E × 400

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه ایسکمی کاهش یافت و درمان با عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو افزایش قابل توجهی در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ایجاد کرد که درمان با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره، باعث افزایش معناداری در میزان آنزیم شد. کاهش فعالیت SOD نشان‌دهنده اختلال در سازوکارهای محافظتی است و به طور قابل توجهی باعث آسیب سلول می‌شود [۲۶]. مطالعات دیگری مبنی بر اثر گردو بر ایسکمی سایر ارگان‌ها مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر بررسی شده است، برای مثال در مطالعه‌ی رادمنش و همکاران اثر محافظتی وانیلیک اسید (فرم اکسید شده وانیلیل و فنولیک اسید) موجود در juglans regia (گردو) و سایر گیاهان بر روی ایسکمی-رپرفیوژن قلبی در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد که در گروه درمان با وانیلیک اسید و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله GPX، SOD افزایش

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

می‌یابد و فانکشن قلبی نیز بهتر می‌شود [۲۷]. و هم‌چنین در مطالعه‌ی CHEN Mo-ran اثر مهاری روغن گردو وحشی بر روی آپوپتوز سلول‌های جیروس دندانه‌ای هیپوکامپ در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تزریق روغن گردو وحشی به مدل‌های حیوانی، بعد ۹ روز سطح SOD و سطح استرادیول سرمی اندازه‌گیری شد. و نتایجی که حاصل شد نشان داد سطح استرادیول سرم کاهش قابل ملاحظه دارد و سطح آنزیم SOD به صورت وابسته به دوز افزایش یافت. و هم‌چنین افزایش بیان bcl-2 و کاهش بیان bax وجود داشت. و مهار آپوپتوز سلول‌های جیروس دندانه‌ای هیپوکامپ مشاهده شد [۲۸]. مطالعات دیگری مربوط به تاثیر سایر عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی بر روی ایسکمی معدی و افزایش SOD مورد بررسی قرار گرفته‌اند. برای مثال در مطالعه‌ی آهنگرپور و همکاران اثر حفاظتی کروسین (زردچوبه) روی ایسکمی- رپرفیوژن معدی در موش‌های صحرایی نر به دنبال القا ایسکمی با افزایش آنزیم‌های SOD و گلوتاتیون پراکسیداز بررسی شده است که نشان داده است اساس عملکرد کروسین به صورت افزایش بیان mRNA و افزایش تولید SOD و گلوتاتیون پراکسیداز از طریق مهار تولید رادیکال‌های آزاد است [۲۹].

بنابراین با توجه به نتایج مطالعات مطرح شده و مطالعه‌ی حاضر، نشان داده شده SOD بعد درمان با عصاره‌های مشابه پوسته داخلی مغز گردو (Woody endocarpium)، به علت فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو، به صورت قابل توجهی افزایش معناداری پیدا می‌کند.

از دیگر نتایج این مطالعه، کاهش معنادار در میزان اسید معده در گروه ایسکمی- رپرفیوژن معدی بدون درمان نسبت به گروه کنترل بود و از سوی دیگر بعد از درمان با دوزهای ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو میزان ترشح اسید افزایش یافت و با بالا رفتن دوز میزان این افزایش نیز بیش‌تر شد و برای دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این افزایش معنادار شده است. این یافته مشابه مطالعه‌ی Tomasz Brzozowskia و همکاران در مورد نقش و میزان ترشح اسید معدی به دنبال ایسکمی- رپرفیوژن معدی در ایجاد اولسر معدی، می‌باشد که با توجه به نتیجه‌ی دریافتی نشان داده شد، به دنبال ایسکمی- رپرفیوژن معدی، میزان ترشح اسید معده، میکروسیرکولیشن معدی و تولید هیستامین به شدت کاهش میابد [۳۰]. در مطالعه دیگر که روی موش‌های صحرایی جوان انجام شد، در ارزیابی هیستوپاتولوژیکی مشخص شد که استرس اکسیداتیو به طور وابسته به زمان باعث پیشرفت آسیب مخاطی معدی می‌شوند و هم‌زمان میزان مایع اسیدی معده کاهش می‌یابد [۳۱].

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر و دو مطالعه‌ی مطرح شده، میزان اسید معدی به دنبال ایجاد ایسکمی- پرفیوژن مجدد معدی کاهش پیدا می‌کند. که در مطالعه ما، به دنبال درمان با عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو، میزان اسید افزایش معنادار پیدا می‌کند که به‌نظر می‌رسد این عصاره باعث بازسازی عملکرد سلول‌های مترشح اسید معدی و بهبود بافتی می‌گردد.

یکی دیگر از نتایج مطالعه حاضر افزایش معنادار سطح مالون دی آلدئید در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل نشان داد که با تزریق عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو کاهش می‌یابد و از بین دوزهای درمان عصاره، دوز۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معناداری میزان آن را کاهش داده است. برخی مطالعات همسو با مطالعه حاضر وجود دارد که نشان داده است که گردو به دلیل دارا بودن توکوفرول و ترکیبات خانواده‌ی ویتامین E و اثر آنتی‌کسیدانی قوی، از اکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کند [۳۲]، هم‌چنین در مطالعه‌ی دیگری، پپسین موجود در گردو، باعث کاهش تولید و میزان MDA و سایر محصولات پراکسیداسیون لیپیدی شده است [۳۳]. در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شده است که اسکوآلن ترکیب دیگری با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گردو است که این ترکیب خاموش‌کننده موثر اکسیژن است و از پراکسید شدن لیپیدها جلوگیری می‌کند [۱۵]. هم‌چنین نتایج تحقیقات دیگر نشان داد ترکیبات پیروگالول، وانیلیک اسید، پروتوکاتئوچیک اسید و اتیل گالات از مشتقات فنلی موجود در گردو دارای بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. ترکیبات فنلی با جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، جمع‌آوری اکسیژن منفرد، شلاته نمودن یون‌ها، از اکسیداسیون لیپیدی و تولید محصولات اکسیداسیون مانند مالون دی آلدئید جلوگیری می‌کند [۱۷،۱۸].

مطالعات دیگری مبنی بر اثر سایر عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی بر روی ایسکمی معدی و کاهش MDA انجام شده است. به طور مثال اثرات محافظتی گیاه بابونه بر دستگاه گوارشی بررسی شده است. اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی بابونه بر آسیب مخاطی معده القا شده توسط اتانول در موش‌های صحرایی توسط سمیک و همکاران انجام شد. در این مطالعه بررسی ماکروسکوپی نشان داد که تجویز خوراکی اتانول ۸۰٪ باعث تولید ضایعات مخاطی در معده موش‌های صحرایی می‌شود و پیش‌درمانی با عصاره بابونه به طور قابل توجهی باعث کاهش زخم معده ناشی از اتانول شد. اتانول باعث افزایش قابل توجهی در سطح مالون دی آلدئید یافت می‌شود که عصاره بابونه به طور چشمگیری میزان مالون دی آلدئید را کاهش داد [۳۴].

در مطالعه دیگری به اثبات رسید که مانزیفیرین (MF) که درواقع یک گلوکوزیل سنتون طبیعی است، اثرات ضد ترشحی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

و ضد اکسیدانی قوی در برابر انواع مدل زخم‌های معده دارد. بنابراین در این مطالعه حیوانات تحت ایسکمی، با MF و امپرازول (OMP) تحت درمان قرار گرفتند. مطالعات مکانیستیک نشان داد که MF اثرات محافظتی خود را تا حدی از طریق تحریک بیان Nrf2,HO-1 و PPAR-γ ایفا می‌کند. به طور شگفت‌انگیزی، اثر MF، خصوصاً در دوز بالا، خیلی بیش‌تر از تاثیر امپرازول نشان داده شد اما تاثیر چندانی روی Nrf2 نداشت، و از این‌رو نتایج ملکولی روی بیومارکرهای اندازه‌گیری شده، منعکس ساخت که، اثر ضد اکسیدانی MF با افزایش ظرفیت توتال آنتی‌اکسیدان‌ها و گلوتاتیون، در کنار نرمال ساختن سطح MDA قابل قضاوت است، به علاوه MF سطح نیتریک اکساید ناشی از ایسکمی- رپرفیوژن را نیز کاهش داد که تاثیر برتری نسبت به امپرازول نشان داد و هم‌چنین داخل سرم به‌صورت وابسته به دوز باعث کاهش نیتریک اکساید سنتاز شد در حالی‌که ایزوفرم‌های نامنظم را کاهش داد [۳۵]؛ بنابراین طبق نتایج مطالعات فوق‌الذکر می‌توان عنوان کرد که MDA محصول پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی [۴]، بعد درمان با عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پوسته داخلی مغز گردو، به دلیل بهبود غشای سلولی، کاهش معنادار می‌یابد [۳۵]. از سوی دیگر، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطح تیول در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار یافته است و درمان با عصاره اتانولی پوسته ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان تیول کاهش یافته است. هم‌چنین در مطالعه‌ی Jie Cui و همکاران بر روی اثر حفاظتی سولفیدهیدروژن در مقابل استرس اکسیداتیو در ایسکمی- رپرفیوژن معدی نشان داد که به دنبال ایجاد ایسکمی- رپرفیوژن سطح تیول به همراه سایر آنتی‌اکسیدانت‌ها کاهش می‌یابد [۳۶].

در مطالعه‌ی Stein H و همکارانش نشان داد تیول نقش مهمی در حفاظت از آسیب مخاطی معده در برابر خونریزی شدید معدی و رپرفیوژن دارد. که در این مطالعه بعد ایجاد ایسکمی سطح تیول به شدت کاهش یافت که به دنبال تخلیه شیمیایی تیول مخاطی معده یا مهار سنتز تیول، آسیب مخاطی معده شدیدتر گردید و سپس پیشگیری با تیول خارجی، سبب محافظت در برابر عوارض مخاطی ناشی از ایسکمی- پرفیوژن مجدد شد [۳۷].

از نظر ارزیابی هیستوپاتولوژیکی، مطالعه حاضر نشان داد که به دنبال ایجاد ایسکمی، میزان تراکم سلول‌های حاشیه‌ای ترشح‌کننده‌ی اسید معدی کاهش می‌یابد اما در گروه درمان شاهد بازسازی این سلول هستیم. در مطالعه‌ی دیگری آسیب حاد مخاط معدی ناشی از کاهش جریان خون و تغییرات ریزگردش خون معدی در طی آسیب ایسکمی- پرفیوژن مجدد، به همراه اختلال عملکرد ریز گردش خون، فعال‌سازی نوتروفیلی و گونه‌های اکسیژنی واکنشی دیده شده است [۲۱،۳۸]. در مطالعه دیگری نقش مهم اسید معدی و استرس اکسیداتیوها در ایسکمی- رپرفیوژن معدی، در ایجاد اولسر معدی قابل توجه است [۸]. بنابراین ایسکمی- رپرفیوژن به واسطه تولید رادیکال‌های آزاد و بر هم زدن تعادل ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بدن و معده، سبب افزایش تخریب بافتی و کاهش تعداد سلول در نواحی مختلف معده گردیده است.

در این پژوهش اثر عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو (Woody endocarpium) بر میزان ترشح اسید معدی و تغییرات اکسیداتیو بافت معدی به دنبال ایسکمی- رپرفیوژن معدی مورد بررسی قرار گرفت. مهم‌ترین یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که به دنبال درمان با عصاره اتانولی پوسته داخلی مغز گردو میزان اسید معدی و میزان فعالیت آنزیم SOD به طور قابل توجه و معناداری افزایش پیدا کرد و میزان MDA نیز کاهش یافت. و در ارزیابی هیستوپاتولوژیکی میزان تراکم سلول‌های حاشیه‌ای مترشح اسید معدی بعد درمان بازسازی یافت. که این نتایج حاکی از اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره اتانولی پوسته داخلی پوسته داخلی مغز گردو می‌باشد. بنابراین بهتر است در کنار سایر درمان‌های ایسکمی از جمله حمایت عروقی و درمان آنتی‌بیوتیکی، درمانی حمایتی برای ایسکمی در نظر گرفته شود که دارای توانایی اثرات بهبوددهنده و تاثیرگزار به طور هم‌زمان بر روی فاکتورهای متعدد اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی و حداقل عوارض جانبی باشد و لذا به دلیل خواص و ویژگی‌های منحصر به‌فرد پوسته داخلی مغز گردو و عدم گزارش عوارض جدی از آن، استفاده از این عامل درمانی در بیماران مبتلا به اختلالات گوارشی ناشی از ایسکمی معدی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که به عنوان نمونه وارد این پژوهش شده و موجبات انجام آن را فراهم کردند تقدیر و تشکر می‌شود. این طرح با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی انجام گرفته است.

مشارکت و نقش نویسندگان

زکیه کشاورزی و مسعود نظری: ایده و طراحی مطالعه، مهسا کوثری، کارو ثروت یاری و رضا عزیزی: جمع‌آوری داده‌ها، مرتضی بهنام‌فر و زکیه کشاورزی: آنالیز و تفسیر نتایج، فرزانه شاکری: نگارش نسخه اول مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

منابع

[1] Magierowska K, Korbut E, Hubalewska-Mazgaj M, Surmiak M, Chmura A, Bakalarz D, et al. Oxidative gastric mucosal damage induced by ischemia/reperfusion and the mechanisms of its prevention by carbon monoxide-releasing tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer Role of mucus in ischemia/reperfusion-induced gastric mucosal injury in rats. Free Radic Biol Med 2019; 145:198-208.
https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.09.032
PMid:31568823

[2] Gemici B, Tan R, Ongüt G, Izgüt-Uysal VN. The dual role of inducible nitric oxide synthase in myocardial ischemia/reperfusion injury: friend or foe? Oxid Med Cell Longev 2018; 4: 1-7.
https://doi.org/10.1155/2018/8364848
PMid:30510628 PMCid:PMC6230379

[3] Soares ROS, Losada DM, Jordani MC, Évora P, Castro-E-Silva O. Ischemia/reperfusion injury revisited: an overview of the latest pharmacological strategies. Int J Mol Sci 2019; 20: 1-45.
https://doi.org/10.3390/ijms20205034
PMid:31614478 PMCid:PMC6834141

[4] Sahebari M, Shakeri F, Azadi HG, Arjmand MH, Ghayour-Mobarhan M, Parizadeh MR, et al. Pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) in rheumatoid arthritis and its relationship to disease activity. Curr Rheumatol Rev 2015; 11: 28-33.
https://doi.org/10.2174/1573397111666150522094716
PMid:26002455

[5] Qiao WL, Wang L, Zhang YM, Zhang JF, Wang GM. Extracellular signal-regulated kinase 1-and 2-mediated gastric mucosal injury and repair in gastric ischemia-reperfusion of rats. J Gastroenterol 2006; 41: 1158-1168.
https://doi.org/10.1007/s00535-006-1902-2
PMid:17287895

[6] Konturek PC, Duda A, Brzozowski T, Konturek SJ, Kwiecien S, Drozdowicz D, et al. Activation of Genes for superoxide dismutase, interleukin-1ß, tumor necrosis factor-a, and intercellular adhesion molecule-1 during healing of ischemia-reperfusion-induced gastric injury. Scandinavian J Gastroenterol 2000; 35: 452-463.
https://doi.org/10.1080/003655200750023697
PMid:10868446

[7] Shaheen AA, El-Fattah AA. Effect of dietary zinc on lipid peroxidation, glutathione, protein thiols levels and superoxide dismutase activity in rat tissues. Inte J Biochem cell Biol 1995; 27: 89-95.
https://doi.org/10.1016/1357-2725(94)00053-0

[8] Ishii M, Shimizu S, Nawata S, Kiuchi Y, Yamamoto T. Involvement of reactive oxygen species and nitric oxide in gastric ischemia-reperfusion injury in rats. Dig Dis Sci 2000; 45: 93-98.
https://doi.org/10.1023/A:1005413511320
PMid:10695619

[9] Esmaeilizadeh M, Hosseini M, Beheshti F, Alikhani V, Keshavarzi Z, Shoja M, et al. Vitamin C improves liver and renal functions in hypothyroid rats by reducing tissue oxidative injury. Int J Vitam Nutr Res 2020; 84-94.
https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000495
PMid:30789800

[10] Rajamani K, Manivasagam T, Anantharaman P, Balasubramanian T, Somasundaram ST. Chemopreventive effect of Padina boergesenii extracts on ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA)-induced oxidative damage in Wistar rats. J Appl Phycol 2011; 23: 257-263.
https://doi.org/10.1007/s10811-010-9564-0

[11] Eftekhar S, Parsaei H, Keshavarzi Z, Yazdi AT, Hadjzadeh MA, Rajabzadeh A, et al. The prevention and treatment effects of egg yolk high density lipoprotein on the formation of atherosclerosis plaque in rabbits. Iran J Basic Med Sci 2015; 18: 343-349.

[12] Valnet J. Phytotherapy: treatment of diseases by plants. Trans. Emami A, Shams-Ardekani MR, and Nekoeinaeini N. Tehran: Rahe-kamal 2002; 358-361.

[13] González LC, Pinilla L, Tena-Sempere M, Bellido C, Aguilar E, Nazeer RA. Effects of systemic blockade of nitric oxide synthases on pulsatile lh, prolactin, and GH secretion in adult male rats. Horm Res 2001; 55: 229-235.
https://doi.org/10.1159/000050001
PMid:11740144

[14] Sugie S, Okamoto K, Rahman KW, Tanaka T, Kawai K, Yamahara J, et al. Inhibitory effects of plumbagin and juglone on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in rats. Cancer Lett 1998; 15: 177-183.
https://doi.org/10.1016/S0304-3835(98)00035-4

[15] Maguire LS, O'sullivan SM, Galvin K, O'connor TP, O'brien NM. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. Int J Food Sci Nutr 2004; 55: 171-178.
https://doi.org/10.1080/09637480410001725175
PMid:15223592

[16] Kornsteiner M, Wagner KH, Elmadfa I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. Food Chem 2006; 98: 381-387.
https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.033

[17] Ayoughi F, Barzegar M, Sahari MA, Naghdibadi H. Chemical compositions of essential oils of Artemisia dracunculus l. and endemic matricaria chamomilla l. and an evaluation of their antioxidative effects. J Agr Sci Tech 2011; 13: 79-88.

[18] Kamkar A, Shariatifar N, Jamshidi AH, Mohammadian M. Study of antioxidant function of the water,methanol and ethanol endemic cuminum cyminum L. and cordaria draba L. in the In vitro systems. Ofogh-e-Danesh J 2010; 16: 37-44. (Persian).

[19] Phillips KM, Ruggio DM, Ashraf-Khorassani M. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. J Agric Food Chem 2005; 53: 9436-9445.
https://doi.org/10.1021/jf051505h
PMid:16302759

[20] Torabian S, Haddad E, Rajaram S, Banta J, Sabate J. Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. J Hum Nutr Diet 2009; 22: 64-71.
https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2008.00923.x
PMid:19192028

[21] Banel DK, Hu FB. Effects of walnut consumption on blood lipids and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis and systematic review. Am J Clin Nutr 2009; 90: 56-63.
https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27457
PMid:19458020 PMCid:PMC2696995

[22] Servatyari K, Ahmadi A, Kashefi H, Manbari MN, Rostami A, Moulodi MR. The effect of hydroalcoholic extract of Medicago sativa on liver function tests, blood biochemical factors and coagulation system in male rats. Sci J Kurdistan Univ Med Sci 2017; 21: 16-26.

[23] Mokhtari M, Abedinzade M, Naseran N. Effect of walnut (Juglans regia) extract on serum LH, FSH and testosterone levels in adult male rat. J Ardabil Univ Med Sci 2013; 12: 157-165. (Persian).

[24] Nabavizadeh F, Shahrani M, Vahedian Z, Vahedian M. Marjoram Increases Basal Gastric Acid and Pepsin Secretions in Rat. Phytother Res 2007; 21: 1036-1038.
https://doi.org/10.1002/ptr.2203
PMid:17639551

[25] Eftekhar N, Moghimi A, Boskabady MH, Kaveh M, Shakeri F. Ocimum basilicum affects tracheal responsiveness, lung inflammatory cells and oxidant-antioxidant biomarkers in sensitized rats. Drug Chem Toxicol 2019; 42: 286-294.
https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1459672
PMid:29683006

[26] Yoshikawa T, Ueda S, Naito Y, Takahashi S, Oyamada H, Morita Y, et al. Role of oxygen-derived free radicals in gastric mucosal injury induced by ischemia or ischemia-reperfusion in rats. Free Radic Res Communic 1989; 7: 285-291.
https://doi.org/10.3109/10715768909087953
PMid:2583548

[27] Radmanesh E, Dianat M, Badavi M, Goudarzi G, Mard SA. The cardioprotective effect of vanillic acid on hemodynamic parameters, malondialdehyde, and infarct size

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[34] Cemek M, Yilmaz E, Büyükokuroğlu ME. Protective effect of Matricaria chamomilla on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. Pharm Biol 2010; 48: 757-763. https://doi.org/10.3109/13880200903296147 PMid:20645773

[35] Mahmoud-Awny M, Attia AS, Abd-Ellah MF, El-Abhar HS. Mangiferin mitigates gastric ulcer in ischemia/reperfused rats: Involvement of PPAR-γ, NF-κB and Nrf2/HO-1 signaling pathways. PloS One 2015; 10: 1-17. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132497 PMid:26196679 PMCid:PMC4509761

[36] Cui J, Liu L, Zou J, Qiao W, Liu H, Qi Y, et al. Protective effect of endogenous hydrogen sulfide against oxidative stress in gastric ischemia-reperfusion injury. Exp Ther Med 2013; 5: 689-694. https://doi.org/10.3892/etm.2012.870 PMid:23403765 PMCid:PMC3570130

[37] Stein H, Hinder R, Oosthuizen M. Gastric mucosal injury caused by hemorrhagic shock and reperfusion: protective role of the antioxidant glutathione. Surgery 1990; 108: 467-473.

[38] Labuckas DO, Maestri DM, Perello M, Martínez ML, Lamarque AL. Phenolics from walnut (Juglans regia L.) kernels: Antioxidant activity and interactions with proteins. Food Chem 2008; 107: 607-612. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.051

in ischemia-reperfusion isolated rat heart exposed to PM10. Iran J Basic Med Sci 2017; 20: 760-768.

[28] Chen MR, Shen N, Lei JT, Zhao XY. Effects of wild walnut oil on antioxidant functions in ovariectomized rats and apoptosis of hippocampal cells. Food Sci 2011; 32: 272-275.

[29] Mard SA, Azad SM, Ahangarpoor A. Protective effect of crocin on gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion injury in rats. Iran J Pharm Sci Res 2016; 15: 93-99.

[30] Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Stachura J, et al. Role of prostaglandins generated by cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in healing of ischemia-reperfusion-induced gastric lesions. Eur J Pharmacol 1999; 385: 47-61. https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00681-0

[31] Das D, Banerjee RK. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. Mol Cell Biochem 1993; 125: 115-125. https://doi.org/10.1007/BF00936440 PMid:8283967

[32] Stampar F, Solar A, Hudina M, Veberic R, Colaric M. Traditional walnut liqueur-cocktail of phenolics. Food Chem 2006; 95: 627-631. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.035

[33] Torres-Fuentes C, Contreras MDM, Recio I, Alaiz M, Vioque J. Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates. Food Chem 2015; 180: 194-202. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.046 PMid:25766818

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

Koomesh -Volume 24, Issue 4 July and August 2022, 544 - 553

Effects of ethanolic extract of woody endocarpium walnut on acid secretion and gastric oxidative changes following ischemia-gastric reperfusion injury in male rats

Zakieh Keshavarzi (Ph.D)[1,2], Mahsa Kosari (M.D Student)[3], Masoud Nazari (M.D)[4], Morteza Behnamfar (M.D Student)[3], Reza Azizi (M.D Student)[3], Amir Reza Khoshneiyat (v)[3], Karo Servatyari (v)[5], Farzaneh Shakeri (Ph.D)[*1,2]

1 - Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
2 – Dept. of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
3- Student Research Committee, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
4- Dept. of Radiology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
5- Student Research Committee, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

* Corresponding author. +98 58 31513051 f_1366_sh@yahoo.com
Received: 18 Oct 2020 ; Accepted: 30 Nov 2021

Introduction: Walnut has anti-atherogenic, anti-mutagenic, anti-inflammatory and anti-oxidant properties. Walnut also contains many substances with strong neuroprotective properties, including vitamin E, folate, melatonin, flavonoids and polyphenolic compounds, which have strong anti-inflammatory and antioxidant properties. The aim of this study was to investigate the effects of ethanolic extract of woody endocarpium walnut on acid secretion and oxidative changes of the gastric tissue following ischemic-reperfusion injury in male rats.

Materials and Methods: 40 male Wistar rats were divided into 4 groups (n = 10 in each group) control (intact), ischemia-reperfusion injury group, and ethanolic extract of woody endocarpium walnut (20 and 50 mg/kg). In each group, the amount of acid secretion, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, malondialdehyde, thiol and histological changes of gastric tissue were measured.

Results: The results of the present study showed that ischemia-reperfusion induction decreased the activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, thiol and gastric acid and increased malondialdehyde. Treatment with ethanolic extract of woody endocarpium walnut significantly increased the amount of acid secretion and superoxide dismutase activity and decreased the levels of malondialdehyde and thiol. In histopathological evaluation, the density of peripheral cells secreting gastric acid was restored after treatment. There was no significant difference between the two doses of the extract.

Conclusion: The results of the present study showed that ischemia-reperfusion causes gastric damage in rats and treatment with ethanolic extract of woody endocarpium walnut can be effective in preventing complications of gastric ischemia.

Keywords: Woody endocarpium of walnut, Ischemia-reperfusion injury, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Malondialdehyde, Thiol, Acid secretion, Male rat

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]