



مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی بروکلی بر استرس اکسیداتیو القایی سرب در کلیه موش سوری

مهدیه رئیس زاده: استادیار و متخصص فارماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران (*نویسنده مسئول)

vet_mr@yahoo.com

پژمان مرتضوی: دانشیار و متخصص پاتولوژی، گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

استرس اکسیداتیو،

کلیه،

استات سرب،

عصاره هیدروالکلی بروکلی،

موش سوری

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۱۹

زمینه و هدف: با توجه به فراوانی سرب در اکوسیستم، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی بروکلی بر استرس اکسیداتیو القایی استات سرب در کلیه موش سوری بود.

روش کار: مطالعه تجربی مداخله‌ای بر روی ۴۰ سر موش سوری نر 30 ± 5 گرم انجام شد. گروه کنترل استات سرب PPM500 در آب آشامیدنی، گروه T1، T2 و T3 علاوه بر آب آشامیدنی حاوی PPM500 استات سرب به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بروکلی به مدت ۲۸ روز داخل صفاقی تزریق شد. خون‌گیری از حیوانات انجام شد. بعد از معدوم‌سازی انسانی حیوانات، کلیه راست برای مطالعات پاتولوژیک و کلیه چپ برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: در پایان مطالعه وزن موش‌ها و وزن کلیه در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داشت. غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گروه‌های کنترل T1، T2 و T3 به ترتیب شامل $34/56 \pm 3/67$ ، $37/98 \pm 3/056$ ، $16/86 \pm 4/654$ و $12/06 \pm 6/765$ میکرومول بر میلی لیتر شد. اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه کنترل با گروه T2 و T3 دیده شد. بیشترین غلظت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم در گروه $121/23 \pm 34/1034$ T3 و کمترین در گروه کنترل $709/70 \pm 35/34$ میکرومول بر میلی لیتر شد. این اختلاف بین گروه کنترل با گروه‌های T1، T2 و T3 معنی‌دار شد. در مطالعات پاتولوژیک بیشترین آسیب بافت کلیه در گروه کنترل با امتیاز ۷ و کمترین در گروه T3 دیده شد.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی بروکلی در ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم توانست استرس اکسیداتیو ناشی از استات سرب را در کلیه موش سوری به نحو مؤثری کنترل نماید.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنجند، سنجند، ایران

شیوه استناد به این مقاله:

Raeeszadeh M, Mortazavi P. The study of the effect of hydroalcoholic extracts of broccoli on lead induced oxidative stress in kidney of mice. Razi J Med Sci.2018;25(9):17-25.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 1.0 صورت گرفته است.



The study of the effect of hydroalcoholic extracts of broccoli on lead induced oxidative stress in kidney of mice

© **Mahdieh Raeeszadeh**, PhD, Assistant Professor of Pharmacology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran (*Corresponding author) vet_mr@yahoo.com
Pejman Mortazavi, PhD, Associate Professor of Pathology, Department of Pathobiology, Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Considering the abundance of lead in ecosystems, the aim of this study was to investigate the effect of hydro alcoholic extract of broccoli on lead acetate oxidative stress in kidney of mice.

Methods: In this study, 40 albino mice with 30 ± 5 g weight were divided in 4 groups. Control group received 500 ppm lead in running water while mice in T2, T3 and T4 groups, in addition to 500 ppm lead acetate in running water, received intraperitoneally 100, 200 and 300 mg/kg of hydroalcoholic of broccoli extract, respectively. Blood samples were taken from the animals. After being euthanized the right kidney was fixed in 10% formalin buffer for pathological studies and Malondialdehyde (MDA) was measured in the left kidney.

Results: A significant total weight and kidney weight increase was observed in control group. The concentration of MDA in control, T1, T2 and T3 groups were measured as 34.67 ± 2.56 , 27.98 ± 3.056 , 16.86 ± 4.654 and 12.06 ± 6.765 $\mu\text{mol/ml}$, respectively. A significant difference was observed between control and T2 and T3 groups. The highest concentration of Total Antioxidant Capacity (TAC) was observed in T3 group with 1034 ± 223.121 and the least concentration was in control group 709.70 ± 35.34 $\mu\text{mol/ml}$ respectively, which showed a significant difference between the control group and T1, T2 and T3 groups. In the histopathologic studies, the highest damage rated 7 was seen in the control group and the lowest was observed in T3 group.

Conclusion: According to the results, it can be concluded that broccoli hydroalcoholic extract at 300 mg/kg dose controls the effects of lead acetate oxidative stress in kidney of mice.

Conflicts of interest: None

Funding: Islamic Azad University Sanandaj Branch, Sanandaj, Iran

Keywords

Oxidative stress,
Kidney,
Lead acetate,
Hydroalcoholic broccoli
Extract,
Mice

Received: 11/06/2018

Accepted: 10/09/2018

Cite this article as:

Raeeszadeh M, Mortazavi P. The study of the effect of hydroalcoholic extracts of broccoli on lead induced oxidative stress in kidney of mice. Razi J Med Sci.2018;25(9):17-25.

This work is published under CC BY-NC-SA 1.0 licence.



مقدمه

به دلیل استفاده صنعتی وسیع از سرب در تولید لوله‌ها، رنگ‌ها، باتری‌ها، لحیم‌کاری و افزایشدهای سوخت، سرب به‌عنوان یکی از خطرات زیستی و شغلی به حساب می‌آید. مسمومیت با سرب در سیستم عصبی، کلیه، تولیدمثل و استخوان دارای علامت و آسیب‌های فراوان است. از بین بافت‌ها سرب در بالاترین سطح در کلیه تجمع می‌کند و باعث ایجاد تغییرات پاتوبیولوژیکی مشخص در ساختمان و عملکرد کلیه می‌گردد (۱).

استرس اکسیداتیو موجب عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و توانایی سیستم‌های بیولوژیک در جهت واکنش حد واسط برای سهولت در عمل سم‌زدایی یا ترمیم صدمات می‌باشد. بیشترین موارد مسمومیت سرب آغاز روند استرس اکسیداتیو سرب به وسیله دو مسیر متفاوت هم‌زمان روی خواهد داد. نخست تولید انواع اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS-Reactive oxygen species) و دوم تخلیه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است (۲).

مطالعات نشان می‌دهد که تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها بر رفع مسمومیت ناشی از سرب در بافت کلیه مؤثر است. ازجمله تجویز عصاره زنجبیل که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است باعث کاهش اسید اوریک، کراتینین و پتاسیم خون در موش‌های در معرض سرب شد (۳). همچنین تجویز آنتی‌اکسیدان سلنیوم باعث افزایش گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و نیز کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید در بافت کلیه موش‌های صحرایی در معرض سرب شد (۴). در مطالعه دیگر درمان با ۰/۴ گرم به ازای کیلوگرم عصاره سیر به دلیل ترکیبات فنلی بالا توانست از آسیب کلیوی سرب جلوگیری کند (۵).

هم‌چنین در پژوهشی دیگر عصاره آبی مرزنجوش را با اثرات آنتی‌اکسیدانی در دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثرات آنتی‌اکسیدانی از آسیب اکسیداتیو کادمیوم در کلیه موش صحرایی جلوگیری می‌کند (۶). کلم بروکلی (*Brassica oleracea L. cv Italica*)

یکی از سبزی‌های مهم و با ارزش غذایی بالاست که سرشار از ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضد سرطانی دیگر می‌باشد (۷). خاصیت ضد سرطانی کلم بروکلی به علت وجود ویتامین E (آلفا توکوفرول)، ویتامین C (آسکوربیک)، فلاونوئیدها (کوئرستین و کامپفرول)، کاروتنوئیدها (کاروتن و لوتئین) و گلوکوسینات‌ها است (۸). پلی فنل‌های موجود در کلم بروکلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌توانند به‌عنوان خنثی‌کننده‌های بسیار قوی رادیکال آزاد اکسیژن باشند (۸). پوترسین نیز با نقش آنتی‌اکسیدانی خود مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو را زیاد می‌کند که با افزایش ترکیبات فنلی همراه است. هم‌چنین می‌تواند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) از آسیب‌های احتمالی آن بر سلول، جلوگیری کرده و باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شود (۹).

در مطالعه‌ای به اثرات آنتی‌اکسیدانی بروکلی در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر آسیب اکسیداتیو ناشی از دیازینون در بیضه موش صحرایی اشاره شده است (۱۰).

با توجه به عدم بررسی تأثیر عصاره بروکلی بر آسیب کلیوی سرب، هدف از این مطالعه تأثیر عصاره هیدروالکلی بروکلی در کنترل استرس اکسیداتیو القایی سرب در کلیه موش سوری بود.

روش کار

این مطالعه تجربی مداخله‌ای بر روی ۴۰ سر موش نر نژاد آلبینو با وزن 30 ± 3 گرم در ۴ گروه آزمایشی انجام شد (۱۱). حیوانات در حیوانخانه دانشکده دامپزشکی سنجندج در بهار ۱۳۹۵، در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۵۰ درصد نگهداری شدند. اصول اخلاقی پژوه مربوطه مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان به شماره IR.MUK.REC.1397/5001 بود.

موش‌های گروه کنترل کنسانتره استاندارد و آب آشامیدنی که حاوی ۵۰۰PPm استات سرب (سیگما

در حال جوش قرار گرفتند و پس از خروج از بن‌ماری خنک شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر n-بوتانول افزوده شد. جذب نمونه‌ها در برابر شاهد به وسیله دستگاه اسپکتوفوتومتر UV/Vis مدل DR6000 ساخت کمپانی HACH-LANGE (آمریکا) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد (۱۴).

برای سنجش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی از روش ارائه شده توسط بنزی و همکاران با نام روش-Ferric reducing ability of plasma (FRAP) استفاده شد (۱۵). اصول کار در این روش، توانایی سرم در احیای یون فریک اندازه‌گیری می‌شود. در pH اسیدی، زمانی که کمپلکس ۲-s-(2-pyridyl)-4,6-Tri-FeII به FeIII احیا می‌گردد، تولید رنگ آبی نموده که در طول موج ۵۹۳ نانومتر جذب نوری را دارد. مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام Total Antioxidant Capacity (TAC) با استفاده از نمودار استاندارد غلظت ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرومول بر لیتر سولفات آهن اندازه‌گیری می‌شود (۱۵).

برای تهیه عصاره هیدروالکلی بروکلی، گیاه جمع‌آوری شده از اراضی کشاورزی همدان در اردیبهشت ماه، بعد از تأیید مرکز هرباریوم دانشگاه کردستان (No:30072)، در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک شد. بعد از آسیاب کردن، آن را در داخل ظروف مخصوص ریخته و ۳۰۰ گرم/یک لیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت نگه‌داشته شد. پس از صاف کردن عصاره با کاغذ صافی (Germany-whatman) اتانول از محلول به وسیله دستگاه روتاری تحت خلأ (IKA-R V 8) برداشته شد. عصاره به دست آمده در نرمال سالین حل و تا زمان استفاده در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۸).

یافته‌ها

بر اساس جدول ۱، وزن موش‌ها در روز اول اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد. در روز ۲۹ کمترین وزن مربوط به گروه T2 $30/00 \pm 0/421$ گرم و بیشترین در گروه کنترل $31/40 \pm 0/477$ گرم بود. اختلاف آماری معنی‌داری بین وزن موش‌ها در گروه کنترل با گروه‌های آزمایش T2 و T3 دیده شد. جدول ۲ تغییرات وزن کلیه راست، طول و قطر آن در

Lot N:3451) بوده را دریافت کردند. در گروه‌های آزمایش اول و دوم و سوم علاوه بر دریافت آب آشامیدنی حاوی ۵۰۰ PPM استات سرب به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بروکلی داخل صفاقی به مدت ۲۸ روز تجویز شد. در روز ۲۹ حیوانات وزن گیری شدند. از قلب حیوانات خون‌گیری انجام شده و سرم برای اندازه‌گیری ظرفیت تام سرم مورد استفاده قرار گرفت. سپس حیوانات به صورت انسانی با کتامین و زایلازین معدوم شدند. کلیه راست و چپ خارج شد. کلیه راست جهت مطالعات هیستوپاتولوژیک در فرمالین بافر ۱۰ درصد فیکس شده و سپس مقطع گیری و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین انجام شد (۱۲).

برای مطالعات پاتولوژیک پارامترهایی مانند نکروز، وجود سلول‌های التهابی و دژنراسیون لوله‌های ادراری مورد بررسی و امتیازبندی قرار گرفت. کلیه چپ برای اندازه‌گیری مقدار مالون دی‌آلدئید با روش تیوباربیتوریک اسید به صورت تازه استفاده شد (۱۳).

کلیه چپ موش‌ها را هموژن نموده و سپس به میزان ۰/۱ گرم بر میلی‌لیتر رقیق شد. در هر لوله ۱ میلی‌لیتر از هموژنه حاصل با ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (Trichloroacetic acid-TCA) (۱۰w/v) مخلوط و ورتکس شد تا پروتئین‌ها کاملاً رسوب کنند. سپس لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در لوله شاهد نیز ۱ میلی‌لیتر آب مقطر با ۲ میلی‌لیتر TCA (۱۰w/v) مخلوط شد.

برای رسم منحنی استاندارد از محلول استوک مالون‌دی‌آلدئید ۱۰۰۰ میکرومول استفاده شد. ۱۶/۴ میلی‌لیتر از این استوک برداشته در ارلن ۱۰۰ ریخته و به وسیله اسید سولفوریک (۱٪ حجمی/حجمی) به حجم رسانده شد. غلظت‌های ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳، ۶، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۲۵ ساخته شد. از هر یک از لوله‌های استاندارد، شاهد و لوله‌های حاوی نمونه، به میزان ۶۰۰ میکرولیتر از محلول رویی جهت سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفت و در لوله‌های جداگانه ریخته شد. به هر لوله ۱۲۰۰ میکرولیتر معرف تیوباربیتوریک اسید (۰/۶۷٪ وزنی/حجمی) اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری (WB-22) ساخت کمپانی Memmert (آلمان)

جدول ۱- بررسی وزن موش ها در روز اول و آخر مطالعه در گروه های مختلف

گروه ها	وزن موش در روز اول (گرم)	وزن موش در روز آخر (گرم)
گروه کنترل	۲۸/۸۳±۰/۶۰۰	۳۱/۴۰±۰/۴۷۷ ^a
گروه T1	۲۹/۱۶±۰/۶۵۴	۳۱/۳۳±۰/۴۹۴ ^a
گروه T2	۲۹/۳۳±۰/۶۶۶	۳۰/۰۰±۰/۴۲۱ ^b
گروه T3	۲۸/۶۰±۰/۹۲۷	۳۰/۳۳±۰/۷۰۷ ^b

حروف نامتشابه لاتین به صورت ستونی نشان بر اختلاف آماری معنی دار بین گروه ها است.

گروه کنترل: دریافت آب حاوی ۵۰۰PPM استات سرب

گروه T1: علاوه بر آب حاوی ۵۰۰PPM استات سرب عصاره هیدروالکلی بروکلی ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

گروه T2: علاوه بر آب حاوی ۵۰۰PPM استات سرب عصاره هیدروالکلی بروکلی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

گروه T3: علاوه بر آب حاوی ۵۰۰PPM استات سرب عصاره هیدروالکلی بروکلی ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد وزن، طول و قطر کلیه راست در موش های مورد مطالعه در گروه های مختلف

گروه ها	وزن کلیه راست (گرم)	طول کلیه راست (میلی متر)	عرض کلیه راست (میلی متر)
گروه کنترل	۰/۱۸۵±۰/۰۰۴ ^a	۱۰/۰۶۶±۰/۰۵۴ ^a	۵/۹۳±۰/۰۴۷ ^a
گروه T1	۰/۱۸۳±۰/۰۰۳ ^a	۱۰/۲۱±۰/۰۶۰ ^a	۵/۲۴±۰/۰۰۹ ^b
گروه T2	۰/۱۷۸±۰/۰۰۴ ^a	۱۰/۲۱±۰/۰۸۸ ^a	۵/۶۶±۰/۱۳۳ ^b
گروه T3	۰/۱۷۴±۰/۰۱۲ ^a	۱۰/۱۲±۰/۰۸۶ ^a	۵/۴۸±۰/۵۲۶ ^b

حروف نامتشابه لاتین به صورت ستونی نشان بر اختلاف آماری معنی دار بین گروه ها است.

با طول کلیه چپ کمترین میزان در گروه کنترل با متوسط ۱۰/۰۶ و بیشترین در گروه T2 با متوسط ۱۰/۱۶ میلی متر بود. در خصوص عرض کلیه چپ بیشترین در گروه کنترل با متوسط ۵/۸۹ میلی متر و کمترین در گروه T1 ۵/۴۳ میلی متر دیده شد. در ارتباط با وزن، طول و عرض کلیه چپ بین گروه های مختلف آزمایش اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت.

در ارتباط با ضایعات پاتولوژیک مورد بررسی که شامل نفوذ سلول های التهابی، دژنراسیون و نکروز لوله های ادراری بود بر اساس جدول شماره ۴ درجه بندی بین گروه های مختلف صورت پذیرفت. بیشترین آسیب بر اساس جمع امتیازات به دست آمده به گروه کنترل و به ترتیب در گروه های T1، T2 و T3 با امتیاز ۵، ۴ و ۲ بافت کلیه موش ها مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج آزمون ناپارامتریک کروسکال

گروه های مختلف نشان می دهد. کمترین میانگین وزن کلیه راست در گروه T3 با متوسط ۰/۱۷۴ و بیشترین وزن کلیه در گروه کنترل با متوسط ۰/۱۸۵ گرم محاسبه شد. اختلاف آماری معنی داری در وزن کلیه بین گروه های مختلف آزمایش دیده نشد. طول کلیه راست کمترین در گروه کنترل برابر با ۱۰/۰۶ میلی متر بوده که اختلاف آماری معنی داری بین طول کلیه راست در گروه T1 با گروه کنترل وجود داشت. عرض کلیه راست در گروه کنترل با متوسط ۵/۹۳ میلی متر و در گروه T1 با متوسط ۵/۲۴ میلی متر به ترتیب بیشترین و کمترین وزن را به خود اختصاص داده است. اختلاف آماری معنی داری بین عرض کلیه راست در گروه کنترل با گروه کنترل، T1، T2 و T3 دیده شد.

بر اساس جدول ۳، وزن کلیه چپ در گروه T2 با کمترین متوسط برابر ۰/۱۷۳ گرم و در گروه کنترل برابر با ۰/۱۹۰ گرم بیشترین میزان را داشت. در ارتباط

جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد وزن، طول و قطر کلیه چپ در موش های مورد مطالعه در گروه های مختلف

گروه ها	وزن کلیه چپ (گرم)	طول کلیه چپ (میلی متر)	عرض کلیه چپ (میلی متر)
گروه کنترل	۰/۱۹۰±۰/۰۰۶	۱۰/۰۶±۰/۰۶۱	۵/۸۹±۰/۰۷۹
گروه T1	۰/۱۸۵±۰/۰۰۷	۱۰/۱۰±۰/۰۵۱	۵/۴۳±۰/۲۳۶
گروه T2	۰/۱۷۳±۰/۰۰۷	۱۰/۱۶±۰/۰۴۲	۵/۷۱±۰/۱۹۹
گروه T3	۰/۱۸۶±۰/۰۱۲	۱۰/۱۰±۰/۰۴۰	۵/۷۰±۰/۱۹۹

حروف نامتشابه لاتین به صورت ستونی نشان بر اختلاف آماری معنی دار بین گروه ها است

جدول ۴- بررسی تغییرات پاتولوژیک و امتیازبندی ضایعات در گروه های مورد آزمایش

شاخص	ملاک ارزیابی	امتیاز	گروه های آزمایش
		C	T1
		T2	T3
نفوذ سلول های التهابی	عدم التهاب	۰	۲
	نفوذ سلول های التهابی در ۲۵٪ بافت	۱	۱
	نفوذ سلول های التهابی بین ۲۵ تا ۵۰ درصد	۲	۰
	نفوذ سلول های التهابی بین ۵۰ تا ۷۵ درصد بافت	۳	۰
	نفوذ سلول های التهابی در بیش از ۷۵ درصد بافت	۴	۰
دژنراسیون لوله های ادراری	عدم کست	۰	۳
	وجود کست در کمتر از ۲۵٪ لوله ها	۱	۲
	وجود کست در بیش از ۲۵٪ و کمتر از ۵۰٪ لوله ها	۲	۲
	وجود کست در بیش از ۵۰٪ و کمتر از ۷۵٪ لوله ها	۳	۰
	وجود کست در بیش از ۷۵٪ لوله ها	۴	۰
نکروز لوله های ادراری	عدم نکروز	۰	۲
	وجود نکروز کمتر از ۲۵٪ لوله ها	۱	۱
	وجود نکروز در بیش از ۲۵٪ و کمتر از ۵۰٪ لوله ها	۲	۰
	وجود نکروز در بیش از ۵۰٪ و کمتر از ۷۵٪ لوله ها	۳	۰
	وجود نکروز در بیش از ۷۵٪ لوله ها	۴	۰
		۰-۱۲	۲ ۴ ۵ ۷
		امتیاز	

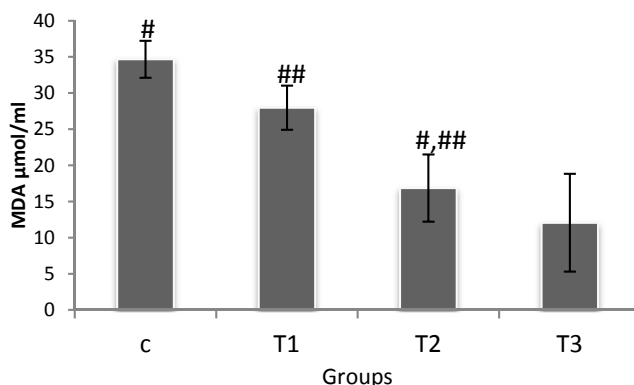
و T3 دیده شد. در خصوص ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در نمودار ۲، بیشترین غلظت در گروه T3 $10.34/34 \pm 23/121$ و کمترین در گروه کنترل با میزان $70.9/70 \pm 35/34$ میکرومول بر میلی لیتر شد. این اختلاف بین گروه کنترل با گروه های T1، T2، T3 معنی دار شد.

بحث و نتیجه گیری

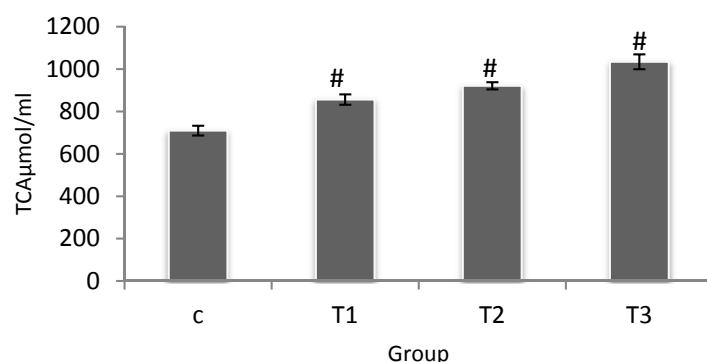
با توجه به فراوانی سرب در اکوسیستم ها، سرب قادر است از راه های گوناگون گوارشی، تنفسی و پوست وارد بدن موجودات زنده شود و سامانه های مختلف بدن را

والیس در ارتباط با سه شاخص نفوذ سلول های التهابی، دژنراسیون لوله های ادراری و نکروز به ترتیب میزان P برابر با 0.007 ، 0.017 و 0.004 بین گروه کنترل با گروه T3 به دست آمد. با توجه به مقادیر P value اختلاف آماری معنی داری بین آسیب های ایجاد شده در گروه T3 با گروه کنترل دیده شد.

بر اساس نمودار ۱، غلظت مالون دی آلدئید در گروه های کنترل، T1، T2 و T3 به ترتیب شامل $34/67 \pm 2/56$ ، $27/98 \pm 3/056$ ، $16/86 \pm 4/654$ و $12/06 \pm 6/765$ میکرومول بر میلی لیتر بوده است. اختلاف آماری معنی داری بین گروه کنترل با گروه T2



نمودار ۱- بررسی تغییرات غلظت مالون دی آلدئید در بافت کلیه در گروه های مختلف
اختلاف آماری معنی داری بین گروه کنترل (#) و گروه T1 (##) با سایر گروه های آزمایش دیده شد ($P < 0.05$)



نمودار ۲- بررسی تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم در گروه های مختلف
اختلاف آماری معنی داری بین غلظت کنترل (#) با سایر گروه های آزمایش دیده شد ($P < 0.05$)

آسیب های ناشی از سرب در بدن اعلام نمودند (۳-۵). در این مطالعه افزایش معنی دار غلظت مالون دی آلدئید در بافت کلیه در گروه کنترل می تواند نشانه ای بر آسیب اکسیداتیو استات سرب در بافت کلیه باشد. افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی معنی دار در گروه T3 نسبت به گروه کنترل نشان بر اهمیت پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم در دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بروکلی در کنترل آسیب اکسیداتیو سرب در بافت کلیه است.

در مطالعه رامورتی در سال ۲۰۱۷، ترکیبات دیگری از جمله فلاوونوئیدی، گلیکوزیدی و آلکالوئیدی در عصاره اتانولی بروکلی را دارای اثرات آنتی اکسیدانی و کنترل عوارض قلبی - عروقی دانستند (۲۰). از طرف دیگر بروکلی دارای ۱٪ سولوروفان بوده که سبب کاهش ۸ هیدروکسی ۲ داکسی گوانوزین شده که این امر سبب مهار آسیب های اکسیداتیو DNA و چربی ها می شود (۲۱).

با توجه به کاهش آسیب های پاتولوژیک در گروه تیمار با عصاره بروکلی نسبت به گروه کنترل و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در گروه های تیمار نسبت به کنترل و تحقیقات گذشته می توان عصاره بروکلی را دارای پتانسیل بسیار خوب آنتی اکسیدانی در مواجهه با اثرات اکسیدان سرب در بدن و مخصوصاً کلیه دانست.

در مطالعه ای که شاه و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام دادند در دوزهای ۳۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بروکلی در ۲۸ روز با اندازه گیری

تحت تأثیر قرار دهد. کلیه یک اندام هدف اصلی برای سرب است. تزریق سرب به روش درون رگی در موش ها باعث تحریک تقسیم میتوز در یاخته های لوله خمیده نزدیک در کلیه می شود که این مسئله به افزایش سنتز پروتئین و RNA در کلیه این جانوران مرتبط می باشد (۱۶). مسمومیت با سرب در حیوانات آزمایشگاهی به وسیله کاهش نسبت فیلتراسیون گلومرولی و نفروپاتی در لوله های خمیده نزدیک، مشخص می شود (۱۷) و (۱۸).

از جمله نتایج به دست آمده در این تحقیق افزایش وزن بدن و کلیه می تواند به دلیل تجمع سرب در اندام های مختلف بدن باشد. در این مطالعات محققان دلیل افزایش وزن کلیه را آماس و تکثیر سلول های بافت کلیه دانستند. به نحوی که در مطالعات پاتولوژیک این تحقیق نیز این مسئله به قوت خود در گروه کنترل نشان داده شده است (۱۹)؛ بنابراین نتایج به دست آمده هم راستا با مطالعات قبلی از جمله ویسکوسیل و همکاران می باشد.

از طرف دیگر استات سرب یک عامل پراکسیداسیون است و آسیب پراکسیداسیون به لیپیدهای غشای سلولی منجر به آسیب پذیر شدن و نفوذپذیری غشاء و در نهایت منجر به تخریب بافت توبولی کلیه می شود. به نحوی که پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی و آتروفی بافت کلیه، مانع از کارکرد صحیح کلیه شده و در نتیجه غلظت فاکتورهای دفعی از کلیه در سرم خون افزایش می یابد (۱۹). محققان در مطالعات متعدد گذشته وجود ترکیبات آنتی اکسیدان را دلیلی بر کنترل عوارض و

References

1. Sanchez S, Aguilar RP, Genta S, Aybar M, Villecco E, Riera AS, et al. Renal extracellular matrix alterations in lead-treated rats. *J APPL Toxicol*; 2001. 21(5):417-23.
2. Flora G, Gupta D, Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip Toxicol*; 2012. 5(2):47-58
3. Johari H, Sharifi E, Delimasab F, Hemayatkhah V, Kargar H, Nikpoor M. [The effect of hydroalcoholic extracts of ginger on lead detoxification of kidney in the immature wistar rats]. *J Rafsanjan Univ Med Sci*; 2013. 12:417-24. [Persian].
4. Othman AI, El Missiry MA. Role of selenium against lead toxicity in male rats. *J Biochem Mol Toxicol*; 1998. 12:345-349.
5. Johari H. [The effect of garlic (*allium sativum*) extract on lead detoxification in kidney tissue of neonatal rat]. *J Kerman Univ Med Sci*; 2013. 20:31-39. [Persian].
6. Raeeszadeh M, Mortazavi P, Khademi N, Falah MM. [The effect of the different concentrations of aqueous extracts of *Origanum vulgare* in subacute damage of oxidative stress caused by cadmium in kidney of rat]. *JCP*; 2017. 14(3):2257-66. [Persian].
7. Lemoine, Civello P, Chaves A, Martinez G. Hot air treatment delays senescence and maintains quality of fresh cut broccoli florets during refrigerated storage. *Lwt-Food Sci Technol*; 2009. 42:1076-81.
8. Koh E, Wimalasiri KMS, Chassy AW, Mitchell AE. Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *J Food Compost Anal*; 2009.10:521-526.
9. Verma S, Mishra SN. Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system. *J. Plant Physiol*; 2005. 162: 669-77.
10. Qaderi Forough M, Raeeszadeh M, Amiri A. [Dose-response changes of *Brassica oleracea* var. *italica* hydroalcoholic extract in the control of oxidative stress by induction of diazinon on the cells of testicular tissue in male adult rat]. *J Rafsanjan Univ Med Sci*; 2017. 16(7):593-604. [Persian].
11. Laamech J, El-hilaly J, Fetoui H, Chtourou Y, Tahraoui A, Lyoussi B. Nephroprotective effects of *Berberis vulgaris* L. total extract on lead acetate-induced toxicity in mice. *Indian J Pharm Sci*; 2016. 78(3):326-33.
12. Sadeghi-Hashjin G, Dehrouye M, Arab H, Mohammadyar L. [Effect of chronic lead intoxication on risky behavior in mice]. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci*; 2010. 18(3):159-63. [Persian].

پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی و کبدی، هیچ‌گونه علائم مسمومیت دیده نشد، به‌نحوی که می‌توان با توجه به نتایج این مطالعه عصاره هیدروالکلی بروکلی را یکی از ترکیبات گیاهی با اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی در برابر اکسیدان‌ها ازجمله سرب دانسته به‌نحوی که دارای ایمنی و سلامتی بالایی نیز می‌باشد (۲۲).

در این مطالعه نیز با توجه به پتانسیل‌های ویژه عصاره اتانولی بروکلی، می‌توان به اهمیت این عصاره مخصوصاً در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کنترل در کنترل عوارض اکسیداتیو سرب در بافت کلیه و کنترل ضایعات پاتولوژیک اشاره نمود.

باشا و همکاران در مطالعات خود کلسیم را سبب تغییر معکوس اثرات سرب در بدن دانستند؛ بنابراین با توجه به کلسیم بالای موجود در عصاره بروکلی می‌توان بر تغییرات مثبت ایجاد شده در کلیه توسط عصاره هیدروالکلی کلم بروکلی در حضور استات سرب نیز علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانی اشاره نمود (۲۳). به‌نحوی که در این راستا، امتیاز آسیب‌های بافت کلیه از شدت بالای ۷ در گروه کنترل به امتیاز ۲ در گروه عصاره ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش یافت. وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان در عصاره بروکلی و همچنین وجود کلسیم بالا می‌تواند آسیب‌های وارده به کلیه توسط سرب را کنترل نموده و سبب بهبود عملکرد کلیه شود.

با توجه به اهمیت و فراوانی فلزات سنگین ازجمله سرب در اکوسیستم‌ها و آسیب آن به سیستم‌های زنده می‌توان با توجه به پتانسیل‌های بی‌نظیر آنتی‌اکسیدانی بروکلی در کنترل این عوارض در بافت کلیه توجه ویژه نمود، به‌نحوی که در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بهترین پتانسیل نفروپروتکتیو را از خود در موش سوری نشان داد. با اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی کلیه و سایر فاکتورهای استرس اکسیداتیو می‌توان به نتایج کامل‌تری در این خصوص دست یافت.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج به شماره ۱/۹۳۹ بوده که با حمایت مالی این سازمان به انجام رسید.

13. Renugadevi J, Milton Prabu S. Naringenin protects against cadmium induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*; 2009. 256:128-34.
14. Yngo J. Garcia, Antonio J, Rodríguez-Malaver, NancyPeñaloza. Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. *J Neurosci Meth*; 2005. 144(1):127-35.
15. Pisoschi AM, Negulescu GP. Methods for total antioxidant activity determination: A Review. *Biochem Anal Biochem*; 2011. 1(1):1-10.
16. Choie DD, Richter GW. Cell proliferation in rat kidneys after prolonged treatment with lead. *Am J Pathol*; 2000. 65:359-70.
17. Goyer RA. Lead toxicity: a problem in environmental pathology. *Am J Pathol*; 2005. 62:161-79.
18. Wedeen RP, Maesaka JK, Weiner B. Occupational lead nephropathy. *Am J Med*; 1988. 59: 630-41.
19. Vyskocil A, Cizkova M, Tejnorva I. Effects of prenatal and postnatal exposure to lead on kidney function in male and female rats. *J Appl Toxicol*; 1995. 15:327-8.
20. Ramurthy V, Durga K. Studies on ethanolic extract of brassica oleracea L. Var (BROCCOLI) and their effect on dalda induced albino rats. *Global J Res Analays*; 2017. 6(3):593-6.
21. Upadhyay R, Sehwaig S, Singh SP. Antioxidant activity and polyphenol content of Brassica oleracea varieties. *Int J Vegetables Sci*; 2015. 22(4):353-63.
22. Shah M A, Sarker MMR, Gousuddin M. Toxicity study of Brassica oleracea var. italica extracts in sprague dawley (SD) rats. *Int J Pharmacog Phytochem Res*; 2016. 8(5):735-41.
23. Basha DC, Rani MU, Devi CB, Kumar MR, Reddy GR. Perinatal lead exposure alters postnatal cholinergic and aminergic system in rat brain: Reversal effect of calcium co-administration. *Int J Dev Neurosci*; 2012. 30:343-50.