



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 سنترج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنترج، 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 میلی‌گرم 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 اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: در پایان مطالعه وزن موش‌ها و وزن کلیه در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داشت. غلظت مالون دی‌آلدئید در گروه‌های کنترل T1، T2 و T3 به ترتیب شامل $34/87 \pm 2/56$ ، $27/98 \pm 3/056$ و $16/86 \pm 4/854$ میکرومول بر میلی‌لیتر شد. اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه کنترل با گروه T2 و T3 دیده شد. بیشترین غلظت طرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم در گروه $121/23 \pm 3/34$ میکرومول بر میلی‌لیتر شد. این اختلاف بین گروه کنترل با گروه‌های T1، T2 و T3 معنی‌دار شد. در مطالعات پاتولوژیک و کلیه چهارمین آسیب بافت کلیه در گروه کنترل با امتیاز ۷ و کمترین در گروه T3 دیده شد.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی بروکلی در ۳۰۰ میلی‌گرم 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 سنترج، سنترج، ایران

شیوه استناد به این مقاله:

Raeeszadeh M, Mortazavi P. The study of the effect of hydroalcholic 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.



Original Article

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

© Mahdieh Raeiszadeh, 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 $\mu\text{mol}/\text{ml}$, 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 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ 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:

Raeiszadeh M, Mortazavi P. The study of the effect of hydroalcholic 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.



مقاله پژوهشی

مقدمه

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 (alfa-tocopherol)، ویتامین C (ascorbic acid)، فلاونوئیدها (کورستین و کامپفرون)، کاروتونوئیدها (کاروتون و لوتئین) و گلوكوسینات‌ها است (۸). پلی فنل‌های موجود در کلم بروکلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌توانند به عنوان خشک‌کننده‌های 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 خشک کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) از آسیب‌های احتمالی آن بر سرول، 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 هیدرولکلی بروکلی در کنترل استرس اکسیداتیو القای 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 سنتنچ در بهار ۱۳۹۵، در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت $45-50\%$ 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 500 PPm استات سرب (سیگما

به دلیل استفاده صنعتی وسیع از سرب در تولید لوله‌ها، رنگ‌ها، باطری‌ها، لحیم‌کاری و افزاینده‌های سوخت، سرب به عنوان یکی از خطرات زیستی و شغلی به حساب می‌آید. مسمومیت با سرب در سیستم عصبی، کلیه، تولید مثل 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 واسطه 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 واکنش پذیر ROS- Reactive oxygen species آنتی‌اکسیدانی است (۲).

مطالعات نشان می‌دهد که تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها بر رفع مسمومیت ناشی از سرب در بافت کلیه مؤثر است. از جمله تجویز عصاره زنجبل 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 $4/40$ 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 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثرات آنتی‌اکسیدانی از آسیب اکسیداتیو کادمیوم در کلیه موش صحرایی جلوگیری می‌کند (۶). *Brassica oleracea L. cv Italica* (کلم بروکلی)

در حال جوش قرار گرفتند و پس از خروج از بن‌ماری خنک شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر ۱۱-بوتanol افزوده شد. جذب نمونه‌ها در برابر شاهد به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر 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 (FRAP) reducing ability of plasma (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(2-pyridyl)-FeII triazine(TPTZ)-FeIII 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 ۱۰۰۰-۱۰۰ 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 نگهداری شد. پس از صاف کردن عصاره با کاغذ صافی (Germany-whatman) اتانول از محلول به وسیله دستگاه روتاری تحت خلا (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 30.0 ± 0.421 گرم و بیشترین در گروه کنترل 31.40 ± 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 PPm ۵۰۰ 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 خون گیری انجام شده و سرم برای اندازه‌گیری ظرفیت تام سرم مورد استفاده قرار گرفت. سپس حیوانات به صورت انسانی با کتابخانه زایلزین معده 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 – اوزین انجام شد (۱۲).

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

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

برای رسم منحنی استاندارد از محلول استوک مالون دی‌آلدئید ۱۰۰۰ میکرومول استفاده شد. ۱۶/۴ میلی‌لیتر از این استوک برداشته در اrlen ۱۰۰ ریخته و به وسیله اسید سولفوریک (۱٪ حجمی/حجمی) به حجم رسانده شد. غلظت‌های ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۰/۵۶، ۳، ۶، ۱/۵۶، ۰/۷۸، ۰/۳۹، ۱۰۰، 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 مالون دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفت و در لوله‌های جداگانه ریخته شد. به هر لوله ۱۲۰۰ میکرولیتر معرف تیوباربیتوريک اسید (۰/۶۷٪ وزنی/حجمی) اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری (WB-22 ساخت کمپانی Memmert آلمان)

جدول ۱- بررسی وزن موش‌ها در روز اول و آخر مطالعه در گروه‌های مختلف

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

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

گروه کنترل: دریافت آب حاوی ۵۰۰ PPM استات سرب

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

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

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

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد وزن، طول و قطر کلیه راست در موش‌های مورد مطالعه در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	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±۰/۴۷ ^a
T1	۰/۱۸۳±۰/۰۰۳ ^a	۱۰/۲۱±۰/۰۶۰ ^a	۵/۲۴±۰/۰۹۶ ^b
T2	۰/۱۷۸±۰/۰۰۴ ^a	۱۰/۲۱±۰/۰۸۳ ^a	۵/۶۶±۰/۱۳۳ ^b
T3	۰/۱۷۴±۰/۰۱۲ ^a	۱۰/۱۲±۰/۰۸۶ ^a	۵/۴۸±۰/۰۵۶ ^b

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

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

در ارتباط با ضایعات پاتولوژیک مورد بررسی که شامل نفوذ سلول‌های التهابی، دئنراسیون و نکروز لوله‌های ادراری بود بر اساس جدول شماره ۴ درجه‌بندی بین گروه‌های مختلف صورت پذیرفت. بیشترین آسیب بر اساس جمع امتیازات به دست آمده به گروه کنترل و به ترتیب در گروه‌های T1، T2 و T3 با امتیاز ۵، ۴ و ۲ بافت کلیه موش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج آزمون ناپارامتریک کروسکال

گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. 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 معنی‌داری در وزن کلیه بین گروه‌های مختلف آزمایش دیده نشد. طول کلیه راست کمترین در گروه کنترل برابر با ۱۰/۰۶ میلی‌متر بوده که اختلاف آماری معنی‌داری بین طول کلیه راست در گروه T1 با گروه کنترل وجود داشت. عرض کلیه راست در گروه کنترل با متوسط ۵/۹۳ میلی‌متر و در گروه T1 با متوسط ۵/۲۴ میلی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین وزن را به خود اختصاص داده است. اختلاف آماری معنی‌داری 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 موش‌های مورد مطالعه در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	وزن کلیه چپ (گرم)	طول کلیه چپ (میلی متر)	عرض کلیه چپ (میلی متر)
گروه کنترل	۰/۱۹۰±۰/۰۰۶	۱۰/۰۶۰±۰/۰۶۱	۵/۸۹±۰/۰۷۹
T1	۰/۱۸۵±۰/۰۰۷	۱۰/۱۰±۰/۰۵۱	۵/۴۳±۰/۰۲۳۶
T2	۰/۱۷۳±۰/۰۰۷	۱۰/۱۶±۰/۰۴۲	۵/۷۱±۰/۱۹۹
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 گروه‌ها است.

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

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

و T3 دیده شد.

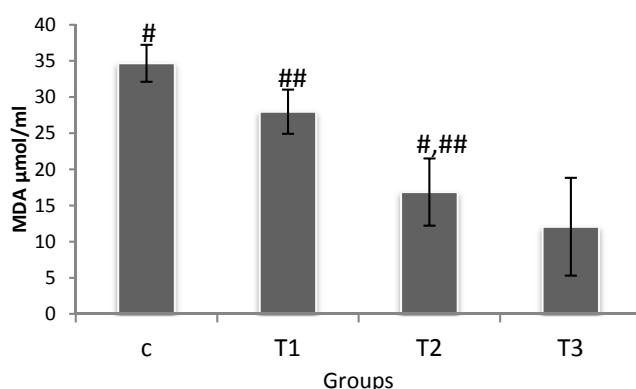
در خصوص ظرفیت آنتی اکسیدانی قام سرم در نمودار ۲، بیشترین غلظت در گروه T3/۱۲۱ 10.34 ± 2.3 و کمترین در گروه کنترل با میزان 70.9 ± 7.0 میکرومول بر میلی لیتر شد. این اختلاف بین گروه کنترل با گروه های T3، T2، T1 معنی دار شد.

والیس در ارتباط با سه شاخص نفوذ سلول های التهابی، دزناسیون 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.

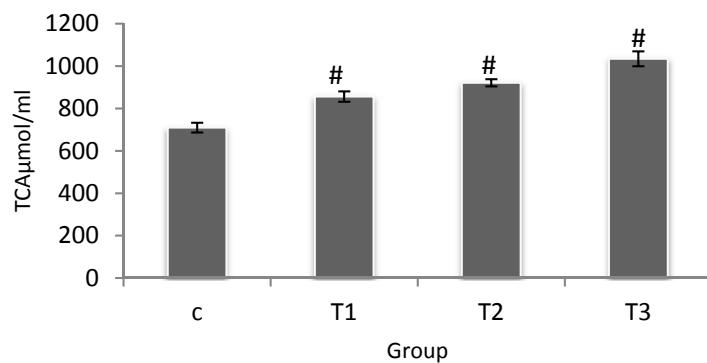
بر اساس نمودار ۱، غلظت مالون دی آلدئید در گروه های کنترل، T1، T2 و T3 به ترتیب شامل $34/67 \pm 2/56$ ، $27/98 \pm 3/056$ ، $34/86 \pm 4/654$ و $16/86 \pm 6/765$ میکرومول بر میلی لیتر بوده است. اختلاف آماری معنی داری بین گروه کنترل با گروه T2

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



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 (۵-۳). 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 تمام سرم در دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره بروکلی در کنترل آسیب اکسیداتیو سرب در بافت کلیه است.

در مطالعه رامورتی در سال ۲۰۱۷، ترکیبات دیگری از جمله فلاونوئیدی، گلیکوزیدی و آلkalوئیدی 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 تمام سرم در گروه های تیمار نسبت به کنترل و تحقیقات گذشته می توان عصاره بروکلی را دارای پتانسیل بسیار خوب آنتی اکسیدانی در مواجه با اثرات اکسیدان سرب در بدن و مخصوصاً کلیه دانست.

در مطالعه ای که شاه و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام دادند در دوز های ۳۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم 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 نفropاتی 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 پذیرشدن و نفوذ پذیری 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

- 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.
- Flora G, Gupta D, Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip Toxicol*; 2012. 5(2):47-58
- Johari H, Sharifi E, Delirnasab 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].
- Othman AI, El Missiry MA. Role of selenium against lead toxicity in male rats. *J Biochem Mol Toxicol*; 1998. 12:345-349.
- 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].
- 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].
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 Uni Med Sci*; 2017. 16(7):593-604. [Persian].
- 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.
- 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 بیوشیمیابی 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 از جمله 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 وارد به کلیه توسط سرب را کنترل نموده و سبب بهبود عملکرد کلیه شود.

با توجه به اهمیت و فراوانی فلزات سنگین از جمله 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 بیوشیمیابی 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 سندج 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, Nancy Peñaloza. 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 albaino rats. *Global J Res Analays*; 2017. 6(3):593-6.
21. Upadhyay R, Sehwag 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. italicica 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.