

بررسی اثر حفاظتی لوتئولین بر عارضه کولمیک نفروپاتی در موش‌های صحرایی کلستاتیک

ایرج سلیمی کیا^۱، شادی شیخ‌الاسلامی^۲، علی غفاریان بهرمان^۳، مهسا محمدی^۴، مصطفی دارابی‌نژاد^۵، حمیدرضا محمدی^{۶*}

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۸/۲۷

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: کولمیک نفروپاتی یکی از عوارض مهم و جدی در شرایط آسیب‌های مزمن کبدی و بسته شدن مجاری صفراوی است. پیدا کردن راهکارهای دارویی جهت تخفیف این عارضه و یا جلوگیری از بروز آن می‌تواند از اهمیت بالینی برخوردار باشد. از آنجاکه لوتئولین یک آنتی‌اکسیدان است و یکی از مکانیسم‌های ایجاد کولمیک نفروپاتی القا استرس اکسیداتیو است، این پژوهش با هدف بررسی اثر حفاظتی لوتئولین (LUT) بر عارضه کولمیک نفروپاتی در موش‌های صحرایی کلستاتیک طراحی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۵۰ رت نر از نژاد ویستار استفاده شد. القای کلستاز از طریق بستن مجاری مشترک صفراوی (BDL) انجام شد. رت‌ها به‌صورت تصادفی در ۵ گروه ۱۰ تایی به شرح ذیل تقسیم شدند؛ یک گروه کنترل، یک گروه BDL، گروه‌هایی که علاوه بر BDL دوزهای مختلف LUT (۱۵۵، ۳۰ و ۱۵۵ mg/kg/day) روزانه به‌صورت گاوژ برای مدت ۱۴ روز دریافت کردند. پس از پایان این مداخله تأثیر القای کلستاز و اثرات حفاظتی LUT بر فاکتورهای سرمی، ادرار و شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه موردبررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی حاضر نشان داد که سطح شاخص‌های سرمی (BUN و Cr)، استرس اکسیداتیو (MDA و ROS) در موش‌های کلستاتیک نسبت به گروه‌های کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.001$). همچنین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (CAT, SOD, GPx) در موش‌های کلستاتیک نسبت به گروه‌های کنترل به‌طور معناداری کاهش یافته بود ($P < 0.001$).

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که LUT می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یک کاندید امیدوارکننده برای پیشگیری و درمان آسیب کلیوی ناشی از کلستاز شود.

کلیدواژه‌ها: استرس اکسیداتیو، کولمیک نفروپاتی، کلستاز، لوتئولین

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره هفتم، ص ۵۷۸-۵۶۸، مهر ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران، تلفن: ۰۹۱۰۱۶۰۹۲۰۴

Email: hamidrezamohammadi65@yahoo.com

مقدمه

صفراوی سنتز شده در کبد، در ابتدا در صفرا ذخیره می‌شوند و در صورت لزوم به روده ترشح می‌شوند. در روده، اسیدهای صفراوی نقش مهمی در امولسیون، هضم و جذب چربی‌های غذایی و ویتامین‌های محلول در چربی دارند (۲). در روده، مقدار بسیار کمی اسیدهای صفراوی با مدفوع دفع می‌شود، درحالی‌که بیشتر اسیدهای صفراوی به‌طور فعال توسط سلول‌های انتروسیت روده‌ای به سمت

کبد ارگان اصلی در تنظیم هموستاز متابولیسم بدن است. به‌طوری‌که نقش عمده‌ای را در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، آمینواسیدها، لیپیدها در بدن دارد. همچنین، کبد نقش مهمی در تنظیم ذخیره گلیکوژن، تجزیه گلبول‌های قرمز خون، تولید هورمون‌ها و تولید اسیدهای صفراوی دارد (۱). اسیدهای

^۱ دانشیار فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

^۲ دانشجوی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

^۳ استادیار سم شناسی و داروشناسی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات محیط کار، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

^۴ کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

^۵ داروساز عمومی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

^۶ استادیار فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران (نویسنده مسئول)

مواد و روش کار

در این مطالعه آنتی اکسیدان لوتئولین از شرکت سیگما آلدریج خریداری شد. کیت‌های مخصوص مورد استفاده در این مطالعه نیز از شرکت زیست‌شیمی تهران تهیه شد. مطالعه حاضر در تابستان ۱۴۰۲ بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سه‌ماهه با وزن بین ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم که به‌صورت تصادفی انتخاب شده بودند، صورت گرفت. کلیه ملاحظات اخلاقی در خصوص رفتار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. برای ایجاد کلستاز از فن جراحی انسداد مجاری صفراوی (BDL) استفاده شد (۱۷). بدین ترتیب که ابتدا موش‌ها با تزریق ۱۰ mg/kg زایلازین و ۷۰ mg/kg کتامین به‌صورت داخل صفاقی بی‌هوش شدند، برش میانی انجام شد و محل مجرای مشترک صفراوی مشخص شد. سپس دو سر مجرای مشترک صفراوی بسته و قسمت میانی دو طرف مجرای بسته‌شده برش زده شد. این امر منجر به نارسایی در ترشح صفرا شده و به کلستاز منتهی می‌شود. با پیشرفت زمان و آسیب‌های ناشی از تجمع اسیدهای صفراوی سمی در کبد، فیبروز ایجاد شده در این ارگان گسترش یافته و کلستاز رخ داد (۱۸). عمل جراحی گروه کنترل شامل جراحی شکم و شناسایی مجرای صفراوی بدون بستن آن بود. رت‌های خریداری‌شده در ۵ گروه ۱۰ تایی به شرح ذیل تقسیم شدند؛ گروه کنترل، گروه BDL، گروه موش‌های BDL دریافت‌کننده LUT به میزان ۵ mg/kg/day، گروه موش‌های BDL دریافت‌کننده LUT به میزان ۱۵ mg/kg/day و در نهایت گروه موش‌های BDL دریافت‌کننده LUT را به میزان ۳۰ mg/kg/day بودند. انتخاب دوزهای ۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بر اساس مطالعات قبلی که اثرات محافظتی این دوزها را در مدل‌های مختلف آسیب کبدی نشان داده‌اند، صورت گرفت. موش‌های به‌صورت خوراکی و به مدت ۱۴ روز تحت رژیم درمانی LUT قرار گرفتند (۹، ۱۹). ۲۴ ساعت بعد از پایان درمان، ابتدا از موش‌ها خون‌گیری و سپس قسمتی از بافت کلیه جدا، و جهت انجام آزمایش‌های مربوطه در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد نمونه خون جمع‌آوری‌شده در لوله‌های حاوی هپارین به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و پلاسما آن جدا شد. یک گرم از بافت کلیه ذخیره‌شده به‌وسیله دستگاه هموژنایزر ۹ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات (PH=7/4 و ۱۰ میلی مولار) هموژنه شد و برای بررسی اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو؛ میزان ROS، مالون دی آلدئید (MDA) و بررسی فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPX استفاده شد. همچنین، پلاسما جداسازی شده برای اندازه‌گیری اوره (BUN) و کراتینین (Cr) مورد استفاده قرار گرفت. از نمونه ادرار جهت اندازه‌گیری گلوکز (Glu) و پروتئین (Pro) با استفاده از کیت آزمایشگاهی مخصوص استفاده شد. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

خون پورتال بازجذب می‌شوند و در نهایت به کبد باز می‌گردند (۳). در شرایط کلستاز که ترشح صفرا به داخل روده دچار اختلال می‌شود (۴). از آنجاکه صفرا از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود که در نتیجه افزایش صفرا در سرم و رسیدن آن‌ها به بافت‌هایی مانند کلیه، منجر به عارضه‌ای بنام کولمیک نفروپاتی می‌شود (۵). کولمیک نفروپاتی، به یک اختلال عملکرد کلیه در بیماری‌های کبدی کلستازیک یا پیشرفته همراه با یرقان اطلاق می‌شود (۶). با توجه به اینکه از مکانیسم‌های دخیل در القا کلستازیس و در نتیجه آن کولمیک نفروپاتی، القا استرس اکسیداتیو است و در تحقیقات اخیر اثبات شده است (۷-۹) بنابراین درمان دارویی در جهت کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد حیاتی کلیه در بدن، ضروری است. به‌طور کلی مطالعات اخیر نشان داده است که ترکیبات مولکولی کوچک مشتق شده از محصولات طبیعی می‌تواند اثرات درمانی خوبی بر درمان مشکلات کلیوی داشته باشند (۱۰). در کنار آنتی اکسیدان‌های کلاسیک، ترکیبات فنولیک به‌عنوان آنتی اکسیدان‌های مهم در گیاهان شناخته شده‌اند (۱۱). مطالعات نشان می‌دهد س مواد آنتی اکسیدانی طبیعی هستند که در بسیاری از گیاهان، میوه‌ها و سبزی‌ها به مقدار فراوان یافت می‌شوند (۱۲)، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها به دلیل خواص احیاکنندگی و دهنده‌گی گروه هیدروکسیل، نقش مهمی در جذب و خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به‌ویژه رادیکال‌های پراکسیدها دارند (۱۴).

لوتئولین (۳، ۴، ۵، ۷-تتراهیدروکسی فلاون) عضو مهمی از خانواده فلاونوئیدها است و به‌صورت گلیکوزیده در کرفس، فلفل سبز، برگ پره و جای بابونه و غیره وجود دارد (۱۴). LUT دارای گروه‌های هیدروکسیل در موقعیت‌های ۳، ۴، ۵ و ۷ و یک پیوند مضاعف در موقعیت ۲ است که مهم‌ترین قسمت‌های ساختار آن محسوب می‌شوند و وظیفه انجام فعالیت‌های مختلف بیوشیمیایی و بیولوژیکی را بر عهده دارند. گزارش شده است که دارای خواص ضدالتهابی یا ضد آلرژی (۴۰) و آنتی اکسیدان است (۱۵). فعالیت آنتی اکسیدانی LUT شامل فعالیت ضدالتهابی ضد سرطانی LUT از طریق کنترل رادیکال‌های آزاد اعمال می‌شود. بنابراین، اثرات LUT به‌عنوان یک آنتی اکسیدان قوی شناخته شده است (۱۵، ۱۶). مطالعات فارماکولوژیکی نشان می‌دهد که LUT در حفاظت از DNA در برابر H₂O₂ نقش داشته و اثرات آنتی اکسیدانی در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد دارد (۱۵). از آنجاکه لوتئولین یک آنتی اکسیدان است و استرس اکسیداتیو از علل اصلی کولمیک نفروپاتی است پس بنابراین هدف از این مطالعه اثرات حفاظت و دارویی LUT بر عارضه کولمیک نفروپاتی ایجادشده در مدل Bile duct ligation (BDL) در موش‌های صحرایی نر است.

یافته‌ها

مطالعه‌ی حاضر به بررسی تأثیرات تجویز لوتئولین (LUT) به‌عنوان یک ماده‌ی آنتی‌اکسیدان شناخته شده، بر کولمیک نفروپاتی ناشی از کلستاز پرداخته است.

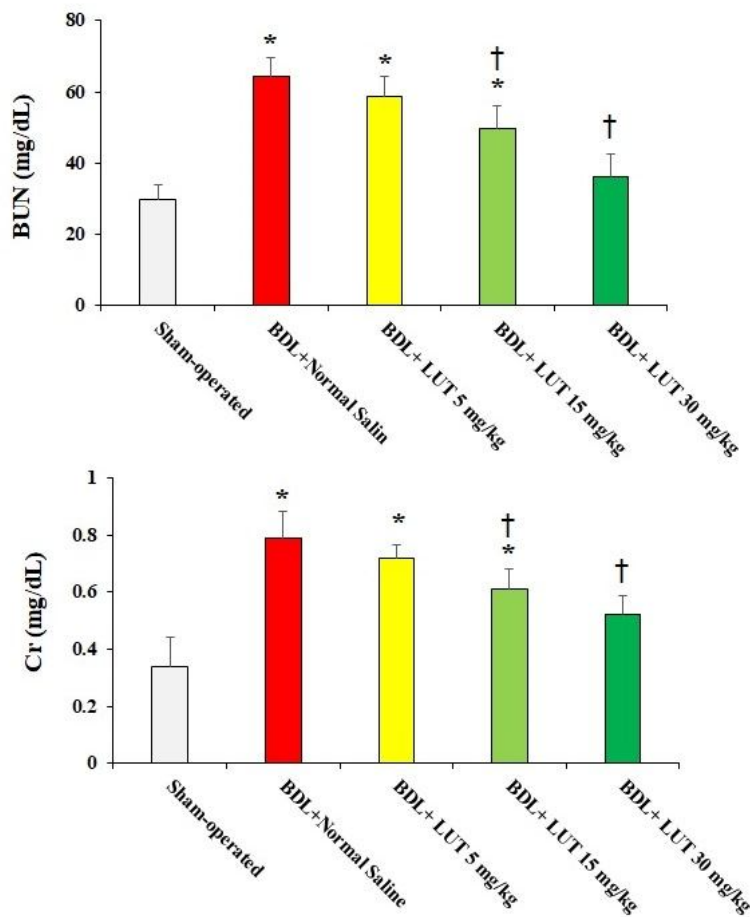
تغییرات بیوشیمیایی سرم در حیوانات کلستاتیک و تأثیر تجویز لوتئولین

آسیب کلیوی با تعیین بیومارکرهای سطح سرمی مورد ارزیابی قرار گرفت. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، سطوح پلاسمایی BUN و Cr در گروه کلستاتیک نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($P < 0.001$) و تزریق LUT در دوز ۳۰ mg/kg موجب اثرات بهبود دهنده‌ی بر مارکرهای آسیب‌های کلیوی شد ($P < 0.01$).

SOD، GPX و CAT در بافت هموزنه کلیه با استفاده از کیت‌های زیست‌شیمی و بر اساس دستورالعمل کیت اندازه‌گیری شد. کلیه دستگاه‌های مورد استفاده شامل اسپکتروفتومتر و فلوریتر قبل از انجام آزمایش‌ها طبق دستورالعمل سازنده کالیبره شدند. برای کالیبراسیون اسپکتروفتومتر از محلول‌های استاندارد با غلظت‌های مشخص و برای فلوریتر از منحنی استاندارد فلورسین استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به‌وسیله آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و سپس تست مقایسه چندگانه Tukey تجزیه و تحلیل آماری خواهند شد. میزان $P < 0.05$ به‌عنوان اختلاف معنادار در نظر گرفته می‌شود.

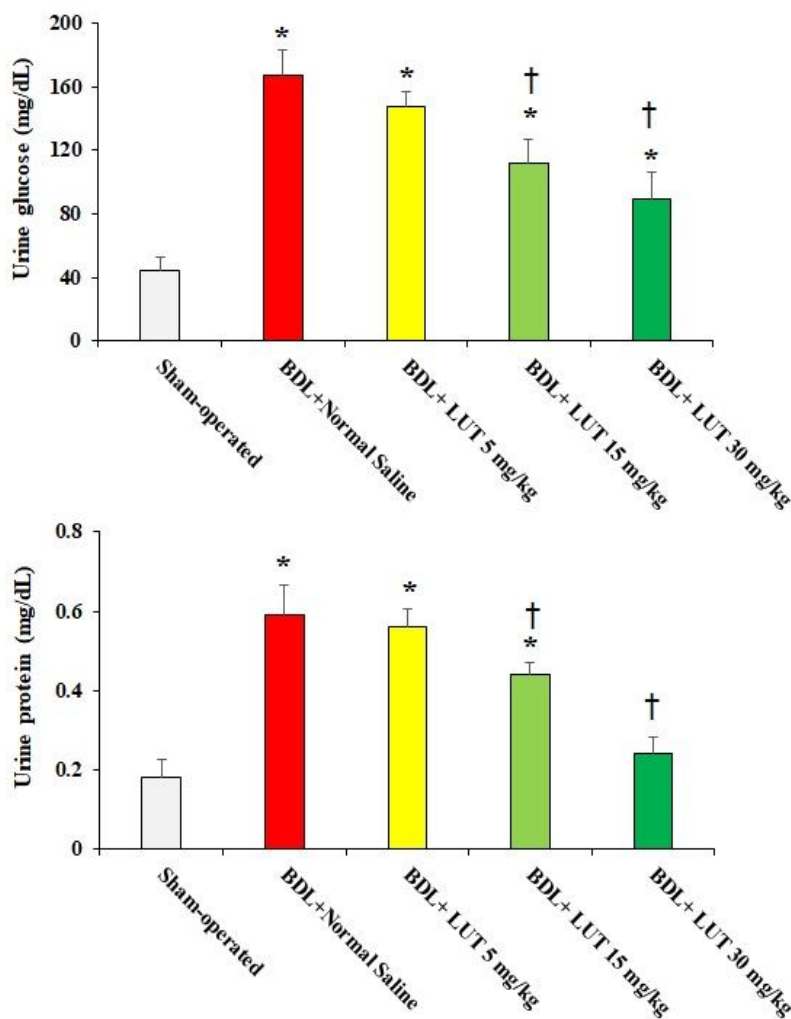


نمودار (۱): تغییرات بیوشیمیایی سرم در حیوانات کلستاتیک (۱۴ روز پس از عمل جراحی BDL) و تأثیر تجویز لوتئولین. داده‌ها به‌صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ برای ده حیوان در هر گروه نمایش داده شده‌اند. * نشان‌دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل است ($P < 0.001$). † نمایانگر تفاوت معنادار در مقایسه با گروه BDL است ($P < 0.001$).

تغییرات بیوشیمیایی ادرار در حیوانات کلستاتیک و تأثیر تجویز لوتئولین

به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($P < 0.001$) و تزریق LUT در دوزهای ۱۵ و ۳۰ mg/kg موجب اثرات بهبود دهنده‌ی بر مارکرهای آسیب‌های کلیوی شد ($P < 0.05$).

همان‌طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است، سطوح پلاسمایی Pro و Glu در گروه کلستاتیک نسبت به گروه کنترل



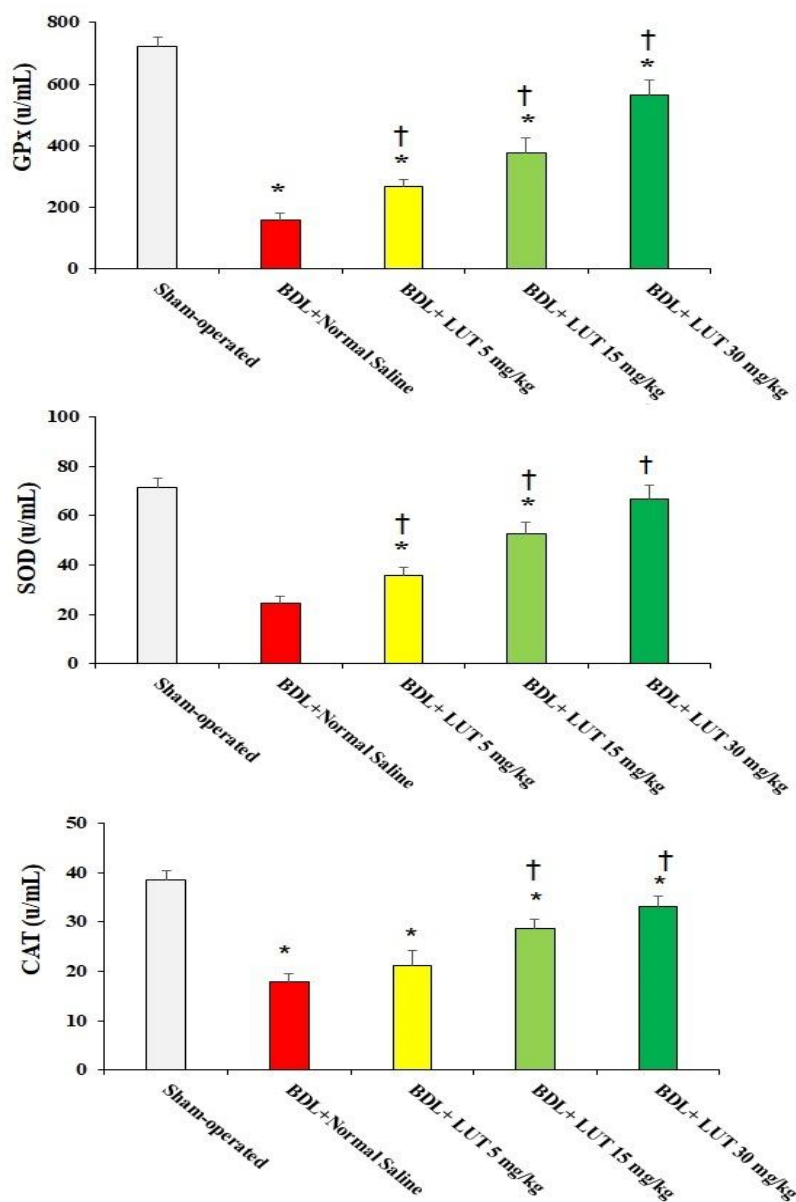
نمودار (۲): تغییرات بیوشیمیایی ادرار در حیوانات کلستاتیک (۱۴ روز پس از عمل جراحی BDL) و تأثیر تجویز لوتئولین. داده‌ها به‌صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ برای ده حیوان در هر گروه نمایش داده شده‌اند. * نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل است ($P < 0.001$). † نمایانگر تفاوت معنادار در مقایسه با گروه BDL است ($P < 0.001$).

بررسی فعالیت آنزیم GPX, SOD, CAT بافت کلیه در

گروه‌های مختلف مورد مطالعه و بررسی تأثیر لوتئولین

معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.001$). از سوی دیگر، تجویز LUT در دوزهای ۱۵ و ۳۰ mg/kg در گروه کلستاتیک منجر به افزایش معنی‌دار بر بهبود فعالیت این آنزیم‌ها شد.

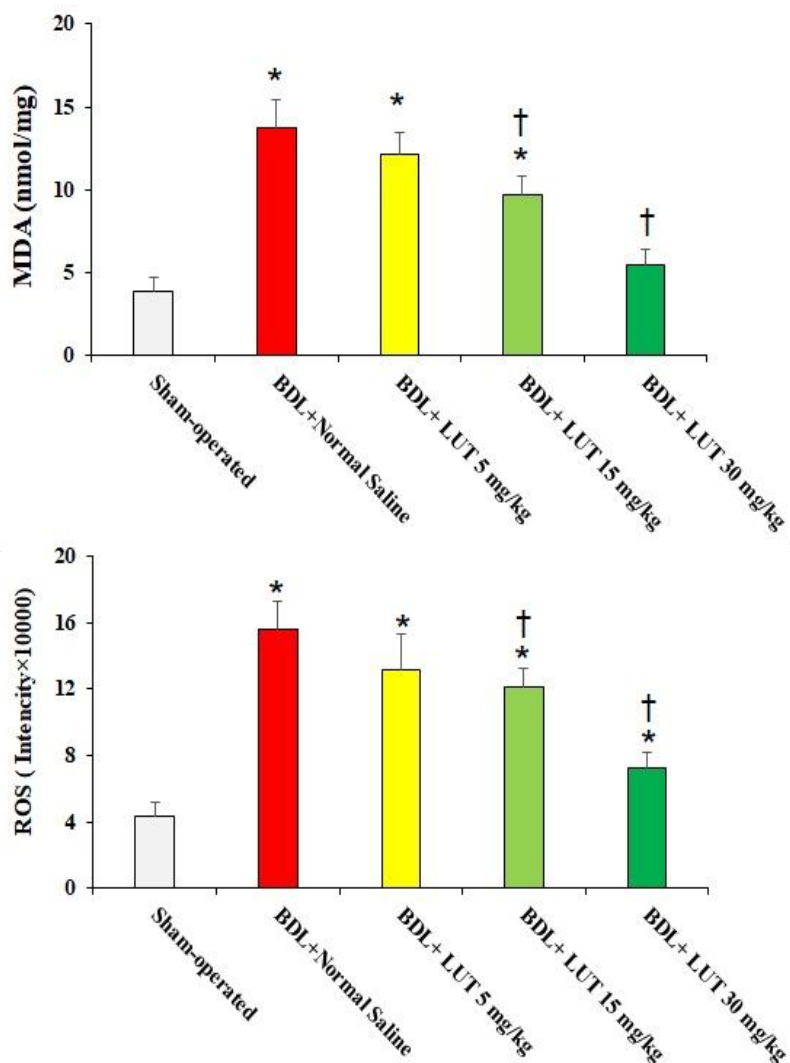
با توجه به نمودار ۳، میزان فعالیت آنزیم‌های کلیوی CAT، SOD و GPX در گروه کلستاتیک نسبت به گروه کنترل به‌طور



نمودار (۳): بررسی فعالیت آنزیم GPX, SOD, CAT یافت کلیه در گروه‌های مختلف مورد مطالعه و بررسی تأثیر لوتئولین بر آن. داده‌ها به‌عنوان Mean±SD برای ده حیوان در هر گروه نمایش داده شده است. * نشان‌دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل است (P < 0.001). † نمایانگر تفاوت معنادار در مقایسه با گروه BDL است (P < 0.001).

ROS (P < 0.001) و پراکسیداسیون لیپیدی (P < 0.001) در حیوانات کلستاتیک می‌شود. دیده شد که استفاده از LUT به‌عنوان یک راهکار درمانی در حیوانات با مجاری صفراوی بسته شده باعث کاهش قابل‌توجه مارکرهای استرس اکسیداتیو و عوارض وابسته به آن در حیوانات کلستاتیک می‌شود.

بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو یافت کلیه در گروه‌های مختلف مورد مطالعه و بررسی تأثیر لوتئولین
یافته‌های حاضر در نمودار ۴ نشان داد که بستن مجاری صفراوی در موش‌های صحرایی موجب افزایش قابل‌توجه تولید



نمودار (۴): بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه در گروه‌های مختلف مورد مطالعه و بررسی تأثیر لوتولین بر آن. داده‌ها به‌عنوان $SD \pm \text{Mean}$ برای ده حیوان در هر گروه نمایش داده شده است. * نشان‌دهنده تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل است ($P < 0.001$). † نمایانگر تفاوت معنادار در مقایسه با گروه BDL است ($P < 0.001$)

بحث و نتیجه‌گیری

هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر تجویز LUT بر عارضه کولمیک نفروپاتی ناشی از بستن مجاری صفراوی است. ایجاد مدل BDL در موش‌های صحرایی با افزایش سطح بیومارک‌های سرمی (BUN و Cr)، ادراری (Pro و Glu)، استرس اکسیداتیو (ROS و MDA) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همراه بود. همچنین، درمان با دوزهای مختلف LUT موجب بهبود نشانگرهای سرمی، ادراری و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی تحت

آسیب کلیوی ناشی از کلستاز شد. در مطالعه‌ای که توسط Balwant Kaler همکاران به بررسی تأثیر افزایش اسیدهای صفراوی در سرم بر عملکرد کلیوی در موش‌های صحرایی پس از گذشت ۱۵ روز از عمل BDL در این حیوانات پرداختند. به این نتیجه رسیدند که اختلال عملکرد کلیه و تغییرات بافت‌شناسی قابل‌توجه در توپول‌های پروکسیمال بعد از ۳ تا ۴ روز پس از عمل BDL بود. همچنین، این تغییرات بیوشیمیایی و عملکردی در بالاترین غلظت پلاسمایی و ادراری اسیدهای صفراوی رخ داد (۲۰).

می‌دهند (۲۶). این دوزها در مقایسه با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، اثربخشی بیشتری در کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد کلیوی نشان دادند که این یافته با نتایج مطالعات مشابه همخوانی دارد (۲۷).

در مطالعه Qiao و همکاران نشان داده شد که تجویز LUT باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز و کاتالاز و از سوی دیگر کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (۲۸). همچنین، پژوهشگران اثرات محافظت‌کنندگی عصبی آن را در مدل ایسکمی مغزی به دلیل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها و به عبارت دیگر، کاهش استرس اکسیداتیو نسبت داده‌اند (۲۹). همچنین نتایج مطالعات نشان‌دهنده اثرات محافظتی LUT در برابر استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد میتوکندری در سلول‌های اندوتلیال از طریق کاهش فعالیت مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با التهاب است (۳۰). در مطالعات متعدد به خاصیت آنتی‌اکسیدانی لوتولین اشاره شده است (۳۱-۳۳) بنابراین به نظر می‌رسد که LUT از طریق کاهش استرس اکسیداتیو می‌تواند به عنوان یک کاندید امیدوارکننده برای پیشگیری و درمان آسیب کلیوی ناشی از کلستاز باشد. در مجموع، نتایج به دست آمده نقش محافظتی LUT بر عارضه کولمیک نوروباتی ناشی از کلستاتیک از طریق کاهش استرس اکسیداتیو را تصدیق می‌کند. بنابراین می‌توان بعد از انجام کارآزمایی‌های بالینی تصادفی، LUT را در انسان‌هایی که مبتلا به آسیب‌های کلیوی-کبدی هستند، جهت پیشگیری از آسیب‌های جبران‌ناپذیر مورد استفاده قرار داد. لکن، شناخت دقیق، تعیین دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم‌های مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی آن در این مورد نیاز به مطالعات آتی دارد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم بررسی اثرات طولانی مدت LUT، عدم ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک و عدم بررسی مسیرهای مولکولی دخیل در اثرات محافظتی LUT اشاره کرد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، اثرات درمانی LUT در دوره‌های زمانی طولانی‌تر و با استفاده از روش‌های مولکولی پیشرفته‌تر مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از تمامی افرادی که در این مطالعه شرکت نمودند تشکر و قدردانی می‌شود

حمایت مالی تحقیق:

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت حمایت مالی از این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

همچنین مشاهده شده که به دنبال BDL، میزان اسیدهای صفراوی در سرم به شدت افزایش می‌یابد و در حدود روز ۳ پس از مداخله جراحی به اوج خود می‌رسد و باعث آسیب عملکردی در کلیه می‌شود (۲۱). این مطالعه از این نظر که بستن مجاری صفراوی باعث کلستاز و افزایش اسیدهای صفراوی و در نتیجه اختلال عملکرد کلیوی می‌شود با مطالعه ما همخوانی دارد. در مطالعه‌ای که توسط جشنی و همکارانش در سال ۲۰۲۴ به بررسی اثر محافظتی روتین بر عارضه کولمیک نوروباتی پرداختند به این نتیجه رسیدند که عارضه کولمیک نوروباتی به دنبال کلستاز کبدی به وجود می‌آید و آنتی‌اکسیدان روتین می‌تواند از شدت این عارضه در موش‌های صحرایی کلستاتیک بکاهد (۹) که با پژوهش حاضر و استفاده از آنتی‌اکسیدان قوی در کاهش عارضه کولمیک نوروباتی همخوانی دارد.

به طور کلی در بیماران مبتلا به انسداد صفراوی، مشاهده شده است که اسیدهای صفراوی تولید ROS را از میتوکندری‌ها تحریک کرده و باعث افزایش آزاد شدن ROS کلیه می‌شوند (۲۲). از این رو می‌تواند گفت که آسیب کلستاتیک می‌تواند از طریق افزایش غلظت سرمی اسیدهای صفراوی باعث آسیب اکسیداتیو در کلیه شود. در مطابقت با یافته‌های بالا، نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که ایجاد BDL می‌تواند موجب افزایش استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش‌های صحرایی از طریق افزایش تولید ROS می‌شود. همچنین بررسی حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD و GPx به دنبال آسیب حاد کلیوی ناشی از کلستاز کاهش می‌یابد که خود موجب تقویت استرس اکسیداتیو می‌شود. در یک سلول سالم تعادل مناسبی بین پرو اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها وجود دارد. با افزایش پرو اکسیدان‌ها و یا کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها استرس اکسیداتیو اتفاق می‌افتد که در صورت طولانی شدن موجب آسیب‌های جدی و گاهی غیرقابل برگشت می‌شود (۲۳، ۲۴). از این رو سلول آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول (CAT، SOD، GPx) نقش مهمی در جلوگیری از آسیب‌های بیولوژیکی ناشی از افزایش استرس اکسیداتیو در سلول دارند. به طوری که این آنزیم‌ها از طریق تبدیل ROS به مولکول‌های کمتر فعالی مانند H_2O_2 و آب موجب کاهش استرس اکسیداتیو می‌شوند (۲۵). نتایج بررسی حاضر نشان داد که استفاده از دوزهای مختلف LUT موجب کاهش سطح ROS و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه حیوانات تحت آسیب کلستاز شود. بررسی‌های قبلی، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و محافظ سلولی LUT در مدل‌های تجربی مختلف نشان داده شده است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که دوزهای ۱۵ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم LUT اثرات محافظتی قابل توجهی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و التهابی در مدل‌های مختلف بیماری نشان

تضاد منافع:

هیچ یک از نویسندگان این مقاله هیچ گونه تعارض منافی با انتشار این مقاله ندارند و تماماً با صحت و صدق در تهیه و انتشار آن همکاری کرده اند.

ملاحظات اخلاقی:

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی رشته داروسازی با کد اخلاق IR.LUMS.REC.1402.063 و کد طرح ۲۹۳۵ دانشگاه علوم پزشکی لرستان است.

References:

- Ozougwu JC. Physiology of the liver. *Int J Res Pharm Biosci* 2017;4(8):13-24.
<https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2017.411.004>
- Swann JR, Want EJ, Geier FM, Spagou K, Wilson ID, Sidaway JE, et al. Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(supplement_1):4523-30.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1006734107>
- Chiang JY. Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors, and mechanisms. *J Hepatol* 2004;40(3):539-51.
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2003.11.006>
- Krones E, Wagner M, Eller K, Rosenkranz AR, Trauner M, Fickert P. Bile acid-induced cholemic nephropathy. *Dig Dis* 2015;33(3):367-75.
<https://doi.org/10.1159/000371689>
- Fickert P, Rosenkranz AR, editors. Cholemic nephropathy reloaded. *Semin Liver Dis*; 2020: Thieme Medical Publishers.
<https://doi.org/10.1055/s-0039-1698826>
- Krones E, Pollheimer MJ, Rosenkranz AR, Fickert P. Cholemic nephropathy - Historical notes and novel perspectives. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2018;1864(4, Part B):1356-66.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.08.028>
- Abdoli N, Sadeghian I, Azarpira N, Ommati MM, Heidari R. Taurine mitigates bile duct obstruction-associated cholemic nephropathy: effect on oxidative stress and mitochondrial parameters. *Clin Exp Hepatol* 2021;7(1):30-40.
<https://doi.org/10.5114/ceh.2021.104675>
- Ommati MM, Mohammadi H, Mousavi K, Azarpira N, Farshad O, Dehghani R, et al. Metformin alleviates cholestasis-associated nephropathy through regulating oxidative stress and mitochondrial function. *Liver Res* 2021;5(3):171-80.
<https://doi.org/10.1016/j.livres.2020.12.001>
- Jashni Z, Ghaffari Nasab M, Salimi Kia I, Maleki A, Abdollahi S, Mohammadi H. Investigating the Protective Effects of Rutin on Cholemic Nephropathy in Cholestatic Rats. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2024;34(238):72-80.
- Avila-Carrasco L, García-Mayorga EA, Díaz-Avila DL, Garza-Veloz I, Martínez-Fierro ML, González-Mateo GT. Potential therapeutic effects of natural plant compounds in kidney disease. *Molecules* 2021;26(20):6096.
<https://doi.org/10.3390/molecules26206096>
- Hajializadeh Z, Nasri S, Kaeidi A, Sheibani V, Rasoulzadeh B, Esmaili-Mahani S. Inhibitory effect of Thymus caramanicus Jals on hyperglycemia-induced apoptosis in in vitro and in vivo models of diabetic neuropathic pain. *J Ethnopharmacol* 2014;153(3):596-603.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.049>
- Butterfield DA, Castegna A, Pocernich CB, Drake J, Scapagnini G, Calabrese V. Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *J Nutr Biochem* 2002;13(8):444-61.
[https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00205-X](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00205-X)
- Haghani F, Arabnezhad M-R, Mohammadi S, Ghaffarian-Bahraman A. Aloe vera and streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Rev Bras Farmacogn* 2022;32(2):174-87.
<https://doi.org/10.1007/s43450-022-00231-3>

14. Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol* 2008;585(2-3):325-37.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.03.008>
15. Kang KA, Piao MJ, Ryu YS, Hyun YJ, Park JE, Shilnikova K, et al. Luteolin induces apoptotic cell death via antioxidant activity in human colon cancer cells. *Int J Oncol* 2017;51(4):1169-78.
<https://doi.org/10.3892/ijo.2017.4091>
16. Imran M, Rauf A, Abu-Izneid T, Nadeem M, Shariati MA, Khan IA, et al. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. *Biomed Pharmacother* 2019;112:108612.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108612>
17. Terzioglu D, Uslu L, Simsek G, Atukeren P, Erman H, Gelisgen R, et al. The effects of hyperbaric oxygen treatment on total antioxidant capacity and prolidase activity after bile duct ligation in rats. *J Investig Surg* 2017;30(6):376-82.
<https://doi.org/10.1080/08941939.2016.1257666>
18. Doustimotlagh AH, Dehpour AR, Etemad-Moghadam S, Alaeddini M, Ostadhadi S, Golestani A. A study on OPG/RANK/RANKL axis in osteoporotic bile duct-ligated rats and the involvement of nitrenergic and opioidergic systems. *Res Pharm Sci* 2018;13(3):239-49.
<https://doi.org/10.4103/1735-5362.228954>
19. Ahmadi SM, Farhoosh R, Sharif A, Rezaie M. Structure-antioxidant activity relationships of luteolin and catechin. *J Food Sci* 2020;85(2):298-305. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14994>
20. Kaler B, Karraam T, Morgan WA, Bach PH, Yousef IM, Bomzon A. Are bile acids involved in the renal dysfunction of obstructive jaundice? An experimental study in bile duct ligated rats. *Ren Fail* 2004;26(5):507-16.
<https://doi.org/10.1081/JDI-200031753>
21. Lee J, Azzaroli F, Wang L, Soroka CJ, Gigliozi A, Setchell KD, et al. Adaptive regulation of bile salt transporters in kidney and liver in obstructive cholestasis in the rat. *Gastroenterology* 2001;121(6):1473-84.
<https://doi.org/10.1053/gast.2001.29608>
22. Bomzon A, Holt S, Moore K, editors. Bile acids, oxidative stress, and renal function in biliary obstruction. *Semin Nephrol*; 1997.
23. Omidi M, Ghafarian-Bahraman A, Mohammadi-Bardbori A. GSH/GSSG redox couple plays central role in aryl hydrocarbon receptor-dependent modulation of cytochrome P450 1A1. *J Biochem Mol Toxicol* 2018;32(7):e22164.
<https://doi.org/10.1002/jbt.22164>
24. Ghaffarian-Bahraman A, Shahroozian I, Jafari A, Ghazi-Khansari M. Protective effect of magnesium and selenium on cadmium toxicity in the isolated perfused rat liver system. *Acta Med Iran* 2014;872-8.
25. Garcia-Caparrós P, De Filippis L, Gul A, Hasanuzzaman M, Ozturk M, Altay V, et al. Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse environmental conditions: a review. *Bot Rev* 2021;87:421-66.
<https://doi.org/10.1007/s12229-020-09231-1>
26. Zhang L, Han YJ, Zhang X, Wang X, Bao B, Qu W, et al. Luteolin reduces obesity-associated insulin resistance in mice by activating AMPK α 1 signalling in adipose tissue macrophages. *Diabetologia* 2016;59(10):2219-28.
<https://doi.org/10.1007/s00125-016-4039-8>
27. Wang G, Li W, Lu X, Bao P, Zhao X. Luteolin ameliorates cardiac failure in type I diabetic cardiomyopathy. *J Diabetes Complications* 2012;26(4):259-65.
<https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2012.04.007>
28. Qiao H, Dong L, Zhang X, Zhu C, Zhang X, Wang L, et al. Protective effect of luteolin in experimental ischemic stroke: upregulated SOD1, CAT, Bcl-2 and claudin-5, down-regulated MDA and Bax

- expression. *Neurochem Res* 2012;37:2014-24.
<https://doi.org/10.1007/s11064-012-0822-1>
29. Cormier M, Ghouili F, Roumaud P, Bauer W, Touaibia M, Martin LJ. Influences of flavones on cell viability and cAMP-dependent steroidogenic gene regulation in MA-10 Leydig cells. *Cell Biol Toxicol* 2018;34(1):23-38.
<https://doi.org/10.1007/s10565-017-9395-8>
30. Chen H-I, Hu W-S, Hung M-Y, Ou H-C, Huang S-H, Hsu P-T, et al. Protective effects of luteolin against oxidative stress and mitochondrial dysfunction in endothelial cells. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2020;30(6):1032-43.
<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2020.02.014>
31. Chen D, Shen F, Liu J, Tang H, Teng X, Yang F, et al. Luteolin enhanced antioxidant capability and induced pyroptosis through NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 in splenic lymphocytes exposure to ammonia. *Sci Total Environ* 2024;919:170699.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170699>
32. Azeem M, Hanif M, Mahmood K, Ameer N, Chughtai FRS, Abid U. An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: A review. *Polym Bull* 2023;80(1):241-62.
<https://doi.org/10.1007/s00289-022-04091-8>
33. Chen L-Y, Cheng H-L, Liao C-K, Kuan Y-H, Liang T-J, Tseng T-J, et al. Luteolin improves nephropathy in hyperglycemic rats through antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic mechanisms. *J Funct Foods* 2023;102:105461.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105461>

INVESTIGATING THE PROTECTIVE EFFECT OF LUTEOLIN ON CHOLEMIC NEPHROPATHY IN CHOLESTATIC RATS

Iraj Salimi Kia¹, Shadi sheikholeslami², Ali Ghaffarian Bahrman³, Mahsa Mohammadi⁴, Mostafa Darabinejad⁵, Hamidreza Mohammadi^{6}*

Received: 27 August, 2024; Accepted: 17 November, 2024

Abstract

Background & Aims: Cholemic nephropathy is one of the important and serious complications associated with chronic liver damage and bile duct obstruction. Finding drug solutions to alleviate this complication or prevent its occurrence can be of clinical importance. Since luteolin is an antioxidant and one of the mechanisms of cholemic nephropathy is the induction of oxidative stress, this study was designed to investigate the protective effect of luteolin (LUT) on cholemic nephropathy in cholestatic rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 50 male Wistar rats were used. Cholestasis was induced by common bile duct ligation (BDL). Rats were randomly divided into 5 groups of 10 as follows: a control group, a BDL group, and groups that received different doses of LUT (15, 5, and 30 mg/kg/day) daily by gavage for 14 days in addition to BDL. After the end of this intervention, the effect of cholestasis induction and the protective effects of LUT on serum, urine, and kidney tissue oxidative stress indices were examined.

Results: The present study showed that the levels of serum BUN and Cr, oxidative stress (MDA and ROS) indices in cholestatic rats were significantly increased compared to the control group ($P < 0.001$). Also, the activity of antioxidant enzymes (CAT, SOD, GPx) in cholestatic rats was significantly decreased compared to the control group ($P < 0.001$).

Conclusion: It seems that LUT can be a promising candidate for the prevention and treatment of renal damage caused by cholestasis by reducing oxidative stress and improving the activity of antioxidant enzymes.

Keywords: Oxidative stress, cholemic nephropathy, cholestasis, luteolin

Address: Faculty of Pharmacy, Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

Tel: +989101609204

Email: hamidrezamohammadi65@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2024; 35(7): 578 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ Associate Professor of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

² Pharmacy student, Student Research Committee, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

³ Assistant Professor of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Center for Work Environment, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

⁴ Master of Sports Physiology, Department of Sports Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Lorestan, Iran

⁵ Pharmacist, Food and Drug Administration of Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

⁶ Assistant Professor of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran (Corresponding Author)