Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

Investigation of the Protective Effects of Carvacrol on Cholemic Nephropathy in Cholestatic Rats

S. M. G. Hosseini [1], A. Ghafarian Behrman (PhD)[2], I. Salimi Kia (PhD)[3], M. Mohammadi (MSc)[4], F. Asadi Dolatabad (MSc)[5], H. Mohammadi (PhD)[*3]

1.Student Research Committee, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, I.R.Iran.
2.Occupational Environment Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, I.R.Iran.
3.Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, I.R.Iran.
4.Department of Exercise Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, I.R.Iran.
5.Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R.Iran.

*Corresponding Author: H. Mohammadi (PhD)
Address: Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, I.R.Iran.
Tel: +98 (66) 36232362. **E-mail:** Hamidrezamohammadi65@yahoo.com

Article Type
Research Paper

Received:
Jun 27th 2024
Revised:
Sep 23rd 2024
Accepted:
Oct 12nd 2024

ABSTRACT

Background and Objective: Kidney is one of the organs that is damaged after liver cirrhosis. This damage to kidney tissue following liver tissue failure is called cholemic nephropathy. Since one of the main mechanisms in the development of cholemic nephropathy is oxidative stress and reduced antioxidant reserves, the present study was conducted to investigate the protective effect of carvacrol as an antioxidant on cholemic nephropathy in cholestatic rats.

Methods: This experimental study was conducted on 40 male Wistar rats in 5 groups of 8. Cholestasis was induced by bile duct ligation (BDL). Animals received different doses of carvacrol (25, 50, 100 mg/kg) via gavage. At the end of the period and after carvacrol administration, serum biochemical factors such as creatinine (Cr) and blood urea nitrogen (BUN) and urinary factors including glucose and protein, levels of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation (MDA) as well as the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT) were evaluated in kidney tissue of cholestatic rats.

Findings: Serum levels of BUN and Cr in cholestatic rats were (59±2, 0.8), respectively, which were increased compared to the control groups (17±2, 0.18) (p=0.002). Serum levels of oxidative stress indicators MAD, ROS in cholestatic rats were (17±1, 154109), respectively, which were significantly higher than the control groups (5±1, 37124±11) (p=0.007). Moreover, the activities of antioxidant enzymes (CAT, SOD, GPx) in cholestatic rats were (200±11, 19±3, 20±1), respectively, which were significantly decreased compared to the control groups (600±34, 64±2, 43±1) (p=0.001).

Conclusion: The results of the study showed that administering carvacrol can reduce oxidative stress caused by bile duct ligation in the kidneys.

Keywords: *Oxidative Stress, Bile Duct Ligation, Cholemic Nephropathy, Carvacrol*.

Cite this article: Hosseini SMG, Ghafarian Behrman A, Salimi Kia I, Mohammadi M, Asadi Dolatabad F, Mohammadi H. Investigation of the Protective Effects of Carvacrol on Cholemic Nephropathy in Cholestatic Rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences.* 2025; 27: e49.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

Copyright © 2024 Babol University of Medical Sciences. Published by Babol University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

بررسی اثرات محافظتی کارواکرول بر عارضه کولمیک نفروپاتی در موش‌های صحرایی کلستاتیک

سیده ماه گل حسینی[۱]، علی غفاریان بهرمان (PhD)[۲]، ایرج سلیمی کیا (PhD)[۳]، مهسا محمدی (MSc)[۴]، فرشته اسدی دولت آباد (MSc)[۵]، حمیدرضا محمدی (PhD)[۳*]

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۲. مرکز تحیقات محیط کار، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۳. مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۴. گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۵. گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۳/۴/۷
اصلاح: ۱۴۰۳/۷/۲
پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۲۱

چکیده

سابقه و هدف: یکی از ارگان‌هایی که پس از سیروز کبدی مورد آسیب قرار می‌گیرد، کلیه‌ها می‌باشند به این آسیب بافت کلیه متعاقب نارسایی بافت کبدی کولمیک نفروپاتی می‌گویند. از آنجا که یکی از مکانیسم‌های اصلی در ایجاد کولمیک نفرپاتی استرس اکسیداتو و کاهش ذخایر آنتی اکسیدانی می‌باشد، بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر حفاظتی کارواکرول به عنوان یک آنتی اکسیدان بر عارضه کولمیک نفروپاتی در موش‌های صحرایی کلستاتیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۴۰ رت نر از نژاد ویستار در ۵ گروه ۸ تایی انجام شد. القای کلستاز از طریق بستن مجاری صفراوی انجام شد. حیوانات با دوزهای مختلف کاراوکرول (۲۵–۵۰–۱۰۰ mg/kg) گاواژ شدند. در پایان دوره فاکتورهای بیوشیمیایی سرم نظیر کراتینین (Cr) و نیتروژن اوره (BUN) و فاکتورهای ادراری، شامل گلوکز و پروتئین، میزان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) گلوتاتیون پروکسیداز (GPx) و کاتالاز (CAT) در موش‌های کلستاتیک پس از تجویز کارواکرول در بافت کلیه مورد ارزیابی قرارگرفت.

یافته‌ها: سطح سرمی BUN و Cr در موش‌های کلستاتیک به ترتیب (۲±۵۹، ۰/۸) بود که نسبت به گروه‌های کنترل (۲±۱۷، ۰/۱۸) افزایش یافته بودند (p=۰/۰۰۲). سطح سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو MAD، ROS در موش‌های کلستاتیک به ترتیب (۱±۱۷، ۱۵۴۱۰۹) بود که نسبت به گروهای کنترل (۱±۵، ۱۱±۳۷۱۲۴) به طور معنی‌داری بالاتر بود (p=۰/۰۰۷) وهمچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (CAT، SOD، GPx) در موش‌های کلستاتیک به ترتیب (۱۱±۲۰۰، ۳±۱۹، ۱±۲۰) بود که نسبت به گروه‌های کنترل (۳۴±۶۰۰، ۲±۶۴، ۱±۴۳) به طور معنی‌داری کاهش یافته بود (p=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که تجویز کارواکرول می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از بستن مجاری صفراوی در کلیه‌ها شود.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتو، بستن مجاری صفراوی، کولمیک نفروپاتی، کارواکرول.

استناد: سیده ماه گل حسینی، علی غفاریان بهرمان، ایرج سلیمی کیا، مهسا محمدی، فرشته اسدی دولت آباد، حمیدرضا محمدی. بررسی اثرات محافظتی کارواکرول بر عارضه کولمیک نفروپاتی در موش‌های صحرایی کلستاتیک. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۴؛ ۲۷: e۴۹.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

▣ این مقاله مستخرج از پایان نامه سیده ماه گل حسینی دانشجوی دکتری عمومی رشته داروسازی و طرح تحقیقاتی به شماره ۲۹۳۴ دانشگاه علوم پزشکی لرستان می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر حمیدرضا محمدی
آدرس: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشکده داروسازی، گروه سم شناسی.
تلفن: ۰۶۶-۳۶۲۳۲۳۶۲ رایانامه: Hamidrezamohammadi65@yahoo.com

مقدمه

عارضه آسیب کلیوی در افراد با بیماری کبدی به ویژه افراد دچار ضایعات مزمن کبدی مانند سیروز دیده می‌شود (۲و۱). هر چند هنوز مکانیسم دقیقی برای چگونگی بروز این عارضه مشخص نشده است، ولی تحقیقات گذشته بر نقش عمده اسیدهای صفراوی در بروز این معضل تاکید دارند (۴-۲). این عارضه در بیماران دچار سیروز به کولمیک نفروپاتی (Cholemic Nephropathy) شهرت یافته است (۵). به طور کلی آسیب حاد کلیه (Acute Kidney Injury= AKI) یک عارضه مهم در بیماران مبتلا به بیماری کبدی و زردی است، زیرا با عوارض و مرگ و میر قابل توجهی همراه است. تصور می‌شود کولمیک نفروپاتی (CN) یک علت مهم AKI در بیماری‌های پیشرفته کبدی همراه با زردی است (۶). کولمیک نفروپاتی آسیب بافت کلیه ناشی از انسداد مجرای صفراوی است (۷).

از کار افتادن کبد به ویژه در شرایط مزمن مانند سیروز سبب افزایش بیش از اندازه اسیدهای صفراوی در سرم می‌شود. از آنجا که دفع اسیدهای صفراوی به هنگام از کار افتادن کبد و آسیب مجاری صفراوی عمدتاً از راه کلیه‌ها صورت می‌پذیرد، این مواد می‌توانند باعث آسیب جدی بافت کلیه و از کار افتادگی کامل این ارگان شوند (۵و۴). در حالت طبیعی اسیدهای صفراوی از طریق مجاری صفراوی به روده‌ی کوچک ترشح شده و اثرات فیزیولوژیک خود را به جا می‌گذارند. اسیدهای صفراوی، به ویژه انواع آب گریز این مواد دارای خواص دترجنت (Detergent) می‌باشند و باعث امولسیون ذرات چربی وارد شده به روده‌ها می‌شوند. همچنین این مواد دارای اثرات بالقوه مخرب بر روی غشاء هستند. این مواد می‌توانند باعث آسیب غشاهای بیولوژیک و از بین رفتن ساختار لیپیدی آن‌ها شوند (۸و۳). از آنجا که یکی از مکانیسم‌های اصلی آسیب کلیه‌ها در نتیجه تجمع اسیدهای صفراوی در کبد القا استرس اکسیداتیو و کاهش ذخایر آنتی اکسیدانی در سلول‌ها می‌باشد و در مطالعات قبل نیز این امر به وفور اشاره شده است (۱۰و۹) بنابراین به آنتی اکسیدان‌های طبیعی جهت کاهش این آسیب نیاز است. با توجه به اینکه داروهای شیمیایی مورد استفاده جهت درمان مشکلات کلیوی دارای عوارض جانبی می‌باشند. از این رو استفاده از محصولات با منشاء طبیعی و با عوارض جانبی کمتر مورد تاکید می‌باشد (۱۱).

کارواکرول به عنوان یک فنل مونوترپنوئیدی جزء بسیاری از اسانس‌ها است و معمولاً همراه با ایزومر آن تیمول در گیاهان آویشن، مرزنجوش، گردو سیاه، ترنج و گوجه فرنگی به فراوانی یافت می‌شود (۱۲). امروزه عصاره خوراکی آویشن که حاوی کارواکرول است به عنوان ضد سرفه و حتی آنتی اکسیدان استفاده فراوانی دارد (۱۳).کارواکرول به عنوان افزودنی غذایی مورد استفاده می‌باشد (۱۴). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که کارواکرول فعالیت ضد التهابی (۱۵)، ضد میکروبی (۱۶)، آنتی ترومبوتیک (۱۷)، آنتی اسپاسمودیک (۱۸)، شل کننده عروقی (۱۹) و ضد قارچی (۲۰) دارد. یکی از ویژگی‌های کارواکرول که اخیراً توجه محققان را به خود جلب کرده است، خاصیت آنتی اکسیدانی آن است. کارواکرول به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی فعالیت جمع آوری رادیکال‌های آزاد را دارد. یافته‌های مطالعات نشان داده که مصرف کارواکرول باعث کاهش مرگ سلول‌های کبدی به دنبال القاء ایسکمی- ریپرفیوژن کبدی می‌شود و کاهش مرگ این سلول‌ها، مربوط به مهار استرس اکسیداتیو و جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۲۱). با توجه به اینکه کارواکرول یک آنتی اکسیدان قوی است و از علل اصلی آسیب کولمیک نفروپاتی استرس اکسیداتیو می‌باشد، هدف از این مطالعه بررسی تاثیر دوزهای مختلف کارواکرول بر مهار استرس اکسیداتیو و تغییرات بیوشیمیایی عارضه کلیوی کولمیک نفروپاتی ناشی از بستن مجاری صفراوی در مدل حیوانی رت می‌باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی لرستان با کد اخلاق IR.LUMS.REC.1402.061 انجام شد. آنتی اکسیدان کارواکرول از شرکت سیگما خریداری شد. کیت‌های مخصوص اندازه گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدانی(کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پروکسیداز) و اندازه گیری نمونه‌های خون و ادرار (پروتئین،گلوکز، میزان اوره و کراتینین) از شرکت زیست شیمی تهیه شد. رت‌های صحرایی نر نژاد ویستار، در محدوده سنی ۷-۶ ماه و محدوده وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم در سال ۱۴۰۲ تهیه شده و در حیوان خانه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان در شرایط کنترل شده استاندارد با دمای $^{\circ}C$ ۲۵-۲۰ و سیکل ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی قرار گرفتند. کلیه موش‌ها دسترسی آزادانه به آب آشامیدنی و غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی داشتند و تحت شرایط یکسان نگهداری می‌شدند (۲۲).

در این مطالعه، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه اول که تنها عمل جراحی بر روی آن‌ها صورت گرفت ولی مجرای صفراوی بسته نشد و به عنوان گروه کنترل سالم (Sham) در نظر گرفته شد.گروه‌های دوم، سوم، چهارم و پنجم عمل جراحی بر روی آن‌ها صورت گرفت و مجرای صفراوی آن‌ها به طور کامل بسته شد. سپس به مدت ۱۴ روز در گروه دوم فقط نرمال سالین تجویز شد و گروه‌های سوم، چهارم و پنجم به صورت یک بار در روز به ترتیب محلول کارواکرول با غلظت ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ mg/kg/day به صورت خوراکی تجویز شد. پس از گذشت ۱۴

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

روز موش‌ها با تزریق ۱۰ mg/kg زایلازین و ۷۰ mg/kg کتامین به صورت داخل صفاقی بیهوش شده و نمونه خون از قلب حیوان جمع آوری شد. میزان اوره (BUN) و کراتینین (Cr) در نمونه‌های خون و میزان پروتئین و گلوکز در نمونه‌های ادرار توسط کیت مخصوص اندازه گیری شد تا از بروز کلومیک نفروپاتی در موش‌های گروه دو، سه، چهار و پنج اطمینان حاصل شود. در پایان، حیوانات قربانی شده و نمونه کلیه آن‌ها جهت بررسی شاخص استرس اکسیداتیو و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفتند (۲۳).

آزمایشات بیوشیمیایی: نمونه‌های خون و ادرار بلافاصله پس از جمع آوری، سانتریفیوژ شده و پلاسما به دست آمده در دمای ۸۰°C تا زمان اندازه گیری فراسنج‌های بیوشیمیایی BUN، Cr، پروتئین (Pro) و گلوکز با استفاده از کیت آزمایشگاهی مخصوص منجمد و نگهداری شد.

آزمایشات اندازه گیری مارکرهای استرس‌اکسیداتیو در بافت کلیه:

اندازه گیری لیپید پراکسیداسیون در بافت: میزان پراکسیداسیون لیپیدی بر مبنای تشکیل MDA تعیین می‌گردد. مالون دی آلدهید یک مارکر استرس اکسیداتیو و محصول نهایی پراکسیداسیون چربی با تیوباریتوریک اسید می‌باشد. برای این منظور پس از جداسازی، کلیه (۵۰۰ میلی‌گرم) همراه با محلول خنک شده KCl ۱/۱۵٪ (۵ میلی‌لیتر)، هموژنیزه شد و مخلوط هموژن حاوی ۱۰٪ بافت کلیوی به دست آمد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط هموژن ۱۰٪ را در یک تیوب قرار داده و به میزان ۳ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۱٪ و ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶٪ به آن اضافه گردید. این مخلوط در دمای ۱۰۰ درجه و به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده شد. این واکنش منجر به تشکیل مالون دی آلدهید (MDA) از پراکسیدهای لیپیدی می‌شود. سپس به مخلوط خنک شده، به میزان ۴ میلی‌لیتر ان–بوتانول اضافه کرده و خوب به هم زده شد. بعد از سانتریفیوژ کردن، میزان جذب فاز ان–بوتانول در ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (۲۴).

اندازه گیری میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن: ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت کلیه به ۵ میلی‌لیتر بافر خنک تریس–هیدروکلراید (۴۰ میلی‌مولار، pH=۷/۴ و دمای ۴ °C) اضافه، و سپس با دستگاه هموژنایزر هموژن شد. ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط هموژن به ۱ میلی‌لیتر بافر خنک تریس–هیدروکلراید (۴۰ میلی‌مولار، pH=۷/۴) و ۷٫۲′–دی کلرو فلورسین دی استات (غلظت نهایی ۱ میکرومولار) اضافه شد. نمونه‌ها، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C و در تاریکی انکوبه شدند. در نهایت شدت فلوروسانس نمونه‌ها در طول موج تحریک ۴۸۵ نانومتر و نشر ۵۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه فلوریمتر اندازه‌گیری شد (۲۶و۲۵).

آزمایشات اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی در بافت کلیه: برای اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از روش سنجش الایزا استفاده شد. برای لیز کردن بافت از دستورالعمل شرکت سازنده کیت‌ها استفاده شد. ابتدا مقداری از بافت کلیه را برداشته و با یک میلی‌لیتر محلول KCL هموژن کرده و داخل میکروتیوپ قرار دادیم. در مرحله بعد برای مدت ۴ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و سپس محلول بالایی را برداشته و ارزیابی نمودیم.

تمامی داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و سپس تست مقایسه چند گانه Tukey's تجزیه و تحلیل آماری شدند و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

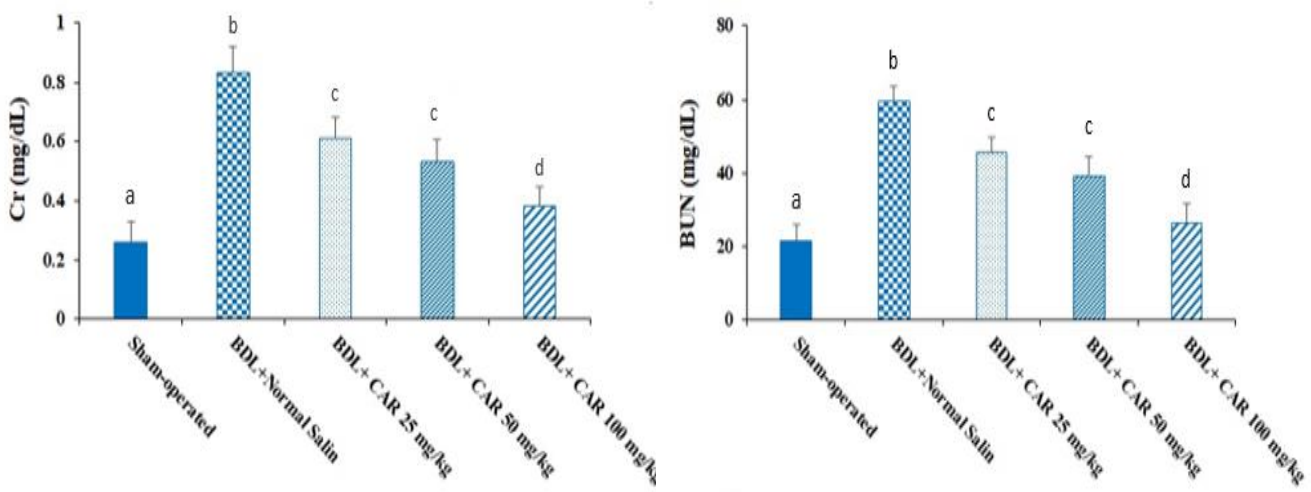
یافته ها

فراسنج‌های خونی–ادراری: بر اساس نتایج آزمایشات انجام شده در روز ۱۴ پس از عمل جراحی، سطح پلاسمایی BUN و Cr و سطح ادراری Pro و گلوکز درگروه دوم (BDL) که مجرایی صفراوی آن‌ها به طورکامل مسدود شده بود در مقایسه با گروه Sham به میزان قابل توجهی افزایش یافته بود ($p<۰/۰۰۱$). پس از تجویز دوزهای مختلف کارواکرول اثرات کاهشی در مقایسه با گروه دوم (BDL) مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (نمودارهای ۲و۱).

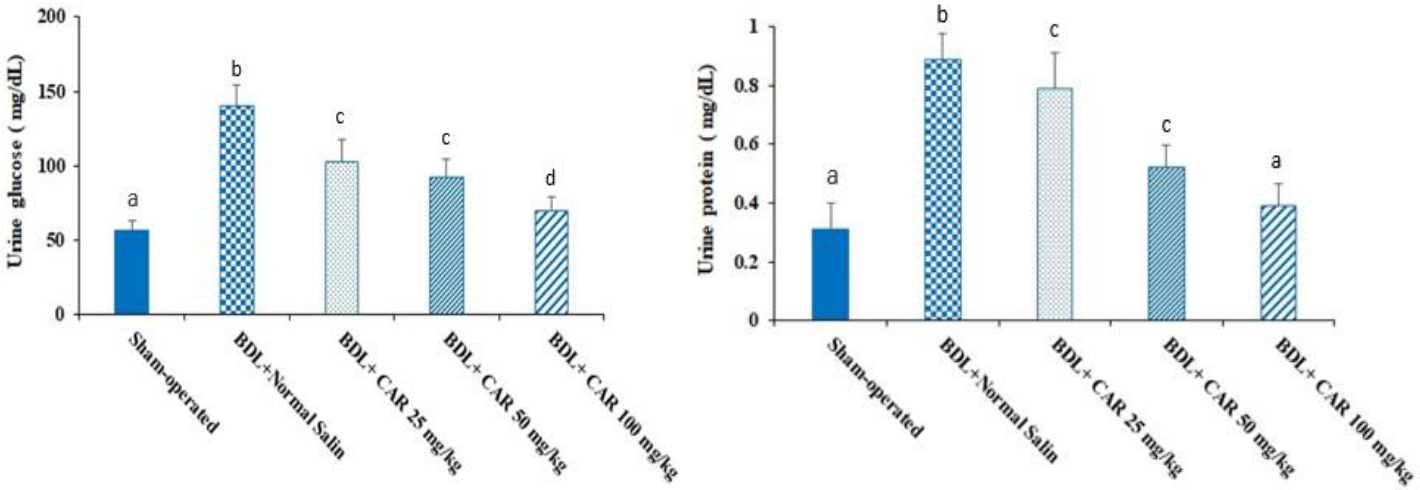
بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو: بررسی مارکرهای استرس اکسیداتیو در کلیه حیوانات نشان دهنده افزایش قابل توجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدی درحیوانات کلستاتیک بود ($p<۰/۰۰۱$). دیده شد که استفاده از کارواکرول به عنوان یک راهکار درمانی در حیوانات با مجاری صفراوی بسته شده باعث کاهش قابل توجه مارکرهای استرس اکسیداتیو و عوارض وابسته به آن در حیوانات کلستاتیک می‌شود ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۳).

بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی در بافت کلیه: بر اساس نتایج آزمایشات انجام شده در روز ۱۴ پس از عمل جراحی، میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در گروه دوم (BDL) که مجرایی صفراوی آن‌ها به طورکامل مسدود شده بود در مقایسه با گروه Sham به میزان قابل توجهی کاهش یافته بود ($p<۰/۰۰۱$). پس از مداخله حیوانات کلستاتیک با کارواکرول در دوزهای مختلف تمامی فراسنج‌های فوق اثرات افزایشی در مقایسه با گروه دوم (BDL) نشان داد ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار ۴).

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

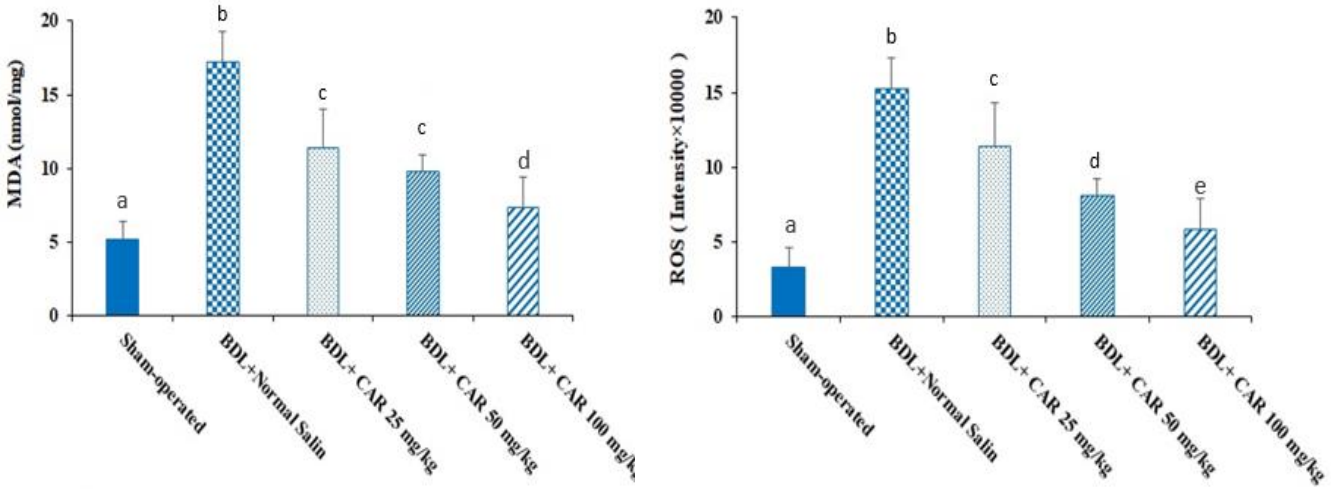


نمودار ۱. تغیرات بیوشیمیایی سرم در حیوانات کلستاتیک (BDL) و تاثیرتجویز کارواکرول (CAR). داده‌ها به صورت **Mean±SD** برای هشت حیوان در هر گروه نمایش داده شده‌اند.

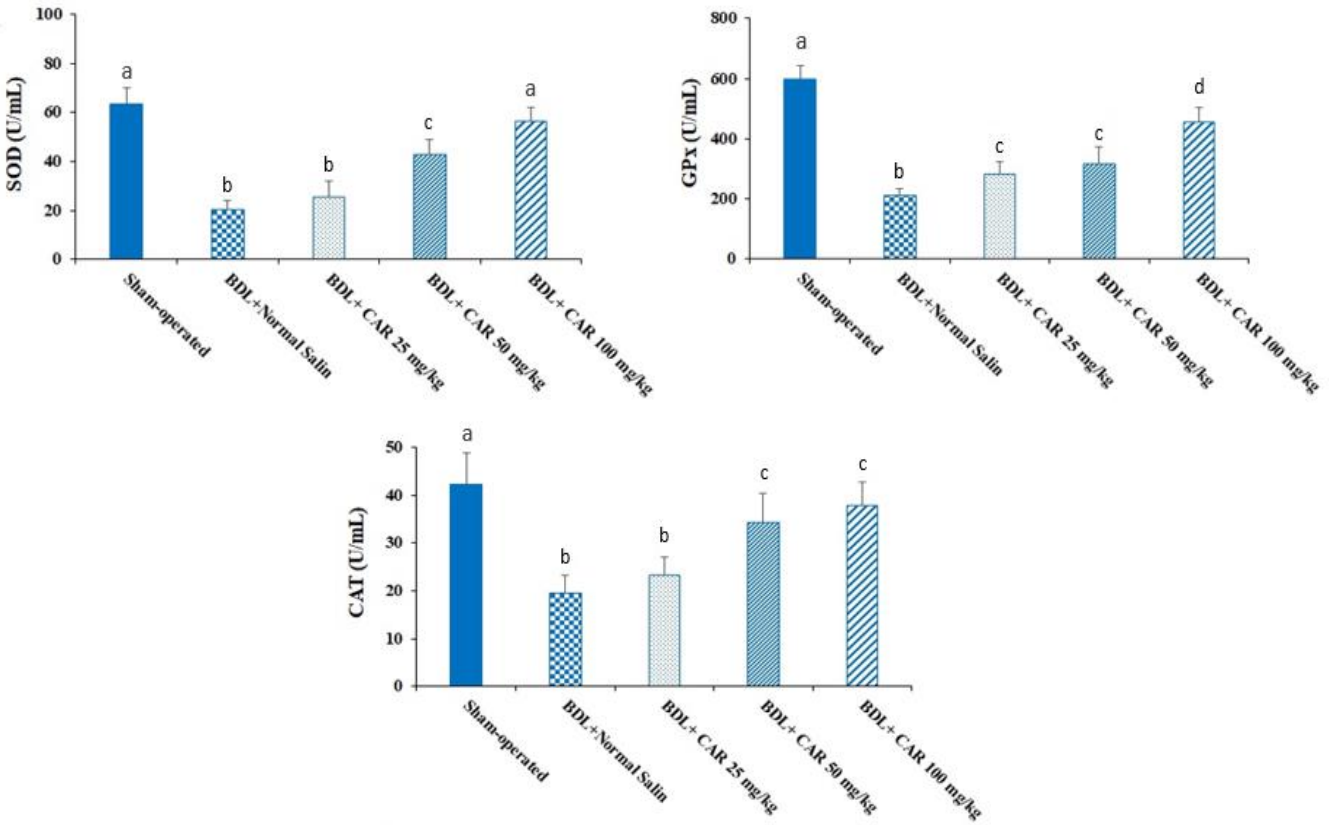


نمودار ۲. تغیرات سطح پروتئین و گلوکز ادرار درحیوانات کلستاتیک (BDL) و تاثیرتجویزکارواکرول (CAR) بر آن. داده‌ها به صورت **Mean±SD** برای هشت حیوان در هر گروه نمایش داده شده‌اند.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]



نمودار ۳. بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه درحیوانات کلستاتیک (BDL) و تاثیرتجویزکارواکرول (CAR) برآن.
داده‌ها به صورت Mean±SD برای هشت حیوان در هر گروه نمایش داده شده‌اند.



نمودار ٤. بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بافت کلیه درگروه‌های مختلف مورد مطالعه و بررسی تاثیرکارواکرول بر آن. داده‌ها به صورت Mean±SD برای هشت حیوان در هر گروه نمایش داده شده‌اند.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر مشخص شد که بستن مجاری صفراوی در موش‌های صحرایی باعث افزایش سطح BUN و Cr در پلاسما و افزایش سطح گلوکز و Pro در ادرار می‌شود. همچنین مشاهده شد که بستن مجاری صفراوی باعث افزایش سطح نشانگرهای استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در موش‌های تحت آسیب کلیوی می‌شود. نتایج بررسی حاضر نشان دهنده بهبود نشانگرهای بیوشیمیایی و استرس اکسیداتیو به دنبال مصرف غلظت‌های مختلف کارواکرول در موش‌های صحرایی تحت آسیب کلیوی ناشی از کلستاز می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Islam و همکارانش انجام شد، مشخص شد که بستن مجاری صفراوی باعث آسیب کلیوی و افزایش سطح BUN و Cr می‌شود که با مطالعه ما همخوانی دارد (۲۷) همچنین در مطالعه Ozturk و همکارانش مشاهده شد که بستن مجاری صفراوی باعث افزایش BUN و Cr و همچنین باعث افزایش سطح گلوکز و Pro در ادرار در حیوانات مورد مطالعه شد (۲۸) که با مطالعه ما همخوانی داشت.

بستن مجاری صفراوی باعث افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو می‌شود که در مطالعات متعددی اشاره شده است. در مطالعه ما نیز این امر مشهود بود. استرس اکسیداتیو، که به عنوان افزایش کنترل نشده در تولید ROS و/یا کاهش در حذف آن توصیف می‌شود، نقش کلیدی در پاتوژنز آسیب حاد کلیه دارد (۲۹). به دنبال آسیب کلیه و افزایش ROS موجب حمله آن به ماکرومولکول‌های بیولوژیکی مانند لیپیدهای غشایی، اسیدهای نوکلئیک، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها می‌شود (۳۰). همچنین ROS به لیپیدهای غشایی حمله کرده و نتیجه آن MDA تولید می‌شود که به عنوان یک پیش بینی کننده آسیب اکسیداتیو ساختاری در غشای سلولی در نظر گرفته می‌شود (۳۱). نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که ایجاد کلستاز موجب افزایش استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش‌های صحرایی از طریق افزایش تولید ROS و به دنبال آن افزایش تولید MDA می‌شود. همچنین بررسی حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPx به دنبال آسیب حاد کلیوی ناشی از کلستاز افزایش می‌یابد. فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPx نقش مهمی در جلوگیری از آسیب های بیولوژیکی ناشی از افزایش سطح ROS در سلول دارد. به طوری که، آنزیم SOD موجب تبدیل آنیون‌های سوپراکسید به H2O2 می‌شود، که سپس توسط CAT و GPx تبدیل به آب می‌شود (۳۲). همچنین، عملکرد بیوشیمیایی GPx تا حد زیادی وابسته به سطح گلوتاتیون (GSH) داخل سلولی، به عنوان مهم‌ترین مولکول آنتی اکسیدان داخل سلولی می‌باشد (۳۳).

کارواکرول یک جزء اصلی طبیعی است و به طور قابل توجهی به عنوان یک روغن ضروری در گیاهان خوشبو وجود دارد و به خاطر فعالیت‌های بیولوژیکی متعدد خود شناخته شده است (۳۴). مطالعات نشان می‌دهد که فعالیت آنتی اکسیدانی کارواکرول به دلیل وجود گروه هیدروکسیل آزاد و آبگریزبودن آن است (۳۵) همچنین مشخص شده است که کاواکرول به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی قوی که دارد باعث کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود (۳۶). نتایج بررسی حاضر نشان داد که تیمار حیوانات با دوزهای مختلف از کارواکرول از طریق کاهش سطح ROS و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، موجب بهبود عملکر کلیه در موش‌های صحرایی تحت آسیب کلیوی ناشی از کلستاز شد. بررسی Bakır و همکاران نشان داد که کارواکرول در دوزهای مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ mg/kg) موجب کاهش سطح MDA و بهبود فعالیت‌های آنزیم‌های SOD، CAT و GPx کبدی در موش‌های صحرایی دچار آسیب حاد پانکراتیت ناشی از سرولین می‌شود. همچنین کارواکرول علاوه بر کاهش سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز کبدی، موجب بهبود وضعیت التهاب و نکروز در کبد شد (۳۷).

در مطالعه‌ای دیگر، Alvarenga و همکاران دریافتند که کارواکرول از طریق کاهش تولید و یا آزاد سازی سایتوکاین‌های پیش التهابی اینترلوکین ۱ و TNF-α موجب بهبود التهاب روده ناشی از هیدروکلراید در موش می‌شود. همچنین کارواکرول باعث بهبود سطح گلوتاتیون و کاهش سطح MDA و نیتریک اکساید به عنوان یک نشانگرهای استرسس اکسیداتیو و التهابی شد (۳۸). همچنین در مطالعه Ismail و همکارانش مشاهده شد که کارواکرول می‌تواند فعالیت سه آنزیم آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را که میزانشان در بیماری‌های قارچی کاندیدا اوریس کاهش می‌یابند را به طور معنی‌داری افزایش دهد (۳۹).

در مطالعه‌ای دیگر، de Santana Souza و همکارانش به این نتیجه رسیدند که کاواکرول با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز) باعث بهبود آسیب اکسیداتیو ناشی از اسید استیک می‌شود (۴۰). نتایج مطالعه Khalaf و همکارانش نشان داد که قرار گرفتن در معرض پروپیکونازول منجر به استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود که با کاهش قابل توجهی در محتوای گلوتاتیون و فعالیت کاتالاز و افزایش قابل توجهی در محتوای مالون دی‌آلدئید در کبد و کلیه آشکار شد. این اثرات سمی توسط مطالعات هیستوپاتولوژیک تایید شد. در مقابل، کارواکرول به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی توانست اثرات مضر ناشی ازپروپیکونازول را کاهش داده و آسیب‌های بافتی کبد وکلیه را بهبود بخشد (۴۱). که همراستا با پژوهش حاضر نشان دهنده نقش محافظتی کارواکرول از طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و مهار تشکیل رادیکال‌های آزاد در بافت آسیب دیده می‌باشد.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که درمان با کارواکرول توانست به طور قابل توجهی آسیب کلیوی ناشی از کلستاز را در موش‌ها بهبود بخشد. این اثر محافظتی ممکن است به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی کارواکرول باشد. در نتیجه، به نظر می‌رسد کارواکرول یک عامل محافظتی بسیار امیدوار کننده در برابر آسیب کلیوی ناشی از کلستاز می‌باشد. با این حال، پیشنهاد می‌کنیم که تحقیقات بیشتری برای تعیین امکان و اثربخشی استفاده از کارواکرول در محیط‌های بالینی انجام شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان به دلیل حمایت مالی و فراهم آوردن امکانات، قدردانی می‌گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

References

1.Garcia-Tsao G, Parikh CR, Viola A. Acute kidney injury in cirrhosis. Hepatology. 2008;48(6):2064-77.

2.Tsien CD, Rabie R, Wong F. Acute kidney injury in decompensated cirrhosis. Gut. 2013;62(1):131-7.

3.Perez MJ, Briz O. Bile-acid-induced cell injury and protection. World J Gastroenterol. 2009;15(14):1677-89.

4.van Slambrouck CM, Salem F, Meehan SM, Chang A. Bile cast nephropathy is a common pathologic finding for kidney injury associated with severe liver dysfunction. Kidney Int. 2013;84(1):192-7.

5.Fickert P, Krones E, Pollheimer MJ, Thueringer A, Moustafa T, Silbert D, et al. Bile acids trigger cholemic nephropathy in common bile-duct-ligated mice. Hepatology. 2013;58(6):2056-69.

6.Tinti F, Umbro I, D'Alessandro M, Lai S, Merli M, Noce A, et al. Cholemic Nephropathy as Cause of Acute and Chronic Kidney Disease. Update on an Under-Diagnosed Disease. Life (Basel). 2021;11(11):1200.

7.Fickert P, Rosenkranz AR. Cholemic Nephropathy Reloaded. Semin Liver Dis. 2020;40(01):091-100.

8.Hofmann AF. Bile Acids: The Good, the Bad, and the Ugly. News Physiol Sci. 1999;14:24-9.

9.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.

10.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. 2020;5(3):171-80.

11.Haghani F, Arabnezhad MR, Mohammadi S, Ghaffarian-Bahraman A. *Aloe vera* and Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus. Rev Bras Farmacogn. 2022;32(2):174-87.

12.Dos Santos LB, de Lima Silva JR, Moreira AMT, Kamdem JP, Khan M, Muhammad N, et al. Response to carvacrol monoterpene in the emergence of Allium cepa L. seeds exposed to salt stress. Environ Sci Pollut Res Int. 2024.

13.Farzanehj M. The effect of thymol and carvacrol rich-plant essential oils on controlling postharvest decay molds in orange fruit. Adv Horticult Sci. 2024;38(2):169-76.

14.Ashrafudoulla M, Yun H, Ashikur Rahman M, Jung SJ, Jie-Won Ha A, Anamul Hasan Chowdhury M, et al. Prophylactic efficacy of baicalin and carvacrol against Salmonella Typhimurium biofilm on food and food contact surfaces. Food Res Int. 2024;187:114458.

15.Gunes-Bayir A, Guler EM, Bilgin MG, Ergun IS, Kocyigit A, Dadak A. Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Carvacrol on *N*-Methyl-*N*'-Nitro-*N*-Nitrosoguanidine (MNNG) Induced Gastric Carcinogenesis in Wistar Rats. Nutrients. 2022;14(14):2848.

16.de Souza AG, Dos Santos NMA, da Silva Torin RF, Dos Santos Rosa D. Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films. Int J Biol Macromol. 2020;164:1737-47.

17.Memariani Z, Moeini R, Hamedi SS, Gorji N, Mozaffarpur SA. Medicinal plants with antithrombotic property in Persian medicine: a mechanistic review. J Thromb Thrombolysis. 2018;45(1):158-79.

18.Goze I, Alim A, Cetinus SA, Cetin A, Durmus N, Atas AT, et al. In vitro antimicrobial, antioxidant, and antispasmodic activities and the composition of the essential oil of Origanum acutidens (Hand.-Mazz.) Ietswaart. J Med Food. 2010;13(3):705-9.

19.Peixoto-Neves D, Silva-Alves KS, Gomes MD, Lima FC, Lahlou S, Magalhães PJ, et al. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. Fundam Clin Pharmacol. 2010;24(3):341-50.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

20.Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. Braz J Infect Dis. 2004;8(3):217-26.
21.Canbek M, Uyanoglu M, Bayramoglu G, Senturk H, Erkasap N, Koken T, et al. Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver. Phytomedicine. 2008;15(6-7):447-52.
22.Valizadeh R, Mohammadi H, Ghaffarian Bahraman A, Mohammadi M, Ghasemian Yadegari J. Correction to: Protective Effects of Cinnamon Bark Hydroalcoholic Extract on Inhibition of Isoniazid-Induced Liver Damage in Male Wistar Rats. J Mazandaran Univ Med Sci. 2024;34(233):289-90. [In Persian]
23.Eriten B, Kucukler S, Gur C, Ayna A, Diril H, Caglayan C. Protective Effects of Carvacrol on Mercuric Chloride-Induced Lung Toxicity Through Modulating Oxidative Stress, Apoptosis, Inflammation, and Autophagy. Environ Toxicol. 2024;39(12):5227-37.
24.Joudaki nezhad A, Mohammadi H, Momeni F, Amraei M, Adineh A. Investigating the Effects of Ellagic Acid on Thioacetamide-Induced Acute Liver Damage and Subsequent Encephalopathy in Rats. J Mazandaran Univ Med Sci. 2023;33(226):157-63. [In Persian]
25.Valizadeh R, Mohammadi H, Ghaffarian Bahraman A, Mohammadi M, Ghasemian Yadegari J. Protective Effects of Cinnamon Bark Hydroalcoholic Extract on Inhibition of Isoniazid-Induced Liver Damage in Male Wistar Rats. J Mazandaran Univ Med Sci. 2023;33(221):1-11. [In Persian]
26.Heidari R, Mohammadi HR, Goudarzi F, Farjadian F. Repurposing of sevelamer as a novel antidote against aluminum phosphide poisoning: An *in vivo* evaluation. Heliyon. 2023;9(4):e15324.
27.Islam G, Chitturi Pavani SS, Halder T, Hoque R, Namasudra M, Hansda RN, et al. Renal Injury Induced by Bile Duct Ligation and Its Mitigation in Rat Models. Indian J Vet Public Health Vol. 2024;10(1):54.
28.Ozturk H, Terzi A, Ozturk H, Kukner A. Effect of sirolimus on renal injury induced by bile duct ligation in rats. Acta Cir Bras. 2010;25(5):401-6.
29.Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology of acute kidney injury. Compr Physiol. 2012;2(2):1303-53.
30.Ghaffarian-Bahraman A, Arabnezhad MR, Keshavarzi M, Davani-Davari D, Jamshidzadeh A, Mohammadi-Bardbori A. Influence of cellular redox environment on aryl hydrocarbon receptor ligands induced melanogenesis. Toxicol In Vitro. 2022;79:105282.
31.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;52(12):872-8.
32.Garcia-Caparros 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(4):421-66.
33.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.
34.Imran M, Aslam M, Alsagaby SA, Saeed F, Ahmad I, Afzaal M, et al. Therapeutic application of carvacrol: A comprehensive review. Food Sci Nutr. 2022;10(11):3544-61.
35.Cheraghi E, Shariatzadeh SM, Mohammadi Z. Protective effect of carvacrol on oxidative stress and hepatotoxicity induced by silver nanoparticles in NMRI mice. Feyz Med Sci J. 2023;27(2):164-75. [In Persian]
36.Aristatile B, Al-Numair KS, Al-Assaf AH, Veeramani C, Pugalendi KV. Protective Effect of Carvacrol on Oxidative Stress and Cellular DNA Damage Induced by UVB Irradiation in Human Peripheral Lymphocytes. J Biochem Mol Toxicol. 2015;29(11):497-507.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]

37.Bakır M, Geyikoglu F, Colak S, Turkez H, Bakır TO, Hosseinigouzdagani M. The carvacrol ameliorates acute pancreatitis-induced liver injury via antioxidant response. Cytotechnology. 2016;68(4):1131-46.
38.Alvarenga EM, Souza LK, Araújo TS, Nogueira KM, Sousa FB, Araújo AR, et al. Carvacrol reduces irinotecan-induced intestinal mucositis through inhibition of inflammation and oxidative damage via TRPA1 receptor activation. Chem Biol Interact. 2016;260:129-40.
39.Ismail M, Srivastava V, Marimani M, Ahmad A. Carvacrol modulates the expression and activity of antioxidant enzymes in Candida auris. Res Microbiol. 2022;173(3):103916.
40.de Santana Souza MT, Teixeira DF, de Oliveira JP, Oliveira AS, Quintans-Júnior LJ, Correa CB, et al. Protective effect of carvacrol on acetic acid-induced colitis. Biomed Pharmacother. 2017;96:313-9.
41.Khalaf AA, Elhady MA, Hassanen EI, Azouz AA, Ibrahim MA, Galal MK, et al. Antioxidant role of carvacrol against hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by propiconazole in rats. Rev Bras Farmacogn. 2021;31(1):67-74.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.49]