مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره پانزدهم، شمارهٔ ۵، شهریور ۱۳۹۲، صفحه ۳۱-۲۴

اثرات سمیت حاد و مزمن آلفا–سولانین در موش

سعید خدایاری(MSc)[۱]، علی محمد علیزاده(PhD)[۲*]، سیدامین کوهپایه(PhD)[۳]، مریم محسنی کیا[۱]، علی اصغر کریمی[۴]، حمید خدایاری(MSc)[۵]، علیرضا عبداللهی(MD)[۶]، اکرم سربیایی(MSc)[۲]، سهیلا عرفانی(MSc)[۷]، شیدا کاظمی(MD)[۱]، حبیب ذاکری(MD)[۸]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران
۲- مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا
۴- کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی فسا
۵- واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران
۶- گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۷- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران
۸- گروه بیهوشی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا

دریافت: ۹۱/۹/۸، اصلاح: ۹۱/۱۲/۱۶، پذیرش: ۹۲/۲/۱۱

خلاصه

سابقه و هدف: مطالعات نشان دادند که مصرف بیش از حد غده‌های سیب‌زمینی جوانه زده مسمومیت حاد، کما و مرگ در انسان را بدنبال خواهد داشت. این اثرات بـه گلیکوآلکالوئیدهای نظیر سولانین نسبت داده می شوند که به طور طبیعی در تمام سیب زمینی وجود دارند و میزان آن در نتیجه نقل و انتقال و ذخیره‌سازی نادرست پس از برداشت افزایش می‌یابد. این مطالعه به منظور بررسی اثرات سمیت حاد و مزمن آلفا- سولانین در موش نژاد بالب سی انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۹۰ سر موش نر نژاد بالب سی که بطور مساوی در دو گروه حاد و مزمن (۴۵ سر در هر گروه) تقسیم شدند، انجام گرفت که هر یک به زیرگروه های کنترل، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم برکیلوگرم وزن بدن از سولانین (۹ سر در هر زیرگروه) تقسیم شدند. حیوانات در گروه حاد (۲۴ ساعت) و مـزمن (یک هفته تزریق روزانه) پس از تزریق سولانین (داخل پریتوئن) اتانازی شده و نمونه خون جهت انجام آزمون های شیمیایی و سلول های خونی جمع آوری گردید.

یافته ها: تزریق سولانین در گروه های حاد اثرات معنی داری بر پارامترهای سلولی و شیمیایی خون نداشت. در گروه مزمن افزایش معنی داری در تعداد گلبول قرمز (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸ p=۰/۰۲) و کاهش معنی دار در آلکالین فسفاتاز سرم در غلظت۴۰ میلی گرم (۷۶۴±۵۰ به۴۵۲±۳۳، p=۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است. همچنین افزایش معنی داری در پارامترهای شیمی خون نظیر سدیم (۱۴۹/۴±۲/۱ به ۱۵۵/۵±۱/۳، p=۰/۰۳)، گلوکز (۱۸۱±۵۹ به ۳۲۲±۶۴، p=۰/۰۲۵) و کراتینین (۰/۳۴±۰/۰۰۸ به ۱/۰۷±۰/۲۵، p=۰/۰۲) در غلظت۴۰ میلیگرم گروه مزمن سولانین نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که مصرف دوزهای بالای سولانین در طولانی مدت موجب تغییرات معنی دار در پارامترهای شیمیایی، خونی و آنزیمی شده و علائم مسمومیت آن وابسته به دوز می باشد.

واژه های کلیدی: سولانین، سمیت، موش.

مقدمه

عوامل موجود در رژیم غذایی نظیر مایکوتوکسین و آلکالوئیدها در غلات، نقش زیادی در بروز انواع بیماریها در حیوان و انسان بر عهده دارند (۴-۱). گلیکوآلکالوئیدها ترکیباتی سمی گلیکوزیدهای استروئیدی حاوی نیتروژن هستند که در برخی از سبزیجات، به ویژه گوجه فرنگی سبز و سیب زمینی یافت می شوند (۴). مقادیر گلیکوآلکالوئیدها در سیب زمینی می تواند به میزان قابل توجهی به دنبال برداشت، با توجه به شرایط ذخیره سازی، مانند آسیب های مکانیکی، دما، نور و طول مدت زمان تغییر یابد (۶-۴). موارد متعددی از مسمومیت گلیکوآلکالوئیدها در انسان با علائم تهوع، استفراغ، اسهال، تب، هذیان، کما و مرگ گزارش شده است (۸و۷). سولانین، یک گلیکوآلکالوئید دارای یک بخش آلکالوئیدی و یک بخش کربوهیدراتی است. سولانین در واقع عاملی دفاعی در گیاه است که می تواند در برگها و خود میوه وجود داشته باشد. این ماده بسیار سمی است و حتی در مقادیر جزئی سمیت خود را حفظ می کند. سولانین در گوجه

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱۴۹۲۱ دانشگاه علوم پزشکی تهران می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، انستیتو سرطان ایران، مرکز تحقیقات سرطان، تلفن: ۶۱۱۹۲۵۰۱-۰۲۱
e-mail:aalizadeh@razi.tums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]

فرنگی سبز و یا سیب زمینی های در معرض نور ایجاد شده (ناحیه سبز زیر پوسته) و گیاه آن را برای دفاع از خود در مقابل حشرات و بیماریها می سازد (۹). مصرف مقادیر بالای سولانین می تواند موجب مرگ شود و علایم مسمومیت شامل علایم گوارشی و عصبی نظیر اسهال، دردهای شکمی، احساس سوختگی در گلو، از دست رفتن حسها، تب و فلجی می باشد (۸و۷). در حالت طبیعی مقدار ۰/۵ تا ۱ میلی گرم سولانین در ۱۰۰ گرم سیب زمینی تازه وجود دارد که بیشتر در نواحی سطحی، زیر پوست غده ها، جوانه ها و پیرامون آن می باشد (۱۱و۱۰). مصرف سیب زمینی بیش از ۲۰ میلی گرم گلیکوآلکالوئید، ایجاد مسمومیت می کند (۱۲). بیشتر از ۹۵ درصد گلیکوآلکالوئیدهای سیب زمینی را آلفا–سولانین و آلفا–چاکونین تشکیل می دهد (۱۳). مقدار گلیکوآلکالوئیدها در سیب زمینی به سه عامل بستگی دارد: ۱– عامل ژنتیکی، به نحوی که واریته های خودرو دارای مقادیر بسیار زیادی گلیکوآلکالوئید هستند. ۲– شرایط کاشت و داشت مانند نوع خاک، محل کشت و پرورش گیاه، آب و هوا و سن غده ها بر میزان گلیکوآلکالوئید تاثیر دارد. ۳– عوامل پس از برداشت نظیر تنش های مکانیکی و شیمیایی، شرایط انبارداری و نور تاثیر زیادی بر میزان گلیکوآلکالوئیدها دارد (۱۱و۵).

Mensinga و همکاران گزارش کردند که کلیرانس گلیکوآلکالوئیدها از بدن کند بوده و آلفا– سولانین نیمه عمر ۲۱ ساعت را نشان می دهد (۱۴). این نیمه عمر طولانی، تجمع مداوم گلیکوآلکالوئیدها را با مصرف عادی و یا روزانه سیب زمینی و یا گوجه فرنگی سبز در بدن موجب می شود (۱۴). اثرات عمده مشاهده شده از این مطالعات شامل اثرات سیتوتوکسیک بر سلول ها و مهار فعالیت استیل کولین استراز و بوتیریل کولین استراز در مغز و پلاسما می باشد (۱۵). علاوه بر این، پیشنهاد شده است که گلیکوآلکالوئیدها موجب آسیب رویان و جنین می شوند (۹). از آنجائیکه ما معمولا در رژیم غذایی خود از غلات و سبزیجات به فراوانی استفاده می کنیم لازم است آلوده کننده های آنها را شناسایی و راه های حذف آن را بدانیم. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات سمیت حاد و مزمن آلفا–سولانین در موش بالب سی طراحی شده است.

مواد و روشها

این مطالعه تجربی در مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی تهران از اسفندماه سال ۱۳۹۰ تا شهریور ماه سال ۱۳۹۱ بر روی ۹۰ سر موش نر نژاد بالب سی (محدوده وزنی ۲۰ الی ۲۵ گرم، تهیه شده از موسسه تحقیقات پاستور) با سن ۸ هفته، نگه‌داری در دمای ۲۵–۲۳ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۰ درصد و با ۱۲ ساعت سیکل روشنایی– تاریکی انجام گرفت. کلیه اصول اخلاقی مطالعه، مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

تهیه استوک آلفا– سولانین: آلفا– سولانین توسط شرکت سیگما (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) با ۹۹ درصد خلوص تهیه و در دمای ۲۰– سانتی گراد نگهداری گردید. جهت تهیه استوک، آلفا– سولانین در آب دوبار تقطیر محتوی ۰/۴۵ درصد سالین و ۰/۲۵ درصد اسید استیک (pH مساوی با ۳) حل و در دمای ۲۰– درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

گروه های مورد مطالعه: باتوجه به مطالعات گذشته جهت بدست آوردن غلظت مطلوب با حداقل سمیت، غلظت های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم برکیلوگرم وزن بدن از آلفا–سولانین انتخاب و سپس حیوانات به گروه های حاد و مزمن تقسیم گردیدند و در هر گروه حاد و مزمن، حیوانات به زیر گروه های کنترل، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم برکیلوگرم وزن بدن از آلفا– سولانین (۹ سر در هر زیر گروه) تقسیم شدند. حیوانات در گروه حاد ۳ ساعت بعد از تزریق آلفا–سولانین و در گروه مزمن یک هفته بعد (تزریق روزانه داخل صفاقی)، کشته و آزمایشات سرولوژیکی، آنزیمی و بافتی انجام گرفت.

جمع آوری نمونه خون جهت آزمایشات سلولی و شیمیایی خون: در پایان دوره تیمار، حیوانات با ضربه به نخاع بیهوش و گردن حیوانات با گیوتین بریده شد. خون گرفته شده از گردن زمان سر بریدن، در لوله های اپندورف حاوی اتیلن دی امین تترااستیک اسید (EDTA) برای هماتولوژی و لوله های حاوی هپارین برای ارزیابی شیمی بالینی، جمع آوری گردید. نمونه های خون جمع آوری شده در لوله های EDTA با استفاده از کنتور خون حیوانات (Celltac; Nihon Kohden, Tokyo, Japan) برای بررسی پارامترهای گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، میانگین حجم سلولی گلبول قرمز، میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز، میانگین غلظت هموگلوبین هر گلبول قرمز و تعداد پلاکت، گلبول سفید، نوتروفیل، منوسیت، لنفوسیت، ائوزینوفیل و نیز با دستگاه اتوآنالایزر Autoanalyser Model Biotecnica, BT 3500, Rome, Italy) جهت بررسی سرمی آسپارتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمونه های خون جمع آوری شده در لوله های حاوی هپارین با استفاده از دستگاه اتوآنالایزرCCX (CCX *WB;* Nova Biomedical, USA) برای بررسی پارامترهای سدیم، پتاسیم، کلر، بی کربنات، کلسیم، منیزیم، گلوکز، لاکتات، اوره و کراتینین مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همه حیوانات مورد بررسی ماکروسکوپی نیز قرار گرفتند. سپس جهت بررسی میکروسکوپی معده، کولون، کبد، طحال، مغز معده و تخمدان در بافر فرمالدئید ۴ درصد به مدت حداقل ۲۴ ساعت نگهداری شدند. به منظور بررسی های هیستوپاتولوژی اندامها در پارافین، در برش های ۶–۴ میکرومتری تهیه و با هماتوکسیلین– ائوزین برای میکروسکوپ نوری رنگ آمیزی شدند (۱۷و۱۶).

جهت آنالیز آماری داده‌ها از SPSS ویراست ۱۶ استفاده گردید. برای مقایسه داده‌های کمّی بین گروه‌ها (در مورد داده‌های رتبه‌ای بعد از Transformation) از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی استفاده گردید و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

گروه حاد: در هیچکدام از حیوانات زیر گروه های حاد، علامت ماکروسکوپی و میکروسکوپی خاصی دال بر سمیت دیده نشد. همچنین افزایش یا کاهش در پارامترهای هماتولوژی، شیمی خون و پاتولوژی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (جداول ۲و۱).

گروه مزمن: در هیچکدام از غلظت های بکار رفته، به استثناء یک مورد در گروه غلظت ۴۰ میلی گرم، مرگ وجود نداشته است. تعداد بسیار کمی از علائم بالینی بعد از یک هفته از تزریق سولانین در غلظت های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم قابل تشخیص بودند. درگروهی از حیوانات ۲۰ و ۴۰ میلی گرم سولانین، علائم کاهش

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]

وزن و نبود تعادل دیده شد. حیوانات در غلظت های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم، یک متوسط کاهش وزن در طی دوره درمان بعد از یک هفته را داشتند. در حالی که حیوانات گروه های کنترل، ۵ و ۱۰ میلی گرم از سولانین وزن کسب کردند. برای حیوانات دریافت کننده آلفا- سولانین در غلظت های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم، کاهش وزن بدن از نظر آماری تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل داشته است (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲) (جدول ۳).

هماتولوژی: افزایش معنی داری از نظر آماری در پارامترهای تعداد گلبول قرمز(۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲)، هماتوکریت (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲) و هموگلوبین (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲) و کاهش معنی دار در آلکالین فسفاتاز (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲)در گروه ۴۰ میلی گرم مزمن سولانین نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است (جداول ۳ و۴). اما در سایر پارامترهای هماتولوژی نظیر میانگین حجم سلولی گلبول قرمز، میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز، میانگین غلظت هموگلوبین هر گلبول قرمز و تعداد پلاکت، گلبول سفید، نوتروفیل، منوسیت، لنفوسیت، میزان آسپارتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل دیده نشده است (جداول ۴و۳).

شیمی خون: افزایش معنی داری در پارامترهای شیمی خون نظیر سدیم (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲)، گلوکز (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲) و کراتینین (۶/۱±۰/۳ به ۸/۸±۰/۸، p=۰/۰۲) در گروه ۴۰ میلیگرم مزمن سولانین نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است (p< ۰/۰۵) (جداول ۳ و۴). اما در سایر پارامترهای شیمی خون نظیر پتاسیم، کلر، بی کربنات، کلسیم، منیزیم، لاکتات و اوره تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل دیده نشده است (جداول ۴و۳).

جدول ۱. تغییرات شاخص های سلول های خونی موش بدنبال مصرف حاد سولانین

گروه ها / شاخص ها	کنترل	سولانین mg۵	سولانین mg۱۰	سولانین mg۲۰	سولانین mg۴۰	P-Value
وزن حیوان (گرم)	۲۳/۹±۲/۸	۲۵±۳/۱	۲۴±۳/۲	۲۲/۶±۴/۱	۲۲/۳±۴/۲	۰/۴
گلبول قرمز (میلیون بر مترمکعب)	۸/۸±۰/۵	۷/۷±۱/۱	۷/۸±۰/۷۲	۷/۹±۰/۴	۷/۶±۰/۶	۰/۳۲
هماتوکریت (درصد)	۳۷/۲±۳/۲	۳۷/۶±۵/۸	۳۸±۳/۲	۴۰±۱/۴	۳۶/۷±۲	۰/۲۴
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	۱۲/۲±۲/۱	۱۲/۵±۴/۳	۱۲/۸±۲/۹	۱۳/۳±۱/۶	۱۲/۳±۳/۱	۰/۲۳
میانگین حجم سلولی (فمتولیتر)	۴۹/۵±۳/۵	۴۹/۱±۲/۶	۵۱/۹±۰/۷۶	۵۳/۶±۱/۷	۴۸/۶±۱/۹	۰/۵۹
میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز (فمتومول)	۱۵/۸±۲/۵	۱۵/۶±۱/۴	۱۶/۹±۰/۳	۱۷/۵±۰/۶	۱۵/۷±۱/۱	۰/۱۶
میانگین غلظت هموگلوبین هر گلبول قرمز (میلی مول بر لیتر)	۳۳/۱±۰/۶	۳۱/۸±۱/۲	۳۲/۷±۰/۶	۳۲/۶±۰/۱۶	۳۲/۴±۰/۹	۰/۵۷
پلاکت (هزار بر مترمکعب)	۷۹۷±۴۸	۷۴۷±۱۱۹	۶۲۰±۱۲۹	۸۱۰±۴۲	۶۷۹±۸۲	۰/۱۶
گلبول سفید (هزار بر مترمکعب)	۶/۸±۱/۳	۷/۴±۱/۲	۷/۵±۰/۶	۸/۹±۳	۶/۹±۰/۷	۰/۲۱
نوتروفیل (درصد)	۴۲±۵/۲	۳۹±۵	۳۵±۷	۵۱±۸	۴۵±۱۴	۰/۲
منوسیت (درصد)	۴/۲±۲/۲	۵±۳	۶±۲/۳	۳/۸±۲	۴/۱±۲	۰/۸۵
لنفوسیت (درصد)	۵۳±۹/۲	۵۵±۶	۵۸±۱۰	۴۶±۸	۵۰±۱۰	۰/۲۱

جدول ۲. تغییرات شاخص های شیمیایی خون در موش بدنبال مصرف حاد سولانین

گروه ها / شاخص ها	کنترل	سولانین mg۵	سولانین mg۱۰	سولانین mg۲۰	سولانین mg۴۰	P-value
سدیم (میلی مول بر لیتر)	۱۴۸/۲±۳/۵	۱۴۷/۵±۱	۱۴۶/۷±۲/۲	۱۵۳±۲/۳	۱۵۴±۳/۲	۰/۸۱
پتاسیم (میلی مول بر لیتر)	۵/۲±۰/۸	۶/۵±۰/۶	۵±۰/۴	۵/۶±۱/۱	۶/۴±۰/۵	۰/۱۲
کلر (میلی مول بر لیتر)	۱۱۲±۲/۳	۱۱۵/۸±۳/۳	۱۱۶/۹±۲/۶	۱۱۶/۹±۱/۳	۱۱۲/۵±۳/۱	۰/۹۸
بی کربنات (میلی مول بر لیتر)	۲۳±۴/۲	۲۱/۴±۱/۱	۲۰/۶±۱/۴	۲۰/۳±۳/۷	۲۱/۷±۲/۱	۰/۷۷
کلسیم (میلی مول بر لیتر)	۰/۷۳±۰/۱۵	۰/۷۸±۰/۱۵	۰/۷±۰/۱	۰/۷±۰/۰۹	۰/۷۴±۰/۱۳	۰/۹۳
منیزیم (میلی مول بر لیتر)	۰/۳۱±۰/۰۸	۰/۳۳±۰/۱۳	۰/۲۸±۰/۰۳	۰/۳±۰/۰۲	۰/۳۲±۰/۰۷	۰/۸۳
گلوکز (میلی گرم بردسی لیتر)	۲۰۱±۶۰	۲۱۸±۷۰	۱۹۲±۴۸	۲۱۰±۵۳	۲۱۷±۶۲	۰/۳۳
لاکتات (میلی مول بر لیتر)	۵/۲±۱/۱	۳/۸±۲	۴/۶±۲/۱	۵/۱±۲/۶	۴/۷±۳/۲	۰/۵۳
اوره (میلی گرم بردسی لیتر)	۲۲±۳/۱	۲۱/۲±۳/۵	۲۰±۳/۲	۲۱/۲±۴/۲	۲۳±۲/۷	۰/۹۴
کراتینین (میلی گرم بردسی لیتر)	۰/۴۵±۰/۰۶	۰/۴۸±۰/۰۸	۰/۳۴±۰/۰۵	۰/۵۲±۰/۰۷	۰/۴۴±۰/۰۴	۰/۹۶
آسپارتات ترانس آمیناز (واحد بر لیتر)	۴۸۰±۴۲	۴۸۶±۵۶	۴۴۸±۳۲	۴۷۸±۳۰	۵۱۴±۸۵	۰/۵
آلانین ترانس آمیناز (واحد بر لیتر)	۷۰±۱۲	۸۳±۱۳/۵	۷۰±۲۰/۲	۷۵±۱۲/۵	۸۱/۷±۸۵	۰/۸۱
آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)	۷۳۵±۴۸	۷۱۵±۳۶	۷۴۸±۵۵	۶۹۲±۲۸	۷۰۵±۴۴	۰/۲۷

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]

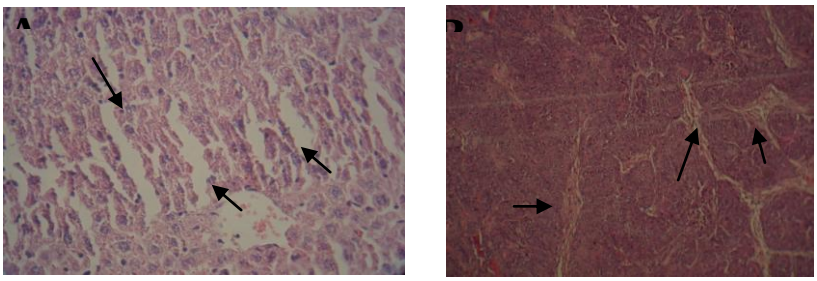
جدول ۳. تغییرات شاخص های سلول های خونی موش بدنبال مصرف مزمن سولانین

گروه / شاخص ها	کنترل	سولانین mg۵	سولانین mg۱۰	سولانین mg۲۰	سولانین mg۴۰	p-value
وزن حیوان (گرم)	۲۴/۹±۲/۱	۲۵/۱±۳/۴	۲۵/۵±۲/۸	*۱۹/۲±۳	*۱۸/۶±۳/۲	۰/۰۱
گلبول قرمز (میلیون بر مترمکعب)	۶/۱ ۰/۳	۶/۲±۰/۴	۶۵±۰/۵	۸/۲±۰/۹	*۸/۸±۰/۸	۰/۰۲
هماتوکریت (درصد)	۳۸/۴±۱/۷	۳۸/۷±۲/۱	۳۹/۶±۳/۱	*۴۲±۲	*۴۳/۳±۱/۶	۰/۰۲۸
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	۱۲/۶±۰/۹	۱۲/۸±۱/۹	۱۳/۱±۱/۷	۱۴±۰/۷	*۱۴/۵±۰/۸	۰/۰۰۲
میانگین حجم سلولی (فمتولیتر)	۴۹/۲±۳/۱	۵۰/۳±۱/۴	۴۷/۹±۲	۵۰±۰/۳۱	۴۶/۵±۲/۸	۰/۱۶
میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز (فمتومول)	۱۶/۱±۱/۲	۱۶/۳±۰/۳۱	۱۴/۹±۰/۹	۱۶/۴±۰/۳	۱۴/۸±۱/۱	۰/۰۸
میانگین غلظت هموگلوبین هر گلبول قرمز (میلی مول بر لیتر)	۳۲/۷±۰/۱۴	۳۲/۵±۰/۶۲	۳۲/۲±۰/۶۱	۳۲/۸±۰/۳	۳۱/۱±۰/۷	۰/۰۷
پلاکت (هزار بر مترمکعب)	۷۴۵±۵۳	۷۶۶±۶۲	۷۳۵±۷۸	۶۸۰±۵۷	۷۳۴±۸۳	۰/۱۲
گلبول سفید (هزار بر مترمکعب)	۶/۸±۱/۳	۷/۲±۱/۱	۷/۸±۰/۹	۶/۹±۱/۲	۷/۳±۱	۰/۹۵
نوتروفیل (درصد)	۳۸±۳/۵	۳۸/۷±۵/۵	۴۳±۱۱	۳۷±۶	۴۴/۷±۱۰/۵	۰/۹۳
منوسیت (درصد)	۳/۳±۱/۵	۵/۸±۲/۳	۳/۸±۲	۳/۲±۱/۶	۳/۱±۲	۰/۹۵
لنفوسیت (درصد)	۵۸±۷/۸	۵۴±۱۴	۵۳/۵±۸	۵۱±۳/۶	۵۳/۷±۸	۰/۹۳

جدول ۴. تغییرات شاخص های شیمیایی خون در موش بدنبال مصرف مزمن سولانین

گروه / شاخص	کنترل	سولانین mg۵	سولانین mg۱۰	سولانین mg۲۰	سولانین mg۴۰	P-value
سدیم (میلی مول بر لیتر)	۱۴۹/۴±۲/۱	۱۴۹/۷±۲/۶	۱۵۲/۶±۲/۶	۱۵۳/۴±۲/۲	*۱۵۵/۵±۱/۳	۰/۰۳
پتاسیم (میلی مول بر لیتر)	۵/۳±۰/۵۱	۵/۲±۰/۹۳	۴/۹±۰/۲	۴/۸±۰/۳	۴/۵±۰/۲	۰/۲۵
کلر (میلی مول بر لیتر)	۱۱۱/۱±۲	۱۱۴/۶±۰/۸	۱۱۶/۹±۱/۶	۱۱۶±۱/۸	۱۱۵/۶±۲/۹	۰/۰۸
بی کربنات (میلی مول بر لیتر)	۲۲/۶±۳/۳	۲۱/۸±۳	۲۱/۲±۰/۹	۲۴/۴±۱/۳	۱۹/۷±۱/۴	۰/۳۳
کلسیم (میلی مول بر لیتر)	۰/۷۱±۰/۱۳	۰/۷۶±۰/۱۶	۰/۷۶±۰/۰۸	۰/۷۷±۰/۰۶	۰/۶۸±۰/۲۳	۰/۹
منیزیم (میلی مول بر لیتر)	۰/۳±۰/۰۵	۰/۳۲±۰/۰۸	۰/۳۲±۰/۰۴	۰/۳۲±۰/۰۴	۰/۳۷±۰/۰۷	۰/۳۳
گلوکز (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۸۱±۵۹	۲۰۵±۵۹	۲۳۵±۲۰	*۳۰۹±۴۳	*۳۲۲±۶۴	۰/۰۲۵
لاکتات (میلی مول بر لیتر)	۵/۶±۰/۹	۴±۱	۴/۲±۱	۴/۲±۱/۳	۵/۵±۱/۳	۰/۹۷
اوره (میلیگرم بردسی لیتر)	۲۱/۲±۲/۶	۲۲±۲/۷	۲۱±۳	۲۵±۲	۲۲/۷±۵/۵	۰/۹۲
کراتینین (میلیگرم بردسی لیتر)	۰/۳۴±۰/۰۰۸	۰/۴±۰/۱	۰/۵۵±۰/۰۷	*۰/۸±۰/۲	*۱/۰۷±۰/۲۵	۰/۰۲
آسپارتات ترانس آمیناز (واحد بر لیتر)	۴۷۲±۴۷	۴۸۲±۴۹	۴۹۶±۶۵	۴۶۹±۶۶	۵۳۰±۳۸	۰/۵۵
آلانین ترانس آمیناز (واحد بر لیتر)	۷۵/۳±۹/۸	۶۷±۹/۵	۷۴/۳±۹/۶	۶۹/۵±۵	۷۱/۶±۱۴	۰/۹۶
آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)	۷۶۴±۵۰	۷۰۳±۲۹	۶۶۶±۶۷	*۵۲۰±۱۱۸	*۴۵۲±۳۳	۰/۰۱

داده‌ها به‌صورت میانگین± میانگین خطای استاندارد نشان داده شده است. علامت ستاره، سطح معنی داری p کمتر ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل در نظر گرفته شده است. مصرف مزمن سولانین در دوزهای بالا موجب افزایش سدیم، گلوکز و کراتینین و نیز کاهش آلکالین فسفاتاز پلاسما گردیده است



شکل ۱. نماهای بافت‌شناسی از ضایعات بافت های کبد (A) و کلیه (B) بدنبال مصرف دوز بالای سولانین با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین. به سلولهای سینوزوئیدی دیلاته کبد (جهت پیکان) و سلولهای توبولی متسع کلیه (جهت پیکان) توجه گردد. (A: H & E x ۴۰۰ ،B: H & E x ۱۰۰).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]

[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24] [DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آلفا–سولانین در گروه حاد تا دوز ۴۰ میلی گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن، هیچ اثر سمیت در موش بالب سی نداشته است اما اثرات سمیت در آزمایشات پاراکلینکال و هیستولوژیکال در گروه مزمن یک هفته تزریق روزانه در دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی گرم دیده شده است تا جائیکه مرگ نیز در گروه ۴۰ میلی گرم سولانین اتفاق افتاده است. نتایج مطالعات نشان داد که دوز کشنده گلیکوآلکالوئیدها با گاواژ برای همستر طلایی بالای ۵۰ و زیر ۱۰۰ میلی گرم به ازاء کیلوگرم وزن بدن می باشد (۱۸و۸) اما در مطالعه حاضر تزریق داخل صفاقی ۴۰ میلی گرم برکیلوگرم سولانین مرگ را بدنبال داشته است. همچنین سطوح سدیم، گلوکز و کراتینین در گروه های مزمن بالای ۲۰ میلی گرم بطور معنی داری نسبت به گروه کنترل بالاتر بوده است. این ممکن است نشان دهد که حفظ تعادل مایعات در حیوانات گروه مزمن، به نحوی متأثر از تجویز اثرات مستقیم یا غیرمستقیم سولانین باشد و با نتایج مطالعات گذشته همخوانی دارد (۱۹). همچنین افزایش معنی داری در تعداد گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در گروه های مزمن بالای ۲۰ میلی گرم سولانین نسبت به گروه کنترل دیده شده است. این مسئله ممکن است نشان دهد که موش های تحت درمان با سولانین در دوزهای بالا، از درجاتی از دهیدراتاسیون رنج می‌برند. تحقیقات گذشته نشان داد که آلفا– سولانین غشاء سلولهای اپی تلیالی را در جنین قورباغه دپلاریزه می کنند (۲۰). تغییرات در پتانسیل غشاء می تواند بعلت اثرات ناشی از گلیکوآلکالوئیدها در مکانیسم های دخیل در انتقال فعال اپیتلیالی یون ها ایجاد گردد. اختلال در حامل ها و پمپ های یونی ممکن است تعادل مایعات و یون ها را تحت تأثیر قرار داده و دپلاریزاسیون غشاء را سبب شده و نهایتاً به لیز سلولی منجر گردد (۹).

مطالعه دیگری نشان داد که جریان مدار کوتاه، که معیار سنجش مستقیم انتقال سدیم در عرض غشاء سلول می باشد، توسط آلفا– سولانین در پوست قورباغه کاهش می یابد (۲۱). بنابراین احتمال دارد که آلفا– سولانین موجب اختلال سلولی در حیوانات مطالعه حاضر گردد یعنی با تحت تأثیر قرار دادن انتقال فعال یون ها از عرض اپیتلیوم سلولی، باعث از دست دادن مایع به دستگاه گوارش و بالارفتن سطح کراتینین، سدیم، گلوکز، گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در پلاسمای خون گردد. همچنین سطح بالاتر کراتینین، در واقع ممکن است ناشی از آزاد شدن آن از سلول های عضلانی آسیب دیده باشد و یا آسیب کلیوی موجب افزایش آن شده است که با نتایج هیستولوژی یعنی احتقان کلیوی، همخوانی دارد هرچند برگشت پذیری تغییرات شیمیایی خون و هماتولوژی ناشی از دوزهای بالای سولانین در مطالعه حاضر بررسی نشدند. از طرف دیگر کاهش معنی دار آنزیم آلکالین فسفاتاز در حیوانات در گروه مزمن در مطالعه حاضر، به اثرات سولانین در کبد اشاره می کند و متابولیسم گلیکوآلکالوئیدها، ممکن است این اثر را ایجاد کرده باشد. این مسئله به همراه نتایج هیستولوژی مطالعه حاضر یعنی احتقان کبدی مطابق مطالعات قبلی، پایداری نسبی گلیکوآلکالوئیدها در موش و همستر در کبد را نشان می دهند (۲۲). با این حال، قوی‌ترین اثرات روی پارامترهای کبدی در گروه دریافت کننده بالاترین دوز سولانین، در مطالعه حاضر دیده شده است.

اثرات هم افزایی آلفا- سولانین و آلفا–چاکونین در تخریب غشای سلول در تعدادی از مطالعات توصیف شده است (۲۱و۲۰). Fridman و همکاران نشان دادند که مخلوط آلفا- سولانین و آلفا–چاکونین، اثرات هم افزایی سمی روی سلول های کبدی دارند و بیشتر از ۹۵ درصد گلیکوآلکالوئید های سیب زمینی و گوجه فرنگی سبز را آلفاسولانین و آلفا چاکونین تشکیل می دهد (۲۳) و مصرف همزمان این دو خطرات بیشتری بدنبال خواهد داشت. بنابراین برای دوری از رشد و جوانه زدن مواد غذایی، بایستی اقدامات پیشگیرانه انجام داد. طی یک مطالعه نشان داده شد که برای برخی ارقام بهاره سیب زمینی طی مدت ۳۰ روز و برای ارقام پاییزه ۹۰ روز انبارداری، بیشترین میزان سولانین در پایان نگهداری در انبار سرد ۱۲ درجه سانتی گراد با نور فلورسنت بوده و پس از آن انبارهای با دمای اتاق و نور روز بیشترین میزان را طی مدت نگهداری در سیب زمینی ایجاد کردند، ولیکن انبارهای با سرما و تاریکی کمترین مقدار تولید سولانین را طی ۹۰ روز برای دو رقم بهاره و پاییزه داشتند که احتمالا به علت جوانه های کم غده ها در نیمه دوم زمان انبارداری بوده است (۲۴). بنابراین به نظر می رسد که بهترین روش انبارداری سیب زمینی از نظر کمترین میزان تولید سولانین، انبار سرد ۴ درجه سانتی گراد و تاریکی می باشد. طی یک مطالعه اثرات هم افزایی نور و دما بر میزان گلیکوآلکالوئیدها مشخص شده است. اثرات همزمان نور و دما طی ۴۸ ساعت در تاریکی و دما صفر تا هشت درجه سانتی گراد، افزایش مختصر گلیکوآلکالوئیدها را در برش های سیب زمینی به دنبال داشته است ولیکن افزایش دما بین ۱۵ و ۲۴ درجه سانتی گراد، مقدار سولانین را به هفت برابر مقدار اولیه افزایش داده است (۵). بنابراین در فصل برداشت و حمل غلات و سیب زمینی، بایستی از اصول درست کشاورزی و مکانیزه و بدور از شبنم صبحگاهی و روزهای بارندگی انجام گیرد. در انبارهای خانگی برای نگه داری سیب زمینی و سایر مواد غذایی از این دسته، بهتر است آنها را در حجم کم در جعبه های چوبی که از کف زمین انبار به اندازه ۴۰ سانتی متر بالاتر است قرارداد و هوای متعادل باید ۴+ درجه سانتی گراد باشد در غیر این صورت آنها شروع به جوانه زدن و تشکیل مواد سمی سولانین خواهند کرد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]

The Acute and Chronic Toxicity Effects of Alpha-Solanine in Mice

S. Khodayari (MSc) [1], A.M. Alizadeh (PhD) [2*], S.A. Kouhpayeh (PhD) [3], M. Mohsenikia[1], A.A. Karimi [4], H. Khodayari (MSc) [5], A.R. Abdolahi (MD)[6], A. Sarbiyaii (MSc)[2], S. Erfani (MSc) [7], Sh. Kazemi (MD)[1], H. Zakeri (MD)[8]

1. Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran
2. Cancer Research Center, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran
3. Department of Pharmacology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
4. Student Research Committee, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
5. Tehran Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
6. Department of Pathology, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran
7. Department of Physiology, Biological Sciences Faculty, Kharazmi University, Tehran, Iran
8. Department of Anesthesiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(5); Sep 2013; pp: 24-31

Received: Nov 28th 2012, Revised: Mar 6th 2013, Accepted: May 1st 2013.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Previous studies have shown that high consumption of sprouted potatoes can cause acute toxicities, coma, and death in human. These effects are attributed to glycoalkaloids such as alpha-solanine which is naturally found in potatoes and cereals. It is also frequently appeared during inappropriate transfer and storage after harvesting. The present study is designed to assess the acute and chronic toxicity effects of alpha-solanine in mice.

METHODS: In this experimental study, 90 BALB/c male mice were equally divided into acute and chronic groups (n=45). Each group then equally subdivided into control, and 5, 10, 20 and 40 mg/kg groups of alpha-solanine (n=9). Animals were euthanized after 24 hours and 7 days of solanine injection (i.p) in the acute and chronic groups, respectively. Blood samples were taken for hematology and chemical tests.

FINDINGS: Alpha-solanine did not significantly effects on hematological and chemical parameters in the acute groups. Red blood cell count was significantly increased (6.1±0.3 to 8.8±0.8, p=0.02), but plasma alkaline phosphatase level was statistically reduced (764±50 to 452±33, p=0.01) in 40 mg/kg chronic groups compared to control. Significant increase was observed in blood levels of sodium (149.4±2.1 to 155.5±1.3, p=0.03), glucose (181±59 to 322±64, p=0.025) and creatinine (0.34±0.008 to 1.07±0.25, p=0.02) in 40 mg/kg chronic groups compared to control.

CONCLUSION: The results showed that long-term use of high solanine can dramatically induce hematological and chemical changes in a dose-dependent manner.

KEY WORDS: *Solanine, Toxicity, Mice.*

*Corresponding Author;
Address: Cancer Research Center, Cancer Institute of Iran, Imam Khomeini Hospital, Keshavarz Blvd., Tehran, Iran
Tel: +98 21 61192501
E-mail: aalizadeh@razi.tums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]

References

1.Alizadeh AM, Rohandel G, Roudbarmohammadi S, et al. Fumonisin B1 contamination of cereals and risk of esophageal cancer in a high risk area in northeastern Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2012;13(6):2625-8.

2.Mahmoodi M, Alizadeh AM, Sohanaki H, et al. Impact of fumonisin B1 on the production of inflammatory cytokines by gastric and colon cell lines. Iran J Allergy Asthma Immunol 2012;11(2):165-73.

3.Mahmoodi M, Alizadeh AM, Amini-Najafi F, et al. Effects of fumonisin B1 on the stomach and colon cell lines in Vitro. Tehran Univ Med J 2012;69(12):744-53. [in Persian]

4.Friedman M, McDonald GM. Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety and plant physiology. Crit Rev Plant Sci 1997;16(1):55-132.

5.Machado RMD, Toledo MCF, Garcia LC. Effect of light and temperature on the formation of glycoalkaloids in potato tubers. Food Control 2007;18(5):503-8.

6.Sun F, Li S, He D, et al. Effects of glycoalkaloids from Solanum plants on cucumber root growth. Phytochemistry 2010;71(13):1534-8.

7.Chaube S, Swinyard CA. Teratological and toxicological studies of alkaloidal and phenolic compounds from Solanum tuberosum L. Toxicol Appl Pharmacol 1976;36:227-37.

8.Langkilde S, Schrøder M, Frank T, et al. Compositional and toxicological analysis of a GM potato line with reduced α-solanine content - A 90-day feeding study in the Syrian Golden hamster. Regul Toxicol Pharmacol 2012;64(1):177-85.

9.Barceloux DG. Potatoes, tomatoes, and solanine toxicity (Solanum tuberosum L., Solanum lycopersicum L.). Dis Mon 2009;55(6):391-402.

10.Holtzapple MT. Hemicellulose: Structure and analysis. In: Macrae R, Robinson PK, and Sadler MJ, eds. Encyclopedia of food science, food technology, and nutrition. 2nd ed. London: Academic Press 1993; pp: 2324-34.

11.Jensen PH, Pedersen RB, Svensmark B, Strobel BW, Jacobsen OS, Hansen HC. Degradation of the potato glycoalkaloid alpha-solanine in three agricultural soils. Chemosphere 2009;76(8):1150-5.

12.Prakash AS, Pereira TN, Reilly PEB, Seawright AA. Pyrrolizidine alkaloids in human diet. Mutat Res 1999;443(1-2):53-67.

13.Friedman M. Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plant and in the diet. J Agric Food Chem 2006;54(23):8655-81.

14.Mensinga TT, Sips AJ, Rompelberg CJ, et al. Potato glycoalkaloids and adverse effects in humans: An ascending dose study. Regul Toxicol Pharmacol 2005;41(1):66-72.

15.McGehee DS, Krasowski MD, Fung D, Wilson B, Gronert GA, Moss J. Cholinesterase inhibition by potato glycoalkaloids slows MiVacurium metabolism. Anesthesiology 2000;93(2):510-19.

16.Alizadeh AM, Khaniki M, Azizian S, Mohaghgheghi MA, Sadeghizadeh M, Najafi F. Chemoprevention of azoxymethane-initiated colon cancer in rat by using a novel polymeric nanocarrier-curcumin. Eur J Pharmacol 2012; 689(1-3):226-32.

17.Sarbolouki MN, Alizadeh AM, Khaniki M, Azizian S, Mohagheghi MA. Protective effect of dendrosomal curcumin combination on colon cancer in rat. Tehran Univ Med J 2012;69(11):678-85. [in Persian]

18.Langkilde S, Schrøder M, Stewart D, Meyer O, Conner S, Davies H, Poulsen M. Acute toxicity of high doses of the glycoalkaloids, alpha-solanine and alpha-chaconine, in the Syrian Golden hamster. J Agric Food Chem 2008; 56(18): 8753–60.

19.Iablokov V, Sydora BC, Foshaug R, et al. Naturally occurring glycoalkaloids in potatoes aggravate intestinal inflammation in two mouse models of inflammatory bowel disease. Dig Dis Sci 2010;55(11):3078-85.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]

20.Blankemeyer JT, Stringer BK, Rayburn JR, Bantle JA, Friedman M. Effect of potato glycoalkaloids, alpha.-chaconine and alpha.-solanine on membrane potential of frog embryos. J Agric Food Chem 1992;40(10):2022-5.
21.Blankemeyer JT, Atherton R, Friedman M. Effect of potato glycoalkaloids alpha-chaconine and alpha-solanine on sodium active transport in frog skin. J Agric Food Chem 1995;43(3):636-9.
22.Friedman M, Henika PR, Mackey BE. The effect of feeding solanine, solasodine and tomatodine to non-pregnant and pregnant mice. Food Chem Toxicol 2003;41(1):61-71.
23.Friedman M, Lee KR, Kim HJ, Lee IS, Kozikue N. Anticarcinogenic effects of glycoalkaloids from potatoes against human cervical, liver lymphoma and stomach cancer cells. J Agric Food Chem 2005;53(15):6162-9.
24.Nitithamyong A, Vonelbe JH, Wheeler RM, Tibbitts TW. Glycoalkaloids in potato tubers grown under controlled environments. Am Potato J 1999;76(6):337-43

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.5.3.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.5.24]