Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
No 41, Volume 11, Issue 1

Research Article

The Effect of Resveratrol against Acrolein Toxicity in Mitochondria isolated from Rat Liver

Behnaz Shafie[1], Jalal Pourahmad [2], Mohsen Rezaei [3,*]

[1] MSc Student of Toxicology, Department of Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

[2] Professor of Toxicology and Pharmacology, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[3] Assistant Professor of Toxicology, Department of Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*** Corresponding author:** Mohsen Rezaei, Assistant Professor of Toxicology, Department of Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: Rezaei.m@modares.ac.ir

DOI: 10.21859/nkjmd-110107

How to Cite this Article:
Shafie B, Pourahmad J, Rezaei M. The Effect of Resveratrol against Acrolein Toxicity in Mitochondria isolated from Rat Liver. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2019; **11**(1):51-57. DOI: 10.21859/nkjmd-110107

Received: 24 Apr 2018
Accepted: 29 Oct 2018

Keywords:
Acrolein
Mitochondria
Resveratrol
Stress Oxidative

Abstract

Introduction: Acrolein is an important environmental, food and water pollutant that plays an important role in the development of several diseases. Resveratrol is a phenolic compound with antioxidant properties found in fruits such as grapes, berries and peanuts. The purpose of this study was to evaluate the protective effect of resveratrol in preventing Acrolein-induced toxicity in isolated mitochondria from the rat liver.

Methods: Rat liver mitochondria were isolated by differential centrifugation. Different concentrations of Acrolein (100 µM to 2000 µM) were used to obtain an IC50. Different concentrations of resveratrol (2.5 µM to 40 µM) were then applied on mitochondria in the presence of Acrolein toxicity.

Results: Acrolein IC50 was obtained via MTT assay as 400 µM. No toxic effect was observed for resveratrol and in the presence of Acrolein, there was a significant reduction in mitochondrial survival even at high concentrations of resveratrol compared to the control group ($P < 0.001$).

Conclusions: The results of these study showed that resveratrol failed to exhibit a protective effect against acute Acrolein toxicity and just because a protective substance could be a marvelous antioxidant does not mean that it can prevent the mitochondrial damage resulted from any toxicant.

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

بررسی اثر رزوراترول بر سمیت آکرولئین در میتوکندری های جدا شده از کبد موش صحرایی

بهناز شفیع [۱]، جلال پوراحمد [۲]، محسن رضایی [۳،*]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد سم‌شناسی، گروه سم‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
[۲] استاد، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳] استادیار، گروه سم شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
* **نویسنده مسئول:** محسن رضایی، استادیار، گروه سم شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. ایمیل: Rezaei.m@modares.ac.ir

DOI: 10.21859/nkjms-110107

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۷
واژگان کلیدی:
آکرولئین
میتوکندری
رزوراترول
استرس اکسیداتیو

چکیده

مقدمه: آکرولئین یک آلاینده مهم زیست محیطی، غذایی و آبی می‌باشد که نقش مهمی در بروز چندین بیماری نظیر آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، بیماری آلزایمر، بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی ایفا می‌کند. رزوراترول یک ترکیب فنولی با خواص آنتی اکسیدانی است که در میوه‌هایی مانند انگور، انواع توت و بادام زمینی وجود دارد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر محافظتی رزوراترول در جلوگیری از سمیت ناشی از آکرولئین بر میتوکندری های جدا شده از کبد موش صحرایی می‌باشد.

روش کار: میتوکندری های کبد موش صحرایی با دورهای مختلف سانتریفیوژ جدا گردیدند. غلظت‌های مختلفی از آکرولئین (μM ۱۰۰ تا μM ۲۰۰۰) برای به دست آوردن دوز IC50 استفاده شد. غلظت‌های مختلفی از رزوراترول (μM ۲/۵ تا μM ۴۰) برای سنجش بقای میتوکندری ها در حضور آکرولئین مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه IC50 آکرولئین با روش MTT Assay معادل ۴۰۰ میکرومولار محاسبه گردید. هیچ اثر سمی برای رزوراترول مشاهده نشد و در حضور آکرولئین، کاهش معنی داری در بقاء میتوکندری ها حتی در غلظت‌های بالای رزوراترول، در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P< ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که رزوراترول در غلظت‌های استفاده شده دراین مطالعه اثرات محافظتی بر سمیت حاد آکرولئین نداشته است و اینکه یک ماده محافظ می‌تواند یک آنتی اکسیدان قوی باشد، به این معنی نیست که می‌تواند از آسیب‌های میتوکندریایی ناشی از هر سمی جلوگیری کند.

مقدمه

کبد نقش اساسی در متابولیسم چربی‌ها و سوخت و ساز بدن دارد، میتوکندری سلول‌های کبدی (هپاتوسیت ها) منابع اصلی تولید ATP می‌باشند. این اندامک نقش مهمی در میزان تولید ATP و ظرفیت آنتی اکسیدانی، اکسیداسیون چربی و فرآیند مرگ سلولی بر عهده دارد. عوامل سمی بسیاری از طریق افزایش سطح استرس اکسیداتیو سبب سرکوب عملکرد میتوکندری سلول می‌شوند [۱].۲-پروپنال یا آکرولئین یک آلدئید الکتروفیل غیر اشباع α و β می‌باشد که در دمای اتاق به صورت بی رنگ و قابل اشتعال با بوی تحریک کننده و بسیار فرار وجود دارد [۲]. این ماده یک آلاینده مهم زیست محیطی، غذایی و آبی می‌باشد که توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا به عنوان یکی از ۱۸۸ آلاینده پر خطر شناسایی شده است که اهمیت مواجه با آن را در تماس‌های روزانه افراد از طریق تنفسی، پوستی و خوراکی دو چندان می‌کند و می‌تواند در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها از جمله آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، بیماری آلزایمر، بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی مورد توجه قرار بگیرد [۳، ۴]. این ماده به عنوان یک واسطه ضروری برای سنتز تعداد زیادی از مواد شیمیایی وآلی در مقیاس صنعتی تولید می‌شود [۲]. علاوه بر صنعت در محیط زیست، درطول احتراق ناقص سوخت‌های نفتی (دود خارج شده از اگزوز خودروها)، پلاستیک، کاغذ و چوب منتشر می‌شود و بخش عمده‌ای از دود سیگار حدود (μg/cigarette 140-25) را شامل می‌شود [۵]. از طرفی دیگر این ماده در روغن‌های گیاهی و حیوانی که در حین پخت و پز حرارت بالا می‌بینند تولید می‌شود و همینطور درآب آشامیدنی هم وجود دارد و یک الکتروفیل بسیار قوی است که در داخل بدن تا چندین روز هم فعال باقی می‌ماند [۶]. آکرولئین هم در تماس مزمن و هم در تماس حاد اثرات قابل توجهی دارد. این ماده بسیار محلول در آب است و به سرعت می‌تواند وارد بافت‌های بدن شود. مکانیسم‌های مستقیم سمیت آکرولئین مانند اضافه شدن به پروتئین و DNA، و مکانیسم‌های غیر مستقیم شامل القاء استرس اکسیداتیو، اختلال در میتوکندری و

استرس در شبکه آندوپلاسمی می‌باشد که ارگان‌ها و شرایط پاتولوژیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۷].

مسیر اصلی حذف آکرولئین توسط کنژوگه شدن با گلوتاتیون (GSH) در کبد است. تماس با آکرولئین به سرعت و به طور چشمگیری گلوتاتیون داخل سلولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی را کاهش می‌دهد و سبب اختلال در میتوکندری می‌شود [۸]. رزوراترول (۳،۴´، ۵ - تری هیدروکسی- ترانس- استیل بن) یک پلی فنول طبیعی است که در منابع مختلفی از جمله پوست انگور، انواع توت‌ها و بادام زمینی وجود دارد. این ماده ارزشمند ترکیب مفیدی برای سلامتی انسان است. رزوراترول می‌تواند از پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها که شامل بیماریهای مرتبط با التهاب از جمله سرطان، بیماری‌های نورودژنراتیو، بیماری‌های مزمن قلبی عروقی، آسیب‌های ایسکمیک و عفونت‌های ویروسی و نیز افزایش مقاومت به استرس، جلوگیری کند. یافته‌های تجربی نشان می‌دهد که رزوراترول بر چندین هدف سلولی مانند تکثیر و رشد سلولی، آپوپتوز، التهاب، آنژیوژنز و متاستاز اثرات قابل توجهی را دارد. شواهد Invitro اثرات مهاری رزوراترول را در سرطان کبد بر سلولهای HepG2 نشان می‌دهد [۹]. در مطالعه صورت گرفته در محیط Invitro، رزوراترول با افزایش سطح دفاع آنتی اکسیدانی طبیعی در انواعی از سلولهای چشم سبب کاهش استرس اکسیداتیو شده است [۱۰]. با توجه به خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی رزوراترول، در این مطالعه اثر رزوراتول بر سمیت ناشی از آکرولئین در میتوکندری های جدا شده از سلولهای کبد موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش کار

مواد: در این تحقیق آکرولئین، رزوراترول و سایر مواد از کمپانی سیگما مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات: موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفتند. در این مطالعه از کبد موش‌های صحرایی سالم، میتوکندری تخلیص شده و مورد استفاده قرار گرفته است. هر آزمایش حداقل ۳ بار در روزهای متفاوت تکرار شده است. موش‌ها یک هفته قبل از شروع آزمایش در شرایط کنترل‌شده ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی با در نظر گرفتن دوره نوری از ۷ صبح تا ۷ شب، دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۵ تا ۳۰ درصد در شرایط طبیعی و رژیم غذایی طراحی‌شده (غذای مخصوص موش صحرایی) نگه‌داری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند. در کار با حیوان آزمایشگاهی منشور اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تربیت مدرس ملاک عمل این تحقیق بود.

ابتدا موش صحرایی با کتامین ۹۰ mg/kg و زایلازین ۱۰mg/kg به صورت داخل صفاقی بیهوش گردید. کبد موش صحرایی از بدن حیوان جدا و سپس در بافر مانیتول که شامل ۱۰ mM HEPES، مانیتول ۲۰۰ mM، سوکروز ۷۰ mM و ۱ mM EGTA شستشو داده شدند. و در پلیت بر روی یخ وزن گردید و با قیچی قطعه قطعه شد. کبد قطعه قطعه شده بر روی یخ به آرامی با هموژنایزر دستی همراه با بافر مانیتول هموژنیزه گردید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰g در دمای ۴ °C به وسیله سانتریفیوژ یخچال دار، سانتریفیوژ شد. در این مرحله هسته و سلولهای شکسته شده و دیگر بافت‌های سلولی حذف می‌شوند [۱۱]. سپس سوپرناتانت به دست آمده با سرعت ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت دوم حاوی قطعات میکروزومال و میتوکندری های شکسته شده است. رسوب پایینی دوباره در بافر مانیتول پیپتاژ شده و در ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای خالص سازی این مرحله چندبار تکرار شد. سوسپانسیون میتوکندری های جدا شده در محلول بافری بالا در دمای ۴°C برای سنجش‌های مورد نظر مورد استفاده قرار گرفت [۱۲].

تعیین میزان پروتئین

رسوب میتوکندریایی با بافر تخلیص به حجم مشخص رسانده شد، سپس میزان پروتئین آن با روش برادفورد سنجش گردید. حجم نهایی سوسپانسیون میتوکندری حاوی 1 mg protein/ml در نظر گرفته شد. سوسپانسیون میتوکندری به دست آمده در گروههای مختلف و در معرض غلظت‌های مختلفی از رزوراترول (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میکرومولار) قرار گرفت [۱۳, ۱۴].

سنجش Viability و میزان IC50 به وسیله روش MTT assay

این روش رنگ سنجی، معیاری کمی برای تعیین زنده‌مانی است که در آن نمک زرد رنگ تترازولیوم (MTT) توسط آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی احیا و شکسته می‌گردد و موجب تشکیل کریستال‌های بنفش رنگ فورمازان غیر محلول می‌شود، بنابراین از حلال DMSO استفاده شد تا کریستال‌های فورمازان را حل کند [۱۵].

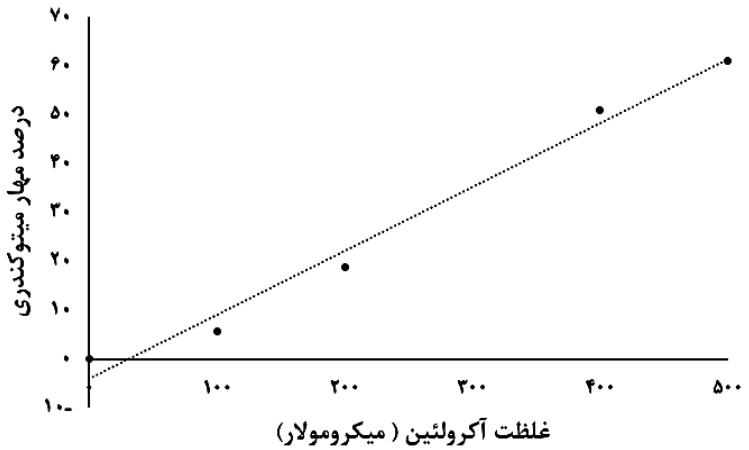
به ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون میتوکندریایی غلظت‌های مختلفی از ماده محافظتی رزوراترول (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میکرومولار) به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تماس داده شد و سپس با دوز IC50 به دست آمده از آکرولئین به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تماس داده شد. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT با غلظت نهایی ۰/۵ mg/ml را به هر میکروتیوب حاوی سوسپانسیون میتوکندریایی تیمار شده اضافه گردید و به مدت ۴۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۲۰-۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا انکوبه گردد. سپس به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید. درنهایت جذب در طول موج ۵۷۰ nm در دستگاه الایزا ریدر قرائت شد. درصد مهار میتوکندری با غلظت‌های مختلف آکرولئین (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۶۰۰، ۲۰۰۰ میکرومولار) طبق رابطه زیر محاسبه شد و با استفاده از نرم افزار Excel میزان IC50 در غلظت ۴۰۰ میکرومولار محاسبه شد.

$$\text{درصد مهار میتوکندری} = \frac{\text{جذب ماده سمی} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. برای هر سری از داده‌ها میانگین سطح متغییر به صورت Mean ± SE بیان شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد. برای بررسی و تعیین اختلاف میانگین‌ها و معنی دار بودن نتایج آنالیز از One way ANOVA و $P > ۰/۰۵$ به عنوان سطح معناداری اختلاف از لحاظ آماری، در نظر گرفته شد.

به دست آوردن غلظت IC50 در حضور آکرولئین بر میتوکندری های تخلیص شده؛ جذب خوانده شده از غلظت‌های مختلفی از آکرولئین را در سنجش زنده‌مانی میتوکندری ها با استفاده از فرمول درصد مهار میتوکندری در نمودار قرار داده و غلظت ۴۰۰ میکرومولار به عنوان غلظت IC50 محاسبه شد.



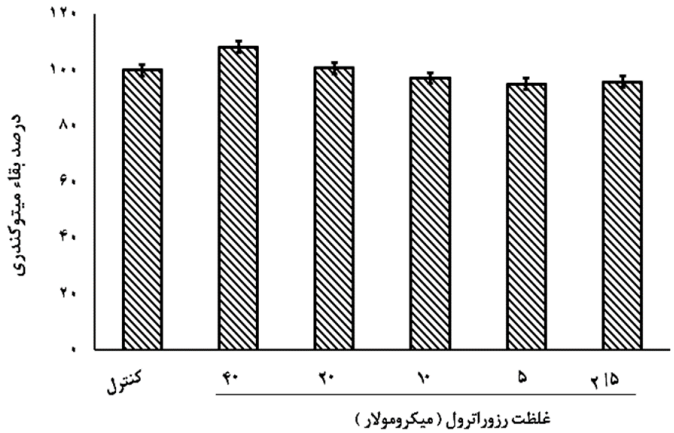
تصویر ۱: محاسبه غلظت IC50 آکرولئین

سوسپانسیون میتوکندری به مدت چهل دقیقه در معرض غلظت‌های مختلف آکرولئین قرار گرفت سپس به مدت چهل دقیقه با معرف MTTانکوبه شد و جذب آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه الایزاریدر خوانده شد. نتایج حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

یافته‌ها

بررسی اثر غلظت‌های مختلف رزوراترول بر سنجش زنده‌مانی میتوکندری های تخلیص شده از سلولهای کبدی موش صحرایی: زنده مانی میتوکندری ها از طریق سنجش تست MTT پس از چهل دقیقه تماس میتوکندری ها با غلظت‌های مختلف رزوراترول انجام شد و جذب آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزاریدر قرائت گردید. در این بررسی رزوراترول در همه غلظت‌ها تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل در زنده‌مانی میتوکندری نداشته است.

سوسپانسیون میتوکندری به مدت چهل دقیقه در معرض غلظت‌های مختلف رزوراترول قرار گرفت سپس به مدت چهل دقیقه با معرف MTT انکوبه شد و جذب آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه الایزاریدر خوانده شد.



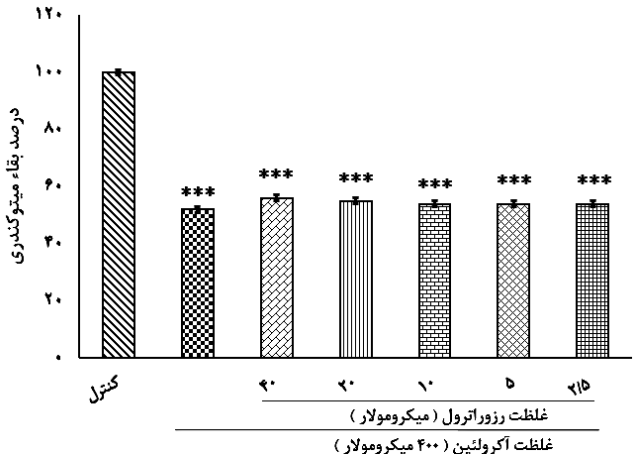
تصویر ۲: اثرغلظت های مختلف رزوراترول بر میزان تبدیل MTT

نتایج به صورت mean±SE حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز آماری (ANOVA) استفاده شد. بررسی اثر محافظتی رزوراترول بر سنجش زنده‌مانی میتوکندری در حضور آکرولئین:

زنده مانی میتوکندری ها از طریق سنجش تست MTT پس از چهل دقیقه تماس میتوکندری ها با غلظت‌های مختلف رزوراترول و سپس چهل دقیقه تماس با غلظت 400µM آکرولئین (غلظت IC50) انجام شد. رزوراترول در تمام غلظت‌ها نتوانسته در حضور آکرولئین اثر

محافظتی خود را بر میتوکندری ها اعمال کند و تفاوت معناداری با گروه کنترل داشته است.

پس از تماس میتوکندری ها با غلظت‌های مختلفی از رزوراترول و چهل دقیقه تماس با غلظت ۴۰۰ میکرومولار آکرولئین (غلظت IC50) و معرف MTT، جذب حاصل در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه الایزاریدر خوانده شد. نتایج به صورت mean±SE حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز آماری (ANOVA) استفاده شد.



تصویر ۳: اثر محافظتی رزوراترول در حضور آکرولئین

*** نشان دهنده اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل می‌باشد (P<۰/۰۰۱).

بحث

امروزه نقش میتوکندری در سن شروع بیماری، شدت بیماری‌ها، آپوپتوزیس و مرگ سلولی مشخص شده است [۱۶]. اهمیت مطالعه میتوکندری ها به علت نقش این ارگانل در پاتولوژی بسیاری از بیماری‌ها و پیری است [۱۷]. آکرولئین نقش مهمی را در چندین بیماری از جمله آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، بیماری آلزایمر، بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی ایفا می‌کند. قرار گرفتن در معرض آکرولئین در سطح سلولی، اثرات سمی گوناگونی از جمله adduct شدن با DNA و پروتئین، استرس اکسیداتیو، اختلال در میتوکندری، آسیب غشایی، استرس در شبکه آندوپلاسمی و اختلال در عملکرد ایمنی و ایجاد التهاب را در پی دارد [۷]. در مطالعه سلولی که در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت، آکرولئین سبب افزایش نفوذ پذیری میتوکندری و اختلال در عملکرد آن و افزایش استرس اکسیداتیو در هپاتوسیت ها گردید. در این مطالعه زنده‌مانی هپاتوسیت ها، در حضور آکرولئین به مدت ۲۴ ساعت نشان داد که از غلظت ۲/۵ میکرومولار تا غلظت ۲۵ میکرومولار آکرولئین تفاوت معناداری با گروه کنترل وجود ندارد و غلظت مهاری ۵۰٪ از هپاتوسیت ها بین غلظت ۵۰ و ۷۵ میکرومولار اندازه گیری شده است [۸]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت، نشان داده شد که آکرولئین به عنوان سم میتوکندریایی سبب ایجاد اختلال در عملکرد آن می‌شود و سمیت آکرولئین نقش مهمی در سمیت سلول‌های کبدی و بیماری‌های مرتبط با سیگار کشیدن ایفا می‌کند. در این بررسی آکرولئین به صورت وابسته به دوز، سبب مهار NADH و سوکسینات مرتبط با زنجیره تنفسی میتوکندریایی، تغییر در نفوذپذیری غشای میتوکندری، افزایش در کربونیل های پروتئینی و مهار انتخابی آنزیم‌های کمپلکس II و I میتوکندری، پیروات دهیدروژناز، آلفا کتوگلوتارات دهیدروژناز شد. در این مطالعه پس از ۶۰ دقیقه تماس میتوکندری ها با آکرولئین، فعالیت کمپلکس I میتوکندریایی در غلظت ۵۰۰ میکرومولار شروع به کاهش یافت و با افزایش غلظت آکرولئین به آهستگی کاهش یافت و فعالیت کمپلکس II از غلظت ۱۰۰ میکرومولار شروع به کاهش یافت و با افزایش غلظت آکرولئین به شدت کاهش یافت [۱۸].

بر طبق مطالعات قبلی صورت گرفته بر روی میتوکندری از غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار برای به دست آوردن IC50 در این مطالعه استفاده شد (تصویر ۱). با به دست آوردن غلظت مهاری ۵۰٪ از میتوکندری ها (IC50) در غلظت ۴۰۰ میکرومولار، نتایج نشان می‌دهند که اثرات سمی آکرولئین بر میتوکندری های تخلیص شده از سلولهای کبدی موش صحرایی در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار بروز می‌کند که در مطالعات سلولی در غلظت‌های پایین‌تر از ۱۰۰ میکرومولار این نتایج به دست آمده است. یک منبع مهم تولید آکرولئین در سلول پراکسیداسیون لیپید مرتبط با استرس اکسیداتیو می‌باشد که آکرولئین را به عنوان یک محصول جانبی تولید می‌کند. آکرولئین یک ترکیب بسیار واکنش پذیر با خاصیت الکتروفیلی است که با نوکلئوفیل های سلولی واکنش می‌دهد و سبب تخلیه آن‌ها می‌شود. آکرولئین به سرعت ظرفیت آنتی اکسیدانت گلوتاتیون را کاهش می‌دهد و قادر به ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد [۱۹]. علاوه بر این که آکرولئین محصول جانبی پراکسیداسیون لیپیدی است، خودش هم به تنهایی می‌تواند سبب القای پراکسیداسیون لیپید شود. این آلدهید واکنش پذیر در ایجاد آسیب اکسیداتیو در سلول‌ها و بافت‌ها نقش بالقوه‌ای ایفا می‌کند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ انجام شد، نشان داد که غلظت‌های آکرولئین در محیط Invivo با افزایش زمان

پس از ایجاد آسیب، افزایش یافته است و از طرفی پراکسیداسیون لیپید یک واکنش زنجیره‌ای است و علاوه براین، سلول‌های مرده آکرولئین را از سیتوزول به محیط خارج سلولی آزاد می‌کنند [۲۰]. با توجه به این که مواجهه با آکرولئین در محیط اجتناب ناپذیر است می‌توان از مواد طبیعی استفاده کرد که با اثر بر روی میتوکندری سمیت میتوکندری را کاهش می‌دهد.

رزوراترول یک پلی فنول طبیعی است که تعدد اثرات بیولوژیکی آن عمدتاً به واسطه فراوانی و تنوع اهداف مولکولی این ترکیب می‌باشد. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که رزوراترول دارای اثرات محافظتی بر قلب و عروق، ضد پلاکتهای خونی، آنتی اکسیدانت، ضد التهاب، پایین آورنده قند خون، چاقی، فعالیت‌های ضد سرطان و اثر محافظتی بر بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر می‌باشد [۲۱]. رزوراتول بیشترین اثر محافظتی خود بر روی کبد را از طریق مکانیسم دفاع آنتی اکسیدانی و اثرات ضد التهابی اعمال می‌کند. این ماده فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش داده است و همچنین سبب کاهش NF-kappaB در کبد موش‌های دیابتی شده است [۲۲]. در مطالعه حاضر، از غلظت‌های مختلف رزوراتول (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار) بر میتوکندری های جدا شده از کبد استفاده شد و در همه غلظت‌ها هیچگونه سمیتی بر میتوکندری ها مشاهده نشد و تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل نداشتند (تصویر ۲). اثر رزوراتول بستگی به وضعیت ردوکس دارد که ممکن است نقش آنتی اکسیدانت و یا پرواکسیدانت را ایفا کند. غلظت رزوراتول و نوع سلول هم اهمیت دارد. اثرات اکسیدانی رزوراتول در مطالعات نشان داده شده است که سبب انفارکتوس میوکارد و آپوپتوز کاردیومیوسیت ها با دوزهای پایین و بالای رزوراتول در محیط Invivo شده است. در این مطالعه اثر محافظتی رزوراترول بر قلب، وابسته به دوز بوده است به دلیل اینکه در غلظت‌های پایین (۵ میکرومولار-۱۰ میکرومولار) رزوراترول فعالیت‌های آنتی اکسیدانی داشته است و در غلظت‌های بالا نقش اکسیدانی داشته است [۲۳]. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که اثرات نوروپروتکتیو رزوراتول در سلولهای آستروسیت هیپوکمپ، بیشتر با فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی مرتبط است [۲۴]. رزواترول اثرات ضد توموری دارد و در حال حاضر برای پیشگیری و درمان سرطان روده در انسان مورد بررسی قرار گرفته است [۲۵].

مطالعات بسیاری وجود دارند که نشان می‌دهد رزوراترول به عنوان یک جاروب کننده و آنتی اکسیدان می‌تواند اثرات محافظتی خودش را اعمال کند [۲۶]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ در محیط بافری و غیر بیولوژیک انجام شد نشان می‌دهد که برهمکنش دو ماده آکرولئین و رزوراترول می‌تواند اثرات سمی آکرولئین را کاهش دهد، در حالی که غلظتی از رزوراترول که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است، معمولاً در شرایط فیزیولوژیک به دست نمی‌آید [۲۷]. در مطالعه حاضر در محیط بیولوژیک، آکرولئین در غلظت IC50 و در حضور رزوراترول باعث تخریب میتوکندری ها شده است. بررسی انجام شده نشان می‌دهد که رزوراترول نمی‌تواند پیشگیری لازم را انجام دهد و آکرولئین سبب کاهش زنده‌مانی میتوکندری ها در حضور رزوراترول شده است و تفاوت معناداری در تمام غلظت‌های رزوراترول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (تصویر ۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که میتوکندری می‌تواند به عنوان ارگان هدف برای سمیت ناشی از آکرولئین مطرح باشد و نقش مهمی را در سمیت هپاتوسیت ها و آسیب کبدی ایفا کند. بر طبق مطالعات قبلی، آکرولئین بیشترین اثرات سمی خود را از طریق استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید و کاهش گلوتاتیون اعمال می‌کند. با توجه به اینکه رزوراترول در شرایط استفاده شده نتوانسته در مقابل سمیت میتوکندریایی آکرولئین، اثرات محافظتی خود را اعمال کند، آنتی اکسیدان بودن به این معنی نیست که می‌تواند مانع از تخریب میتوکندری و مرگ نهایی آنها شود. از آنجایی که مکانیسم سموم مختلف متفاوت است، در سمیت های مختلف مواد محافظت کننده اثرات متفاوتی دارند و هر ماده‌ی محافظتی نمی‌تواند در مقابل هر سمی اثرات خود را اعمال کند. این یافته برای پیشگیری و یا درمان بیماری‌های وابسته به اختلال عملکرد میتوکندری می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان نامه کد ۱۲۸۲۷۳۵ مورخه ۹۶/۱۲/۱۶ دانشگاه تربیت مدرس مورد حمایت قرار گرفته است. بدین وسیله از کلیه کسانی که ما را یاری دادند صمیمانه سپاسگزاریم.

References

1. Song BJ, Akbar M, Abdelmegeed MA, Byun K, Lee B, Yoon SK, et al. Mitochondrial dysfunction and tissue injury by alcohol, high fat, nonalcoholic substances and pathological conditions through post-translational protein modifications. Redox Biol. 2014;3:109-23. doi: 10.1016/j.redox.2014.10.004 pmid: 25465468
2. Avezov K, Reznick AZ, Aizenbud D. LDH enzyme activity in human saliva: the effect of exposure to cigarette smoke and its different components. Arch Oral Biol. 2014;59(2):142-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.11.003 pmid: 24370185
3. Joshi-Barve S, Amancherla K, Patil M, Bhatnagar A, Mathews S, Gobejishvili L, et al. Acrolein, a ubiquitous pollutant and lipid hydroperoxide product, inhibits antiviral activity of interferon-alpha: relevance to hepatitis C. Free Radic Biol Med. 2009;47(1):47-54. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.03.021 pmid: 19345260
4. Stevens JF, Maier CS. Acrolein: sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease. Mol Nutr Food Res. 2008;52(1):7-25. doi: 10.1002/mnfr.200700412 pmid: 18203133
5. Bui LC, Manaa A, Xu X, Duval R, Busi F, Dupret JM, et al. Acrolein, an alpha,beta-unsaturated aldehyde, irreversibly inhibits the acetylation of aromatic amine xenobiotics by human arylamine N-acetyltransferase 1. Drug Metab Dispos. 2013;41(7):1300-5. doi: 10.1124/dmd.113.052258 pmid: 23633528
6. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organ J. 2012;5(1):9-19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613 pmid: 23268465
7. Moghe A, Ghare S, Lamoreau B, Mohammad M, Barve S, McClain C, et al. Molecular mechanisms of acrolein toxicity: relevance to human disease. Toxicol Sci. 2015;143(2):242-55. doi: 10.1093/toxsci/kfu233 pmid: 25628402
8. Mohammad MK, Avila D, Zhang J, Barve S, Arteel G, McClain C, et al. Acrolein cytotoxicity in hepatocytes involves endoplasmic

reticulum stress, mitochondrial dysfunction and oxidative stress. Toxicol Appl Pharmacol. 2012;265(1):73-82. doi: 10.1016/j.taap.2012.09.021 pmid: 23026831
9. Bishayee A, Politis T, Darvesh AS. Resveratrol in the chemoprevention and treatment of hepatocellular carcinoma. Cancer Treat Rev. 2010;36(1):43-53. doi: 10.1016/j.ctrv.2009.10.002 pmid: 19910122
10. Lancon A, Frazzi R, Latruffe N. Anti-Oxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Properties of Resveratrol in Ocular Diseases. Molecules. 2016;21(3):304. doi: 10.3390/molecules21030304 pmid: 26950104
11. Mohammadi-Bardbori A, Ghazi-Khansari M. The inhibitory effect of captoperil on paraquat toxicity in mitochondria isolated from the rat liver. Toxicol Lett. 2006;164:S246. doi: 10.1016/j.toxlet.2006.07.172
12. Hosseini MJ, Shaki F, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of copper on isolated liver mitochondria: impairment at complexes I, II, and IV leads to increased ROS production. Cell Biochem Biophys. 2014;70(1):367-81. doi: 10.1007/s12013-014-9922-7 pmid: 24691927
13. Bastianetto S, Menard C, Quirion R. Neuroprotective action of resveratrol. Biochim Biophys Acta. 2015;1852(6):1195-201. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.09.011 pmid: 25281824
14. Sheu SJ, Liu NC, Ou CC, Bee YS, Chen SC, Lin HC, et al. Resveratrol stimulates mitochondrial bioenergetics to protect retinal pigment epithelial cells from oxidative damage. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013;54(9):6426-38. doi: 10.1167/iovs.13-12024 pmid: 24008411
15. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983;65(1-2):55-63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4
16. Luo Z, Harada T, London S, Gajdusek C, Mayberg MR. Antioxidant and iron-chelating agents in cerebral vasospasm. Neurosurgery. 1995;37(6):1154-8; discussion 8-9. doi: 10.1227/00006123-199512000-00015 pmid: 8584156
17. Kaeidi A, Esmaeili-Mahani S, Abbasnejad M, Sheibani V, Rasoulian B, Hajializadeh Z, et al. Satureja khuzestanica attenuates apoptosis in hyperglycemic PC12 cells and spinal cord of diabetic rats. J Nat Med. 2013;67(1):61-9. doi: 10.1007/s11418-012-0646-y pmid: 22391800
18. Sun L, Luo C, Long J, Wei D, Liu J. Acrolein is a mitochondrial toxin: effects on respiratory function and enzyme activities in isolated rat liver mitochondria. Mitochondrion. 2006;6(3):136-42. doi: 10.1016/j.mito.2006.04.003 pmid: 16725382
19. Roy J, Pallepati P, Bettaieb A, Tanel A, Averill-Bates DA. Acrolein induces a cellular stress response and triggers mitochondrial apoptosis in A549 cells. Chem Biol Interact. 2009;181(2):154-67. doi: 10.1016/j.cbi.2009.07.001 pmid: 19596284
20. Tanel A, Averill-Bates DA. Activation of the death receptor pathway of apoptosis by the aldehyde acrolein. Free Radic Biol Med. 2007;42(6):798-810. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.12.009 pmid: 17320762
21. Kursvietiene L, Staneviciene I, Mongirdiene A, Bernatoniene J. Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. Medicina (Kaunas). 2016;52(3):148-55. doi: 10.1016/j.medici.2016.03.003 pmid: 27496184
22. Szkudelski T, Szkudelska K. Resveratrol and diabetes: from animal to human studies. Biochim Biophys Acta. 2015;1852(6):1145-54. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.10.013 pmid: 25445538
23. Dudley J, Das S, Mukherjee S, Das DK. Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. J Nutr Biochem. 2009;20(6):443-52. doi: 10.1016/j.jnutbio.2008.05.003 pmid: 18789672
24. Bellaver B, Souza DG, Souza DO, Quincozes-Santos A. Resveratrol increases antioxidant defenses and decreases proinflammatory cytokines in hippocampal astrocyte cultures from newborn, adult and aged Wistar rats. Toxicol In Vitro. 2014;28(4):479-84. doi: 10.1016/j.tiv.2014.01.006 pmid: 24462605
25. Bishayee A. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials. Cancer Prev Res (Phila). 2009;2(5):409-18. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0160 pmid: 19401532
26. Gambini J, Ingles M, Olaso G, Lopez-Grueso R, Bonet-Costa V, Gimeno-Mallench L, et al. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. Oxid Med Cell Longev. 2015;2015:837042. doi: 10.1155/2015/837042 pmid: 26221416
27. Wang W, Qi Y, Rocca JR, Sarnoski PJ, Jia A, Gu L. Scavenging of Toxic Acrolein by Resveratrol and Hesperetin and Identification of Adducts. J Agric Food Chem. 2015;63(43):9488-95. doi: 10.1021/acs.jafc.5b03949 pmid: 26457480