

مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) و اثر حفاظتی عصاره برگ بر مسمومیت کلیوی القاء شده با اتانول در موش های صحرایی نر

رویا کرمان^{۱*}، مصطفی اسدبگی^۱، سیامک یاری^۱

(۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۷

چکیده

مقدمه: مصرف حد الکل باعث القاء پراکسیداسیون لیپید در بافت کلیه می شود، اما مصرف مزمن آن اثرات خفیفی بر ویژگی های بیوشیمیایی و بافت شناختی کلیه دارد. ترکیبات آنتی اکسیدانی بافت ها را در برابر تنش اکسیداتیو و آسیب القاء شده با اتانول محافظت می کنند. هدف از این مطالعه، ارزیابی محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ و ساقه گیاه شیرین بیان و نیز نقش حفاظتی عصاره برگ این گیاه در مسمومیت کلیوی القاء شده با اتانول بود.

مواد و روش ها: ارزیابی محتوای فنل و فلاونوئید تام عصاره برگ و ساقه شیرین بیان به ترتیب به روش های فولین-سیوکالتو و کلرید آلومینیوم انجام شد. سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره ها به روش مهار رایکال آزاد 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) انجام شد. به علاوه اثر حفاظتی عصاره برگ این گیاه، پس از تیمار دهانی چهار گروه موش صحرایی نر نژاد ویستار شامل گروه ۱ یا کنترل (روزانه ۱ میلی لیتر آب)، گروه ۲ (روزانه ۱ میلی لیتر اتانول ۵۰ درصد)، گروه ۳ (روزانه ۵۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره برگ و ۱ میلی لیتر اتانول ۵۰ درصد) و گروه ۴ (روزانه ۵۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره برگ) توسط ارزیابی شاخص های بیوشیمیایی و بافت شناختی بافت کلیه انجام شد. مطالعه بافت شناختی با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوژین رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری انجام شد. در نهایت داده های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS vol.20 آنالیز و با آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ گروه بندی شدند.

یافته های پژوهش: عصاره ساقه شیرین بیان محتوای فلاونوئیدی بالاتری از عصاره برگ داشت. عصاره های ساقه و برگ فعالیت آنتی اکسیدانی (۹۳-۸۶ درصد) خوبی نسبت به اسید آسکوربیک (۷۱ درصد) نشان دادند. نتایج آنالیز بیوشیمیایی بر روی بافت کلیه موش های صحرایی نر نشان داد که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و محتوای پراکسید هیدروژن در گروه تیمار شده با اتانول افزایش یافت، اما تغییر معنی داری در محتوای پروتئین کل و مالون دی آلدئید (MDA) آن گروه مشاهده نشد. هم چنین نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی نشان داد که بافت کلیوی موش های صحرایی نر تیمار شده با اتانول در مقایسه با گروه کنترل، دچار آسیب شده و عصاره گونه مورد مطالعه این آسیب را تعدیل نمود.

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد عصاره گیاه شیرین بیان واجد فعالیت زیستی است و در آینده می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی جدید در صنایع غذایی و دارویی به کار رود.

واژه های کلیدی: شیرین بیان، فعالیت آنتی اکسیدانی، اتانول، سمیت کلیوی، فنل، موش صحرایی

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

Email: R_karamian@bau.ac.ir

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

رادیکال های آزاد مشابه اکسیژن فعال به طور طبیعی در مسیرهای متابولیسمی مختلف در سلول ها تولید می شوند و نقش مهمی در فرآیند پیام رسانی سلول ایفا می کنند. عوامل دیگری از جمله پرتو فرابنفش، سیگار و مشروبات الکلی نیز ممکن است سلول ها را جهت تولید رادیکال های آزاد تحریک کنند (۱). مقادیر بالای این رادیکال ها برای سلول ها خطرناک بوده و ممکن است به اجزاء سازنده سلول ها مانند پروتئین ها، DNA، فسفولیپیدها و غشاهای سلولی آسیب رسانده و موجب تخریب بافت ها و بیماری های مختلف مانند التهاب، سرطان و... گردد (۲). بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، حدود ۶ درصد از کل مرگ و میر در جهان وابسته به مصرف الکل است (۳). مصرف حاد و مزمن الکل باعث ایجاد تغییرات در اعمال سلول و سیستم آنتی اکسیدانی آن گردیده و اثرات مخربی بر فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی اغلب اندام های بدن از جمله کبد و کلیه دارد (۴). به طور کلی مکانیسمی که اتانول و متابولیت های حاصل از آن موجب آسیب به بافت کبد و کلیه می شوند، به طور کامل روشن نیست. با این حال، برخی مطالعات نشان داده اند که اتانول با القاء تولید رادیکال های آزاد از جمله پراکسید هیدروژن، می تواند سبب آسیب های سلولی و بافتی گردد (۵، ۲). الکل پس از مصرف در کبد توسط آنزیم الکل دهیدروژناز به استالدهید تبدیل شده و در نهایت با تولید رادیکال آزاد سوپراکسید به استات تبدیل می شود (۶). کلیه نیز که محل دفع بسیاری از متابولیت های مضر است، می تواند تحت تاثیر رادیکال های آزاد حاصل از مصرف الکل قرار گیرد (۷). نتایج حاصل از مطالعات قبلی نشان داده است که مصرف حاد الکل باعث القاء پراکسیداسیون لیپید در بافت کلیه می گردد، هر چند مصرف مزمن آن اثرات خفیفی بر ویژگی های بیوشیمیایی و بافت شناسی کلیه دارد (۸). آنتی اکسیدان ها ترکیبات مهمی هستند که می توانند سلول را در برابر اکسیداسیون محافظت نموده و در پیشگیری و درمان آسیب های اکسیداتیو موثر

هستند (۹). این ترکیبات شامل دو گروه آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی هستند. سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز از جمله مهم ترین آنزیم های آنتی اکسیدانی هستند که مستقیماً با رادیکال های اکساینده واکنش نموده و آن ها را به فرآورده های غیر رادیکالی تبدیل می نمایند. عصاره های گیاهی به دلیل دارا بودن متابولیت های متنوع، دارای خواص آنتی اکسیدانی قابل توجهی هستند. آنتی اکسیدان های مهم موجود در گیاهان شامل توکوفرول ها، اسید فولیک، اسید آسکوربیک، رنگیزه های کاروتنوئیدی، فنیل آکرلیک اسیدها و پلی فنل ها از جمله فلاونوئیدها و آنتوسیانین ها هستند که بزرگ ترین گروه فنل های طبیعی را شامل می شوند. به طور کلی این آنتی اکسیدان ها قادرند به اشکال مختلف از جمله پاک سازی رادیکال های آزاد، کلات کنندگی، احیاء کنندگی و یا فعال کنندگی آنزیم های آنتی اکسیدانی سلول عمل نموده و موجب کاهش و یا رفع آسیب های ناشی از رادیکال های آزاد در سیستم های زیستی گردند (۱۰).

جنس شیرین بیان (*Glycyrrhiza L.*) مشتمل بر ۲۰ گونه گیاهی، متعلق به تیره بقولات و بومی اغلب نقاط جهان به ویژه آسیا می باشد (۱۱). گونه *G. glabra* یکی از گونه های مهم این جنس است که پراکنش وسیعی در سراسر دنیا دارد. ترکیبات جدا شده از این گونه شامل اسید آسکوربیک، اسانس ها (تری ترین ها)، ترکیبات فنلی (چالکون ها، کوئرستین و ایزوفلاونوئیدها)، فیتواسسترول و ساپونین های گلیکوزیدی (گلیسیریزیک اسید) می باشند (۱۲). مطالعات قبلی نشان داده اند که گیاه شیرین بیان در درمان دیابت، التیام زخم و نیز در حفاظت کبدی و کلیوی در مقابل سموم مختلف موثر است (۱۳). هدف از این مطالعه ارزیابی محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ و ساقه گونه *G. glabra* و نیز بررسی اثر حفاظتی عصاره برگ این گیاه بر سمیت کلیوی القاء شده با اتانول در موش های صحرایی نر می باشد.

مواد و روش ها

مواد شیمیایی: همه مواد شیمیایی و حلال های مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک (آلمان) و سیگما (آمریکا) با درصد خلوص بالا تهیه شده است.

مواد گیاهی: گونه *G. glabra* از زیستگاه طبیعی خود در استان قزوین جمع آوری شد و نمونه و شر در هر بار یوم دانشگاه بوعلی سینا (BASU) نگهداری شد.

استخراج عصاره گیاهی: برای تهیه عصاره، ۲۵ گرم از برگ یا ساقه گونه مورد مطالعه پودر شد. استخراج عصاره از پودر خشک گیاه با ۲۵۰ میلی لیتر حلال متانول خالص و توسط دستگاه سوکسله به مدت ۶ ساعت انجام شد. عصاره ها پس از صاف کردن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ تا زمان مصرف در فریزر (۲۰- درجه سانتی گراد) نگهداری شدند (۱۴). در این پژوهش عصاره های برگ و ساقه از نظر محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفتند و به دلیل پتانسیل آنتی اکسیدانی بیشتر عصاره برگ، در سنجش اثر حفاظتی بر مسمومیت کلیوی القاء شده با اتانول در موش های صحرایی تنها از عصاره برگ استفاده شد.

ارزیابی محتوای فنل تام: بدین منظور، ۰/۵ میلی لیتر عصاره ساقه یا برگ گونه مورد مطالعه با ۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو (۱۰:۱) مخلوط شد و ۴ میلی لیتر کربنات سدیم (۱ مولار) به آن اضافه شد. سپس مخلوط واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری گردید. در نهایت جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Perkin Elmer UV/Visible (مدل Lambda 45، آمریکا) قرائت شد. محتوای فنل تام به کمک منحنی استاندارد اسید گالیک محاسبه گردید و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک عصاره گزارش شد (۱۵).

ارزیابی محتوای فلاونوئید تام: به طور خلاصه، به ۰/۵ میلی لیتر عصاره ساقه یا برگ گونه مورد مطالعه (۱:۱۰ گرم بر میلی لیتر)، ۱/۵ میلی لیتر متانول (خالص)، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم (۱ مولار) و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری گردید و

جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. محتوای فلاونوئید تام به کمک منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه گردید و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک عصاره گزارش شد (۱۶).

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی: فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره ساقه و برگ گونه مورد مطالعه در غلظت های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی گرم در میلی لیتر سنجش شد. بدین منظور، ۲/۵ میلی لیتر از عصاره با ۱ میلی لیتر محلول متانولی DPPH با غلظت $3/0 \times 10^{-4}$ مولار مخلوط شد و پس از این که به شدت به هم زده شد، به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. سپس جذب مخلوط واکنش در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (۱۷). در این پژوهش از اسید آسکوربیک به عنوان کنترل استاندارد استفاده شد و درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

$100 \times [A_s - A_b / A_c] = \text{درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد}$
که در آن، A_c جذب مخلوط واکنش بدون عصاره (۱ میلی لیتر DPPH + ۲ میلی لیتر متانول به جای عصاره)، A_b جذب مخلوط واکنش بدون DPPH (۲/۵ میلی لیتر عصاره در غلظت های مختلف + ۱ میلی لیتر اتانول به جای DPPH) و A_s جذب مخلوط واکنش (۲/۵ میلی لیتر عصاره در غلظت های مختلف + ۱ میلی لیتر DPPH) می باشد.

حیوانات آزمایشگاهی و گروه بندی آن ها: در این پژوهش، حیوانات (موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۵۰ گرم) در شرایط استاندارد از نظر شرایط نگهداری (آب و غذا، دوره روشنایی-تاریکی، دما و رطوبت) نگهداری شدند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق گروه زیست شناسی دانشگاه بوعلی سینا همدان بود، هنگام کار با موش های صحرایی رعایت شد. حیوانات به چهار گروه و هر گروه شامل ۶ سر موش صحرایی تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل) روزانه ۱ میلی لیتر آب، گروه دوم (گروه اتانول) روزانه ۱ میلی لیتر اتانول ۵۰ درصد، گروه سوم (گروه اتانول و عصاره برگ) روزانه ابتدا ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره و در فاصله زمانی ۴ ساعت بعد، ۱ میلی لیتر

که در آن کنترل A_1 ، جذب مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی و نمونه A_2 ، جذب مخلوط واکنش همراه با عصاره آنزیمی می باشد.

ارزیابی محتوای مالون دی آلدئید کل (MDA):
سنجش محتوای MDA کل عصاره به کمک روش Baryl و همکاران انجام شد (۲۱). نمونه ها در حاوی چینی حاوی ازت مایع به مدت ۵ دقیقه تا پودر شدن کامل سائیده شدند. سپس ۰/۱ گرم پودر گیاه درون میکروتیوب ۲ میلی لیتری ریخته شد و ۱ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد (w/v) به آن اضافه شد. نمونه ها پس از ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. آن گاه محلول روشنار به لوله آزمایش منتقل شده و ۴ میلی لیتر TCA (۲۰ درصد) محتوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید به آن اضافه شد. نمونه ها در بن ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس آن ها در حمام آب یخ قرار داده شده و پس از سرد شدن با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. آن گاه جذب نمونه ها در ۵۳۲ نانومتر قرائت شد و محتوای MDA بر حسب میلی گرم بر گرم وزن بافت گزارش شد.

ارزیابی محتوای پراکسید هیدروژن: برای سنجش مقدار پراکسید هیدروژن، ۰/۱ گرم بافت کلیه در ۱ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ مولار (TCA) سائیده شد و سپس عصاره های حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول سانتریفوژ شده به ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار (pH: ۷) و ۰/۵ میلی لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه گردید و جذب مخلوط واکنش در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $0.28 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر بافت گزارش شد (۲۲).

غلظت = ضریب خاموشی / تغییرات جذب نمونه H_2O_2
مطالعات بافت شناسی: جهت مطالعه بافت شناسی، بافت کلیه جدا شده و با استفاده از سرم فیزیولوژیکی شستشو و سپس در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد.

اتانول ۵۰ درصد و گروه چهارم (گروه عصاره برگ) روزانه ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره از طریق دهانی دریافت نمودند (۱۸). در این پژوهش به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصاره برگ نسبت به ساقه، از عصاره برگ جهت تیمار موش های صحرایی استفاده شد. پس از طی شدن یک دوره ۱۴ روزه، حیوانات به روش تنفس با دوز بالای اتر کشته شدند (۱۸). کلیه ها بلافاصله از بدن حیوان خارج شدند و پس از شستشو، بخشی از کلیه جهت آنالیز بیوشیمیایی در دمای -70 درجه سانتی گراد و بخشی دیگر جهت مطالعات بافت شناسی در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد.

آنالیز بیوشیمیایی و بافت شناسی بافت کلیه

ارزیابی محتوای پروتئین کل: جهت سنجش پروتئین کل، ۷۰ میکرولیتر از عصاره بافتی استخراج شده (۰/۲ گرم در ۱/۵ میلی لیتر بافر استخراج) به ۲ میلی لیتر معرف برادفورد افزوده شد و سریعاً ورتکس گردید. در نهایت نمونه ها به مدت ۲۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و جذب آن ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. در این سنجش بلانک شامل ۷۰ میکرولیتر بافر استخراج (به جای عصاره پروتئینی) بود. محتوای پروتئین کل بر اساس میلی گرم بر گرم وزن بافت نمونه با استفاده از منحنی استاندارد سرم آلبومین گاوی (BSA) گزارش گردید (۱۹).

ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD):
فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش Beauchamp و Fridovich's تعیین شد (۲۰). ۱/۵ میلی لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات (۵۰ میلی مولار، pH: ۷/۸)، EDTA (۰/۱ میلی مولار)، نیتروبلوترازولیوم (NBT) ۷۵ میلی مولار، ریبولوین (۲ میلی مولار)، متیونین (۱۳ میلی مولار) و عصاره آنزیمی به مدت ۲۵ دقیقه در معرض منبع نوری فراهم شده توسط یک لامپ ۳۰ واتی نگهداری شد. بلانک همان مخلوط واکنش بود که در تاریکی قرار گرفت. در نهایت جذب نمونه ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد و درصد فعالیت آنزیم بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{کنترل} / A_{\text{نمونه}} - A_{\text{کنترل}} = \text{درصد فعالیت آنزیم}$$

میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره ساقه (0.03 ± 0.113) میلی گرم بر میلی لیتر) <اسید آسکوربیک (0.02 ± 0.142) میلی گرم بر میلی لیتر). هم چنین نتایج نشان داد که پتانسیل آنتی اکسیدانی نمونه ها با افزایش غلظت آن ها افزایش می یابد (شکل شماره ۱).

آنالیز بیوشیمیایی بافت کلیه: نتایج حاصل از آنالیز بیوشیمیایی بافت کلیه مشخص نمود که فعالیت آنزیم SOD در موش های صحرایی تیمار شده با اتانول در مقایسه با گروه کنترل و گروه تیمار شده با عصاره + اتانول، افزایش معنی داری ($P < 0.05$) نشان داد. میزان فعالیت SOD به دنبال افزایش استرس اکسیداتیو به ویژه افزایش سطح پراکسید هیدروژن، افزایش نشان داد که در توافق با نتایج حاصل از برخی مطالعات گذشته است. از سوی دیگر، افزایش محتوای پروتئین کل و MDA در بافت کلیه موش های صحرایی تیمار شده با اتانول، معنی دار ($P < 0.05$) نبود (جدول شماره ۲) که احتمالاً حاکی از میزان خفیف تر آسیب نسبت به پراکسیداسیون لیپیدی غشاء است. در پژوهش حاضر به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصاره برگ نسبت به ساقه، از عصاره برگ جهت تیمار موش های صحرایی استفاده شد. تیمار با این عصاره باعث کاهش معنی دار فعالیت آنزیم SOD و نیز محتوای پراکسید هیدروژن در مقایسه با موش های صحرایی تیمار شده با اتانول شد که حاکی از نقش حفاظتی آن در کاهش استرس اکسیداتیو و نیز تعدیل تخریب بافت کلیه بود (جدول شماره ۲).

مطالعات بافت شناسی: نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی کلیه مشخص نمود که بافت کلیه در موش های صحرایی تیمار شده با اتانول، در مقایسه با ساختار طبیعی بافت کلیه در موش های صحرایی گروه کنترل (شکل شماره ۲. A، B)، آتروفی گلوبمرول ها (پیکان زرد رنگ) و تخریب آن ها (پیکان قرمز رنگ) و حالات غیر اپی تلیالی لوله های نزدیک به قشر کلیه (ستاره زرد رنگ) را نشان دادند (شکل شماره ۲. B). بافت کلیه موش های صحرایی تیمار شده با عصاره به همراه اتانول، کاهش در حالت غیر اپی تلیالی لوله های نزدیک به قشر کلیه (ستاره زرد رنگ) و نیز

آن گاه بافت با درجات صعودی اتانول، آگیری و توسط پارافین قالب گیری شد. نمونه های قالب گیری شده با پارافین توسط میکروتوم (مدل Micro RODS 4055، ایران) با ضخامت ۵ میکرومتر برش گیری و با رنگ هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شدند. برش های رنگ آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفته و از آن ها عکس برداری شد. در مقاطع بافتی شاخص های آتروفی و تخریب گلوبمرول ها و حالات غیر اپی تلیالی لوله های نزدیک به قشر کلیه در مقایسه با گروه کنترل و با مقیاس واحد مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری: داده های حاصل از پژوهش حاضر با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ آنالیز شد. سپس مقایسه میانگین ها به روش دانکن و در سطح $P < 0.05$ انجام شد و نتایج حاصل به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد.

یافته های پژوهشی

ارزیابی محتوای فنل و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره: نتایج مشخص کرد که عصاره گونه مورد مطالعه در هر دو بخش ساقه و برگ دارای محتوای فنل (۵ تا ۷ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک عصاره) و فلاونوئید (۱ تا ۴ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک عصاره) بالایی می باشد (جدول شماره ۱). عصاره های برگ و ساقه اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) در محتوای فنل تام نداشته، اما عصاره ساقه محتوای فلاونوئیدی بالاتری را نشان داد. ترکیبات فنلی ممکن است مسئول بسیاری از فعالیت های زیستی عصاره های گیاهی از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها باشند، هر چند این خواص در گونه های گیاهی مختلف می تواند به حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی دیگری غیر از فنل ها مربوط باشد. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها به روش مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در جدول شماره ۲ ارائه شده است. در روش های مختلف ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان فعالیت بالاتر با مقادیر IC_{50} کمتر گزارش می شود. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های مورد مطالعه بر حسب IC_{50} به ترتیب عبارت است از: عصاره برگ (0.06 ± 0.112)

گلو مروزول های طبیعی را نشان دادند (شکل شماره ۲. C) که بیشتر مشابه ساختار بافتی گروه کنترل بود (شکل شماره ۲. D)

جدول شماره ۱. محتوای فنل و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گونه *G. glabra*

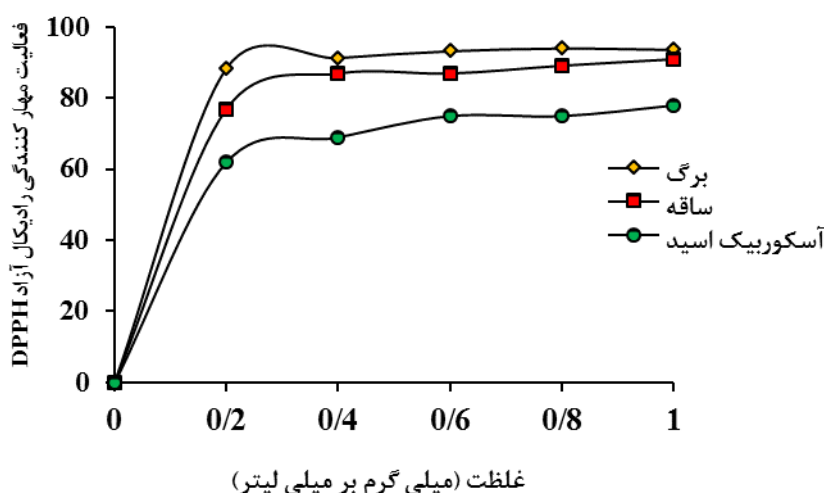
فعالیت آنتی اکسیدانی (IC50) value	محتوای فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن خشک عصاره)		محتوای فنل (میلی گرم بر گرم وزن خشک عصاره)		نمونه
	b ₀ / ۷۳ ± ۱ / ۶۴	a ₀ / ۹۱ ± ۳ / ۸۶	a _۱ / ۰۲ ± ۶ / ۸۴	a _۰ / ۹۵ ± ۵ / ۲۹	
b _۰ / ۰۰۶ ± ۰ / ۱۱۲	b _۰ / ۷۳ ± ۱ / ۶۴	a _۰ / ۹۱ ± ۳ / ۸۶	a _۱ / ۰۲ ± ۶ / ۸۴	a _۰ / ۹۵ ± ۵ / ۲۹	برگ
b _۰ / ۰۰۳ ± ۰ / ۱۱۳	a _۰ / ۹۱ ± ۳ / ۸۶	-	-	-	ساقه
a _۰ / ۰۰۲ ± ۰ / ۱۴۲	-	-	-	-	اسید آسکوربیک

مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. بر اساس آنالیز دانکن حروف یکسان در هر ستون عدم بیانگر اختلاف معنی دار در سطح P < 0.05 است.

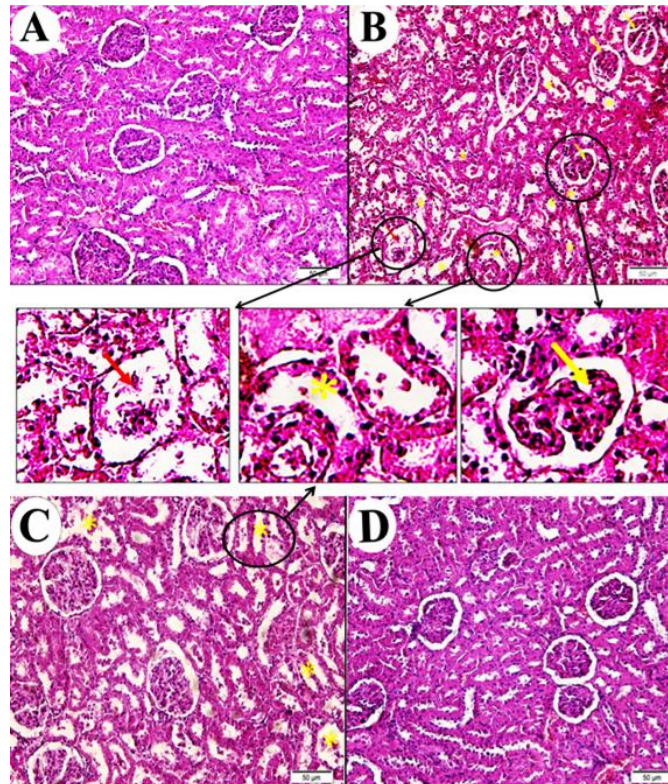
جدول شماره ۲. اثر عصاره برگ گونه *G. glabra* بر شاخص های بیوشیمیایی بافت کلیه در آسیب ناشی از اتانول

شاخص های بیوشیمیایی				نمونه
H2O2 محتوای (میکرو مول بر گرم وزن خشک بافت)	MDA محتوای (میکرو گرم بر گرم وزن خشک بافت)	SOD فعالیت آنزیم (U/mg protien)	محتوای پروتئین کل (میلی گرم بر گرم وزن خشک بافت)	
a _۰ / ۰۰۳ ± ۰ / ۰۹۱	a _۰ / ۰۰۴ ± ۰ / ۰۱۶	a _۱ / ۲ ± ۵۱ / ۶۱	a _۰ / ۰۰۵ ± ۰ / ۰۵۹	اتانول
b _۰ / ۰۰۹ ± ۰ / ۰۳۱	a _۰ / ۰۰۱ ± ۰ / ۰۱۱	b _۰ / ۹ ± ۴۱ / ۸۴	a _۰ / ۰۰۷ ± ۰ / ۰۶۴	اتانول + عصاره برگ گیاه شیرین بیان
b _۰ / ۰۱۱ ± ۰ / ۰۲۸	a _۰ / ۰۰۵ ± ۰ / ۰۱۴	b _۱ / ۱ ± ۴۰ / ۲۲	a _۰ / ۰۱۰ ± ۰ / ۰۶۱	عصاره برگ گیاه شیرین بیان
b _۰ / ۰۰۷ ± ۰ / ۰۲۸	a _۰ / ۰۰۹ ± ۰ / ۰۱۲	b _۱ / ۶ ± ۴۲ / ۵۶	a _۰ / ۰۰۲ ± ۰ / ۰۵۶	کنترل

مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. بر اساس آنالیز دانکن حروف یکسان در هر ستون عدم بیانگر اختلاف معنی دار در سطح P < 0.05 است.



شکل شماره ۱. مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ساقه و برگ گونه *G. glabra* در غلظت های مختلف و اسید آسکوربیک به عنوان استاندارد



شکل شماره ۲. تصاویر بافت شناسی کلیه در موش های صحرایی نر. A: ساختار بافت کلیه در موش های صحرایی گروه کنترل که چیدمان سلولی طبیعی را نشان می دهد. B: آشفستگی شدید در چیدمان سلولی بافت کلیه موش های صحرایی تیمار شده با اتانول که آتروفی گلوبرومل ها (پیکان زرد رنگ)، تخریب آن ها (پیکان قرمز رنگ) و حالت غیر ایی تلبالی لوله های نزدیک به قشر کلیه (ستاره زرد رنگ) را نشان می دهد. C: ساختار بافت کلیه در موش های صحرایی تیمار شده با عصاره برگ گیاه شیرین بیان + اتانول که از نظر چیدمان سلولی و ساختار بافتی مشابه گروه کنترل می باشد. D: ساختار بافت کلیه در موش های صحرایی تیمار شده با عصاره برگ گیاه شیرین بیان به تنهایی که از نظر چیدمان سلولی و ساختار بافتی مشابه گروه کنترل می باشد.

بحث و نتیجه گیری

می توانند با رادیکال های آزاد اکسیژن و نیتروژن واکنش دهند و باعث کاهش استرس اکسیداتیو و در نهایت خسارات ناشی از آن به سلول ها و بافت های بدن شوند (۲۳). هم چنین اسیدهای فنلی با ساختاری ویژه، دارای پتانسیل بالایی جهت بر هم کنش با پروتئین های مختلف از جمله آنزیم ها می باشند و از این طریق می توانند باعث ممانعت از فعالیت آنزیم هایی مانند ایزوفرم های مختلف سیتوکرم P₄₅₀، سیکلو اکسیژناز، الکل دهیدروژناز، لیپو اکسیژناز و گزانتین اکسیداز شوند که در تولید گونه های اکسیژن فعال دخیل هستند. مصرف حاد الکل، فعالیت این آنزیم ها را افزایش می دهد (۲۴). به علاوه اثرات همکر دار یا متضاد پلی فنل ها با عوامل آنتی اکسیدانی و نیز تنظیم سطوح گلوکوتایون درون سلولی مورد بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره گیاه دارویی شیرین بیان دارای سطوح بالایی از ترکیبات فنلی است و در برابر مسمومیت کلیوی القاء شده با اتانول در موش های صحرایی نر نقش حفاظتی دارد. عصاره های گیاهی دارای ترکیبات مختلف آنتی اکسیدانی از جمله پلی فنل ها هستند. مطالعات قبلی نشان داده اند که این ترکیبات به ویژه فلاونوئیدها فعالیت های زیستی فراوانی داشته و می توان بسیاری از خواص عصاره گونه های گیاهی را به آن ها نسبت داد (۱۰). این ترکیبات در ساختار شیمیایی خود دارای گروه های هیدروکسیل هستند و به عنوان عوامل آنتی اکسیدانی عمل می کنند. پلی فنل ها قدرت احیاء کنندگی بالایی داشته و

قرار گرفته است (۲۵). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که گیاه شیرین بیان دارای محتوای بالای ترکیبات فنلی و از جمله فلاونوئیدها در ساقه است (جدول شماره ۱). در میان آنتی اکسیدان ها، ترکیبات فنلی دارای فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نسبت به توکوفرول ها (ویتامین E) و اسید آسکوربیک (ویتامین C) هستند (۲۵). نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی در پژوهش حاضر نشان داد که عصاره برگ گونه مورد مطالعه واجد فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به ساقه بوده و هر دو بخش برگ و ساقه فعالیت بیشتری (۹۳-۸۶ درصد) در مقایسه با اسید آسکوربیک (۷۱ درصد) نشان دادند که در توافق با برخی از مطالعات گذشته است (جدول شماره ۱ و شکل شماره ۱). هرچند در مطالعات Sultana و همکاران (۲۰۱۰) میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ریشه گیاه شیرین بیان کمتر از اسید آسکوربیک گزارش شده است (۲۶). تنوع در جمعیت های یک گونه گیاهی در زیستگاه های طبیعی مختلف که ناشی از تفاوت در موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی آن رویشگاه ها است، می تواند در محتوای کمی و کیفی متابولیت های ثانویه و نیز فعالیت زیستی آن ها بسیار موثر باشد (۲۷). به علاوه نتایج حاصل از برخی مطالعات انجام شده حاکی از همبستگی قوی میان محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت زیستی عصاره گیاهان است، حال آن که برخی دیگر همبستگی ضعیفی را میان آن ها نشان داده اند (۲۸). اگر چه ترکیبات فنلی دارای فعالیت ضدرادیکالی بالایی هستند، به نظر می رسد این ترکیبات تنها اجزاء مسئول فعالیت زیستی عصاره های گیاهی نبوده و اثرات همکردار یا حتی متضاد آن ها با ترکیبات دیگر آنتی اکسیدانی از جمله رنگیزه های کاروتنوئیدی، توکوفرول ها، ترپن ها و کربوهیدرات ها در مجموع تعیین کننده میزان فعالیت زیستی عصاره ها و از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها است (۲۹). تولید رادیکال های آزاد در مسیرهای متابولیسمی تحت تاثیر عوامل مختلف خارجی افزایش می یابد. تعادل در میزان این رادیکال ها تحت کنترل سیستم های آنتی اکسیدانی سلول مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای سلولی از

جمله پیام رسانی سلول دارد. تولید رادیکال های آزاد ممکن است تحت تاثیر مصرف الکل افزایش یابد که در صورت عدم حضور مکمل های آنتی اکسیدانی، به سلول ها و بافت های بدن آسیب می رساند. استالیدی محصول متابولیسم الکل در کبد است که در نهایت با تولید رادیکال آزاد سوپراکسید به استئات تبدیل می شود. کلیه نیز تحت تاثیر رادیکال های آزاد حاصل از مصرف الکل قرار می گیرد (۷). آنتی اکسیدان های سنتزی ترکیبات ارزشمندی هستند که به عنوان مکمل سیستم آنتی اکسیدانی سلول می توانند در پیشگیری و درمان این آسیب ها موثر باشند (۹). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محتوای رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن بافتی و به دنبال آن فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی SOD در موش های صحرایی تیمار شده با اتانول در مقایسه با گروه کنترل و گروه تیمار شده با عصاره برگ+اتانول افزایش معنی داری ($P < 0.05$) نشان داد. هر چند محتوای پروتئین کل و MDA بافتی در گروه های مختلف تفاوت معنی داری نشان نداد. به نظر می رسد اتانول در دوز به کار رفته، موجب القاء استرس اکسیداتیو می شود، اما باعث تخریب جدی بافت کلیه در موش های صحرایی تیمار شده با اتانول نمی گردد. میزان آنزیم SOD در بدن ویژه اندام ها است و سه نوع آن خالص شده است: Mn-SOD، Cu/Zn-SOD و SOD برون سلولی (EC-SOD). نوع Cu/Zn-SOD از دو زیرواحد پروتئینی تشکیل شده که هر یک دارای یک جایگاه فعال حاوی یک یون مس و یک یون روی می باشند. یون مس به عنوان جایگاه ردوکس فعال به خدمت گرفته می شود و یون مس مسئول حفظ ساختار پروتئین است. نوع Cu/Zn-SOD به وفور در سیتوسل یافت می شود. نوع Mn-SOD در ماتریکس میتوکندریایی حضور دارد و دارای چهار زیرواحد با یک Mn در هر زیرواحد است. در مطالعه حاضر فعالیت SOD در کلیه موش های صحرایی تحت تیمار اتانول افزایش یافت که احتمالاً مربوط به افزایش بیان ژن Mn-SOD و یا تنظیم افزایشی فعالیت Cu/Zn-SOD در کلیه می باشد. بیش بیانی این آنزیم منجر به افزایش تبدیل سوپر اکسید به

مشابهی به دست آمد و بافت کلیه موش های صحرایی تیمار شده با اتانول در مقایسه با گروه کنترل، آتروفی و تخریب گلومرول ها و حالت غیر اپی تلیالی لوله های نزدیک به قشر کلیه را نشان داد. در بافت کلیه تیمار شده با عصاره برگ به همراه اتانول، کاهش حالت غیر اپی تلیالی لوله های نزدیک به قشر کلیه و نیز وجود گلومرول های طبیعی مشاهده شد که با ساختار بافت کلیه گروه کنترل مشابه بود. تا کنون مطالعه ای در مورد اثر حفاظتی عصاره گونه *G. glabra* بر شاخص های بیوشیمیایی و بافت شناختی در آسیب کلیوی القاء شده با اتانول انجام نشده است. نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی کلیه، نتایج مطالعات بیوشیمیایی را تأیید نمود. در مجموع نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره گونه *G. glabra* دارای سطوح بالایی از ترکیبات فنلی است و پتانسیل حفاظتی خوبی در برابر مسمومیت کلیوی القاء شده با اتانول دارد و می تواند در آینده به عنوان منبعی امیدبخش در راستای تولید دارو جهت جلوگیری یا درمان اغلب بیماری های حاصل از استرس اکسیداتیو و به ویژه مسمومیت های کلیوی مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از نتایج رساله دکتری آقای مصطفی اسدبگی است که با حمایت مالی دانشگاه بوعلی سینا انجام شده است.

پراکسید هیدروژن می گردد. انباشتگی پراکسید هیدروژن در کلیه به دنبال تیمار اتانول در مطالعه حاضر، ممکن است ناشی از القاء استرس اکسیداتیو و توسعه آسیب کلیوی حاصل از الکل باشد. تیمار موش های صحرایی با عصاره گونه مورد مطالعه باعث کاهش برخی از شاخص های بیوشیمیایی ناشی از استرس شد که نقش حفاظتی عصاره را به عنوان یک مکمل آنتی اکسیدانی در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول و تخریب بافت کلیه نشان داد. هر چند شاخص های بیوشیمیایی ارزیابی شده و ساختار بافتی کلیه در موش های صحرایی تیمار شده با عصاره برگ به تنهایی (گروه ۴) با گروه کنترل اختلاف معنی داری نداشت. نتایج مطالعات قبلی نیز نشان داده است که مصرف حاد اتانول باعث القاء پراکسیداسیون لیپید و تخریب شدید بافت ها و نیز کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله سوپر اکسید دیسموتاز در کلیه می گردد، اما مصرف مزمن اتانول دارای اثراتی خفیف در غشاء و تغییر برخی از شاخص های بیوشیمیایی و بافت شناختی کلیه است (۸). از سوی دیگر گزارش های متعددی در مورد نقش حفاظتی ترکیبات مختلف در سمیت کلیوی القاء شده با کادمیوم، مشروبات الکلی و جنتامایسین وجود دارد (۳۰). مطالعات قبلی نشان داده اند که اتانول باعث افزایش آتروفی و تخریب گلومرول ها و حالت غیر اپی تلیالی لوله های نزدیک به قشر کلیه می شود (۸). در این پژوهش نیز نتایج

References

1. Aruoma OI, Cuppette SL. Antioxidant methodology invivo and in vitro concept. Champaign IL AOCS Puplication. 1997; P.142-69.
2. Valko M, Leibfritz D, Moncol J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39: 44-84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
3. World Health Organization. Global status report on alcohol and health. WHO Geneva. 2014.
4. Poschl G, Seitz HK. Alcohol and cancer. Alcohol 2004; 39: 155-65.
5. Clemens DL, Jerrells TR. Ethanol consumption potentiates viral pancreatitis and may inhibit pancreas regeneration preliminary findings. Alcohol 2004; 33: 183-9. doi.org/10.1016/j.alcohol.2004.07.001.
6. Lieber CS. Biochemical and molecular basis of alcohol induced injury to liver and others tissues. N Engl J Med 1988; 319: 1639-50. doi: 10.1056/NEJM198812223192505.
7. Pacht ER, Davis WB. Role of transferin and ceruloplasmin in antioxidant activity of lung epithelial lining fluid. J Appl Physiol

- 1988; 64: 2092-9. doi.org/10.1016/j.taap.2006.05.013.
8. Puddey IB, Burke V, Croft K, Beilin LJ. Increased blood pressure and changes in membrane lipids associated with chronic ethanol treatment of rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; 22: 655-7. doi.org/10.1111/j.1440-1681.1995.tb02083.x.
9. Zhang HY, Yang DP, Tang GY. Multipotent antioxidants from screening to design. *Drug Discover Today* 2006; 11: 749-54. doi.org/10.1016/j.drudis.2006.06.007.
10. Yu L, Perret J, Davy B, Wilson J, Melby CL. Antioxidant properties of cereal products. *J Food Chem Sci* 2002; 67: 2600-3. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08784.x.
11. Bown D. The royal horticultural society encyclopedia of herbs and their uses. Dorling Kindersley Ltd London Publication.1995; P. 424-8.
12. Farag MA, Porzel A, Wessjohann LA. Unequivocal glycyrrhizin isomer determination and comparative in vitro bioactivities of root extracts in four *Glycyrrhiza* species. *J Adv Res* 2015; 6: 99-104. doi.org/10.1016/j.jare.2014.05.001.
13. Zheng LZ, Young WK, Yu PY, Jie Z. *Glycyrrhiza radix* methanol extract attenuates amphetamine-induced locomotor sensitization and conditioned place preference. *Evid Based Compl Alt* 2014; 2: 1-7. doi.org/10.1155/2014/152063.
14. Soxhlet, F. Diegewichts analytische bestimmung des milchfettes. *Din Polytech J* 1879; 232: 461.
15. Wolfe K, Wu X, Liu RH. Antioxidant activity of apple peels. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 609-14. doi:10.1021/jf020782a.
16. Luximon A, Bahorun T, Soobrattee MA, Aruoma OI. Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 5042-7. doi:10.1021/jf0201172.
17. Donald SMC, Prenzler PD, Autolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chem* 2001; 73: 73-84. doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0.
18. Jayanthi MK, Subbarao V, Madhunapantula D, Reddy K, Mryuthunjaya K, Manjula SN. Evaluation of anti-tumor activity of ethanolic extract of *Glycyrrhiza glabra* against Ehrlich ascites carcinoma in swiss albino Mice. *Int J Basic Clin Pharmacol* 2016; 5: 2153-8. doi:10.18203/2319-2003.ijbcp20163253.
19. Alkhedaide A, Alshehri ZS, Sabry A, Abdelghaffar T, Soliman MM, Attia H. Protective effect of grape seed extract against cadmium-induced testicular dysfunction. *Mol Med Rep* 2016; 13: 3101-9. doi:10.3892/mmr.2016.4928.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-54. doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3.
21. Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. *Annals Biochem* 1971; 44: 276-87. doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8.
22. Baryla A, Laborde C, Montillet JL, Triantaphylides C, Chagvardieff P. Evaluation of lipid peroxidation as a toxicity bioassay for plants exposed to copper. *Environ Pollut* 2000; 109: 131-5. doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00232-8.
23. Karamian R, Asadbegy M. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of three *Onobrychis* species from Iran. *Pharm Sci* 2016; 22: 112-9. doi:10.15171/PS.2016.18.
24. Valentao P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade PB, Seabra RM, Bastos ML. Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small centaury *Centaurium erythraea* infusion. *Phytomedicine* 2003; 10: 517-22. doi:10.1078/094471103322331485.
25. Karami Z, Mirzaei H, Emamdjomeh Z, Sadeghimahoonak AR, Khomeiri M. Effect of harvest time on antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* root extract and evaluation of its antibacterial activity. *Int Food Res J* 2013; 20: 2951-7.
26. Sultana S, Haque A, Hamid K, Urmi KF, Roy S. Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of methanolic extract of *Glycyrrhiza glabra L.* *Agric Biol J North America* 2010; 1: 957-60. doi:10.5251/abjna.2010.1.5.957.960.
27. Tosun M, Ercisli S, Sengul M, Ozer H, Polat T, Ozturk E. Antioxidant properties and total phenolic content of eight *Salvia*

- species from Turkey. *Biol Res* 2009; 42: 175-81. doi:/S0716-97602009000200005.
28. Siddique NA, Mujeeb M, Najmi AK, Akram K. Evaluation of antioxidant activity quantitative estimation of phenols and flavonoids in different parts of *Aegle marelos*. *Int J Plant Physiol Biochem* 2010; 4: 1-5. doi.org/10.1016/j.jscs.2010.10.005.
29. Conforti S, Sosa M, Marrelli F, Menichini GA, Statti D, Uzunov A, Tubaro F, et al. In vivo anti-inflammatory and invitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *J Ethnopharmacol* 2008; 116: 144-51. doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.015.
30. Atessahin A, Karahan I, Yilmaz S, Ceribasi AO, Princci I. The effect of manganese chloride on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 2003; 48: 637-42. doi.org/10.1016/S1043-6618(03)00227-5.

Antioxidant Activity of Glycyrrhiza glabra L. Extract and Protective Effect of its Leaf Extract on Ethanol-Induced Nephrotoxicity in Male Rats

Karamian R^{1*}, Asadbeigy M¹, Yari S¹

(Received: May 6, 2017

Accepted: July 8, 2017)

Abstract

Introduction: Acute alcohol consumption leads to induction of lipid peroxidation in renal tissues, but its chronic consumption has moderate effects on biochemical and histological characteristics of this organ. Antioxidants have protective effects against ethanol-induced oxidative stress and tissue injury. The aim of this study was to assess antioxidant activity of Glycyrrhiza glabra leaf and stem extracts and the protective effect of its leaf extract on ethanol-induced nephrotoxicity.

Materials & methods: Total phenol and flavonoid contents of leaf and stem extracts of G. glabra were measured by Folin Ciocalteu and AlCl₃ assays, respectively. Antioxidant activity of both extracts was assessed using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging. In addition, protective effect of the leaf extract was assessed using biochemical and histological analyses of renal tissues of male Wistar rats, which were divided into four groups including group 1 or control (received 1 ml distilled water daily), group 2 or ethanol group (received 1 ml of 50% ethanol daily), group 3 or ethanol + leaf extract group (received 1 ml of 50% ethanol + 500 mg/kg leaf extract daily), and group 4 (received 500 mg/kg of leaf extract daily). All treatments are performed through intragastric administration. Biochemical and histological analyses were used for the evaluation of nephrotoxicity. For

histological study, the samples were stained with Hematoxylin-Eosin and examined by light microscopy. Finally, all the data were analyzed by SPSS (Ver. 20) and grouped by Duncan's Multiple Range Test at P <0.05 level.

Findings: There was no significant difference between total phenol contents of the stem and leaf extracts. However, the stem extract showed a higher total flavonoid content than the leaf extract. Also, both the extracts showed higher antioxidant activities (86-93%) than that of ascorbic acid (71%). Results from biochemical analysis indicated a significant increase in superoxide dismutase (SOD) activity and H₂O₂ content in the renal tissues of ethanol-treated rats in comparison with other groups; however, there were no significant changes in total protein and malondialdehyde (MDA) contents. Results from histological examination showed that alcohol consumption intensity injured kidney tissues, which was effectively moderated by the studied extract.

Discussion & Conclusions: Results from the present study showed that G. glabra extract has biological activity and can be used in future as a new natural antioxidant in food and drug industries.

Keywords: Glycyrrhiza glabra L., Antioxidant activity, Ethanol, Nephrotoxicity, Phenol, Rats

1. Dept of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

*Corresponding author Email: R_karamian@basu.ac.ir