مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره 4، زمستان 1392، صفحات 162-155

اثر اسیدهای چرب امگا3 بر استرس اکسیداتیو درنارسایی حاد کلیه ناشی از ایسکمی - رپرفیوژن

سید جواد حاجی میراسماعیل[1]، سید حسین داوودی[2]، نسیم نمازی[3]، غلامعلی جاودان [4] ، حمیدرضاپازکی طرودی[5] ، مرجان عجمی[6]

1- استادیار بخش کاردیولوژی، دانشکده پزشکی، بیمارستان حضرت رسول اکرم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

2- استادیار گروه تغذیه بالینی و رژیم درمانی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

3- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم تغذیه، شعبه بین الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

4- دانشجوی دکترای تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

5- استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

6- نویسنده مسئول: استادیار گروه تحقیقات سیاستگذاری و برنامه‌ریزی غذا و تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیک nutritionist80@gmail.com

تاریخ دریافت: 92/7/24 تاریخ پذیرش: 92/9/20

چکیده

سابقه و هدف: ایسکمی رپرفیوژن یعنی باز گرداندن مجدد جریان خون به بافتی که دچار ایسکمی یا کمبود اکسیژن شده است و ممکن است به بروز نارسایی حاد کلیوی منتهی شود. این مطالعه با هدف بررسی اثر درمان با اسیدهای چرب امگا3 بر آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن کلیه رت انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: نفروکتومی کلیه راست بر روی 81 رت نرویستار با وزن 300gr- 255 انجام شد و به مدت 21 روز جهت بر طرف شدن استرس ناشی از عمل نگهداری شدند . قبل از ایسکمی رپرفیوژن (6، 24، و 48 ساعت رپرفیوژن) رت‌ها به مدت 14 روز اسید چرب امگا3 (دوکوزاهگزانوئیک اسید، ایکوزاپنتانوئیک اسید) 200 mg/kg/d یا آب مقطر دریافت کردند. فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، آنزیم آنتی اکسیدان سوپراکسی دسموتاز (SOD)، نیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین سرم (SCr)، کلیرانس کراتینین (CCr)، کسر تصفیه سدیم (FENa) و هیستولوژی کلیه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه ایسکمی رپرفیوژن، SCr، BUN، FENa ، افزایش ($p<0/01$) و فعالیت CAT و SOD کاهش معنی‌دار یافت ($p<0/05$). در گروه دریافت کننده اسید چرب امگا3 شاخص‌های SCr، BUN، FENa کاهش، کلیرانس کراتینین و فعالیت CAT و SOD در مقایسه با گروه IR، افزایش معنی‌دار یافت ($p<0/05$). یافته‌ها نشان دادند که ایسکمی رپرفیوژن سبب آسیب بافتی بیشتر در مدت 6 ساعت رپرفیوژن ($p<0/05$)، آسیب بافتی خفیف‌تر در مدت 24 تا 48 ساعت رپرفیوژن گشت ($p<0/01$) و در گروه امگا3 مقایسه با گروه IR آسیب بافتی به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دو هفته مصرف امگا3 قبل از ایسکمی عملکرد کلیوی را با کاهش SCr، BUN، FENa و افزایش کلیرانس کراتینین بهبود داده و سبب کاهش استرس اکسیداتیو گردید.

واژگان کلیدی: اسیدهای چرب امگا 3 (دوکوزا هگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید)، ایسکمی رپرفیوژن، استرس اکسیداتیو، نارسایی حاد کلیه

• مقدمه

ایسکمی رپرفیوژن IR (reperfusion) یعنی باز گرداندن مجدد جریان خون به بافتی که دچار ایسکمی یا کمبود اکسیژن شده است، فقدان اکسیژن و مواد مغذی در خون در طول دوره ایسکمی و بازگشت مجدد گردش خون، از طریق القاء استرس اکسیداتیو منجر به التهاب و آسیب اکسیداتیو بافت می‌گردد (1). ایسکمی رپرفیوژن کلیه یکی از عواملی است که منتهی به بروز نارسایی حاد کلیوی می‌گردد. نارسایی حاد کلیوی سندرمی است که وجوه مشخصه آن

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

کاهش سریع میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) ظرف چند ساعت تا چند هفته، احتباس مواد زائد نیتروژن‌دار مثل ازت اوره خون، کراتینین سرم، اختلالات حجم مایع خارج سلولی، هوموستاز الکترولیت و اسید و باز و همچنین کاهش دفع ادرار می‌باشد (2). آسیب ناشی از IR تخریب بافتی است و در زمانی که بافت دچار ایسکمی و در نتیجه آن کمبود اکسیژن و مواد مغذی می‌گردد، با برقراری مجدد جریان خون به بافت، به دنبال آن بروز التهاب، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ایجاد می‌گردد (3). تعداد زیادی از مطالعات روی ارگان‌های متعددی شامل قلب، کلیه و سیستم عصبی انجام گرفته و نشان می‌دهند که استفاده از رژیم درمانی با اسیدهای چرب امگا3 به شکل قابل ملاحظه‌ای قادر است آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن را کاهش دهد (4-6). استراتژی‌های متعددی برای به تأخیر انداختن شروع آسیب ناشی از IR پیشنهاد شده که تغذیه اسیدهای چرب امگا-3 از مهم‌ترین این موارد می‌باشد. همچنین مطالعات زیادی بر روی حیوانات و انسان، نشان داده است که امگا3 بسیاری از فرایندهای حاصل از عملکرد ارگان‌ها (مانند کاهش چربی خون بالا، فشار خون بالا، کاهش کراتینین سرم) را بهبود می‌بخشد (7-10). مطالعات نشان داده‌اند اسیدهای چرب امگا 3 در سلول‌های قلبی باعث کاهش مصرف اکسیژن و افزایش ذخائر اکسیژن عروق کرونر می‌شود. این ویژگی باعث افزایش مقاومت سلول‌های قلبی در برابر آسیب ایسکمیک می‌شود (3). التهاب، نقش اساسی در پاتوژنز آسیب ایسکمیک کلیه دارد و یکی از علل اساسی در نارسایی کلیه می‌باشد. بررسی‌های کلینیکی نشان داده اند اسیدهای چرب امگا 3 می‌تواند عملکرد کلیه را بهبود بخشیده و خطر مرگ در نارسایی کلیه را کاهش دهد (7). با توجه به این که مطالعات اندکی در رابطه با اثر اسیدهای چرب امگا 3 بر عملکرد کلیه وجود دارد، ما لذا این مطالعه با هدف بررسی اثرات آنتی اکسیدانی DHA+EPA را به طور مستقیم بر عملکرد فیزیولوژیک کلیه و شاخص‌های آن در کلیه ایسکمیک انجام شد. در این راستا، تاثیر مصرف خوراکی اسیدهای چرب امگا3 (DHA+EPA) بر ایسکمی رپرفیوژن کلیه مورد بررسی قرار گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و سوپراکسی دسموتاز (SOD)، نیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین سرم (SCr)، کسر تصفیه سدیم (FENa) و هیستولوژی کلیه در زمان‌های متفاوت مورد بررسی قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

81 رت نر نژاد ویستار با وزن 255 تا 300 گرم بوده که از انستیتو پاستور ایران تهیه و در حرارت بین 25-22 درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه نگهداری شدند. سیکل نوری، 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی، برای نگهداری این حیوانات رعایت گردید. رت‌ها برای یک هفته در آزمایشگاه قرار داده شدند به گونه‌ای که در عین دسترسی آزاد به آب و غذا با شرایط آزمایشگاه سازش پیدا کنند.

تمام مراحل نگهداری، فرایندهای جراحی و بیهوشی حیوانات طبق موارد ذکر شده در آیین نامه اخلاقی نحوه برخورد با حیوانات آزمایشگاهی مصوبه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که بر اساس آیین نامه بر خورد با حیوانات آزمایشگاهی تنظیم شده بود، انجام گردید. در پایان آزمایش حیوانات تحت بی هوشی و بدون درد با گیوتین کشته شدند و نمونه‌های مورد نیاز از آنها تهیه گردید.

داروها و روش‌های تزریق: کتامین10 درصد (Ketamine) دز تزریقی 50mg/kg و زایلوزین 4 درصد (Xylazine) دز تزریقی 4mg/kg از طریق تزریق داخل صفاقی، خریداری شده از شرکت Alfasan Chemical (Woerden and Holland)، اسیدهای چرب امگا-3 (شامل 600 میلی‌گرم EPA و 400 میلی‌گرم DHA در هر گرم از محصول خالص، بدون آنتی‌اکسیدان) خریداری شده از شرکت Biotik-do-Brasil Industria-e-Comercio Ltda, Brazil به صورت 200 mg/kg (120 میلی‌گرم از EPA و 80 میلی‌گرم از DHA) تهیه و توسط سرنگ خاص گاواژ به حیوانات داده شد. برای گروه کنترل آب مقطر گاواژ گردید. 81 رت به صورت تصادفی در 9 گروه 9 تایی قرار گرفتند:

گروه اول، کنترل: رژیم استاندارد (شامل کربوهیدرت (46درصد)، پروتئین (20 درصد)، چربی (16 درصد) و فیبر (16 درصد) همراه با گاواژ آب مقطر 1 ml/day به مدت 14 روز+ جراحی sham + 6 ساعت رپرفیوژن

گروه دوم، IR: رژیم استاندارد همراه با گاواژ آب مقطر 1 ml/day (14 روز) + 45 دقیقه ایسکمی + 6 ساعت رپرفیوژن

گروه سوم، گروه امگا-3: رژیم استاندارد همراه با گاواژ اسیدهای چرب امگا-3 (200 mg/kg/day) (14روز) + 45 دقیقه ایسکمی + 6 ساعت رپرفیوژن

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

گروه چهارم، کنترل: رژیم استاندارد همراه با گاواژ آب مقطر 1 ml/day (14روز) + جراحی sham + 24ساعت رپرفیوژن

گروه پنجم، گروهIR: رژیم استاندارد همراه با گاواژ آب مقطر 1 ml/day (14روز) + 45 دقیقه ایسکمی + 24ساعت رپرفیوژن

گروه ششم، گروه امگا-3: رژیم استاندارد همراه با گاواژ اسیدهای چرب امگا-3 (200 mg/kg/day) (14روز) + 45 دقیقه ایسکمی + 24ساعت رپرفیوژن

گروه هفتم، گروه کنترل: رژیم استاندارد همراه با گاواژ آب مقطر 1ml/day (14روز)+ جراحی sham + 48ساعت رپرفیوژن

گروه هشتم،گروهIR: رژیم استاندارد همراه با گاواژ آب مقطر 1ml/day (14روز)+ 45 دقیقه ایسکمی+ 48ساعت رپرفیوژن

گروه نهم، گروه امگا-3: رژیم استاندارد همراه با گاواژ اسیدهای چرب امگا-3 (200 mg/kg/day) (14روز) + 45 دقیقه ایسکمی + 48ساعت رپرفیوژن

رت‌های سفید صحرایی نر نژاد ویستار با وزن300- 255 گرم به وسیله گزیلوکائین (10mg/kg+کتامین 50mg/kg) با تزریق داخل صفاقی (IP) بیهوش شدند، سپس رت در وضعیت فلانک راست قرار گرفت و پس از لمس دنده آخر، زیر این دنده برش داده شد، کلیه و پایک کلیوی راست نمایان گردید، نخ کرومیک از زیر پایک کلیوی رد شد، پایک را بسته، سپس کلیه راست را برداشته (نفروکتومی) و سپس محل برش را بخیه زده و با بتادین ضد عفونی کردیم. بعد از به هوش آمدن حیوان، جهت جلوگیری از عفونت به آنها آنتی بیوتیک آموکسی سیلین 50 mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق شد. حیوانات به حیوانخانه منتقل شده و در محیط تمیز (12 ساعت نور و تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

دو هفته قبل از ایجاد ایسکمی در گروه امگا3، گاواژ امگا3 آغاز شد. یک روز قبل از ایسکمی حیوانات در قفس متابولیت (Metabolit Cage) قرار گرفتند.پس از اعمال ایسکمی حیوانات مجدداً به قفس بر گشتند.

پس از 21 روز در گروه‌هایی که باید تحت ایسکمی رپرفیوژن کلیه چپ واقع می‌شدند، حیوانات با گزیلوکائین (10mg/kg) به علاوه کتامین 50mg/kg) با تزریق داخل صفاقی بیهوش شده و در وضعیت فلانک چپ قرار گرفت، پس از لمس دنده آخر زیر این دنده برش داده شد، کلیه و شریان کلیوی چپ نمایان شده و بعد از مشاهده نبض شریانی، این شریان با کلمپ نرم بسته شده و حیوان گرم نگه داشته شد. بعد از 45 دقیقه، کمی سرم فیزیولوژی روی محل جراحی ریخته و به آرامی کلمپ را برداشته و جریان خون مجدداً برقرار گردید. بعد از بخیه زدن محل برش و ضد عفونی کردن آن حیوان به قفس متابولیت منتقل شد. بعد از 6، 24 و 48 ساعت نمونه ادرار را جمع آوری کرده و حجم ادرار ثبت شد. سپس حیوانات سرشان با گیوتن زده شد و نمونه خون آنها را جمع کرده و بعد از سانتریفوژ و جدا کردن سرم نمونه‌ها به فریزر 30°C- منتقل گردید. کلیه‌های چپ بعد از تمیز کردن توسط شکاف طولی دقیق به دو قسمت تقسیم شد، یک قسمت برای اندازه‌گیری فعالیت بافتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسی دسموتاز (SOD) وکاتالاز (CAT) به کار رفت. قسمت دیگر جهت تعیین آسیب پاتولوژیک استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: از آنجا که تمام داده‌ها توزیع نرمالی داشتند [Kolmogorov–Smirnov test (K–S test)] مقایسه بین گروهی با بهره‌گیری از آنالیز واریانس یک طرفه One-Way Analysis Of Variance (ANOVA) و به دنبال آن برای تعیین تفاوت بین دو گروه از تست Post Hoc Tukey's استفاده شد. درتمام آنالیزها میزان $p<0/05$ و $p<0/01$ به عنوان تفاوت معنی‌دار تلقی گردید.

• یافته‌ها

وزن رت‌ها در ابتدای گاواژ امگا3 و همچنین در پایان مطالعه (قبل از کشتن حیوانات) اندازه‌گیری شد. میانگین وزن در گروه‌های 6 ، 24 و 48 ساعته رپرفیوژن در گروه امگا3 در ابتدا و انتهای مطالعه تغییرات معنی‌داری نداشت.

نتایج نشان داد، شاخص‌های سدیم سرم، کراتینین و سدیم ادرار در گروه کنترل در زمان‌های مختلف تفاوتی نداشت، در حالی که ایسکمی 45 دقیقه و رپرفیوژن، 6 ، 24 و 48 ساعته، به طور معنی‌دار ($p<0/01$) سطح سرم کراتینین ونیتروژن اوره خون را در مقایسه با گروه کنترل، با زمان مشابه افزایش داد. دو هفته مصرف خوراکی امگا3 (200mg/kg) در روز سبب کاهش کراتینین و اوره سرم در مقایسه با گروه ایسکمی رپرفیوژن پس از 6 ، 24 و 48 ساعت از رپرفیوژن گردید (جداول 3-1).

حد مجاز کلیرانس کراتینین که به عنوان شاخص GFR استفاده شد، در گروه IR، پس از 45 دقیقه ایسکمی، 6 ، 24

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

و 48 ساعت رپرفیوژن p<0/05 در مقایسه بـا گـروه کنتـرل کاهش یافت. مصـرف خـوراکی امگـا3 (روزانـه 200mg/kg) سبب افزایش کلیرانس کراتینین پس از 6، 24 و 48 سـاعت رپرفیوژن در مقایسه با گروه IR شد. (P<0/05). برای ارزیابی عملکرد توبول پروگزیمـال، FENa محاسـبه گردیـد. FENa پس از ایسکمی رپرفیوژن، در زمان‌های مختلف رپرفیوژن در مقایسه با رت‌های گـروه کنتـرل افـزایش یافـت.دز مصـرفی امگا3 به طور معنی‌دار سبب کـاهش FENa پـس از 6، 24 و 48 ساعت از رپرفیوژن گشت (p<0/05).

جدول1. مقایسه شاخص‌های استرس اکسیداتیو و عملکردی کلیه پس از ایسکمی رپرفیوژن (6 ساعت رپرفیوژن) در گروه‌های ایسکمی رپرفیوژن، امگا3 + ایسکمی رپرفیوژن و کنترل

متغیر / گروه	6h Omega+IR	6h IR	6h Control
(mg/d) Serum –Cr	*0/84±0/09a	#*1/84 ± 0/11b	#0/52±0/07a
(mg/d) Serum –BUN	*19/72±1/72a	#*31/54±3/15b	#11/36±1/14c
Ccr	*0/68±0/09a	#*0/23±0/05b	#1/01±0/23a
FENa	*11/0±1/84a	#*23/0±2/93b	#5/0±0/76a
(nmol/mg) SOD	*62/01±1/23a	#*22/02±3/59b	#72/03±1/85a
(nmol/mg) CAT	*1/011±0/24a	#*0/74±0/03b	#1/68±0/1c

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌هاست (p<0/05)

جدول2. مقایسه شاخص‌های استرس اکسیداتیو و عملکردی کلیه پس از ایسکمی رپرفیوژن (24 ساعت رپرفیوژن) در گروه‌های ایسکمی رپرفیوژن، امگا3 + ایسکمی رپرفیوژن و کنترل

متغیر / گروه	24h Omega+IR	24h IR	24h Control
(mg/d) Serum –Cr	*0/78±0/08a	#*1/67±0/14b	#0/5±0/04a
(mg/d) Serum –BUN	*16/62±1/64a	#*28/71±2/6b	#12/08±1/09a
Ccr	*0/84±0/11a	#*0/26±0/02b	#1/18±0/3a
FENa	*10/0±1/73a	#*20/0±2/16b	#6/0±0/52a
(nmol/mg) SOD	*63/01±1/69a	#*27/37±3/41b	#76/7±1/43a
(nmol/mg) CAT	*1/36±0/5a	#*0/87±0/01b	#1/48±0/22c

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌هاست (p<0/05)

جدول3. مقایسه شاخص‌های استرس اکسیداتیو و عملکردی کلیه پس از ایسکمی رپرفیوژن (48 ساعت رپرفیوژن) در گروه‌های ایسکمی رپرفیوژن، امگا3 + ایسکمی رپرفیوژن و کنترل

متغیر / گروه	48h Omega+IR	48h IR	48h Control
(mg/d) Serum –Cr	*0/82±0/06a	#*1/53±0/12b	#0/55±0/04a
(mg/d) Serum –BUN	*14/73±1/19a	#*21/18±3/04b	#10/61±0/9a
Ccr	*0/93±0/12a	#*0/4±0/25b	#1/05±0/3a
FENa	*9/3±0/12a	#*22/5±2/03b	#4/0±0/52a
(nmol/mg) SOD	*66/00±1/35a	43/96±3/50b	70/09±2/69a
(nmol/mg) CAT	*1/59±0/22a	1/25±0/17a	#1/56±0/41a

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌هاست (p<0/05)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

آسیب اکسیداتیو و آنزیم‌های آنتی اکسیدان: در این بررسی، آنزیم آنتی اکسیدان سوپراکسی دسموتاز (SOD) پس از 6 و 24 ساعت رپرفیوژن در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل در سطح پایین ماند، در حالی که میزان فعالیت این آنزیم در گروه‌های امگا3 با دوز 200 mg/kg در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (P<0/05). فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT) در گروه IR پس از 6 تا 24 ساعت رپرفیوژن، نسبت به گروه امگا3 (P<0/05) کاهش یافت. کمترین مقدار فعالیت کاتالاز در گروه‌های IR پس از 6 ساعت رپرفیوژن بود. اگر چه فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه‌های تحت درمان با امگا3 پس از 6 و 24 ساعت رپرفیوژن پایین‌تر از فعالیت این آنزیم در مقایسه با گروه کنترل (P<0/05) بود، اما نسبت به فعالیت کاتالاز در گروه‌های IR که رپرفیوژن با مدت مشابهی را تجربه کرده بودند (P<0/05) بیشتر بود. پس از 48 ساعت رپرفیوژن، فعالیت کاتالاز به سطح فیزیولوژیک برگشت.

ارزیابی بافت شناسی کلیه: کلیه‌های وارد شده به محیط فرمالین 10 درصد توسط Hematoxylin and Eosin (H&E) تثبیت شده و شدت آسیب ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن در زیر دید میکروسکپ نوری توسط روش جابلونسکی از 0 تا 4 درجه‌بندی گردید.

0، بدون آسیب و علامتی از نکروز

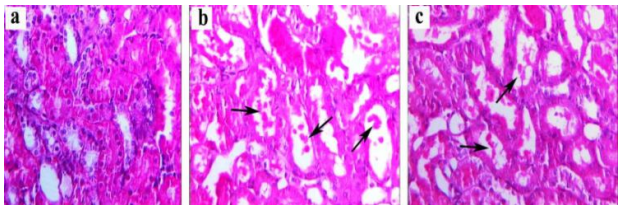
1، علائم خفیف آسیب بافتی و ایجاد نکروز سلول‌های منفرد

2، علائم متوسط آسیب بافتی و ایجاد نکروز

3، آسیب و نکروز 1/3 انتهایی توبول پروگزیمال

4، آسیب و نکروز هر سه قسمت توبول پروگزیمال

درجه رتبه بندی صفر بافت شناسی در 91/1 درصد و 95/6 درصد و 88/9 درصد از عکس‌های تهیه شده به ترتیب در 6، 24 و 48 ساعت پس از جراحی کنترل مشاهده شد. پس از 6 ساعت رپرفیوژن در گروه IR آسیب بافتی درجه 1+ و 2+ (اتساع توبول پروگزیمال و ادم بینابینی در نواحی کوچکی از محل‌های مورد مطالعه) مشاهده گردید. آسیب بافت کلیوی در 30 درصد و 37/8 درصد از عکس‌ها مشاهده شدند. اما در گروه امگا3، هیچ گونه تأثیری بر روی آسیب بافتی ناشی از IR پس از 6 ساعت رپرفیوژن مشاهده نشد. نتایج نشان داد پس از 24 و 48 ساعت رپرفیوژن در گروه‌های IR آسیب بافتی درجه 2 به علاوه درجه3 در قسمت‌های اصلی لوله‌های توبول پروگزیمال مشاهده گردید و در گروه امگا3 به طور معنی‌داری آسیب توبولی کاهش یافت (P<0/05). همچنین در این گروه در مقایسه با گروه IR، تخریبات سلولی و ورم توبولی در برخی قسمت‌های نواحی مورد مطالعه کمتر بود.

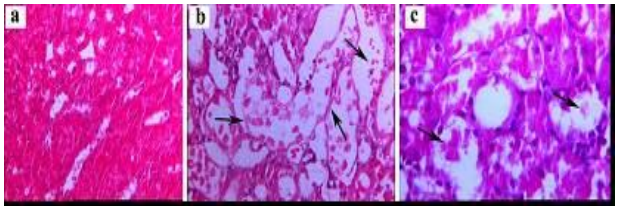


شکل 1. هیستولوژی کلیه 6 ساعت پس از رپرفیوژن

a ، گروه کنترل ظاهر طبیعی در اکثر برش‌ها نشان دادند. (آسیب بافتی درجه صفر تا یک)

b ، گروه IR که آسیب‌های ملایم تا متوسط، بصورت تورم توبولی نشان دادند. (→)

c ، DHA+EPA اثری بر کاهش آسیب کلیوی ایجاد شده از IR نداشت

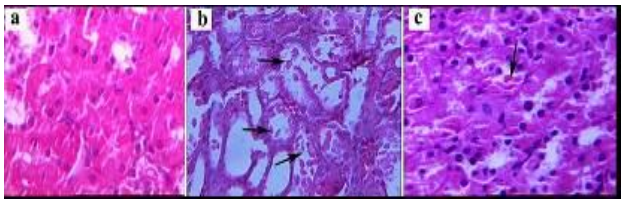


شکل 2 . هیستولوژی کلیه 24 ساعت پس از رپرفیوژن

a ، گروه sham در اکثر برش‌ها ظاهر طبیعی نشان دادند.

b ، گروه IR در اکثر برش‌ها اسیب متوسط و شدید نشان داد. در قسمت اصلی توبول پروگزیمال، بسیاری از بقایای سلولی و سلول‌های اپیتلیال جدا گشته و سبب تورم توبولی گشتند.

c، DHA+EPA سبب کاهش اسیب کلیوی ایجاد شده از IR (خفیف تا متوسط) شد. (→)



شکل3 . هیستولوژی کلیه 48 ساعت پس از رپرفیوژن

a، گروه کنترل در اکثر برش‌ها ظاهر طبیعی نشان دادند.

b ، IR در اکثر برش‌ها آسیب ملایم تا شدید نشان داد تخریب بقایای سلول اپیتلیال و اتساع توبول مشاهده شد.

c ، DHA+EPA سبب کاهش آسیب کلیوی ایجاد شده از IR شد. (→)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

• بحث

آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن به عنوان عاملی که باعث بدتر شدن نتیجه پیوند می‌شود، شناخته شده است. مطالعات بالینی و آزمایشگاهی نشان می‌دهند که پیشگیری یا کاهش آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن می‌تواند به بهبود نتایج حاصل از پیوند کلیه منجر شود (11).

مطالعه حاضر جهت تعیین نقش مصرف اسیدهای چرب امگا3 بر روی اسیب ناشی از IR کلیوی طرح ریزی شد تا عواملی چون عملکرد کلیوی، میزان اسیب بافتی، استرس اکسیداتیو در مدت زمان 6، 24 و 48 ساعت ایسکمی رپرفیوژن بررسی شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دو هفته مصرف امگا3 قبل از ایسکمی عملکرد کلیوی را با کاهش کراتینین سرم، BUN، FENa و افزایش کلیرانس کراتینین بهبود داده و سبب کاهش استرس اکسیداتیو گردید. تعداد قابل توجهی از مطالعات اخیر بر اثر اسیدهای چرب امگا-3 در کاهش آسیب اکسیداتیو و تغییرات آپوپتوتیک بعد از ایسکمی تأکید کرده‌اند (15-12). در مطالعات دیگر نشان داده شده است که استفاده از DHA به مدت 21 روز قبل از ایسکمی مغز قادر است سلول‌های هیپوکامپ را در برابر آسیب اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از آن حفظ کند و از سویی دیگر اختلال در یادگیری ناشی از ایسکمی را بهبود بخشد. یکی از مکانیسم‌های ذکر شده در کاهش استرس اکسیداتیو توسط اسیدهای چرب امگا3، نقشی است که در کاهش آپوپتوز ناشی از ایسکمی – رپرفیوژن دارد. ایسکمی منجر به هیپوکسی (کمبود اکسیژن دربافت) می‌شود، پروتئین‌های پرو آپوپتیک (Bax) از سیتوپلاسم به جدار میتوکندری تغییر مکان داده و سبب نفوذپذیری جدار خارجی میتوکندری می‌شود که خود منجر به آزاد شدن سیتوکروم c و شروع اپوپتوز می‌شود. نمازی و همکاران نشان دادند که اسیدهای چرب امگا3 سبب افزایش تحمل بافت کلیوی نسبت به آسیب IR شده و از آپوپتوز توبولی بعد از ایسکمی جلوگیری می‌کند (18-16). پس از ایسکمی به علت افزایش استرس اکسیداتیو کلیه بر اثر IR و فقدان فعالیت‌های SOD، CAT و کاهش Ccr به عنوان شاخص GFR، افزایش کراتینین سرم، BUN و FENa صورت می‌گیرد. این امر با مطالعه Yamanobe و همکاران هم مورد تأیید قرار گرفته است و نشان می‌دهد که حساسیت به ARF پس از 45 دقیقه از ایسکمی کلیوی در رت فاقد SOD کافی افزایش می‌یابد (19). استفاده از اسیدهای چرب امگا3 در مطالعه حاضر اثر مثبتی را در کاهش استرس اکسیداتیو اعمال کرد. تصور بر این است که یک واکنش جهت کاهش استرس اکسیداتیو در ساعات اولیه رپرفیوژن در رت‌های گروه امگا3 اتفاق می‌افتد و آنزیم‌های CAT و SOD به ترتیب با تبدیل انیون سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن و تبدیل پراکسید هیدروژن به آب، برای محافظت در برابر رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو به هم کمک می‌کنند که این نشان دهنده فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی انتی اکسیدانی در برابر اسیب اکسیداتیواست (21، 20). در مطالعه حاضر افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت‌های SOD و CAT به کاهش Ccr و افزایش Scr، BUN و FENa منجر شد. در رت‌های گروه امگا3 سطوح فعالیت SOD وCAT طی دوره 48 ساعته رپرفیوژن بالاتر ماند و عملکرد کلیوی را بهبود یافت. بر اساس مطالعه Kim و همکاران، شاید افزایش فعالیت SOD پس از ایسکمی در گروه دریافت کننده امگا3 باعث کاهش کراتینین پلاسما، پراکسیده شدن لیپید و تولید هیدروژن پر اکساید در بافت شود. هرگونه عدم تعادل مابین تولید ROS و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی منجر به اکسیده شدن جدار لیپیدی، پروتئین‌ها و DNA می‌شود (23، 22).

مطالعه دیگر در سال 2012 نشان داد امگا 3 به میزان 0/4 در روز به مدت 2 هفته باعث بهبود فیلتراسیون گلومرولی، کاهش اوره پلاسما و غلظت کراتینین در رت هایی می‌شود که هر دو کلیه آن‌ها تحت جراحی و ایسکمی قرار گرفته است (24).

مطالعه حاضر یک ارزیابی مقدماتی برای تعیین اثرات مفید اسیدهای چرب امگا-3 بر مسیرهای دخیل در آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن کلیه بود. قطعاً با روشن شدن بیشتر این مسیرهای سیگنالی می‌توان به درمان‌های مولکولی و تغذیه‌ای مناسب برای کاهش شدت و درمان بیماریهای مانند نارسایی حاد کلیه (ARF) کمک کرد.

در مطالعه حاضر مدلی از بیماری نارسایی حاد کلیوی توسط ایسکمی رپرفیوژن در رت‌های ویستار ایجاد شد و نشان داده شد که درمان با اسیدهای چرب امگا-3 (DHA-EPA) قادر است از اثرات مخرب ایسکمی رپرفیوژن بر کلیه بکاهد. در این راستا مسیرهای مولکولی و سیگنال‌های سلولی بسیاری ممکن است درگیر باشد از جمله می‌توان بر نقش آنتی اکسیدانی اسیدهای چرب امگا-3 (DHA-EPA) اشاره کرد، چرا که درمان با اسیدهای چرب امگا-3 (DHA-EPA) توانست فعالیت آنزیم کاتالاز و SOD را افزایش داده و از طرفی به کاهش Ccr و افزایش Scr، BUN و FENa منجر شد و همچنین باعث کاهش آسیب بافتی کلیه، تخریب سلولی و ورم توبولی گردید.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

References

1. Hussein AA, El-Dken ZH, Barakat N, Abol-Enein H. Renal ischaemia/reperfusion injury: possible role of aquaporins. Acta Physiol (Oxf) 2012;204(3):308-16.2.
2. Weih M, Kallenberg K, Bergk A, Dirnagl U, Harms L, Wernecke KD, et al. Attenuated stroke severity after prodromal TIA: a role for ischemic tolerance in the brain? Stroke 1999;30(9):1851-4.
3. McLennan PL, Owen AJ, Slee EL, Theiss ML. Myocardial function, ischaemia and n-3 polyunsaturated fatty acids: a membrane basis. J Cardiovasc Med (Hagerstown) 2007;8 Suppl 1:S15-8.
4. Blondeau N, Widmann C, Lazdunski M, Heurteaux C. Polyunsaturated fatty acids induce ischemic and epileptic tolerance. Neuroscience 2002;109(2):231-41.
5. Bonegio R, Lieberthal W. Role of apoptosis in the pathogenesis of acute renal failure. Curr Opin Nephrol Hypertens 2002;11(3):301-8.
6. Burns AT, Davies DR, McLaren AJ, Cerundolo L, Morris PJ, Fuggle SV. Apoptosis in ischemia/reperfusion injury of human renal allografts. Transplantation 1998; 66(7):872-6.
7. Hassan IR, Gronert K. Acute changes in dietary omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids have a pronounced impact on survival following ischemic renal injury and formation of renoprotective docosahexaenoic acid-derived protectin D1. J Immunol 2009; 82(5):3223-32.
8. Havasi A, Borkan SC. Apoptosis and acute kidney injury. Kidney 2009;Int 80(1), 29-40.
9. Hock CE, Beck LD, Bodine RC, Reibel DK. Influence of dietary n-3 fatty acids on myocardial ischemia and reperfusion. Am J Physiol 1990; 259(5 Pt 2):H1518-26.
10. Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, Hata R, Ueda H, Niinobe M, et al. 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. Brain Res 1990;528(1):21-4.
11. Kosieradzki M, Rowinski W. Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention. Transplant Proc. 2008 Dec;40(10):3279-88.
12. McClintock DS, Santore MT, Lee VY, Brunelle J,Budinger GR, Zong WX, et al. Bcl-2 family members and functional electron transport chain regulate oxygen deprivationinduced cell death. Mol Cell Biol 2002; 22(1), 94- 104.
13. Yu JH, Kang SG, Jung UY, Jun CH, Kim H. Effects of omega-3 fatty acids on apoptosis of human gastric epithelial cells exposed to silica-immobilized glucose oxidase. Ann NY Acad Sci 2009; 1171,359-64.
14. Burns AT, Davies DR, McLaren AJ, Cerundolo L,Morris PJ, Fuggle SV. Apoptosis in ischemia/reperfusion injury of human renal allografts. Transplantation 1998; 66(7),872-6.
15. Bonegio R, Lieberthal W. Role of apoptosis in thepathogenesis of acute renal failure. Curr Opin Nephrol Hypertens 2002; 11(3),301-8.
16. Ajami M, Eghtesadi S, Razaz J. M.kalantari N,Habibey R,Nilforouhzadeh MA, et al. Expression of Bcl-2 and Bax after hippocampal ischemia in DHA + EPA treated rats. Neurol Sci 2011; 32 811-18.
17. Cao D, Li M, Xue R, Zheng W, Liu Z, Wang X. Chronic administration of ethyl docosahexaenoate decreases mortality and cerebral edema in ischemic gerbils. Life Sci J 2005;78(1):74-81.
18. Chatauret N,Thuillier R, Hauet T. Preservation strategies to reduce ischemic injury in kidney transplantation: pharmacological and genetic approaches. Curr Opin Organ Transplant J.2011;16(2): 180-7.
19. Yamanobe T, Okada F, Iuchi Y, Onuma K, Tomita Y, Fujii J. Deterioration of ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in SOD1-deficient mice. Free Radic Res 2007; 41(2), 200–207.
20. Kim J., Park J.W., Park K.M. Increased superoxide formation induced by irradiation preconditioning triggers kidney resistance to ischemia-reperfusion injury in mice. Am J Physiol Renal Physiol 2009; 296 F1202–F1211.
21. Kim J, Kil IS, Seok YM, Yang ES, Kim DK, Lim DG, et al. Orchiectomy attenuates post-ischemic oxidative stress and ischemia/reperfusion injury in mice. A role for manganese superoxide dismutase. J Biol Chem 2006;281(29):20349-56.
22. O'Duffy AE, Bordelon YM, McLaughlin B. Killer proteases and little strokes--how the things that do not kill you make you stronger. J Cereb Blood Flow Metab 2007;27(4):655-68.
23. An WS, Kim HJ, Cho KH, Vaziri ND. Omega-3 fatty acid supplementation attenuates oxidative stress, inflammation, and tubulointerstitial fibrosis in the remnant kidney. Am J Physiol Renal Physiol 2009;297(4):F895-903.
24. Ashtiyani SC, Najafi H, Kabirinia K, Vahedi E, Jamebozorky L. Oral omega-3 fatty acid for reduction of kidney dysfunction induced by reperfusion injury in rats. Iran J Kidney Dis 2012;6(4):275-83.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

Effect of omega 3 fatty acids on oxidative stress in acute renal failure induced by ischemia reperfusion

Hajimiresmaiel J[1], Davoodi H[2], Namazi N [3] , Javedan Gh[4] , Pazoki-Toroudi H[5] , Ajami M[6]*

1- Assistant Prof, Dept. of Cardiology, School of Medicin, Rasoul Akram Hospital, Iran university of medical sciences, Tehran, Iran

2- Assistant Prof. Dept. of Clinical Nutrition and Dietetic, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- M.Sc in Nutrition Sciences, International Branch, Shahid Behesti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Ph.D Student of Nutrition, Faculty of Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Assistant Prof, Physiology Research Centre, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran

*6- *Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food and Nutrition Policy and Planning Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Email: Nutritionist80@gmail.com*

Received 16 Oct, 2013 **Accepted 11 Dec, 2013**

Background and Objectives: Ischemia reperfusion (IR) occurs when the blood supply returns to the tissue after a period of ischemia, or lack of oxygen; it is a common cause of acute renal failure. The present study evaluated the effect of pretreatment with omega 3 fatty acids on ischemia reperfusion injury.

Materials and Methods: Right nephrectomy was performed on 81 male Wistar rats (255-300 g). The rats received either omega 3 fatty acids (DHA+EPA 200 mg/kg/d) or distilled water orally for 14 d prior to ischemia reperfusion (6, 24, 48 h reperfusion). Serum creatinine (SCr), BUN, creatinine clearance (CCr), and fractional excretion of sodium (FENa) were measured. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities and renal histological injury were also determined.

Results: SCr, BUN and FENa increased after 6-48 h of reperfusion ($p < 0.01$). CAT and SOD activity decreased ($p < 0.05$) in the IR group. DHA+EPA decreased SCr, BUN and FENa, ($p < 0.05$ vs. IR) and increased CCr, CAT, and SOD activity ($p < 0.05$ vs. IR) for 6-48 h after ischemia. IR induced mild (6 h, $p < 0.05$) to severe (24-48 h, $p < 0.01$) tissue damage. The tissue damage decreased significantly for the DHA+EPA group over the IR group ($p < 0.05$ vs. IR; 24-48 h).

Conclusion: The results suggest that pre-ischemic exposure to DHA+EPA ameliorates oxidative stress and could improve kidney function by decreasing SCr, BUN, and FENa, and increasing CCr .

Keywords: Omega 3 fatty acids (DHA+EPA), Ischemia reperfusion, Oxidative stress, Acute renal failure

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]