مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱
DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947

اثرات محافظتی عصاره نوستوک‌کمون بر سمیت کبدی القا شده با کتامین در موش نر

اکبر حاجی زاده مقدم*، فریبا آقابزرگ نژاد خشکرودی، صدیقه خانجانی جلودار و پریسا جهانی بهنمیری

ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی جانوری

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۹

چکیده

کتامین دارویی مشتق از فن‌سیکلیدین است که با اختلال در تعادل ردوکس استرس اکسیداتیو در کبد را القا می‌کند. سیانوباکتری نوستوک‌کمون دارای خواص آنتی اکسیدانی قابل توجهی است که آن را به منبعی ارزشمند در درمان بیماری های مختلف تبدیل می کند. هدف از این پژوهش، بررسی اثر محافظت کبدی عصاره نوستوک‌کمون بر سمیت کبدی القا شده با کتامین در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ می‌باشد. در این پژوهش،۲۰ موش نر بالغ به ۴ گروه کنترل، کتامین و دو گروه تیمار با عصاره نوستوک‌کمون (NCE) تقسیم شدند. به تمامی گروه‌ها بجز کنترل، کتامین در دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی ۱۴ روز تزریق شد و گروه های تیمار پس از تزریق کتامین، NCE را در دو دوز ۷۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. غلظت آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز (ALP) ، آلانین آمینوترنسفراز(ALT) ، آسپارتات آمینوترنسفراز(AST) ،کاتالاز(CAT)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و مالوندی‌آلدهید (MDA) اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تزریق کتامین سبب افزایش غلظت AST ، ALT ، ALP ، سطح MDA و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانیCAT وSOD شد. در حالی که NCE در هر دو دوز موجب کاهش غلظتAST ، ALT ، ALP و سطح MDA در مقایسه با گروه کتامین شدند. همچنین تنها دوز بالاتر NCE فعالیت CAT و SOD را افزایش داد. نتایج نشان می‌دهند که NCE احتمالا اثر تعدیل کننده بر روی آنزیم های آنتی اکسیدانی دارد که به مهار استرس اکسیداتیو کمک می‌کند. در نتیجه، NCE پتانسیل محافظت در برابر سمیت کبدی ناشی از کتامین نشان می دهد.

واژگان کلیدی: کتامین، نوستوک کمون، استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های کبدی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: a.hajizadeh@umz.ac.ir

مقدمه

کتامین دارویی مشتق از فن سیکلیدین است که اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط دانشمند آمریکایی Calvin-Davis سنتز شد (۱۸) و از سال ۱۹۷۰به عنوان داروی بی‌هوشی در انسان و حیوانات استفاده می‌شود (۱۵). کتامین به دلیل اثر کوتاه مدت و توهم زایی، به یک داروی سوء مصرف تفریحی در بین جوانان تبدیل شده است. مهمترین اثر نامطلوب آن، اثرات روانی است. کتامین بسیار محلول در چربی است و به سرعت در بافت‌های محیطی توزیع می شود. نیمه عمر حذف کتامین ۲ تا ۳ ساعت است و به سرعت جریان خون از کبد بستگی دارد (۲۵). کتامین توسط سیستم میکروزومی سیتوکروم P-450 در کبد متابولیزه می‌شود. هنگامی که سلول‌های کبدی در معرض کتامین قرار می‌گیرند، مهار فسفوریلاسیون اکسیداتیو، افزایش آپوپتوز و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) اتفاق می‌افتد (۳۱). کبد نسبت به سایر اندام‌ها دربرابر شرایط اکسیداتیو آسیب پذیرتر است. تولید بیش ازحد ROS و تشکیل رادیکال‌های آزاد سبب استرس اکسیداتیو در کبد می‌شود که به سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها آسیب می‌رساند (۲۷). مطالعات نشان داده است که، افزایش آنزیم های آسپارتات آمینوترنسفراز (AST) ، آلانین آمینوترنسفرار

DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947 مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱

(ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) نشانگر آسیب سلول های کبدی هستند. مشخصه آسیب کبدی سطح بالای AST، ALT و ALP است که به دلیل تغییرات اکسیداتیو و نکروز در کبد است. کالکان و همکاران در سال ۲۰۱۴ با تزریق درون‌صفاقی کتامین، به مدت دو هفته در موش‌ها مشاهده کردند، استفاده طولانی‌مدت کتامین سبب افزایش غلظت آنزیم‌های ALP، ALT و AST و تغییرات بافتی در سلول-های کبدی و آپوپتوز کبدی شده است (۱۴). لیو و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز گزارش کردند که تزریق متوالی ۱۴ روزه کتامین به موش‌ها سبب افزایش تولید ROS و وقوع استرس اکسیداتیو شده همچنین آنزیم‌های کبدی را افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز(CAT) را کاهش داده است (۲۱).

امروزه سیانوباکتری‌ها به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست فعال طبیعی برای کاربردهای مختلف صنعتی، دارویی و بیوتکنولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۹). نوستوک‌کمون (*Nostoc commune*) یک جنس از جلبک-های سبز آبی تثبیت کننده ازت از خانواده Nostocaceae است که در صورت کمبود نیتروژن ترکیبی می‌تواند از نیتروژن اتمسفری استفاده کند (۲۶). نوستوک‌کمون در خاک استوایی، مناطق معتدل، قطب شمال و جنوب پراکنده است در بیشتر کشورهای آسیای شرقی استفاده می‌کنند سیانوباکتری‌های هتروسیست‌دار نقش مهمی در باروری خاک ایفا می‌کنند. تعداد زیادی در شالیزار، گندم‌زار و جنگل‌های شمال ایران، وجود دارند. مردم چین از این جلبک هم در طب چینی برای درمان بیماری‌ها و هم به عنوان یک غذا استفاده می‌کنند (۳و۲۲). کتاب فارماکوپه چینی نشان می‌دهد عصاره نوستوک‌کمون از نیکتالوپی، کبدچرب، بیماری‌های قلبی و سنگ‌های کلیه جلوگیری می‌کند و فعالیت‌های ضدتوموری و آنتی‌اکسیدانی دارد (۳۴). این سیانوباکتری دارای اثرات موثری بر سلامتی است. خواص ضدعفونی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی دارد و همچنین باعث کاهش سطح کلسترول سرم می‌شود (۱۳). مطالعات بسیاری اثبات کردند که رنگدانه‌های جاذب اشعه ماورا بنفش مانند اسیدهای آمینه شبه مایکوسپورین و اسکیتونمین و همچنین پلی‌ساکاریدهای نوستوک‌کمون به عنوان ترکیبات قوی آنتی‌اکسیدانی نوستوک عمل می-کنند(۳۲). لی و همکاران درسال۲۰۱۱ ، ظرفیت آنتی اکسیدانی و حفظ رطوبت پلی ساکاریدها را نیز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند پلی ساکاریدها فعالیت مهارکنندگی آنیون سوپراکسید و رادیکال‌های هیدوکسیل را نشان دادتد (۲۶). ترکیبات موجود در نوستوک کمون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی هستند و در شرایط آزمایشگاهی توانایی پاکسازی رادیکال‌های آزاد را دارد و در نتیجه احتمالا می‌تواند از استرس اکسیداتیو ظاهر شده در بیماری‌ها به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود جلوگیری کند(۱۲). در مطالعات پیشین حود نیز گزارش کردیم عصاره نوستوک کمون سبب افزایش سطح گلوتاتیون (GSH) و افزایش فعالیت CAT ، SOD و گلوتاتیون ردوکتاز (GRx) و کاهش سطح مالون دی آلدهید (MDA) در بافت قشر مغز مدل حیوانی ایسکمی/خونرسانی مجدد شده است (۲۳).

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات محافظتی عصاره نوستوک‌کمون بر آنزیم‌های کبدی AST، ALT، ALP و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT، SOD و سطح MDA بر سمیت کبدی القا شده با کتامین در موش کوچک نر می-باشد.

مواد و روشها

روش عصاره‌گیری: نمونه‌های سیانوباکتری نوستوک‌کمون از منطقه زیرآب استان مازندران با طول و عرض جغرافیایی (36°11'14.7"N 52°57'30.1"E) پس از بارندگی جمع‌آوری شد. پس از شستن نمونه‌ها، آنها برای مدتی در هوای آزاد آزمایشگاه قرار داده شدند تا خشک شوند. نمونه‌های خشک شده برای فرآیند عصاره‌گیری پودر

مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱
DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947

شدند. برای تهیه عصاره در ابتدا ، ۱۵۰گرم از پودر نوستوک‌کمون با ۱۵۰۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت و با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه روی شیکر قرار داده شد درادامه با کاغذ صافی سلولوزی ، صاف شد. در مرحله دوم، ۲۵۰ میلی لیتر از متانول به پودر نوستوک‌کمون اضافه شد بعد از طی مراحل بالا توسط دستگاه روتاری تبخیر کننده چرخشی با دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و فشار هوای پایین غلیظ شد. در پایان، این عصاره به مدت ۷۲ ساعت و با دمای ۳۷ درجه در آون انکوباتور خشک شد و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری می‌شود.

مطالعه حیوانی: تمامی آزمایش‌ها در دانشگاه مازندران با کد مطالعه (IR .UMZ.REC.۱۴۰۱. ۰۶۵) و براساس منشور اخلاق زیستی انجام شد. در این پژوهش تجربی، ۲۰ عدد موش‌های نر کوچک آلبینو با سن حدود چهار هفته و وزن ۲۰- ۲۵ گرم از دانشگاه علوم پزشکی ساری خریداری شدند و به اتاق حیوانات گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران منتقل شدند. حیوانات با دوره‌های روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعت در روز و در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و در طول دوره آزمایش به آن-ها آب و غذا داده شد. آزمایشات یک هفته بعد از انتقال آن‌ها برای سازگاری با محیط انجام شد.

در این پژوهش، موش‌ها به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکردند. گروه کتامین دوز ۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کتامین را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. گروه های تیمار، عصاره نوستوک کمون را در دو دوز ۷۰ و ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم در ساعت ۸ صبح به صورت گاواژ خوراکی دریافت می کردند، پس از دو ساعت تزریق درون صفاقی کتامین به صورت روزانه انجام می شد. (۲۳). در روز آخر دوره آزمایش، موش‌ها با گیوتین سربریده شدند و بافت کبد هر موش جهت اندازه-گیری آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو نمونه برداری شدند.

تهیه هموژن بافتی: در این پژوهش، ۳۰۰ میلی‌گرم از هر بافت کبد موش در ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات با pH =۷/۴ هموژن شدند. بعد با سرعت rpm ۱۲۰۰۰و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۲۰ دقیقه سانترفیوژ شدند. در نتیجه محلول شفاف رویی نمونه‌ها برداشته شدند و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترنسفراز، آسپارتات آمینوترنسفراز و سطح مالون‌دی‌آلدهید اندازه‌گیری شدند.

اندازه گیری آنزیم‌های کبدی: بررسی فعالیت آنزیم کبدی AST با استفاده از کیت آنزیمی CO بیوشیمی (شرکت پارس آزمون Lot no ۹۲۰۰۳)، ALT با استفاده از کیت آنزیمی CO بیوشیمی (شرکت پارس آزمون Lot no ۹۲۰۰۵)، ALP با استفاده از کیت آنزیمی CO بیوشیمی (شرکت پارس آزمون Lot no ۹۲۰۰۳) و توسط روش پیشنهادی فدراسیون بین المللی شیمی بالینی (IFCC) و با دستگاه اتو آنالایزر Cobas Mira انجام شد و سمیت کبدی با تغییر در سطوح آسپارتات‌آمینوترنسفراز ، آلانین‌آمینوترنسفراز ،آلکالین فسفاتاز تعیین شد.

اندازه گیری فعالیت CAT : از روش ابی برای بررسی فعالیت آنزیم CAT استفاده شد (۴). مخلوط واکنش، شامل بافر سدیم فسفات با pH=۷ در غلظت ۵۰ میلی مولار است که شامل ۱۰ میلی مولار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) است و ۱۲۰ میکرولیتر از سوپرناتانت به ۷۴۰ میکرولیتر مخلوط واکنش اضافه شد. بعد به مدت زمان ۲ دقیقه و در طول موج ۲۴۰ نانومتر جذب آنزیم خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت SOD : برای محاسبه فعالیت آنزیم SOD از روش جنت استفاده شد که عملکرد آن، مهار اتواکسیداسیون پیروگالل سوپراکسید دیسموتاز است (۱۱). به طور کلی مخلوط واکنش، شامل بافر سدیم فسفات با pH=۷ در غلظت ۵۰ میلی مولار است که شامل۰/۰۰۱۸ گرم اتیلن دی آمین تترا استیک اسید و ۰/۰۰۳ گرم پیروگالل است و ۱۲۰ میکرولیتر از سوپرناتانت به۷۴۰ میکرولیتر

مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱
DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947

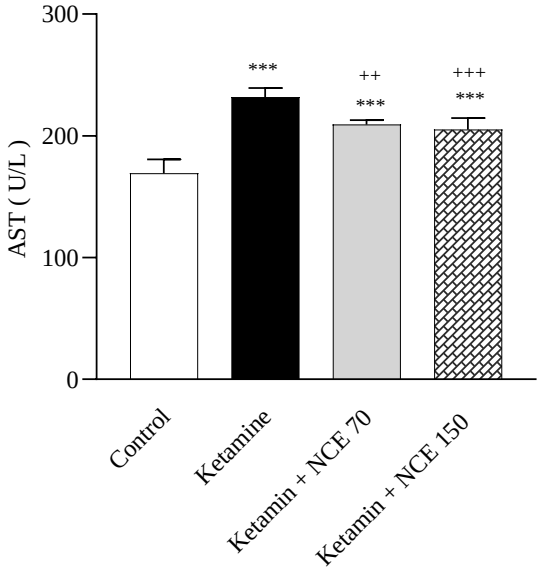
مخلوط واکنش اضافه شد. بعد به مدت زمان ۳ دقیقه و در طول موج ۴۲۰ نانومتر جذب محلول واکنش مشخص شد.

سنجش سطح MDA : برای سنجش سطح MDA از روش استربائر و چیزمن استفاده شد (۱۰). ۲۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت با ۰/۵ میلی لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد و ۱میلی لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶۷ درصد مخلوط شد. سپس در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و به مدت زمان ۶۰ دقیقه در بن ماری قرار داده شد. بعد به مدت زمان ۱۰ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور بر دقیقه در داخل سانترفیوژ گذاشته شد. در نتیجه محلول شفاف رویی آن با طول موج ۵۳۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مشخص شد. براساس قانون بیرلامبرت ($A=\varepsilon Ic$) غلظت مالون دی آلدهید کبدی با ضریب خاموشی ۱۵۶ $mM^{-1}Cm^{-1}$ محاسبه شد و به صورت نانومول بر میلی گرم پروتئین گزارش شد .**آنالیز آماری:** از واکنش تحلیل واریانس یک‌طرفه برای بررسی تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد. از آزمون تعقیبی توکی در صورت معنی‌دار شدن استفاده شد. تمام محاسبات با استفاده از نرم افزار Prismبا نسخه ۸ انجام شد و مقدار($p<۰/۰۵$) معنی دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت (Mean ± SD) بیان شدند.

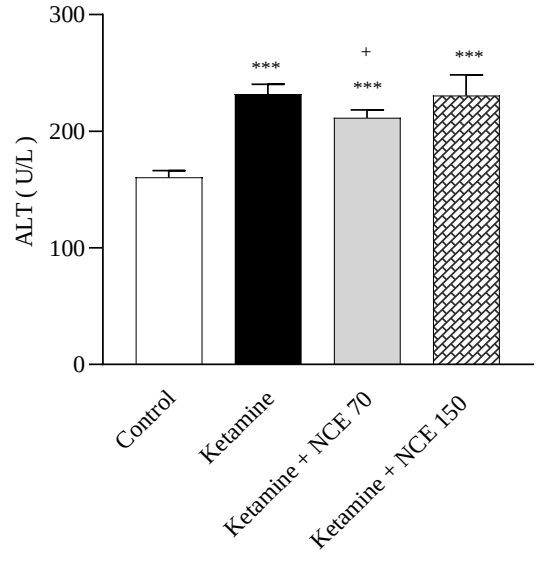
نتایج

با توجه به نمودار۱- فعالیت آنزیم AST کبدی گروه کتامین، افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل نشان داده است. در صورتی که تیمار با عصاره نوستوک کمون در دو دوز ۷۰ ($p<۰/۰۱$) و ۱۵۰ ($p<۰/۰۰۱$) میلی‌گرم برکیلوگرم کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کتامین نشان داده است.

با توجه به نمودار۲- فعالیت آنزیم ALT کبدی گروه کتامین، افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل نشان داده است. در صورتی که تیمار با عصاره نوستوک‌کمون در دوز۷۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کاهش معنی-داری ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کتامین نشان داده است. اما دوز ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در مقایسه با گروه کتامین معنی‌دار نشده است.



نمودار۱- اثر عصاره نوستوک‌کمون بر فعالیت آنزیم آسپارتات آمینو ترنسفراز در بافت کبد(n=۵ و Mean ± SD). $p<۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل، $p<۰/۰۱$ ++ و $p<۰/۰۰۱$ +++ در مقایسه با گروه کتامین. گروه کنترل (Control)، گروه کتامین (ketamine)، عصاره نوستوک‌کمون ۱۵۰و ۷۰ میلی گرم/کیلوگرم (NCE).

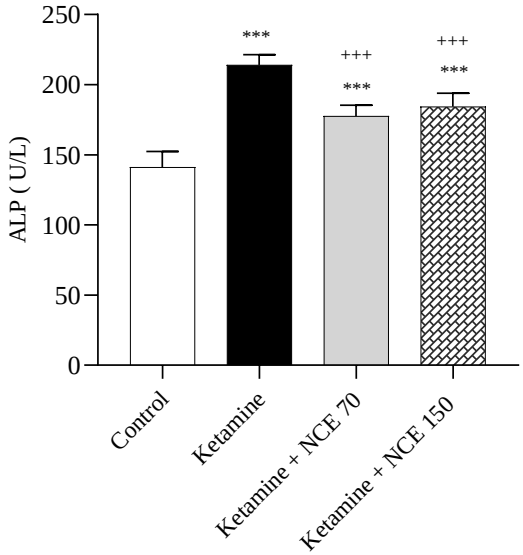


نمودار۲- اثر عصاره نوستوک‌کمون بر فعالیت آنزیم آلانین آمینوترنسفراز در بافت کبد (n=۵ و Mean ± SD). $p<۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل، $p<۰/۰۵$ + در مقایسه با گروه کتامین. گروه

مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱
DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947

کنترل (Control)، گروه کتامین (ketamine)، عصاره نوستوک‌کمون ۱۵۰و ۷۰ میلی گرم/کیلوگرم (NCE).

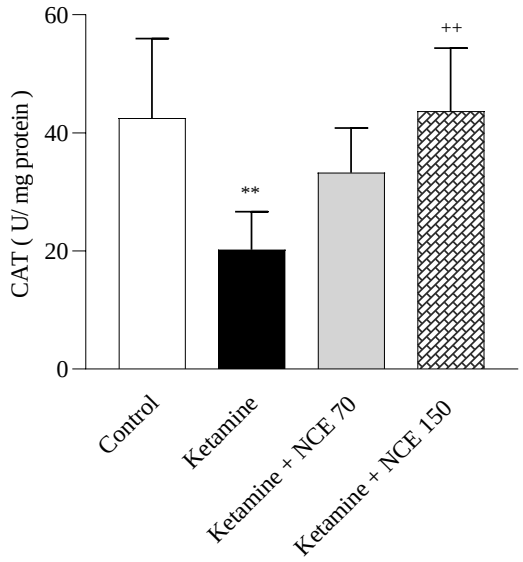
با توجه به نمودار۳- فعالیت آنزیم ALP کبدی گروه کتامین افزایش معنی‌داری و گروه های کتامین تیمار شده در دو دوز در مقایسه با گروه کنترل نشان داده است($p<۰/۰۰۱$). اما تیمار با عصاره نوستوک‌کمون در دو دوز ۷۰ ($p<۰/۰۰۱$) و ۱۵۰ ($p<۰/۰۰۱$) میلی‌گرم برکیلوگرم کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کتامین نشان داده است.



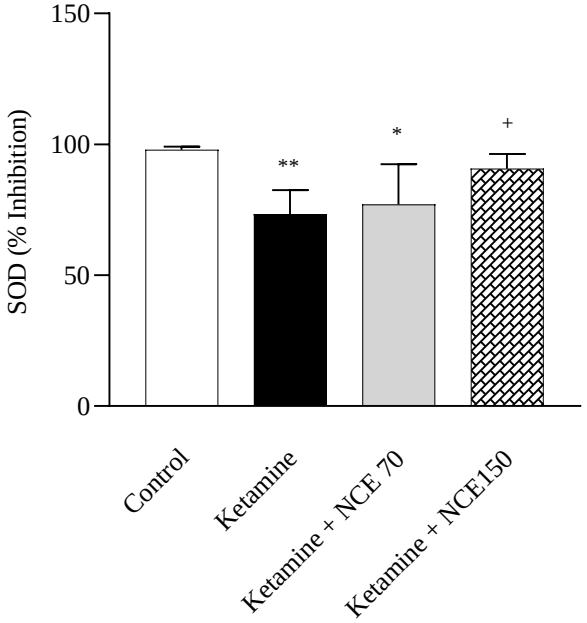
نمودار ۳- اثر عصاره نوستوک‌کمون بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بافت کبد (n=۵ و Mean ± SD). $p<۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل، $p< ۰/۰۰۱$ +++ در مقایسه با گروه کتامین. گروه کنترل (Control)، گروه کتامین (ketamine)، عصاره نوستوک‌کمون ۱۵۰و ۷۰ میلی گرم/کیلوگرم (NCE).

با توجه به نمودار ۴- فعالیت آنزیم CAT در گروه کتامین کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل نشان داده است. در صورتی که تیمار با عصاره نوستوک-کمون در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) در مقایسه با گروه کتامین نشان داده است.

با توجه به نمودار ۵- فعالیت آنزیم SOD در گروه کتامین کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل نشان داده است. در صورتی که تیمار با عصاره نوستوک-کمون در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کتامین نشان داده است.



نمودار۴- بررسی اثرات تیمار با عصاره نوستوک‌کمون بر فعالیت آنزیم کاتالاز. (n=۵ و Mean ± SD). $p<۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه کنترل ، $p<۰/۰۱$ ++ در مقایسه با گروه کتامین. گروه کنترل (Control)، گروه کتامین (ketamine)، عصاره نوستوک‌کمون ۱۵۰و ۷۰ میلی گرم/کیلوگرم (NCE).

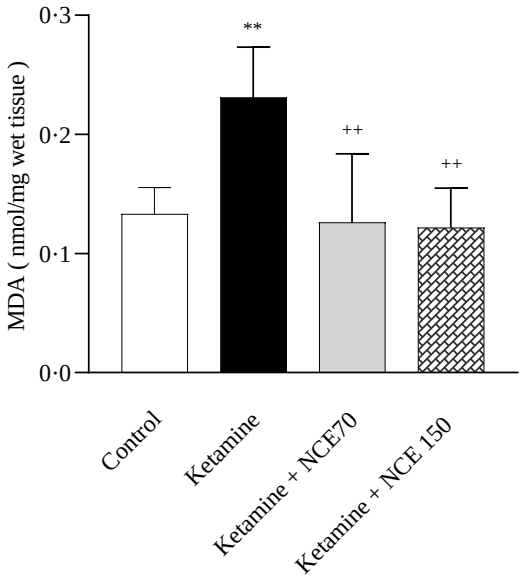


نمودار ۵- بررسی اثرات تیمار با عصاره نوستوک‌کمون بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز. (n=۵ و Mean ± SD). $p<۰/۰۵$*، $p<۰/۰۱$

DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947 مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱

** گروه کتامین در مقایسه با گروه کنترل ، p<۰/۰۵ + در مقایسه با گروه کتامین. گروه کنترل (Control)، گروه کتامین (ketamine)، عصاره نوستوک‌کمون ۱۵۰و ۷۰ میلی گرم/کیلوگرم (.NCE).

با توجه به نمودار ۶- سطح فعالیت آنزیم MDAدر گروه کتامین افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۱) درمقایسه با گروه کنترل نشان داده است. در صورتی که تیمار با عصاره نوستوک‌کمون در دو دوز ۷۰ و۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کتامین نشان داده است.



نمودار۶ – بررسی اثرات تیمار با عصاره نوستوک‌کمون بر سطح فعالیت آنزیم مالون دی آلدهید در کبد. (n=۵ و Mean ± SD). p<۰/۰۱ ** گروه کتامین در مقایسه با گروه کنترل، p<۰/۰۱ ++ در مقایسه با گروه کتامین. گروه کنترل (Control)، گروه کتامین (ketamine)، عصاره نوستوک‌کمون ۱۵۰و ۷۰ میلی گرم/کیلوگرم (.NCE).

بحث

در این مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره سیانوباکتری نوستوک‌کمون در سمیت کبدی القا شده با کتامین مورد بررسی قرارگرفت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق کتامین موجب افزایش آنزیم‌های کبدی AST، ALT ، ALP ، افزایش سطح MDA و کاهش آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی CAT و SOD شد. و تیمار با عصاره نوستوک-کمون توانست تا حدودی سبب بهبود وضعیت آنزیم‌های کبدی و آنتی‌اکسیدانی بافت کبد شود. تزریق طولانی مدت کتامین با تولیدROS و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) موجب آسیب کبدی می‌شود (۵). کتامین دارای یک فعالیت پرواکسیدانی بالقوه است که در تجویز حاد و دوز زیر بیهوشی، استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کند (۲۸). کتامین بر کبد از نظر تاخیر در رشد بیوشیمیایی تأثیر می‌گذارد . گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های ALT و AST سرم و بافت کبد در حیواناتی که با کتامین تجویز شده‌اند .افزایش این آمینوترانسفرازها به عنوان شاخص‌های حساس آسیب سلول‌های کبدی گزارش شده است (۵). علاوه بر تغییرات آنزیم‌های کبدی، اعتیاد به کتامین برای دوره‌های طولانی در انسان موجب آسیب‌های مهم دیگری در کبد، از جمله آسیب‌های میکروسکوپی، کاهش ذخیره گلیکوژن و تشکیل فیبروز می‌شود (۹). اونائولاپو و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مطالعات خود بیان کردند که تزریق مزمن کتامین به حیوانات عملکرد کبد و کلیه را مختل می‌کند و موجب افزایش سطح AST ، ALT، ALP و کاهش فعالیت CAT می‌شود. همچنین مصرف مزمن کتامین منجربه تولید فزاینده ROS می‌شود، که با توسعه آسیب اکسیداتیو و تغییرات عملکردی هم در کبد و هم در کلیه‌ها سازگار است (۷). کتامین به خودی خود می‌تواند آسیب-های شدیدی ایجاد کند زیرا یکی از متابولیت‌های آن هیدروکینون است که مستقیماً DNA سلول‌ها را تکه تکه می‌کند. مصرف طولانی مدت کتامین به عنوان یک داروی اعتیادآور و توهم‌زا در بین افراد جوان می‌تواند منجر به آسیب کبدی، آسیب گلومرولی و نکروز لوله‌ای در کلیه‌ها و همچنین موجب ایجاد سمیت کبدی در بیماران مبتلا به درد مزمن شود (۱۴و۳۳). نتایج این پژوهش نشان داد کتامین موجب افزایش آنزیم‌های کبدی AST ، ALT ، ALP و افزایش سطح MDA و کاهش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی CATو SOD شد. همسو با نتایج این پژوهش، حاجی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز بیان کردند که کتامین موجب

DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947 مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱

سمیت نورونی، کبدی و کلیوی می‌شود، تزریق مزمن کتامین موجب افزایش سطح MDA وکاهش GSH در بافت کبد می‌شود. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT، SOD و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و GRX کاهش می‌یابد (۱). بن آزو و همکاران در سال ۲۰۱۶ بیان کردند تزریق درون‌صفاقی کتامین به مدت ۱۴ روز متوالی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به موش‌ها موجب افزایش در سطح MDA و کاهش در میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD و GSH در مغز می‌شود (۶). جوی تای چن و همکاران درسال ۲۰۱۸ در مطالعه‌ای مشاهده کردند، تزریق مزمن کتامین با دوز پایین در موش‌ها کمپلکس I میتوکندری را مهار می‌کند و تولید ROS میتوکندری را تشدید می‌کند که با کاهش گلیکوژن کبدی و کاهش تولید ATP همراه است (۸).

عصاره سیانوباکتری‌ها حاوی ترکیبات فعال زیستی و آنتی-اکسیدان‌های طبیعی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، پلی-ساکاریدها، روغن‌ها، ویتامین‌ها، ترپن‌ها، استرها، پلی فنول-ها، کاروتنوئیدها، فلوروتانین‌ها، فیکوبیلی پروتئین‌ها، اسکیتونمین و MAA است که بواسطه وجود این ترکیبات دارای خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی هستند. آنتی‌اکسیدان‌های جلبکی از نظر دامنه فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حلالیت و اندازه متنوع هستند. همچنین از نظر درمانی نقش مهمی دارند (۱۷و۳۰). MAA و اسکیتونمین دو نوع رنگدانه جذب کننده اشعه ماوراء بنفش نوستوک‌کمون هستند. (۱۲و۲۴). مطالعات نشان داده‌اند اسکیتونمین نیز همانند MAA فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد و از طریق فعال کردن مسیرهای سلولی می‌تواند التهاب را سرکوب کند (۱۳). حاجی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان دادند فعالیت آنزیم‌های CAT ، SOD و GPx قشر مغز در مدل حیوانی ایسکمی/خونرسانی مجدد با پیش‌تیمار با عصاره نوستوک‌کمون در دو دوز ۳۵ و ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز افزایش یافت (۲). لی اچ و همکاران در سال۲۰۲۳ بیان کردند یک پلی‌ساکارید جدید از لاکتوباسیلوس تخمیر شده نوستوک‌کمون می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، GSH و GSH-Px، کاهش آنزیم‌های ALT، AST، آسیب کبدی و ضایعات بافت کلیه را در مدل موش‌های آسیب دیده با کادمیوم کاهش دهد و سطح سیتوکین‌ها را مهار کند (۱۹). خلیفا و همکاران در سال ۲۰۲۱ در طی آزمایشی نشان دادند. سیانوباکتری اسپیرولینا به علت خواص آنتی اکسیدانی که دارند. با از بین بردن رادیکال‌های آزاد، مهار پراکسیداسیون لیپیدی و با افزایش فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۱۶). میزان ظرفیت پاک‌سازی آنیون‌های سوپراکسید از پلی-ساکاریدهای نوستوک‌کمون درمقایسه با *Sphaeroides kiitz* و *Nostoc flagelifrome* به ترتیب ۱۰۳,۷ ٪ و ۵۴,۸ ٪ بالاتر است که این نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی نوستوک‌کمون است (۲۲). لی و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثرات آنتی‌اکسیدانی پلی‌ساکارید خارج سلولی نوستوک کمون را در کرم سی الگانس *(Caenorhabditis elegans)* بررسی کردند. نتایج نشان داد که تیمار با پلی‌ساکارید فعالیت SOD ، CAT و GPX را افزایش و سطح MDA را در سی الگانس کاهش می‌دهد و موجب افزایش بقای آن می‌شود (۲۰). نظیفی و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهش‌هایی که انجام دادند، مشاهده کردند در نوستوک‌کمون MAA فعالیت‌های مهار رادیکال قوی در شرایط آزمایشگاهی را دارد. بنابراین MAAها نقش‌های متنوعی به عنوان محافظت کننده UV و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نوستوک‌کمون را برعهده دارند (۲۴). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار با عصاره نوستوک‌کمون سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و SOD و کاهش سطح MDA و کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی AST، ALT ، ALP شد که احتمالا مربوط به خواص آنتی-اکسیدانی عصاره نوستوک‌کمون است.

DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947 مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد تیمار با عصاره نوستوک کمون سبب کاهش آنزیم‌های کبدی AST، ALT، ALP و کاهش سطح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و SOD در بافت کبد مسموم شده با کتامین شد. که نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نوستوک‌کمون است.

سپاس گزاری

این پژوهش با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام گرفت. بدین وسیله از آقای محمد امین شرج پور که در انجام این پژوهش به نویسندگان یاری رسانده است، تقدیر و تشکر به عمل می آید.

منابع

۱. پرهیزگار، م-، خانجانی جلودار، ص-، صیرفی، ر-، حاجی زاده مقدم، ا-،۱۳۹۷. اثرات درمانی هسپرتین و نانوهسپرتین بر مسمومیت کبدی القاء شده با کتامین ، فصلنامه گیاهان دارویی ، سال۱۸،دوره چهارم، شماره مسلسل ۷۲.

۲. حاجی زاده مقدم ، آ-، امینی ،س- ، ابراهیمی ،س-، نظیفی ، ا-، اثرات ضد افسردگی و آنتی اکسیدانی عصاره سیانو باکتری نوستوک کمون یک مدل ایسکمی/ رپرفیوژن مغز موش صحرایی . مجله تحقیقات حیوانی (مجله زیست شناسی ایران). ۲۰۲۱ دسامبر ۲۲; ۳۴ (۴): ۳۴-۲۲۵.

۳. نوروزی ، بهار، احمدی مقدم ، علی (۱۳۸۶). گزارش جدیدی از روابط بین ماکروالمانهای خاک و پراکنش سیانوباکتریهای هتروسیست دار در شالیزار، گندمزار و جنگل استان گلستان. مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۰ شماره ۱.

۴-محمد نژاد، سپیده، حاجی زاده مقدم, اکبر, ولی زادگان, فرهاد. اثر ضد افسردگی کوئرستین و نانوکریستال کوئرستین در مدل حیوانی بیماری اسکیزوفرنی با استفاده از تست شنای اجباری. مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)(علمی), ۱۳۹۶; ۳۰(۳): ۳۷۶-۳۶۵.

5. Aebi, H., 1974. Catalase in Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition), H.U. Bergmeyer, Editor, Academic Press, PP: 673-684.

6. Bedir Z, Ozkaloglu Erdem K, Ates İ, Ölmezturk Karakurt Tu, Gursul C, Onk D, Kurt N, Suleyman Z, Suleyman H, 2022. Effects of ketamine, Thiopental and their Combination on the rat liver: A Biochemical Evaluation. Advances in Clinical and Experimental Medicine.;31(3).

7. Ben-Azu B, Aderibigbe AO, Ajayi AM, Iwalewa EO, 2016. Neuroprotective effects of the Ethanol Stem Bark Extracts of Terminalia Ivorensis in Ketamine-Induced Schizophrenia-like Behaviors and Oxidative Damage in Mice. Pharmaceutical Biology. 1;54(12):2871-9..

8. Brum GF, Rosa HZ, Rossato DR, Rosa JL, Metz VG, Milanesi LH, Burger ME, 2020. Binge and Subchronic Exposure to ketamine Promote Memory Impairments and Damages in the Hippocampus and Peripheral Tissues in Rats: Gallic Acid Protective Effects. Neurotoxicity Research.;38:274-86.

9. Chen JT, Wei L, Chen TL, Huang CJ, Chen RM, 2018. Regulation of Cytochrome P450 Gene Expression by Ketamine: a Review. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. 3;14(7):709-20.

10. Cheung HM, Chow TC, Yew DT, 2017. How Ketamine Affects livers of Pregnant Mice and Developing Mice?. International Journal of Molecular Sciences. 19;18(5):1098.

11. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of Aldehydic lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-HydroxynonenalMethods in Mnzymology. 186.

12. Genet, S., Kale, R. K., and Baquer, N. Z., 2002. Alterations in Antioxidant Enzymes and Oxidative Damage in Experimental Diabetic Rat Tissues: Effect of Vanadate and Fenugreek (Trigonella Foenum Graecum). Molecular and Cellular Biochemistry, 236(1), PP: 7-12.

13. Gulcin İ. 2020, Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview. Archives of Toxicology.;94(3):651-715.

14. Itoh T, Tsuchida A, Muramatsu Y, Ninomiya M, Ando M, Tsukamasa Y, Koketsu M, 2014. Antimicrobial and Anti-Inflammatory Properties of Nostocionone Isolated from *Nostoc Commune* Vauch and its Derivatives Against Propionibacterium Acnes. Anaerobe. 1;27:56-63.

DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947

15. Kalkan YI, Tomak Y, Altuner D, Tumkaya LE, Bostan H, Yilmaz AD, Unal D, Kara A, Turan A, 2014. Hepatic Effects of Ketamine Administration for 2 Weeks in Rats. Human & Experimental Toxicology.;33(1):32-40.

16. Kasıkara H, Sungu N, Arslan M, Kucuk A, Ozturk L, Afandiyeva N, Kavutcu M. 2021, Repeated doses of Ketamine Effect the Infant Rat Urogenital System. Drug Design, Development and Therapy. 11:1157-65.

17 . Khalifa SA, Shedid ES, Saied EM, Jassbi AR, Jamebozorgi FH, Rateb ME, Du M, Abdel-Daim MM, Kai GY, Al-Hammady MA, Xiao J, 2021. Cyanobacteria—From theO to the Potential Biotechnological and Biomedical Applications. Marine Drugs. 24;19(5):241.

18. Kini S, Divyashree M, Mani MK, Mamatha BS, 2020. Algae and Cyanobacteria as a Source of Novel Bioactive Compounds for Biomedical Applications. Inadvances in Cyanobacterial Biology .1 (pp. 173-194). Academic Press.

19. Liao Y, Tang YL, Hao W, 2017. Ketamine and International Regulations. The American Journal of Drug and Alcohol Abuse. Sep 3;43(5):495-504.

20. Li H, Liu Y, Zhou J, Liu S, Liu Y, Yang Y, Wang W, Che Y, Inam M, Guan L, 2023. The Protective Mechanism of a Novel Polysaccharide from Lactobacillus-Fermented Nostoc Commune Vauch. on Attenuating Cadmium-Induced Kidney Injury in Mice. International Journal of Biological Macromolecules. 31;226:1444-54.

21. Li H, Xu J, Liu Y, Ai S, Qin F, Li Z, Zhang H, Huang Z, 2011. Antioxidant and Moisture-Retention Activities of the Polysaccharide from Nostoc Commune. Carbohydrate Polymers. 1;83(4):1821-7.

22. Liu KM, Chuang SM, Long CY, Lee YL, Wang CC, Lu MC, Lin RJ, Lu JH, Jang MY, Wu WJ, Ho WT, 2015. Ketamine-Induced Ulcerative Cystitis and Bladder Apoptosis Involve Oxidative Stress Mediated by Mitochondria and the Endoplasmic Reticulum. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 15;309(4):F318-31.

23. Li Z, Guo M, 2018. Healthy Efficacy of *Nostoc Commune* Vaucher. Oncotarget., 3;9(18):14669.

24. Bahnamiri PJ, Moghaddam AH, Ranjbar M, Nazifi E, 2024, Effects of *Nostoc commune* extract on the cerebral oxidative and neuroinflammatory status in a mice model of schizophrenia. Biochemistry and Biophysics Reports. 1;37:101594..

25. Nazifi E, Wada N, Asano T, Nishiuchi T, Iwamuro Y, Chinaka S, Matsugo S, Sakamoto T, 2015. Characterization of the Chemical Diversity of Glycosylated Mycosporine-Like Amino Acids in the Terrestrial Cyanobacterium *Nostoc Commune*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 1;142:154-68.

26. Nowacka A, Borczyk M, 2019. Ketamine Applications Beyond Anesthesia–A Literature Review. European Journal of Pharmacology. 5;860:172547.

27. Quan Y, Yang S, Wan J, Su T, Zhang J, Wang Z, 2015. Optimization for the Extraction of Polysaccharides from Nostoc Commune and its Antioxidant and Antibacterial Activities. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 1;52:14-21.

28. Sadasivam N, Kim YJ, Radhakrishnan K, Kim DK, 2022. Oxidative Stress, Genomic Integrity, and Liver Diseases. Molecules. 15;27(10):3159

29. Shawer EE, Sabae SZ, El-Gamal AD, Elsaied HE, 2022. Characterization of Bioactive Compounds with Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity from Freshwater Cyanobacteria. Egyptian Journal of Chemistry. 1;65(9):723-35.

30. Sonani RR, Rastogi RP, Madamwar D, 2017. Natural Antioxidants from Algae: A Therapeutic Perspective. InAlgal Green Chemistry (pp. 91-120). Elsevier.

31. Venâncio C, Antunes L, Félix L, Rodrigues P, Summavielle T, Peixoto F,2013. Chronic Ketamine Administration Impairs Mitochondrial Complex I in the Rat Liver. Life Sciences. 6;93(12-14):464-70 .

32. Wada N, Sakamoto T, Matsugo S, 2015. Mycosporine-Like Amino Acids and their Derivatives as Natural Antioxidants. Antioxidants. 7;4(3):603-46.

33. Wai MS, Chan WM, Zhang AQ, Wu Y, Yew DT, 2012. Long-Term Ketamine and Ketamine Plus Alcohol Treatments Produced Damages in Liver and Kidney. Human & Experimental Toxicology.;31(9):877-86.

34. Wang Y, Liu J, Liu X, Zhang X, Xu Y, Leng F, Avwenagbiku MO, 2019. Kinetic Modeling of the Ultrasonic-Assisted Extraction of Polysaccharide from Nostoc Commune and Physicochemical Properties Analysis. International Journal of Biological Macromolecules. 1;128:421-8.

مقاله پژوهشی، صفحات۱۵-۱ DOI: 10.22034/jar.2024.8258.1947

Protective effects of Nostoc commune extract on ketamine-induced hepatotoxicity in male mice.

Hajizadeh Moghaddam A., Aghabozorgnezhad Khoshkroudi F., Khanjani Jelodar S. and Jahani Bahnamiri P.

Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran

Abstract

Ketamine, a phencyclidine derivative, induces oxidative stress in the liver by disrupting the redox equilibrium. The cyanobacterium Nostoc commune possesses notable antioxidant properties, making it a valuable resource in the treatment of various diseases. The objective of this study is to investigate the protective effects of Nostoc commune extract (NCE) against ketamine-induced toxicity in adult male mice. In this research study, a total of 40 adult male mice were used and divided into four groups: a control group, a ketamine group, and two treatment groups receiving different doses of NCE. All groups, except the control group, were injected with ketamine intraperitoneally at a dose of 20 mg/kg for a duration of 14 days. Following the ketamine injections, the treatment groups were administered NCE at two different doses: 70 and 150 mg/kg. The concentrations of various liver enzymes, including alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) were measured. The results showed that ketamine injection increased the concentrations of AST, ALT, and ALP. They decreased the levels of MDA, while also decreasing the activities of antioxidant enzymes CAT and SOD. While NCE in both doses decreased the concentration of AST, ALT, ALP, and MDA levels compared to the ketamine group. Also, only the higher dose of NCE increased the activity of CAT and SOD. This conclusion suggests that NCE likely has a moderating effect on antioxidant enzymes, which helps to inhibit oxidative stress. As a result, NCE shows potential in protecting against liver toxicity caused by ketamine.

Keywords*:* Ketamine, Nostoc commune, Oxidative stress, Liver enzymes