مقاله پژوهشی

اثر محافظتی ویتامین‌های E و C بر بافت کلیه در موش‌های صحرایی نر بالغ تحت استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف سدیم متا بی سولفیت

عبدالنبی پیروی[۱]، زهرا فیروزی[۲]، محمد حسن مشکی باف[۳*]

۱- گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
۳- گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۶/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: سدیم متا بی سولفیت به عنوان نگه دارنده در صنعت مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد که ممکن است دارای اثرات جانبی بر ارگان‌های بدن از جمله کلیه داشته باشد. دراین مطالعه تاثیر احتمالی سدیم متا بی سولفیت بر بافت کلیه و نقش محافظتی ویتامین‌های E و C به عنوان آنتی اکسیدان در پیشگیری از اثرات سوء این نگه دارنده غذایی بر بافت کلیه موش‌های صحرایی نر بالغ بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: ۴۸ سر موش نر بالغ ۲۰۰-۱۸۰ گرمی از نژاد ویستار به شش گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه‌های تجربی به مدت ۳۰ روز متوالی سدیم متا بی سولفیت ۵۲۰ mg/kg با توجه به وزن بدن از طریق گاواژ دریافت کردند. همچنین در این مدت گروه‌های تجربی ۲ و ۳ و ۴ علاوه بر سدیم متا بی سولفیت روزانه به ترتیب ۱۰۰ mg/kg ویتامین C و E و گروه تجربی ۴ روزانه ترکیبی از ۵۰ mg/kg ویتامین C و ۵۰mg/kg ویتامین E از طریق گاواژ دریافت نمودند. گروه کنترل فقط آب و غذا و گروه شم علاوه بر آب و غذا، حلال دارو دریافت نمودند. در انتها مقاطع بافت کلیه با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: در گروه تجربی ۱ سدیم بی سولفیت سبب آسیب به بافت کلیه شد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمار با ویتامین‌های C و E و یا ترکیب هر دو اثر جبرانی داشت و باعث رشد طبیعی بدن می گردد($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد اثرات محافظتی ویتامین‌های C و E در برابر عوارض ناشی از مصرف سدیم متا بی سولفیت بر بافت کلیه و رشد بدن برجسته است.

کلمات کلیدی: سدیم متابی سولفیت، ویتامین E، ویتامین C، بافت کلیه، موش‌های صحرایی

مقدمه

اعمال کلیه شامل تنظیم تعادل آب و الکترولیت‌ها، تعادل اسید و باز، اسمولاریته و غلظت الکترولیت‌ها در مایعات بدن، دفع فرآورده‌های زاید متابولیک و مواد شیمیایی خارجی، تنظیم فشار شریانی، ترشح هورمون‌ها و نوسازی گلوکز می‌باشد. تنظیم اسمولاریته بدن مهره‌داران توسط کلیه انجام می‌گردد. تشکیل ادرار در کلیه‌ها به طریق موضعی و هورمونی کنترل و تنظیم می‌شود (۱، ۲). بنابر این هرگونه عارضه بر بافت کلیه موجب اختلال در عملکرد کلیه و عوارض جانبی می گردد.

سدیم متا بی سولفیت یا سدیم پیروسولفیت که در سیستم نامگذاری IUPAC، برم ای سدیم متابی سولیفت نامیده می‌شود، یک ترکیب غیر آلی با فرمول شیمیایی $Na_2S_2O_5$ است. این ماده گاهی اوقات به عنوان دی سدیم نامیده می‌شود. سدیم متابی سولفیت یکی از مواد نگه دارنده است که در مواد غذایی جهت جلوگیری از رشد، کپک و تخمیر استفاده می‌شود (۳). در مجموع انسان‌ها به دو صورت اندوژن و اگزوژن در معرض سولفیت هستند. منبع سولفیت اگزوژن شامل غذاها، مشروبات الکلی و ترکیبات دارویی می‌باشد. ۵ نوع از نمک‌های سولفیت شامل سدیم متا بی سولفیت ($Na_2S_2O_5$)، پتاسیم متا بی سولفیت ($K_2S_2O_5$)، سدیم بی سولفیت ($NaHSO_3$)، پتاسیم سولفیت (K_2SO_3) و سدیم سولفیت (Na_2SO_3) به صورت متداول به عنوان نگه دارنده مواد غذایی استفاده می‌شوند (۴). سدیم متابی سولفیت به عنوان ضدعفونی کننده و عامل نگه دارنده در محصولات غذایی همچون آبلیمو، بیسکویت، شکلات، مربا، سوسیس و در بسیاری از نوشیدنی‌های الکلی و در صنعت

* **نویسنده مسئول: محمد حسن مشکی باف**، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، میدان ابن سینا، فسا، ایران
Email: meshkibaf2000@gmail.com

داروسازی استفاده می‌شود (۵). استرس اکسیداتیو ناشی از مواد افزودنی که به عنوان نگه دارنده مواد غذایی در کارخانجات و صنایع غذایی کشور مورد استفاده قرار می‌گیرند، سبب آسیب رسانی به بعضی از سلول‌ها و بافت‌های بدن میشود و عوارضی را از خود بر جای می‌گذارد. سدیم متا بی سولفیت مانند هر ماده افزودنی دیگر دارای عوارض و اثرات سوء سلامت بر بدن موجودات زنده می‌باشد. مصرف روزانه قابل قبول سدیم متا بی سولفیت برای هر کیلو گرم وزن بدن، ۰/۷ mg است. در واقع مصرف این مقدار سدیم متابی سولفیت عوارض جانبی نداشته و در کبد به وسیله اکسیداسیون به سولفات بی ضرر تبدیل شده و توسط ادرار دفع می‌گردد، ولی مصرف بیش از این مقدار باعث می‌شود کبد نتواند سولفیت اضافی را خنثی نماید و سبب آسیب به بافت های کبد وکلیه می‌گردد. با توجه به اثرات سوء استرس اکسیداتیو احتمالی سدیم متا بی سولفیت، لازم است عوامل ایجادکننده و محافظت کننده‌ی آن را شناخت.

ویتامین E یا آلفاتوکوفرول از جمله ترکیبات آنتی اکسیدان می‌باشد (۶). ویتامین E یک ویتامین محلول در چربی است که پاک کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشد. یک مولکول توکوفرول به عنوان یک آنتی اکسیدان شکننده زنجیره می‌تواند دو رادیکال پروکسیل لیپید و در نتیجه دو واکنش بالقوه زنجیرهای پراکسیداسیون را مهار کند (۷). ویتامین C نیز از جمله ترکیبات آنتی اکسیدان است، این ویتامین محلول در آب است و در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و رفع استرس اکسیداتیو نقش دارد و علاوه بر خنثی سازی رادیکال‌های آزاد موجب ورود مجدد آنتی اکسیدان‌های دیگر مانند ویتامین E و اورات‌ها به چرخه می‌شود (۸). با توجه به مطالب ارائه شده هدف از این مطالعه ضمن بررسی اثرات استرس اکسیداتیو ناشی از سدیم متا بی سولفیت بر بافت کلیه ، به طور همزمان اثر آنتی اکسیدانی و محافظتی ویتامین‌های E و C بر خصوصیت اکسیداتیو سدیم متا بی سولفیت در کاهش آسیب کلیوی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

داروی سدیم متا بی سولفیت تهیه شده از شرکت سیگما آلدریچ آمریکا ۵۲۰ mg/kg در ۱ cc آب مقطر به صورت گاواژ روزانه به حیوان داده شد. ویتامین C (شرکت داروسازی دارو پخش) به صورت محلول در آب مقطر داخل ویال ۵ سی سی ۵۰۰ میلی گرمی خریداری شد که مقدار لازم روزانه ویتامین C mg/kg ۱۰۰ با توجه به وزن هر موش توسط سرنگ انسولین برداشته و به حیوان خورانده شد. ویتامین E ساخت شرکت داروسازی اسوه به صورت محلول در روغن زیتون داخل ویال ۱ سی سی ۱۰۰ میلی گرمی که مقدار لازم با توجه به وزن هر موش توسط سرنگ انسولین برداشته و به حیوان به صورت گاواژ داده شد. در مطالعه تجربی حاضر، از ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در خانه حیوانات واقع در بیمارستان نمازی شیراز در شرایط استاندارد (۱۲ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی) و دما(۲ ±۲۲ درجه سانتی گراد)، آب، غذا و رطوبت مشابه نگه داری شدند. این حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه زیر تقسیم گردیدند:

گروه کنترل (C): فقط غذا و آب دریافت نمودند.

گروه شم (P): هم حجم محلول داده شده به گروه‌های تجربی، حلال دارو (آب مقطر) را به صورت دهانی دریافت نمودند.

گروه تجربی اول (E1): روزانه ۵۲۰ mg/kg سدیم متا بی سولفیت حل شده در آب مقطر به صورت گاواژ دریافت نمودند. (۹) .

گروه تجربی دوم (E2): روزانه ۵۲۰ mg/kg سدیم متا بی سولفیت حل شده در آب مقطر همراه با ۱۰۰ mg/kg ویتامین C به صورت محلول ۱۵ دقیقه قبل از دریافت سدیم متا بی سولفیت به صورت گاواژ دریافت نمودند.

گروه تجربی سوم (E3): روزانه ۵۲۰ mg/kg سدیم متا بی سولفیت حل شده در آب مقطر همراه با ۱۰۰ mg/kg ویتامین E به صورت محلول ۱۵در روغن زیتون دقیقه قبل از دریافت سدیم متا بی سولفیت به صورت گاواژ دریافت نمودند (۱۰).

گروه تجربی چهارم (E4): روزانه ۵۲۰ mg/kg سدیم متا بی سولفیت حل شده در آب مقطر همراه با ۵۰mg/kg ویتامین C و ۵۰ mg/kg ویتامین E به صورت محلول از طریق گاواژ دریافت می‌کردند.

مقدار ۱۰۰ mg/kg ویتامین C در ۱ سی سی آب مقطر حل نموده و همچنین مقدار ۱۰۰ mg/kg ویتامین E در ۱ سی سی روغن زیتون حل نموده و با توجه به وزن موش‌ها که ۲۰۰ گرم می‌باشد روزانه ۰/۲ سی سی ویتامین C و ۰/۲ سی سی ویتامین E به موش‌ها خورانده شد.

ویتامین‌های C و E در حدود ۱۵ دقیقه قبل از دریافت سدیم متا بی سولفیت (به صورت گاواژ) به حیوان داده می‌شد. در حین انجام این مطالعه کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات بر اساس

قانون حمایت از حیوانات (SPCA) که در سال ۲۰۰۶ در آمریکا به تصویب رسیده، مدنظر قرار گرفته شده است.

۱ - وزن بدن: وزن موش‌ها در روز اول و آخر آزمایش با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه گیری و ثبت گردید(جدول ۱)..

۲- بررسی بافتی کلیه: با ایجاد شکافی در قسمت تحتانی شکم، کلیه راست و چپ آن‌ها خارج گردید و برای بررسی بافت شناسی در محلول فرمالین قرار داده شد سپس بافت کلیه را از فرمالین خارج کرده و با پارافین قالب گیری و با استفاده از دستگاه میکروتوم (ساخت آلمان) مقاطع با ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی گردید(۱۱). لام‌های رنگ آمیزی شده با میکروسکوپ نوری (ساخت آمریکا/ Labomed)، از لحاظ مشخصات پاتولوژیستی توسط پاتالوژیستی که از نحوه گروه بندی اطلاع ندارد بررسی گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: برای تحلیل داده‌ها از برنامه نرم افزاری نسخه ۱۶ و برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه SPSS و تست دانکن استفاده شد. مقدار $p<0.05$ به عنوان سطح معنی دار آماری در نظر گرفته شد. میانگین و انحراف معیار داده‌ها محاسبه شدند.

نتایج

وزن بدن

میانگین رشد توده بدن در طول مدت مطالعه در گروه های مختلف نشان داد که گروه دریافت کننده سدیم متا بی سولفیت (گروه تجربی ۱) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل و شم تجربه نمود. میانگین افزایش وزن بدن در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش یافته اما نه به میزان افزایش در گروه های شم و کنترل. از طرفی میانگین رشد بدن در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۲ و ۳ از افزایش بیشتری برخوردار بود (جدول ۱). براساس داده‌های جدول گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل و شم دارای اختلاف معنادار می‌باشند که بر این اساس گروه تجربی ۱ دارای بیشترین اختلاف معنادار و در واقع کمترین وزن مربوط به این گروه است و گروه

جدول ۱- میانگین وزن بدن موش‌ها در گروه‌های تجربی دریافت کننده داروی سدیم متا بی سولفیت و ویتامین‌های C و E درمقایسه با گروه کنترل

گروه‌های مختلف		تعداد	وزن رت ها در ابتدای مطالعه (گرم)	وزن رت ها در پایان مطالعه (گرم)	اختلاف وزن پس از ۳۰ روز
کنترل±		۸	۱۹۴/۸±۲/۱	۲۹۱/۲۵±۱۱/۸۵ [c]	۹۷/۰۵
شم		۸	۲۰۱/۸±۵/۸۰	۲۹۸/۰۰±۱۲/۴۶[c]	۹۶/۵۰
تجربی ۱	(۵۲۰mg/kg/day) سدیم متا بی سولفیت	۸	۱۹۶/۷±۴/۴	۲۲۳/۸۷±۶/۹۶ [a]	۲۷/۴۷
تجربی ۲	(۵۲۰mg/kg/day) سدیم متا بی سولفیت (۱۰۰mg/kg/day) ویتامین C	۸	۱۹۵/۸±۹/۵	۲۲۶/۷۵±۱۲/۲۱ [ab]	۳۰/۸۵
تجربی ۳	(۵۲۰mg/kg/day) سدیم متا بی سولفیت (۱۰۰mg/kg/day) ویتامین E	۸	۱۹۴/۸±۲/۳۰	۲۳۸/۲۵±۱۲/۲۱ [ab]	۴۴/۰۵
تجربی ۴	(۵۲۰mg/kg/day)سدیم متا بی سولفیت (۱۰۰mg/kg/day)ویتامین (۱۰۰mg/kg/day)ویتامین E	۸	۱۹۸/۷±۷/۹	۲۵۷/۵۰±۶/۷۴ [b]	۵۸/۸۰

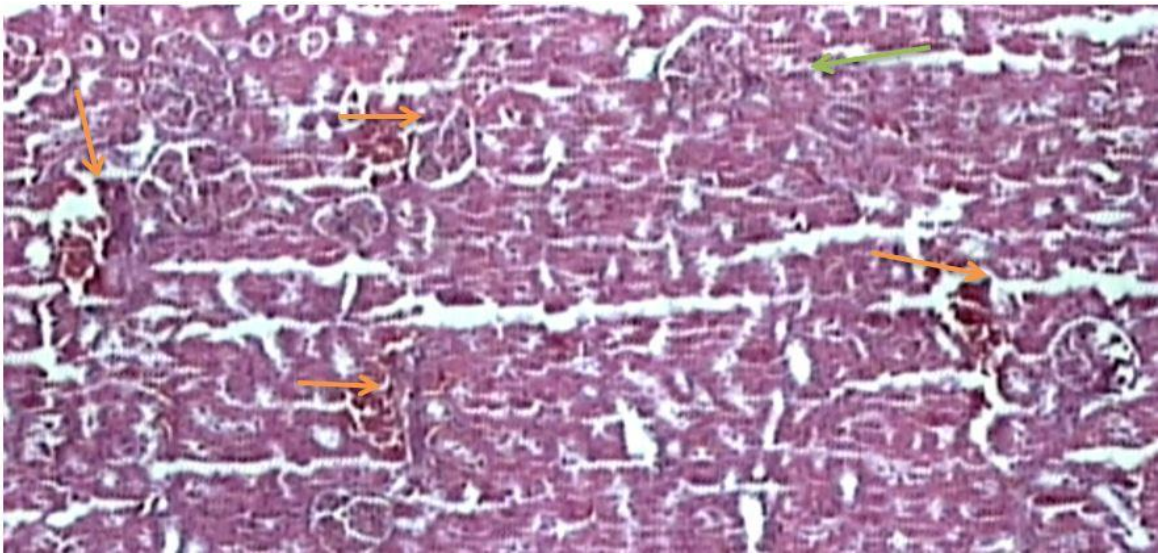
داده‌های جدول براساس میانگین ± خطای معیار میانگین ($\bar{x}$) آورده شده است.

گروه‌هایی که با حروف مختلف مشخص شده‌اند دارای اختلاف معنی دار در سطح $P \leq ۰/۰۵$ می‌باشند.

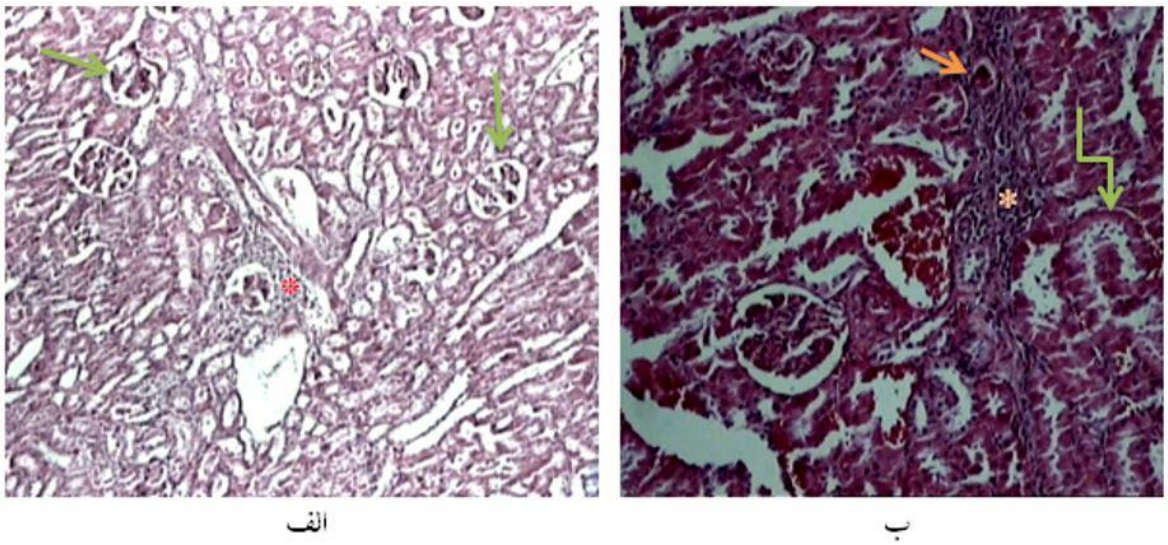
تجربی ۴ دارای کمترین اختلاف معنادار و در واقع بیشترین میزان وزن بدن مربوط به این گروه می‌باشد.

تغییرات بافتی

بررسی پاتولوژیکی صورت گرفته بر روی بافت کلیه در گروه های مختلف بیانگر آسیب بافتی شدید در گروه دریافت کننده سدیم متابی سولفیت در مقایسه با گروه کنترل و شاهد و سایر گروه های تجربی دیگر میباشد. به گونه‌ای که در تصاویر مشاهده میشود پر خونی و خون ریزی‌های بینابینی، چسبندگی پرده‌های احشایی و جداری کپسول بومن و همچنین اتساع کپسول بومن به دنبال آتروفی گلومرولار، آسیب و تخریب لوله‌های پروکسیمال و دیستال قابل رویت می‌باشد و همچنین تجمع سلول‌های تک هسته‌ای در بافت بینابینی کلیه و دژنراسیون منتشر و شدید

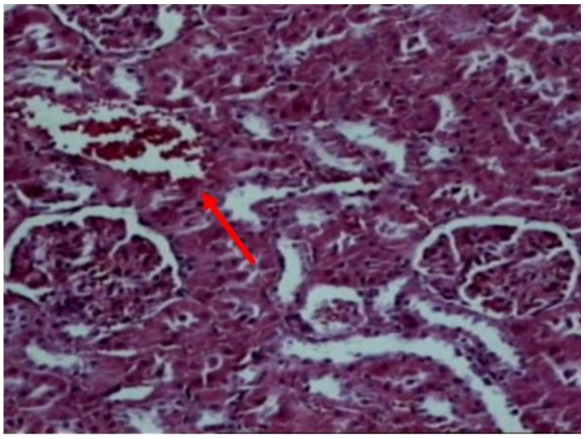


شکل ۱- تصویر فتومیکروگراف، مقطع عرضی بافت کلیه در گروه دریافت کننده سدیم متا بی سولفیت (گروه تجربی ۱). در تصویر فوق پرخونی و خونریزی های بینابینی(فلش نارنجی)، چسبندگی پرده های احشایی و جداره کپسول بومن(فلش سبز) و همچنین اتساع کپسول بومن به دنبال آتروفی گلوملار، آسیب و تخریب لوله های پروکسیمال و دیستال مشاهده میشود. رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین – ائوزین × ۴۰



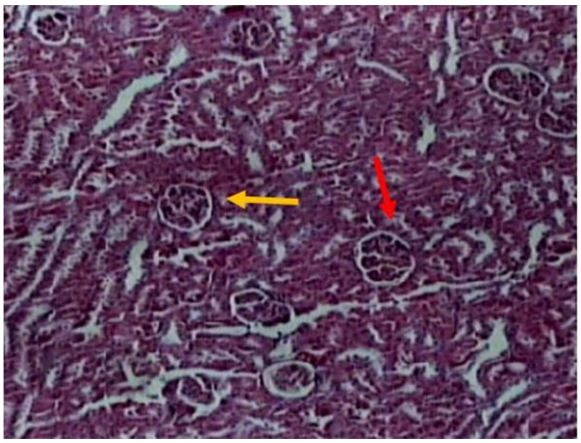
شکل ۲- تصویر فتومیکروگراف بافت کلیه در گروه دریافت کننده سدیم متا بی سولفیت(گروه تجربی ۱). تجمع سلول های تک هسته ای در بافت بینابینی کلیه (*) و دژنراسیون منتشر و شدید سلول های توبولی(فلش کج)، قطعه قطعه شدن و آتروفی شدید گلومرولی(فلش سبز) و وجود کست هیالین(فلش نارنجی) مشاهده میشود. رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین – ائوزین (الف) با بزرگنمایی × ۴۰ و (ب) بزرگنمایی ×۱۰۰

سلول‌های توبولی، قطعه قطعه شدن و آتروفی شدید گلومرولی و وجود کست هیالین به خوبی قابل تشخیص می‌باشد (شکل‌های ۱ و ۲). اما در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ که علاوه بر سدیم متا بی سولفیت، ویتامین های C و Eرا نیز دریافت نموده بودند از آسیب بافتی کاسته شده و فقط اندکی خون ریزی خفیف بینابینی در بافت کلیه مشاهده شد، شدت اتساع کپسول بومن، آتروفی گلومرولار، پر خونی و خون ریزی‌های بینابینی، آسیب و تخریب لوله‌های پروکسیمال و دیستال کاسته شده بود (شکل۳و۴). اما در بافت کلیه در گروه تجربی ۴ که علاوه بر سدیم متا بی سولفیت ترکیبی از ویتامین‌های E و C را به طور همزمان دریافت نموده بودند تغییر پاتولوژیکی خاصی به وضوح مشاهده نشد و نتایجی مشابه با گروه کنترل و شم حاصل شد.



شکل ۳- نتایج مربوط به مطالعات میکروسکوپی بافت کلیه در گروه دریافت کننده داروی سدیم متا بی سولفیت و ویتامین C (تجربی ۲). شکل فوق مقاطع عرضی بافت کلیه را در گروه تجربی ۲ نشان میدهد. در این گروه آسیب پاتولوژیک شدیدی مشاهده نشد و فقط اندکی خونریزی های خفیف بینابینی در بافت کلیه مشاهده شد(فلش قرمز). رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین – ائوزین × ۴۰

گروه دریافت کننده سدیم متابی سولفیت با دوز (۴٪) مشاهده گردید که در نتیجه تخریب ویتامین B1 توسط سدیم متا بی سولفیت گزارش شده است (۱۲). تیامین یا ویتامین B1، تأثیرات بسیار مهمی در سوختن قندها در بدن و عملکرد اعصاب دارد که در نتیجه تولید پیروات از واکنش های پی در پی مسیر گلیکولیز و تبدیل آن به استیل کولین و فعال نمودن چرخه کربس میباشد و یکی از مواردی است که سولفیت‌ها باعث اختلال در جذب آن میشود. سولفیت ها در بدن دارای عملکرد ضد ویتامینی میباشند و مصرف زیاد آن ها در کاهش سنتز و یا تخریب تیامین موثر است. در مطالعه ای که توسط Til و همکاران انجام گردید نشان دادند که غلظت بالای سولفیت ها در بدن منجر به Sulfite toxicity و در ادامه باعث تخریب تیامین و اختلال در متابولیسم



شکل ۴- نتایج مربوط به مطالعات میکروسکوپی بافت کلیه در گروه دریافت کننده داروی سدیم متا بی سولفیت و ویتامین E (تجربی ۳). شکل فوق مقاطع عرضی بافت کلیه را در گروه تجربی ۳ نشان میدهد در این گروه آسیب بافتی کاهش یافته بود و از شدت اتساع کپسول بومن(فلش قرمز)، آتروفی گلومرولار (فلش زرد)، پرخونی و خونریزی های بینابینی، آسیب و تخریب لوله های پروکسیمال و دیستال کاسته شده بود. رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین – ائوزین × ۴۰

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد، مصرف آب و غذای روزانه در گروه دریافت کننده سدیم متابی سولفیت کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد که ممکن است به دلیل کم تحرکی و کم اشتهایی این گروه در مقایسه با سایر گروه ها باشد. در مطالعه‌ای که توسط الکاد و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، کاهش معنی داری در میزان مصرف آب و غذای روزانه در کربوهیدرات ها میگردد(۱۳). سدیم متا بی سولفیت در موش‌های صحرایی نر و ماده سبب کاهش رشد حیوان و متعاقب آن وزن بدن می‌شود چرا که با مصرف زیاد سدیم متا بی سولفیت آنزیم سولفیت اکسیداز توانایی خنثی کردن مقدار اضافی سولفیت را نخواهد داشت و باعث تجمع سولفیت سمی در بدن و اختلال در عملکرد عمومی بدن می گردد (۱۴). مقایسه گروه‌های مختلف در این مطالعه نشان داد که تجویز ویتامین‌های E و C موجب

کاهش اثرات مخرب سدیم متا بی سولفیت بر رشد عمومی موش‌ها می گردد.

مطالعات پاتولوژیکی بیانگر آسیب بافت کلیه در گروه دریافت کننده سدیم متابی سولفیت می‌باشد. به طوری که در بافت کلیه این گروه، آتروفی شدید گلومرولی و آسیب و تخریب لوله‌های پروکسیمال و دیستال مشاهده گردید. همچنین به دنبال آتروفی گلومرولار، اتساع کپسول بومن و تجمع سلول‌های تک هسته‌ای در بافت بینابینی کلیه و دژنراسیون منتشر و شدید سلول‌های توبولی، چسبندگی پرده‌های احشایی و جداری کپسول بومن، پر خونی و خون ریزی‌های بینابینی دیده شد. اما در گروه‌های دریافت کننده ویتامین‌های E و C میزان آسیب‌های وارده کاهش یافته بود.

در مطالعه‌ای که توسط Ji و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام شد مشخص گردید که میزان سولفیت‌ها در سرم افراد عادی بسیار پایین می‌باشد(حدود ۵-۴ nmol/L) (۱۵). که احتمالاً ناشی از وجود سولفیت اکسیداز می‌باشد (۱۶) که یک آنزیم موجود در میتوکندری هست، که SO_3^{2-} را به SO_4^{2-} کاتالیز و اکسید می‌کند تا در نهایت از طریق ادرار دفع شود (۱۷). از طرفی مطالعات نشان داده است، سولفیتی که به دنبال استفاده از مواد غذایی و دارویی وارد بدن می‌شود باعث بالا رفتن مقدار این ماده در بدن شده و در نتیجه آنزیم سولفیت اکسیداز، توانایی خنثی کردن مقدار اضافی سولفیت وارد شده به بدن را نخواهد داشت؛ لذا موجبات آسیب بافتی را فراهم می‌کند (۱۸ و ۱۹).

در مطالعه‌ای نشان داده شده است که، سولفیت یک عامل احیا کننده می‌باشد و می‌تواند به وسیله یک یا دو الکترون اکسیداتیو به شکل رادیکال سولفیت و سولفات درآید و سمیت با سولفیت ممکن است به وسیله دیالیز صفاقی زمانی که غلظت سدیم متابی سولفیت ۵ الی ۱۲ درصد باشد رخ میدهد (۲۱-۲۰). رادیکال‌های سولفیت می‌توانند با مولکول‌های اکسیژن واکنش دهند و به شکل سولفیت پراکسیل و رادیکال سولفات درآیند (۲۰). رادیکال‌های مرکزی سولفور می‌توانند با لیپیدها واکنش دهند و منجر به پراکسیداسیون لیپیدها شوند (۲۲). برخی از مطالعات نشان می‌دهد که سدیم متابی سولفیت منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در کلیه و کبد می‌شود (۱۲). بنابراین با توجه به این که سدیم متابی سولفیت سبب پراکسیداسیون غشاء سلول‌ها می‌شود؛ لذا تخریب و آسیب بافت‌ها از جمله بافت کلیه در گروه دریافت کننده سدیم متابی سولفیت قابل توجیه می‌باشد. همچنین برخی از مطالعات حیوانی نشان داده است که سدیم متابی سولفیت به صورت وابسته به دوز موجب افزایش لیپید پروکسیداز می‌شود. لیپید پروکسیداسیون می‌تواند یک نقش مهم در سمیت سولفیت ها داشته باشد و سبب آسیب به بافت شود (۲۳).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ویتامین‌های E و C سبب افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و کاهش عوارض ناشی از رادیکال‌های آزاد می گردد. ویتامین C آنتی اکسیدانی با وزن مولکولی پایین است که گونه‌های فعال اکسیژن را از طریق انتقال خیلی سریع الکترون هضم کرده و از پراکسیداسیون چربی جلوگیری می‌کند (۲۴). همچنین برخی از مطالعات نشان می‌دهد که ویتامین E با خاصیت ضد آلکیله کنندگی خود، از آسیب اسیدهای چرب غیر اشباع بافت‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون ممانعت کرده و باعث پایداری غشا سلول‌ها می‌شود (۲۵).

Wolf و همکاران در سال ۱۹۹۸ در پی تحقیقی اعلام کردند ویتامین E یا آلفاتوکوفرول یک آنتی اکسیدان محلول در چربی می‌باشد و رادیکال‌هایی مانند هیدروکسیل، پروهیدروکسیل، سوپراکسید را پاک سازی می‌کند. بدین ترتیب ویتامین E موجب محافظت غشای پلاسمایی و غشای اندامک‌ها از پراکسیداسیون توسط متابولیت‌های فعال اکسیژن می‌شود (۲۶). در مطالعه‌ای که توسط karabulut-Bulan و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی سمیت کلیوی ناشی از کادمیوم در رت انجام شد مشاهده کردند که تجویز ویتامین C با دوز ۲۵۰ mg/kg به مدت ۸ روز به طور معنی داری سطح لیپید پراکسیداسیون افزایش یافته به وسیله کادمیوم را کاهش می دهد و همچنین میزان گلوتاتیون را در کلیه افزایش داده است (۲۷). Ajith و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر ویتامین C و E را بر روی سمیت کلیوی سیس پلاتین نشان دادند که این دو ویتامین با اثر آنتی اکسیدانی می‌توانند اثر محافظتی بر روی نارسایی کلیوی داشته باشند (۲۸). Xu و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر آنتی اکسیدانی و محافظتی ویتامین C بر روی نارسایی کلیوی به دلیل مسمومیت با جیوه گزارش نمودند (۲۹). Sabik و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثرات حفاظتی ویتامین E و گیاه زنجبیل بر سمیت القا شده توسط سیکلوفسفامید در دستگاه تولید مثل موش‌های نر قبل از شروع

دوره شیمی درمانی را گزارش کردند (۳۰).
نتایج این تحقیق نشان داد که سدیم متابی سولفیت سبب آسیب بافت کلیه می‌گردد که به دنبال استفاده از ویتامین‌های E و C از میزان آسیب‌های وارده به بافت کلیه کاسته شد. از طرفی نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از هر دو نوع ویتامین‌های E و C به طور همزمان می‌تواند به صورت سینرژیسم عمل کرده و نقش مهارکنندگی و خنثی سازی اثرات نامطلوب ناشی از سدیم متا بی سولفیت را ایفا نماید.

تشکر و قدردانی

محققین از همکاری اساتید گروه بیوشیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز و گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی فسا قدردانی و تشکر می نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Boron WF, Boulpaep EL. Medical physiology. A cellular and molecular approach. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2009.
2. Le, Tao. First Aid for the USMLE Step 1 .single Edition. New York: McGraw-Hill Medical. (2013).
3. Asemi Z, Gol sorkhi F, Shakeri H, Mansoori G. Concentration of Sodium Meta-bisulphate in Lemon Juice in kashan, Ninth Congress of Iranian Nutrition; 4 - 7 September 2006; Tabriz - Iran: Tabriz university of medical sciences ;2006. P 9.
4. Gunnison AF, Jacobsen DW. Sulfite hypersensitivity: A critical review. CRC Crit. Rev. Toxicol. 1987;17(3): 185–214.
5. Kayraldiz A ,Topaktaş M. The in vivo genotoxic effects of sodium metabisulfite in bone marrow cells of rats. Russian Journal of Genetics. 2007;43(8):905-9.
6. Pascoe G, Olafs dottier F, Read D. Vitamin E protection against chemical induced cell injury. Maintenance of cellular protein thiols as a cytoprotective mechanism. Arch. Biochem. Biophys. 1987; 256:150–158.
7. John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J Nutr Biochem. 2001;12(9):500– 504.
8. Aldana L, Tsutsumi V, Craigmill A, Silveira MI, De Mejia EG. Tocopherol modulates liver toxicity of the prethroid cypermethrin. Toxicol Lett. 2001;125(1-3):107–116.
9.Adebayo OL, Adenuga GA. Oxidative damage on the testes of adult rats by sodium metabisulfite (MBS). Int. J. Biol. Chem. Sci. 2012;6(2): 738-744.
10. Hosseini A, zare S, Ghaderi pakdel F, Ahmadi A. Effects of Vitamin E and Ginseng Extract on Fertility Changes Induced by Cyclophosphamide in Rats, Journal of Reproduction & Infertility. 2010;11(4):227-237.
11. Poosti I, Adib moradi M, Fazyly A, Comparative Histology. Eighth ed. Tehran: Institute of Tehran University Press; 2012. P.229-244.
12. El Kad zahra, F, Bénali AI, Bénali M, Belbraouet S. Effect of Sodium Metabisulfite on Blood Metabolic Status of WistarRats. Food and Nutrition Sciences. 2014;5(5): 1529-1537.
13. Til HP., Feron VJ. De Groot AP. The Toxicity of Sulphite. II. Short- and Long-Term Feeding Studies in Pigs. Food and Cosmetics Toxicology. 1972;10(3), 463-473.
14. Til HP. Feron VJ. De Groot AP. Toxicity of Sulfite. I. Long Term Feeding and Multigeneration Studies in Rats. Food and Cosmetics Toxicology. 1972;10(3): 291-310.
15. Ji Savon SR, Jacobsen DW. Determination of total serum sulfite by HPLC with fluorescence detection. Clin Chem. 1995;41(6): 897–903.
16. Cabre F, Marin C, Cascante M, Canela EI. Occurrence and comparison of sulfite oxidase activity in mammalian tissues. Biochem. Med. Metab. Biol. 1990;43(7):159–162.
17. Tejnorova I. Sulfite oxidase activity in liver and kidney tissue in five laboratory animal species. Toxicol Appl Pharmacol. 1978; 44:251–256.
18. Dalton-Bunnow MF. Review of sulfite sensitivity. Am J Hosp Pharm. 1985.42(10):2220-2226.

19. Akdogan I, Kocamaz E, Kucukatay V, Yonguc NG, Ozdemir MB, Murk W. Hippocampal neuron number loss in rats exposed to ingested sulfite. Toxicol Ind Health. 2011;27(9):771-8.
20. Mottley C, Mason RP. Sulfate anion free radical formation by the peroxidation of (Bi)sulfite and its reaction with hydroxyl radical scavengers. Arch Biochem Biophys. 1988; 267(2):681–689.
21. MacPherson RD. Pharmaceutics for the anaesthetist. Anaesthesia. 2008; 56(10): 965–979.
22. Southerland WM, Akogyeram CO, Toghrol F, Sloan L, Scherrer R. Interaction of bisulfite with unsaturated fatty acids. J. Toxicol Environ Health. 1982;10: 479–491.
23. Ozturk N, Derin N, Akpinar D, Agar A, Aslan M. Dose-dependent effect of nutritional sulfite intake on visual evoked potentials and lipid peroxidation. Neurotoxicol Teratol. 2011;33(2):54-244.
24. Flora SJS, Tandon SK. Prevention and therapeutic effects of thiamin, ascorbic acid and their combination in lead intoxication. Acta Pharm Toxicol. 1986; 58(5): 374-8.
25.Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. Vitamin E: protective role of a Janus molecule. FASEB J. 2001;15 (13):2314-25.
26. Wolf R, Wolf D, Ruocco V. Vitamin E: the radical protector. J Eur Acad Dermatol Venereol. 1998;10(4):103-17.
27. Karabulut-Bulan O, Bolkent S, Yanardag R, Bilgin-Sokmen B. The role of vitamin C, vitamin E, and selenium on cadmium-induced renal toxicity of rats. Drug Chemistry and Toxicology. 2008;31(4): 413-426.
28. Ajith TA, Abhishek G, Roshny D, Sudheesh NP. Co-supplementation of single and multi doses of vitamins C and E ameliorates cisplatininduced acute renal failure in mice. Experimental Toxicology and Pathology. 2009; 61(6): 565-571.
29. Xu Z, Yang J, Yu J, Yin Z, Sun W, Li J . Effects of BSO, GSH, Vit-C and DMPS on the nephrotoxicity of mercury. Toxicological Indian Health. 2007; 23(7): 403-410.
30. Sabik LME, Abd El-Rahman SS. Alpha-tocopherol and ginger are protective on Cyclophosphamideinduced gonadal toxicity in adult male albino rats. Basic Appl Pathol. 2009;2(1):21-9.

Original Article

The Protective Effects of Vitamins C and E on The Oxidative Stress Induced by Sodium Metabisulfite on The Kidney Tissue in Adult Rats

Peyravi A [1], Zahra Firouzi[2], Meshkibaf MH [3*]

1- Department of Biochemistry, School of Public Science, Fars Science and Research Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2- Student's Research Committee, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
2- Department of Clinical Biochemistry, Fasa University of Medical sciences, Fasa, Iran

Received: 26 Sep 2015 Accepted: 11 Feb 2016

Abstract

Background & Objective: Sodium metabisulfite which is used as a food preservative in the food industry, has adverse effects on body organs such as kidney and body grouth rate. In this research we have studied the protective effect of Vitamin C and E as antioxidants, on the kidney tissue damage after the consumption of Sodium metabisulfite.

Materials & methods: Forty-eight Adult male Wistar rats of 150-200 grams were divided into 6 groups of 8 each. Rats in the experimental groups received Sodium metabisulfite (520 mg / kg body weight) by gavage feeding for 30 consecutive days. Also during this period, the experimental groups 2 and 3 received a daily dose of 100 mg / kg vitamins C and E, Respectively. The experimental group 4 received 50 mg / kg vitamin C plus 50 mg / kg of vitamin E by the same root. Control group received only normal diet and water. The placebo received vehicle (drug solvent) as well as normal diet and water. At the end of the exprimental period the body growth rate was measured between the groups. The histhopatological examination was performed on the kidney tissue sections. by light microscope

Results: The results showed sodium metabisulfite in daily dietary *could lead to the* kidney tissue damage and reduced body weight in rats ($p < 0.05$). However, vitamins C and E can reduce the kidney tissue damage and allow a normal growth weight ($p < 0.05$).

Conclusion: With this study we could conclude that the antioxidant effect of that vitamins C and E have a protective effect on renal damage induced by sodium metabisulfite consumption.

Keywords: Sodium Metabisulfite; Vitamin E; Vitamin C; Kidney; Rats

***Corresponding author: Mohammad Hassan Meshkibaf,** Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Fasa University of Medical sciences, Ebne-sina square, Fasa, Iran.
Email: meshkibaf2000@gmail.com

.