Hepatoprotective effects of caffeic acid in D-galactose-induced aging in mice: investigation of antioxidant mechanisms

Mir-Mahdi Hosseini[1], Hossein Kalarestaghi[2], Ramin Salimnejad[2]*

1. School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
2. Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

Corresponding author e-mail: R.salimnegad67@gmail.com

Abstract

Background and Objective: The liver is a complex metabolic organ that maintains body homeostasis. Oxidative stress caused by aging is an important risk factor in the development of chronic liver diseases. This study aimed to investigate the effect of caffeic acid on oxidative damage caused by aging in mice.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 male mice were randomly divided into 5 groups (n=8): 1) control (Con); 2) Sham; 3) caffeic acid (CA), 4) aging (Ag), and 5) aging + caffeic acid (Ag + CA). The aging model was induced through daily intraperitoneal (i.p.) injections of D-galactose (300 mg/kg) for 6 weeks. Caffeic acid (60 mg/kg, i.p.) was injected daily for 6 weeks. The mice were anesthetized 24 hours after the last injection and the liver was removed immediately. Then, oxidative stress factors (malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and total antioxidant capacity (TAC)) were investigated by One way ANOVA and Tukey.

Results: The results showed that D-galactose-induced aging significantly increases the level of MDA and also decreases the level of SOD, GPx, and TAC in the liver compared to the control and sham groups ($P<0.05$). Treatment with caffeic acid in the Ag + CA group significantly decreased MDA levels and improved the activity of SOD, GPx, and TAC ($P<0.05$).

Conclusion: The results showed that caffeic acid reduces lipid peroxidation and improves the liver antioxidant enzyme function.

Keywords: Caffeic acid, Aging, Liver, D-galactose, Lipid peroxidation

Received: Oct 27, 2024 **Revised:** Dec 11, 2024 **Accepted:** Dec 18, 2024

How to cite this article: Hosseini MM, Kalarestaghi H, Salimnejad R. Hepatoprotective effects of caffeic acid in D-galactose-induced aging in mice: investigation of antioxidant mechanisms. Daneshvar Medicine 2024; 32(5):1-10. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.19740.1560

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

اثرات محافظت کبدی کافئیک اسید در پیری القا شده با دی-گالاکتوز در موش‌های سوری: بررسی مکانیسم های آنتی اکسیدانی

میرمهدی حسینی[۱]، حسین کلارستاقی[۲]، رامین سلیم نژاد[۲]*

۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
۲. گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

*نویسنده مسئول: رامین سلیم نژاد **Email: R.salimnegad67@gmail.com**

چکیده

مقدمه و هدف: کبد یک اندام متابولیکی پیچیده جهت حفظ هموستاز بدن است. استرس اکسیداتیو ناشی از پیری یک ریسک فاکتور مهم در ایجاد بیماری‌های مزمن کبدی می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی اثر کافئیک اسید در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از پیری در موش‌های سوری می‌باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ٤٠ سر موش سوری نر به طور تصادفی به ٥ گروه ٨ تایی شامل: ١- کنترل (Con)؛ ٢- شم (Sham) ؛ ٣- کافئیک اسید (CA) ٤- پیری (Ag) و ٥- پیری + کافئیک اسید (Ag + CA) تقسیم شدند. پیری با تزریق دی-گالاکتوز (٣٠٠ میلی گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) روزانه به مدت ٦ هفته ایجاد شد. کافئیک اسید (٦٠ میلی گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) روزانه به مدت ٦ هفته تزریق شد. ٢٤ ساعت پس از آخرین تزریق موش‌ها بیهوش شده و بلافاصله کبد خارج گردید. سپس تغییرات فاکتورهای استرس اکسیداتیو (مالون دی آلدئید (MDA)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC)) با آزمون واریانس یک راهه و توکی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که پیری القا شده با دی-گالاکتوز به طور معنی‌داری باعث افزایش سطح MDA و کاهش سطح SOD، GPx و TAC کبد نسبت به گروه کنترل و شم می‌شود ($P<0.05$). درمان با کافئیک اسید در گروه Ag + CA به طور معناداری باعث کاهش سطح MDA و بهبود فعالیت SOD، GPx و TAC گردید ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که کافئیک اسید باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بافت کبد می‌گردد.

واژه های کلیدی: کافئیک اسید، پیری، کبد، دی-گالاکتوز، پراکسیداسیون لیپیدی

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۸/۰۶
اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۰۹/۲۱
پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۸

مقدمه

کبد یک اندام متابولیکی پیچیده است که در حفظ هموستاز کل بدن نقش مهمی دارد. کبد این فرایند را از طریق تنظیم متابولیسم انرژی، پاکسازی اندوبیوتیک و زنوبیوتیک‌ها و بیوسنتز مولکول‌های ضروری انجام می‌دهد (۱). روند پیری سبب ایجاد تغییرات تدریجی ساختاری و عملکردی در بافت کبد می‌شود. مشخص شده است که با افزایش سن میزان حجم کبد، جریان خون کبدی و فعالیت متابولیکی کبد کاهش می‌یابد. پیری در کبد سبب کاهش میتوکندری، کاهش بیان ژن‌های دخیل در استرس اکسیداتیو مانند سیتوکروم c،کاهش طول تلومر سلول‌های کبدی و همچنین کاهش تکثیر سلولی و آپوپتوز می‌شود (۱، ۲). مطالعات اخیر بیان کرده‌اند که با افزایش سن، محصولات نهایی گلیکوزیشن پیشرفته (AGEs) در سرم و بافت‌های حیوانات و انسان تجمع یافته و با قرار گرفتن طولانی مدت در معرض استرس اکسیداتیو و التهاب به طور قابل توجهی امکان پیشرفت بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) را به استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH)، فیبروز، سیروز و در نهایت کارسینوم کبدی افزایش می‌دهد. بنابراین، درک مکانیسم بیماری‌های کبدی مرتبط با سن از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۱،۳).

باتوجه به محدودیت‌های موجود در مطالعات مربوط به پیری در انسان، محققین به دنبال استفاده از مدل‌های حیوانی جهت بررسی اثرات پیری بر ارگان‌های مختلف و راه‌های درمانی مناسب هستند. یکی از مدل‌های مورد تایید در سال‌های اخیر پیری القا شده با دی-گالاکتوز است (٤). دی-گالاکتوز یک آلدوهگزوز است، یک قند کاهنده که به طور طبیعی در بدن وجود دارد و همچنین بسیاری از غذاها از جمله لبنیات، پکتین برخی میوه‌ها (مانند آلو، گیلاس، کیوی) و برخی سبزیجات حاوی دی-گالاکتوز می‌باشند (۱، ۵). مطالعات گزارش کرده‌اند تجویز بیش از حد دی-گالاکتوز سبب افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شود که متعاقباً منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب سلول‌های کبدی می‌گردد (٦). در این راستا Saleh و همکاران در سال ۲۰۱۹، نشان داده اند پیری القا شده با دی-گالاکتوز سبب افزایش سطح لیپیدپراکسیداسیون و نیتریک اکساید و همچنین کاهش بیان Nrf-2 در بافت کبد می‌شود (۷).

مطالعات گذشته بیان کرده‌اند که آنتی اکسیدان‌ها رادیکال‌های آزاد ایجاد شده طی پراکسیداسیون لیپیدی را از بین می‌برد و از سلول و بافت در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۸). در این رابطه نشان داده‌اند استفاده از آنتی اکسیدان‌های مانند کورکومین[1]، رسوراترول[2]، کافئین، اسید کلروژنیک[3]، کوئرستین[4]، سیلیمارین[5] و نارینژنین[6] می‌تواند با کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از کبد در برابر آسیب‌های مختلف محافظت نمایید (۸-۱۱).

کافئیک اسید، یک ترکیب متابولیت است که در قهوه، روغن زیتون، کلم و غیره وجود دارد (۱۲). مطالعات نشان داده‌اند تجویز کافئیک اسید با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی از کبد در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند (۱۳). همچنین خوشدل و همکاران نشان داده‌اند که تجویز کافئیک اسید می‌تواند از اختلالات باروری ناشی از پیری در موش‌های سوری جلوگیری کند (۵). در مطالعه حاضر، اثرات کافئیک اسید در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از پیری القا شده با دی-گالاکتوز در موش‌های سوری ارزیابی گردید.

1 Curcumin
2 Resveratrol
3 Chlorogenic acid
4 Quercetin
5 Silymarin
6 Naringenin

مواد و روش‌ها

حیوانات و طرح مطالعه

در این مطالعه تجربی (Experimental study)، ٤٠ سر موش نر بالغ (balb/c) از موسسه رویان تهران تهیه و پس از سازگاری با شرایط محیط حیوان خانه اردبیل (به مدت ١ هفته) به طور تصادفی به ٥ گروه ٨ تایی شامل: کنترل (Con)؛ ٢) شم (Sham) ؛ ٣) کافئیک اسید (CA) ٤) پیری (Ag) و ٥) پیری + کافئیک اسید (Ag + CA) تقسیم شدند. حیوانات در طول مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و کلیه مراحل کار با حیوانات بر اساس تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (IR.ARUMS.AEC.1401.036) انجام شد. جهت القای پیری از تزریق روزانه دی-گالاکتوز با دوز٣٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت ٦ هفته استفاده شد (٧). کافئیک اسید نیز با دوز٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و روزانه به مدت ٦ هفته تزریق شد (١٤). دی-گالاکتوز در نرمال سالین و کافئیک اسید در الکل ٧ درصد رقیق شده با نرمال سالین حل گردید. در گروه شم نیز حلال بصورت داخل صفاقی روزانه به مدت ٦ هفته تزریق شد. در طول مطالعه مرگ و میر در هیچ یک از گروه‌های مورد بررسی وجود نداشت.

نمونه برداری

یک روز پس از آخرین تزریق، موش‌ها با کتامین (٥٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (١٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و در شرایط استریل حفره شکم باز شد (٢). سپس بافت کبد جهت اندازه‌گیری فاکتورهای استرس اکسیداتیو (مالون دی آلدئید (MDA)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC)) بلافاصله خارج و تا زمان آزمایش در دمای منفی ٨٠ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تهیه لیزات بافتی

ابتدا ٢٠٠ میلی‌گرم از بافت کبد قطعه‌قطعه شده و در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس به میزان ٢ میلی‌لیتر، به آن بافر هموژنیزاسیون (تریس بافر) اضافه و با استفاده از هموژنایزر به مدت ٢ دقیقه و ١٠٠٠٠ دور بر دقیقه هموژنیزه شد. سپس سوسپانسیون بدست آمده با سرعت ١٢٠٠٠دور در دقیقه به مدت ٢٠ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول همگن حاصل جهت بررسی فاکتورهای استرس اکسیداتیو استفاده شد (١٥).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی

سطح MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی و بر اساس روش توصیف شده توسط Mihara & Uchiyamaانجام شد. بطور خلاصه ٤٠٠ میکرولیتر از لیزات بافتی با ٤٠٠ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید حل و سانتریفیوژ شد. سپس ٤٠٠ میکرولیتر مایع رویی با ٢٤٠٠ میکرولیتر اسید فسفریک (١ درصد) مخلوط شده و پس از ورتکس ١ میلی لیتر تیوباربیتوریک اسید (٠،٦٧ درصد) به لوله آزمایش اضافه شد. سپس به مدت ٦٠ دقیقه در بن ماری در حال جوش قرار داده شد و پس از سرد شدن ١٦٠٠ میکرولیتر -n- بوتانول به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ١ دقیقه ورتکس شد. بعد از سانتریفیوژ جذب نوری محلول رویی در طول موج ٥٣٢ نانومتر در برابر -n- بوتانول به عنوان بلانک اندازه‌گیری شد (١٦).

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز بافتی

اندازه‌گیری فعالیت SOD و GPx بافت کبد با استفاده از کیت ZellBio و طبق دستورالعمل کیت انجام شد (٢).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدان تام بافتی

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدان تام، از تست FRAP استفاده شد. برای تهیه معرف FRAP ابتدا میزان ٥٠ میلی‌لیتر از بافر استات با ٥ میلی‌لیتر از TPTZ محلول در اسید کلریدریک مخلوط شد و سپس ٥ میلی‌لیتر محلول کلرید آهن اضافه گردید. پس از تهیه معرف FRAP، ١،٥ میلی‌لیتر از این معرف به داخل کووت ریخته شد تا به دمای ٣٧ درجه برسد. جذب آن در طول موج ٥٩٣ نانومتر با استفاده از فوتومتر (Ependorf, Ecom-E6125) اندازه‌گیری شد. سپس ٥٠ میکرولیتر از هر کدام از هموژنات ها به محلول فوق اضافه گردید تا واکنش آغاز شود. پس از ١٠ دقیقه جذب آن در طول موج ٥٩٣ نانومتر اندازه‌گیری گردید. بعد از کسر جذب بلانک، مقدار FRAP به دست آمده با استفاده از استاندارد FeSO4.7H20 به واحد µmol FeSO4 equivalent/gram tissue بیان گردید (١٧).

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیرو- ویلک وهمگنی واریانس گروه‌ها از آزمون لون استفاده شد. به منظور بررسی تفاوت‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی عملیات آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

نتایج

آنالیزهای آماری

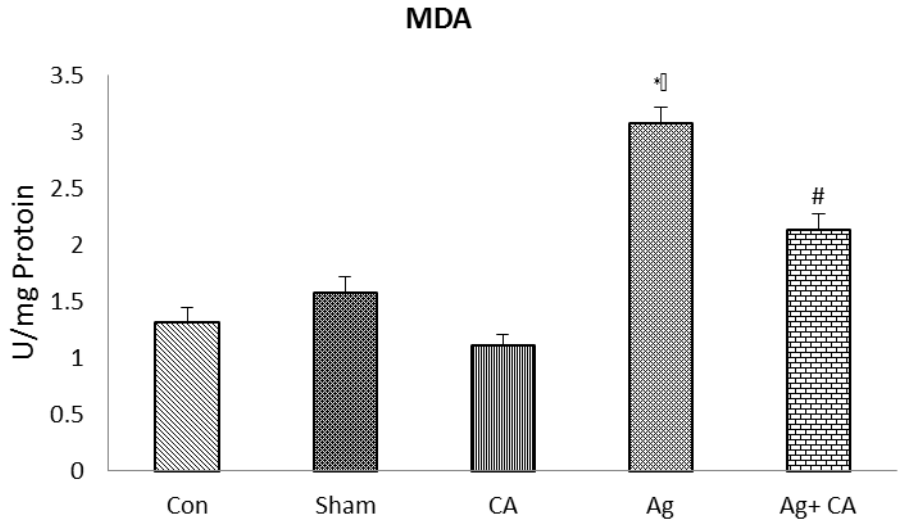
داده‌های بدست آمده از متغییرهای مختلف ابتدا با استفاده از آزمون کلوموگورف- اسمیرنوف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و پس از مشخص شدن توزیع نرمال داده‌ها (جدول ۱) قبل از انجام تست‌های آماری تساوی واریانس‌ها بررسی شد. در نهایت برای مقایسه بین گروهی از آزمون‌های ONE WAY ANOVA و TUKEY استفاده شد و اختلاف معنی دار در بین گروه های مورد مطالعه بررسی و بصورت مجزا در متغییرهای مورد مطالعه ارائه می گردد.

جدول ۱. نتایج تست نرمالیتی داده‌ها

متغییر	میانگین ± خطای استاندارد	P-value
MDA	۱/۸٤ ± ۰,۱۲	۰/۰۷۸
GPx	۰/۸۹ ± ۰,۰٤	۰/۰۵۷
SOD	۲/۰٤ ± ۰,۱	۰/۲
TAC	۱/۹۸ ± ۰,۱۲	۰/۹۹

اثر کافئیک اسید و القای پیری بر میزان لیپید پراکسیداسیون بافت کبد

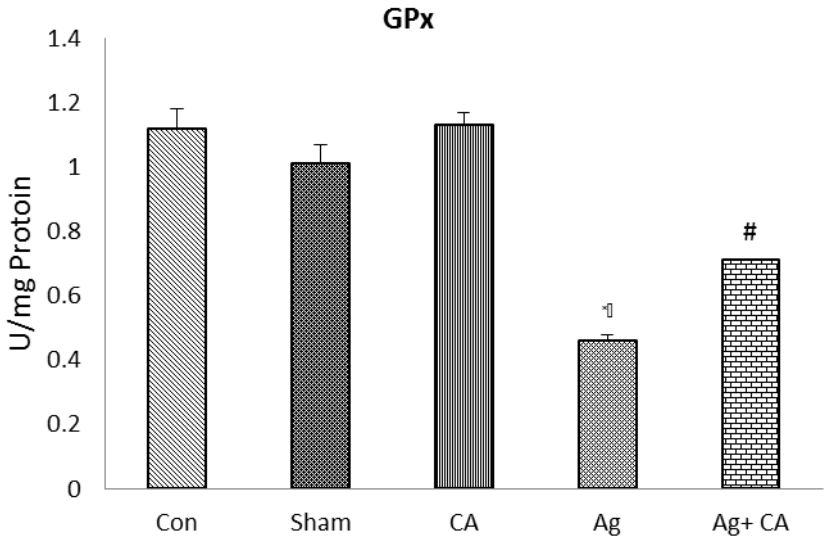
بررسی میزان تغییرات سطح MDA بافت کبد در گروه‌های مختلف (نمودار ۱) نشان داد که القای پیری باعث افزایش معناداری سطح MDA نسبت به گروه کنترل و شم می‌شود ($P<0.05$). درمان با کافئیک اسید در گروه Ag + CA باعث کاهش معنادار سطح MDA نسبت به گروه القای پیری شد($P<0.05$). همچنین مقایسه بین گروه کنترل و شم با گروه کافئیک اسید تغییر معناداری در سطح MDA در بافت کبد نشان نداد($P>0.05$) .



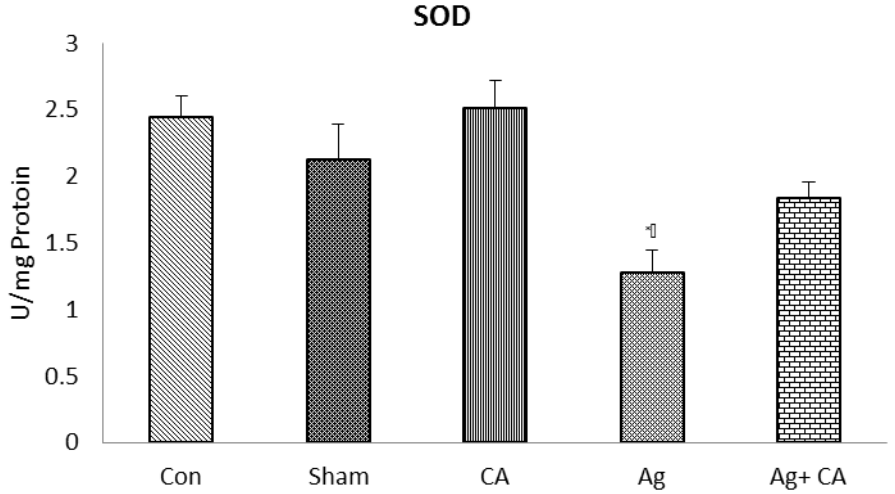
نمودار ۱. بررسی سطح لیپید پراکسیداسیون بافت کبد در بین گروه‌ها (میانگین ± خطای بار). * نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه کنترل (Con) با گروه پیری (Ag)؛ نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه شم (Sham) با گروه پیری و # نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه پیری + کافئیک اسید (Ag + CA)و پیری می‌باشند ($P<0.05$).

اثر کافئیک اسید و القای پیری بر میزان فعالیت سوپراکسیداز دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد

بررسی‌ها نشان داد که میانگین فعالیت GPx و SOD بافت کبد در گروه القای پیری به طور معناداری نسبت به گروه کنترل و شم کاهش دارد ($P<0.05$). درمان با کافئیک اسید در گروه Ag + CA هر چند تغییر معناداری در سطح SOD نسبت به گروهAg ایجاد نکرد ($P=0.26$) ولی به طور معناداری باعث افزایش فعالیت GPxشده بود ($P<0.05$). مقایسه فعالیت GPx و SOD بین گروه‌های کنترل و شم با گروه کافئیک اسید تغییر معناداری را نشان نداد (نمودار۲ و۳).



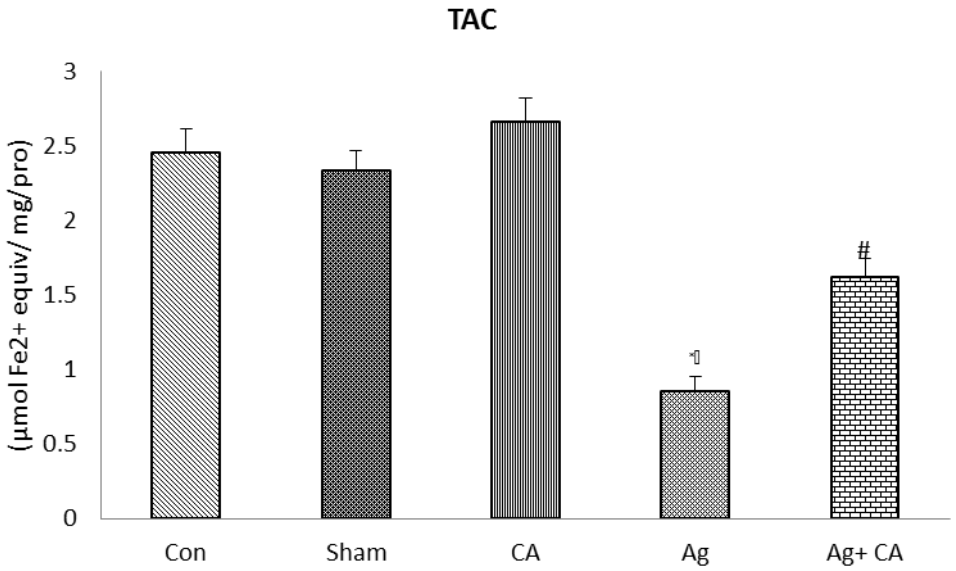
نمودار۲. بررسی سطح گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد در بین گروه‌ها (میانگین ± خطای بار). * نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه کنترل (Con) با گروه پیری (Ag)؛ نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه شم (Sham) با گروه پیری و # نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه پیری + کافئیک اسید (Ag + CA)و پیری می‌باشند ($P<0.05$).



نمودار۳. بررسی سطح سوپر اکسید دسموتاز بافت کبد در بین گروه ها (میانگین ± خطای بار). * نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه کنترل (Con) با گروه پیری (Ag)؛ نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه شم (Sham) با گروه پیری می‌باشند ($P<0.05$).

اثر کافئیک اسید و پیری بر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام بافت کبد

نتایج نشان داد که تجویز دی-گالاکتوز در گروه القای پیری به طور معناداری باعث کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام بافت کبد نسبت به گروه کنترل و شم می‌شود ($P<0.05$). درمان با کافئیک اسید در گروه Ag + CA به طور معناداری از کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام نسبت به گروه القای پیری جلوگیری کرد ($P<0.05$). همچنین بررسی‌های آماری تفاوت معناداری بین گروه کنترل و شم با گروه کافئیک اسید نشان نداد (نمودار٤).



نمودار ٤. بررسی سطح ظرفیت آنتی اکسیدانی تام بافت کبد در بین گروه‌ها (میانگین ± خطای بار). * نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه کنترل (Con) با گروه پیری (Ag)؛ نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه شم (Sham) با گروه پیری و # نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه پیری + کافئیک اسید (Ag + CA)و پیری می‌باشند ($P<0.05$).

بحث

مطالعه حاضر به بررسی اثرات کافئیک اسید بر سطح فاکتورهای استرس اکسیداتیو کبد موش‌های سوری در مدل پیری القا شده با دی-گالاکتوز پرداخته است. نتایج نشان داد که القای پیری به طور معناداری باعث افزایش سطح MDA بافت کبد نسبت به گروه کنترل و شم می‌شود. همچنین در گروه پیری سطح SOD، GPx و TAC به طور معناداری نسبت به گروه کنترل و شم کاهش داشت. درمان با کافئیک اسید در گروه Ag + CA باعث بهبودی در پارامترهای فوق نسبت به گروه القای پیری گردید.

باتوجه به افزایش جمعیت سالمند و اهمیت حفظ سلامت این افراد و کاهش هزینه‌های بهداشت و درمان لزوم بررسی اثر داروها و ترکیبات مختلف در کاهش اثرات بیماری‌های وابسطه به سن وجود دارد. به این منظور مدل مناسبی مورد نیاز است که قادر باشد تغییرات ایجاد شده در طی پیری را نشان دهد. در سال‌های اخیر در میان انواع مدل‌ها، مدل پیری القا شده با دی-گالاکتوز بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱، ۱۸). برای یک بزرگسال سالم، حداکثر دوز توصیه شده روزانه دی-گالاکتوز ۵۰ گرم است و بیشتر از آن می‌تواند در عرض ۸ ساعت پس از مصرف متابولیزه شده و از بدن دفع شود (۱). به طور معمول، دو آنزیم گالاکتوکیناز و یوریدیل ترانسفراز، دی-گالاکتوز را به گلوکز متابولیزه می‌کنند که وارد مسیر گلیکولیز کرده و یا به عنوان گلیکوژن در کبد، ماهیچه و بافت چربی ذخیره می‌شود. با این حال، در سطح بالایی، می‌تواند با آمین‌های آزاد اسیدهای آمینه واکنش داده و AGE[1] هایی را تشکیل دهد که در ایجاد و پیشرفت

1 Advanced Glycation End Products

بیماری‌های مختلف کبدی نقش دارند. علاوه بر این، در دوز بالا، دی-گالاکتوز می‌تواند تحت کاتالیز گالاکتوز اکسیداز به پراکسید هیدروژن اکسید شده و در نتیجه گونه‌های اکسیژن فعال (ROS[1]) تشکیل شود (۱،٤). دی-گالاکتوز همچنین می‌تواند توسط آلدوز ردوکتاز به گالاکتیتول تبدیل شود. تجمع گالاکتوز و متابولیت نهایی آن، گالاکتیتول باعث استرس اسمزی سلولی، تورم و اختلالات متابولیک و اختلال در عملکرد سلول و آسیب سلولی شده و همچنین باعث کاهش توان سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی می‌شود، که منجر به تجمع ROSها مانند پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسید و کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی می‌شود (۷،۱۹). افزایش سطح ROS باعث پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود که در غشاهای بیولوژیکی منجر به تشکیل MDA می‌شود. بنابراین، MDA به عنوان شاخص آسیب استرس اکسیداتیو استفاده می‌شود (۲). نتایج ما نشان داد که سطح MDA به طور قابل توجهی در کبد موش‌های تحت درمان با دی-گالاکتوز بالاتر از گروه کنترل و شم بود، که نشان می‌دهد درمان با دی-گالاکتوز می‌تواند باعث افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌ها گردد. این یافته همسو با نتایج حاصل از مطالعات قبلی بوده و آنها نیز اعلام کرده‌اند که پیری باعث افزایش سطح MDA در بافت کبد می‌شود (٤،۱۸).

همچنین بررسی سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نشان داد که پیری القا شده بادی-گالاکتوز باعث کاهش سطح SOD، GPx و TAC نسبت به گروه کنترل و شم می‌شود که این یافته ها با نتایج حاصل از مطالعات قبلی همسو می‌باشد. GPx به عنوان یک آنتی اکسیدان با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی، از سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. این آنزیم در روند کاهش هیدروپراکسیدهای لیپیدی و پراکسید هیدروژن از گلوتاتیون استفاده کرده و موجب کاهش آسیب اکسیداتیو می‌شود. کاهش در فعالیت GPx بیان کننده مصرف بیش از اندازه گلوتاتیون بوده و منعکس کننده افزایش سطح MDAبافتی و آسیب اکسیداتیو می‌باشد (۵،۱۱).

SOD نیز با جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد سوپراکسید مانع از آسیب سلول می‌شود. SOD یکی از مهمترین آنزیم‌های سیستم آنتی اکسیدانی بدن بوده و با تجزیه رادیکال‌های آنیونی سوپراکسید (اولین محصول رادیکالی اکسیژن) به H_2O_2 سمیت سوپراکسید را از بین برده و مانع از تشکیل رادیکال‌های آزاد ناشی از سوپراکسید می‌شود. کاهش فعالیت این آنزیم در اثر پیری القا شده با دی-گالاکتوز می‌تواند باعث آسیب بافتی در کبد گردد (٤،۲۰).

مطالعات گذشته بیان کرده‌اند که آنتی اکسیدان‌ها، رادیکال‌های آزاد ایجاد شده طی پراکسیداسیون لیپیدی را از بین می‌برد و از سلول و بافت در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند. در این رابطه مطالعات گذشته نشان داده‌اند استفاده از آنتی اکسیدان‌ها می‌تواند باعث کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گردد. Saleh و همکاران نشان داده‌اند که تجویز سولفورافان که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشند موجب افزایش فعالیت GSH، کاتالاز و کاهش سطح MDA می‌شود (۷). همچنین El-Far و همکاران در سال ۲۰۲٤ نشان داده‌اند که دیوسژنین (Diosgenin) می‌تواند از طریق کاهش سطح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند SOD و GPx از کبد در برابر آسیب بافتی القا شده توسط دی-گالاکتوز جلوگیری کند (۱۸).

در حالت طبیعی ساز و کارهای آنتی اکسیدانی در بدن و از جمله کبد حضور دارند و از بروز آسیب اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. در برخی از موارد مثل پیری، فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی کاهش یافته و از این طریق موجب آسیب بافت‌ها می‌گردد (۱،۸،۲۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز کافئیک اسید باعث کاهش سطح MDA، افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش آسیب بافتی در گروه Ag + CA نسبت به گروه پیری می‌شود. این یافته همسو با مطالعات قبلی می‌باشد. Zhang در سال ۲۰۲٤ نشان داده اند که تجویز کافئیک اسید از طریق کاهش آسیب اکسیداتیو و تجمع لیپید در سلول‌های کبدی بواسطه فعال کردن Nrf2 و هدف قرار دادن Keap1 از آسیب ناشی از کبد چرب جلوگیری می‌کند (۲۲). همچنین

1 Reactive Oxygen Species

Li و همکاران نشان داده‌اند که کافیئک اسید باعث کاهش سطح MDA و افزایش سطح SOD، GSH و کاتالاز در موش‌های صحرایی مدل فیبروز کبدی می‌شود (۲۳). در مطالعه حاضر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) نیز در بافت کبد مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که تجویز دی-گالاکتوز باعث کاهش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی در کبد موش‌ها می‌شود. تجویز کافئیک اسید به عنوان آنتی اکسیدان به همراه دی-گالاکتوز باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام گردید. این یافته با نتایج مطالعات گذشته مطابقت دارد و آنها نیز اعلام کرده‌اند که کافئیک اسید می‌تواند ظرفیت آنتی اکسیدانی تام را افزایش دهد (۵،۱۳). این عمل محافظتی کافئیک اسید می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی اکسیدان آن باشد. چراکه بر اساس نتایج مطالعات قبلی و نتایج مطالعه حاضر کافئیک اسید از طریق تغییر در سطح فاکتورهای استرس اکسیداتیو، کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و محافظت از غشای سلولی، همچنین بهبود سطح فاکتورهای آنتی اکسیدانی از جمله SOD، GPx و TAC که می‌تواند ناشی از تغییر در بیان ژن‌های دخیل در سنتز آنتی اکسیدان‌ها از جمله Nrf2 باشد، بواسطه جذب رادیکال‌های آزاد و همچنین جلوگیری از تشکیل ROS از سلول در برابر آسیب های اکسیداتیو محافظت می‌کند (۲٤).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد پیری القا شده با دی-گالاکتوز از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو سبب آسیب کبدی شده و درمان با کافئیک اسید با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از آسیب کبدی جلوگیری می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در قالب پایان نامه دانشجویی تامین هزینه شده است و نویسندگان از حمایت مالی معاونت پژوهشی کمال تشکر را دارند.

ملاحظات اخلاقی

کلیه مراحل کار با حیوانات بر اساس تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل با کد IR.ARUMS.AEC.1401.036 انجام شد.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

منابع

1. Azman KF, Safdar A, Zakaria R. D-galactose-induced liver aging model: Its underlying mechanisms and potential therapeutic interventions. Experimental Gerontology. 2021;150:111372.
2. Bahrami M, Sobhi P, Mahdizadeh F, Rahimi S, Khodaei L, Ojarudi M, et al. Examining Effects of Metformin and Coenzyme Q10 on Doxorubicin-Induced Oxidative Hepatotoxicity in Rats. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2024;34(233):1-14.
3. Gao J, Yu Z, Jing S, Jiang W, Liu C, Yu C, et al. Protective effect of Anwulignan against D-galactose-induced hepatic injury through activating p38 MAPK−Nrf2−HO-1 pathway in mice. Clinical Interventions in Aging. 2018:1859-69.
4. Habieb M, Mohamed M, El Gamal D, Hawas A, Mohamed T. Anti-aging effect of DL-β-hydroxybutyrate against hepatic cellular senescence induced by D-galactose or γ-irradiation via autophagic flux stimulation in male rats. Archives of Gerontology and Geriatrics. 2021;92:104288.
5. Khoshdel F, Golmohammadi MG, Dost MJ, Najafzade N, Salimnejad R. Impact of caffeic acid on the testicular damages in D-galactose-induced aging model in mice. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2022;25(10):1190-95.
6. Harman D. Free radical theory of aging: the "free radical" diseases. Age. 1984;7(4):111-31.
7. Saleh DO, Mansour DF, Hashad IM, Bakeer RM. Effects of sulforaphane on D-galactose-induced liver aging in rats: Role of keap-1/nrf-2 pathway. European Journal of Pharmacology. 2019;855:40-49.
8. Casas-Grajales S, Muriel P. Antioxidants in liver health. World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics. 2015;6(3):59-64.
9. Farzaei MH, Zobeiri M, Parvizi F, El-Senduny FF, Marmouzi I, Coy-Barrera E, et al. Curcumin in liver diseases: a systematic review of the cellular mechanisms of oxidative stress and clinical perspective. Nutrients. 2018;10(7):855-61.
10. Gillessen A, Schmidt HH-J. Silymarin as supportive treatment in liver diseases: a narrative review. Advances in Therapy. 2020;37(4):1279-01.
11. Khordad E, Alipour F, Pourabbas M, Mansouri S, Salimnejad R. Hepatoprotective impact of ghrelin against cyclophosphamide-induced toxicity in the male mice. Drug Research. 2021;71(07):407-12.
12. Magnani C, Isaac VLB, Correa MA, Salgado HRN. Caffeic acid: a review of its potential use in

medications and cosmetics. Analytical Methods. 2014;6(10):3203-10.
13. Kim HM, Kim Y, Lee ES, Huh JH, Chung CH. Caffeic acid ameliorates hepatic steatosis and reduces ER stress in high fat diet−induced obese mice by regulating autophagy. Nutrition. 2018;55:63-70.
14. Pari L, Prasath A. Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats. Chemico-Biological Interactions. 2008;173(2):77-83.
15. Dey S, Bindu S, Goyal M, Pal C, Alam A, Iqbal MS, et al. Impact of intravascular hemolysis in malaria on liver dysfunction: involvement of hepatic free heme overload, NF-κB activation, and neutrophil infiltration. Journal of Biological Chemistry. 2012;287(32):26630-46.
16. De Leon JAD, Borges CR. Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. Journal of Visualized Experiments. 2020;12(159):10.3791/61122.
17. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(7):3380.
18. El-Far AH, Elghaity MM, Mohamed SA, Noreldin AE, Elewa YH, Al Jaouni SK, et al. Diosgenin alleviates D-galactose-induced oxidative stress in rats' brain and liver targeting aging and apoptotic marker genes. Frontiers in Molecular Biosciences. 2024;11:1303379.
19. Omidkhoda SF, Mehri S, Heidari S, Hosseinzadeh H. Protective effects of crocin against hepatic damages in D-galactose aging model in rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2020;19(3):440-45.
20. Kazemi S, Asgary S, Moshtaghian J, Rafieian M, Adelnia A, Shamsi F. Liver-protective effects of hydroalcoholic extract of allium hirtifolium boiss. In rats with alloxan-induced diabetes mellitus. ARYA Atherosclerosis. 2010;6(1):11-15.
21. Firuzi O, Miri R, Tavakkoli M, Saso L. Antioxidant therapy: current status and future prospects. Current medicinal chemistry. 2011;18(25):3871-88.
22. Zhang J, Ouyang H, Gu X, Dong S, Lu B, Huang Z, et al. Caffeic acid ameliorates metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease via alleviating oxidative damage and lipid accumulation in hepatocytes through activating Nrf2 via targeting Keap1. Free Radical Biology and Medicine. 2024; 8(224):352-365.
23. Li M, Wang X-F, Shi J-J, Li Y-P, Yang N, Zhai S, et al. Caffeic acid phenethyl ester inhibits liver fibrosis in rats. World Journal of Gastroenterology. 2015;21(13):3893.
24. Pavlíková N. Caffeic acid and diseases−Mechanisms of action. International Journal of Molecular Sciences. 2022;24(1):588.