

بررسی اثرات وابسته به دوز نیکوتین بر استرس اکسیداتیو و هیستوپاتولوژی کبد در موش صحرایی نر

سیده مهدیه قریشی^۱، محمدرضا نصیرزاده^{۲*}، عارف دلخوش^۳

^۱گروه دامپزشکی، واحد علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، ^۲گروه فیزیولوژی، واحد علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، ^۳گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

تاریخ وصول: ۱۴۰۴/۰۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: افزایش روز افزون مصرف دخانیات در جوامع انسانی موجب بروز بیماری‌های گسترده ناشی از دریافت نیکوتین شده است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات وابسته به دوز نیکوتین بر استرس اکسیداتیو و هیستوپاتولوژی کبد در موش صحرایی نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی که در سال ۱۴۰۳ انجام شد، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی شامل؛ کنترل (تزریق روزانه داخل صفاقی نرمال سالین)، نیکوتین ۰/۲۵ و نیکوتین ۰/۵ (تزریق نیکوتین با دوز ۰/۲۵ و ۰/۵ به صورت داخل صفاقی) به مدت ۳۰ روز تقسیم‌بندی شدند. در پایان دوره مطالعه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و سطح مالون دی‌آلدئید (MDA) بافت کبد و آنزیم‌های ALT و AST سرم اندازه‌گیری شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج مطالعه نشان داد که تجویز نیکوتین موجب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های ALT، AST و سطح MDA و کاهش فعالیت SOD سرم گردید ($p < 0.05$). همچنین کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SOD، GPX و میزان TAC و افزایش سطح MDA بافت کبد گزارش گردید ($p < 0.05$). علاوه بر این، نتایج هیستولوژی کبد نشان داد که استعمال نیکوتین موجب احتقان و پرخونی، اینفیلتراسیون سلول‌های لنفاوی و التهاب، دژنراسانس سلولی و نکروز شده است.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که تجویز نیکوتین از طریق القا استرس اکسیداتیو منجر به افزایش سطح مالون دی‌آلدئید سرم و بافت کبد شده و با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب تغییرات بافتی و آسیب کبدی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، نیکوتین، کبد، موش صحرایی.

*نویسنده مسئول: محمدرضا نصیرزاده، تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تبریز، گروه فیزیولوژی

Email: mr.nasirzadeh@iaui.ir

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

نیکوتین یک آلکالوئید فعال و به شدت سمی در ساختمان تنباکو می باشد و طی فرآیند سیگار کشیدن ۸۰ تا ۹۰ درصد آن وارد جریان خون شده و به بافت کبد می رسد و متابولیزه می گردد، لذا سمیت آن برای بافت های مختلف بدن به اثبات رسیده است (۱). کبد به عنوان بزرگترین غده بدن محل اصلی سمیت زدایی از نیکوتین می باشد (۱). متابولیسم نیکوتین در کبد سبب تولید حجم فراوانی از رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) شده و این مواد خود سبب آسیب به میتوکندری ها و شبکه آندوپلاسمی هیاتوسیت ها می گردد (۲). بسیاری از شاخص ها نشان می دهند که اختلال عملکرد سلولی می تواند ناشی از تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن (ROS) باشد که از ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول ها فراتر می رود و در نتیجه باعث آسیب به اجزای سلولی، از جمله؛ DNA، پروتئین و لیپیدها می شود. با این حال، بافت هایی که در معرض عصاره دود سیگار قرار می گیرند، اثرات مضر متنوعی مرتبط با استرس اکسیداتیو، از جمله آسیب سلول های اندوتلیال، هیپرتروفی قلبی و فیبروز ریوی را نشان می دهند. ROS به وسیله آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی GSH و انواع آنتی اکسیدان های آنزیمی، از جمله؛ کاتالاز، SOD و گلوکاتیون پراکسیداز (GPx) حذف می شوند (۳ و ۴). همچنین پژوهش ها نشان می دهند استعمال سیگار و به تبع آن ورود نیکوتین به بدن موجب فعال شدن و افزایش سطوح سایتوکاین های محرک التهاب نظیر اینترلوکین ۱، ۶ و فاکتور

نکرودهنده تومور آلفا (TNF- α) شده و بستر آسیب سلولی را فراهم می کند (۵). محققین اثرات سرطان زایی کبدی ناشی از سیگار را نیز تشریح نموده اند. به طور مثال نقش استعمال سیگار در بروز یک نوع سرطان کبدی به نام هیاتوسلولار کارسینوما (HCC) به دلیل وجود مواد سمی وینیل کلراید و نیتروزامین از طریق سرکوب پروتئین p53 در سلول های کبد به اثبات رسیده است (۶). از دیدگاه بیوشیمیایی و نقش نیکوتین بر تغییرات کلینیکال پاتولوژیک می توان به اثر افزایش سطوح سرمی ALT، AST و ALP اشاره نمود که همگی حاکی از آسیب هیاتوسیتی ناشی از مصرف نیکوتین و آزادسازی آنزیم های مذکور می باشند (۷). قرار گرفتن جنین موش های صحرایی در معرض نیکوتین در پژوهش ها و بررسی بافت شناسی آن نشان داده است که تغییرات پاتولوژیک مانند التهاب پارانشیم و دژنراسیون سلولی در پارانشیم کبد ظاهر شده است (۸). تاکنون مطالعه ای که به صورت جامع نقش نیکوتین با دوزهای مختلف بر بافت و عملکرد آنزیمی کبد و نیز تعادل آنتی اکسیدانی آن را مورد ارزیابی قرار دهد مغفول مانده است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات وابسته به دوز نیکوتین بر استرس اکسیداتیو و هیستوپاتولوژی کبد در موش صحرایی نر بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی که در سال ۱۴۰۳ در محل دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد

اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم انجام شد. حیوانات مورد مطالعه از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد تبریز تهیه شدند. حیوانات در سه گروه هشت تایی در شرایط محیطی یکسان شامل چرخه روشنایی و تاریکی به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دسترسی آزاد به آب و غذا، دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد نگهداری شدند. در تمامی مراحل انجام آزمایش اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و موازین اخلاقی رعایت شد. در این تحقیق از داروی نیکوتین (مرک، آلمان) استفاده گردید. متعاقب گذراندن یک هفته و عادت به محیط آزمایشگاه، حیوانات مورد مطالعه به صورت تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی شامل؛ گروه اول: کنترل (دریافت روزانه ۱ میلی‌لیتر سرم نرمال سالین داخل صفاقی به مدت ۳۰ روز)، گروه دوم: نیکوتین با دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی به مدت ۳۰ روز و گروه سوم: نیکوتین با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی به مدت مشابه دریافت کردند (۹). در پایان دوره آزمایش، تمامی حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (روتکس مدیا، آلمان) با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین (کلا، بلژیک) با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تحت بیهوشی و خون‌گیری از قلب قرار گرفتند (۱۰). برای جداسازی

سرم، نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و تا اندازه‌گیری آنزیم‌های سرمی کبد دردمای ۲۰- نگهداری شدند. همچنین با برش ناحیه بطنی بلافاصله بافت کبد جهت رنگ‌آمیزی معمول بافتی هماتوکسیلین-ائوزین داخل محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت یک هفته ثابت شد. تمامی نمونه‌ها پس از اصلاح با روش‌های معمول بافت‌شناسی پاساژ داده شده و بلوک‌های پارافینی تهیه شده، بعد از برش‌های ممتد ۷-۵ میکرومتری، با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی و به وسیله میکروسکوپ نوری (Cx33 الیمپوس، آلمان) مورد مطالعه قرار گرفتند (۱۱). همچنین نمونه بافت کبد جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برداشته و بلافاصله با سرم نرمال سالین شسته شد. نمونه‌های کبد در نیتروژن مایع منجمد و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ۸۰- نگهداری شدند.

پس از اتمام شستشوی بافتی با استفاده از بافر فسفات (PBS, PH=7.4) به میزان ۱ گرم از بافت کبد در بافر سرد (دی تیو تریتول = ۱، اتیلن دی آمین تترااستیک اسید = ۵ و تریس هیدروکلراید = ۵/۰ میلی مول در ۷/۵ PH) هموژنیزه شد. سپس محلول مورد نظر با سرعت ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و GPX، شاخص پراکسیداسیون چربی (MDA) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) بافت کبد مورد استفاده قرار

گرفت (۱۲). این فاکتورها با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت نوند سلامت و مطابق دستورالعمل شرکت مورد سنجش قرار گرفتند.

به طور کلی آزمایش بر اساس مهار واکنش اتواکسیداسیون پیروگالول می‌باشد. پیروگالول ماده‌ای است که در شرایط عادی در حضور هوا اکسیده می‌شود. با در دست داشتن غلظت مشخصی از این ماده نیمه عمر اتواکسیداسیون آن مشخص می‌شود. در این واکنش با اضافه نمودن نمونه حاوی SOD با غلظت نامشخص میزان مهار واکنش اتواکسیداسیون پیروگالول در زمان مشخص سنجیده و در مقایسه با کنترل مشخص می‌گردد.

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) به وسیله کومن هیدروپراکسید را کاتالیز می‌نماید. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) مجدداً به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود که این احیاء با اکسیداسیون هم‌زمان NADPH به $NADP^+$ همراه است، در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA) سرم: این روش بر پایه واکنش با تیو باربیتوریک اسید (TBARS)، تولید کمپلکس رنگی و اندازه‌گیری شدت رنگ تولید شده با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه با منحنی استاندارد می‌باشد.

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) سرم: این تست بر اساس روش Ferric Reducing Antioxidant (FRAP) انجام می‌شود و با اندازه‌گیری احیای آهن دو ظرفیتی (Fe^{2+}) به آهن سه ظرفیتی (Fe^{3+}) در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه را مشخص می‌کند، در این روش، تغییر رنگ ناشی از واکنش در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

بررسی آماری داده‌های مربوط به آنزیم‌های سرمی ALT و AST کبد نشان داد که بین هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه از نظر آنزیم ALT تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ($p > 0.05$). در حالی که نتایج مربوط به آنزیم AST مشخص نمود بین گروه کنترل با گروه نیکوتین ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نیکوتین ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p < 0.05$)، اما بین گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه نیکوتین ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($p > 0.05$) (جدول ۱).

بررسی نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD سرم حیوانات مختلف مشخص نمود که بین گروه کنترل با گروه نیکوتین

۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0/05$). همچنین بین گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم با نیکوتین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی دار وجود ندارد ($p > 0/05$).

بررسی نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان GPX سرم حیوانات مختلف مشخص نمود که بین هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$).

بررسی داده‌های مربوط به میانگین شاخص پراکسیداسیون چربی (MDA) سرم حیوانات گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان داد که بین گروه‌های کنترل و نیکوتین ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه نیکوتین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری وجود دارد ($p < 0/05$). همچنین مشخص گردید بین گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$).

در خصوص شاخص ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) سرم حیوانات گروه‌های مختلف مشخص گردید بین هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی دار وجود ندارد ($p > 0/05$) (جدول ۲).

بررسی نتایج مربوط به فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان SOD بافت کبد حیوانات مختلف مشخص نمود که بین گروه کنترل با گروه‌های نیکوتین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0/05$). همچنین مشخص گردید، بین گروه نیکوتین ۰/۲۵

میلی گرم بر کیلوگرم با گروه نیکوتین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$).

همچنین مشخص گردید نتایج مربوط به فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان GPX و میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی مشابه نتایج آنزیم آنتی اکسیدان SOD بود.

بررسی داده‌های مربوط به میانگین شاخص پراکسیداسیون چربی (MDA) کبد حیوانات گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان داد که بین گروه کنترل با گروه‌های نیکوتین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0/05$). همچنین مشخص گردید بین گروه نیکوتین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری وجود دارد ($p < 0/05$) (جدول ۳).

بررسی‌های میکروسکوپی بافت کبد حاصل از رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین در گروه‌های مختلف نشان داد تغییرات بافتی در گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم شامل تغییرات و آسیب‌های بافت کبد شامل: هایپر میا خفیف (پرخونی عروقی) و اینفیلتراسیون خفیف سلول‌های التهابی بود، همچنین در گروه نیکوتین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم تغییرات وسیع تر نظیر پرخونی عروق خونی و اینفیلتراسیون سلول‌های التهابی و تغییرات چربی در اطراف ورید مرکزی، نکروز و تجمع سلول‌های التهابی در اطراف ورید مرکزی رویت شد.

جدول ۱: میانگین میزان آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (خطای استاندارد $\pm$ میانگین)

فاکتور	گروه	کنترل	نیکوتین ۰/۲۵	نیکوتین ۰/۵	سطح معنی‌داری
آسپارات ترانسفراز (میلی‌گرم بر دسی لیتر)		۳۱/۸ $\pm$ ۲/۶۷b	۲ $\pm$ ۴۱/۰۵b	۵۵/۳ $\pm$ ۲/۴a	۰/۰۰۲
آلانین ترانسفراز (میلی‌گرم بر دسی لیتر)		۷۶ $\pm$ ۲/۹۶a	۹۳/۳ $\pm$ ۶/۹۴a	۱۰۰/۳ $\pm$ ۶/۴۵a	۰/۰۰۵

حروف نامشابه در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها هست. سطح معنی‌دار $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

جدول ۲: میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سرم موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (خطای استاندارد $\pm$ میانگین)

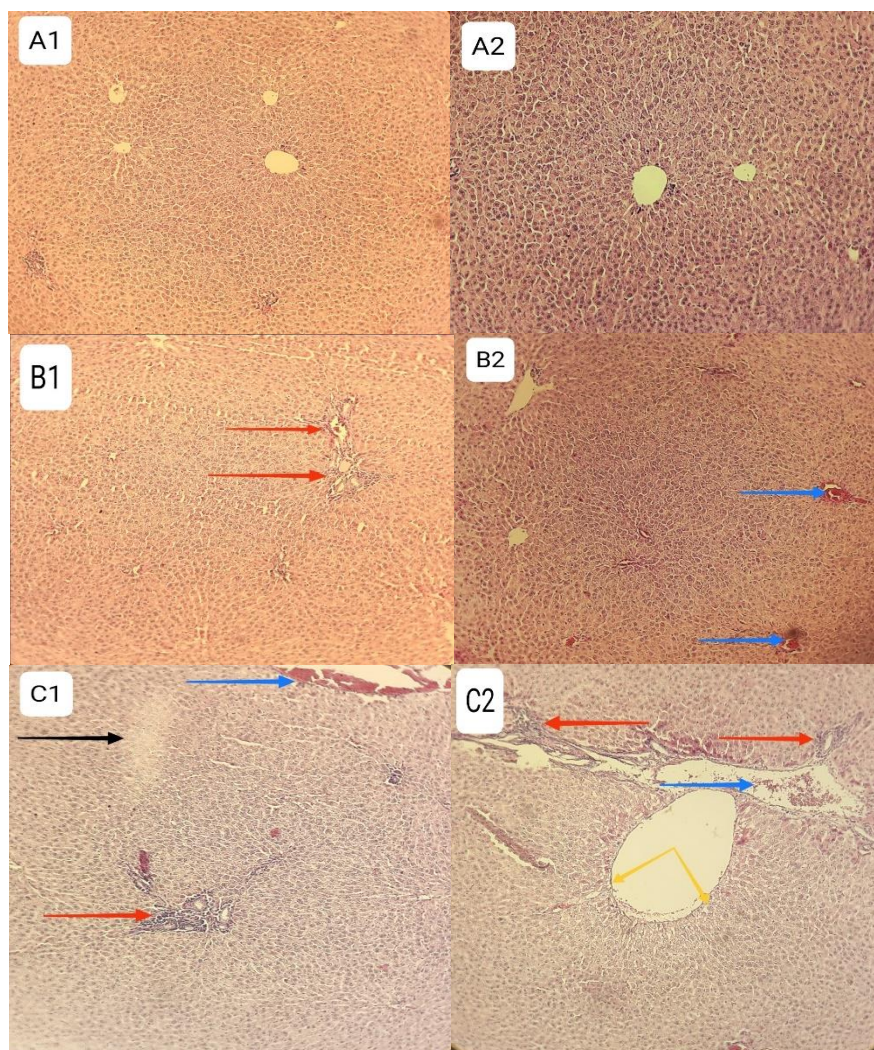
فاکتور	گروه	کنترل	نیکوتین ۰/۲۵	نیکوتین ۰/۵	سطح معنی‌داری
مالون دی‌الدئید (نانومول بر میلی‌گرم)		۱۹ $\pm$ ۰/۵۲b	۲۱/۴ $\pm$ ۰/۹۲b	۲۷/۳ $\pm$ ۱a	۰/۰۰۱
سوپراکسید دسموتاز (میلی‌گرم پروتئین)		۳۸ $\pm$ ۸۴۹a	۷۵۳ $\pm$ ۱۳ab	۷۲۴ $\pm$ ۱۸b	۰/۰۴۳
گلوتاتیون پراکسیداز (میلی‌گرم پروتئین)		۱۱ $\pm$ ۳/۳۵a	۶/۰ $\pm$ ۰۲/۴a	۴/۰ $\pm$ ۸۵/۳۴a	۰/۲۱۷
ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (میلی‌مول بر میلی‌گرم)		۴/۰ $\pm$ ۸۴/۲۲a	۳/۹۳ $\pm$ ۰/۲۹a	۳/۶۶ $\pm$ ۰/۳۸a	۰/۱۱۷

حروف نامشابه در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها هست. سطح معنی‌دار $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

جدول ۳: میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت کبد موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (خطای استاندارد $\pm$ میانگین)

فاکتور	گروه	کنترل	نیکوتین ۰/۲۵	نیکوتین ۰/۵	سطح معنی‌داری
مالون دی‌الدئید (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)		۲۶/۰ $\pm$ ۱۴/۸۲c	۳۷/۰ $\pm$ ۵۸/۵۲b	۴۲/۰ $\pm$ ۱۶/۸۲a	۰/۰۰۰۱
سوپراکسید دسموتاز (میلی‌گرم پروتئین)		۳۳/۲ $\pm$ ۴۵/۲۶a	۲۴/۱ $\pm$ ۰۳/۷۶b	۱۹/۰ $\pm$ ۵۵/۵۲b	۰/۰۰۷
گلوتاتیون پراکسیداز (میلی‌گرم پروتئین)		۲۵۲/۹ $\pm$ ۹۸/۷۶a	۲۷۸/۱۵ $\pm$ ۵۲/۲۳b	۲۶۷/۱۹ $\pm$ ۳۶/۲۱b	۰/۰۴۱
ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (میلی‌مول بر میلی‌گرم)		۴/۰ $\pm$ ۱۳/۱۲a	۴/۰ $\pm$ ۰۵/۳۳b	۲/۰ $\pm$ ۹۲/۰۹b	۰/۰۳۲

حروف نامشابه در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها هست. سطح معنی‌دار $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.



تصویر ۱: بافت کبد، گروه کنترل (A1 و A2)، نیکوتین ۰/۲۵ (B1 و B2) و نیکوتین ۰/۵ (C1 و C2)، اینفیلتراسیون سلول‌های لنفاوی (فلش قرمز، B1)، پرخونی خفیف (فلش آبی، B2)، نکروز هیاتوسیت‌ها (فلش مشکی، C1)، پرخونی (فلش آبی، C1 و C2)، اینفیلتراسیون وسیع سلول‌های لنفاوی (فلش قرمز، C1 و C2)، نکروز نواحی اطراف ورید مرکزی (فلش زرد، C2)، بزرگنمایی ۴۰.

بحث

مطالعه تعیین و بررسی اثرات وابسته به دوز نیکوتین، بر استرس اکسیداتیو و هیستوپاتولوژی کبد در موش صحرایی نر بود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تزریق داخل صفاقی نیکوتین موجب کاهش معنی‌دار SOD سرم شده و میزان MDA را در گروه نیکوتین ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌دار نسبت به گروه کنترل افزایش داده است. همچنین داده‌های حاصل از آنالیز میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت کبد و

سیگار کشیدن در کشورهای در حال توسعه رایج است و ماده اصلی مضر دود سیگار، نیکوتین است (۱۴ و ۱۳). به نظر می‌رسد که کبد مناسب‌ترین اندام برای ارزیابی دقیق میزان سمیت ناشی از نیکوتین در خون یا استنشاق تنباکو است. علاوه بر این، کبد به ویژه در برابر نیکوتین حساس است، زیرا جایی است که اکثر متابولیسم و تغییر شکل زیستی نیکوتین در آن رخ می‌دهد (۱۵-۱۷). لذا هدف از این

آنزیم‌های سرمی کبد حاکی از کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD، GPX و میزان TAC در گروه‌های دریافت‌کننده نیکوتین و افزایش معنی‌دار AST در گروه‌های دریافت‌کننده نیکوتین نسبت به گروه کنترل است. نتایج هیستوپاتولوژی هم نشان داد دوزهای مختلف نیکوتین موجب پرخونی خفیف تا شدید، اینفیلتراسیون سلول‌های لنفاوی و نکروز هپاتوسیت‌ها می‌گردد. مطالعه چندی عنوان کرده اند که دریافت دو هفته‌ای نیکوتین با تأثیر مستقیم بر کبد موش‌های صحرایی موجب افزایش سطوح آنزیم‌های کبدی از مسیر القا استرس اکسیداتیو می‌گردد (۱۸-۲۰). در مطالعه حاضر نیز استفاده از نیکوتین باعث افزایش استرس اکسیداتیو و آنزیم کبدی شد که این نتایج همسو با داده‌های حاصل از مطالعه سیتان تایسی و همکاران می‌باشد (۲۱). در مطالعه حاضر، افزایش سطوح MDA می‌تواند بازتاب دهنده تضعیف یا شکست دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت کبد از مسیر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در اثر مصرف نیکوتین باشد چرا که پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند معیاری از آسیب غشا سلولی به دنبال استرس اکسیداتیو باشد. این نتایج با پژوهش‌های قبلی هم‌خوانی دارد (۲۲-۲۴). ذخایر آنتی‌اکسیدانی در سلول یکی از مهم‌ترین ابزارهای دفاعی در برابر عوامل اکسیدانی و آسیب‌رسان به سلول می‌باشد. تخلیه سلول از عوامل آنتی‌اکسیدانی بستر مناسبی را جهت پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب سلولی فراهم می‌کند. در این راستا، شرفی اهوازی و همکاران طی پژوهشی

گزارش دادند تجویز مزمن نیکوتین موجب برهم خوردن تعادل سطح پرواکسیدانی - آنتی‌اکسیدانی سلول می‌شود. همچنین مطالعه مذکور نشان داد که نیکوتین موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و القا استرس اکسیداتیو می‌گردد (۲۶ و ۲۵، ۷).

آلکالوئید نیکوتین، اخیراً در اشکال مختلف از جمله آدامس و اسپری بینی جهت ترک سیگار در دسترس قرار دارد. ساموئل والنکا سانتوز و همکاران نشان دادند که تجویز نیکوتین خوراکی اثرات آسیب‌رسان دارد و موجب کاهش تعداد هپاتوسیت‌ها و اختلال متابولیسم چربی می‌شود (۲۷).

یافته‌های هیستوپاتولوژی نشان دهنده تغییرات متنوع بافتی در گروه‌های دریافت‌کننده نیکوتین نسبت به گروه کنترل و تصدیق‌کننده یافته‌های بیوشیمیایی است. این موضوع می‌تواند به علت فعال شدن مسیرهای التهاب و استرس اکسیداتیو و آسیب هپاتوسیت‌ها باشد. مطالعه‌ای نشان داده است که سیگار کشیدن و دریافت نیکوتین تولید سایتوکین‌های پیش التهابی (اینترلوکین‌ها و فاکتور نکروز دهنده توموری) درگیر در آسیب سلول کبدی را افزایش می‌دهد (۲۸-۳۱). از سویی دیگر، در پژوهش مشابهی دریافتند نیکوتین خوراکی موجب دژنراسانس چربی و کاهش جمعیت هپاتوسیت‌ها در کبد می‌شود (۷). همچنین بررسی‌های بافت‌شناسی در یک پژوهش نشان داد نیکوتین موجب التهاب پارانشیم و دژنراسانس هپاتوسیت‌ها در کبد جنین می‌گردد (۲). نتایج هیستولوژیکی مطالعه حاضر با این یافته

هم‌خوانی دارد. مطابق یافته‌های هیستوپاتولوژی شدت نفوذ سلول‌های التهابی و نیز پرخونی و احتقان در گروه نیکوتین ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشتر از گروه نیکوتین ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (تصویر ۱، B1, B2 و C1, C2). داده‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان دادند نیکوتین در دوز پایین و بالا می‌تواند موجب آسیب بافت کبد از خفیف تا شدید شده و بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و بیوشیمیایی تأیید کننده این یافته‌ها بودند. مقایسه نتایج هیستولوژیکی با نتایج مربوط به اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددسموتاز و گلوکاتانیون پراکسیداز مطابقت دارد، چنانچه تغییرات بافت کبد با افزایش سطح مالون دی‌آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همراه است.

به نظر می‌رسد نبود ارزیابی شاخص‌های اکسیدان همانند سوپراکسید و فاکتورهای التهابی از محدودیت‌های این تحقیق هستند. لذا پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی علاوه بر اجرای مطالعه در دوره‌های زمانی طولانی‌تر، فاکتورهای التهاب و شاخص‌های اکسیدان نیز ارزیابی گردند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد تجویز نیکوتین با دوزهای مختلف می‌تواند از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد و تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سرم و بافت کبد موجب آسیب و التهاب و پرخونی کبد در موش‌های صحرایی گردد. هرچند بررسی‌های بیشتر

و دقیق‌تر مولکولی و فراساختاری می‌توانند ابعاد وسیع‌تری از تأثیر نیکوتین بر کبد را آشکار سازند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از زحمات کارشناسان آزمایشگاه‌های دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم پزشکی تبریز تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی در نگارش این پژوهش ندارند.

حمایت مالی

پژوهشگران از هیچ سازمانی حمایت مالی دریافت نکرده‌اند.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی نویسنده اول، در گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز با کد اخلاق IR.IAU.TABRIZ.REC.1402.289 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان مقاله در تمامی مراحل اجرا و نگارش مقاله مشارکت داشته‌اند.

REFERENCES

- 1.Khaled Sh, Mirhan M, Manar AN. Tiron protects against nicotine-induced lung and liver injury through antioxidant and anti-inflammatory actions in rats in vivo. *Life Sciences* 2010; 260(8): 118426.
- 2.Zargari F. The role of oxidative stress and free radicals in diseases. *Razi J Med Sci* 2020; 27(2): 10-22.
- 3.Chen TH, Wang HC, Chang CJ, Lee SY. Mitochondrial glutathione in cellular redox homeostasis and disease manifestation. *Int J Mol Sci* 2024; 25(2): 1314.
- 4.Ahvazi NS, Daneshi E, Nikkhoo B, Roshani D, Rezaie MJ, Asgari HR, et al. Effect of chronic nicotine administration on the pro-oxidant antioxidant balance of mice serum: Role of Rosmarinic Acid. *SJKU* 2020; 25(2): 54-60.
- 5.Oyeyipo IP, Raji Y, Bolarinwa AF. Nicotine alters serum antioxidant profile in male albino rats. *NAm J Med Sci* 2014; 6(4): 168.
- 6.Rutledge Stephanie M, Asgharpour A. Smoking and liver disease. *Gastroenterol Hepatol(N Y)* 2020; 16(12): 617-25.
- 7.Divya J, Priya C, Nidhi V, KHandaker SBR, Devret V, Tasnim RKZ, et al. Tobacco smoking and liver cancer risk: potential avenues for carcinogenesis. *J Oncol* 2021; 10: 5905357.
- 8.Battah Khairat A, Badranc Darwish H, Shraideh Ziad A. Effect of cigarette smoking on the structure of hepatocytes: TEM Study. *International Journal of Morphology Int J Morpho* 2016; 34(4): 1239-44.
- 9.Omar SH. Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharmaceutical Journal* 2010; 18(3): 111-21.
- 10.Nahed S, Hanan AM. Effects of renal ischemia reperfusion on brain, liver & kidney tissues in adult male rats. *Life Science Journal* 2011; 8(1): 204-12.
- 11.Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews* 2008; 88(4): 1243-76.
- 12.Valentovic MA, Ball JG, Brown MJ, Terneus MV, McQuade E, Van Meter E. Resveratrol attenuates cisplatin renal cortical cytotoxicity by modifying oxidative stress. *Toxicology in Vitro* 2014; 28(2): 248-57.
- 13.Yangfan XU, Jieqiong QI, Jiayao L, Yitao J. Global research trends and hotspots on smoking and lung cancer from 1994–2023: A bibliometric analysis. *Tob Induc Dis* 2024; 22: 148.
- 14.Gupta N, Qanungo K. Cigarette smoking and its association with lung cancer. *AIP Conference Proceedings: AIP Publishing*; 2023.
- 15.Ateyya H, Nader MA, Attia GM, El-Sherbeeney NA. Influence of alpha-lipoic acid on nicotine-induced lung and liver damage in experimental rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2017; 95(5): 492-500.
- 16.Esrefoglu M. Oxidative stress and benefits of antioxidant agents in acute and chronic hepatitis. *Hepat Mon* 2012; 12(3): 160–7.
- 17.Ekhlasi G, Shidfar F, Agah S, Merat S, Hosseini KAF. Effect of pomegranate juice intake on lipid profile in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Razi J Med Sci* 2013; 20(111): 30-39.
- 18.Nora A, Fatma SM, Esraa SA, Ahmed H, Omayma AR Zaid. Flavone improves liver damage in nicotine-exposed rats via the Nrf2/HO-1 pathway. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2024; 14(8): 341-349.
- 19.Neogy S, Das S, Mahapatra SK, Mandal N, Roy S. Amelioratory effect of *Andrographis paniculata* Nees on liver, kidney, heart, lung and spleen during nicotine induced oxidative stress. *Environ Toxicol Pharmacol* 2008; 25(3): 321-8.
- 20.Kovacic P, Cooksy A. Iminium metabolite mechanism for nicotine toxicity and addiction: Oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses* 2005; 64(1): 104-11.
- 21.Seyithan T, Kenan G, Berna D, Omer A, Nuray O, Fatih A, et al. Hippophaerhamnoides attenuates nicotine-induced oxidative stress in rat liver. *Pharm Biol* 2010; 48(5): 488-93.
- 22.Leeuwenburgh C, Heinecke J. Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Curr Med Chem* 2001; 8(7): 829-38.
- 23.Conceicao EP, Peixoto-Silva N, Pinheiro CR, Oliveira E, Moura EG, Lisboa PC. Maternal nicotine exposure leads to higher liver oxidative stress and steatosis in adult rat offspring. *Food and Chemical Toxicology* 2015; 78: 52–9.

- 24.Khatibi F, Yaghoubi AR, Rahbani NM. Study of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, lipid profile and immunologic factor in coronary artery disease in East Azarbijan. *Int J Med Biomed Res* 2012; 1: 147–52.
- 25.Das S, Chakraborty SP, Roy S, Roy S. Nicotine induced pro-oxidant and antioxidant imbalance in rat lymphocytes: in vivo dose and time dependent approaches. *Toxicol Mech Methods* 2012; 22(9): 711-20.
- 26.Das S, Chakraborty SP, Roy S, Roy S. Nicotine induced pro-oxidant and antioxidant imbalance in rat's lymphocytes: In vivo dose and time dependent approach. *Toxicol Mech Methods* 2012; 22: 711–20.
- 27.Valenca SS, Gouveia L, P WA, Porto LC. Effects of Oral Nicotine on Rat Liver Stereology. *Int J Morphol* 2008; 26(4): 1013-22.
- 28.Chattopadhyay K, Chattopadhyay BD. Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation &Antioxidant enzymes in female rats with restricted dietary protein. *Indian J Med Res* 2008; 127(6): 571-6.
- 29.Stämpfli MR, Anderson GP. How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer. *Nat Rev Immunol* 2009; 9(5): 377-384.
- 30.Azil AA, Yusof ZYM, Marhazlinda J. Clustering of health and oral health-compromising behaviours in army personnel in Central Peninsular Malaysia. *Healthcare*. 2023; 11(5): 640.
- 31.Wang P, Abdin E, Sambasivam R. Smoking and socio-demographic correlates of BMI. *Bmc Public Health* 2016; 16: 500.

Investigation of the Dose-Dependent Effects of Nicotine on Oxidative Stress and Liver Histopathology in Male Rats

Qoreishi SM¹, Nasirzadeh MR^{2*}, Delkhoush A³.

¹Department of Veterinary Medicine, Tabriz medical sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran, ²Department of Physiology, Tabriz medical sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran, ³Department of Pathobiology, Semnan University, Semnan, Iran.

Received Date: 12 Jul 2025 Accepted Date: 08 Feb 2026

Abstract

Background & aim: The increasing use of tobacco in human societies has led to widespread diseases caused by nicotine intake. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of different doses of nicotine on antioxidant function, oxidative stress, and histopathological changes in the liver in male rats.

Methods: In the present experimental laboratory study conducted in 2024, 24 male Wistar rats were randomly divided into 3 groups of 8, including control (daily intraperitoneal injection of normal saline), nicotine 0.25, and nicotine 0.5 (nicotine injection at doses of 0.25 and 0.5 intraperitoneally) for 30 days. At the end of the study period, the activities of antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), total antioxidant capacity (TAC), and malondialdehyde (MDA) levels in liver tissue, as well as serum ALT and AST enzymes were measured. The collected data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test.

Results: The results indicated that nicotine administration caused a significant increase in ALT, AST and MDA levels and a decrease in serum SOD activity ($p < 0.05$). Also, a significant decrease in SOD and GPX enzyme activities and TAC levels and an increase in liver tissue MDA levels were reported ($p < 0.05$). In addition, the results of liver histology changes revealed that nicotine use caused congestion and hyperemia, lymphocyte infiltration and inflammation, cell degeneration, and necrosis.

Conclusion: The present study exposed that nicotine administration, through the induction of oxidative stress, lead to an increase in serum and liver tissue malondialdehyde levels and caused tissue changes and liver damage by reducing the activity of antioxidant enzymes.

Keywords: Oxidative stress, Nicotine, Liver, Rat.

***Corresponding author:** Nasirzadeh MR, Department of Physiology, Tabriz medical sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
Email: mr.nasirzadeh@iau.ir

Please cite this article as follows: Qoreishi SM, Nasirzadeh MR, Delkhoush A. Investigation of the Dose-Dependent Effects of Nicotine on Oxidative Stress and Liver Histopathology in Male Rats. Armaghane-danesh 2026; 31(2):168-179.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal