دانشور
پزشکی

اثر وابسته به دوز تجویز تیموکینون بر میزان استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش صحرایی دیابتی

نویسندگان: مهرداد روغنی*[1]، توراندخت بلوچ نژاد مجرد[2]

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران.

۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: مهرداد روغنی **E-mail: mehjour@yahoo.com**

چکیده

مقدمه و هدف: با توجه به نقش تشدید استرس اکسیداتیو در بروز بیماری کلیوی در حالت دیابت و با درنظرگرفتن خاصیت ضددیابتی و آنتی اکسیدانتی تیموکینون، هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثر تجویز این ماده بر سطح بافتی برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دو گروه دیابتی تحت درمان با تیموکینون (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم‌شدند. پس از گذشت چهار هفته، سطح بافتی مالون دی آلدئید و نیتریت و میزان فعالیت سوپراکسید دیس موتاز بافت کلیه، اندازه‌گیری‌شد.

یافته‌ها: موش‌های دیابتی، افزایشی معنادار در سطح بافتی مالون دی آلدئید ($p<۰/۰۱$) و نیتریت و نیترات ($p<۰/۰۰۵$) و کاهشی معنی‌دار در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ($p<۰/۰۵$) را نشان‌دادند و درمان با تیموکینون در دوز بالا فقط میزان مالون دی آلدئید و نیتریت را به‌صورت معنادار کاهش‌داد ($p<۰/۰۵$) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در موش‌های دیابتی تیمارشده به‌طور غیرمعنی‌دار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش نشان‌داد.

نتیجه‌گیری: تجویز تیموکینون به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه را در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش‌دهد.

واژگان کلیدی: تیموکینون، دیابت قندی، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیس موتاز، متابولیت نیتریک اکسید، کلیه

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هیجدهم- شماره ۹۶
دی ۱۳۹۰

دریافت: ۱۳۹۰/۶/۱۵
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۰/۹/۱۵
پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۲۰

مقدمه

دیابت قندی، یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای بروز اختلال‌های دیگر، نظیر بیماری کلیوی محسوب‌می‌شود (۱). مشکلات کلیوی ناشی از دیابت، درصدی بالا از افراد جامعه را در سنین بالا گرفتارمی‌کند (۲). از نظر بالینی، حتی در زمان تشخیص، بیماری دیابت به میزانی زیادی پیشرفت‌کرده‌است که این اهمیت کنترل رژیم غذایی و لزوم استفاده از درمان‌ها و اقدام‌های پیشگیری-کننده را به‌خوبی مشخص‌می‌کند (۲ و۳)؛ دیابت قندی، همچنین با استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن ارتباطی نزدیک دارد. مطالعاتی مختلف نشان‌داده‌اند که افزایش قند خون با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است و خود این بسیاری از عوارض بیماری را به‌دنبال‌دارد (٤-٦). تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن، در ایجاد بیماری‌های ناشی از دیابت نقشی مهم دارد. از نظر بیوشیمیایی، از جمله شاخص‌های مهم استرس اکسیداتیو، افزایش سطح بافتی مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات و کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانتی نظیر سوپراکسید دیس موتاز است (٦ و۷). کاهش‌دادن این تغییرها در حالت دیابت قندی با استفاده از گیاهان دارویی و مواد مؤثر آنها با خاصیت ضددیابتی و آنتی اکسیدانتی، اهمیت بالینی زیاد دارد (۳). در این خصوص، سیاهدانه با نام علمی *Nigella sativa* در خانواده **Ranunculaceae** گیاه علفی، یک‌ساله و دولپه‌ای است که دانه آن در طب گیاهی، بسیار کاربرددارد (۸-۱۰). تأثیرهای حفاظتی سیاهدانه از نظر کاهش‌دادن میزان پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش‌دادن میزان تخریب سلول‌های بتای جزائر لانگرهانس به دنبال تجویز مواد سمی نظیر استرپتوزوتوسین، اثر هیپوگلیسمیک و تعدیل-کننده ایمنی و القا رژنراسیون و تکثیر نسبی سلول‌های بتا در مدل تجربی دیابت قندی پیش‌تر مورد تأیید قرار-گرفته‌اند (۱۱ و۱۲). مهم‌ترین ماده مؤثر در سیاهدانه، تیموکینون است که آثار ضدالتهابی، ضدسرطانی و آنتی اکسیدانتی آن گزارش‌شده‌اند (۱۳)؛ این ماده فعالیت آنزیم‌های متابولیک کبدی را بهبود بخشیده، دارای اثر آنتی هیپرگلیسمیک است و استرس اکسیداتیو را در موش‌های دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین در بافت کبد کاهش‌می‌دهد؛ همچنین یک مهارکننده غیرآنزیمی پراکسیداسیون لیپیدی در محسوب می‌شود و کاهش آسیب مغز در مدل تجربی ایسکمی را موجب می‌شود و مقاومت بافتی را نسبت‌به استرس اکسیداتیو افزایش-می‌دهد (١٤-١٨). هرچند اثر تیموکینون بر کاهش برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت‌هایی نظیر کبد در حالت دیابت تجربی پیش‌تر تأییدشده‌است (۱۸) و آثار حفاظتی آن بر بافت کلیه در جلوگیری از تغییرهای ساختمانی در حالت دیابت نیز اثبات‌شده‌است (۱۹) گزارشی دربارهٔ اثرهای سودمند تجویز آن در حالت دیابت بر معیارهای مرتبط با استرس اکسیداتیو در بافت کلیه یافت‌نمی‌شود؛ لذا هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثر تجویز تیموکینون بر سطح بافتی برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی بوده‌است

مواد و روش‌ها

حیوان‌ها

در این مطالعه تجربی (دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، ۱۳۹۰) از چهل سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده‌شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتیگراد در گروه‌های ۳ تا ٤ تایی در هر قفس قرارداده‌شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) به مدت شش هفته دسترسی‌داشتند؛ درضمن، بررسی بر-اساس پروتکل‌ها و دستورالعمل‌های توصیه‌شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوان‌های آزمایشگاهی و راهکارهای عملی موجود در داخل کشور به‌انجام‌رسید. در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده‌شد که در شرایط

طبیعی و در حالت روزه‌داری (به مدت یک شب)، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود؛ در این خصوص از شبکه رتروارویتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده‌شد. حجم خون اخذشده از هر حیوان نیز حدود ۱ میلی‌لیتر بود. موش‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون (سیگما، آلمان) (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دو گروه دیابتی تحت تیمار با تیموکینون (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم‌شدند. تیموکینون هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین (سیگما، آلمان) به مدت سه هفته (خوراکی و روزانه) تجویزشد. داروی تیموکینون در حلال کروموفور (سیگما، آمریکا) حل‌شد. برای دیابتی‌کردن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به‌صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل‌شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده‌شد. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی‌بودن حیوان‌ها، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل‌شد و فقط حیوان‌های دیابتی با میزان قند ادرار بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر که با میزان قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر با درنظرگرفتن آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار برابری‌می‌کند به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند؛ البته در روزهای بعد، علائم بارز دیابت نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز و کاهش وزن نیز در برخی موش‌ها به‌تدریج دیده‌شد. درضمن، کاهش وزن در پایان کار در تمام موش‌ها مشاهده‌شد. تعیین میزان وزن حیوان‌ها قبل از انجام کار و در طی هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی به‌انجام‌رسید؛ همچنین، اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) انجام‌شد.

سنجش مالون دی آلدئید بافتی

پس از پایان کار، بافت کلیه از بدن جداشده، پس از تهیه هموژنه بافت در محلول سالین سرد، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جداشده، برای سنجش استفاده‌شد. اساس روش اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید، واکنش تیوباربیتوریک اسید TBA است (۲۰)؛ در این آزمایش، مالون دی آلدهید یا مواد شبه مالون دی آلدئید با تیوباربیتوریک اسید واکنش‌داده، رنگ صورتی ایجاد-می‌کند که ماکزیمم جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر است؛ این واکنش در PH= 2- 3 و در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ دقیقه انجام‌شد. بعد از سرد-کردن نمونه، جذب نوری خوانده‌شد. منحنی استاندارد نیز براساس رقت‌های تترا اتوکسی پروپان تهیه‌شد و جذب‌های نوری به‌دست‌آمده از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد تطبیق‌داده‌شدند.

سنجش نیتریت و نیترات بافتی

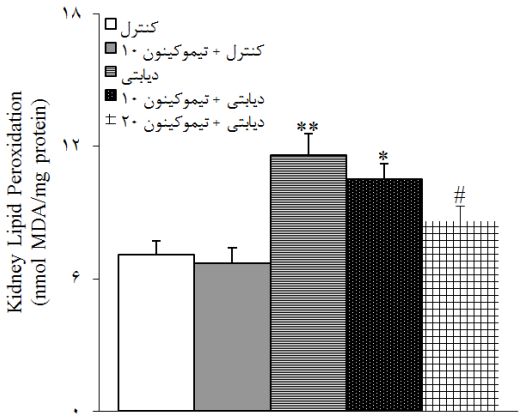
سنجش میزان نیتریک اکساید بافت کلیه به‌طور غیر-مستقیم براساس واکنش گریس انجام‌شد (۲۱). در اینجا میزان نیتریت و نیترات به‌عنوان شاخص نیتریک اکساید درنظرگرفته‌شدند. محلول کاری، شامل سولفانیل آمید ۱ درصد، نفتیلن اتیلن دی آمید دی هیدروکلرید ۰/۱ درصد و ارتوفسفریک اسید ۵/ ۲ درصد بود. جذب نوری نمونه در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده و برای منحنی استاندارد از رقت‌های مختلف نیتریت سدیم استفاده‌شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۲۲)

اساس این اندازه‌گیری بر مهار احیا نیتروبلوتترازولیوم توسط سیستم گزانتین–گزانتین اکسیداز به‌عنوان تولید-کننده سوپراکسید است. در این آزمایش از محلول کاری، شامل گزانتین، گزانتین اکسیداز در بافر پتاسیم فسفات و نیتروبلوتترازولیوم استفاده‌شد. جذب نوری هر نمونه به مدت ۵ دقیقه، هر ۳۰ ثانیه یک‌بار خوانده‌شد. برای به‌دست‌آوردن درصد مهار انجام‌شده با آنزیم SOD، داده‌های حاصل، از فرمول مربوطه بر اساس دستورالعمل کیت (سیگما، آمریکا) استفاده‌شد. با انطباق درصد مهار روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم به‌دست‌آمد و فعالیت آن برحسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین گزارش‌شد.

سنجش پروتئین

سنجش پروتئین به روش برادفورد که پیش‌تر توصیف‌شده‌است، انجام‌گرفت (۲۲)؛ در این رابطه، سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ nm خوانده‌شد؛ درنهایت، غلظت پروتئین در نمونه‌ها با استفاده از انطباق مقادیر جذب‌های نوری حاصل از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد (رسم‌شده برای غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی) به‌دست‌آمد.



نمودار شماره۱. میزان مالون دی آلدئید بافت کلیه در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با تیموکینون
***p<۰/۰۵ **p<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل)، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده)**

آنالیز آماری

از نظر آماری، تمامی نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان‌شد. پس از مشخص‌کردن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر معیار در هریک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هریک از دوره‌های زمانی از آزمون آنووا یک‌طرفه و پست تست توکی استفاده‌شد؛ به‌علاوه، سطح معنی‌دار، p<0.05 برای تمامی آنالیزها درنظرگرفته‌شد.

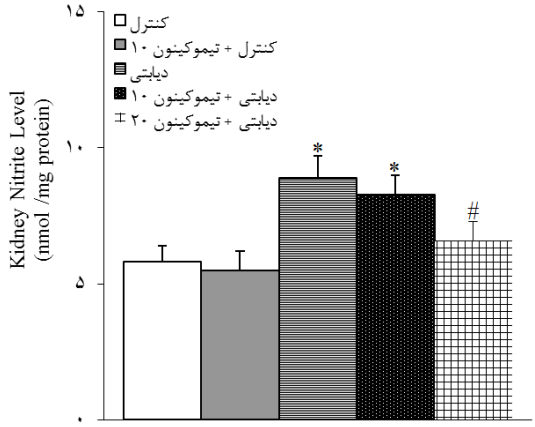
یافته‌ها

از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها در هفته قبل کار (سطح پایه) مشاهده‌نشد؛ گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون نیز در هفته دوم، کاهشی مختصر و در هفته چهارم افزایشی در وزن را نشان‌داد. در گروه دیابتی در هفته چهارم، کاهشی معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل بررسی (p<۰/۰۵) مشاهده‌شد؛ همین وضعیت دربارهٔ گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده تیموکینون به میزان‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز وجودداشت هرچند کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دیابتی در هفته چهارم کمتر بود.

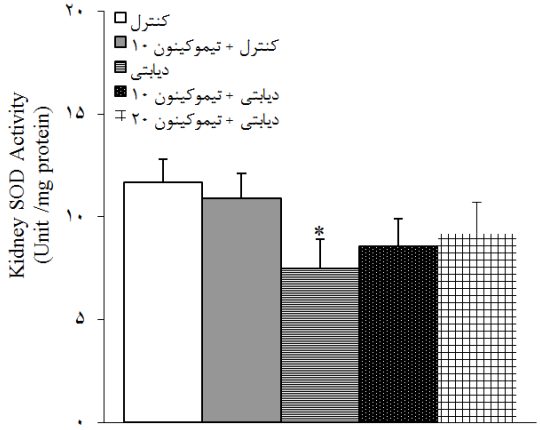
درخصوص میزان گلوکز سرم، در هفته قبل از بررسی تفاوتی معنی‌دار میان گروه‌ها یافت‌نشد، در هفته چهارم، میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در حد معنی دار (p<۰/۰۰۰۵ تا p<۰/۰۰۵) بیشتر از گروه کنترل بود هرچند که با افزایش دوز تیموکینون، این افزایش میزان گلوکز سرم تخفیف‌یافت؛ به‌علاوه، در گروه دیابتی تحت درمان با دوز بالای تیموکینون، میزان گلوکز سرم در هفته چهارم به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده‌بود (p<۰/۰۵)؛ به‌علاوه، گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون تغییر معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان‌نداد.

سطح مالون دی آلدئید (MDA) در بافت کلیه

با اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید که شاخصی از استرس اکسیداتیو است، در گروه‌های مختلف در پایان هفته چهارم مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهشی مختصر و غیرمعنادار را نسبت‌به گروه کنترل نشان‌می‌دهد. در گروه دیابتی تیمارنشده در هفته چهارم، سطح مالون دی آلدئید، افزایشی قابل‌ملاحظه و معنی‌دار را نسبت‌به گروه کنترل نشان‌داد ($p<۰/۰۱$)، در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با تیموکینون، میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت‌به گروه دیابتی کمتر بود؛ به‌علاوه در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح مالون دی آلدئید در هفته چهارم به‌طور معناداری کمتر از گروه دیابتی تیمارنشده بود ($p<۰/۰۵$). (نمودار ۱).



نمودار شماره ۲. میزان نیتریت و نیترات در بافت کلیه در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با تیموکینون
***p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه کنترل)، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده)**



نمودار شماره ۳. میزان فعالیت سوپر اکسید دیس موتاز در بافت کلیه در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با تیموکینون
***p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه کنترل)**

با اندازه‌گیری سطح بافتی نیتریت و نیترات در گروه‌های مختلف مشخص شد (نمودار ۲) که سطح آن در گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون در حد مختصر پایین‌تر از گروه کنترل است؛ به‌علاوه، افزایشی معنادار

دربارهٔ آن در گروه دیابتی نسبت‌به گروه کنترل وجود-داشت (p<۰/۰۵)؛ در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با تیموکینون نیز این افزایش در حد کمتر نسبت‌به گروه کنترل وجودداشت (p<۰/۰۵)؛ به‌علاوه، در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون، میزان این متابولیت‌ها در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معنی‌دار کمتر بود (p<۰/۰۵).

بحث

براساس نتایج این بررسی، موش‌های دیابتی، افزایشی معنادار در سطح بافتی مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات و کاهشی معنی‌دار در سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز را نشان‌دادند و درمان با تیموکینون در دوز بالا فقط میزان مالون دی آلدئید و نیتریت را به‌صورت معنادار کاهش‌داد و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در موش‌های دیابتی تیمارشده به‌طور غیرمعنی‌دار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش نشان‌داد.

نتایج مطالعات پیشین دربارهٔ تیموکینون در حیوان‌های دیابتی نشان‌می‌دهد که این ماده در جهت حفاظت بافت‌ها نظیرکبد در برابر عوامل آسیب‌رسان عمل‌کرده، از این طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های مسئول متابولیسم کربوهیدرات‌ها را موجب می‌شود که این اثر هیپوگلیسمیک آن را در این بررسی تا حدی توجیه-می‌کند (۱٤)؛ در همین خصوص، تیموکینون می‌تواند از طریق تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی مسئول متابولیسم کربوهیدرات‌ها از جمله کاهش فعالیت آنزیم فسفریلاز کبدی و افزایش فعالیت گلوکوکیناز و گلیکوژن سنتاز در جهت کاهش قند خون و برگشت وزن به حد طبیعی عمل‌کنند (۱٤ و۱۸)؛ البته، با توجه به اینکه در بررسی حاضر، مدل دیابت قندی با استفاده از داروی سیتوتوکسیک استرپتوزوتوسین ایجاد شد که موجب تیپ ۱ بیماری با عوارض بیوشیمیایی جدی‌تر می‌شود و سطح انسولین در آن به دلیل فقدان سلول‌های مترشح انسولین به حداقل می‌رسد (۱)، اثرهای سودمند تیموکینون بر سطح گلوکز خون را می‌توان به‌طور عمده به اثرهای خارج پانکراسی آن از جمله تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی در مسیرهای متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها و بهبود مصرف این مواد در دو بافت چربی و عضلانی نسبت‌داد (۱٤)؛ البته شواهدی وجوددارند که نشان‌می‌دهند تیموکینون به حفاظت سلول‌های بتای پانکراس در برابر آسیب‌های محیطی ناشی از توکسین‌ها نظیر استرپتوزوتوسین قادر می‌شود و حتی می‌تواند تا حدودی، برگشت قابلیت ترشحی برخی از سلول‌های مترشحه انسولین را سبب‌بشود (۱٤ و۱۸).

ازطرف‌دیگر، تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی بروز عوارض بیماری‌های متابولیک، نظیر دیابت قندی را موجب می‌شود که این درنهایت، اختلال عملکردی بافت را به‌دنبال‌دارد (۱و ٦)؛ در این خصوص، به دنبال بروز دیابت با گذشت زمان میزان پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو افزایش‌می‌یابد که این خود را با بالارفتن سطح برخی مشخصه‌ها نشان‌می‌دهد که از بهترین آنها، مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات هستند (٦). با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو به دلیل تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن است و این مواد به دنبال کامل‌کردن مدار الکترونی خود هستند، مواد تشکیل‌دهنده سلول از جمله ساختارهای پروتئینی و لیپیدی آسیب‌می‌بینند که این با تغییرهای سطح آنزیم‌های بافتی نظیر کاهش سوپراکسید دیس موتاز خود را نشان‌می‌دهد (۱۸ و۲٤)؛ همچنین، مطالعات مختلف نشان‌داده‌اند که افزایش قند خون در دیابت یکی از علل اصلی افزایش استرس اکسیداتیو است (۵). در بررسی حاضر، افزایش سطح بافتی مالون دی آلدئید و کاهش فعالیت سیستم دفاعی سوپراکسیداز در بافت کلیه مشاهده‌شد که این با گزارش‌های قبلی دربارهٔ بافت کبد همخوانی‌دارد (٤).

در این بررسی، تجویز تیموکینون در دوز بالا به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش سطح شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه را سبب‌شود که بخشی از اثرهای سودمند این ماده در تحقیق حاضر را می‌توان به تأثیر کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو آن به دلیل

دارابودن خاصیت آنتی اکسیدانتی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نسبت‌داد (۱۳ و۱٤) که از این نظر بسیار مشابه ویتامین E عمل‌می‌کند (۱۵)؛ در این خصوص نشان‌داده‌شده که برخی مواد طبیعی، نظیر تیموکینون می‌توانند افزایش مقدار آنتی اکسیدانت‌های غیرآنزیمی در بدن و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی در حالت دیابت را موجب شوند (۱٤) که بدین ترتیب می‌توانند کاهش پراکسیداسیون لیپیدی را به‌دنبال‌داشته‌باشند (۸) و این خود می‌تواند کاهش سطح مالون دی آلدئید در بافت کلیه در بررسی حاضر را نیز تا حدی توجیه‌کند؛ بخش دیگر از اثر سودمند تیموکینون در بررسی حاضر را می‌توان به اثر هیپوگلیسمیک آن نسبت‌داد که این از طریق کاهش‌دادن سطح محصولات نهائی گلیکوزیلاسیون (AGE) (۲۳)، کاهش استرس اکسیداتیو و نشانه‌های آن از جمله مالون دی آلدئید در نواحی بافتی از جمله بافت کلیه را درپی‌دارد.

به‌طور خلاصه، تجویز مزمن تیموکینون به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه را در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش‌دهد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم *فریبا انصاری*، کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی در کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام‌می‌کنند.

منابع

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes Mellitus: Complications and therapeutics. Med Sci Monit 2006: 12: RA130-47.
2. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatement of diabetes mellitus: An overview. Cell Mol Biol 2003: 49: 635-9.
3. Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. J Am Pharm Assoc 2002: 42: 217-226.
4. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, Ghirlanda G.Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. Rev Diabet Stud 2010; 7(1):15-25 .
5. Descorbeth M, Anand-Srivastava MB. Role of oxidative stress in high-glucose- and diabetes-induced increased expression of Gq/11alpha proteins and associated signaling in vascular smooth muscle cells. Free Radic Biol Med. 2010;49:1395-405.
6. Chang YC, Chuang LM. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. Am J Transl Res. 2010; 2: 316-31.
7. Pazdro R, Burgess JR. The role of vitamin E and oxidative stress in diabetes complications. Mech Ageing Dev. 2010; 131: 276-86.
8. Butt MS, Sultan MT. Nigella sativa: reduces the risk of various maladies. Crit Rev Food Sci Nutr. 2010; 50(7): 654-65.
9. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. Int Immunopharmacol. 2005;5(13-14):1749-70.
10. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. Phytother Res. 2003;17(4):299-305.
11. Kanter M, Akpolat M, Aktas C. Protective effects of the volatile oil of Nigella sativa seeds on beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats: a light and electron microscopic study. J Mol Histol. 2009;40(5-6):379-85.
12. Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S. Effects of Nigella sativa on oxidative stress and beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 2004;279:685-91
13. Banerjee S, Padhye S, Azmi A, Wang Z, Philip PA, Kucuk O, Sarkar FH, Mohammad RM. Review on molecular and therapeutic potential of thymoquinone in cancer. Nutr Cancer. 2010;62(7):938-46.
14. Sankaranarayanan C, Pari L. Thymoquinone ameliorates chemical induced oxidative stress and Î²-cell damage in experimental hyperglycemic rats. Chem Biol Interact. 2011;190(2-3):148-54.
15. Badr G, Alwasel S, Ebaid H, Mohany M, Alhazza I. Perinatal supplementation with thymoquinone improves diabetic complications and T cell immune responses in rat offspring.Cell Immunol. 2011;267(2):133-40.

16. Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al Wafai RJ. Effects of Nigella sativa and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic Î²-cells of streptozotocin-induced diabetic rats. J Diabetes. 2010;2(4):256-66.

17. Nair HB, Sung B, Yadav VR, Kannappan R, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Delivery of antiinflammatory nutraceuticals by nanoparticles for the prevention and treatment of cancer. Biochem Pharmacol. 2010;80(12):1833-43.

18. Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. Life Sci. 2009 16;85(23-26):830-4

19. Kanter M. Protective effects of thymoquinone on streptozotocin-induced diabetic nephropathy. J Mol Histol. 2009; 40(2):107-15.

20. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Mafakheri M. Neuroprotective effect of silymarin in 6-hydroxydopamine hemi-parkinsonian rat: involvement of estrogen receptors and oxidative stress. Neurosci Lett. 2010;480(3):206-10.

21. Sedaghat R, Roghani M, Ahmadi M, Ahmadi F. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effect of Rumex patientia seed preparation in streptozotocin-diabetic rats. Pathophysiology. 2011;18(2):111-5

22. Roghani M, Baluchnejadmojarad T. Mechanisms underlying vascular effect of chronic resveratrol in streptozotocin-diabetic rats. Phytother Res. 2010;24:S148-54.

23. Fararh KM, Ibrahim AK, Elsonosy YA. Thymoquinone enhances the activities of enzymes related to energy metabolism in peripheral leukocytes of diabetic rats. Res Vet Sci. 2010;88(3):400-4.

24. Hamdy NM, Taha RA. Effects of Nigella sativa oil and thymoquinone on oxidative stress and neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharmacology. 2009;84(3):127-34.

Daneshvar

Medicine

Dose-dependent effect of thymoquinone on markers of oxidative stress in renal tissue of diabetic rats

Mehrdad Roghani[1], Tourandokht Baluchnejadmojarad[2]

1. Professor of Physiology-Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University and Medicinal Plant Research Center, Tehran, Iran
2. Professor of Physiology-Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

E-mail: mehjour@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Due to important role of enhanced oxidative stress in development of renal disorder in diabetes and with regard to antidiabetic and antioxidant effect of thymoquinone, this study was conducted to evaluate the effect of its administration on renal tissue level of some markers of oxidative stress in diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, Wistar rats were divided into 5 groups, i.e. control, high dose thymoquinone-treated control (20 mg/kg), diabetic, and thymoquinone-treated diabetic groups (10 and 20 mg/kg). After 4 weeks, tissue level of malondialdehyde and nitrite and activity of superoxide dismutase (SOD) in kidney tissue were measured.

Results: Diabetic rats showed a significant increase in tissue level of malondialdehyde ($p<0.01$) and nitrite ($p<0.05$) and a significant reduction in SOD activity ($p<0.05$) and thymoquinone treatment at a high dose significantly reduced only levels of MDA and nitrite ($p<0.05$) and SOD activity in treated-diabetic groups was non-significantly higher as compared to diabetics.

Conclusion: Chronic treatment with thymoquinone dose-dependently could attenuate some markers of oxidative stress in renal tissue from diabetic rats.

Key words: Thymoquinone, Diabetes mellitus, Malondialdehyde, superoxide dismutase, Nitric oxide metabolite, Kidney

Scientific-Research Journal of Shahed University Seventeenth Year, No.96 December, January 2011-2012

Received: 6/9/2011
Last revised: 6/2/2011
Accepted: 10/1/2012

Daneshvar(medicine) shahed University/ 19th year/2011-2012/NO.96