

دانشور

پزشکی

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

نویسندگان: مهرداد روغنی*، توراندخت بلوچ نژاد مجرد^۲

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

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

E-mail: mehjour@yahoo.com

* نویسنده مسئول: مهرداد روغنی

چکیده

مقدمه و هدف: با توجه به نقش تشدید استرس اکسیداتیو در بروز بیماری کلیوی در حالت دیابت و با در نظر گرفتن خاصیت ضد دیابتی و آنتی اکسیدانسی 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) تقسیم شدند. پس از گذشت چهار هفته، سطح بافتی مالون دی آلدئید و نیتريت و میزان فعالیت سوپراکسید دیس موتاز بافت کلیه، اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: موش‌های دیابتی، افزایشی معنادار در سطح بافتی مالون دی آلدئید ($p < 0/01$) و نیتريت و نیتريت ($p < 0/005$) و کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ($p < 0/05$) را نشان دادند و درمان با تیموکینون در دوز بالا فقط میزان مالون دی آلدئید و نیتريت را به صورت معنادار کاهش داد ($p < 0/05$) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در موش‌های دیابتی تیمار شده به طور غیرمعنی‌دار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش نشان داد.

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

واژگان کلیدی: تیموکینون، دیابت قندی، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیس موتاز، متابولیت نیتريك 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 اختلالات های دیگر، نظیر بیماری کلیوی محسوب می‌شود (۱). مشکلات کلیوی ناشی از دیابت، درصدی بالا از افراد جامعه را در سنین بالا گرفتار می‌کند (۲). از نظر بالینی، حتی در زمان تشخیص، بیماری دیابت به میزانی زیادی پیشرفت کرده است که این اهمیت کنترل رژیم غذایی و لزوم استفاده از درمان‌ها و اقدام‌های پیشگیری کننده را به خوبی مشخص می‌کند (۲ و ۳)؛ دیابت قندی، همچنین با استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن ارتباطی نزدیک دارد. مطالعاتی مختلف نشان داده‌اند که افزایش قند خون با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است و خود این بسیاری از عوارض بیماری را به دنبال دارد (۴-۶). 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 نیتريت و نترات و کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانتي نظیر سوپراکسید دیس موتاز است (۶ و ۷). کاهش دادن این تغییرها در حالت دیابت قندی با استفاده از گیاهان دارویی و مواد مؤثر آنها با خاصیت ضددیابتی و آنتی اکسیدانتي، 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 کاربرد دارد (۸-۱۰). تأثیرهای حفاظتی سیاهدانه از نظر کاهش دادن میزان پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش دادن 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 و ۱۲). مهم‌ترین ماده مؤثر در سیاهدانه، تیموکینون است که آثار ضدالتهابی، ضدسرطانی و آنتی

اکسیدانتي آن گزارش شده‌اند (۱۳)؛ این ماده فعالیت آنزیم‌های متابولیک کبدی را بهبود بخشیده، دارای اثر آنتی هیپرگلیسمیک است و استرس اکسیداتیو را در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین در بافت کبد کاهش می‌دهد؛ همچنین یک مهارکننده غیرآنزیمی پراکسیداسیون لیپیدی در محسوب می‌شود و کاهش آسیب مغز در مدل تجربی ایسکمی را موجب می‌شود و مقاومت بافتی را نسبت به استرس اکسیداتیو افزایش می‌دهد (۱۴-۱۸). هرچند اثر تیموکینون بر کاهش برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت‌هایی نظیر کبد در حالت دیابت تجربی پیش‌تر تأیید شده است (۱۸) و آثار حفاظتی آن بر بافت کلیه در جلوگیری از تغییرهای ساختمانی در حالت دیابت نیز اثبات شده است (۱۹) گزارشی درباره اثرهای سودمند تجویز آن در حالت دیابت بر معیارهای مرتبط با استرس اکسیداتیو در بافت کلیه یافت نمی‌شود؛ لذا هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثر تجویز تیموکینون بر سطح بافتی برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی بوده است

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 استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتیگراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) به مدت شش هفته دسترسی داشتند؛ درضمن، بررسی بر-اساس پروتکل‌ها و دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوان‌های آزمایشگاهی و راهکارهای عملی موجود در داخل کشور به انجام رسید. در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط

اساس روش اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید، واکنش تیوباریتوریک اسید TBA است (۲۰)؛ در این آزمایش، مالون دی آلدئید یا مواد شبه مالون دی آلدئید با تیوباریتوریک اسید واکنش داده، 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 انجام شد. بعد از سرد کردن نمونه، جذب نوری خوانده شد. منحنی استاندارد نیز براساس رقت‌های تترا اتوکسی پروپان تهیه شد و جذب‌های نوری به دست آمده از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد تطبیق داده شدند.

سنجش نیتريت و نیترات بافتی

سنجش میزان نیتريك اكساید بافت کلیه به‌طور غیر-مستقیم براساس واکنش گریس انجام شد (۲۱). در اینجا میزان نیتريت و نیترات به‌عنوان شاخص نیتريك اكساید در نظر گرفته شدند. محلول کاری، شامل سولفانیل آمید ۱ درصد، نفتیلن اتیلن دی آمید دی هیدروکلرید ۰/۱ درصد و ارتوفسفریک اسید ۲/۵ درصد بود. جذب نوری نمونه در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده و برای منحنی استاندارد از رقت‌های مختلف نیتريت سدیم استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۲۲)

اساس این اندازه‌گیری بر مهار احیا نیتروبلوترازولیوم توسط سیستم گزانتین-گزانتین اكسیداز به‌عنوان تولید کننده سوپراکسید است. در این آزمایش از محلول کاری، شامل گزانتین، گزانتین اكسیداز در بافر پتاسیم فسفات و نیتروبلوترازولیوم استفاده شد. جذب نوری هر نمونه به مدت ۵ دقیقه، هر ۳۰ ثانیه یک بار خوانده شد. برای به‌دست آوردن درصد مهار انجام شده با آنزیم SOD، داده‌های حاصل، از فرمول مربوطه بر اساس دستورالعمل کیت (سیگما، آمریکا) استفاده شد. با انطباق درصد مهار روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم به دست آمد و فعالیت آن برحسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

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 رترواوریبتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده شد. حجم خون اخذ شده 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) تقسیم شدند. تیموکینون هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین (سیگما، آلمان) به مدت سه هفته (خوراکی و روزانه) تجویز شد. داروی تیموکینون در حلال کروموفور (سیگما، آمریکا) حل شد. برای دیابتی کردن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به‌صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوان‌ها، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل شد 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 در نظر گرفتن آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار برابری می‌کند 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 به تدریج دیده شد. در ضمن، کاهش وزن در پایان کار در تمام موش‌ها مشاهده شد. تعیین میزان وزن حیوان‌ها قبل از انجام کار و در طی هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی به‌انجام رسید؛ همچنین، اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اكسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) انجام شد.

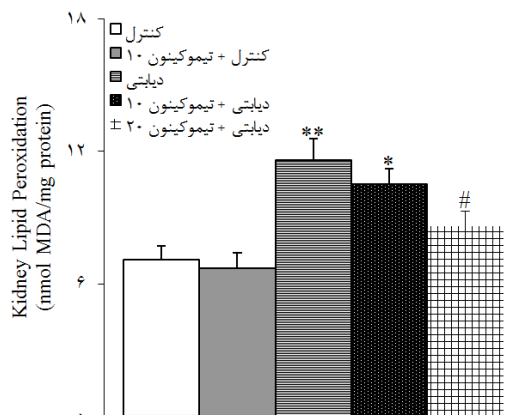
سنجش مالون دی آلدئید بافتی

پس از پایان کار، بافت کلیه از بدن جدا شده، پس از تهیه هموژنه بافت در محلول سالین سرد، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شده، برای سنجش استفاده شد.

سنجش پروتئین

سنجش پروتئین به روش برادفورد که پیش‌تر توصیف شده است، انجام گرفت (۲۲)؛ در این رابطه، سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ nm

خوانده شد؛ در نهایت، غلظت پروتئین در نمونه‌ها با استفاده از انطباق مقادیر جذب‌های نوری حاصل از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد (رسم شده برای غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی) به دست آمد.



نمودار شماره ۱. میزان مالون دی آلدئید بافت کلیه در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با تیموکینون (در مقایسه با گروه کنترل)، $p < 0.01$ ** $p < 0.05$ * (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده) $p < 0.05$ #

آنالیز آماری

از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد. پس از مشخص کردن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر معیار در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های زمانی از آزمون آنووا یک‌طرفه و پست تست توکی استفاده شد؛ به علاوه، سطح معنی دار، $p < 0.05$ برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها در هفته قبل کار (سطح پایه) مشاهده نشد؛ گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون نیز در هفته دوم، کاهش مختصر و در هفته چهارم افزایشی در وزن را نشان داد. در گروه دیابتی در هفته چهارم، کاهش معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل بررسی ($p < 0.05$) مشاهده شد؛ همین وضعیت درباره‌ی گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده تیموکینون به میزان‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

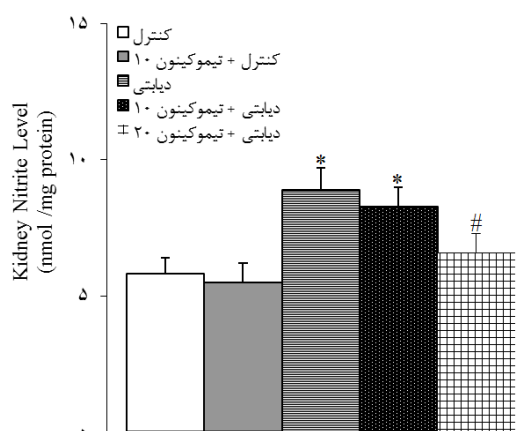
نیز وجود داشت هرچند کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دیابتی در هفته چهارم کمتر بود.

در خصوص میزان گلوکز سرم، در هفته قبل از بررسی تفاوتی معنی‌دار میان گروه‌ها یافت نشد، در هفته چهارم، میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در حد معنی‌دار ($p < 0.0005$) تا $p < 0.005$ بیشتر از گروه کنترل بود هرچند که با افزایش دوز تیموکینون، این افزایش میزان گلوکز سرم تخفیف یافت؛ به علاوه، در گروه دیابتی تحت درمان با دوز بالای تیموکینون، میزان گلوکز سرم در هفته چهارم به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($p < 0.05$)؛ به علاوه، گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون تغییر معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد.

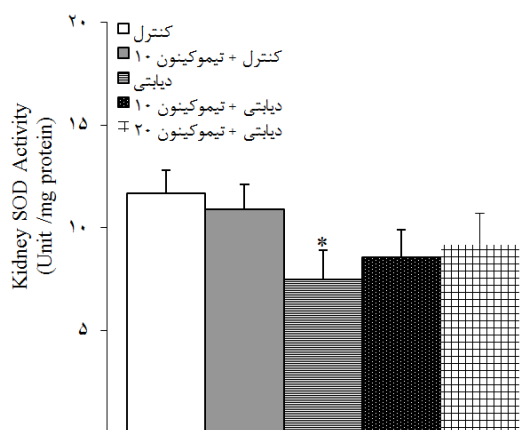
سطح مالون دی آلدئید (MDA) در بافت کلیه

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، کاهش مختصر و غیرمعنادار را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. در گروه دیابتی تیمارنشده در هفته چهارم، سطح مالون دی آلدئید، افزایشی قابل‌ملاحظه و

معنی‌دار را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p < 0.01$)، در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با تیموکینون، میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت به 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 ($p < 0.05$). (نمودار ۱).



نمودار شماره ۲. میزان نیتريت و نیترات در بافت کلیه در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با تیموکینون ($p < 0.05$ *) (در مقایسه با گروه کنترل)، # ($p < 0.05$) (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده)



نمودار شماره ۳. میزان فعالیت سوپر اکسید دیس موتاز در بافت کلیه در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با تیموکینون ($p < 0.05$ *) (در مقایسه با گروه کنترل)

گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون در حد مختصر پایین‌تر از گروه کنترل است؛ به‌علاوه، افزایشی معنادار

با اندازه‌گیری سطح بافتی نیتريت و نیترات در گروه‌های مختلف مشخص شد (نمودار ۲) که سطح آن در

درباره آن در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل وجود داشت ($p < 0/05$)؛ در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با تیموکینون نیز این افزایش در حد کمتر نسبت به گروه کنترل وجود داشت ($p < 0/05$)؛ به علاوه، در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون، میزان این متابولیت‌ها در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معنی‌دار کمتر بود ($p < 0/05$).

بحث

بر اساس نتایج این بررسی، موش‌های دیابتی، افزایشی معنادار در سطح بافتی مالون دی آلدئید و نیتريت و نیترات و کاهش معنی‌دار در سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز را نشان دادند و درمان با تیموکینون در دوز بالا فقط میزان مالون دی آلدئید و نیتريت را به‌صورت معنادار کاهش داد و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در موش‌های دیابتی تیمارشده به‌طور غیرمعنی‌دار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش نشان داد.

نتایج مطالعات پیشین درباره تیموکینون در حیوان‌های دیابتی نشان می‌دهد که این ماده در جهت حفاظت بافت‌ها نظیر کبد در برابر عوامل آسیب‌رسان عمل کرده، 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 (۱۴)؛ 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 عمل کنند (۱۴ و ۱۸)؛ 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 نسبت داد (۱۴)؛ البته شواهدی وجود دارند که نشان می‌دهند 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 سبب‌شود (۱۴ و ۱۸).

از طرف دیگر، تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی بروز عوارض بیماری‌های متابولیک، نظیر دیابت قندی را موجب می‌شود که این در نهایت، اختلال عملکردی بافت را به دنبال دارد (۱ و ۶)؛ در این خصوص، به دنبال بروز دیابت با گذشت زمان میزان پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد که این خود را با بالا رفتن سطح برخی مشخصه‌ها نشان می‌دهد که از بهترین آنها، مالون دی آلدئید و نیتريت و نیترات هستند (۶). با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو به دلیل تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن است و این مواد به دنبال کامل کردن مدار الکترونی خود هستند، مواد تشکیل‌دهنده سلول از جمله ساختارهای پروتئینی و لیپیدی آسیب می‌بینند که این با تغییرهای سطح آنزیم‌های بافتی نظیر کاهش سوپراکسید دیس موتاز خود را نشان می‌دهد (۱۸ و ۲۴)؛ همچنین، مطالعات مختلف نشان داده‌اند 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 مشاهده شد که این با گزارش‌های قبلی درباره بافت کبد همخوانی دارد (۴).

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

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 treatment 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. Pzdro 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 β -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.

دارابودن خاصیت آنتی اکسیداتی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نسبت‌داد (۱۳) و (۱۴) که از این نظر بسیار مشابه ویتامین E عمل می‌کند (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 (۱۴) که بدین ترتیب می‌توانند کاهش پراکسیداسیون لیپیدی را به‌دنبال‌داشته‌باشند (۸) و این خود می‌تواند کاهش سطح مالون دی‌آلدئید 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 دی‌آلدئید در نواحی بافتی از جمله بافت کلیه را در پی‌دارد.

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

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 اعلام می‌کنند.

16. Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al Wafai RJ. Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -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

*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

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

Mehrdad Roghani¹, Tourandokht Baluchnejadmojarad²

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