

اثر عصاره هیدروآتانولی دانه گیاه سیاه‌دانه بر سمیت کلیه موش‌های صحرایی نر القا شده با جنتامایسین

مریم خزایی، ناصر میرازی*

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۵

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۴/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: جنتامایسین یک آنتی‌بیوتیک آمینوگلیکوزیدی است که برای درمان انواعی از عفونت‌های باکتریایی به کار می‌رود. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره سیاه‌دانه بر سمیت کلیوی القا شده با جنتامایسین در موش‌های صحرایی نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۲ سرموش صحرایی نر بالغ، نژاد ویستار به ۶ گروه ۷ سری تقسیم شدند؛ کنترل (دریافت ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نرمال سالین به صورت درون صفاقی)، درمان شده با جنتامایسین (با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی)، کنترل مثبت (دریافت عصاره با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی) و تیمار ۱ و ۲ و ۳؛ درمان شده با جنتامایسین به میزان ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره دانه سیاه‌دانه به ترتیب با دوز ۴۰۰، ۲۰۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی). پس از ۱۰ روز تزریق جنتامایسین، عصاره سیاه‌دانه به مدت ۷ روز به موش‌ها تزریق شد. در پایان نمونه‌های خونی به صورت مستقیم از قلب جمع‌آوری شده و میزان کراتینین سرم، نیتروژن اوره خون و آنزیم لاکتات دهیدروژناز اندازه‌گیری شد و مطالعه‌های بافتی کلیه هم انجام گرفت.

یافته‌ها: جنتامایسین باعث نکروز و التهاب در بافت قشر و مرکز کلیه می‌گردد. درمان با عصاره دانه سیاه‌دانه سبب کاهش معنی‌دار کراتینین، BUN و LDH سرم در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه دریافت‌کننده جنتامایسین شد. بیشترین تأثیر را دوز بالا ایجاد نمود ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: عصاره دانه سیاه‌دانه موجب کاهش التهاب ناشی از دریافت جنتامایسین در بافت کلیه و کاهش معنی‌دار کراتینین، نیتروژن اوره و آنزیم لاکتیک دهیدروژناز در موش‌های تیمار شده نسبت به گروه شاهد شد.

واژه‌های کلیدی: سیاه‌دانه، سمیت کلیوی، جنتامایسین، موش صحرایی

* نویسنده مسول: ناصر میرازی، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

Email: mirazi205@gmail.com

مقدمه

کلیه‌ها از اعضای مهم و حیاتی بدن هستند که اعمال مختلفی از جمله؛ حفظ هومئوستاز، سمیت‌زدایی و دفع متابولیت‌های زائدسمی و دارویی را بر عهده دارند. سمیت کلیوی از اختلالاتی است که به دلیل مسمومیت بر اثر مواد شیمیایی سمی و داروها رخ می‌دهد. در این فرآیند عمل دفع به علت آسیب یا تخریب عملکرد کلیه بر اثر سموم به طور صحیح انجام نمی‌شود. سموم داخلی و خارجی مختلف باعث نقص در عملکرد کلیه می‌شوند و با مکانیسم‌های متفاوتی سمیت کلیوی را ایجاد می‌کنند (۱). سمیت کلیوی با یک آزمایش خون ساده تشخیص داده می‌شود. شاخص‌های خونی ارزیابی آن شامل اندازه‌گیری نیتروژن اوره خون (BUN)، میزان کراتینین سرم، میزان فیلتراسیون گلومرولی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان کلیرانس کراتینین می‌باشند. تقریباً ۲۰ درصد سمیت کلیوی به وسیله داروها القا می‌شود، اما دارو درمانی طولانی می‌تواند این میزان را تا ۶۶ درصد افزایش دهد (۲). جنتامایسین یکی از رایج‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی جدا شده از باکتری گرم مثبت میکرومونوسپورا پورپوره آ است که در خاک و آب یافت می‌شود. جنتامایسین در درمان عفونت باکتری‌های گرم منفی به کار می‌رود و هنوز تنها درمان مؤثر در مقابل میکروارگانیزم‌هایی مانند سودوموناس، پروتئوس و سراتیا که نسبت به دیگر آن‌تی بیوتیک‌ها مقاومند، می‌باشد. مسمومیت کلیوی و

آسیب‌های شنوایی استفاده کلینیکی از این دارو را محدود می‌کند (۳). جنتامایسین با مکانیسم‌هایی از قبیل ایجاد استرس اکسیداتیو، آپوپتوز، نکروز، افزایش نفوذپذیری ماکروفاژها و مونوسیت‌ها به قشر و مرکز کلیه و کاهش انرژی سلول‌های اپیتلیال کلیوی باعث القا سمیت کلیوی می‌گردد (۴). جنتامایسین باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و سایر رادیکال‌های آزاد می‌شود. مهم‌ترین واسطه مسمومیت کلیه با جنتامایسین تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. استرس اکسیداتیو ناشی از جنتامایسین باعث کاهش مکانیسم‌های دفاعی آن‌تی‌اکسیدان، القا نکروز لوله‌ای حاد، آسیب گلومرولی، التهاب کلیوی، کاهش جریان خون کلیه و افزایش سطح نیتریک اکساید می‌شود (۵). جنتامایسین از طریق تصفیه گلومرولی به داخل لوله‌های ادراری وارد و به فسفولیپیدهای آنیونیک هم‌چون فسفاتیدیل اینوزیتول یا فسفولیپید سرین در غشای رأسی پرزهای لوله پیچیده نزدیک متصل می‌شود. جنتامایسین سپس از طریق فرآیند پینوسیتوز فعال به درون لیزوزوم سلول‌های توبولی جذب شده، درون آن تجمع یافته و باعث افزایش نفوذپذیری غشای لیزوزومی از طریق تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن و در نتیجه القای آپوپتوز در سلول‌های لوله پیچیده نزدیک می‌شود. در نهایت موجب آسیب به غشای فسفولیپیدی لیزوزوم و اختلال در عملکرد طبیعی کلیه می‌شود (۶). مطالعه‌ها نشان داده که آن‌تی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش سمیت

کلیوی ناشی از جنتامایسین می‌گردد. احتمال می‌رود که آنتی‌اکسیدان‌ها بتوانند در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از آن‌ها مؤثر باشند. گیاهان دارویی منابع زیادی از انواع آنتی‌اکسیدان‌ها را دارا می‌باشند (۷). یکی از گیاهان دارویی با تاریخچه غنی طبی و مذهبی گیاه سیاه‌دانه می‌باشد. سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* L. از خانواده آلاله‌ها (Ranunculacea) و گیاهی گلدار با گل‌های سفید یا آبی کم‌رنگ تا آبی پررنگ است. میوه آن کپسول متورم بزرگی بوده و از ۳-۷ فولیکول متصل به هم تشکیل شده و دارای تعداد زیادی دانه‌های مثلی سفید یا شیری رنگ است. هنگامی که کپسول می‌رسد، باز می‌شود و دانه‌های آن به داخل فضا ریخته و در تماس با هوا سیاه می‌شوند. این گیاه بومی اروپای جنوبی، آفریقای شمالی و جنوب غربی آسیا است (۸). اجزای اصلی دانه سیاه‌دانه شامل: روغن‌های فرار و غیر فرار، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، فسفولیپیدها، ترکیب‌های فنولی، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، مواد معدنی، ویتامین‌ها، فیبر و ساپونین می‌باشد (۹). تا کنون اثرات دارویی مختلفی از جمله: اثرات ضد التهابی، ضد درد، ضد اسپاسم، ضد آسمی، ضد سرطانی، ضد میکروبی، ضد انگلی، آنتی‌اکسیدانی و تقویت کننده سیستم ایمنی از سیاه‌دانه شناسایی شده است (۱۰). در این مطالعه با توجه به خصوصیات ذکر شده در مورد عصاره دانه سیاه‌دانه و نظر به این که تا کنون با دوز استفاده شده در این پژوهش و با مدت زمان به کار رفته در آن

روند محافظتی از بافت کلیه در برابر آسیب ناشی از جنتامایسین تحقیقی انجام نشده است، بر آن شدیم تا نقش محافظتی این گیاه را در به تأخیر انداختن سمیت کلیوی و جلوگیری از پیشرفت بیماری مورد بررسی و ارزیابی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی همدان خریداری شد و به مدت ۱۰ روز در حیوان خانه دانشکده علوم پایه همدان در دمای استاندارد، همراه با آب و غذای کافی و در دسترس و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند تا با شرایط محیط عادت نمایند. در این مطالعه کلیه موارد اخلاقی مورد تأیید کمیته اخلاق پزشکی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا رعایت شد. حیوانات به طور تصادفی در ۶ گروه ۷ سری شامل؛ گروه کنترل (دریافت کننده سالین نرمال به میزان ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم)، گروه دریافت کننده جنتامایسین (دریافت کننده جنتامایسین با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گروه کنترل مثبت (دریافت کننده عصاره سیاه‌دانه با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و ۳ (دریافت کننده جنتامایسین با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به علاوه دوزهای متفاوت به ترتیب: ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره سیاه‌دانه) تقسیم شدند. دریافت جنتامایسین به مدت

تهیه سرم با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. پس از استحصال سرم سطح نیتروژن اوره خون، کراتینین سرم و آنزیم لاکتات دهیدروژناز با روش رنگ سنجی آنزیمی و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر (Auto analyzer Selectra- XL — هلند) اندازه‌گیری شد. با انجام لاپاراسکوپي نمونه‌های بافت کلیه تهیه و پس از شستشو به وسیله سرم فیزیولوژی بلافاصله در فرمالین ۱۰ درصد جهت فیکس شدن و تهیه مقاطع بافتی قرار داده شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌آماري SPSS و آزمون‌های آماری گولموگروف - اسمیرنوف، آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

داروی جنتامایسین باعث افزایش معنی‌دار غلظت پلاسمایی کراتینین در گروه دریافت کننده جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل و گروه کنترل مثبت گردید ($p < 0.001$)، در حالی که درمان با عصاره هیدروالکی سیاهدانه باعث کاهش معنی‌دار میزان کراتینین در گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه دریافت کننده جنتامایسین شد ($p < 0.001$). درمان با عصاره سیاهدانه در گروه تیمار ۱ و ۲ و گروه کنترل مثبت اثر معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۱).

۱۰ روز متوالی انجام شد و سپس تجویز عصاره سیاهدانه به مدت ۷ روز متوالی به حیوانات داده شد. تمام آزمایش‌ها در طول روز و تمام تزریقات به صورت درون صفاقی انجام شد (۱۰).

عصاره‌گیری بر اساس منابع قبلی انجام شد (۱۲). به این منظور ابتدا دانه گیاه سیاهدانه از شهر همدان تهیه و شناسایی علمی آن به وسیله کارشناس گیاه شناس دانشگاه بوعلی سینا صورت گرفت. گیاه به منظور جداسازی بهتر و مؤثرتر مواد فعال موجود در آن به وسیله آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شد. پودر گیاه در ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد قرار گرفت و به منظور ممانعت از اثرات دمای محیط و جلوگیری از اختلالات متأثر از دمای محیط به مدت یک هفته داخل یخچال نگهداری شد. سپس به وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای صاف شد و محلول حاصل در دستگاه روتاری، با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و با دور متوسط ۶۰ دور در دقیقه به منظور جداسازی حلال از عصاره قرار گرفت. پس از خروج حلال مایع غلیظ نیمه جامد به دست آمده داخل پلیت شیشه‌ای ریخته شده و به مدت ۲ روز زیر هود قرار داده شد. بعد از آن که عصاره کاملاً تغلیظ شد، جهت جلوگیری از ورود هوا در پلیت‌ها بسته شد و تا زمان مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

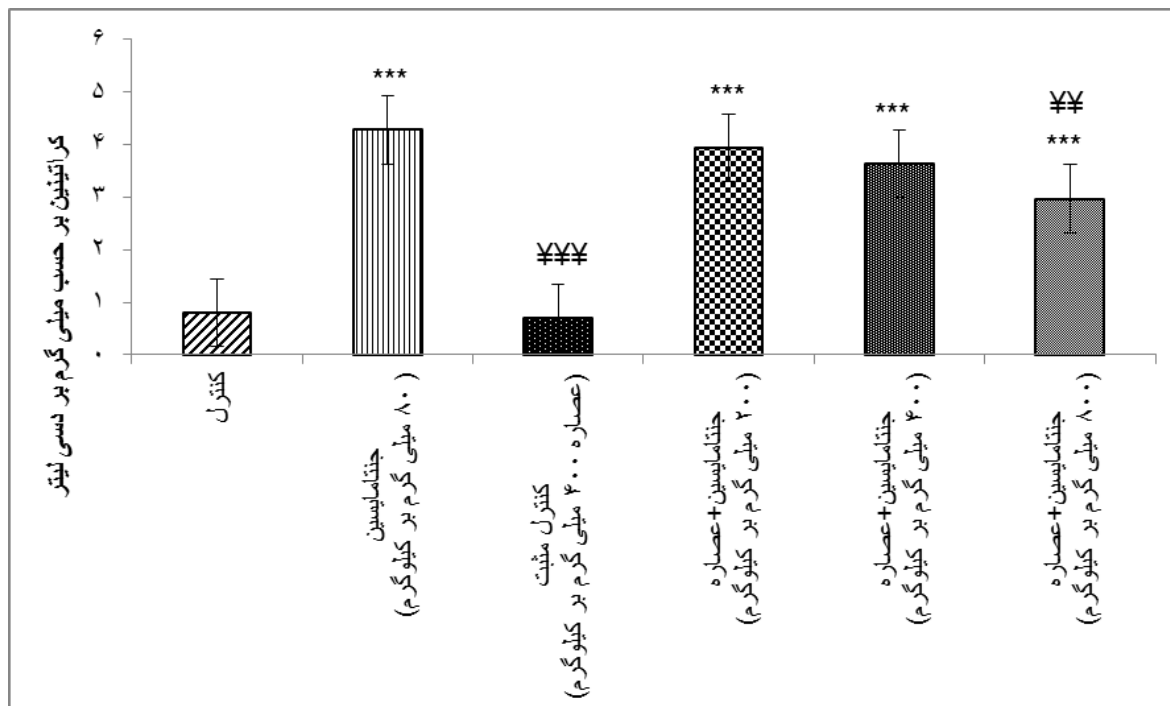
بعد از اتمام آزمایش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه، بعد از گذشت ۱۷ روز خون‌گیری مستقیم از قلب انجام شد. سپس نمونه‌های خون تهیه شده جهت

آنزیم در گروه تیمار ۲ با ($p < 0.01$) و در گروه تیمار ۳ با ($p < 0.001$) در مقایسه با گروه دریافت کننده جنتامایسین شد. درمان با عصاره سیاه‌دانه در گروه تیمار ۱ و گروه کنترل مثبت اثر معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۳).

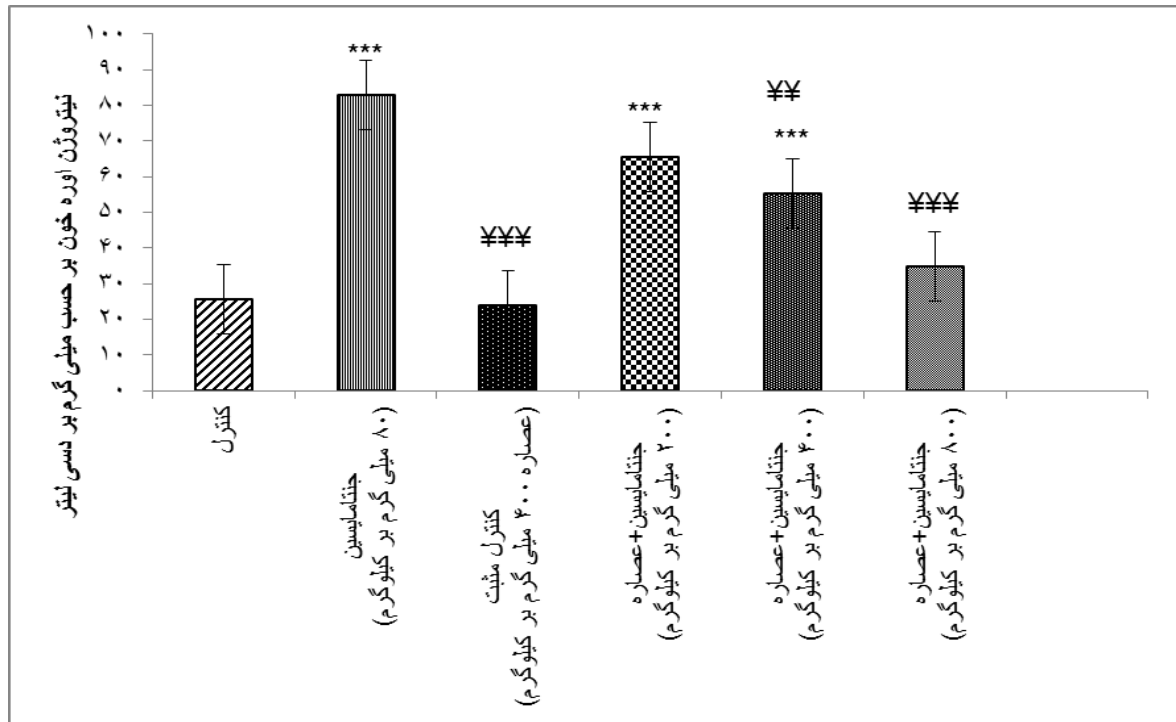
مطالعه‌های بافتی نشان داد مواجهه با جنتامایسین موجب تغییرات آسیب‌شناسی در ساختار لوله‌ها، گلومرول و بافت بینابینی کلیه می‌شود. این تغییرات شامل دژنراسیون و نکروز سلول‌های لوله‌ای، تشکیل قالب‌های پروتئینی در داخل لومن، واکوئل‌دار شدن سلول‌های لوله‌ای، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در کلافچه گلومرولی و افزایش فضای کپسول بومن بود (شکل ۱).

هم‌چنین جنتامایسین باعث افزایش معنی‌دار غلظت پلاسمایی اوره در گروه دریافت کننده جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل و گروه کنترل مثبت شد ($p < 0.001$)، در حالی که درمان با عصاره هیدروالکی سیاه‌دانه باعث کاهش معنی‌دار میزان اوره در گروه تیمار ۲ و ۳ در مقایسه با گروه دریافت کننده جنتامایسین شد ($p < 0.001$). درمان با عصاره سیاه‌دانه در گروه تیمار ۱ و گروه کنترل مثبت اثر معناداری را نشان نداد (نمودار ۲).

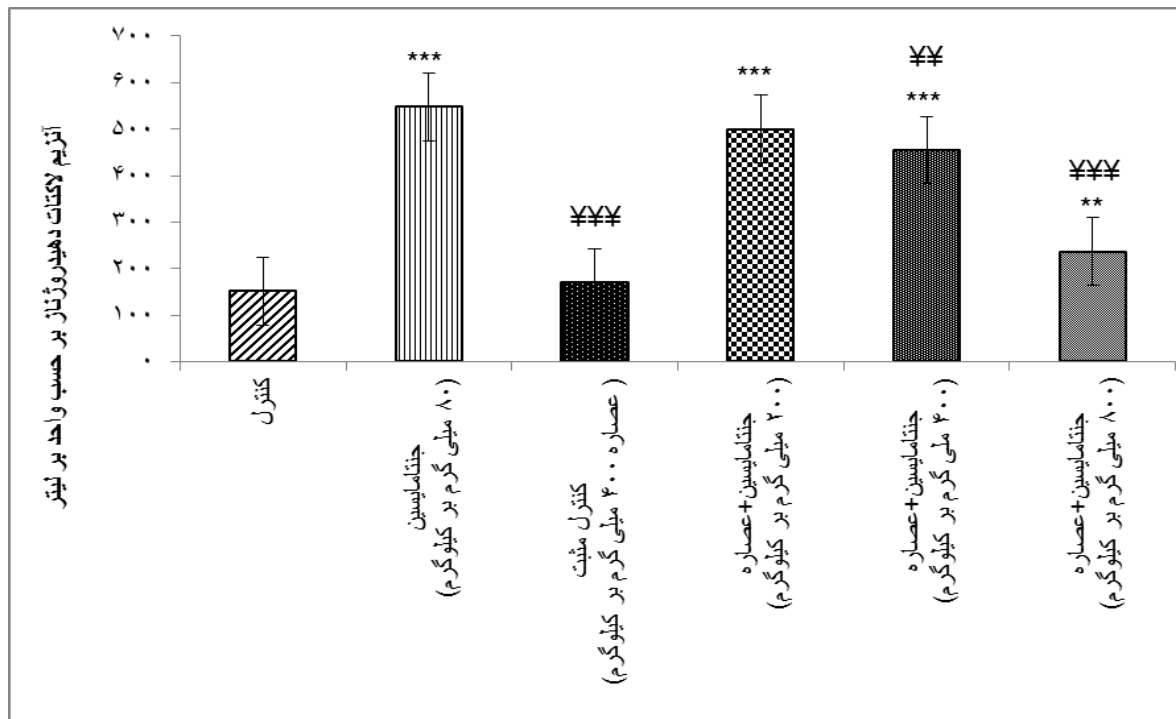
جنتامایسین باعث افزایش معنی‌دار میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز در گروه دریافت کننده جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل و گروه کنترل مثبت گردید ($p < 0.001$)، در حالی که درمان با عصاره هیدروالکی سیاه‌دانه باعث کاهش معنی‌دار میزان



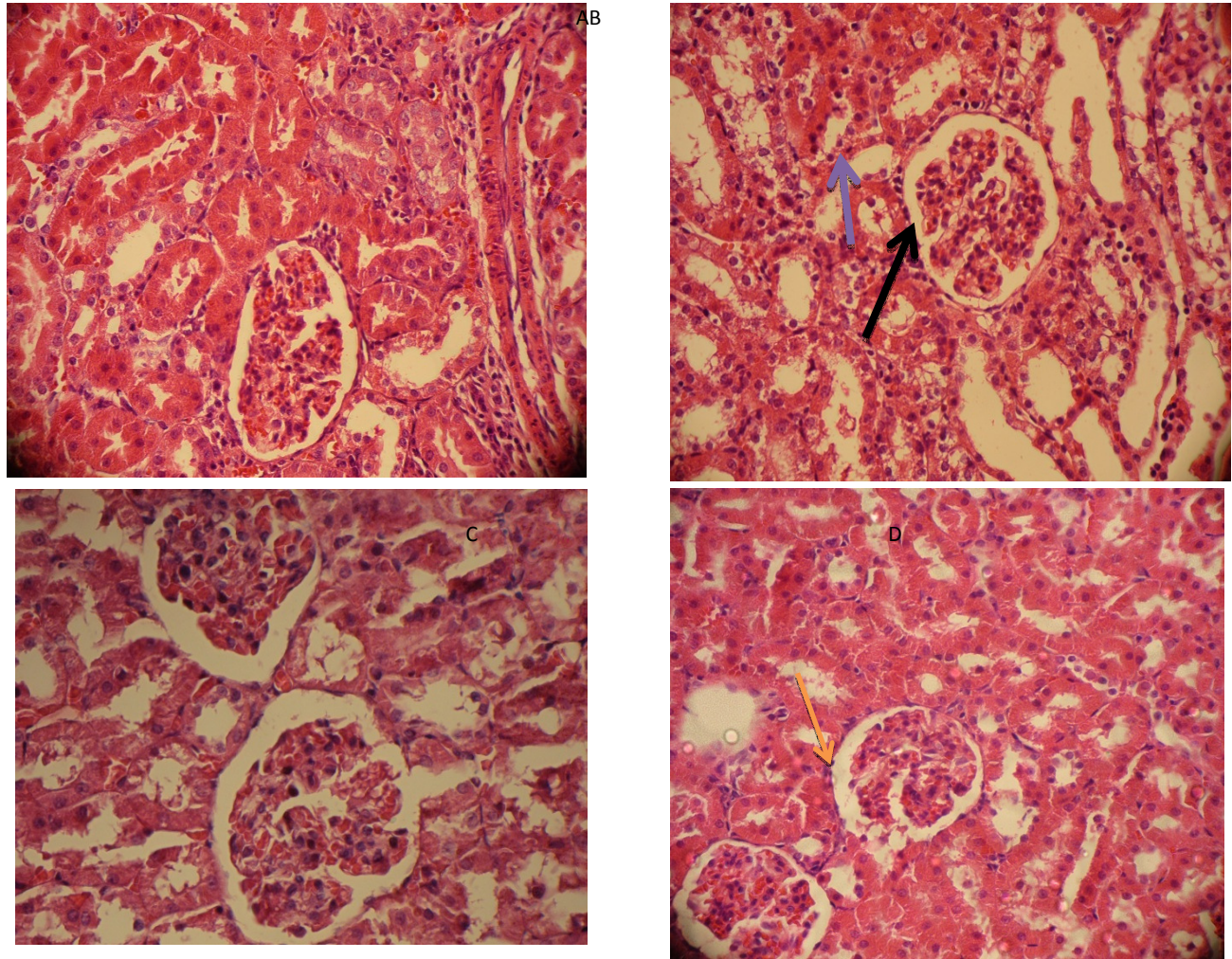
نمودار ۱: مقایسه داده‌های حاصل از سنجش کراتینین سرم در گروه‌های مورد آزمون. * بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، ††† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه جنتامایسین، ††† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه عصاره ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم



نمودار ۲: داده‌های حاصل از سنجش نیترژن اوره خون در گروه‌های مورد آزمون. * بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه جنتامایسین. ‡ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه عصاره ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم.



نمودار ۳: داده‌های حاصل از بررسی آنزیم لاکتات دهیدروژناز در گروه‌های مورد آزمون. * بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه جنتامایسین. ‡ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه عصاره ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم.



شکل ۱: فتو میکروگراف تهیه شده از بافت کلیه در گروه های مورد آزمون. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین و بزرگنمایی $\times 400$.
 A: مقطع بافتی گروه کنترل: توبول و گلومرول در حالت طبیعی می باشند. B: مقطع بافتی گروه دریافت کننده جنتامایسین: سلول های توبولی دژنره شده و نکروز پیدا کرده اند (پیکان آبی)، افزایش هجوم لنفوسیت ها دیده می شود (پیکان سیاه)، قالب های پروتئینی در لومن لوله تشکیل شده و فضای کپسول بومن افزایش یافته است. C: مقطع بافتی گروه کنترل مثبت (دریافت عصاره سیاه دانه با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، D: مقطع بافتی گروه تیمار سه (دریافت کننده جنتامایسین + عصاره سیاه دانه با دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم): کاهش نکروز و ریزش سلول ها، کاهش هجوم لنفوسیت ها (پیکان نارنجی)، کاهش تشکیل قالب های پروتئینی و کاهش فضای کپسول بومن مشاهده می شود.

بحث

قالب های پروتئینی در داخل لومن، واکوئل دار شدن سلول های لوله ای، کاهش تعداد گلبول های قرمز در کلافچه گلومرولی و افزایش فضای کپسول بومن را نشان داد. درمان با عصاره سیاه دانه کاهش معنی داری را در غلظت پلاسمایی کراتینین، اوره و آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) نشان داد. همچنین

نتایج این مطالعه نشان داد که ۱۰ روز درمان با جنتامایسین موجب افزایش غلظت پلاسمایی کراتینین، اوره و آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) و همچنین کاهش کلیرانس کلیوی شد. نتایج حاصل از مطالعه های بافتی نکروز سلول های لوله ای، تشکیل

مطالعه‌های بافتی نشان داد که عصاره سیاهدانه توانست نکروز سلول‌های لوله ای، تشکیل قالب‌های پروتئینی در داخل لومن، واکوئل‌دار شدن سلول‌های لوله‌ای و فضای کپسول بومن را کاهش دهد و باعث افزایش معنی‌دار کلیرانس کراتینین شود.

گونه‌های فعال اکسیژن و به طور عمده آنیون سوپراکسید با منشأ میتوکندریایی و هیدروکسیل ناشی از هیدروژن پراکسید باعث ایجاد آسیب و مرگ سلولی با مکانیسم‌های مختلفی می‌شود. مهم‌ترین مکانیسم ایجاد سمیت کلیوی با جنتامایسین استرس اکسیداتیو می‌باشد (۱۳). جنتامایسین بر میتوکندری‌های قشر کلیه اثر گذاشته و باعث تولید متابولیت‌های فعال اکسیژن از جمله هیدروژن پراکسید می‌شود و از این طریق باعث ایجاد آسیب سلولی می‌گردد. جنتامایسین باعث باز شدن منافذ گذرای میتوکندری شده، در نتیجه سیتوکروم C رها شده و باعث اختلال در زنجیره تنفسی می‌گردد که با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن از زنجیره انتقال الکترون همراه است (۱۴). به نظر می‌رسد که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها بتواند در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از آن‌ها مؤثر باشد. در مطالعه‌ای نشان داده شد که گیاه گزنه‌دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، اتساع رگی، کاهش دهنده چربی خون و کاهش دهنده قندخون می‌باشد.

این گیاه حاوی ترکیب‌هایی مانند اسیدهای چرب، کاروتنوئیدها مانند لیکوپن، فنول‌ها، فلاونوئیدها، نئوگزانتین و ویلوگزانتین است. عصاره متانولی گزنه

حاوی ترکیب‌های فنولی می‌باشد که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را به دام انداختن رادیکال‌های آزاد ناشی از جنتامایسین، باعث کاهش غلظت اوره و کراتینین کلیرانس کراتینین شد که این اثرات را به ترکیب‌های فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نسبت داده‌اند (۱۵). عصاره سیاهدانه نیز حاوی ترکیب‌های فنولی متعددی می‌باشد (۹). ترکیب‌های فنولی ترکیب‌ها با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند که باعث ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی در فرآورده‌های گیاهی می‌شوند. این ترکیب‌های طبیعی اغلب در برابر رادیکال‌های آزاد مضر، از بدن محافظت می‌کنند (۱۶). مطالعه‌ها نشان داده‌اند که یک رابطه مثبت بین ترکیب‌های فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از گونه‌های گیاهی وجود دارد. توانایی به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد به وسیله ترکیب‌های فنولی، به دلیل گروه هیدروکسیل و خاصیت احیاکنندگی آن‌هاست (۱۷). در مطالعه حاضر عصاره سیاهدانه توانست با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد موجب کاهش آسیب توبولی و آپوپتوز شده و غلظت اوره و کراتینین پلاسما را کاهش دهد. این اثرات می‌تواند به اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی موجود در سیاهدانه مربوط باشد که باعث بهبود لوله‌ای در کلیه می‌شود و با نتایج سایرین مطابقت دارد.

جنتامایسین با اثر روی سلول‌های مزانژیال گلومرولی باعث انقباض این سلول‌ها و در نتیجه کاهش ضریب تصفیه گلومرولی (K_f) و میزان تصفیه

گلوومرولی (GFR) می‌گردد. با کاهش GFR، کلیرانس کراتینین هم کاهش یافته که باعث تجمع کراتینین و اوره در خون می‌شود. افزایش تولید آنیون سوپراکسید نقش مهمی در القای انقباض سلول‌های مزانژیالی دارد (۱۸). کاهش در تصفیه اوره و میزان GFR از عوامل کاهش قدرت کلیه در تغلیظ ادرار است (۱۹). در پژوهشی نشان داده شد که گلیسیریزین (glycyrrhizin) به علت خاصیت تنظیم‌کنندگی افزایش تنظیم آکوپورین ۲ و از طرف دیگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی با کاهش استرس اکسیداتیو و کمتر کردن آسیب لوله‌ای، باعث بهبود بخشی به توانایی تغلیظ ادرار می‌شود (۲۰). در این پژوهش نشان داده شد که عصاره سیاه‌دانه باعث کاهش غلظت اوره و کراتینین پلاسما می‌شود که با نتایج سایرین مطابقت دارد.

جنتامایسین سطح نیتروژن اوره خون، کراتینین و پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش داده و باعث کاهش سطوح آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود که باعث افزایش آسیب اکسیداتیو می‌گردد. همچنین مطالعه‌های بافت‌شناسی نشان داد که جنتامایسین باعث تخریب گلومرول و لوله‌های کلیوی می‌شود (۲۱). گیاه آویشن شیرازی دارای فعالیت ضد ویروسی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌باشد. عصاره آویشن شیرازی حاوی فلاونوئیدها بوده که کاهنده استرس اکسیداتیو در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیک و بیماری‌ها هستند. تحقیقات نشان داده‌اند درمان با عصاره متانولی آویشن شیرازی می‌تواند با به دام اندازی رادیکال‌های

آزاد باعث کاهش نکرز سلول‌های لوله‌ای و افزایش فعالیت سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی شود و سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین را کاهش دهد. این اثرات را مربوط به وجود ترکیب‌های فلاونوئید موجود در آن دانسته‌اند (۲۲). کوئرستین یک فلاونوئید می‌باشد که از گیاهان مشتق شده است. در پژوهشی گزارش شده است که کوئرستین می‌تواند بافت‌های کلیوی آسیب دیده را بهبود بخشد و پارامترهای بیوشیمیایی کلیه را به حالت عادی برگرداند و از این طریق باعث کاهش سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین شود (۲۳). سیاه‌دانه نیز حاوی فلاونوئیدهایی از جمله کوئرستین است. فلاونوئیدها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند که به دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل و فنولی در ساختمان آن‌ها است. یکی از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی این ترکیب‌ها به دام انداختن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد و می‌توانند آسیب لوله‌ای ناشی از جنتامایسین را کاهش دهند. فلاونوئیدها همچنین باعث کاهش نکرز سلول‌های لوله‌ای و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (۲۴). فلاونوئیدها دارای فعالیت آنتی‌فسفودی استرازی هستند و از این رو می‌توانند سطح نوکلئوتیدهای حلقوی درون سلولی را افزایش دهند. این نوکلئوتیدها (cAMP و cGMP) کاهنده استرس اکسیداتیو در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیک و بیماری‌ها می‌باشند (۲۵). در مطالعه حاضر عصاره هیدروالکی سیاه‌دانه با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، باعث کاهش نکرز سلول‌های لوله‌ای و افزایش مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی شد. این اثرات را به فلاونوئیدهای موجود در سیاه‌دانه و فعالیت

آنتی‌اکسیدانی در گیاهان بسیار متنوع می‌باشند، اما از آنجایی که ترکیب‌هایی نظیر؛ تیموکینون و فلاونوئیدهای موجود در عصاره این گیاه بسیار اثر بخش بوده و در بسیاری از گونه‌های گیاهان دارویی اثربخشی خود را به اثبات رسانیده‌اند، لذا تصور می‌شود که بیشترین خاصیت ضد التهابی و ضد تورمی عصاره دانه سیاه‌دانه مربوط به وجود این ترکیب‌ها باشد که موجب کاهش معنی‌دار التهاب در بافت کلیه شده است. از آنجایی که جداسازی ترکیب‌های مختلف این گیاه و استفاده از این ترکیب‌ها به طور جداگانه، می‌تواند سهم هر یک از آن‌ها را در بهبود سمیت کلیوی بهتر مشخص کند، لذا جهت بررسی کامل تر اثرات دانه گیاه سیاه‌دانه بر بافت کلیه، پیشنهاد می‌شود مطالعه‌های علمی و بالینی بیشتری جهت مشخص شدن مکانیسم و اثرات واقعی درمان با سیاه‌دانه به عمل آید تا نتایج قابل قبول‌تری در این خصوص ارایه شود.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه بوعلی سینا بوده که تحت حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشکده علوم پایه دانشگاه مذکور انجام پذیرفته است. همچنین نویسندگان مقاله از رامتین پاکزاد، کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی که در تهیه عصاره سیاه‌دانه این پروژه را کمک نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مربوط دانسته‌اند که با نتایج سایرین تطابق دارد.

در پژوهشی اثر ضد التهابی سیاه‌دانه با تست ادم القا شده با کاراجینان در پنجه موش بررسی شده است. اسانس سیاه‌دانه به دو صورت موضعی و خوراکی التهاب پای موش را کاهش می‌دهد. این اثر را مربوط به تیموکینون موجود در آن دانسته‌اند (۲۶). اثرات ضد التهابی داروهای گیاهی می‌تواند توان کاهش تورم و التهاب را در بافت‌های مختلف را داشته باشد. احتمالاً اسانس سیاه‌دانه از طریق مهار آزادسازی واسطه‌های التهابی توانسته است میزان التهاب را کاهش دهد. عصاره سیاه‌دانه نیز توانست التهاب ناشی از جنتامایسین را در کلیه کاهش دهد که احتمالاً این اثر ضد التهابی مربوط به تیموکینون موجود در آن باشد که با نتایج سایرین تطابق دارد.

استرس اکسیداتیو ناشی از جنتامایسین باعث آسیب سلول‌های لوله‌ای، نکروز شدن سلول‌های لوله‌ای و ریزش سلول‌ها به داخل لومن، تشکیل قالب‌های پروتئینی در لومن لوله، افزایش فشار داخل لومن و افزایش فضای کپسول بومن شد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد درمان با عصاره هیدروالکلی دانه گیاه سیاه‌دانه می‌تواند در بهبود آسیب کلیوی ناشی از تجویز جنتامایسین مؤثر باشد. این اثرات ممکن است مربوط به برخی از ترکیب‌های موجود در این گیاه از جمله مواد آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی موجود در آن باشد. هر چند ترکیب‌های

REFERENCES:

1. Shalmani I, Dabiri S, Ghaffari M. Quantitation evaluation of urinary protein with protein/creatinine ratio in random single urine sample in renal diseases. *RJMS* 2003; 10(33) :97-103.
2. SunYK, Aree M. Drug induced nephrotoxicity and its biomarkers. *Biomol Ther (Seoul)* 2012; 20(3): 268-72.
3. Hur E, Garip A, Camyar A, Ilgun S, Ozisik M, Tuna S, et al. The effects of vitamin D on gentamicin-induced acute kidney injury in experimental rat model. *Int J Endocrinol* 2013; 7 : 10.1155/2013/313528
4. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int* 2011; 79: 33-45.
5. Morsy MA, Ibrahim SA, Amin EF, Kamel MY, Rifaai RA, Hassan MK. Sildenafil ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats: role of iNOS and eNOS. *J Toxicol* 2014; 7: 10.1155/2013/387071.
6. Servais H, Ortiz A, Devuyst O, Denamur S, Tulkens PM, Mingeot-Leclercq MP. Renal cell apoptosis induced by nephrotoxic drugs: cellular and molecular mechanisms and potential approaches to modulation. *Apoptosis* 2008; 13(1):11-32.
7. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 2004; 74(17): 2157-84.
8. Ziaee T, Moharreri N, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological and toxicological effects of *Nigella sativa* and its active constituents. *JMP* 2012; 2(42): 16-42.
9. El-Tahir KEH, Bakeet DM. The black seed *Nigella sativa* L. a min for multi cure: a plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil. *J TaibahUni Med Sci* 2006; 1: 1-19.
10. Moghadam A, Khozani TT, Mafi A, Namavar MR, Dehghani F. Effects of platelet-rich plasma on kidney regeneration in gentamicin-induced nephrotoxicity. *J Korean Med Sci* 2017; 32(1): 13-21.
11. Randhawa MA, Alghamdi MS. Anticancer activity of *Nigella sativa* (black seed) - a review. *Am J Chin Med* 2011; 39(6):1075-91.
12. Mo J, Panichayupakaranant P, Kaewnopparat N, Nitiruangjarras A, Reanmongkol W. Woundhealing activities of standardized pomegranate rind extract and its major antioxidant ellagic acid in rat dermal wounds. *J Nat Med* 2014; 68(2): 377-86.
13. Yokouchi M, Hiramatsu N, Hayakawa K, Okamura M, Du S, Kasai A, et al. Involvement of selective reactive oxygen species upstream of proapoptotic branches of unfolded protein response. *J Biol Chem* 2008; 283(7): 4252-60.
14. Walker PD, Shah SV. Gentamicin enhanced production of hydrogen peroxide by renal cortical mitochondria. *Am J Physiol* 1987; 253: 495-9.
15. Ahmadi M, Hajhashemi S, Chehrei A, Hosseini N. Therapeutic effects of Urticadioicamethanolic extract on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Koomesh* 2014;15(2): 220-31.
16. Erasto P, Grierson DS, Afolayan AJ. Evaluation of antioxidant activity and the fatty acid profile of the leaves of *Vernonia amygdalina* growing in South Africa. *Food Chemistry* 2007; 104: 636-42.
17. Kaledaite R, Bernatoniene J, Majiene D, Dvorackova K, Masteikova R, Muselik J, et al. Investigation of antiradical activity of *Salvia officinalis* L, *Urticadioica* L, *Thymus vulgaris* L. Extracts as potential candidates for a complex therapeutic preparation. *J Med Plant Res* 2011; 5: 6090-6.
18. Martínez-Salgado C, Eleno N, Tavares P, Rodríguez-Barbero A, García-Criado J, Bolaños JP, et al. Involvement of reactive oxygen species on gentamicin-induced mesangial cell activation. *Kidney Int* 2002; 62(5): 1682-92.
19. Muthuraman A, Singla SK, Rana A, Singh A, Sood S. Reno protective role of flunarizine (mitochondrial permeability transition pore inactivator) against gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Yakugaku Zasshi* 2011; 131(3): 437- 43.
20. Sohn EJ, Kang DG, Lee HS. Protective effects of glycyrrhizin on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Pharmacol Toxicol* 2003; 93: 116-22.
21. Polat A, Parlakpınar H, Tasdemir S, Colak C, Vardi N, Ucar M, et al. Protective role of aminoguanidine on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Acta Histochem* 2006; 108(5): 365-71.
22. Hajhashemi S, Jafarian T, Ahmadi M, Rahbari A, Hosseini N. The effects of zataria multiflorahydroalcoholic extract on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Arak University of Medical Sciences Journal* 2015; 18(4): 35-48.

23. Abdel-Raheem IT, Abdel-Ghany AA, Mohamed GA. Protective effect of quercetin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Biol Pharm Bull* 2009; 32(1): 61-7.
24. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 1996; 20: 933-56.
25. Merfort I, Wray V, Barakat HH, Hussein SAM, Nawwar MAM, Willuhn G. Flavonoltriglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochem* 1997; 46: 359-63.
26. Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and anti-inflammatory Drug. *Phytother Res* 2004; 18: 195 – 9.

The effect of *Nigella Sativa* Seed Extract on Male Rats Kidneys Induced by Gentamicin

Khazaei M, Mirazi N*

Department of biology, Faculty of basic sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received: 19 Jul 2016 Accepted: 5 Dec 2016

Abstract

Background and aim: Gentamicin is an aminoglycosides antibiotic which is used to treat several types of bacterial infections. The aim of this study was to evaluate the effects of *Nigella sativa* extract on renal toxicity in rats induced by gentamicin.

Methods: In the present experimental study, 42 Wistar male rats were divided into 6 groups of 7 includes: control (normal saline 2ml/kg, i.p), gentamicin (gentamicin80mg/kg/day, i.p), positive control (400mg/kg NSE, i.p) and treated groups 1, 2, 3 (gentamicin 80mg/kg/day+ NSE 200, 400 and 800 mg/kg respectively, i.p). *Nigella sativa* extract was injected for 7 days after a ten days period of gentamicin injection.

Results: Gentamicin caused necrosis and inflammation in the renal cortex and medullary tissues. Treatment with *Nigella sativa* seed extract significantly decreased serum creatinine, BUN and serum LDH in treated groups compared with the group receiving gentamicin. The greatest impact was created in high dose (P=0.001).

Conclusion: *Nigella sativa* seed extract reduces inflammation caused by receiving gentamicin in kidney tissue and a significant reduction in creatinine, urea nitrogen and lactic dehydrogenase enzyme in treated mice compared with the control group.

Keywords: *Nigella sativa*, Nephrotoxicity, Gentamicin, Rat

Corresponding Author: Mirazi N, Department of biology, Faculty of basic sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
Email: mirazi205@gmail.com

Please cite this article as follows :

Khazaei M, Mirazi N. The effect of *Nigella Sativa* Seed Extract on Male Rats Kidneys Induced by Gentamicin. Armaghane-danesh 2016; 21 (9): 860-872.