ORIGINAL ARTICLE

Comparing the Effects of Nigella Sativa Extract and Gentamicin in Treatment of Urinary Tract Infection Caused by Ecoli

Seyed Morteza Sadri[1],
Abdolrasoul Namjoo[1],
Mahmoud Rafieian-kopaei[2],
Kooroush Ashrafi[2],
Najmeh Shahin Fard[2]
Roya Ansari Samani[2],
Fatemeh Moosavi Azmareh[2]

[1] Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
[2] Medical Plant Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

(Received June 27, 2012 ; Accepted December 15, 2012)

Abstract

Background and purpose: The antibiotics' side effects and microbial resistance have increased the need for natural antimicrobial agents in treating infections. This study aimed to investigate the antimicrobial effects of *Nigella sativa* extract and its possible nephrotoxicity compared with gentamicin. The effect of *N. sativa* on gentamicin induced renal toxicity and its synergistic effect were evaluated on urinary tract infection caused by Ecoli in rabbits.

Materials and methods: In this experimental study, 36 male New Zealand rabbits were designated into seven groups: gentamicin-bacteria, *N. sativa*-bacteria, *N. sativa*-gentamicin-bacteria, *N. sativa*-gentamicin, bacteria, gentamicin and control groups. The animals were anesthetized after ten days of treatment, and the kidney specimens were collated for histopathological examination. The nephrotoxic effects of gentamicin and protective effects of *N. sativa* on kidney were studied. Antibacterial effects of the extracts were evaluated with laboratory tests and the MBC and MIC values were obtained for *N. sativa*.

Results: The level of urea nitrogen and creatinine in urine increased in bacteria group compared to control group ($P<0.05$). But, they decreased in bacteria- *N. sativa* group compared with the bacterial group ($P<0.05$). Histopathological examination of kidney tissue showed that renal lesions in bacterial and, bacteria- gentamicin groups (ATN) were more than *N. sativa* -bacteria and bacteria-gentamycin- *N. sativa* (minor necrosis) groups.

Conclusion: According to the results, *N. sativa* in addition to antibacterial effect against E. coli, can prevent the nephrotoxic effects of gentamicin. Therefore, it may be considered as an alternative, or in combination with gentamicin.

Keywords: Nigella sativa extract, gentamicin, rabbit, urinary infection, nephrotoxicity, histopathology

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(96): 22-29 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۶ دی سال ۱۳۹۱ (۲۹-۲۲)

مقایسه تأثیر عصاره گیاه سیاهدانه و جنتامایسین در درمان عفونت ادراری ناشی از اشریشیاکلی و اثرات کلیوی آن‌ها در خرگوش

سید مرتضی صدری[۱]
عبدالرسول نامجو[۱]
محمود رفیعیان کوپایی[۲]
کوروش اشرفی[۲]
نجمه شاهین فرد[۲]
رویا انصاری سامانی[۲]
فاطمه موسوی اضماره[۲]

چکیده

سابقه و هدف: افزایش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیک ها و عوارض جانبی آن‌ها توجه به داروهای گیاهی و مواد ضد میکروبی طبیعی را برای مقابله با عفونت‌ها و یا مهار عوارض جانبی داروهای سنتتیک بیشتر نموده است. در این پروژه ضمن بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه سیاهدانه، عوارض مسمومیت کلیوی جنتامایسین، تأثیرسیاهدانه بر مسمومیت کلیوی ناشی از جنتامایسین و همچنین اثرات مصرف توأم جنتامایسین و سیاهدانه در درمان عفونت ادراری ناشی از باکتری اشریشیاکلی در خرگوش مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: به منظور انجام این تحقیق تجربی، تعداد ۳۶ سر خرگوش نر نیوزلندی به طور تصادفی به ۷ گروه جنتامایسین- باکتری، سیاهدانه- باکتری، سیاهدانه- جنتامایسین- باکتری، باکتری تنها، سیاهدانه- جنتامایسین، جنتامایسین و گروه شاهد تقسیم و پس از ده روز تجویز دارو یا پلاسبو، نمونه‌های کلیه برای آزمایشات هیستوپاتولوژیک جمع‌آوری و اثرات نفروتوکسیک جنتامایسین و همچنین اثرات حفاظتی سیاهدانه بر روی کلیه مورد بررسی قرار گرفت. اثر ضد باکتری عصاره، با انجام آزمایشات برون تنی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت و مقادیر حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشندگی باکتری عصاره سیاهدانه به دست آمد. داده‌ها با استفاده از آزمون های آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: مقدار نیتروژن اوره، کراتینین ادرار و خون در گروه دریافت کننده باکتری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$) این تغییرات بیوشیمیایی در گروه دریافت کننده باکتری- سیاهدانه نسبت به گروه باکتری کاهش یافته بود ($p<۰/۰۵$). در بررسی‌های هیستوپاتولوژی بافت کلیه، نکروز توبولار حاد گروه‌های باکتری و جنتامایسین- باکتری بیشتراز گروه سیاهدانه- باکتری و در گروه سیاهدانه- جنتامایسین- باکتری نکروز توبولار خفیف مشاهده شد.

استنتاج: با توجه به نتایج فوق، سیاهدانه علاوه بر اثر ضد باکتریایی علیه اشریشیاکلی، از عوارض مسمومیت کلیوی جنتامایسین جلوگیری می‌کند. از این‌رو ممکن است بتوان آن‌را به‌عنوان جانشین یا همراه جنتامایسین مطرح نمود.

واژه های کلیدی: عصاره سیاهدانه، جنتامایسین، خرگوش، عفونت ادراری مسمومیت کلیوی، هیستوپاتولوژی

مقدمه

عفونت‌های ادراری یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی است که پس از عفونت دستگاه تنفسی از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشند. عفونت مجرای ادراری در اثر وجود میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای

مولف مسئول: عبدالرسول نامجو- شهرکرد: دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، گروه پاتولوژی E-mail: AR.namjo72@gmail.com
۱. گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
۲. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۴/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۱/۷/۲۲ تاریخ تصویب : ۱۳۹۱/۹/۲۵

مجرای ادرار با یا بدون علایم ایجاد می‌شود و با علایمی که معمولاً به صورت تکرر ادرار، سوزش ادرار، بی‌اختیاری ادرار، زور زدن هنگام ادرار، بوی بد ادرار و در مواردی وجود تب (معمولاً خفیف و کم تر از یک درجه) می‌باشد(۴-۱). در حدود ۷۵ درصد از عفونت‌های مجرای ادراری در مردان توسط اشریشیاکلی ایجاد می‌شود(۴). تشخیص و درمان مناسب عفونت ادراری، از بروز عوارض خطرناکی مانند نارسایی حاد کلیه و فشار خون بالا جلوگیری می‌کند(۵). افزایش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی آن‌ها و استفاده بیش از حد نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی که بعضی از آن‌ها دارای عوارض جبران ناپذیر هستند، توجه به داروهای گیاهی و مواد ضد میکروبی طبیعی را بیشتر نموده است. سیاهدانه گیاهی است که مواردی از اثرات ضد میکروبی آن در تحقیقات برون‌تنی گزارش شده است. سیاهدانه گیاه گلدار و یک ساله با نام علمی Nigella sativa Linn از راسته گل‌های ساعتی و خانواده آلاله می‌باشد(۷،۶) و در مناطق مختلف جهان به نام‌های مختلفی از جمله شونیز، حبه البرکه، سیاهدانه و زیره سبز سیاه معروف است. سیاهدانه دارای خواص درمانی متعددی است که می‌توان به اثرات ضد التهابی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد توموری، ضددیابتی و تقویت‌کننده سیستم ایمنی، کاهش فشارخون و اثرات کاهنده قند خون و چربی آن اشاره کرد(۱۲- ۸). همچنین سیاهدانه ممکن است سمیت کلیوی ناشی از عوارض شیمی درمانی سیس پلاتین را کاهش دهد(۱۴،۱۳). در مطالعات آزمایشگاهی عصاره دانه سیاهدانه اثر ضد باکتری روی باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس)، باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی) و قارچ پاتوژن کاندیدا آلبیکنس داشته است. همچنین در مطالعات برون‌تنی (آزمایشگاهی) عصاره سیاهدانه با آنتی بیوتیک‌هایی مثل جنتامایسین، استرپتومایسین، داکسی سیکلین، کلرآمفنیکل، آمپی‌سیلین، نالیدیکسیک اسید، تربینافین و سفالکسین اثر همکرداری داشته است(۱۵). روغن سیاهدانه در جلوگیری از عوارض مسمومیت کلیوی ناشی از سیکلوسپورین مؤثر بوده که به اثرات آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داده شده است(۱۶). مطالعات نشان داده تیموکینون و مونوترپن‌ها ترکیبات اصلی اسانس سیاهدانه هستند که از پراکسیداسیون چربی غیر آنزیماتیک لیپوزوم‌ها ممانعت می‌کنند. همچنین تیموکینون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است که ارگان‌ها را علیه آسیب‌های اکسیداتیو القاء شده به‌وسیله رادیکال‌های آزاد تولیدشده محافظت می‌کند(۱۷).

جنتامایسین آمینوگلیکوزیدی است که از میکرومونوسپورا پورپوره آ به دست می‌آید. این دارو برای درمان عفونت باکتری‌های گرم منفی در انسان و حیوانات استفاده می‌شود، با این حال جنتامایسین با آسیب به عملکرد میتوکندری سلول‌های توبولار کلیه، تداخل با حمل و نقل لوله‌ای، افزایش استرس اکسیداتیو و تشکیل رادیکال‌های آزاد باعث نکروز توبول های پروکسیمال کورتکس کلیه، افزایش نیتروژن اوره خون، غلظت کراتینین سرم و مسمومیت کلیوی می‌شود(۱۸). با توجه به عوارض کلیوی ناشی از مصرف آمینوگلیکوزیدها و مقاومت روز افزون میکروارگانیسم‌ها به این گروه به خصوص جنتامایسین، معرفی داروی جایگزین یا موادی که استفاده هم‌زمان آن با جنتامایسین از عوارض کلیوی آن بکاهد، ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه تعیین اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه سیاهدانه، اثرات و عوارض جنتامایسین بر تغییرات بیوشیمیایی و ساختار میکروسکوپیک کلیه، تأثیر عصاره گیاه سیاهدانه بر مسمومیت کلیوی ناشی از جنتامایسین و همچنین اثرات مصرف توأم جنتامایسین و سیاهدانه در درمان عفونت ادراری ناشی از اشریشیاکلی در خرگوش بود.

مواد و روش‌ها

مواد دارویی

سیاهدانه از منطقه روشن دشت واقع در شرق

اصفهان تهیه و در هرباریوم دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد مورد تأیید و نمونه‌ای از آن به شماره ۳۰۳ نگهداری شد. سیاهدانه تهیه شده توسط هاون خرد و برای تهیه عصاره، به مدت ۷۲ ساعت درالکل ۷۰ درجه قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی فیلتر و محصول به‌دست آمده با استفاده از روتاری تغلیظ و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

تهیه میزان تلقیح عصاره سیاهدانه

به منظور سنجش حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره سیاهدانه، ابتدا ۲۰ میلی گرم از عصاره را در ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی حل کرده، سپس رقت‌های ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵ و ۱/۲۵ به‌دست آمد. در مرحله بعد ۱ سی سی باکتری به هر لوله اضافه و در انکوباتور ^{oc} ۲۷ قرار داده شد. بعد از ۱۸ ساعت هر کدام از رقت‌ها را به صورت استریل در محیط ائوزین متیلن بلو آگار تلقیح کرده، به مدت ۲۴- ۱۸ ساعت در انکوباتور ^{oc} ۲۷ قرار داده شد. با توجه به این‌که باکتری بین رقت ۱۰- ۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر رشد نکرده بود، رقت‌های ۵/۵، ۶، ۶/۵، ۷، ۷/۵، ۸، ۸/۵، ۹ و ۹/۵ گرم بر میلی‌لیتر تهیه و ۱ سی‌سی باکتری به هر لوله اضافه شد و در انکوباتور ^{oc} ۲۷ قرار داده شد. بعد از ۱۸ ساعت هر کدام از رقت‌ها را به صورت استریل در محیط آگار ائوزین متیلن بلو تلقیح کرده، به مدت ۲۴- ۱۸ ساعت در انکوباتور ^{oc} ۲۷ قرار داده، سپس محیط‌ها بر اساس رشد و عدم رشد باکتری بررسی شد(۱۹).

تیمارهای آزمایشی و شرایط نگهداری

برای انجام آزمایشات درون تنی، در یک تحقیق مداخله‌ای، تعداد ۳۶ سر خرگوش نر نیوزلندی با دامنه سنی ۱۲- ۶ ماه و با وزن تقریبی ۲۵۰۰-۱۵۰۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات انستیتو رازی تهران خریداری و به مدت یک هفته در دمای ^{oc} ۲۵- ۲۲ و سیکل ۱۲ ساعته تاریکی- روشنایی، به منظور تطابق با محیط قرار داده شدند. سپس خرگوش‌ها به طور تصادفی به ۷ گروه، جنتامایسین- باکتری به تعداد ۶ سر، سیاهدانه- باکتری به تعداد ۴ سر، سیاهدانه- جنتامایسین- باکتری به تعداد ۶ سر، باکتری تنها به تعداد ۶ سر، سیاهدانه- جنتامایسین به تعداد ۶ سر، جنتامایسین به تعداد ۴ سر و گروه شاهد به تعداد ۴ سر تقسیم شدند.

باکتری مورد مطالعه و تهیه میزان تلقیح باکتری

اشریشیاکلی PTCC1330 از مرکز پژوهش‌های علمی- صنعتی ایران خریداری ومحلول باکتری با غلظت ^{۹}۱۰تهیه گردید (معادل نیم مک فارلند). طرح آزمایش: بعد از مقید کردن خرگوش، در شرایط استریل با استفاده از سوندهای مخصوص، مثانه را در معرض عفونت بالا رونده (۲ میلی لیتر از محلول رقیق شده استاندارد باکتری) قرار دادیم(۲۲-۲۰). ۴۸ ساعت بعد از تلقیح باکتری، پس از کشت ادرار در محیط ائوزین متیلن بلو آگار و اطمینان از آلوده شدن مثانه، تجویز دارو یک بار در روز، به مدت ۱۰ روز انجام شد. جنتامایسین به مقدار ۸۰ میلی گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی تزریق گردید(۲۳). سیاهدانه به مقدار ۵۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن در ۲/۵ سی سی آب حل و توسط گاواژ به خرگوش خورانده شد(۱۸). بعد از ۱۰ روز درمان، با استفاده از ketamine ۱۰ درصد، به میزان ۳۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن و xylazine به مقدار ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن به صورت داخل وریدی از طریق ورید گوش، خرگوش بیهوش(۲۴) و نمونه خون از قلب و ادرار از مثانه تهیه شد. پس از باز کردن حفره شکمی، کلیه به صورت استریل خارج و مورد مشاهده ظاهری قرار گرفت و هرگونه ضایعه قابل مشاهده روی کلیه ثبت‌گردید. سپس یک نیمه از کلیه برای رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین و ائوزین در داخل محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از طی

مراحل آماده‌سازی بافت و تهیه بلوک پارافینی، برش‌هایی به قطر ۵ میکرون آماده و بر روی اسلاید منتقل و به روش رایج هماتوکسیلین ائوزین رنگ و در پایان مونته شدند. اسلایدهای آماده شده توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند(۲۵). نیتروژن اوره، کراتینین خون، آسپارتات آمینو ترنسفراز، آلانین آمینوترنسفراز در گروه های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور ارزیابی کبد، سنجش فعالیت سرمی دو آنزیم ALT و AST انجام پذیرفت. اندازه‌گیری این آنزیم ها توسط دستگاه اتوآنالیز مدل BT -۳۰۰۰ (ساخت شرکت بیوتکنیکال کشور ایتالیا)، واقع در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری اوره سرم و ادرار بعد از سانتریفیوژ با ۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه به محلول حاصله معرف دی استیل مونوکساید اضافه گردید. محلول به رنگ نارنجی درآمد که با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۵ نانومتر مقدار اوره اندازگیری شد(۲۶). جهت سنجش کراتینین ادرار از روش JAFFE استفاده شد. در این روش کراتینین با بیکربنات قلیایی تشکیل یک کمپلکس رنگی می‌دهد که شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار کراتینین در نمونه می‌باشد(۲۶) داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی شفه با نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین داده های کیفی به صورت توصیفی تفسیر شدند.

یافته‌ها

در بررسی محیط کشت ها در رقت‌های ۵/۵ تا ۹/۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید که باکتری تا رقت ۹/۵ رشد نموده ولی در رقت ۱۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر رشد نکرده بود. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره سیاهدانه به ترتیب ۹/۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. نتایج سنجش میانگین و انحراف معیارنیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین خون درگروه تیمار باکتری به‌طور معنی داری بیشتراز گروه شاهد بود (p<۰/۰۵). همچنین سنجش میانگین نیتروژن اوره خون در گروه تیمار جنتامایسین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵) (جداول شماره ۱ و ۲). مقایسه میانگین و خطای معیار نیتروژن اوره خون و کراتینین در گروه دریافت کننده باکتری به‌طور معنی‌داری بیش از گروه تیمارسیاهدانه- باکتری بود (p<۰/۰۵) (جداول شماره ۱ و ۲). در بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک کلیه، در اکثر اعضاء گروه دریافت‌کننده باکتری و جنتامایسین، دژنراسیون و نکروز حاد توبول‌های کلیه دیده شد اما خرگوش‌های گروه شاهد فاقد ضایعات هیستوپاتولوژیک در کلیه بودند (تصویر شماره ۱). در گروه دریافت کننده سیاهدانه- باکتری و گروه جنتامایسین- سیاهدانه نکروز خفیف لوله‌ای مشاهده شد.

در مقایسه ضایعات کلیوی گروه باکتری با گروه باکتری- سیاهدانه مشاهده شد که ضایعات گروه باکتری (نکروز حاد) بیشتر از گروه سیاهدانه- باکتری است همچنین مقایسه گروه باکتری با گروه دریافت‌کننده جنتامایسین- باکتری هر دو گروه دارای نکروز حاد لوله‌ای بودند. همچنین نمونه ادرار قسمت پایانی در محیط EMB کشت داده شد که در گروه های دریافت کننده سیاهدانه- باکتری و جنتامایسین- باکتری، کشت باکتری منفی بود.

جدول شماره ۱: تغییرات بیوشیمیایی نیتروژن اوره ادرار و کراتینین درگروه های تیمار

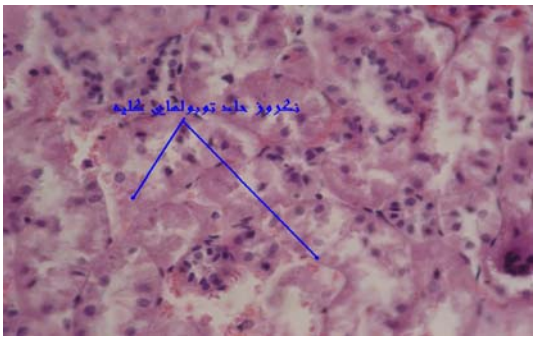
فاکتورها / گروه	جنتامایسین-باکتری	سیاهدانه- باکتری	باکتری	سیاهدانه- جنتامایسین	جنتامایسین	شاهد	سیاهدانه- جنتامایسین- باکتری
نیتروژن اوره (گرم بر دسی لیتر)	ab۱۲۷۶/۷±۲۵۱/۵	ab۱۲۲۵±۲۴۵/۷	a۱۵۷۷/۵±۶۹/۶b	b۹۵۱/۶±۱۰۸/۱	ab۱۳۶۰±۱۷۳/۴	ab۱۱۲۵±۹۵/۷	a۱۴۸۰±۱۵۰/۷۳
کراتینین (گرم بر دسی لیتر)	ab۱۱۵±۱۳/۸	ab۹۷/۵±۹/۵	a۱۳۰±۲۵/۸	b۸۷±۹/۳	ab۱۱۶/۵±۳۲/۲	ab۱۰۰±۱۴/۱	ab۱۰۷±۹/۰۱

حروف غیرمتشابه a، b در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۵) است.

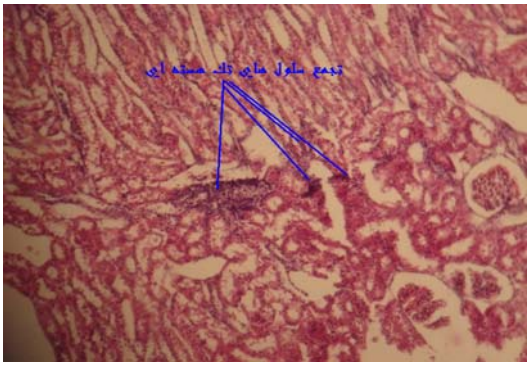
جدول شماره۲: تغییرات آنزیم های بیوشیمیایی‌در گروه های تیمار و شاهد

گروه / فاکتورها	جنتامایسین-باکتری	سیاهدانه-باکتری	باکتری	سیاهدانه-جنتامایسین	جنتامایسین	شاهد	سیاهدانه-جنتامایسین-باکتری
نیتروژن اوره (گرم بر دسی لیتر)	^{b}۴۰/۵±۵/۵	^{a}۲۶/۵±۵/۷	^{b}۴۶/۲±۲/۱	^{b}۳۶/۳±۴/۲	^{b}۴۳/۲±۲/۲^{a}	^{a}۲۳/۵±۳/۱	^{b}۴۲/۵±۳/۹۸
کراتینین خون (گرم بر دسی لیتر)	^{ab}۱/۲±۰/۱	^{b}۱±۰/۳	^{c}۲/۲±۰/۱^{b}	^{b}۰/۹±۰/۱	^{ab}۱/۲±۰/۱^{a}	^{a}۱/۵۵±۰/۲	^{ab}۱/۲±۰/۱۴
آسپارتات آمینو ترنسفراز (گرم بر دسی لیتر)	^{a}۴۷/۷±۱۴/۶	^{a}۴۴±۱۱/۲	^{a}۳۹/۶±۱۵/۹	^{a}۲۴/۶±۶/۱	^{a}۳۵/۷±۰/۹	^{a}۳۸/۵±۶/۶	^{a}۳۸/۶۶±۱۵/۹۲
آلانین آمینوترنسفراز (گرم بر دسی لیتر)	^{b}۵۲/۸±۱۲/۸	^{ab}۳۶/۲±۸/۴	^{ab}۳۳/۲±۱۳/۴^{b}	^{ac}۲۸/۶±۶/۳	^{ac}۳۲/۵±۱/۷^{a}	^{abc}۴۱/۲±۱/۵	^{abc}۳۷/۵±۳/۹۳

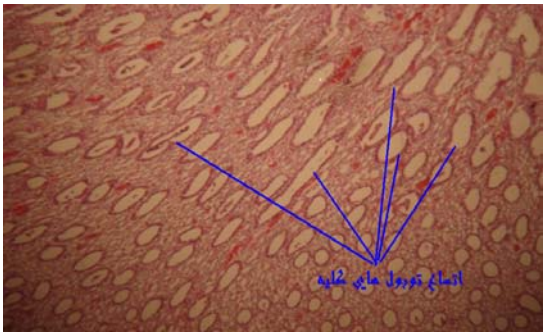
حروف غیرمتشابه c, b, a در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) است.



تصویر شماره ۱: نکروز حاد توبول های کلیه گروه جنتامایسین – باکتری رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین (۸۰۰×)



تصویر شماره ۲: تجمع سلول‌های لنفوسیتی در کلیه، در گروه سیاهدانه-جنتامتایسین- باکتری. رنگ آمیزی هماتوگسین ائوزین (۱۵۰×)



تصویر شماره ۳: اتساع لوله های جمع کننده ادراری در ناحیه مدولا، در گروه جنتامایسین- باکتری. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین (۱۰۰×)

بحث

این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه سیاهدانه، اثرات و عوارض مسمومیت کلیوی ناشی از مصرف جنتامایسین، تأثیر عصاره گیاه سیاهدانه بر مسمومیت کلیوی ناشی از جنتامایسین و همچنین اثرات مصرف توأم جنتامایسین و سیاهدانه در درمان عفونت ادراری ناشی از اشریشیاکلی در خرگوش انجام شد. عفونت مجاری ادراری یکی از معمول‌ترین عفونت‌های باکتریایی است که توسط باکتری‌های اوروپاتوژن اشریشیاکلی ایجاد می‌شود. باکتری اشریشیاکلی فلور طبیعی روده می‌باشد و یکی از گونه‌های متنوع باکتریایی است که تنوع زیاد آن موجب ابهامات زیاد شده است(۲۸،۲۷). اکثرسویه های اشریشیاکلی تا زمانی که در روده هستند هیچ خطری ندارند ولی اگر در قسمت های دیگر بدن نظیر دستگاه ادراری، کیسه صفرا، دستگاه تنفس و غیره وارد شوند به تنهایی یا به کمک سایر باکتری‌ها ایجاد عفونت می‌نمایند. تحقیقات قبلی نشان داده که توکسین، کپسول‌ها و ژن پیلی از عوامل ایجادکننده عفونت ادراری می‌باشند(۳۰،۲۹). در بررسی صورت گرفته نیتروژن اوره و کراتینین خون و ادرار در گروه باکتری نسبت به گروه شاهد بیشتر بود که به دلیل حضور باکتری و ایجاد التهاب و نکروز در کلیه بوده که در نتیجه باعث کاهش میزان تصفیه گلومرولی و مقدار کلیرانس کراتینین و نیتروژن اوره شده است(۳۱،۲۶).

نکروز حاد لوله‌ای یکی از علل اصلی نارسایی کلیه است که منجر به اولیگوری یا آنوری شدید و افزایش

پیش رونده فرآورده‌های دفعی ازت‌دار در خون می‌گردد. علت سمیت، انباشتگی جنتامایسین در سلول‌های پوششی لوله ابتدایی است که نشانه‌های ظهور اولیه آسیب کلیوی در این نقطه، دفع آنزیم‌های سلول‌های لوله‌ای شکل به خارج است(۳۳،۳۲). افزایش نیتروژن اوره و کراتینین خون و ادرار در گروه جنتامایسین مشابه نتایج به دست آمده در مطالعات GoodGilman و همکاران (۲۰۰۱) و Wedeen و همکاران (۱۹۸۳) می‌باشد(۳۳،۳۲).

افزایش نیتروژن اوره و کراتینین خون و ادرار با مصرف جنتامایسین می‌تواند تأیید کننده نفروتوکسیک بودن جنتامایسین باشد که با نتایج تحقیقات امینی و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد(۲۰).

نقش ترکیبات دارای اکسیژن فعال در نفروتوکسیستی القاء شده به‌وسیله جنتامایسین به‌خوبی نشان داده شده است. Walker و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که استرس اکسیداتیو ناشی از جنتامایسین عامل اصلی مسمومیت کلیوی می‌باشد(۳۴). کاهش مسمومیت کلیوی گروه سیاهدانه- جنتامایسین به دنبال مصرف عصاره سیاهدانه می‌تواند ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی سیاهدانه باشد(۱۷،۳۵). کاهش مسمومیت کلیوی در گروه سیاهدانه- باکتری به دنبال مصرف عصاره سیاهدانه می‌تواند ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی(۱۷،۸) و اثر ضد باکتریایی سیاهدانه باشد. تحقیقات قبلی نشان داده که استفاده از سیاهدانه همراه با غذا موجب افزایش بیگانه خواری تک هسته‌ای‌ها می‌گردد و فعالیت بیگانه خواری آن‌ها را برای بلع مواد و ذرات خارجی و پاتوژن‌ها افزایش می‌دهد(۳۵). بنابراین ممکن است بتوان از این ماده ضمن استفاده از اثرات آنتی‌اکسیدانی و مقابله با عوارض جنتامایسین و باکتری‌ها، برای تقویت سیستم ایمنی ذاتی و اختصاصی جهت مقابله با پاتوژن ها نیز بهره برد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از پرسنل مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به علت همکاری در اجرای طرح قدردانی می‌گردد. این مقاله حاصل پایان نامه آقای دکتر سید مرتضی صدری در پاییز سال ۱۳۹۰ می‌باشد.

References

1. Elder JS. Urinary tract infections. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. Nelson Textbook of Pediatrics. 16th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000.
2. Jazayeri Moghadas A. Frequency of the bacterial agents in urinary tract infection and their antibiotic susceptibility pattern in Semnan. Koomesh 2000; 1(4): 11-16 (Persian).
3. Kaleem M, Kirmani D, Asif M, Ahmed Q, Bano B. Biochemical effects of Nigella sativa L seeds in diabetic rats. Indian J Exp Biol 2006; 44(9): 745-748.
4. Reller LB. Diagnostic microbiology updates. Clin Infect Dis 1996; 23(1): 38-39.
5. Ayazi P, Rahmani M, Daneshi M, Bynbaryk M. Comparison of urine culture and gram stainin the diagnosis of urinary tract infections. J Qazvin Univ Med Sci 2005; 9(3): 55-58 (Persian).
6. Kerr MG. Veterinary Laboratory Medicine-Clinical Biochemistry and Haematology. 2nd ed. Oxford: Blackwell Sci; 2002.
7. Khattab MM, Nagi MN. Thymoquinone supplementation attenuates hypertension and renal damage in nitric oxide deficient hypertensive rats. Phytother Res 2007; 21(5): 410-414.
8. Bamosa AO, Ali BA, al-Hawsawi ZA. The effect of thymoquinone on blood lipids in

rats. Indian J Physiol Pharmacol 2002; 46(2): 195-201.

9. Dehkordi FR, Kamkhah AF. Antihypertensive effect of Nigella sativa seed extract in patients with mild hypertension. Fundam Clin Pharmacol 2008; 22(4): 447-452.
10. Kaspers GJ, Teunissen PC, Holl H. [Gentamicin administration in newborns: once daily]. Ned Tijdschr Geneeskd 1998; 142(11): 583-586.
11. Meddah B, Ducroc R, El Abbes Faouzi M, Eto B, Mahraoui L, Benhaddou-Andaloussi A, et al. Nigella sativa inhibits intestinal glucose absorption and improves glucose tolerance in rats. J Ethnopharmacol 2009; 121(3): 419-424.
12. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. Int Immunopharmacol 2005; 5(13-14): 1749-1770.
13. El Daly ES. Protective effect of cysteine and vitamin E, Crocus sativus and Nigella sativa extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. J Pharm Belg 1998; 53(2): 87-95.
14. Marengo SR, Chen DH, Kaung HL, Resnick MI, Yang L. Decreased renal expression of the putative calcium oxalate inhibitor Tamm-Horsfall protein in the ethylene glycol rat model of calcium oxalate urolithiasis. J Urol 2002; 167(5): 2192-2197.
15. Hanafy M, Hatem M. Studies on the antimicrobial activity of Nigella sativa L seed (black cumin). J Ethnopharmacol 1991; 34(2-3): 275-278.
16. Bayrak O, Uz E, Kaya A, Bayrak R, Uz B, Turgut FH, et al. Nigella sativa oil for prevention of chronic cyclosporine nephrotoxicity: an experimental model. Am J Nephrol 2008; 28(3): 517-522.
17. Panahi M, Namjoyan F, Shakerin Z . Evaluation of antioxidant effects of nigella sativa extract on the ultra structure of neural tube defects in diabetic rats's offspring. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 2011; 6(1): 16-23.
18. Dehghani F, Namavar MR, Noorafshan A, Karbalay-Doust S, Esmaeilpour T. Evaluation of the Kidney Extract on Gentamicin Induced-Nephrotoxicity in Rat. Kidney Res J 2011; 1(1): 24-32.
19. Niakan M, Miri SR, Naseri M, Karimi M. Mansouri, S. ln vitro anti-staphylococcus aureus activity of Nigella sativa L., seed oil extract, compared with CXM, CEC, MAN and CAZ antibiotics. J Med Plants 2006; 5(19): 29-33.
20. Amini FG, Rafieian-Kopaei M, Nematbakhsh M, Baradaran A, Nasri H. Ameliorative effects of metformin on renal histologic and biochemical alterations of gentamicin-induced renal toxicity in Wistar rats. J Res Med Sci 2012; 17(7): 621-625
21. Barelay M, Begg E, Hichling K. What is the evidence for once daily aminoglycoside therapy? Clin Pharmacokinetic 1994; 27(1): 32-48.
22. Khattab MM, Nagi MN. Thymoquinone supplementation attenuates hypertension and renal damage in nitric oxide deficient hypertensive rats. Phytotherapy research: PTR 2007; 21(5): 410-414.
23. Abu- Spetan KA, Abdel-Gayoum AA. Effect of high dietary cholesterol on gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits. Arch Toxicol 2001; 75(5): 284-290.
24. Mousavi GH, Mohajeri D, Mirzaie H, Kafash-Elahi R. Evaluation of platelet-rich plasma effects on femoral cancellous bone defect healing in rabbit. Feyz, J Kashan Univ Med Sci 2010; 14(2): 83-91.

25. Taghikhani A, Ansarisamani R, Afrogh H, Shahinfard N, Ganji F, Asgari A, et al. The hepatotoxic and nephrotoxic effects of Stachys lavandulifolia Vahl in rat. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(88): 84-90 (Persian).
26. Rafieian-Kopaei M, Nasri H, Nematbakhsh M, Baradaran A, Gheissari A, Rouhi H, et al. Erythropoietin ameliorates genetamycin-induced renal toxicity: A biochemical and histopathological study. J Nephropathology 2012; 2(1): 109-116.
27. Marrs CF, Zhang L, Faxman B. Escherichia coli mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic E. coli (UEPC) pathotypes. FEMS Microbiol Lett 2005; 252(2): 183-190.
28. Zhang L, Foxman B, Manning SD, Tallman P, Marrs CF. Molecular epidemiologic approaches to urinary tract infection gene discovery in uropathogenic Escherichia coli. Infect Immun 2000; 68(4): 2009-2015.
29. Bautsch W, Grothues D, Tummler B. Genome fingerprinting of Pseudomonas aeruginosa by two-dimensional field inversion gel electrophoresis. FEMS Microbiol Let 1988; 52(3): 255-258.
30. Yamamoto S. Molecular epidemiology of uropathogenic Escherichia coli. J Infect Chemother 2007; 13(2): 68-73.
31. Rasko DA, Phillips JA, Li X, Mobley HL. Identification of DNA sequences from a second pathogenicity island of uropathogenic Escherichia coli CFT073: probes specific for uropathogenic populations. J Infect Dis 2001; 184(8): 1041-1049.
32. Goodman Gilman A, Hardman G, Limbird E. The pharmacological Basis of Thrapeutics. 10th ed. New York: McGrow-Hill; 2001.
33. Wedeen R, Batuman V, Cheeks C, Maquet E, Sobel H. Transport of gentamicin in rat proximal tubule. Lab Invest 1983; 48(2): 212-223.
34. Walker PD, Barri Y, Shah SV. Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. Ren Fail 1999; 21: 433-442.
35. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R, et al. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. Free Radic Biol Med 2003; 35(3): 317-324.