Journal of Diabetes Nursing
2023; Volume 11 Number 4

pISSN:2345-5020
eISSN:2423-5571

Investigating the Effect of Dose-Dependent Administration of Magnesium Sulfate on the Serum Level of the Inflammatory Cytokine TNF-α as a Treatment for Diabetic Nephropathy and Peripheral Neuropathy in an Animal Model

Asli Foroogh [1], Bagheri Gholam Reza [2], Jame Bozorgi Khosro [3], **Poursamimi Javad[*4,5]**, Ghaffari Hamid Reza [6]

1. Assistant Professor of Internal Medicine, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran.
2. Assistant Professor of Molecular Biology, Department of Nutrition, School of Health, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran.
3. Assistant Professor of Neurology, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran.
4. Assistant Professor of Medical Immunology, Department of Immunology, Faculty of Medical School, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran.
5. Assistant professor of Department of Laboratory Sciences, School of Paramedical Sciences, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran
6. Assistant Professor of Anatomical Sciences, Department of Basic Sciences, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran.

Article information:

Original Article

Received: 2023/10/11

Accepted: 2024/03/16

JDN 2023; 11(4)

2270-2280

Corresponding Author:
Javad Poursamimi,
Zabol University of Medical Sciences

Javadpoursamimi@gmail.com

Abstract

Introduction: Diabetic nephropathy and peripheral neuropathy complications are attributed to the elevated concentration of the pro-inflammatory cytokine TNF-α. This cytokine, recognized as a crucial biomarker, plays a pivotal role in investigating the pathogenesis of diabetes due to its level fluctuations in glomerular, tubular damage, and fibrosis. This study explores the dose-dependent effect of magnesium sulfate on the serum concentration of TNF-α in an animal model induced with paclitaxel.

Methods: Twenty-four male Wistar rats with a mean weight of 200±40 g were randomly divided into four groups: three experimental groups (E1, E2, and E3) and a control group, each comprising six mice. To induce neuropathy, paclitaxel (10 mg/kg) was intraperitoneally administered every other day. To prevent neuropathy occurrence, magnesium sulfate (doses of 75, 150, and 300 mg/kg) was intraperitoneally prescribed daily. Sampling was conducted after 10 days, and serums were separated to measure TNF-α concentration using the ELISA method.

Results: The mean±SD serum level of TNF-α in the E1 group (2.31±0.26 pg/ml) significantly increased compared to the control group (1.46±0.21) ($P<0.05$). In the E3 group, the mean±SD serum level of TNF-α (4.54±1.32) also significantly increased compared to the control group. However, there was an insignificant increase in TNF-α serum level in the E2 group (3.34±1.08) compared to the control group ($P>0.05$).

Conclusion: This study, confirming the rise in TNF-α serum level induced by paclitaxel, demonstrates that the dose-dependent administration of magnesium sulfate (300 and 150 mg/kg) reduces the potential incidence of nephropathy and peripheral neuropathy by lowering TNF-α serum levels.

Keywords: *Diabetic nephropathy, Diabetic neuropathy, Diabetes, Autoimmunity, Magnesium Sulfate, Paclitaxel*.

Access This Article Online	
Quick Response Code:	Journal homepage: http://jdn.zbmu.ac.ir
	How to site this article: Poursamimi J, Asli F, Bagheri G R, Jame Bozorgi K, Ghaffari H R. Investigating the Effect of Dose-Dependent Administration of Magnesium Sulfate on the Serum Level of the Inflammatory Cytokine TNF-α as a Treatment for Diabetic Nephropathy and Peripheral Neuropathy in an Animal Model. J Diabetes Nurs 2023; 11 (4) :2270-2280

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

فصلنامه علمی پژوهشی پرستاری دیابت زابل
سال ۱۱، شماره ۴، پاییز ۱۴۰۲
صفحات: ۲۲۸۰-۲۲۷۰

pISSN:2345-5020
eISSN:2423-5571

بررسی تاثیر تجویز وابسته به دوز سولفات منیزیوم بر غلظت سرمی سایتوکاین التهابی TNF-α به عنوان درمان نفروپاتی دیابتی و نوروپاتی محیطی در مدل حیوانی

فروغ اصلی[۱]، غلامرضا باقری[۲]، خسرو جامه بزرگی[۳]، **جواد پورصمیمی**[۴و۵*]، حمیدرضا غفاری[۶]

۱. استادیار بیماری‌های داخلی، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران.
۲. استادیار بیولوژی مولکولی، گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
۳. استادیار بیماری‌های مغز و اعصاب، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
۴. استادیار ایمنی شناسی پزشکی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
۵. استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
۶. استادیار علوم تشریحی، گروه علوم پایه پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، ایران

نویسنده مسئول: جواد پورصمیمی، دانشگاه علوم پزشکی زابل Javadpoursamimi@gmail.com

چکیده

مقدمه و هدف: عارضه های نفروپاتی و نوروپاتی محیطی دیابتی به سبب غلظت بالای سایتوکاین پیش التهابی TNF-α ایجاد می شود. این سایتوکاین به عنوان یک بیومارکر جدید در بررسی پاتوژنز بیماری دیابت موثر است چرا که میـزان آن به سبب صدمـه گلومرولی، صدمـه توبولی و فیبـروز دچار تغییر شود. در این مطالعه، تاثیر وابسته به دوز سولفات منیزیوم بر غلظت سرمی TNF-α در مدل حیوانی القاء شده با پکلی تاکسول مورد توجه قرار گرفت.

روش پژوهش: ۲۴ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۴۰±۲۰۰ گرم بصورت تصادفی در ۴ گروه قرار گرفتند. سه گروه آزمایش ۱، ۲ و ۳ و گروه کنترل طراحی شد. در هرگروه ۶ موش قرار گرفتند. به همه گروه ها جهت القای نوروپاتی مقدار ۱۰ میلی گرم بر واحد کیلوگرم داروی پکلی تاکسل بصورت درون صفاقی (یک روز درمیان) تجویز شد. جهت ممانعت از بروز نوروپاتی نیز سولفات منیزیوم در دوزهای ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر واحد کیلوگرم بصورت درون صفاقی (روزانه) تجویز شد. بعد از ۷ روز نمونه گیری انجام شد. سرم ها جدا شدند و غلظت TNF-α به روش الایزا بررسی گردید.

یافته ها: میانگین غلظت سرمی TNF-α در تمام گروه های آزمایش افزایش داشت. بطوریکه در گروه E1 میانگین غلظت این سایتوکاین (۲.31±0.26 pg/ml۱) در مقایسه با گروه کنترل (1.46±0.21) افزایش معنی داری را نشان داد. (P<0.05) در گروه E3 نیز شاهد افزایش معنی دار غلظت سرمی این سایتوکاین (4.54±1.32) در مقایسه با گروه کنترل بودیم (P<0.05). اما در گروه E2، این افزایش میانگین (3.34±1.08) در مقایسه با گروه کنترل غیرمعنی دار بود (P>0.05).

نتیجه گیری: این مطالعه ضمن تایید افزایش سطح سرمی TNF-α ناشی از تزریق پکلی تاکسول، نشان داد که تجویز دوزهای ۳۰۰ و ۱۵۰ میکروگرمی سولفات منیزیوم به سبب کاهش سطح سرمی TNF-α، موجب کاهش پتانسیل بروز نفروپاتی و نوروپاتی محیطی شده است.

کلید واژه ها: نفروپاتی دیابتی، نوروپاتی دیابتی، دیابت، خودایمنی، سولفات منیزیوم، پکلی تاکسل

How to site this article: Poursamimi J, Asli F, Bagheri G R, Jame Bozorgi K, Ghaffari H R. Investigating the Effect of Dose-Dependent Administration of Magnesium Sulfate on the Serum Level of the Inflammatory Cytokine TNF-α as a Treatment for Diabetic Nephropathy and Peripheral Neuropathy in an Animal Model. J Diabetes Nurs 2023; 11 (4) :2270-2280

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

مقدمه و هدف

نوروپاتی به چندین نوع آسیب عصبی گفته می شود. به طور کلی در بیماران دیابتی، چهار نوع آسیب عصبی یا همان نوروپاتی وجود دارد که شامل: نوروپاتی محیطی (Peripheral neuropathy)، نوروپاتی اتونومیک(Autonomic neuropathy)، نوروپاتی پروگزیمال(Proximal neuropathy) و نوروپاتی کانونی(Focal neuropathy) می شوند (۱،۲). نوروپاتی محیطی رایج‌ترین نوع این بیماری است که اغلب در پاها و موارد کمتر دست ها آشکار می شود. علائم رایج آن (بی حسی، ضعف عضلانی، درد یا گرفتگی شدید) بوده که می‌تواند خفیف تا شدید باشد (۳). نفروپاتی نیز نوعی بیماری کلیوی است که بر اثر دیابت نوع ۱ یا ۲ بروز پیدا می‌کند. این بیماری از مهمترین عوارض دیابت است که از هر ۳ نفر مبتلا به قندخون، یک نفر را درگیر می کند (۲). نفرون‌های کلیه دارای مویرگ های گلومرولی هستند که بصورت غشای نیمه تراوا نقش مهمی در تصفیه خون دارند. در نفروپاتی دیابتی بدن توانایی جدا کردن گلوکز از غذا را از دست می‌دهد. بنابراین باقی ماندن گلوکز اضافی در خون به غشای گلومرولی و بخش‌های مختلف نفرون در کلیه آسیب می زند. مایعات در کلیه به‌درستی فیلتر نخواهند شد و سموم در خون و بدن انباشته می‌شوند (۴). مواردی از جمله: ورم دست، صورت و پاها، پروتئینوری، تهوع و استفراغ، خستگی و تنگی نفس از علائم رایج این عارضه هستند. علت اصلی بروز این دو عارضه (نوروپاتی محیطی دیابتی و نفروپاتی)، عدم کنترل قند خون بوده که موجب تضعیف اندوتلیوم عروق می شود. علاوه براین مشکلات کلیوی، اضافه وزن و مصرف سیگار نیز در بروز این بیماری ها نقش تعیین کننده ای دارند (۵). علاوه براین موارد، عوامل درد سرمی که با سایتوکاین ها شناخته می شوند و التهاب ایجاد می کنند نیز بروز خواهد کرد. نفروپاتی و نوروپاتی محیطی در بیماران دیابتی را میتوان معلول سنتز سایتوکاین های پیش التهابی از جمله Tumor necrosis factor (TNF)-α، Interleukin(IL)-1β، IL-18 و IL-6 به حساب آورد (۶). نفروپاتی دیابتی شایعترین علت نارسایی کلیه در دنیاست و به سبب افزایش چاقی و بروز دیابت نوع ۲ شیوع آن رو به افزایش است (۷). بیومارکرهایی که درحال حاضر جهت بررسی نفروپاتی دیابتی مورد ارزیابی قرار می گیرند شامل: C-Reactive Protein (CRP)، کراتینین، BUN، نرخ فیلتراسیون گلومرولی ، سیستاتین C و نسبت آلبومین به کراتینین در ادرار می باشد که از کارآرایی قابل توجهی برخوردار نیستند و نمی توانند منعکس کننده وضعیت بیمار باشند. به عنون نمونه، اندازه گیری سیستاتین C در همه آزمایشگاهها میسر نیست و نیاز به کالیبراسیون مکرر دارد و با مصرف گلوکوکورتیکوئیدها و اختلال عملکرد تیروئید سطح آن تغییر می کند. در مورد نسبت آلبومین به کراتینین، در بعضی از بیماران علیرغم افت نرخ فیلتراسیون گلومرولی، آلبومین ادرار افزایش نشان نمی دهد. حتی افزایش آلبومین ادرار یک آسیب قابل بازگشت محسوب می شود (۸). ارزیابی نرخ فیلتراسیون گلومرولی بر پایه کراتینین نیز تحت تاثیر عوامل مداخله گر (سن، جنس، نژاد، میزان عضله بدن، داروها و حاملگی) در اندازه گیری کراتینین سرم قرار می گیرد و بر پایه فرمولهای موجود از دقت کافی برخوردار نیست و لذا تشخیص مراحل اولیه افت عملکرد کلیه به دقت امکان پذیر نیست (۸). اما بیومارکرهای جدید که از نظر ساختمانی بسیار گسترده هستند، ممکن است تحت تاثیر ویژگی ژنتیکی فرد، پروتئینها، پپتیدها و متابولیتها باشند. از این خانواده می توان به سایتوکاین های التهابی TNF-α، IL-1β و IL-18 اشاره نمود. سایتوکاین ها پپتیدهای کوچک مولکول با وزن بسیار اندک هستند که بصورت موضعی فعالیت می کنند. گاها ممکن است اثر همدیگر را افزایش، کاهش و یا مهار نمایند. از این گروه، TNF-α تنها سایتوکاینی است که ممکن است به مقدار زیاد ترشح شود، وارد خون شده و بصورت سیستمیک عمل نماید و اهداف دوردستی داشته باشد. بر اساس پاتوژنز بیماری تغییر میزان بیومارکر می تواند ناشی از صدمه گلومرولی، صدمه توبولی، مارکرهای التهابی و فیبروز

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

باشـد و بـر اسـاس آناتومـی نفـرون از قسـمتهای مختلـف نفـرون منشـا گرفتـه باشـد (۷).

نوروپاتی محیطی نیز یک احساس ناخوشایند مرتبط با نورون های حسی بوده که تحت تاثیر محرک های متنوعی از جمله شیمیایی، حرارتی و مکانیکی ایجاد می شود. این عارضه در دیابت بروز می نماید (۹،۱۰). امروزه درک ما از مکانیسم های سیگنال دهی درون سلولی به سبب پیشرفت های فنی در ژنتیک مولکولی و فیزیولوژی سلولی کامل تر شده است (۱۱-۹). شناسایی و درک مسیرها و مکانیسم های درون سلولی می تواند در روند درمان بیماری ها، کمک کننده باشد. از مهمترین مسیرهای ایجاد کننده التهاب نوروپاتیک و نفروپاتیک، مسیرهای وابسته به افزایش غلظت TNF-α، IL-1β و برادی کنین می باشند (۱۲). التهاب و آسیب بافتی موجب فعال شدن پروتئین های پروتئولیتیک کالیکرین می شود. این پروتئین ها با اثر روی ترکیبات کینینوژن موجب تجزیه آنها به برادی کینین (۹ آمینواسیدی) می شوند. سنتز برادی کنین، نشانه آغاز التهاب و درد است. برادی کینین برای عملکرد خود از دو نوع رسپتور β1 و β2 مرتبط باپروتئین G استفاده می نماید که رسپتور β1 تنها در آسیب های بافتی ناشی از TNF-α و IL-1β بیان می شود (۱۳). آشکار شده است که تجمع سایتوکاین های التهابی مانند TNF-α در پایانه های عصبی، سلول های شوآن و گانگلیون ریشه پشتی و نخاع در بیماران مبتلا به نوروپاتی دیابتی موجب احساس درد مزمن می گردد (۱۵،۱۴). علاوه براین، TNF-α دربروز دو پدیده آپوپتوزیس و نکروزیس که در بیماران دیابتی موجب از بین رفتن سلول های β لوزالمعده می شود نقش ویژه ای دارد. این عملکرد از طریق فعال سازی مسیر پیام رسانی درون سلولی TNF-α-Mediated RIPK1[۱] Pathway اتفاق می افتد (۱۶). به همین سبب تجویز آنتی بادی ضد TNF-α با مهار مسیر فوق و جلوگیری از فعال سازی RIPK1 از شدت بروز عوارض نوروپاتی می کاهد (۱۷). سنتز این سایتوکاین و اعضای دیگر این خانواده، وابسته به کمپلکس های پروتئینی انفلامازومی مانند NLRP3[۲] می باشد. این کمپلکس های پروتئینی، انتقال دهنده پیام درون سیتوپلاسمی بوده که در صورت فعال شدن موجب فعال سازی مکانیسم های سلولی موثر در بروز التهاب می شوند و بر عملکرد عصب حسی نیز تاثیر می گذارند (۱۹،۱۸). اکنون که نقش بیومارکر TNF-α در بروز نفروپاتی و نوروپاتی محیطی بیماران دیابتی روشن شد، به نظر می رسد جلوگیری از افزایش غلظت این سایتوکاین در پیشگیری از بروز این ضایعات پاتولوژیک مفید و موثر باشد. جهت القای این عوارض در محیط آزمایشگاه استفاده از داروی پکلی تاکسل امری رایج است. پکلی تاکسل از خانواده وینکا آلکالوئیدها (با ویژگی عدم حلالیت در آب) بوده و در درمان بیماری های صعب العلاج استفاده می شود (۲۰) ، اما موجب افزایش بیومارکر TNF-α می شود، جهت جلوگیری از بروز ضایعات پاتولوژیک می توان از برخی داروها مانند آمیفوستین، گلوتاتیون، ویتامین E، کلسیم، منیزیم و سولفات منیزیوم بصورت پروفیلاکسی استفاده نمود (۲۲،۲۱). سولفات منیزیوم از داروهای ممانعت کننده بروز نوروپاتی و نفروپاتی است، اما هنوز مکانیسم های ممانعت کنندگی آن در بروز این ضایعات کاملا آشکار نشده است. تصور براین است که هرگونه تغییر در سطح سرمی TNF-α به سبب تجویز سولفات منیزیوم می تواند نشانه ای از تغییر در فعال سازی مسیرهای التهابی آسیب زا و ایجاد کننده درد انفلامازومی و برادی کنینی باشد. در این مطالعه سعی شده است که دوز موثر سولفات منیزیوم را در کاهش غلظت سرمی سایتوکاین التهاب زای TNF-α با پتانسیل بروز ضایعات نفروپاتیک و نوروپاتیک در مدل حیوانی ارزیابی کنیم.

مواد و روش ها

حیوانات آزمایشگاهی و طراحی پژوهش

[۱] Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1

[۲] NLR family pyrin domain containing 3

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

در این مطالعه از ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی (Mean±SD, 200±40 g[3]) که از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی زابل خریداری شده بود، استفاده گردید. حیوانات تحت شرایط آزمایشگاهی با درجه ی حرارت ۲ ±۲۲ سانتیگراد و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. طراحی تحقیق و تکنیک های مورد استفاده بعد از بررسی به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه قرار گرفت و کد اخلاق با شماره IR.ZBMU.AEC.1401.001 دریافت نمود.

تصادفی سازی

بطور کلی موش ها بصورت تصادفی در ۴ گروه آزمایش ۱، آزمایش ۲، آزمایش ۳ و کنترل به تعداد مساوی (۶ عدد در هر گروه) قرار گرفتند.

برای تصادفی سازی از روش بلوک تصادفی استفاده شد. ۴ تا بلوک تهیه شد که از شماره ۱ تا ۴ که نشان دهنده هرگروه خاص بود، شماره گذاری شدند. شماره ۴ نشان دهنده گروه کنترل بود. موش ها در شرایط مناسب یکسان قرار داشتند و بطور تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند.

القای ضایعات نفروپاتیک، نوروپاتیک و تجویز محافظت کننده

ابتدا به گروه های آزمایش(E1، E2 وE3) و کنترل مقدار 10 mg/kg(میلی گرم بر کیلوگرم) داروی پکلی تاکسل بصورت یک روز درمیان (جمعا ۴ تزریق) تجویز شد (23). داروی پکلی تاکسول در حجم ۵ میلی لیتری (حاوی ۳۰ میلی گرم دارو) از شرکت داروسازی اکترو خاورمیانه (Acteropharma)کرج-ایران به آدرس الکترونیکی (https://fa.acteropharma.com) تهیه شد. داروی سولفات منیزیوم جهت مقابله با آثار نفروپاتیک و نوروپاتیک ناشی از پکلی تاکسل بصورت روزانه (جمعا ۷ تزریق) و در ۳ غلظت ۳۰۰، ۱۵۰و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم تجویز شد (۲۴). محاسبه غلظت محافظت کننده به سبب فعالیت متابولیسمی بالای موش ها و دستیابی به نتیجه مورد نظر براساس مراجع قبلی انتخاب شد.

به گروه شاهد که تزریق پکلی تاکسل نیز داشتند، ۷ تزریق نرمال سالین (۰/۹ ٪) تجویز شد. بعد از ۷ روز نمونه گیری انجام شد. نمونه خون محیطی رت ها گرفته شد و سرم آن جدا شد. جهت بررسی غلظت سرمی TNF-α از روش الایزا استفاده گردید. لازم به ذکر است که در گروه E2 دوتا از موش ها را در طول پژوهش ازدست دادیم.

تکنیک الایزا

کیت الایزای ساندویچ TNF-α مخصوص رت از شرکت کارمانیا پارس ژن ایران (www.armanbiotech.com) با مشخصات (Lot: RTNF0821001) خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. محتویات کیت در جدول-۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱: جزئیات محتوی کیت الایزای مورد استفاده را نشان می دهد، که دارای ۸ محلول مجزا بوده است.

شماره	محتوی کیت	شماره کاتالوگ	حجم
۱	TNF-α antibody precoated plates	KPG-**TNF-α**	۹۶ چاهک
۲	Standards 1-4	KPG-TNF-α NS1-4	۲۰۰ میکرولیتر
۳	HRP-Avidin	KPG-HA	۵/۵ میلی لیتر
۴	HRP	HAA	۵۵۰ میکرولیتر
۵	Substrate	KPG-SU	۵/۵ میلی لیتر
۶	Stopping	KPG-ST	۳/۵ میلی لیتر
۷	10X washing buffer	KPG-WB	۴۰ میلی لیتر
۸	Detection Ab	KPG-**TNF-α**	۵/۵ میلی لیتر

[3] Gram

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

حساسیت کیت به میزان ۲ پیکوگرم بر میلی لیتر بود. نمونه سرم مستقیم (بدون رقت سازی) استفاده شد. مراحل به این ترتیب انجام شد: ابتدا پلیت در محیطی خشک به دمای اتاق رسید. به چاهک اول تا چهارم به میزان ۵۰ میکرولیتر از استاندارد های شماره ۴تا ۰اضافه شد. میزان ۵۰ میکرولیتر به بقیه چاهک ها نمونه مورد نظر اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه بر روی شیکر با سرعت 200 rpm[4] در دمای اتاق انکوبه شد. سپس سه مرتبه با محلول شستشو عمل شستن انجام شد. (در هر مرحله ۱ دقیقه پلیت در دمای اتاق انکوبه شد). ۵۰ میکرولیتر آنتی بادی کونژوگه به تمامی چاهک ها اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه در روی شیکر با سرعت 200 RPM انکوبه گردید. مجددا ۳ مرتبه عمل شستشو مطابق مرحله قبل انجام شد. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول HRP-Avidin به تمامی چاهک ها اضافه گردید و پلیت ۳۰ دقیقه روی شیکر با سرعت 200 rpm قرار گرفت. سپس ۵ مرتبه شستشو انجام شد. ۵۰ میکرولیتر سوبسترا به تمامی چاهک ها اضافه گردید و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول متوقف کننده (Stopping) به چاهک ها اضافه شد و جذب نور با دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری شد.

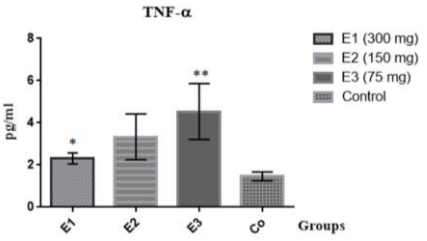
تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون One-way-ANOVA استفاده شد و P-value<0.05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

آزمایش الایزا

بطورکلی غلظت سرمی TNF-α در تمام گروه های مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل افزایش داشت. جزئیات این افزایش به این ترتیب بود که در گروه E1 میانگین این افزایش (Mean±SD, 2.31±0.26 pg/ml[5]) بود که در مقایسه با گروه کنترل (1.46±0.21) افزایش معنی داری را نشان داد. (P<0.05) در گروه E3 نیز شاهد افزایش معنی دار غلظت سرمی این سایتوکاین (4.54±1.32) در مقایسه با گروه کنترل بودیم (p<0.05). اما در گروه E2، این افزایش میانگین (3.34±1.08) در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود. (P>0.05) (تصویر شماره ۱)



تصویر شماره ۱: تغییرات غلظت سرمی سایتوکاین TNF-α در گروه های مورد آزمایش (E1, E2, E3) در مقایسه با کنترل نشان داده شده است.

بحث و نتیجه گیری

امروزه از سایتوکاین TNF-α به عنوان مهمترین بیومارکر التهابی در بیماران دیابتی مبتلا به نفروپاتی و نوروپاتی محیطی یاد می شود (۲۶،۲۵). هردو گروه بیماران دیابتی (نوع یک خودایمن و نوع دو) از نوروپاتی محیطی رنج می برند، حال آنکه در نوع خود ایمن شدیدتر است (۲۷). در این مطالعه ما اثرات سولفات منیزیوم را بر مکانیسم احتمالی بروز نفروپاتی و نوروپاتی محیطی ناشی از سنتز TNF-α به نام انفلامازوم (NLRP3) و برادی کینین، در مدل آزمایشگاهی القاء شده با پاکلی تاکسل بررسی نمودیم. مطالعات گذشته نشان داده اند که تجویز وابسته به دوز پکلی تاکسول درکاهش ضایعات مدل حیوانی نفروپاتی دیابتی موثر بوده است (۲۸). دوز های بالای پکلی تاکسول آثار مخربی بر نفرون ها دارد حال آنکه دوزهای اندک آن می تواند در بهبود نفروپاتی دیابتی موثر باشد (۳۰،۲۹). بنابراین تجویز پکلی تاکسول به همراه محافظت کننده می تواند راه درمانی مناسبی برای ضایعات نفروپاتیک و

[4] Rotation speed (rpm)

[5] Pictogram/milliliter

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

نوروپاتیک باشد. در تایید استفاده از سولفات منیزیوم جهت کاهش مشکلات بیماران دیابتی، می توان به مطالعه سهراب پور و همکاران در سال ۲۰۱۸ اشاره نمود که به عملکرد سولفات منیزیوم در کاهش شدت بیماری دیابتی نوع دو اذعان کردند. ایشان گزارش دادند که این ماده موجب افزایش بیان سطح سلولی گیرنده های انتقالی گلوکز (GLUT4) شده و با افزایش متابولیسم درون سلولی گلوکز موجب کاهش سطح گلوکز در مدل آزمایشگاهی دیابت شده است (۳۱). در این مطالعه، جهت االقای نفروپاتی و نوروپاتی محیطی از پکلی تاکسل استفاده شد. گزارشات متعددی وجود دارد که تجویز پکلی تاکسل را با محوریت سنتز سایتوکاین های التهابی TNF-α و IL-6 از ماکروفاژهای مقیم بافتی مغزی-نخاعی-کلیوی نشان داده اند (۲۹ و ۳۲). در همین راستا Duan YW et al. ضمن اذعان ایمونولوژیک درد و نوروپاتی گزارش دادند که TNF-α مهمترین سایتوکاین التهابی است که بصورت آبشاری فعال شده و غلظت بالایی از آن (بصورت هورمون) در خون محیطی ایجاد و صدمات جبران ناپذیری را به بافت های عصبی می رساند و باعث درد و نوروپاتی می شود (۳۳). Leung L و همکاران نیز در مطالعه خود گزارش دادند که افزایش غلظت سایتوکاین های التهابی مانند TNF-α باعث بروز درد می شود و عملکرد داروهای ضد التهابی از طریق کاهش غلظت این سایتوکاین می باشد (۳۴). در مطالعه ی ما از ۴ دوز 10 mg/kg پکلی تاکسل بصورت اینتراپریتئونال جهت القای درد و نوروپاتی در رت با میانگین وزنی 40 g ± 200 استفاده شد. در همین راستا Shahraki نیز از تزریق اینتراپریتئونال ۴ دوز 2mg/kg پکلی تاکسل جهت القای نوروپاتی در موش های نژاد آلبینو با وزن تقریبی ۳۰ تا ۳۵ گرم استفاده کردند (۳۵).

در این مطالعه نقش محافظتی دوزهای متنوع سولفات منیزیوم در مقابل اثر نفروپاتیک و نوروپاتیک پکلی تاکسل در مدل موشی ارزیابی شد. در موارد مشابه Aisenbrey GA و همکاران نیز در مطالعه خود به نقش محافظتی و ضد دردی سولفات منیزیوم اذعان کرده بودند و گزارش دادند که سولفات منیزیوم در موارد متعددی مانند دردهای بعد از عمل جراحی و پره کلامپسی بصورت وریدی و یا عضلانی تجویز می شود (۳۶).

مطالعه ما نشان داد که غلظت سایتوکاین TNF-α در گروه E3 که دوز به نسبت کمتری از سولفات منیزیوم را در مقایسه با سایر گروه ها دریافت کرده بود بیشتر بود. این دستاورد نشان دهنده موفقیت آمیز بودن عملکرد محافظت کنندگی سولفات منیزیوم در گروه های آزمایش E2 و E1 بود، که می تواند نشانه ای از کاهش فعالیت مسیر NLRP3 و برادی کینین و کاهش التهاب، نوروپاتی و نفروپاتی باشد. در همین راستا مشاهدات Huehnchen P et al. نشان داد که تجویز پکلی تاکسل موجب بروز نوروپاتی در گانگلیون های ریشه پشتی مغز (dorsal root ganglia) و جلب ماکروفاژ ها به این ناحیه و سنتز سایتوکاین التهابی TNF-α شده است (۳۲). Aryana P et al. نیز در تایید یافته های ما نشان دادند که تجویز سولفات منیزیوم در بیماران دریافت کننده پیوند عروق کرونر (از مشکلات بیماران دیابتی)، باعث کاهش غلظت سرمی TNF-α و متعاقبا کاهش التهاب شده است (۳۷).

در مجموع، مطالعه ما نشان داد که تزریق اینتراپریتونئال پکلی تاکسل به سبب افزایش غلظت سرمی TNF-α موجب القای نفروپاتی و نوروپاتی محیطی شده است. جهت بررسی شدت عارضه های فوق نتوانستیم از تست های صفحه ای حرارتی برای بررسی نورپاتی و تست های آزمایشگاهی CRP، کراتینین و BUN برای سنجش شدت نفروپاتی استفاده نماییم که محدودیت های مطالعه ما بود. حال آنکه غظت بالای سایتوکاین التهابی TNF-α در گروه E3 نشان دهنده شدت آسیب های نفروپاتیک و نوروپاتیک می باشد. از سویی دیگر تجویز سولفات منیزیوم بصورت پروفیلاکسی در یک حالت وابسته به دوز توانست تاحدی از تشدید ضایعات بکاهد. در این مطالعه تجویز ۳۰۰ میکروگرمی سولفات منیزیوم به سبب کاهش سنتز TNF-α و اثر بلقوه کاهشی آن در فعال سازی مسیرهای درد وابسته به NLRP3 و برادی کنین، از شدت التهاب کاسته

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

است. پیشنهاد می شود جهت تایید بیشتر اثر کاهشی داروی مذکور بر سایتوکاین مورد مطالعه، آثار پاتولوژیک تجویز داروهای مذکور بر کلیه و عصب سیاتیک بصورت بافت شناسی مورد ارزیابی قرار گیرد. علاوه براین ، میزان بیان سرمی اسید های نوکلئیک مهارکننده سنتز سایتوکاین TNF-α و میزان بیان فاکتور نسخه برداری NF-κB که چهار راه مسیرهای التهاب می باشد نیز مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

لازم به ذکر است که نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از کارکنان حیوانخانه دانشکده پزشکی اعلام می دارند.

تاییدیه اخلاقی

این پژوهش در سال ۱۴۰۱ از کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی زابل کد اخلاق با شماره IR.ZBMU.AEC.1401.001 دریافت نموده است.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

منابع مالی

هزینه انجام این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زابل تامین شده است.

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

References

1. Freeman R. Autonomic peripheral neuropathy. Lancet. 2005;365(9466):1259-70.

2. Thomas PK. Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. Diabetes. 1997;46(SUPPL. 2):54-7

3. Vinik AI. Diabetic neuropathies. In: Atlas of Diabetes. 2011. p. 295–312.

4. Said G. Diabetic neuropathy - A review. Nat Clin Pract Neurol. 2007;3(6):331–40.

5. Obrosova IG. Diabetes and the peripheral nerve. Biochim Biophys Acta (BBA)-Molecular Basis Dis [Internet]. 2009;1792(10):931-40. Available from: https://pdf.sciencedirectassets.com/271023/1-s2.0-S0925443909X00104/1-s2.0-S0925443908002263/main.pdf?x-amz-security-token=AgoJb3JpZ2luX2VjEP7%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2FwEaCXVzLWVhc3QtMSJHMEUCIQCAkjy7ff3p4V82Ox54Yu3u%2FZF%2BeNl%2BOB2oXJTIWYwQ2QIgCBm07l

6. Navarro-González JF, Jarque A, Muros M, Mora C, García J. Tumor necrosis factor-α as a therapeutic target for diabetic nephropathy. Cytokine Growth Factor Rev. 2009;20(2):165–73.

7. Gluhovschi C, Gluhovschi G, Petrica L, Timar R, Velciov S, Ionita I, et al. Urinary biomarkers in the assessment of early diabetic nephropathy. J Diabetes Res. 2016;2016:1–13.

8. Campion CG, Sanchez-Ferras O BS. Potential role of serum and urinary biomarkers in diagnosis and prognosis of diabetic nephropathy. Can J Kidney Heal Dis. 2017;4:1–18.

9. Xu M, Bennett DL, Querol LA, Wu LJ, Irani SR, Watson JC, et al. Pain and the immune system: emerging concepts of IgG-mediated autoimmune pain and immunotherapies. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2020;91(2):177–88.

10. Schreiber AK. Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment. Vol. 6, World Journal of Diabetes. 2015 Apr 15; 6(3): 432–44.

11. Lee Y, Lee CH, Oh U. Painful channels in sensory neurons. Mol Cells. 2005;20(3):315–24.

12. Okuse K. Pain signalling pathways: From cytokines to ion channels. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39(3):490–6.

13. Pesquero JB, Araujo RC, Heppenstall PA, Stucky CL, Silva JA, Walther T, et al. Hypoalgesia and altered inflammatory responses in mice lacking kinin B1 receptors. Proc Natl Acad Sci. 2000;97(14):8140–5.

14. Empl M, Renaud S, Erne B, Fuhr P, Straube A, Schaeren–Wiemers N, et al. TNF-alpha expression in painful and nonpainful neuropathies. Neurology. 2001;56(10):1371–7.

15. Zhu D, Fan T, Huo X, Cui J, Cheung CW XZ. Progressive increase of inflammatory CXCR4 and TNF-alpha in the dorsal root ganglia and spinal cord maintains peripheral and

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

central sensitization to diabetic neuropathic pain in rats. Mediators Inflamm. 2019;2019:1–11.

16. Takiishi T, Xiao P, Franchimont M, Gilglioni EH, Arroba EN, Gurzov EN, et al. Inhibition of RIPK1 kinase does not affect diabetes development: β-Cells survive RIPK1 activation. Mol Metab. 2023;69:1-8.

17. Son JY, Ju JS, Kim YM AD. TNF-α-Mediated RIPK1 Pathway Participates in the Development of Trigeminal Neuropathic Pain in Rats. Int J Mol Sci. 2022;23(1):506-20.

18. Starobova H, Nadar EI, Vetter I. The NLRP3 Inflammasome: Role and Therapeutic Potential in Pain Treatment. Front Physiol. 2020;11(1016):1–12.

19. Zafar-Mohammadi K, Poursamimi J AM. NLRP3 inflammasome activation and its inhibitory drugs in connection with COVID-19 infection. Eur J Inflamm. 2022;20:1721727X221130984.

20. Rowinsky EK DR. The clinical pharmacology of paclitaxel (Taxol). Vol 4. InSeminars in oncology. 1993. p. 16-25.

21. Wolf S, Barton D, Kottschade L, Grothey A, Loprinzi C. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Prevention and treatment strategies. Eur J Cancer. 2008;44(11):1507–15.

22. Piccolo J, Kolesar JM. Prevention and treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. Am J Heal Pharm. 2014;71(1):19–25.

23. Tsai M, Lu Z, Wang J, Yeh TK, Wientjes MG, JL. A. Effects of Carrier on Disposition and Antitumor Activity of Intraperitoneal Paclitaxel. Pharm Res. 2007;24(9):1691-701.

24. Bagheri G, Rezaee R, Tsarouhas K, Docea AO, Shahraki J, Shahriari M, et al. Magnesium sulfate ameliorates carbon monoxide-induced cerebral injury in male rats. Mol Med Rep. 2019;19(2):1032–9.

25. Baka P, Escolano-Lozano F, Birklein F. Systemic inflammatory biomarkers in painful diabetic neuropathy. J Diabetes Complications. 2021;35(10):1–9.

26. Barutta F, Bruno G, Grimaldi S GG. Inflammation in diabetic nephropathy: moving toward clinical biomarkers and targets for treatment. Endocrine. 2015;48(3):730-42.

27. Pitsavos C, Tampourlou M, Panagiotakos DB, Skoumas Y, Chrysohoou C, Nomikos T, et al. Association between low-grade systemic inflammation and type 2 diabetes mellitus among men and women from the ATTICA study. Rev Diabet Stud. 2007;4(2):98–104.

28. Mazroa S, Asker SA. Impact of nanoparticle albumin-bound paclitaxel on microscopic structure and immunohistochemical expression of transforming growth factor-β1 in the renal cortex of rat diabetic nephropathy. Int J Sci Reports. 2016;2(5):86–93.

29. Son SS, Kang JS LE. Paclitaxel ameliorates palmitate-induced injury in mouse podocytes. Med Sci Monit Basic Res. 2020;26:e928265-1.

30. Sun L, Zhang D, Liu F, Xiang X, Ling G, Xiao L, et al. Low-dose

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]

paclitaxel ameliorates fibrosis in the remnant kidney model by down-regulating miR-192. J Pathol. 2011;225(3):364–77.

31. Sohrabipour S, Sharifi MR, Sharifi M, Talebi A, Soltani N. Effect of magnesium sulfate administration to improve insulin resistance in type 2 diabetes animal model: using the hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique. Fundam Clin Pharmacol. 2018;32(6):603–16.

32. Huehnchen P, Muenzfeld H, Boehmerle W, Endres M. Blockade of IL-6 signaling prevents paclitaxel-induced neuropathy in C57Bl/6 mice. Cell Death Dis. 2020;11(1):1–3.

33. Duan YW, SX C, Li QY, Zang Y. Neuroimmune mechanisms underlying neuropathic pain: the potential role of TNF-α-necroptosis pathway. Int J Mol Sci. 2022;23(13):7191–212.

34. Leung L, Cahill CM. TNF-α and neuropathic pain-a review. J Neuroinflammation [Internet]. 2010;7:27. Available from: http://www.jneuroinflammation.com/content/7/1/27

35. Shahraki J, Rezaee R, Mohammadzehi Kenar S, Bagheri G, Jahantigh H, et al. Umbelliprenin relieves paclitaxel-induced neuropathy. J Pharm Pharmacol. 2020;72(12):1822–9.

36. Aisenbrey GA, Corwin E, Catanzarite V. Effect of magnesium sulfate on the vascular actions of norepinephrine and angiotensin II. Am J Perinatol. 1992;9(5/06):477-80.

37. Aryana P, Rajaei S, Bagheri A, Karimi F, Dabbagh A. Acute effect of intravenous administration of magnesium sulfate on serum levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-α in patients undergoing elective coronary bypass graft with cardiopulmonary bypass. Anesthesiol Pain Med. 2014;4(3): e16316.

[Downloaded from jdn.zbmu.ac.ir on 2026-11-17]