

Research Paper

Comparing the Effects of Theobromine and Prednisolone on Disease Severity and Inflammatory Markers in Female Rats With Ulcerative Colitis



Omid Sami Deli¹, *Shiva Khezri^{1*}, Seyed Meysam Abtahi Froushani²

1. Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran.

2. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.



Citation Sami Deli O, Khezri SH, Abtahi Froushani SM. Comparing the Effects of Theobromine and Prednisolone on Disease Severity and Inflammatory Markers in Female Rats With Ulcerative Colitis. *Qom Univ Med Sci J*. 2023; 17:E1927.3. <https://doi.org/10.32598/qums.17.1927.3>

 <https://doi.org/10.32598/qums.17.1927.3>

Received: 08 Sep 2022

Accepted: 14 Dec 2022

Available Online: 20 Apr 2023

ABSTRACT

Background and Objectives: Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease of the large intestine and rectum that is associated with symptoms such as rectal bleeding, diarrhea, and sometimes abdominal pain. Theobromine is an alkaloid which is found in coffee beans, cocoa beans, and tea leaves. This study aims to evaluate the effectiveness of theobromine, compared to prednisolone, in treating inflammation in female rats with UC.

Methods: In this experimental study on 24 female Wistar rats, after induction of UC with injection of acetic acid 4%, rats were divided into four groups: Control, UC, UC+prednisolone (10 mg/kg) and UC+theobromine (100 mg/kg). All rats were evaluated daily for changes in body weight, the existence of blood in the stool, and stool consistency. After 10 days, the rats were killed and were examined in terms of macroscopic lesions and the production of biochemical markers in the intestinal tissue including myeloperoxidase (MPO), nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), and protein content. Analysis of biochemical data was performed by one-way ANOVA, and the data related to disease severity were analyzed by the Friedman test.

Results: The results for the weight factor indicated that the UC group had severe weight loss, and in the groups treated with theobromine and prednisolone, the weight of rats gradually increased. The disease severity increased in the UC group but decreased in the treated groups. Macroscopic examination showed that the tissue wound and bleeding in the treated groups were much lower than in the UC group and were almost similar to those in the control group. In the UC group, the levels of MPO, NO, and MDA increased significantly compared to the control group ($P < 0.05$), and treatment with theobromine and prednisolone significantly reduced the level of these markers. In contrast, the TAC and protein content decreased in the UC group, compared to the control group, while there was a significant increase in the treated groups compared to the UC group.

Conclusion: Treatment with theobromine and prednisolone can reduce tissue wounds and bleeding, as well as the MPO, NO, and MDA levels in female rats with UC.

Keywords:

Ulcerative colitis,
Theobromine, Pred-
nisolone, Acetic acid,
Rats

* Corresponding Author:

Shiva Khezri, PhD.

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran.

Tel: +98 (44) 31942122

E-Mail: sh.khezri@urmia.ac.ir



Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).
Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Introduction

Ulcerative colitis (UC) is an inflammatory disease of the colon and rectum, which is accompanied by symptoms such as rectal bleeding, diarrhea, and sometimes abdominal pain. The treatment of UC is done with common drugs such as aminosalicylates, steroids, antibiotics, immunomodulators, and serratiopeptidase, which have side effects such as diarrhea, vomiting, liver and kidney disorders, pancreatitis, and gastrointestinal ulcers. Theobromine is an alkaloid that is found in coffee beans, cocoa beans, and tea leaves. This compound has many biological properties, including antioxidant, anti-inflammatory and anti-tumor properties. In addition, theobromine is effective in the treatment of diseases such as high blood pressure, asthma, headache, and cancer treatment. Methylxanthine substances such as caffeine and theobromine are antagonists of adenosine receptors in the brain, which reduce the effects of adenosine. Theobromine molecule is structurally similar to the adenosine molecule and can be coupled to G protein receptors that exert a range of downstream cellular effects through multiple mechanisms. To date, it has not been determined exactly what factors cause UC, but factors such as heredity, smoking, air pollution, use of birth control pills, and diet can cause this disease. There is a strong possibility that factors such as genetic defects, abnormal mucosal immune response, and intestinal epithelial dysfunction can play a role in UC. This aims to evaluate the effectiveness of theobromine in treating inflammation in rats with UC.

Methods

In this experimental study on 24 female Wistar rats, to induce UC, the animal was first briefly anesthetized with ether, and an AngioJet was inserted into the animal's rectum. Then, 1-2 mL of 4% acetic acid was injected into the rectum. After induction, rats were divided into 4 groups including control, UC, UC+prednisolone (10 mg/kg), and UC+theobromine (100 mg/kg). All rats were evaluated daily for changes in body weight, the existence of blood in the stool, and stool consistency. The mean total changes in these disease severity factors per day were determined and compared among the groups. In terms of macroscopic lesions, biochemical factors such as myeloperoxidase (MPO), nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), and protein content were examined. Analysis of biochemical data was performed by one-way ANOVA, and the data related to disease severity were analyzed by the Friedman test. The significance level was set at 0.05 and the data were reported as Mean±SD.

Results

The results for the weight factor indicated that the UC group had severe weight loss, and in the groups treated with theobromine and prednisolone, the weight of rats gradually increased. The disease severity increased in the UC group but decreased in the treated groups. Macroscopic examination showed that the tissue wound and bleeding in the treated groups were much lower than in the UC group and were almost similar to those in the control group. In the UC group, the levels of MPO, NO, and MDA increased significantly compared to the control group ($P<0.05$) and treatment with theobromine and prednisolone significantly reduced the level of these markers. In contrast, the TAC and protein content decreased in the UC group, compared to the control group, while there was a significant increase in the treated groups compared to the UC group.

Conclusion

In UC induced by acetic acid, the acid destroys the mucosa, resulting in the intestinal bacterial flora easily penetrating the underlying layers and leading to inflammation. As a result, neutrophils and macrophages are secreted into the mucous tissue, and neutrophils leads to the production and secretion of reactive oxygen species. These factors cause the peroxidation of lipids, increase the permeability of mucus and blood vessels, increase the entry of neutrophils into the mucous tissue, and develop inflammation. In a study, cinnamon extract reduced the TAC, MPO and NO in rats with UC, where the reduction was more than the effect of prednisolone used in our study. Previous studies showed that UC leads to an increase in the level of lipid peroxidation and MPO. In a study, treatment with *Fasciola hepatica* led to a decrease in the level of these factors compared to the disease group, which is consistent with our results for theobromine, as it was observed that theobromine reduced the amount of MPO compared to the UC group. Overall, it can be concluded that treatment with theobromine and prednisolone can reduce the adverse effects of acetic acid, by reducing the amount of tissue wounds, bleeding, MPO, NO, and MDA and increasing the TAC and the protein content.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of Urmia University (Code: IR.UU.AEC.3/61).

Funding

This article was extracted from the master's thesis of the study was funded by [Urmia University](#).

Authors contributions

The authors contributed equally to this study.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Deputy for Research of [Urmia University](#) for financial support.

مقاله پژوهشی

مقایسه اثرات تئوبرومین و پردنیزولون بر شدت بیماری و نشانگرهای التهابی در موش‌های صحرایی ماده مبتلا به کولیت اولسراتیو

امید سامی دلی^۱، شیوا خضری^{۱*}، سیدمیثم ابطحی فروشانی^۲

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲. گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.



Citation Sami Deli O, Khezri SH, Abtahi Froushani SM. Comparing the Effects of Theobromine and Prednisolone on Disease Severity and Inflammatory Markers in Female Rats With Ulcerative Colitis. *Qom Univ Med Sci J*. 2023; 17:E1927.3. <https://doi.org/10.32598/qums.17.1927.3>

doi <https://doi.org/10.32598/qums.17.1927.3>

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۷ شهریور ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش: ۲۳ آذر ۱۴۰۱

تاریخ انتشار: ۳۱ فروردین ۱۴۰۲

زمینه و هدف: کولیت اولسراتیو یک بیماری التهابی مزمن روده بزرگ و راست‌روده است که با علائمی مانند خونریزی از رکتوم، اسهال و گاهی اوقات درد ناحیه شکمی همراه است. تئوبرومین آلکالوئیدی است که در مغز قهوه، درخت کاکائو و برگ‌های چای یافت می‌شود. هدف این مطالعه ارزیابی اثربخشی تئوبرومین در مقایسه با پردنیزولون در درمان التهاب در موش‌های ماده مبتلا به کولیت اولسراتیو است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی روی ۲۴ موش ویستار ماده، بعد از القای کولیت با اسید استیک ۴ درصد، رت‌ها در ۴ گروه شامل گروه کنترل، کولیت، کولیت+تیمارشده با پردنیزولون (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و کولیت+تیمارشده با تئوبرومین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. همه رت‌ها به صورت روزانه از نظر تغییرات وزن بدن، وجود خون در مدفوع و قوام مدفوع بررسی شدند. میانگین مجموع تغییرات شاخص بیماری در هر روز مشخص شد و در انتهای دوره گروه‌ها با هم مقایسه شدند. بعد از ۱۰ روز رت‌ها آسان‌کشی شده و از نظر ضایعات ماکروسکوپی و فاکتورهای بیوشیمیایی در هموزن بافت روده شامل میلوپراکسیداز، نیتریک اکساید، مالون دی آلدئید، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و میزان پروتئین مورد بررسی قرار گرفتند. آنالیز تمامی داده‌های پارامتری و فاکتورهای بیوشیمیایی با آزمون آنوای یک‌راهه صورت پذیرفت. همچنین تجزیه و تحلیل داده‌های غیرپارامتری مرتبط با شدت بیماری با آزمون فریدمن انجام شد.

یافته‌ها: نتایج وزن موش‌ها حاکی از آن است که گروه کولیت با کاهش وزن شدیدی روبه‌رو شدند. در گروه درمانی با تئوبرومین و پردنیزولون وزن موش‌ها به تدریج افزایش یافت. همچنین شاخص بیماری در موش‌های گروه کولیت افزایش یافت. در گروه‌های تیمارشده با تئوبرومین و پردنیزولون سطح شاخص کاهش یافت. بررسی‌های ماکروسکوپی نشان داد میزان زخم‌های بافتی و خونریزی در گروه‌های درمانی نسبت به گروه کولیت بسیار کاهش داشت و تا حدودی مشابه گروه سالم بود. بررسی‌های آماری نشان داد در گروه کولیت میزان میلوپراکسیداز، نیتریک اکساید و مالون دی آلدئید نسبت به گروه کنترل به میزان قابل توجهی افزایش یافت ($P < 0.05$) و تیمار با تئوبرومین و پردنیزولون باعث کاهش معنی‌دار این فاکتورها نسبت به گروه کولیت شد. برعکس، میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و میزان پروتئین در گروه کولیت نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، در حالی که در گروه‌های تیمارشده با تئوبرومین و پردنیزولون در مقایسه با گروه کولیت افزایش معنی‌داری دیده شد.

نتیجه‌گیری: تیمار با تئوبرومین و پردنیزولون می‌تواند باعث کاهش زخم‌های بافتی، خونریزی و کاهش میزان میلوپراکسیداز، نیتریک اکساید و مالون دی آلدئید در موش ماده با کولیت اولسراتیو شود.

کلیدواژه‌ها:

کولیت اولسراتیو،
تئوبرومین، پردنیزولون،
اسید استیک، موش
صحرایی

* نویسنده مسئول:

دکتر شیوا خضری

نشانی: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: ۳۱۹۴۲۱۲۲ (۴۴) ۹۸+

رایانامه: sh.khezri@urmia.ac.ir

Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

مقدمه

ترکیبات متیل‌زانتین دسته‌ای از آلکالوئیدهای پورینی هستند که از پرمصرف‌ترین عوامل فعال دارویی محسوب می‌شوند. کافئین، تیوفیلین و تیوبرومین، سه متیل‌زانتین طبیعی هستند. تیوبرومین (۳،۷-دی‌متیل‌گزانتین) با فرمول شیمیایی $C_7H_8N_4O_2$ از ترکیبات آلکالوئیدی پورینی است که در منابع گیاهی وجود دارد. منبع اصلی تیوبرومین پوسته دانه‌های کاکائو و برگ‌های گیاه چای است. این ترکیب دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متعدد از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب و ضدتومور است. علاوه بر این، تیوبرومین در درمان بیماری‌هایی از قبیل فشار خون، آسم، سردرد و سرطان مؤثر است [۱-۳].

تیوبرومین یک آنتی‌اکسیدان قوی بوده و موجب خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر می‌شود. با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو مزمن عامل اصلی بسیاری از بیماری‌های مدرن، حتی سرطان، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی عروقی و التهابی است، این ماده بسیار حائز اهمیت است [۴].

گزارش‌های متعدد نشان داده‌اند استفاده همزمان از ترکیبات متیل‌زانتین با عوامل شیمی‌درمانی باعث افزایش اثرات ضدسرطان برای استخوان و سارکوم بافت‌های نرم می‌شود [۵]. مشتقات گزانتین‌ها از جمله تیوبرومین می‌تواند چرخه سلولی G_2 checkpoint که برای ترمیم DNA آسیب‌دیده ضروری است را مهار کند [۶]. استفاده از مشتقات گزانتین ممکن است حساسیت سلول‌های تومور به ترکیباتی که ترمیم‌کننده تخریب‌های DNA هستند را افزایش دهد [۷].

ترکیبات متیل‌زانتین به‌عنوان مهارکننده‌های رقابتی ضعیف فسفودی‌استراز عمل می‌کنند. مهارکننده‌های فسفودی‌استراز، آنزیم $cAMP$ فسفودی‌استراز را که AMP حلقوی را به فرم غیرحلقوی آن تبدیل می‌کند، مهار کرده و $cAMP$ درون سلولی را افزایش می‌دهند. $cAMP$ پروتئین‌کیناز A را که برای شروع فسفوریلاسیون آنزیم‌های دخیل در سنتز گلوکز به کار می‌رود، فعال می‌کند. بنابراین این مواد با بلوکه کردن برگشت $cAMP$ درون سلولی موجب تعدیل التهاب می‌شوند [۸، ۹].

مواد متیل‌گزانتین مانند کافئین و تیوبرومین در مغز به‌صورت آنتاگونیست گیرنده‌های آدنوزین هستند که موجب کاهش اثرات آدنوزین می‌شوند. مولکول تیوبرومین از نظر ساختاری مشابه مولکول آدنوزین است و می‌تواند به گیرنده‌های پروتئین G جفت شود که طیفی از اثرات سلولی پایین‌دستی را از طریق مکانیزم‌های متعدد از جمله مهار و فعال‌سازی آدنیلات‌سیکلاز و مهار یا فعال‌سازی کانال‌های یونی مانند کانال یونی کلسیم تولید می‌کنند [۱۰].

کولیت اولسراتیو نوعی بیماری التهابی روده بزرگ و راست‌روده است که با علائمی مانند خونریزی از رکتوم، اسهال و گاهی درد ناحیه شکمی همراه است. درمان این بیماری با داروهای رایج از قبیل آمینوسالیسلات‌ها، استروئیدها، آنتی‌بیوتیک‌ها، ایمونودولانورها و سراتیوپپتیداز صورت می‌گیرد که دارای اثرات جانبی مانند اسهال، استفراغ، اختلالات کبدی و کلیوی، پانکراتیت و زخم‌های گوارشی هستند [۱۱-۱۳]. از طرفی، بیماران مبتلا در صورت عدم کنترل التهاب در معرض خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ قرار می‌گیرند [۱۴]. بیماری کولیت اولسراتیو فقط محدود به ناحیه کولون و رکتوم است و صرفاً به ناحیه مخاط و زیر مخاط گسترش پیدا می‌کند. از نظر مورفولوژیکی این بیماری همواره رکتوم را درگیر می‌کند، سپس به‌طور مداوم گسترش یافته تا بخشی یا تمام کولون را درگیر کند [۱۵].

بیماری کولیت اولسراتیو براساس مکان و شدت التهاب به انواع پروکتیت اولسراتیو (التهاب فقط محدود به رکتوم)، پروکتوسیگموئیدیت (التهاب محدود به رکتوم و کولون سیگموئید)، پانکولیت (التهاب سرتاسر کولون) و کولیت بدخیم تقسیم می‌شود [۱۶، ۱۷].

تا به امروز دقیقاً مشخص نشده چه عواملی موجب این بیماری مولتی‌فاکتوریال می‌شود، اما عواملی همچون وراثت، مصرف دخانیات، آلودگی هوا، استفاده از قرص‌های بارداری و نوع رژیم غذایی می‌توانند باعث ابتلا به این بیماری شوند. به احتمال قوی عواملی همانند نقص ژنتیکی، پاسخ نابجای ایمنی مخاطی و اختلال در عملکرد اپی‌تلیال روده می‌توانند در ابتلا به بیماری کولیت اولسراتیو نقش داشته باشند [۸، ۱۶]. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی اثر تیوبرومین بر کولیت السراتیو القاشده در موش صحرایی ماده بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از ۲۴ موش ویستار ماده با محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۵۰ گرم که از خانه حیوانات دانشکده علوم دانشگاه ارومیه خریداری شده بودند استفاده شد. حیوانات قبل از شروع مطالعه به مدت یک هفته به شرایط محیطی عادت داده شدند و در داخل قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد و تحت چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی حاوی پلیت، گندم و ذرت نگهداری شدند. روند انجام این مطالعه براساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق دانشگاه ارومیه صورت گرفت و تمامی موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

سنجش میزان تولید نیتریک اکساید^۲ بافتی

این آزمون به شیوه گریس و پس از کشتار موش‌ها به شیوه انسانی، بر روی نمونه‌های هموژنیزه‌شده بافت کولون انجام شد. در این روش مقدار نیتريت موجود در سوپرناتانت حاصل از هموژنیزاسیون بافت روده با واکنش گریس ارزیابی شد. طی مرحله اول واکنش گریس، نیتريت با اسیدسولفانيليك واکنش داده و یون دی‌آمونیم تولید می‌شود. در مرحله دوم واکنش، این یون با ترکیب آن-۱- نفتیل اتیلن دی‌آمین جفت شده و ترکیبی از مشتقات آزو به رنگ صورتی تولید می‌کند [۲۰].

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید

اساس واکنش بر پایه تولید یک ترکیب رنگی میان مالون دی‌آلدئید^۳ و تیوباربیتوریک اسید^۴ است. ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه آماده‌شده و استاندارد با ۸۰۰ میکرولیتر از محلول کار مخلوط شد. درب لوله‌های حاوی محلول به منظور جلوگیری از باز شدن به طور کامل بسته شد و لوله‌ها درون بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه درون ظرف حاوی آب یخ قرار گرفتند تا سریع سرد شوند. در نهایت، نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و ۲۵۰ میکرولیتر از مایع رویی به چاهک‌های پلیت ۹۶‌خانه‌ای منتقل و جذب مایع رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شد [۲۱].

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام^۵

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیومولکول‌ها در نمونه‌های مختلف براساس روش بازیابی فلورسانس پس از فوتوبلیچینگ^۶ و توانایی احیاکنندگی آهن دوظرفیتی و با مکانیسم انتقال تک‌الکترون اندازه‌گیری می‌شود. تغییر رنگ حاصل از واکنش در طول موج ۵۹۳ نانومتر توسط میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری شد و برای به دست آوردن مقدار کمی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باید از استاندارد و نمودار حاصل از آن استفاده شود.

سنجش میزان پروتئین براساس روش برادفورد

در سال ۱۹۷۶ ماریون برادفورد روشی را برای اندازه‌گیری پروتئین‌ها معرفی کرد که براساس تغییر ماکزیم جذب نوری کوماسی بریلیانت بلو G-۲۵۰ از ۴۶۵ نانومتر به ۵۹۵ نانومتر در هنگام اتصال به پروتئین عمل می‌کرد. زمانی که معرف برادفورد با محلول پروتئینی مخلوط شود معرف رنگ کوماس اسیدی از قهوه‌ای به آبی تغییر رنگ پیدا می‌کند، به‌طوری که شدت رنگ به مقدار پروتئین موجود در محلول وابسته است. تعیین پروتئین

موش‌ها به‌طور تصادفی در ۴ گروه عتایی زیر تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل شامل موش‌های سالم بودند که تحت هیچ بیماری قرار نگرفتند، (۲) گروه کولیت شامل موش‌هایی بودند که در آن‌ها بیماری کولیت اولسراتیو القا شد، ولی تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند، (۳) گروه کولیت+پروکسیداسیون شامل موش‌هایی بودند که در آن‌ها بیماری کولیت اولسراتیو القا شد و به‌صورت روزانه به مدت ۱۰ روز تحت درمان خوراکی (گاواژ) با پروکسیداسیون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قرار گرفتند، (۴) گروه کولیت+تئوپرومین شامل موش‌هایی بودند که در آن‌ها بیماری کولیت اولسراتیو القا شد و به‌صورت روزانه به مدت ۱۰ روز تحت درمان خوراکی با تئوپرومین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قرار گرفتند. همه موش‌ها ۱۰ روز پس از آغاز بیماری به شیوه انسانی کشتار شدند.

روش القای بیماری

قبل از القای بیماری، رت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در حالت ناشتا (فقط دسترسی به آب، بدون دسترسی به غذا) قرار داده شدند. جهت ایجاد کولیت، حیوان به‌طور مختصر با اتر بیهوش شد و یک آنژیوکت به رکتوم حیوان وارد شد. سپس ۱ الی ۲ میلی‌لیتر اسید استیک ۴ درصد به درون رکتوم تزریق شد. به دنبال آن رت‌ها به مدت ۳۰ ثانیه به‌صورت مورب نگه داشته شدند تا اسید تجویز شده کاملاً پخش شود و از رکتوم خارج نشود.

بررسی شاخص شدت بیماری

همه رت‌ها به‌صورت روزانه از نظر تغییرات وزن بدن، وجود خون در مدفوع و قوام مدفوع بررسی شدند و مطابق جدول شماره ۱ جمع امتیازات به‌صورت روزانه ثبت شد. میانگین مجموع تغییرات شاخص بیماری در هر روز مشخص شد و در انتهای دوره گروه‌ها با هم مقایسه شدند [۱۸].

سنجش میلوپراکسیداز^۱

در این روش مقدار آنزیم میلوپراکسیداز موجود در سوپرناتانت حاصل از هموژنیزاسیون بافت روده با ۵۵،۳،۳-تترامتیل بنزیدین واکنش می‌دهد. طی این واکنش ۵۵،۳،۳-تترامتیل بنزیدین به‌عنوان دهنده یون هیدروژن برای احیای H_2O_2 توسط میلوپراکسیداز عمل می‌کند. در نتیجه ۵۵،۳،۳-تترامتیل بنزیدین به ۵۵،۳،۳-تترامتیل بنزیدین دیمن تبدیل می‌شود که باعث بروز رنگ آبی تا سبز می‌شود. با افزودن اسیدسولفوریک واکنش متوقف می‌شود و رنگ محلول به زرد تا زرد کم‌رنگ تبدیل می‌شود [۱۹].

2. Nitric oxide (NO)

3. Malondialdehyde (MDA)

4. Thiobarbituric acid (TBA)

5. Total antioxidant capacity (TAC)

6. Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP)

1. Myeloperoxidase (MPO)

جدول ۱. شاخص‌های شدت بیماری

وجود خون در مدفوع	قوام مدفوع	کاهش وزن (درصد)	امتیاز
منفی	نرمال	منفی	۰
قرمز	نرم	۱-۹	۱
قرمز تیره	خیلی نرم	۱۰-۱۹	۲
سیاه	اسهال	>۲۰	۳

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان میلوپراکسیداز

با توجه به تصویر شماره ۳ ابتدا به کولیت به افزایش قابل توجه در سطح MPO در هموژن بافت روده منجر شد به‌طوری‌که نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < 0.05$). تیمار با پردنیزولون و تتوبرومین، سطح MPO را در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کولیت کاهش داد، هرچند سطح آن به میزان گروه سالم نرسید ($P < 0.05$). همچنین بررسی‌های آماری نشان داد تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه تیمار شده با گروه سالم وجود دارد ($P < 0.05$). با توجه به نمودار مشخص است که درمان با پردنیزولون نسبت به تتوبرومین بهتر عمل کرده و به کاهش بیشتر در سطح آنزیم میلوپراکسیداز در رت‌های مبتلا به کولیت منجر شده است، ولی بین این دو گروه درمانی تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0.05$) (تصویر شماره ۳).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان نیتریک اکساید

مطابق تصویر شماره ۴ مشخص است که ابتدا به کولیت به افزایش قابل توجه در سطح NO در هموژن بافت روده منجر شده است ($P < 0.05$). تیمارهای انجام‌شده با تتوبرومین و پردنیزولون توانست میزان NO را در گروه‌های مبتلا کاهش دهد، هرچند سطح آن به میزان گروه سالم نرسید ($P < 0.05$). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده مشاهده شد مقادیر نیتریک اکساید در گروه درمان‌شده با تتوبرومین نسبت به پردنیزولون کاهش بیشتری داشته ولی این کاهش، معنی‌دار نبود (تصویر شماره ۴).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید (مالون دی‌آلدئید)

تصویر شماره ۵ نشان می‌دهد ابتدا به کولیت به‌صورت معنی‌داری باعث افزایش میزان MDA در هموژن بافت روده در مقایسه با گروه کنترل شده است ($P < 0.05$). تیمار با پردنیزولون و تتوبرومین توانست سطح MDA را در مقایسه با گروه کولیت کاهش دهد ($P < 0.05$)، ولی با اختلاف ناچیزی از گروه کنترل بیشتر بود. همچنین بررسی‌های آماری نشان داد بین گروه‌های درمانی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از طرفی، در بین گروه‌های درمانی پردنیزولون نسبت به تتوبرومین در کاهش شاخص مالون دی‌آلدئید به‌صورت جزئی بهتر عمل کرد (تصویر شماره ۵).

موجود در محلول با مقایسه رنگ حاصل از پروتئین با غلظت استاندارد که مجموعه‌ای از غلظت‌های مشخص و معلوم آلبومین سرم گاوی است صورت می‌پذیرد.

روش تحلیل داده‌ها

مقایسه همه داده‌های پارامتری شامل وزن و فاکتورهای بیوشیمیایی توسط آزمون آنوای یک‌راهه صورت‌پذیرفت. همچنین تجزیه و تحلیل داده‌های غیرپارامتری مرتبط با شاخص شدت بیماری با آزمون فریدمن انجام شد. در همه بررسی‌ها سطح معنی‌داری ۹۵ درصد در نظر گرفته شد و داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

یافته‌ها

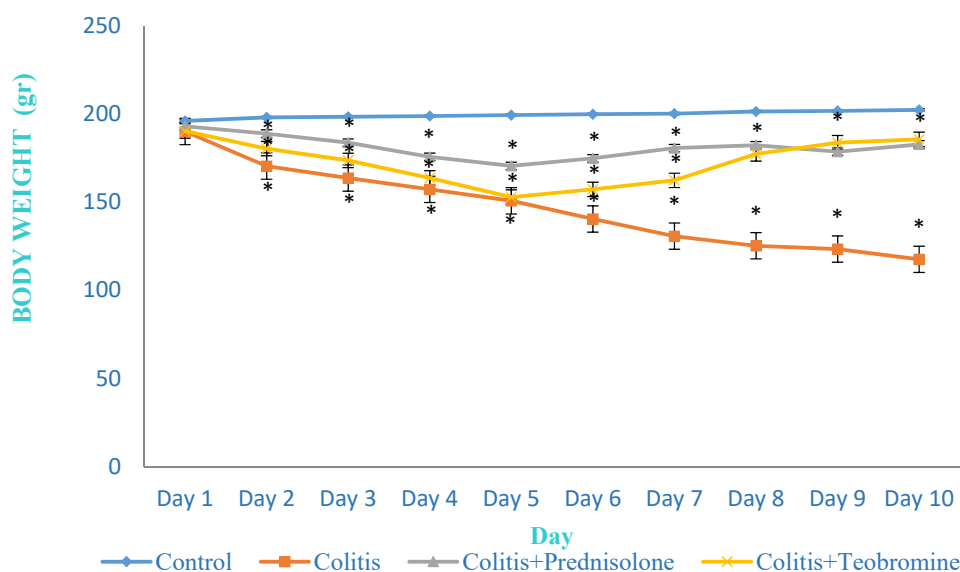
میانگین و انحراف معیار مقادیر متغیرهای پژوهش در گروه‌های آزمایشی در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

نتایج حاصل از بررسی وزن رت‌ها

تصویر شماره ۱ میانگین وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. مشخص است که در گروه درمانی با تتوبرومین بعد از پنج‌مین روز از شدت کاهش وزن رت‌ها کاسته شد و از روز ششم وزن رت‌ها به تدریج افزایش یافت. همچنین در گروه درمانی با پردنیزولون نیز نتایج مشابهی با گروه تتوبرومین مشاهده شد، با این تفاوت که رت‌های این گروه نتوانستند به وزن اولیه خود بازگردند. گروه کولیت نیز همان‌گونه که مشاهده می‌شود با کاهش وزن روبه‌رو شد که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$) (تصویر شماره ۱).

نتایج حاصل از بررسی شاخص فعالیت بیماری

مطابق تصویر شماره ۲ ابتدا به کولیت به افزایش شاخص شدت بیماری منجر شد. تیمار انجام‌شده با تتوبرومین و پردنیزولون توانست سطح شاخص بیماری را در گروه‌های درمانی کاهش دهد، ولی با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). با توجه به نمودار مشخص است که بین گروه‌های درمانی و کولیت اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$).



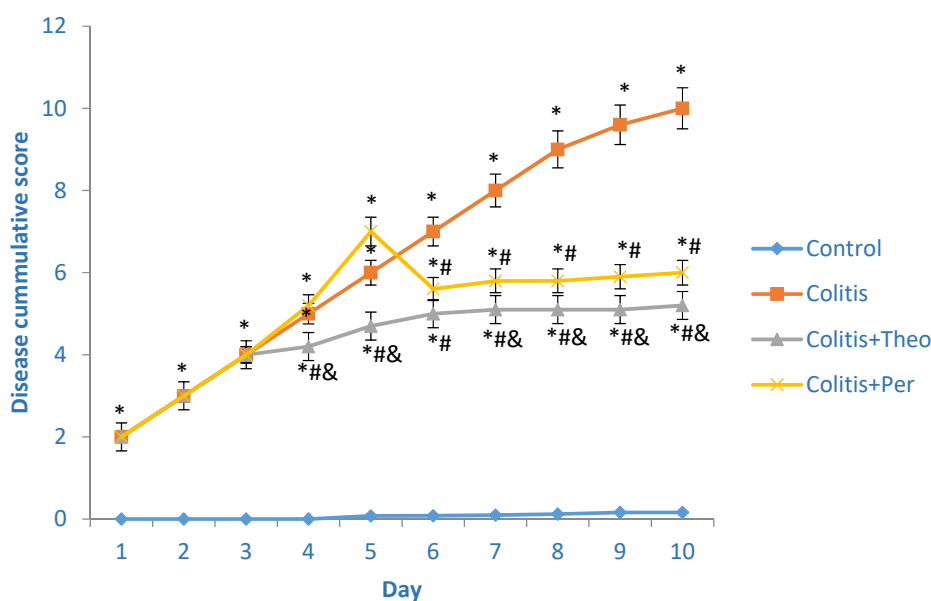
مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۱. میانگین وزن رت‌ها در طول دوره درمان ۱۰ روزه
* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ است.

کولیت افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت به‌طوری‌که با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. به‌علاوه، اختلاف معنی‌داری بین گروه درمانی با تتوبرومین و پردنیزولون مشاهده شد ($P < 0.05$) (تصویر شماره ۶).

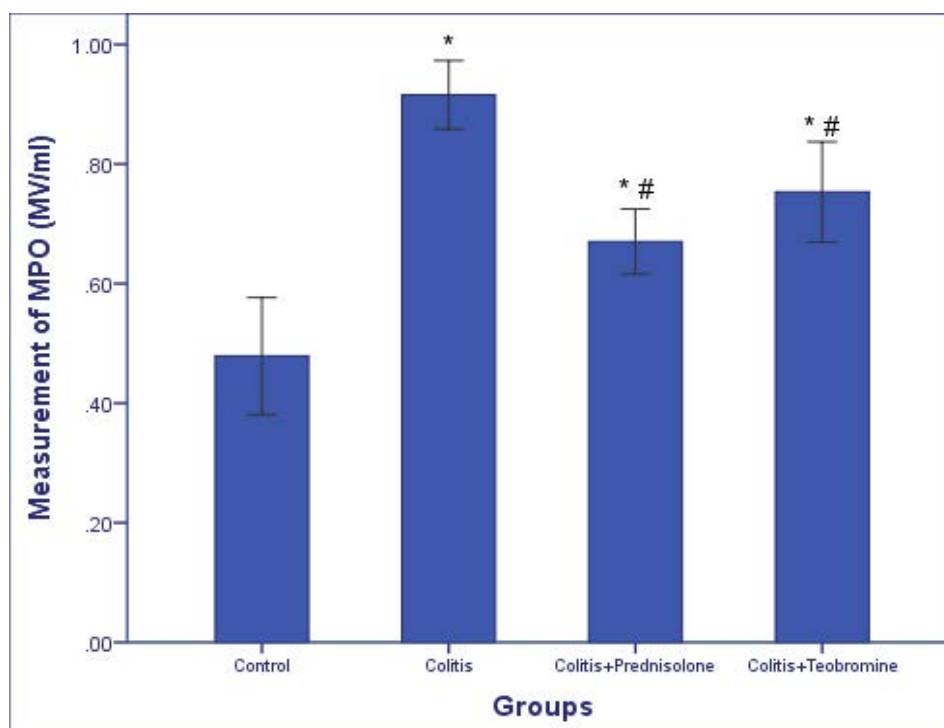
نتایج حاصل از اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام

القای کولیت باعث کاهش قابل توجه در سطح TAC در هموزن بافت روده شد ($P < 0.05$). تیمار با پردنیزولون توانست سطح TAC را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کولیت افزایش دهد ($P < 0.05$)، ولی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. همچنین موش‌های تیمار شده با تتوبرومین در مقایسه با گروه

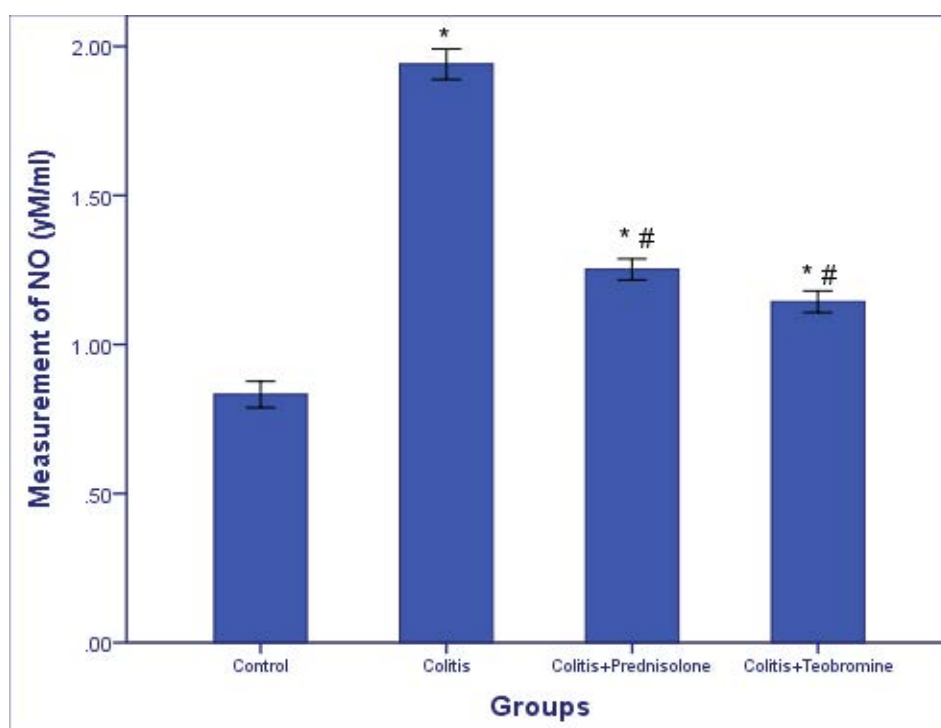


مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

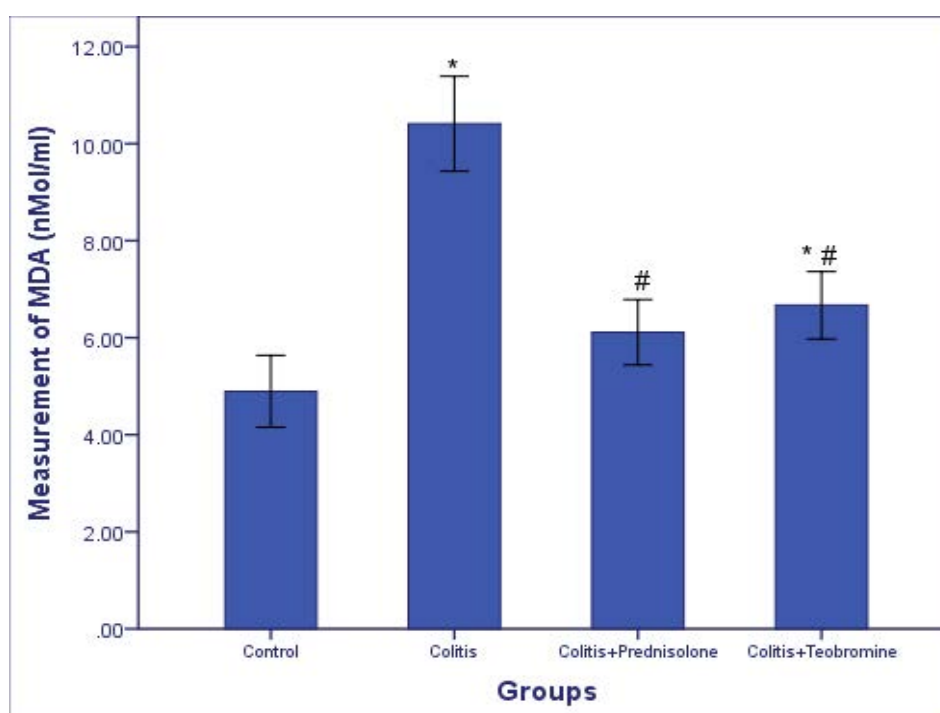
تصویر ۲. مقایسه شاخص شدت بیماری در گروه‌های مورد مطالعه
* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ است.
نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کولیت در سطح $P < 0.05$ است.
& نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه پردنیزولون در سطح $P < 0.05$ است.



تصویر ۳. مقایسه میزان فعالیت میلوپروکسیداز در هموزن بافت روده
* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ است.
نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کولیت در سطح $P < 0.05$ است.



تصویر ۴. مقایسه میزان شاخص نیتریک اکساید در هموزن بافت روده در گروه های مختلف
* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ است.
نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کولیت در سطح $P < 0.05$ است.



تصویر ۵. مقایسه میزان مالون دی آلدئید تولیدی در هموزن بافت روده
* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ است.
نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کولیت در سطح $P < 0.05$ است.

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان پروتئین

ابتلا به کولیت منجر به کاهش قابل توجه در میزان پروتئین در هموزن بافت روده شد ($P < 0.05$). تیمار موش های مبتلا به کولیت با پردنیزولون باعث افزایش سطح پروتئین در مقایسه با گروه کولیت شد ولی در مقایسه با گروه کنترل کاهش جزئی داشت ($P < 0.05$). به طور کلی نتایج مربوط به میزان پروتئین نشان دهنده این است که میزان پروتئین به طور معنی داری نسبت به سایر گروه ها کاهش داشته است ($P < 0.05$). همچنین مشخص است که اختلاف معنی داری بین دو گروه درمانی مشاهده می شود. ($P < 0.05$) براساس داده های به دست آمده بین دو گروه درمانی تئوبرومین نسبت به پردنیزولون به طور معنی داری باعث افزایش قابل توجه در افزایش میزان پروتئین شده است ($P < 0.05$) (تصویر شماره ۷).

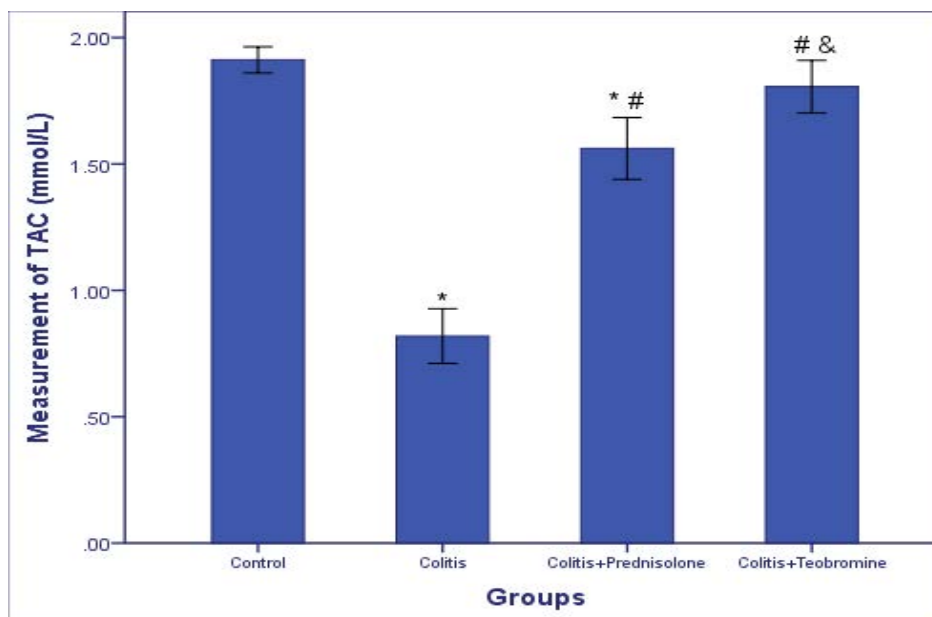
بحث

در این تحقیق اثر محافظتی تئوبرومین بر کولیت اولسراتیو القاشده در موش صحرایی ماده بررسی شد. تئوبرومین (۳،۷-دی متیل گزانتین) با فرمول شیمیایی $C_7H_8N_4O_2$ از ترکیبات آلکالوئیدی پورینی است که در منابع گیاهی وجود دارند. منبع اصلی تئوبرومین پوسته دانه های کاکائو و برگ های گیاه چای است. این ترکیب یک محصول جانبی غنی از پلی فنول است که در فرآوری صنعتی کاکائو تولید می شود و به عنوان یک

ماده فعال روزبه روز ارزش آن بیشتر می شود. این ترکیب دارای فعالیت های بیولوژیکی متعدد از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد التهاب و ضد تومور است. به علاوه در درمان بیماری هایی از قبیل فشار خون، آسم، سردرد و سرطان مؤثر است [۲۲-۲۴]. بیماری های التهابی روده^۷، از جمله کولیت اولسراتیو^۸ و بیماری کرون^۹ از اختلالات مزمن، عود کننده و تحریک کننده التهابی در دستگاه گوارش هستند که به بیماری در انسان و حیوانات منجر می شوند. در طی انجام این مطالعه همه موش ها به صورت روزانه از نظر تغییرات وزن بدن، وجود خون در مدفوع، خونریزی مقعدی و قوام مدفوع بررسی شدند.

در کولیت اولسراتیو القاشده توسط اسید استیک، اسید باعث تخریب مخاط شده، در نتیجه فلور باکتریایی روده به راحتی به لایه های زیرین نفوذ کرده و به التهاب منجر می شود. در نتیجه نوتروفیل ها و ماکروفاژها به بافت مخاط ترشح شده و نوتروفیل ها باعث تولید و ترشح گونه های فعال اکسیژن می شوند. این عوامل باعث پراکسیداسیون لیپیدها، افزایش نفوذ پذیری مخاط و رگ های خونی، افزایش ورود نوتروفیل ها به بافت مخاطی و توسعه التهاب می شوند. ایجاد زخم، خونریزی و تخریب دیواره روده و همچنین اسهال به دلیل اثر گونه های فعال اکسیژن بر بیان

7. Inflammatory bowel disease (IBD)
8. Ulcerative colitis (UC)
9. Crohn's disease (CD)

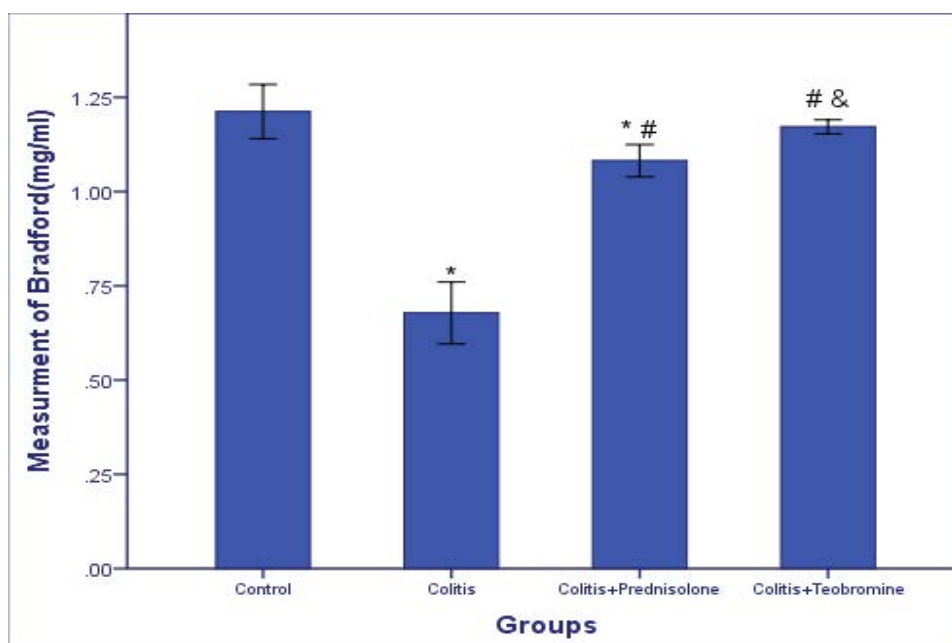


تصویر ۶. مقایسه فعالیت ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در بافت رکتوم
* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ است.
نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کولیت در سطح $P < 0.05$ است.
& نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کولیت+پردنیزولون در سطح $P < 0.05$ است.

NO در هموزن بافت روده در گروه‌های مبتلا نسبت به گروه سالم افزایش معنی داری داشته است. همچنین در این مطالعه از سنجش پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان مقیاسی جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو استفاده شد. یکی از مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع پراکسیداسیون لیپیدهاست که به تخریب غشاهای سلولی منجر می‌شود. در این فرایند رادیکال‌های آزاد، الکترون‌ها را از زنجیره هیدروکربنی غیراشباع لیپیدها بیرون کشیده، باعث تخریب لیپید و تولید ترکیبات فعال می‌شوند. این ترکیبات فعال پس از تخریب باندهای کربنی، سبب تولید طیف وسیعی از مواد مانند کتون‌ها و آلدئیدها می‌شوند. عمده آلدئید تولید شده در جریان این واکنش‌ها، مالون‌دی‌آلدئید است. مالون‌دی‌آلدئید ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند با سایر اجزای سلولی مانند پروتئین‌های ساختار ژنومی وارد واکنش شده و ضایعات متنوعی ایجاد کند و در نهایت ممکن است باعث آپوپتوز همراه با علائم گسترده بیماری شود [۲۷]. مالون‌دی‌آلدئید از پراکسیداسیون لیپیدها تولید شده و میزان تولید آن با شکست و تفکیک اسیدهای چرب غیراشباع متناسب است. از این رو اندازه‌گیری MDA شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون لیپید است. در کنار این یافته‌ها، سایر داده‌های مربوط به شاخص شدت بیماری و میانگین وزن رت‌ها نشان دهنده مؤثر بودن هر دو درمان به صورت برابر بود. مجموع آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی بدن (اسید اوریک، ویتامین E، اسید آسکوربیک، گلوکاتینون احیا، بیلی‌روبین و بتاکاروتن) که قابل اندازه‌گیری هستند، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام نامیده می‌شود. آنتی اکسیدان ماده‌ای است که

ژن‌ها، سایتوکاین‌ها و آنزیم‌های درگیر در پاسخ‌های التهابی است. در شرایط آسیب بافتی سلول‌های ایمنی ذاتی سطح بالایی از پروتئازها و رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروزن را تولید می‌کنند که نقش مهمی در حذف عوامل بیماری‌زا دارند. ولی در صورتی که میزان تولید این رادیکال‌ها بیش از حد باشد، به آسیب بافتی منجر خواهند شد. آنزیم میلوپراکسیداز جزو آنزیم‌های پراکسیدازی است که ژن آن روی کروموزوم شماره یک انسان قرار دارد. این آنزیم نقش مهمی در تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن^{۱۰} دارد و در گرانول‌های نوتروفیلی ذخیره می‌شود. همچنین فعالیت ضد میکروبی خود را با تولید هیپوهالوس اسید نشان می‌دهد. در واقع، آنزیم MPO یک پروتئین لیزوزومیک است که در گرانول‌های اولیه ذخیره شده و در صورت تحریک نوتروفیل تخلیه می‌شوند. به همین دلیل این آنزیم به عنوان یکی از مارکرهای التهاب حاد در نظر گرفته می‌شود، زیرا هنگام التهاب، نوتروفیل‌ها اولین سلول‌های ایمنی هستند که وارد ناحیه ملتهب می‌شوند [۲۵]. میلوپراکسیداز به عنوان یک آنزیم اختصاصی فقط توسط سلول‌های ایمنی مانند نوتروفیل‌ها تولید می‌شود، در حالی که نیتریک اکساید توسط انواعی از سلول‌ها مانند سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه گوارش و سلول‌های ایمنی تولید می‌شود، بنابراین تفاوت در معنی داری نمودارهای میزان فعالیت MPO و NO در گروه‌های درمانی مربوط به منابع تولید این سلول‌هاست [۲۶]. اطلاعات به دست آمده در این تحقیق نشان داد سطح MPO و

10. Reactive oxygen species (ROS)



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۷. مقایسه میزان پروتئین در بافت رکتوم
* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ است.
نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کولیت در سطح $P < 0.05$ است.
& نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کولیت+پردنیزولون در سطح $P < 0.05$ است.

می شود. تیمار با فاسیولا هپاتیکا و پردنیزولون به کاهش سطح این فاکتورها نسبت به گروه مبتلا منجر می شود که مطابق نتایج حاضر است، به طوری که مشاهده شد تثوبرومین باعث کاهش میزان MPO و میلوپراکسیداز نسبت به گروه مبتلا به کولیت می شود [۳۰]. ورشوساز و همکاران در یک مطالعه با هدف بررسی اثر ضدالتهابی کتوتیفن در کولیت القاشده با اسید استیک نشان دادند کتوتیفن موجب کاهش قابل توجه آسیب مخاطی و کاهش رهایش واسطه های التهابی می شود. در این مطالعه اثر تثوبرومین در کاهش علائم التهاب، خونریزی و زخم های بافتی تأیید شد [۳۱]. در مطالعه طهماسبی و همکاران مشاهده شد که تایمول باعث کاهش بیشتر میزان NO، MPO و MDA در مقایسه با

بتواند از آسیب اکسیداتیو به یک مولکول هدف جلوگیری کند یا آسیب به آن را به تأخیر اندازد. آنتی اکسیدان ها نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال های آزاد دارند [۲۸].

مجتبی سلامتیان و همکاران در مطالعه خود نشان دادند تیمار رت های مبتلا به کولیت با دارچین بیشتر از پردنیزولون موجب کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام می شود. همچنین میزان MPO و NO در رت های تیمار شده با دارچین کاهش بیشتری نسبت به رت های تیمار شده با پردنیزولون نشان می دهد. نتایج مطالعه حاضر نیز تأیید کننده نتایج به دست آمده از این مطالعه است [۲۹]. مطالعات گذشته نشان دادند ابتلا به کولیت به افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و میلوپراکسیداز منجر

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار مقادیر متغیرهای پژوهش در گروه های آزمایشی

گروه ها	پروتئین	ظرفیت آنتی اکسیدانی تام	مالون دی آلدئید	نیتریک اکساید	میلوپراکسیداز
کنترل	۱/۲۱۲۲±۰/۰۵۸۰۶	۱/۹۱۱۹±۰/۰۴۱۷۶	۴/۸۹۵۱±۰/۵۹۶۹۰	۰/۸۳۲۴±۰/۰۳۵۶	۰/۴۷۸۸±۰/۰۷۸۹
کولیت	۰/۶۷۸۰±۰/۰۶۶۱۱	۰/۸۱۹۰±۰/۰۸۷۰۰	۱۰/۴۰۹۵±۰/۷۸۷۸۰	۱/۹۴۰۲±۰/۰۴۱۴	۰/۹۱۵۸±۰/۰۴۶۲
کولیت+پردنیزولون	۱/۰۸۲۰±۰/۰۳۴۴۹	۱/۵۶۱۳±۰/۰۹۸۷۷	۶/۱۱۴۱±۰/۵۴۳۲۱	۱/۲۵۱۸±۰/۰۲۸۵	۰/۶۷۰۳±۰/۰۴۳۷
کولیت+تثوبرومین	۱/۷۱۱۸±۰/۰۱۴۹	۱/۸۰۵۶±۰/۰۸۳۸۶	۶/۶۶۹۹±۰/۵۵۹۸۳	۱/۱۴۳۲±۰/۰۲۹۰	۰/۷۵۲۳±۰/۰۶۷۴
کل	۱/۰۳۶۰±۰/۰۲۲۱۸	۱/۵۲۴۵±۰/۰۴۴۳۹	۷/۰۲۲۲±۰/۱۸۹۴۳	۱/۲۹۱۹±۰/۰۴۱۶۴۰	۰/۷۰۴۶±۰/۰۱۷۰۹

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

حامی مالی

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد امید سامی دلی در گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه است که با حمایت مالی این دانشگاه اجرا شده است.

مشارکت‌نویسندگان

نویسندگان در این مطالعه به شکل مساوی مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ تعارض منافی در این مطالعه نداشتند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه که ما را در پیشبرد این پژوهش یاری کردند تشکر می‌کنند.

پردنیزولون در رت‌های مبتلا به کولیت شد. از طرفی، میزان پروتئین نیز در گروه درمانی با تایمول بیشتر از گروه درمانی با پردنیزولون بود. نتیجه تحقیق حاضر نیز حاکی از اثر تثوبرومین در درمان بیماری کولیت اولسراتیو به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان است و میزان این فاکتورها نسبت به گروه مبتلا به کولیت کاهش پیدا کرده و سطح پروتئین افزایش یافت [۳۲].

در مطالعات قبلی مشاهده شد سلول‌های بنیادی مزانشیمی پیش‌شرطی شده با تثوبرومین به کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش التهاب منجر می‌شوند که نتیجه تحقیقات حاضر نیز این موضوع را اثبات کرد [۳۳]. همچنین نتیجه مطالعه ابطحی و همکاران در بررسی اثر درمان هایپیران در کاهش علائم بیماری کولیت اولسراتیو، تأییدکننده این پژوهش است؛ به‌طوری‌که نشان دادند میزان مالون‌دی‌آلدئید و نیتریک‌اکساید در گروه درمانی هایپیران به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به گروه درمانی پردنیزولون کاهش می‌یابد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن را اثبات می‌کند [۳۴]. به‌طور کلی، این داده‌ها اثبات می‌کنند که تجویز تثوبرومین ممکن است راهکار مناسبی برای درمان بیماری‌های التهابی روده و کولون باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد به کار بردن داخل کولونی اسید استیک باعث به وجود آمدن اثرات نامطلوب بر روی کولون می‌شود. درمان با تثوبرومین و پردنیزولون موجب بهبود واکنش‌های ایجادشده شد، به‌طوری‌که میزان زخم‌های بافتی و خونریزی در گروه‌های درمانی نسبت به گروه کولیت بسیار کاهش یافت. همچنین میزان میلوپراکسیداز، نیتریک‌اکساید و مالون‌دی‌آلدئید نسبت به گروه کولیت کاهش معنی‌داری را نشان داد. برعکس، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و میزان پروتئین در گروه‌های تیمار شده با تثوبرومین و پردنیزولون در مقایسه با گروه کولیت افزایش معنی‌داری داشت. می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تثوبرومین به‌طور مؤثری باعث بهبود کولیت القایی در رت‌ها می‌شود و بنابراین ممکن است برای درمان بالینی بیماری‌های التهابی روده در انسان مفید باشد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

کلیه مراحل و روند اجرایی این مطالعه، پس از تصویب در معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه ارومیه و تأیید کمیته اخلاق در پژوهش اجرا شد (IR.UU.AEC.3/61).

References

- [1] Ashihara H. Plant biochemistry: Trigonelline biosynthesis in *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *Coffee Health Dis Prev*. 2015; 19-28. [DOI:10.1016/B978-0-12-409517-5.00003-6]
- [2] Barbalho SM, Bosso H, Salzedas-Pescinini LM, de Alvares Goulart R. Green tea: A possibility in the therapeutic approach of inflammatory bowel diseases? *Green tea and inflammatory bowel diseases. Complement Ther Med*. 2019; 43:148-53. [DOI:10.1016/j.ctim.2019.01.015] [PMID]
- [3] Arnaud M. Products of metabolism of caffeine. In: Dewes PB, editor. *Caffeine*. Berlin: Springer; 1984. [DOI:10.1007/978-3-642-69823-1_1]
- [4] Azam S, Hadi N, Khan NU, Hadi SM. Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Med Sci Monit*. 2003; 9(9):BR325-30. [PMID]
- [5] Motegi T, Katayama M, Uzuka Y, Okamura Y. Evaluation of anticancer effects and enhanced doxorubicin cytotoxicity of xanthine derivatives using canine hemangiosarcoma cell lines. *Res Vet Sci*. 2013; 95(2):600-5. [DOI:10.1016/j.rvsc.2013.06.011] [PMID]
- [6] Suravajhala R, Poddar R, Nallapeta S, Ullah S. Xanthine derivatives: A molecular modeling perspective. In: Kavi Kishor PB, Bandopadhyay R, Suravajhala P, editors. *Agricultural bioinformatics*. Berlin: Springer; 2014. [DOI:10.1007/978-81-322-1880-7_17]
- [7] Georgieva M, Kondeva-Burdina M, Mitkov J, Tzankova V, Momekov G, Zlatkov A. Determination of the antiproliferative activity of new theobromine derivatives and evaluation of their in vitro hepatotoxic effects. *Anticancer Agents Med Chem*. 2016; 16(7):925-32. [DOI:10.2174/187152061666615116122633] [PMID]
- [8] Daly JW. Caffeine analogs: Biomedical impact. *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64(16):2153-69. [DOI:10.1007/s00018-007-7051-9] [PMID]
- [9] Duan L, Yang J, Slaughter MM. Caffeine inhibition of ionotropic glycine receptors. *J Physiol*. 2009; 587(Pt 16):4063-75. [DOI:10.1113/jphysiol.2009.174797] [PMID] [PMCID]
- [10] Fredholm BB, Bättig K, Holmén J, Nehlig A, Zvartau EE. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev*. 1999; 51(1):83-133. [link]
- [11] Head CA, Jurenka JS. Inflammatory bowel disease part I: Ulcerative colitis-pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Alternat Med Rev*. 2003; 8(3):247-83. [link]
- [12] Gassull MA. Review article: The role of nutrition in the treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004; 20(Suppl 4):79-83. [DOI:10.1111/j.1365-2036.2004.02050.x] [PMID]
- [13] Hindryckx P, Jairath V, D'Haens G. Acute severe ulcerative colitis: From pathophysiology to clinical management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016; 13(11):654-64. [DOI:10.1038/nrgastro.2016.116] [PMID]
- [14] Jurjus AR, Khoury NN, Reimund JM. Animal models of inflammatory bowel disease. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2004; 50(2):81-92. [DOI:10.1016/j.vascn.2003.12.002] [PMID]
- [15] Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins and cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book. Amsterdam: Elsevier Health Sciences; 2020. [Link]
- [16] Kornbluth A, Sachar DB, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American college of gastroenterology, practice parameters committee. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99(7):1371-85. [DOI:10.1111/j.1572-0241.2004.40036.x] [PMID]
- [17] Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: Controversies, consensus, and implications. *Gut*. 2006; 55(6):749-53. [DOI:10.1136/gut.2005.082909] [PMID] [PMCID]
- [18] Walmsley RS, Ayres RC, Pounder RE, Allan RN. A simple clinical colitis activity index. *Gut*. 1998; 43(1):29-32. [DOI:10.1136/gut.43.1.29] [PMID] [PMCID]
- [19] Pulli B, Ali M, Forghani R, Schob S, Hsieh KL, Wojtkiewicz G, et al. Measuring myeloperoxidase activity in biological samples. *Plos One*. 2013; 8(7):e67976. [DOI:10.1371/journal.pone.0067976] [PMID] [PMCID]
- [20] Froushani SM, Galeh HE. New insight into the immunomodulatory mechanisms of Tretinoin in NMRI mice. *Iran J Basic Med Sci*. 2014; 17(9):632-7. [PMID] [PMCID]
- [21] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95(2):351-8. [DOI:10.1016/0003-2697(79)90738-3] [PMID]
- [22] Barnes PJ. The problem of cough and development of novel antitussives. *Pulm Pharmacol Ther*. 2007; 20(4):416-22. [DOI:10.1016/j.pupt.2006.11.001] [PMID]
- [23] Lee HJ, Lee KW, Kang KS, Kim DY, Park HH, Lee MJ, et al. Theobromine with an anti-carcinogenic activity [Internet]. 2004 [Updated 2023 August 27]. Available from: [Link]
- [24] Iaia N, Rossin D, Sottero B, Venezia I, Poli G, Biasi F. Efficacy of theobromine in preventing intestinal CaCo-2 cell damage induced by oxysterols. *Arch Biochem Biophys*. 2020; 694:108591. [DOI:10.1016/j.abb.2020.108591] [PMID]
- [25] Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol*. 1995; 49(10):1341-8. [DOI:10.1016/0006-2952(95)00088-H] [PMID]
- [26] Macaigne G, Lahmek P, Locher C, Lesgourgues B, Costes L, Nicolas MP, et al. Microscopic colitis or functional bowel disease with diarrhea: A French prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol*. 2014; 109(9):1461-70. [DOI:10.1038/ajg.2014.182] [PMID]
- [27] Ansley DM, Wang B. Oxidative stress and myocardial injury in the diabetic heart. *J Pathol*. 2013; 229(2):232-41. [DOI:10.1002/path.4113] [PMID] [PMCID]

- [28] Lodovici M, Giovannelli L, Pitozzi V, Bigagli E, Bardini G, Rotella CM. Oxidative DNA damage and plasma antioxidant capacity in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. *Mutat Res.* 2008; 638(1-2):98-102. [DOI:10.1016/j.mrfmmm.2007.09.002] [PMID]
- [29] Salamatian M, Mohammadi V, Abtahi Froushani SM. [Ameliorative effects of aqueous cinnamon extract on ulcerative colitis in rats (Persian)]. *Physiol Pharmacol.* 2019; 23(2):140-9. [Link]
- [30] Esmaeilnejad B, Abtahi Froushani SM, Tehrani AA, Esmaeili Gouvarchin Ghaleh H, Moshrefzadeh F. [The effects of fasciola hepatica on acetic acid induced ulcerative colitis in rat model (Persian)]. *J Fasa Univ Med Sci.* 2018; 8(4):1136-45. [Link]
- [31] Varshosaz J, Minaian M, Mollanoori E. [Anti-inflammatory effects of ketotifen in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats (Persian)]. *J Isfahan Med Sch.* 2013; 31(226):138-49. [Link]
- [32] Tahmasebi P, Abtahi Froushani SM, Afzale Ahangaran N. Thymol has beneficial effects on the experimental model of ulcerative colitis. *Avicenna J Phytomed.* 2019; 9(6):538-50. [DOI:10.22038/AJP.2019.13383] [PMID] [PMCID]
- [33] Abtahi Froushani SM, Abbasi A. [Conditioned medium of mesenchymal stem cells pulsed with theobromine can instruct anti-inflammatory neutrophils (Persian)]. *Zahedan J Res Med Sci.* 2020; 22(2):e86967. [DOI:10.5812/zjrms.86967]
- [34] Abtahi Froushani SM, Mashouri S. [The beneficial effects of hypiran in Ameliorating Rat Model of Ulcerative Colitis (Persian)]. *Zahedan J Res Med Sci.* 2018; 20(1):e58919. [DOI:10.5812/zjrms.58919]