13 (2) 101-106, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of melon seed extract (*Cucumis melo* var. *inodorous*) on renal expression of tamm-horsfall coding gene in urolithiatic male rats

Leila Ashjazadeh [1], Maryam Eidi [1*], Ali Annisian [2]

[1] Department of Biology, Biological College, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin-Pishva, Iran
[2] Department of Biology, Abhar Branch, Islamic Azad University, Abhar, Iran

Key Words

Kidney stone
Melon seed
Tamm-horsfall
UMOD
Rat

Abstract

Introduction: Kidney stone is one of the most important diseases of the urinary tract and the most important cause of death due to urinary tract disease. The prevalence of urinary tract disease is increasing and therefore more effective and low-risk therapies are needed for treatment. Melon seeds have been suggested for the treatment of kidney diseases such as kidney stones. The aim of the present study was to investigate the effect of hydro-ethanolic extract of melon seed on renal expression of tamm-horsfall coding gene in male rats with kidney stones.

Materials & Methods: Induction of calcium oxalate kidney stone was performed by oral treatment of ammonium chloride (3 days) and ethylene glycol (38 days) in male rats. Potassium citrate (2.5 g/Kg) and hydro-ethanolic extract of melon seed (150, 300 and 600 mg/kg body weight) were treated orally with ethylene glycol for 38 days. After 41 days, the animals were anesthetized and right kidney was removed for evaluation of renal expression of tamm-horsfall coding gene by real-time PCR.

Result: Results showed that daily oral administration of potassium citrate and extract (150, 300 and 600 mg/kg body weight) significantly increased the expression of tamm horsfall coding gene (UMOD) in experimental rats compared to control rats ($p<0.001$).

Conclusion: In conclusion, melon seed extract can improve kidney stone disease by enhancing the expression of tamm-horsfall encoding genes and is effective for treating the kidney stone disease.

* Corresponding Author's email: maryameidi@gmail.com
Received: 27 June 2020; Reviewed: 29 August 2020; Revised: 22 September 2020; Accepted: 24 October 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.135590

مقاله پژوهشی

اثر عصاره دانه خربزه (*Cucumis melo*) بر بیان کلیوی ژن کد کننده پروتئین تام هورسفال (UMOD) در موش‌های صحرایی مبتلا به سنگ کلیه

لیلا اشجع‌زاده[۱]، مریم عیدی[*۱]، علی انیسیان[۲]*

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران
[۲] گروه پاتولوژی، دانشکده کشاورزی، واحد ابهر، دانشگاه آزاد اسلامی، ابهر، ایران

کلمات کلیدی

سنگ کلیه
دانه خربزه
تام هورسفال
UMOD
موش صحرایی

چکیده

مقدمه: سنگ کلیه یکی از مهم‌ترین بیماری‌های دستگاه ادراری و مهم‌ترین دلیل مرگ و میر ناشی از بیماری‌های مجاری ادراری است. شیوع بیماری سنگ کلیه در حال افزایش بوده و بنابراین نیاز به روش‌های درمانی موثرتر و کم‌خطرتر برای درمان وجود دارد. دانه خربزه برای درمان بیماری‌های کلیوی مانند سنگ‌های کلیوی و مثانه پیشنهاد شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره هیدرواتانلی دانه خربزه بر بیان کلیوی ژن کدکننده تام هورسفال در موش‌های صحرایی نر مبتلا به سنگ کلیه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: القاء سنگ کلیه اگزالات کلسیمی با تیمار خوراکی کلرید آمونیوم (۳ روز) و اتیلن گلیکول (۳۸ روز) در موش‌های صحرایی نر انجام شد. سیترات پتاسیم و عصاره هیدرواتانلی دانه خربزه به‌طور هم‌زمان با تیمار اتیلن گلیکول به‌مدت ۳۸ روز به‌طور خوراکی تیمار شدند. پس از ۳۸ روز، حیوانات بی‌هوش شده و کلیه سمت راست آن‌ها برای بررسی بیان کلیوی ژن کدکننده تام هورسفال به‌روش real-time PCR نمونه‌برداری شدند.

نتایج: نتایج نشان داد تیمار روزانه خوراکی سیترات پتاسیم و عصاره دانه خربزه موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن کدکننده تام هورسفال در موش‌های صحرایی بیمار تجربی در مقایسه با گروه شاهد بیمار می‌شود ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری و بحث: عصاره دانه خربزه احتمالا بیماری سنگ کلیه را توسط افزایش بیان ژن کدکننده پروتئین تام هورسفال بهبود می‌دهد و می تواند جایگزین سیترات پتاسیم در درمان این بیماری باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: maryameidi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۷ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۸ شهریور ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۱ مهر ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۳ آبان ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.135590

مقدمه

سنگ کلیه (Calculi Kidney) جسم سختی است که از املاح موجود در ادرار تشکیل می‌شود. سنگ‌های کلیوی به‌صورت منفرد یا متعدد، در اندازه‌های متفاوت و به اشکال گوناگون دیده شده و در نواحی مختلف سیستم ادراری مانند لگنچه، میزنای یا مثانه تشکیل می‌شوند. تشکیل سنگ، نیاز به ادرار فوق‌اشباع دارد و این حالت بستگی به pH ادرار، قدرت یونی، غلظت مواد محلول و ترکیب مواد مختلف در ادرار دارد. شیوع بیماری سنگ کلیه در طول زندگی فرد در حدود ۱۵-۱ درصد برآورد می‌شود که براساس سن، جنس، نژاد و مکان جغرافیایی متفاوت است (Wein و همکاران، ۲۰۱۵). بیماری سنگ کلیه پیش از ۲۰ سالگی شیوع کم‌تری داشته و پیک بروز آن در دهه سوم تا چهارم زندگی است. شیوع سنگ‌های ادراری در مردان ۳-۲ برابر زنان است(Tanagho و McAninch، ۲۰۱۰).روش‌های نوین درمان سنگ‌های ادراری شامل درمان با لیزر، سنگ‌شکنی از طریق ایجاد مسیر پوستی (Percutaneous Nephrolithotomy, PCNL)، سنگ‌شکنی‌از طریق مجرای ادرار (Transurethral lithotripsy, TUL) و بالاخره روش سنگ‌شکنی برون‌اندامی (ESWL) است که در آن، بدون استفاده از بی‌هوشی و برش‌جراحی، سنگ‌های ادراری را می‌توان طی مدت زمان کوتاهی خرد کرد (Graham و Keane، ۲۰۱۵). انواع مختلفی از سنگ‌های کلیوی شامل اگزالات کلسیم، فسفات کلسیم، اسیداوریک، سیستئین و استروایت وجود دارند.اکثر سنگ‌های کلیوی از نوع اگزالات کلسیم هستند. اگزالات فرآورده متابولیسم طبیعی گلی‌سین و اسیدآسکوربیک است. هنگامی‌که دفع اگزالات در ادرار بیش‌تر از ۲۵ میلی‌گرم در روز باشد، خطر تشکیل سنگ افزایش چشمگیری می‌یابد. میزان بالای کلسیم و اگزالات در ادرار، مقدار کم سیترات‌و حجم‌کم ادرارعوامل‌خطرساز در تشکیل سنگ‌های کلسیمی هستند (Mani و Mitchel، ۲۰۰۷). تشکیل سنگ معمولاً وابسته به عدم‌تعادل بین‌مهارکننده‌ها و براه‌اندازنده‌ها درادرار است. تام‌هورسفال از مهم‌ترین مهارکننده‌های تشکیل سنگ کلیه است. پروتئین تام هورسفال(tamm-horsfall, THP) که یورومدولین نیز شناخته می‌شود یک پروتئین خاص کلیه است که در سلول‌های بخش ضخیم شاخه صعودی قوس هنله ساخته می‌شود. این ماده سطح لومینال بافت پوششی را پوشانده و در ادرار انسان بسیار فراوان است (۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم/روز). تام هورسفال در ماتریکس سنگ وجود داشته و میل ترکیبی بالایی برای کریستال‌های فسفات کلسیم دارد. به‌طور معمول، THP مهارکننده قوی تجمع کریستال اگزالات کلسیم است و کاهش دفع ادراری THP در بیماران سنگ کلیه گزارش شده است. به‌علاوه، بیماران مبتلا به سنگ کلیه THP را با ساختار مولکولی غیرطبیعی تولید می‌کنند که تجمع کریستال‌ها را براه می‌اندازد (Khan، ۲۰۱۳).

امروزه با روشن شدن عوارض جانبی و آثار زیان‌بخش داروهای شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی و طبیعی مورد توجه پژوهشگران معاصر قرار گرفته است و در مطالعات متعدد اثرات داروهای گیاهی مختلف‌در درمان‌سنگ‌کلیه موردبررسی قرارگرفته‌است. خربزه گیاهی از خانواده Cucurbitaceae با نام علمی *Cucumis melo* var. *inodorus* است.دانه‌خربزه دارای‌مشتقات کرومون (chromone)، گلیکوزید فنلی، آرژینین، اسیدهای‌آسپارتیک‌و گلوتامیک، گالاکتوزیدازها، دی‌هیدروکسی تری‌ترپن‌ها و سیتوسترول می‌باشد (Ibrahim و Mohamed ، ۲۰۱۵). خربزه اثر مدر داشته و از این نظر در دفع مواد زائد و رسوبات ادراری مؤثر واقع می‌شود (Zargari، ۱۹۹۷). عیدی و همکاران (۱۳۸۸) اثر عصاره هیدرومتانلی پوست میوه خربزه را در موش‌های صحرایی مبتلا به سنگ کلیه بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد تیمار عصاره موجب کاهش تعداد کریستال‌های بزرگ و افزایش کریستال‌های کوچک اگزالات کلسیم در ادرارشده و احتمالاً دفع آن‌ها را توسط ادرار آسان‌تر می‌کند. Srikaran و Dulanjali (۲۰۱۹) اثر عصاره متانلی دانه خربزه بر تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم را به‌صورت *in vitro* مورد بررسی قرار دادند. نتایج این بررسی نشان داد که عصاره متانلی دانه خربزه مانع تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم می‌شود (Srikaran و Dulanjali، ۲۰۱۹). اثر دانه خربزه بر بیان کلیوی ژن کد کننده تام هورسفال(UMOD) در موش‌های صحرایی نر مدل سنگ کلیه تاکنون بررسی نشده است. لذا، در پژوهش حاضر اثر عصاره هیدرواتانلی دانه خربزه بر بیان کلیوی ژن کدکننده تام‌هورسفال در موش‌های صحرایی مدل سنگ کلیه مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و تهیه عصاره هیدرواتانلی دانه خربزه:

ابتدا دانه خربزه (*Cucumis melo* var. *inodorus*) از منطقه ورامین خریداری شده، دانه‌ها جداسازی شد و پس از تایید توسط متخصص گیاه‌شناسی (کد هرباریومی ۳۵۷۱۱ موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر) در سایه و دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد خشک شده و به‌وسیله آسیاب برقی خرد و پودر شد. سپس،۳۰۰ گرم پودر با ۲۵۰۰ میلی‌لیتر اتانل ۸۰ درصد مخلوط شده و به‌مدت ۷۲ ساعت در ظرف درب بسته و در تاریکی نگه‌داری و روزانه مخلوط شد. مخلوط به‌دست آمده با استفاده از فیلترکاغذی (کاغذ واتمن) صاف‌شده و حلال توسط دستگاه روتاری جدا شد. برای خشک شدن کامل، عصاره در بن ماری و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرارداده شد. عصاره به‌دست آمده تا زمان شروع تیمارها دردمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد و برای

تیمار حیوانات در آب مقطر حل شده و غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از آن تهیه شد.

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه از ۳۶ سر موش صحرایی نر نژادویستار با وزن ۲۰±۱۸۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های صحرایی از انستیتو پاستور کرج تهیه شدند و برای سازگاری با شرایط به‌مدت یک‌هفته قبل از شروع آزمایشات در محیط آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا نگه‌داری شدند. در تمام مدت آزمایش، موش‌های صحرایی در گروه‌های سه‌تایی و جداگانه با رعایت شرایط استاندارد (دمای ۲±۲۴ ℃، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته) نگه‌داری شده و به غذای استاندارد و آب دسترسی داشتند. تمامی مراحل آزمایش پس از دریافت مجوز مورد نیاز از کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی (IR.IAU.VARAMIN.REC. 1398.021) اجرا شدند.

القاء سنگ کلیه: به‌منظور القاء سنگ کلیه، کلرید آمونیوم (۱ درصد) به‌مدت ۳ روز و اتیلن گلیکول (۰/۷۵ درصد) به‌مدت ۳۸ روز در آب آشامیدنی اضافه شد (Divakar و همکاران، ۲۰۱۰).

گروه‌های مورد مطالعه: موش‌های صحرایی مورد مطالعه به‌صورت تصادفی در ۶ گروه ۶ تایی تقسیم‌بندی شدند: گروه شاهد سالم: موش‌های صحرایی نر که هیچ تیماری دریافت نکردند (n=۶). گروه شاهد بیمار: موش‌های صحرایی نر به‌مدت ۳ روز کلرید آمونیوم (۱ درصد)و به‌مدت ۳۸ روز اتیلن گلیکول(۰/۷۵ درصد) در آب آشامیدنی دریافت کردند (n=۶). گروه شاهد مثبت: موش‌های صحرایی نر علاوه بر کلرید آمونیوم و اتیلن‌گلیکول، مقدار ۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن سیترات پتاسیم به‌مدت ۳۸ روز به‌صورت خوراکی دریافت نمودند (n=۶). گروه‌های تجربی: موش‌های صحرایی علاوه بر کلرید آمونیوم و اتیلن‌گلیکول، غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدرواتانلی دانه خربزه به‌مدت ۳۸ روز به‌صورت خوراکی دریافت کردند (n=۶).

نمونه‌گیری از حیوانات: پس از اتمام دوره تیمار، ابتداموش‌های صحرایی با استفاده از اتر بی‌هوش شدند. سپس کلیه سمت راست آن‌ها جداشده، بافت اضافی حذف شده و در فریزر ۸۰- تا زمان شروع آزمایش قرار داده شد. این روش در مقالات بسیاری چاپ شده که این روش برای القاء سنگ کلیه استفاده می شود.

Real time PCR: ۰/۰۸ میلی‌گرم از بافت کلیه سمت راست نمونه‌برداری شد. سپس مراحل استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA (شرکت Geneall، کره) به‌روش ستونی انجام شد. با استفاده از تکنیک اسپکتروفتومتری نانودراپ و جذب نوری در طول موج‌های ۲۳۰ و ۲۶۰ نانومتر از کمیت RNA استخراج شده اطمینان حاصل شد و غلظت نمونه مورد نظر را در طول موج مربوطه، بر حسب میکروگرم بر میکرولیتر، محاسبه شد. هم‌چنین، جهت اطمینان از کنترل کیفیت مقدار RNA استخراج شده، RNA روی ژل آگارز ۱ درصد قرار داده شد. بسته به غلظت RNA که برای هر نمونه در نانو دراپ مشخص شده، بین ۲ تا ۳/۵ میکرولیتر از هر یک از نمونه‌های RNA برداشته شد و با استفاده از کیت سنتز cDNA (شرکت پارس توس، ایران) و آنزیم رونویسی معکوس و پرایمرهای dt Oligo طبق دستورالعمل شرکت سازنده به cDNA تبدیل شد. توالی نوکلئوتیدی پرایمرForward و توالی نوکلئوتیدی پرایمر Reverse مکمل ژن‌های UMOD و GAPDH به‌عنوان ژن خانه‌دار در موش صحرایی از طریق نرم‌افزار الیگو۷ (سایت NCBI) مورد بررسی قرار گرفت تا از اختصاصی بودن محل جفت شدن پرایمرها اطمینان حاصل شود (جدول ۱). تکنیک Real time PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن‌های GAPDH و UMOD استفاده شد و طبق پروتکل پیشنهادی کیت شرکت پارس توس انجام پذیرفت.

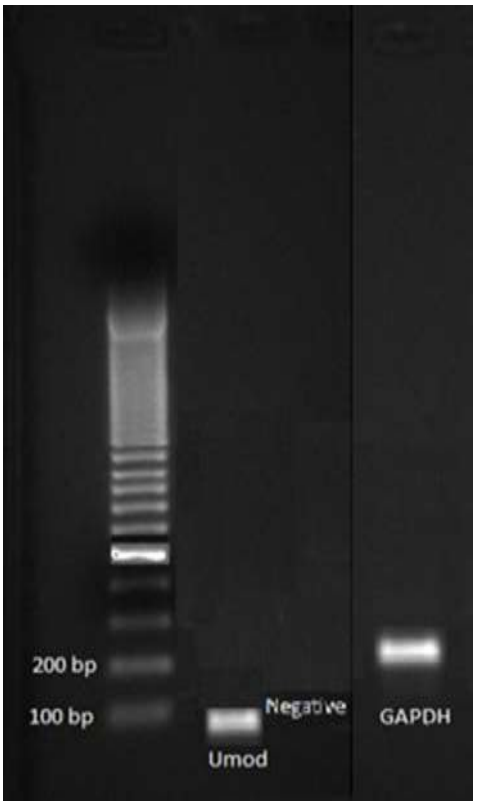
جدول ۱: ترادف پرایمرهای UMOD و GAPDH

ژن		ترادف (۳'→۵')	اندازه محصول (bp)
UMOD	Forward	۵´-ATGCCACGACAATGCCACCT -۳´	۸۹
	Reverse	۵´- CACACACCAGCCCATCTCCA -۳´	
GAPDH	Forward	۵'-TGCCAGCCTCGTCTCATAG-۳'	۱۹۷
	Reverse	۵'-ACTGTGCCGTTGAACTTGC-۳'	

آنالیز آماری: بیان ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار Rest و آنالیز داده‌ها با روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه بررسی شدند. داده‌ها به‌صورت Mean±SD نشان داده شده و برای بررسی تغییر معنی‌دار بین گروه‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SPSS و Excel استفاده شد. سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ درنظر گرفته شد.

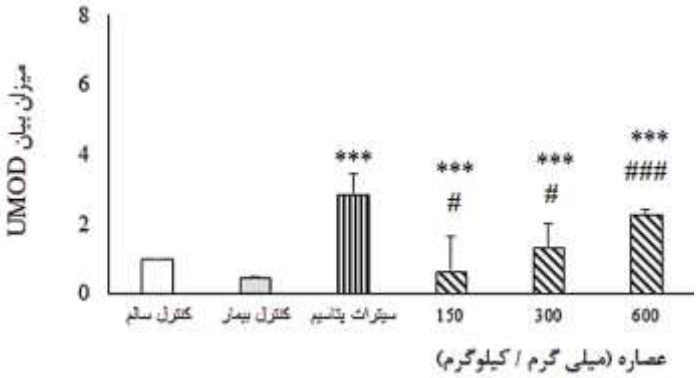
نتایج

غلظت RNA در نمونه‌ها: غلظت RNA نمونه‌ها و کیفیت و کمیت آن‌ها توسط دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد. باندهای PCR در شکل ۱ نشان داده شده است. حضور یک باند منفرد در محدوده مورد پیش‌بینی و عدم وجود باندهای اضافی دلالت بر انجام صحیح پرایمر در شرایط استفاده شده در PCR دارد.



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR از ژن‌های GAPDH و UMOD

بررسی تغییرات بیان کلیوی‌ژن UMOD: نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار روزانه سیترات پتاسیم (PC) (۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و عصاره هیدرواتانلی دانه خربزه در غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌طور موثری بیان کلیوی ژن کدکننده UMOD را در موش‌های صحرایی بیمار تیمار شده در مقایسه با موش‌های صحرایی بیمار شاهد افزایش داد (p<۰/۰۰۱). اثر سیترات پتاسیم قوی‌تر از عصاره دانه خربزه بود (p<۰/۰۰۱) (شکل ۲).



شکل۲: اثر تیمار خوراکی و روزانه سیترات پتاسیم و عصاره هیدرواتانلی دانه خربزه در غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۳۸ روز بر بیان ژن UMOD در موش‌های صحرایی مبتلا به سنگ کلیه

هر ستون MEAN ± SD را نشان می‌دهد. ***P<۰/۰۰۱ اختلاف از گروه شاهد بیمار (UROLITHIATIC) و ###P<۰/۰۰۱، #P<۰/۵ اختلاف از گروه سیترات پتاسیم می‌باشد.

بحث

تشکیل سنگ در کلیه‌ها و مجاری ادراری بیماری سنگ کلیه نامیده می‌شود که یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مجاری ادراری است (Dhole و Yeligar، ۲۰۱۸). اختلاف در توانایی افراد سالم و بیماران سنگ کلیه برای به‌تاخیر انداختن یا براه‌انداختن تجمع کریستال‌های اگزالات کلسیم در شرکت دادن ماکرومولکول‌های ادرار این افراد است (Wesson و همکاران، ۲۰۰۵). پروتئین تام‌هورسفال جزء مهم ماتریکس سنگ کلیه است و در بخش‌های انتهایی نفرون وجود داشته و فراوان‌ترین پروتئین تولید شده در کلیه است. تام هورسفال احتمالاً نقش مهمی در تنظیم تشکیل سنگ دارد. ساختار اولیه تام هورسفال حاوی ۶۱۶ اسیدآمینه با ۸ جایگاه گلیکوزیلاسیون قوی است (van Rooijen و همکاران، ۱۹۹۹). روش‌های متداول برای درمان بیماری سنگ کلیه بسیار گران است و یا دارای عوارض جانبی است. گیاهان دارویی معمولاً به‌خاطر در دسترس بودن و داشتن عوارض جانبی کم‌تر، بیش‌تر از داروهای شیمیایی و یا سایر روش‌ها مورد توجه هستند. دانه خربزه برای درمان بیماری‌های کلیوی مانند سنگ‌های کلیه و مثانه مورد استفاده قرار می‌گیرند. اثر آن‌ها به سبب فعالیت زیستی آن‌ها از جمله اثرات آنتی‌اکسیدان، آنالژزیک، ضدالتهابی و ضدمیکروبی می‌باشد (da Cunha Baia و همکاران، ۲۰۱۲). Srikaran و Dulanjali (۲۰۱۹) اثر ممانعتی عصاره متانلی و آبی دانه خربزه را بر تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در شرایط in vitro بررسی و با داروی استاندارد سیستون (cystone) مقایسه کردند. نتایج این تحقیق نشان داد درصد انحلال کریستال‌های اگزالات کلسیم به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از نمونه‌های

کنترل بود. آنالیز فیتوشیمیایی عصاره‌های آبی و الکلی دانه خربزه نشان داد که نتایج مفید این پژوهش به‌واسطه وجود ترپنوئیدهای آلکالوئیدی است. بنابراین، دانه خربزه دارای فعالیت ضدتشکیل سنگ کلیه بالایی در مقایسه با داروی استاندارد سیستون است. هم‌چنین، عصاره دانه خربزه یک اثر دیورتیک قوی داشته و از این‌رو در ممانعت از تغلیظ ادرار نقش دارد. این اثر از تشکیل و رشد هسته اولیه سنگ کلیه جلوگیری می‌کند. به‌علاوه، با دفع هسته‌اولیه و سنگ‌های کوچک، این گیاه اثر محافظتی روی برگشت بیماری سنگ کلیه دارد (Zeng و همکاران، ۲۰۱۹).

Guntupalli و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند عصاره کلروفرمی دانه و پوست میوه خربزه موجب بهبود هیپراگزالوری، سطح کلسیم و اسیداوریک سرم و عملکرد کلیه می‌گردد. علاوه بر این، سطح بالای اسیداوریک سرم به‌طور موثری توسط عصاره کاهش می‌یابد. نقش زیستی یورومدولین یا پروتئین تام هورسفال نیز هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است. یورومدولین در افراد سالم کمک به ممانعت از تجمع کریستال و عفونت باکتریایی کرده و در هومئوستازی آب و الکترولیت‌ها نقش دارد (Devuyst و همکاران، ۲۰۱۷؛ Tokonami و همکاران، ۲۰۱۸). اگرچه، نقش یورومدولین در تجمع کریستال تحت تاثیر وضعیت گلیکوزیلاسیون آن (یورومدولین دارای ۸ جایگاه N-گلیکوزیلاسیون احتمالی است) و نیز pH و قدرت یونی ادرار است (Hess و همکاران، ۱۹۹۳). یورومدولین به‌دست آمده از بیماران سنگ کلیه و ماتریکس سنگ‌های کلیوی اغلب سطوح کم سیالیلاسیون (sialylation) را دارد. یورومدولین دسیالیله شده در سطوح نمک ادراری یک نقطه ایزوالکتریک بالا دارد که مناسب تجمع آن و اتصال به سایر پروتئین‌ها در ادرار دارد (Viswanathan و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین، پلیمریزاسیون یورومودولین ادراری احتمالاً در تجمع پاتولوژیک کریستال نقش دارد که وابسته به وضعیت گلیکوزیلاسیون آن و شرایط ادرار یک فرد دارد (Brunati و همکاران، ۲۰۱۵). گزارش شده که داروی هپسین که یک سرین پروتئاز عرض غشایی II است شکافتگی یورومدولین را در غشاء راسی کاتالیز کرده و ترشح آن‌را به‌داخل ادرار موجب می‌شود. بنابراین، این دارو برای مطالعه این‌که آیا مهار ویژه هپسین در بیماران سنگ کلیه با کاهش مرتبط یورومدولین ادراری می‌تواند مانع تاخیر یا ممانعت از تشکیل سنگ کلیه در این بیماران شود (Blay و همکاران، ۲۰۲۰). اثر دانه خربزه و سایر گیاهان دارویی موثر بر بیماری سنگ کلیه بر بیان کلیوی ژن کد کننده پروتئین تام هورسفال (UMOD) تاکنون بررسی نشده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار خوراکی عصاره دانه خربزه در غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن‌بدن و سیترات پتاسیم در غلظت ۲/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۳۸ روز به‌طور موثری بیان کلیوی ژن UMOD را در موش‌های صحرایی نر بیمار در مقایسه با گروه بیمار شاهد افزایش می دهد. در تحقیقات دیگر، نشان داده‌شده که فلاونوئید کوئرستین دارای اثرات هیپواورسمیک و محافظت کننده کلیوی است. کوئرستین به‌طور موثری شرایط غیرطبیعی القاء شده توسط اکسونات را در موش‌های بیمار در مقایسه با موش‌های سالم بهبود می‌بخشد. به‌علاوه، کوئرستین به‌طور مشخصی مانع تغییرات بیان ناقلان یون آلی و UMOD کلیوی در موش‌های هیپراوریسمیک می‌شود. این نتایج دلالت بر آن دارند که کوئرستین دارای فعالیت اوریکوزوریک و محافظت کننده کلیوی توسط تنظیم بیان ناقلان یون آلی و UMOD می‌باشد (Hu و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین، دانه خربزه دارای اثر ضدتشکیل سنگ کلیه است و این اثر را احتمالاً با افزایش بیان کلیوی پروتئین تام- هورسفال به‌عنوان مهارکننده تشکیل سنگ انجام می دهد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد سلولی مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا می باشد.

منابع

۱. **عیدی، م.؛ بهار، م.؛ عیدی، ا.؛ پویان، ا. و شاه‌محمدی، پ.، ۱۳۸۸.** تاثیر عصاره هیدروالکلی پوست میوه خربزه (*Cucumis melo*) بر جلوگیری از کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در in vitro. مجله گیاهان دارویی. سال ۸، شماره ۳۲، صفحات ۴۶ تا ۵۲.

2. **Blay, V.; Li, M.C.; Ho, S.P.; Stoller, M.L.; Hsieh, H.P. and Houston, D.R., 2020.** Design of drug-like hepsin inhibitors against prostate cancer and kidney stones. Acta Pharm Sin B. Vol. 10, No. 7, pp: 1309-1320.

3. **Brunati, M.; Perucca, S.; Han, L.; Cattaneo, A.; Consolato, F.; Andolfo, A.; Schaeffer, C.; Olinger, E.; Peng, J.; Santambrogio, S.; Perrier, R.; Li, S.; Bokhove, M.; Bachi, A.; Hummler, E.; Devuyst, O.; Wu, Q.; Jovine, L. and Rampoldi L., 2015.** The serine protease hepsin mediates urinary secretion and polymerisation of Zona Pellucida domain protein uromodulin. eLife. Vol. 4, pp: e08887

4. **da Cunha Baia, L.; Baxmann, A.C.; Moreira, S.R.; Holmes, R.P. and Heilberg, I.P., 2012.** Noncitrus alkaline fruit: a dietary alternative for the treatment of hypocitraturic stone formers. J Endourol. Vol. 26, No. 9, pp: 1221-1226.

5. **Devuyst, O.; Olinger, E. and Rampoldi, L., 2017.** Uromodulin: from physiology to rare and complex kidney disorders. Nat Rev Nephrol. Vol. 13, No. 9, pp: 525-544.

6. **Divakar, K.; Pawar, A.T.; Chandrasekhar, S.B.; Dighe, S.B. and Divakar, G., 2010.** Protective effect of the hydro-alcoholic extract of Rubia cordifolia roots against ethylene glycol induced urolithiasis in rats. Food Chem Toxicol. Vol. 48, No. 4, pp: 1013-1018.

7. **Dhole, A.R. and Yeligar, V.C., 2018.** Urolithiasis and its herbal remedies. Int J Sci Res Sci Technol. Vol. 4, No. 11, pp: 150-156.
8. **Graham, S.D. and Keane, T.E., 2015.** Glenn's Urologic Surgery. 8th edition, Philadelphia: LWW. 1078 p.
9. **Hess, B.; Zipperle, L. and Jaeger, P., 1993.** Citrate and calcium effects on tamm-horsfall glycoprotein as a modifier of calcium oxalate crystal aggregation. Am J Physiol. Vol. 265, No. 6 Pt 2, pp: F784-F791.
10. **Hu, Q.H.; Zhang, X.; Wang, X.; Jiao, R.Q. and Kong, L.D., 2012.** Quercetin regulates organic ion transporter and uromodulin expression and improves renal function in hyperuricemic mice. European Journal of Nutrition. Vol. 51, No. 5, pp: 593-606.
11. **Ibrahim, S.R.M. and Mohamed, G.A., 2015.** Natural occurring 2-(2-phenylethyl) chromones, structure elucidation and biological activities. Nat Prod Res. Vol. 29, No. 16, pp: 1489-1520.
12. **Guntupalli, V.; Siva Lakshmi Durga, M.; Naga Varalakshmi, T.; Sai Sri Lakshmi, G. and Sakinala, P., 2018.** Evaluation of anti-urolithiatic activity of chloform and methanolic extract of *Cucumis melo* seeds and fruit peel on rats. International Journal of Current Advanced Research Vol. 7, No. 5, pp: 12315-12318.
13. **Khan, S.R., 2013.** Animal models for the study of human disease. Chapter 21: Animal models of calcium oxalate kidney stone formation, Elsevier press. pp: 483-498.
14. **Mani, M. and Mitchel, R., 2007.** Urinary lithiasis: Etiology, diagnosis and medical management. 8 th ed. In Campbell's Urology: Philadelphia: Saunders. pp: 3229-3305.
15. **Srikaran, R. and Dulanjali, S.S., 2019.** Evaluation of *in vitro* anti-urolithiatic activity of methanolic extract of *Cucumis melo* seeds on calcium oxalate crystals. Int J Curr Pharm Res. Vol. 11, No. 1, pp: 18-20.
16. **Tanagho, E.A. and McAninch, J.W., 2007.** Smith's General Urology .17nd ed. New York: McGraw-Hill Medical. 246 p.
17. **Tokonami, N.; Takata, T.; Beyeler, J.; Ehrbar, I.; Yoshifuji, A. and Christensen, E.I., 2018.** Uromodulin is expressed in the distal convoluted tubule, where it is critical for regulation of the sodium chloride cotransporter NCC. Kidney Int. Vol. 94, No. 4, pp: 701-715.
18. **van Rooijen, J.J.; Voskamp, A.F.; Kamerling, J.P. and Vliegenthart, J.F., 1999.** Glycosylation sites and site specific glycosylation in human Tamm-Horsfall glycoprotein. Glycobiology. Vol. 9, No. 1, pp: 21-30.
19. **Viswanathan, P.; Rimer, J.D.; Kolback, A.M.; Ward, M.D.; Kleinman, J.G. and Wesson, J.A., 2011.** Calcium oxalate monohydrate aggregation induced by aggregation of desialylated Tamm-Horsfall protein. Urol Res. Vol. 39, No. 4, pp: 269-282.
20. **Wein, A.J.; Kavoussi, L.R.; Partin, A.W. and Peters, C.A., 2015.** Campbell-Walsh Urology. 11nd ed. New York, Elsevier. 1363 p.
21. **Wesson, J.A.; Ganne, V.; Beshensky, A.M. and Kleinman, J.G., 2005.** Regulation by macromolecules of calcium oxalate crystal aggregation in stone formers. Urol Res. Vol. 33, pp: 206-212.
22. **Zargari, A., 1997.** Medicinal plants. Vol. 2, Tehran University Press. pp: 385-387.
23. **Zeng, X.; Xi, Y. and Jiang, W., 2019.** Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol. 59, No. 13, pp: 2125-2135.