بررسی اثرات درمانی عصاره متانولی گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر روی سمیت کلیوی ایجادشده توسط جنتامایسین در موش صحرایی

محبوبه احمدی [۱](M.Sc)، سعید حاجی‌هاشمی [۱*](Ph.D)، علی چهره‌ای [۲](M.D)، ناصر حسینی [۳](Ph.D)

۱- *دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی*

۲- *دانشگاه علوم پزشکی اراک، بیمارستان امیرالمومنین، گروه آسیب‌شناسی*

۳- *دانشگاه اراک، گروه گیاهان دارویی*

چکیده

سابقه و هدف: جنتامایسین از آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی است که در درمان عفونت‌هایی با باکتری‌های گرم منفی استفاده می‌شود. به علت دارا بودن عوارض جانبی از قبیل سمیت کلیوی، استفاده از آن محدود شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات پس‌درمانی عصاره متانولی گزنه بر روی سمیت کلیوی ایجادشده توسط جنتامایسین بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (Wistar)، در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم صورت گرفت. موش‌ها به صورت تصادفی، به۴ گروه تقسیم شدند و در هر گروه، ۸ موش صحرایی قرار گرفت. ۱. گروه کنترل بدون دریافت جنتامایسین یا دارو؛ ۲. گروه درمان با جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg/d) به صورت داخل صفاقی، برای ۸ روز و ۴ ml/kg آب مقطر از طریق گاواژ، برای دو روز بعد؛ ۳. گروه درمان با نرمال سالین به صورت داخل صفاقی، برای ۸ روز و دریافت ۲۰۰ mg/kg عصاره متانولی گزنه، برای دو روز بعد؛ ۴. گروه درمان با جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg/d) به صورت داخل صفاقی، برای ۸ روز و دریافت عصاره متانولی گزنه، برای دو روز بعد. در روز دهم، پس از آخرین تجویز، حیوان در قفس متابولیسم قرار داده شد و حجم ادرار به روش گراویمتری اندازه‌گیری شد. پس از بی‌هوشی، میزان فشار خون، با کمک دستگاه پاورلب (Power Lab) و میزان جریان خون شریان کلیه، با کمک دستگاه جریان نگار (Flow meter) اندازه‌گیری شد. پس از خون‌گیری از آئورت و استحصال پلاسما، میزان اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم و اسمولالیته در نمونه‌های پلاسما و ادرار تعیین گردید. بعد از خارج کردن هر دو کلیه، کلیه چپ جهت تهیه نمونه بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) در فرمالین ۱۰٪ و کلیه راست، جهت مطالعه بیوشیمیایی FRAP, MDA در ۲۰°C- نگه‌داری شد.

یافته‌ها: پس درمان با عصار متانولی گزنه به صورت معناداری افزایش ایجاد شده توسط جنتامایسین در سطوح اوره، کراتینین، دفع مطلق سدیم، دفع نسبی سدیم و پتاسیم و MDA را مهار کرد و کاهش ایجاد شده توسط جنتامایسین در کلیرنس کراتینین، اسمولالیته ادرار، جریان خون کلیه و FRAP را جبران نمود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره گزنه احتمالاً از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و ایجاد اثرات ضد التهابی و گشادکننده رگی می‌تواند در بهبودی سمیت کلیوی ایجادشده توسط جنتامایسین مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: جنتامایسین، سمیت کلیوی، گزنه، بسماری‌های کلیوی، موش صحرایی

مقدمه

جنتامایسین از آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی است که در درمان عفونت‌هایی با باکتری‌های گرم منفی استفاده می‌شود؛ ولی به علت دارا بودن عوارض جانبی از قبیل سمیت کلیوی، استفاده از آن محدود شده است. علی‌رغم مراقبت‌های شدید بیماران، باز هم سمیت کلیوی در ۲۵-۱۰٪ موارد درمان با این داروها دیده می‌شود [۱]. سمیت کلیوی ناشی از درمان با جنتامایسین، با آسیب لوله‌ای مشخص می‌شود که به طور عمده در لوله نزدیک دیده می‌شود [۲] و به علت تجمع جنتامایسین در سلول‌های اپی‌تلیالی لوله نزدیک است. این اثر،

*نویسنده مسئول، تلفن: ۴۱۷۳۵۰۲ - ۰۸۶۳ نمابر: ۴۱۷۳۵۲۱ - ۰۸۶۳ Email: hajihashemi@arakmu.ac.ir

www.SID.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۲۸

Archive of SID

به حضور یک گیرنده اندوسیتوزی به نام مگالین-کوبولین نسبت داده شده است [۳]. مکانیسم‌های مختلفی در ایجاد سمیت کلیوی توسط جنتامایسین دخالت دارند از جمله؛ ۱- تجمع در لیزوزم ها: جنتامایسین پس از ورود به سلول از طریق اندوسیتوز، در لیزوزم تجمع یافته و باعث افزایش نفوذپذیری غشای لیزوزومی از طریق تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) و در نتیجه القای آپوپتوز، در سلول‌های لوله نزدیک می‌گردد [۴]. ۲- اثر روی میتوکندری: جنتامایسین پس از ورود به سیتوزول، روی میتوکندری اثر گذاشته و باعث باز شدن منافذگذرای میتوکندری، رهایش سیتوکروم C و اختلال در زنجیره تنفسی می‌شود که با افزایش تولید ROS از زنجیره انتقال الکترون همراه است [۵]. ۳- اثر روی سلول‌های مزانشیال: علاوه بر اثرات در بخش لوله‌ای، جنتامایسین در بخش گلومرولی هم با اثر روی سلول‌های مزانشیال گلومرولی باعث انقباض این سلول‌ها و در نتیجه کاهش ضریب تصفیه گلومرولی (kf) و میزان تصفیه گلومرولی (GFR) می‌گردد. افزایش تولید آنیون سوپراکسید، نقش مهمی در القای انقباض سلول‌های مزانشیالی دارد [۷،۶]. در مطالعات گذشته مشخص شده است که درمان با جنتامایسین، باعث ایجاد التهاب در بافت بینابینی کلیه، نکروز گسترده لوله‌ای و تشکیل قالب‌های پروتئینی ناشی از ریزش سلول‌های لوله‌ای به داخل لومن لوله می‌شود و نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از ویتامین E به علت جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد، پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه حفظ ثبات لیزوزومی، می‌تواند در جلوگیری از ایجاد آسیب لوله‌ای مؤثر باشد [۸]. هم‌چنین در مطالعه دیگری، ضخیم شدن غشای پایه گلومرولی، نفوذ لوکوسیت‌ها به داخل مویرگ‌های گلومرولی، نکروز و واکوئل‌دار شدن سلول‌های اپیتلیالی لوله نزدیک طی درمان با جنتامایسین دیده شد که به اثرات جنتامایسین روی جریان خون کلیه و هم‌چنین روی اندامک‌های داخل سلولی نظیر لیزوزوم و میتوکندری نسبت داده شد [۹]. با توجه به این نوع از مکانیسم‌های آسیب سلولی به نظر می‌رسد که استرس اکسیداتیو، نقش مهمی در سمیت کلیوی ناشی از درمان با جنتامایسین داشته باشد. مطالعات قبلی نشان داده است که استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان می‌تواند در بهبودی آسیب ایجادشده ناشی از درمان با جنتامایسین مؤثر باشد [۱۰،۶،۵].

گزنه با نام علمی، *Urtica dioica* (UD) یک گیاه پایا، متعلق به خانواده Urticaceae است که با کرک‌های گزنده مشخص می‌شود و در زمین‌های بایر و غیر زراعی می‌روید [۱۲،۱۱]. از این گیاه برای مدت‌های طولانی به عنوان داروی گیاهی، برای درمان فشار خون در شمال شرقی مراکش [۱۳]، درد معده در طب سنتی ترکیه [۱۴] و همین‌طور در درمان دردهای روماتیسمی، سرماخوردگی و سرفه استفاده می‌شده است [۱۵]. از بخش‌های مختلف این گیاه مثل ریشه، ساقه، برگ‌ها و گل برای درمان استفاده می‌شود. از جمله ترکیبات موجود در برگ‌های این گیاه اسیدهای چرب از جمله اسیدآلفالینولئیک (α-linolenic acid) و هم‌چنین کاروتنوئیدها مثل ایزومرهای لوتئین (Lutein isomers) و ایزومرهای بتا کاروتن (β-carotene isomers) و لیکوپن (Lycopene)؛ فنول‌ها مثل اسیدفرولیک (Ferulic acid)، گالیک‌اسید (Gallic acid) اسیدسیرنژیک (Syringic acid)، فلاونوئیدها مثل کاتچین و اپی‌کاتچین (catechin hydrate and Epicatechin) و ترکیبات دیگر شامل نئوگزانتین (Neoxanthin) و ویلوگزانتین (Violaxanthin) است [۱۷،۱۶]. این گیاه دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی [۱۱]، ضد التهابی [۱۸]، اتساع رگی [۱۹]، کاهش‌دهنده چربی خون [۲۰] و کاهش‌دهنده قند خون [۲۱] است. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و اتساع رگی گزنه و مکانیسم‌های آسیب بافتی در اثر سمیت کلیوی ایجادشده با جنتامایسین؛ در این مطالعه اثرات عصاره متانولی گیاه گزنه بر سمیت کلیوی ناشی از تجویز جنتامایسین بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر، از نژاد ویستار، در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم صورت گرفت. در این مطالعه، کلیه موارد اخلاقی مورد تأیید کمیته نظارت بر

Archive of SID

www.SID.ir

حیوانات آزمایش‌گاهی دانشگاه علوم پزشکی اراک رعایت شد. حیوانات در شرایط یک‌سان و کنترل‌شده، از نظر میزان نور (۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به صورت متناوب) و دمای محیط (۲±۲۳°C) در داخل قفس نگه‌داری شدند و دست‌رسی آزاد به آب و غذا داشتند.

گروه‌های مورد مطالعه. ۱- گروه کنترل: این گروه از حیوانات، هیچ‌گونه تزریق جنتامایسین نداشتند و دارو نیز دریافت نکردند.

۲- گروه حامل: این گروه از حیوانات، به مدت هشت روز متوالی ۱۰۰ mg/kg جنتامایسین (البرز دارو- ایران) [۲۲] به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و سپس روز نهم و دهم ۴ mL/kg آب مقطر، از طریق گاواژ دریافت کردند.

۳- گروه بدون تزریق جنتامایسین و پس‌درمان با عصاره متانولی گزنه (عصاره متانولی گزنه + نرمال سالین): این گروه از حیوانات، روزانه ۰/۵ ml نرمال سالین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. سپس روز نهم و دهم ۲۰۰ mg/kg عصاره متانولی گزنه [۲۴،۲۳] از طریق گاواژ دریافت کردند.

۴- گروه با تزریق جنتامایسین و پس‌درمان با عصاره متانولی گزنه (عصاره متانولی گزنه + جنتامایسین): این گروه از حیوانات، روزانه ۱۰۰ mg/kg جنتامایسین به صورت داخل صفاقی به مدت هشت روز دریافت کردند و سپس روز نهم و دهم ۲۰۰ mg/kg عصاره متانولی گزنه از طریق گاواژ دریافت کردند.

در روز دهم، پس از تجویز آخرین دوز دارو، حیوان در قفس متابولیسم قرار داده شد و حجم ادرار به روش گراویمتری اندازه‌گیری شد. حیوان پس از خارج شدن از قفس متابولیسم توزین شد. جهت بی‌هوش نمودن، به میزان ۵۰-۶۰mg/kg پنتوباربیتال (سیگما-امریکا) [۲۵] به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد. پس از بی‌هوشی، میزان فشار خون با استفاده از کاف دمی و با کمک دستگاه Power Lab(استرالیا-AD Instruments) اندازه‌گیری گردید [۲۶]. آنگاه موهای روی شکم با تیغ مخصوص تراشیده شد و با کوتر یک برش طولی در سطح آن ایجاد شد. کلیه راست و چپ با باز کردن شکم رویت گردید. شریان و ورید کلیه چپ را از یک‌دیگر جدا نموده و میزان جریان خون شریان کلیه به کمک دستگاه جریان نگار (Flow meter) با پروب ویژه (۴۰۲ T-امریکا) اندازه‌گیری شد. پس از قراردادن شریان در پروب سیگنال دیجیتالی شده و توسط نرم‌افزار lab chart آنالیز شد و برای این منظور پس از طی ۲۰ دقیقه و ثابت شدن جریان خون، میانگین جریان خون شریان کلیه به مدت ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری شد [۲۷]. خون‌گیری از آئورت با سرنگ هپارینه سرد انجام شد. بعد از استحصال پلاسما، میزان [Cr] و [BUN] با روش رنگ‌سنجی آنزیمی و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر (Auto analyzer Selectra-XL-هلند) [۲۸]، میزان [Na^+]، [K^+] بر اساس سنجش انرژی نورانی و طیف نشری اتم‌های مورد نظر، با استفاده از دستگاه Flam photometer (ایتالیا- ۲۰ SEAC-Fp) [۲۹] و اسمولالیته در نمونه ادرار بر اساس اندازه‌گیری مقایسه‌ای نقطه انجماد آب مقطر و محلول‌ها با استفاده از دستگاه اسمومتر (آلمان-۰۳۰-Osmomat gonotec) [۳۰] تعیین و با استفاده از فرمول مربوطه، میزان کلیرانس کراتینین (Cr) و دفع مطلق و نسبی سدیم و پتاسیم مشخص گردید. بعد از خارج کردن هر دو کلیه و توزین آن‌ها، جهت مطالعه بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، کلیه چپ در فرمالین ۱۰٪ و جهت مطالعه بیوشیمیایی FRAP و MDA، کلیه راست به‌سرعت در نیتروژن مایع و سپس در فریزر ۲۰°C- نگه‌داری شدند.

برای محاسبه دفع مطلق سدیم ($U_{Na}V^o$) و پتاسیم (U_KV^o)، دفع نسبی سدیم (FE_{Na}) و پتاسیم (FE_K)، کلیرانس کراتینین (C_{Cr}) و میزان جریان ادرار ($V°$) از فرمول‌های زیر استفاده شد:

$$V°(\mu l/min.gkw)=(۱۰۰۰\times UFR)/(KW\times ۳۶۰)$$

$$C_{Cr}(ml/min.gkw)=(V°/۱۰۰۰\times U_{Cr})/P_{Cr}$$

$$U_{Na}V^o(\mu mol/min.gkw)=(V°\times U_{Na})/۱۰۰۰$$

$$FE_{Na}=(U_{Na}\times P_{Cr})/(P_{Na}\times U_{Cr})\times ۱۰۰$$

$$U_KV^o(\mu mol/min.gkw)=(V°\times U_K)/۱۰۰۰$$

$$FE_K=(U_k\times P_{Cr})/(P_k\times U_{Cr})\times ۱۰۰$$

Archive of SID

www.SID.ir

تهیه عصاره متانولی گزنه. برگ‌های گیاه گزنه از گردنه کردی، در استان کردستان ایران تهیه شد. برگ‌های خشک‌شده گیاه به مقدار ۱۰۰۰گرم آسیاب شد. سپس ۵۰۰ گرم از پودر حاصله در ۲/۵ لیتر متانول به مدت ۱۸ ساعت انکوبه شد. سپس ماده حاصله دو بار از کاغذ صافی شماره ۲ واتمن (Whatman) عبور داده شد. به منظور کاهش حجم حلال و تبخیر متانول، درrotator evaporator در دمای ۶۰ درجه قرار گرفت. پس از آن عصاره به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۶۰ درجه قرار گرفت تا متانول آن کاملاً تبخیر گردد و عصاره خشک گیاه به دست آید. میزان ۲۰۰mg/kg از عصاره خشک گیاه، در ml ۴ آب مقطر حل شده و به حیوان گاواژ شد [۲۴].

آزمایش FRAP. این آزمایش، روشی برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی است. که طی آن کمپلکس بی‌رنگ ferric- trotripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) در PH پایین، به Fe^{2+}-TPTZ احیاء شده و رنگ آبی ایجاد می‌کند که بیش‌ترین جذب آن در طول موج ۵۹۳ nm است. حضور مواد آنتی‌اکسیدان، باعث احیا Fe^{3+} و تولید کمپلکس رنگی Fe^{2+}-TPTZ می‌شود و شدت رنگ تولید شده، متناسب با غلظت ماده آنتی‌اکسیدان در بافت خواهد بود.

معرف FRAP با مخلوط کردن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر استات، ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلریدفریک، ۱۰ میلی‌لیتر محلول TPTZ و ۱۲ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. بافت کلیه در محلول بافر فسفاتی با نسبت وزنی/حجمی ۱:۱۰ هموژنیزه شد. ۵۰ میکرولیتر از بافت هموژنیزه شده و ۱/۵میلی‌لیتر معرف FRAP، در کووت با هم مخلوط شده و سپس جذب آن در برابر شاهد، در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV–۷۵۰۰–SpectroLab-انگلیس) قرائت شد [۳۱].

آزمایش مالون دی آلدئید (MDA). مالون دی آلدئید، محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی در بافت است که از کاهش محتوی اسیدهای چرب اشباع نشده، در بافت ناشی می‌شود. مالون دی آلدئید، به عنوان سوبسترا برای رادیکال‌های آزاد به کار می‌رود. ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه بافتی هموژنیزه شده ۱۰٪ وزنی/حجمی، به مخلوط واکنش شامل؛ ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول اسیداستیک ۲۰٪، ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول TBA ۰/۸٪ و ۲۰۰ میکرولیتر از محلول SDS ۸/۱٪ اضافه شد. سپس حجم آن با آب مقطر به ۴ میلی‌لیتر رسانده شد. و به مدت ۶۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آبی (امریکا-DUBNOFF) حرارت داده شد. سپس به سرعت نمونه از حمام آبی خارج و به‌مدت ۱۰ دقیقه در یخ قرار گرفت تا واکنش تشکیل رنگ تثبیت گردد. پس از سرد شدن ۴ میلی‌لیتر n- بوتانل به آن اضافه شد. پس از تکان دادن شدید، به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm ۴۰۰۰ سانتریفیوژ (فرانسه–۳.۱۱ Jouan-B) شد و لایه فوقانی به آرامی با سمپلر برداشته شد و جذب نوری در nm ۵۳۲ با کمک اسپکتروفتومتر (UV ۷۵۰۰– SpectroLab انگلیس) قرائت شد [۳۲].

مطالعه هیستو پاتولوژیک. کلیه چپ پس از جدا کردن کپسول، به دو نیمه مساوی تقسیم و در بافر فرمالدئید ۱۰٪ قرار داده شد و پس از پاساژ معمول بافتی و فیکس شدن، قالب پارافینی از آن تهیه گردید. پس از تهیه برش‌های ۵ میکرونی، با دو رنگ بازی هماتوکسیلین و اسیدی ائوزین رنگ‌آمیزی شد. پس از تهیه لام مناسب بررسی بافتی توسط متخصص آسیب‌شناسی انجام شد. تغییرات مورفولوژیک در دو بخش گلومرولی و لوله‌ای، بین گروه‌ها مقایسه شد. افزایش فضای کپسول بومن، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و درصد کل آسیب گلومرولی، در بخش گلومرولی و ریزش سلول‌های اپی‌تلیالی لوله‌ای به داخل لومن، ایجاد قالب‌های پروتئینی در داخل لومن، واکوئل‌دار شدن سلول‌های لوله‌ای، نکروز سلول‌های لوله‌ای و درصد کل آسیب لوله‌ای نیز در بخش لوله‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. میزان آسیب حاصله بر اساس درصد محاسباتی درجه‌بندی (Grading) شد. نبود آسیب درجه صفر، ۱–۲۵ درصد آسیب درجه ۱، ۲۵–۵۰ درصد آسیب درجه ۲، ۵۰–۷۵ درصد آسیب درجه ۳ و ۷۵–۱۰۰درصد آسیب درجه ۴ نامیده شد [۳۳].

Archive of SID

www.SID.ir

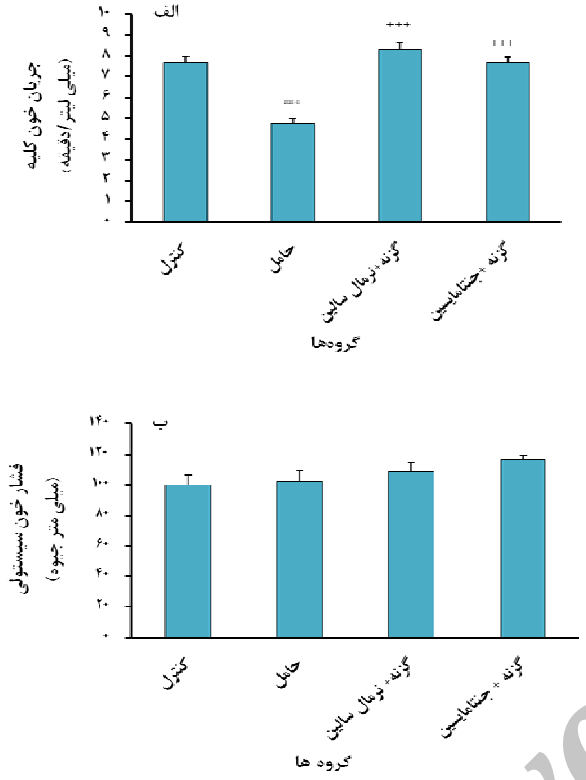
آنالیز آماری. تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد شده از میانگین (Mean ± SEM) ارائه شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و به دنبال آن تست Tukey انجام شد. برای آنالیز بافتی از آزمون غیر پارامتری Kruskal Wallis و Dunnett با در نظر گرفتن P≤۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار استفاده گردید.

نتایج

اثرات عصاره متانولی گزنه بر میزان جریان خون کلیه و فشار خون سیستولی. میزان جریان خون کلیه در گروه حامل کاهش ۳۹٪ را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۰۱). پس درمان با عصاره گزنه، کاهش جریان خون ناشی از جنتامایسین را مهار و باعث بازگشت آن به سطح گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱) (شکل ۱، الف). مقایسه فشار خون سیستولی بین گروه‌ها در هیچ کدام تغییر معناداری را نشان نداد (شکل ۱، ب).

اثرات عصاره متانولی گزنه بر غلظت پلاسمایی کراتینین و اوره. تجویز جنتامایسین به تنهایی باعث افزایش معناداری در غلظت پلاسمایی کراتینین و اوره نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱). پس درمان با عصاره گزنه غلظت‌های پلاسمایی افزایش یافته کراتینین و اوره در اثر جنتامایسین را به ترتیب به میزان ۵۴٪ و ۵۶٪ کاهش داد (P<۰/۰۰۱) (جدول ۱).

اثرات عصاره متانولی گزنه بر میزان اسمولالیته، کلیرنس کراتینین و دفع مطلق و نسبی سدیم و پتاسیم. در گروه حامل، اسمولالیته ادرار کاهش ۵۷٪ و کلیرنس کراتینین کاهش ۷۱٪ را نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۰۱). پس درمان با عصاره گزنه، کاهش در اسمولالیته ادرار (P<۰/۰۰۱) و کلیرنس کراتینین (P<۰/۰۱) ناشی از درمان با جنتامایسین را به صورت معناداری مهار کرد. درمان با جنتامایسین، باعث افزایش معنادار دفع مطلق سدیم ($U_{Na}V^{o}$)(P<۰/۰۵)، دفع نسبی سدیم (FE_{Na}) (P<۰/۰۱) و دفع نسبی پتاسیم (FE_{K})، (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل شد. پس درمان با عصاره گزنه، باعث کاهش ۳۴٪ $U_{Na}V^{o}$ (P<۰/۰۵)، ۷۹٪ FE_{Na} و ۵۵٪ FE_{K} نسبت به گروه حامل شد (P<۰/۰۰۱). دفع مطلق پتاسیم ($U_{K}V^{o}$) در هیچ یک از گروه‌ها تغییر معناداری نداشت. (جدول ۱).



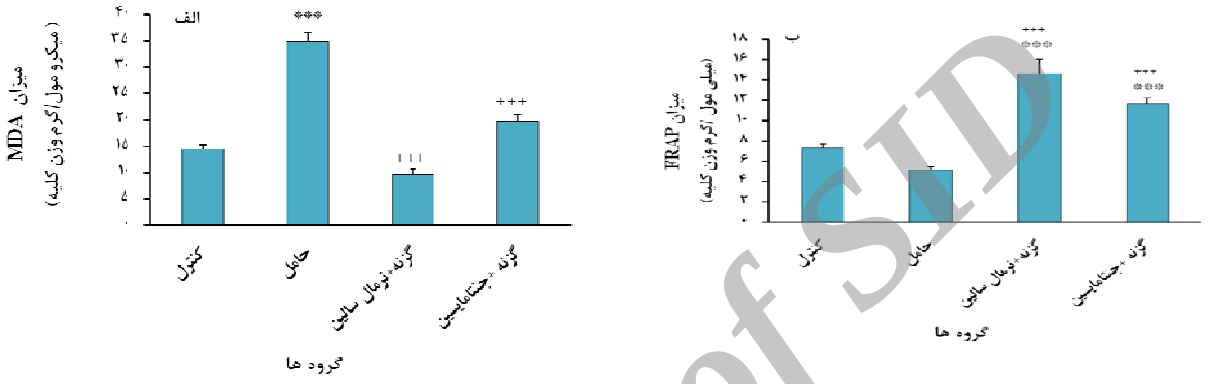
شکل ۱. مقایسه تغییرات الف)جریان خون کلیه و ب)فشار خون سیستولی بین گروه‌ها ناشی از ۸ روز تجویز جنتامایسین و ۲ روز پس درمان با عصاره گزنه. P< ۰/ ۰۵*در مقایسه با گروه کنترل ؛ P< ۰/۰۱** در مقایسه با گروه کنترل ؛ P< ۰/۰۰۱***در مقایسه با گروه کنترل ؛+ P< ۰/۰۵ در مقایسه با گروه حامل ؛ P< ۰/۰۱ ++ در مقایسه باگروه حامل ؛ P< ۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه حامل.نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین(SEM) برای ۸ موش صحرایی در هرگروه بیان شده است.

اثرات عصاره متانولی گزنه بر میزان FRAP و MDA در بافت کلیه. میزان FRAP در بافت کلیه، در گروه حامل نسبت به گروه کنترل ۳۰٪ کاهش یافت ولی معنادار نبود. پس درمان با عصاره گزنه میزان FRAP در بافت کلیه را افزایش داد که نسبت به هر دو گروه حامل و کنترل معنادار بود. (P<۰/۰۰۱) (شکل ۲، الف). میزان MDA در بافت کلیه، در گروه حامل در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت (P<۰/۰۰۱). پس درمان با عصاره گزنه، باعث کاهش ۴۳٪

Archive of SID
www.SID.ir

در میزان MDA نسبت به گروه حامل شد (P<۰/۰۰۱) (شکل ۲، ب).

اثرات عصاره متانولی گزنه بر تغییرات هیستو پاتولوژیک. در گروه حامل، نکروز سلول‌های لوله‌ای (P<۰/۰۱)، تشکیل قالب‌های پروتئینی در لومن لوله، ریزش سلول‌ها به داخل لومن لوله، واکوئل‌دار شدن سلول‌های لوله‌ای، افزایش فضای کپسول بومن و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در گلومرول دیده شد که در مقایسه با گروه کنترل معنادار بود (P<۰/۰۰۱). پس درمان با عصاره گزنه، باعث کاهش معنادار ۳۹٪ در نکروز سلولی، ۴۰٪ در تشکیل قالب‌های پروتئینی، ۳۱٪ در ریزش سلولی، ۳۴٪ در واکوئل‌دار شدن، ۵۱٪ در فضای کپسول بومن و افزایش معناداری ۴۰٪ در تعداد گلبول قرمز در گلومرول شد (P<۰/۰۰۱)، (جدول۲) (شکل۳).



شکل ۲. مقایسه الف) تغییرات میزان MDA و ب) میزانFRAP بین گروه‌ها ناشی از ۸ روز تجویز جنتامایسین و ۲ روز پس درمان با عصاره گزنه. P<۰/۰۵ *در مقایسه با گروه کنترل؛ P< ۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل؛ P< ۰/۰۰۱***در مقایسه با گروه کنترل؛ P< ۰/۰۵ +در مقایسه با گروه حامل ؛ P< ۰/۰۱ ++در مقایسه باگروه حامل؛ P<۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه حامل.نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین(SEM) برای ۸ موش صحرایی در هرگروه بیان شده است

پارامترها / گروه ها	FE_K%	FE_{Na}%	U_KV^o (mmol/ min / kg)	$U_{Na}V^o$ (mmol/ min / kg)	C_{cr} (mL/min/kg)	$[Cr]_p$ (mg/dL)	[BUN] (mg/dL)	$Osmol_u$ (mOsm/ kgH_2O)
کنترل	۲/۴۹±۳۴/۶۳	۰/۰۳±۰/۴۳	۰/۱۶±۱/۹۹	۰/۰۵±۰/۷۷	۰/۰۳±۱/۲۹	۰/۰۲±۰/۵۷	۰/۹۶±۲۰/۵۰	۸۱/۲۸±۱۲۹۰
حامل	۱۲/۵۲±۶۸/۱۳ ***	۰/۶۸±۵/۸۲ ***	۰/۱۴±۲/۲۰	۰/۱۸±۲/۸۳ ***	۰/۰۲±۰/۳۷ ***	۰/۱۵±۲/۵۱ ***	۱/۴۱±۱۰۰/۸۸ ***	۶۵/۳۷±۵۴۸/۸۷ ***
گزنه+نرمال سالین	۵/۲۰±۴۱/۴۸ +++	۰/۰۶±۰/۵۴ +++	۰/۳±۲/۸۷	۰/۱۵±۱/۳۴ +++	۰/۰۶±۱/۷۲ **+++	۰/۰۳±۰/۶۱ +++	۰/۹۸±۲۱/۰۰ +++	۵۹/۴۴±۱۱۷۱/۲۵ +++
گزنه+جنتامایسین	۷/۲۱±۶۲/۱۲ +++	۰/۱۴±۱/۲۲ ++*	۰/۳۹±۲/۸۲	۰/۲۶±۱/۸۶ **+	۰/۰۸±۱/۰۷ ++	۰/۱۱±۱/۱۳ *+++	۱/۶۷±۴۴/۸۷ ***+++	۲۹/۱۴±۱۰۶۱/۵ +++

جدول۱.مقایسه تغییرات دفع نسبی و مطلق پتاسیم و سدیم ، کلیرنس کراتینین ، غلظت پلاسمایی کراتینین و اوره و اسمولالیته ادرار بین گروهها ناشی از ۸ روز تجویز جنتامایسین و ۲ روز پس درمان با عصاره گزنه

FE_K= potassium Fraction excretion , FE_{Na}=Sodium Fraction excretion , U_KV^o= potassium absolute excretion , $U_{Na}V^o$ =Sodium absolute excretion , C_{cr}= creatinine clearance , $[Cr]_p$ Plasma creatinine Concentration , [BUN]=Blood urea nitrogen , $Osmol_u$= urine osmolarity

P<۰/۰۵ *در مقایسه با گروه کنترل ؛ P< ۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل ؛ P< ۰/۰۰۱***در مقایسه با گروه کنترل ؛ P< ۰/۰۵ + در مقایسه با گروه حامل ؛ P< ۰/۰۱ ++ در مقایسه باگروه حامل ؛ P< ۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه حامل.نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین(SEM) برای ۸ موش صحرایی در هرگروه بیان شده است.

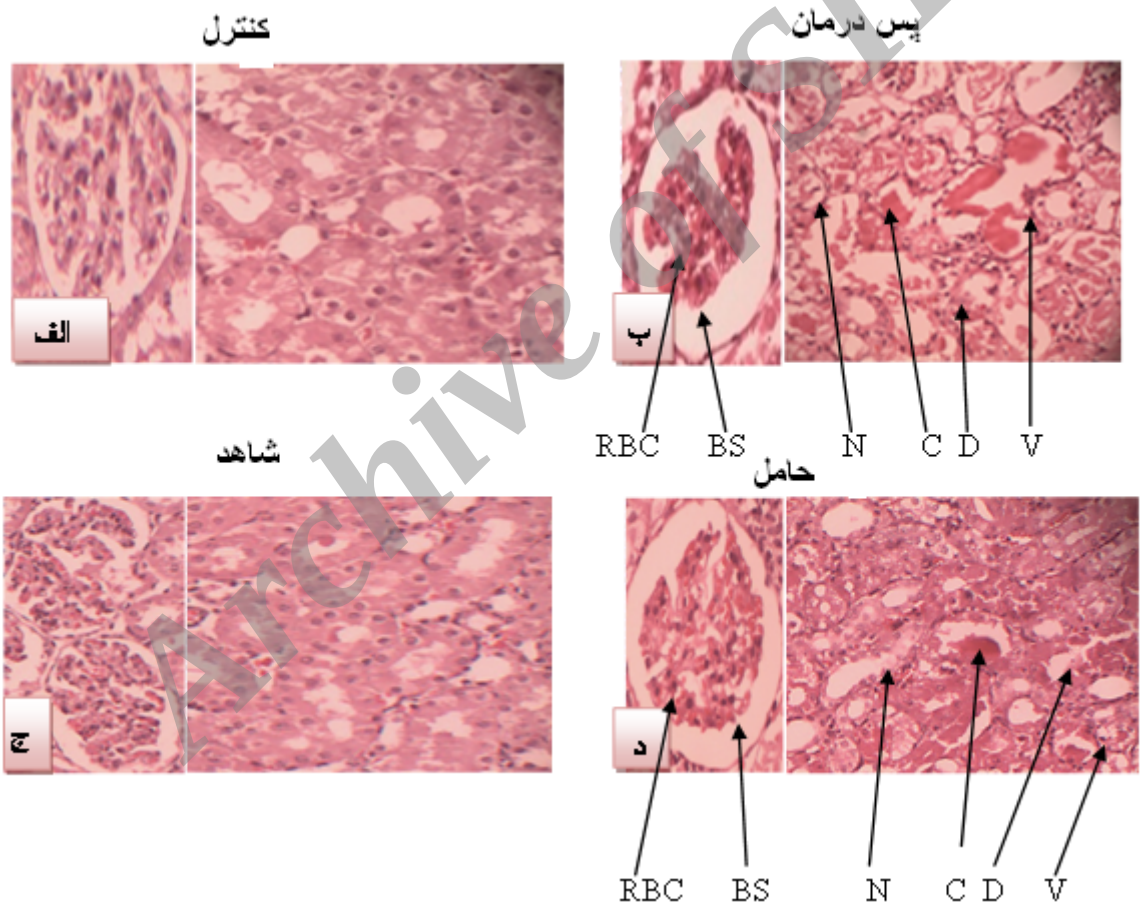
Archive of SID

www.SID.ir

پارامترها / گروه ها	نکروز	تشکیل قالبهای پروتئینی	ریزش سلولی	واکوئل دار شدن	آسیب کل لوله ای	کاهش گلبولهای قرمز	افزایش فضای کپسول بومن	درصد کل آسیب گلومرولی
کنترل	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
حامل	۴***	۳***	۴***	۴***	۴***	۳***	۴***	۳***
گزنه+ نرمال سالین	۰+++	۰+++	۰+++	۰+++	۰+++	۰+++	۰+++	۰+++
گزنه + جنتامایسین	۲***+++	۲***+++	۳***+++	۳***+++	۲***+++	۲***+++	۲***+++	۲***+++

جدول۲ . درجه بندی تغییرات سلول های اپیتلیالی لوله ای از نظر نکروز ، تشکیل قالبهای پروتئینی ، ریزش ، واکوئل دار شدن ، تعداد گلبوبهای قرمز ، فضای کپسول بومن و آسیب کل لوله ای و گلومرولی بین گروهها ناشی از ۸ روز تجویز جنتامایسین و ۲ روز پس درمان با عصاره گزنه

$P<۰/۰۵$ * در مقایسه با گروه کنترل ؛ $P< ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه کنترل ؛ $P< ۰/۰۰۱$*** در مقایسه با گروه کنترل ؛ $P< ۰/۰۵$ + در مقایسه با گروه حامل ؛ $P< ۰/۰۱$ ++ در مقایسه باگروه حامل ؛ $P< ۰/۰۰۱$ +++ در مقایسه با گروه حامل.نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین(SEM) برای ۸ موش صحرایی در هرگروه بیان شده است.



RBC=red blood cells, BS= Bowman's space, N=necrosis, C=intratubular cast, D=downfall , V=vacuolization

شکل ۳. مقایسه تغییرات هیستولوژیک کلیه بین گروههای مختلف ناشی از ۸ روز تجویز جنتامایسین و ۲ روز پس درمان با عصاره گزنه. $P< ۰/۰۵$ *در مقایسه با گروه کنترل ؛ $P< ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه کنترل ؛ $P< ۰/۰۰۱$ ***در مقایسه با گروه کنترل ؛+ $P< ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه حامل ؛ $P< ۰/۰۱$ ++ در مقایسه باگروه حامل ؛ $P< ۰/۰۰۱$ +++ در مقایسه با گروه حامل.نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین(SEM) برای ۸ موش صحرایی در هرگروه بیان شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

هدف این مطالعه بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و متسع‌کننده رگی عصاره گیاه گزنه بر روی آسیب کلیوی ایجادشده توسط جنتامایسین بود. پس درمان با عصاره گزنه باعث کاهش معناداری در غلظت پلاسمایی کراتینین، اوره، دفع نسبی سدیم، پتاسیم، دفع مطلق سدیم و میزان MDA و افزایش معناداری در کلیرنس کراتینین، اسمولالیته ادرار، RBF، نکروز سلول‌های لوله‌ای، تشکیل قالب‌های پروتئینی در داخل لومن، واکوئل‌دار شدن سلول‌های لوله‌ای و فضای کپسول بومن شد.

استرس اکسیداتیو نقش مهمی در سمیت کلیوی ناشی از درمان با جنتامایسین دارد. ROS و به طور عمده آنیون سوپراکسید با منشأ میتوکندریایی و هیدروکسیل رادیکال ناشی از هیدروژن پراکسید باعث ایجاد آسیب و مرگ سلولی با مکانیسم‌های مختلفی می‌شود [۳۶] و مهار جریان عرض غشایی سدیم به وسیله مهار اکسیداتیو Na^+/K^+ AT_{Pase} و کانال‌های سدیمی که باعث تورم سلولی و از بین رفتن تمامیت غشا و نکروز می‌شود [۳۷]. جنتامایسین باعث کاهش سطوح آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، مانند کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) هم می‌شود که باعث افزایش آسیب اکسیداتیو می‌گردد [۳۸]. مطالعات گذشته نشان داد که جنتامایسین از طریق تولید ROS، می‌تواند باعث انقباض سلول‌های مزانشیال گلومرولی شود و با تغییر دادن سطح تصفیه گلومرولی، باعث کاهش ضریب تصفیه گلومرولی (Kf) و نهایتاً کاهش GFR گردد [۷،۶]. متعاقب کاهش GFR، کلیرنس کراتینین هم کاهش یافته که باعث تجمع کراتینین و اوره در خون می‌شود. با توجه به نقش رادیکال‌های آزاد در کاهش میزان

تصفیه گلومرولی به نظر می‌رسد که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها بتواند در جلوگیری از انقباض سلول‌های مزانشیال و کاهش GFR مؤثر باشد. استفاده از Resveratol که از ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشد و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی است با به‌دام‌اندازی رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید، انقباض سلول‌های مزانشیال کشت داده شده را کاهش داده و متعاقباً باعث جلوگیری از کاهش Kf و GFR می‌شود [۶]. در مطالعات دیگری، پس درمان با عصاره Punica granatum که حاوی ترکیبات فنولی می‌باشد با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد ناشی از تجویز جنتامایسین، سطوح سرمی کراتینین و اوره در کاهش داد [۳۹]. عصاره گزنه نیز حاوی ترکیبات فنولی است. مطالعات نشان داده که یک رابطه مثبت بین ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از گونه‌های گیاهی وجود دارد. توانایی به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد توسط ترکیبات فنولی، به‌دلیل گروه هیدروکسیل و خاصیت احیاکنندگی آن‌ها است [۴۰] در مطالعه ما پس‌درمان با عصاره متانولی گزنه باعث افزایش کلیرنس کراتینین و کاهش غلظت اوره و کراتینین پلاسما شد که این اثرات می‌تواند به اثر آنتی‌اکسیدانی و بهبودی لوله‌ای متعاقب آن نسبت داده شود. کاهش اسمولالیته ادراری، در بخشی به علت کاهش بیان کانال آبی ۲ AQP است و کاهش بیان و تنظیم کاهشی آن تحت تأثیر جنتامایسین، باعث ناتوانی در تغلیظ ادرار می‌شود [۴۱]. کاهش در تصفیه اوره که در تغلیظ ادرار نقش دارد و ناشی از کاهش GFR است در ایجاد ناتوانی موثر است. عامل دیگری که در کاهش قدرت تغلیظ ادرار مؤثر است مهار $[Na^+/K^+ AT_{Pase}]$ [۴۲] توسط جنتامایسین، در غشای قاعده‌ای جانبی سلول‌های لوله‌ای است که هم به صورت مستقیم و هم به صورت غیر مستقیم از طریق کاهش تولید ATP روی آن اثر مهاری اعمال می‌کند. این آنزیم، گرادیان لازم برای انتقال سدیم را فراهم می‌کند و از طرف دیگر در حفظ حجم سلول دخالت دارد و مهار آن باعث تورم سلول و نهایتاً نکروز سلول‌های لوله‌ای می‌گردد. بنابراین جنتامایسین هم از طریق ایجاد آسیب لوله‌ای و هم از طریق مهار انتقال‌دهنده‌های غشایی [۴۳] در فرآیندهای تغلیظ و باز جذب یون‌ها اختلال ایجاد کرده و باعث دفع یون‌ها می‌شود. درمان با glycyrrhizin از طریق تنظیم افزایش آکواپورین ۲ و به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی با کاهش استرس اکسیداتیو و کم‌تر کردن آسیب لوله‌ای، باعث بهبودبخشی به توانایی تغلیظ

Archive of SID

www.SID.ir

ادرار و در نتیجه افزایش اسمولالیته ادرار می‌گردد [۴۱]. استفاده از عصاره اتانولی cassia occidentalis که حاوی ترکیبات فلاونوئیدی، فنولی و تانین‌ها است؛ حداقل در بخشی به علت جلوگیری از ایجاد آسیب به سلول‌های لوله‌ای با به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد می‌تواند در بهبودی دفع ادراری یون‌های سدیم و پتاسیم مؤثر باشد [۴۴]. عصاره گزنه حاوی کاروتنوئیدها از جمله lycopene است [۱۶]. lycopene دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی است و دیده شده است که آسیب لوله‌ای ناشی از درمان با جنتامایسین را کاهش می‌دهد و با به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد، در جلوگیری از نکروز سلول‌های لوله‌ای و کاهش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی مؤثر است [۳۸]. پس‌درمان با عصاره متانولی گزنه باعث افزایش در توانایی تغلیظ ادرار و کاهش در دفع ادراری یون‌ها شد که می‌تواند به علت بهبودبخشی به آسیب لوله‌ای ایجادشده با جنتامایسین، به علت دارا بودن خاصیت به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد باشد.

درمان با جنتامایسین، باعث کاهش جریان خون شریانی کلیه شد که متعاقب افزایش مقاومت عروق کلیه رخ می‌دهد [۴۵]. افزایش مقاومت عروق کلیه به طور ابتدایی ناشی از فعال شدن فیدبک لوله‌ای-گلومرولی (TGF)، به علت کاهش بازجذب لوله‌ای است که توسط جنتامایسین القا می‌شود و به عنوان یک پدیده هموستاتیک برای جلوگیری از، از دست رفتن حجم بالای مایعات عمل می‌کند و در مرحله بعدی، این افزایش مقاومت از افزایش تولید واسطه‌های تنگ‌کننده رگی، در درخت عروقی کلیه و بخش مزانشیال، ناشی از اثرات مستقیم جنتامایسین روی سلول‌های عروقی است [۱]. به این دلیل که تولید ROS توسط جنتامایسین، نقش عمده‌ای در تولید مواد تنگ‌کننده رگی دارد به نظر می‌رسد؛ استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها بتواند نقش حفاظتی در برابر کاهش RBF القاشده با جنتامایسین داشته باشد. در مطالعات گذشته دیده شده است که trans-resveratrol به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، با خنثی کردن اثر رادیکال‌های آزاد و متعاقباً جلوگیری از تولید واسطه‌های تنگ‌کننده رگی، باعث مهار کاهش RBF القاشده با جنتامایسین می‌شود [۴۵]. در یک مطالعه دیده شد که درمان با عصاره گزنه، باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از ایجاد ایسکمی در عضله tibialis قدامی موش صحرایی شد که به وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این گیاه، نسبت داده شده است [۱۱]. استفاده از عصاره گزنه با تولید نیتریک‌اکسید (NO) باعث اتساع رگی در حلقه‌های آئورتی با لایه اندوتلیال سالم می‌شود. استفاده از مهارکننده بیوسنتز NO (L-NAME) و یا مهارکننده گوانیلات سیکلاز (ODQ) اثر اتساع رگی عصاره را از بین می‌برد [۱۹]. در مطالعه ما پس‌درمان با عصاره گزنه، باعث بازگشت RBF به سطح پایه شد که امکان دارد؛ مربوط به خصوصیات اتساع رگی و آنتی‌اکسیدانی آن باشد. مطالعات زیادی در زمینه نقش رادیکال‌های آزاد در سمیت کلیوی ایجاد شده با جنتامایسین صورت گرفته است و دیده شده است که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در بهبودی این نوع آسیب کلیوی بسیار مؤثر است که تأییدی بر این مطلب است که گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS)، سهم عمده‌ای در ایجاد سمیت کلیوی با جنتامایسین دارند [۴۶،۱۰،۶]. جنتامایسین، تولید رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید را در کلیه افزایش می‌دهد [۴۸،۴۷]. از طرف دیگر، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌شود [۴۶،۳۸] و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث آسیب شدید در بخش‌های لوله‌ای کلیه می‌شود [۴۹،۳۹]. همان‌طور که قبلاً اشاره شد استفاده از lycopene، به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش سطوح MDA، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبودی آسیب بافتی القاشده با جنتامایسین می‌گردد [۳۸]. درمان با چای سبز و Coenzyme Q نقش حفاظتی در سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین دارد و میزان پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده و فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد [۵۰]. مطالعات نشان داده است که عصاره گزنه، می‌تواند فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاع

Archive of SID
www.SID.ir

آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، گلوتاتیون-s ترانسفراز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را در کبد، کلیه، ریه و پیش‌معده (forestomach) افزایش دهد [۵۱]. در مطالعه دیگری، دیده شد که درمان با عصاره گزنه، باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تقویت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کبد موش‌های صحرایی درمان‌شده با کربن-تتراکلراید می‌شود [۵۲]. در مطالعه حاضر پس‌درمان با عصاره گزنه باعث کاهش سطوح MDA و افزایش سطوح FRAP در بافت کلیه شد و همین‌طور اثرات بهبودبخشی را روی آسیب بافتی القاشده با جنتامایسین نشان داد که مطابق با نتایج سایرین است [۵۳] که با خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه مربوط می‌باشد. افزایش تولید ROS ناشی از درمان با جنتامایسین، باعث ایجاد پاسخ التهابی می‌شود. رادیکال‌های هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید فاکتور هسته‌ای κB (NFκB) را فعال می‌کنند. عصاره گیاه گزنه قادر است التهاب ناشی از تزریق فرمالین در کف پای حیوانات را کاهش دهد. تزریق فرمالین باعث آزاد شدن واسطه‌های التهابی محیطی می‌شود و احتمالاً عصاره گیاه گزنه از طریق مهار آزادسازی واسطه‌های التهابی محیطی توانسته است میزان التهاب را کاهش دهد [۵۴]. یکی از واسطه‌های کلیدی التهاب فاکتور هسته‌ای κB است. گیاه گزنه به دلیل دارا بودن اسید کافئیک-مالیک که از ترکیبات فنولی آن است باعث سرکوب شدن عمل فاکتور رونویسی NFκB با واسطه مهار تجزیه‌ی پروتئولیتیک زیرواحد مهاری (IκB) آن می‌شود [۱۸]. NFκB رونویسی از چندین ژن التهابی را واسطه‌گری می‌کند و مهار فعالیت آن می‌تواند در جلوگیری از التهاب بسیار مؤثر باشد. استرس اکسیداتیو و التهاب با مکانیسم‌هایی که در متن فوق اشاره شد؛ باعث ایجاد آسیب در سلول‌های لوله‌ای و نکروز شدن این سلول‌ها و ریزش سلول‌ها به داخل لومن لوله شده و متعاقباً قالب‌های پروتئینی در لومن لوله تشکیل می‌شود که باعث انسداد لومن و افزایش فشار داخل لومن می‌شوند [۵۵] که با افزایش فضای کپسول بومن در گروه حامل همراه بود. از طرف دیگر رادیکال‌های آزاد روی سلول‌های مزانشیال گلومرولی هم اثر گذاشته و باعث انقباض این سلول‌ها و تحریک تولید واسطه‌های تنگ‌کننده رگی می‌شود که با انقباض کلافه گلومرولی و در نتیجه کاهش تعداد گلبول‌های قرمز موجود در گلومرول در مطالعات بافتی مشخص شد. با توجه به اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی گیاه گزنه و مکانیسم‌های آسیب بافتی احتمالاً بهبودی حاصل از تجویز عصاره گیاهی در بخش بافتی به خنثی کردن اثر رادیکال‌های آزاد و التهاب متعاقب آن که به صورت فیدبک مثبت یک‌دیگر را تقویت می‌کنند؛ مربوط می‌باشد.

نتایج این مطالعه، نشان داد که پس‌درمان با عصاره متانولی گزنه می‌تواند در بهبودی آسیب کلیوی ناشی از درمان با جنتامایسین مؤثر باشد. این اثرات ممکن است مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و یا متسع‌کننده رگی آن باشد. به نظر می‌رسد جداسازی ترکیبات این گیاه و استفاده از این ترکیبات به طور جداگانه، بتواند سهم هر یک از این ترکیبات را در بهبودی سمیت کلیوی بهتر مشخص کند. با توجه به خصوصیات متسع‌کننده رگی می‌توان بررسی اثرات این عصاره گیاهی بر روی داروهایی که با کاهش جریان خون کلیه باعث ایجاد سمیت کلیوی می‌شوند؛ مانند داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی، مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین و... را پیشنهاد نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله قسمتی از پایان‌نامه خانم محبوبه احمدی جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد فیزیولوژی می‌باشد. که به صورت طرح تحقیقاتی با کد ۸۹۱ در معاونت آموزش و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی اراک به تصویب رسیده است. که از حمایت آن معاونت صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

[1] Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. Kidney Int 2011; 79: 33-45.

[2] Wiland P, Szechciński J. Proximal tubule damage in patients treated with gentamicin or amikacin. Pol J Pharmacol 2003; 55: 631-637.

[3] Schmitz C, Hilpert J, Jacobsen C, Boensch C, Christensen EI, Luft FC, Willnow TE. Megalin deficiency offers protection

Archive of SID

www.SID.ir

[23] Özkol H, Musa D, Tuluce Y, Koyuncu I. Ameliorative influence of Urtica dioica L against cisplatin-induced toxicity in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. Drug Chem Toxicol 2012; 35: 251-257.

[24] Kataki MS, Murugamani V, Rajkumari A, SinghMehra P, Awasthi D, Yadav RS. Antioxidant, hepatoprotective, and anthelmintic activities of ethanol extract of Urtica dioica L. Leaves. Pharm Crops 2012; 3: 38-46.

[25] Li-ping XI, Skrezek C, Wand H, Reibe F. Mithocondrial dysfunctionat the early stage of cisplatin induced acute renal failure in rats. J Zhejiang Univ Sci 2000; 1: 91-96.

[26] Whitesall SE, Hoff JB, Vollmer AP, Alecy LG. Comparison of simultaneous measurement of mouse systolic arterial blood pressure by radiotelemetry and tail-cuff methods. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 286: 2408-2415.

[27] Hashimoto S, Huang YG, Castrop H, Hansen PB, Mizel D, Briggs J, Schnermann J. Effect of carbonic anhydrase inhibition on GFR and renal hemodynamics in adenosine-1 receptor-deficient mice. Pflugers Arch 2004; 448: 621-628.

[28] Al Ameen NM, Altubaigy F, Jahangir T, Mahday IA, Mohammed EA, Musa OA. Effect of nigella sativa and bee honey on pulmonary, hepatic and renal function in Sudanese in Khartoum state. J Med Plant Res 2011; 5: 6857-6863.

[29] Vallon V, Rose M, Gerasimova M, Satriano J, Platt KA, Koepsell H, et al. Knockout of Na-glucose transporter SGLT2 attenuates hyperglycemia and glomerular hyperfiltration but not kidney growth or injury in diabetes mellitus. Am J Physiol Renal Physiol 2013; 304: 156-167.

[30] Laustsen C, Ostergaard JA, Lauritzen MH, Norregaard R, Bowen S, Sogaard LV, et al. Assessment of early diabetic renal changes with hyperpolarized [1-(13) C]pyruvate. Diabetes Metab Res Rev. 2013; 29: 125-129.

[31] Zohrabi M, Changizi Ashtiyani S, Hajihashemi S, Hassanpoor A, Hosseini N. The study of 24 h post treatment effects of the aqueous extract of Rosmarinus officinalis after renal ischemia/reperfusion in rat. J Physiol Pathophysiol 2012; 3: 12-19. (Persian).

[32] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979; 95: 351-358.

[33] Al-Shabanah OA, Aleisa AM, Al-Yahya AA, Al-Rejaie SS, Bakheet SA, Fatani AG, Sayed-Ahmed MM. Increased urinary losses of carnitine and decreased intramitochondrial coenzyme A in gentamicin-induced acute renal failure in rat. Nephrol Dial Transplant 2010; 25: 69-76.

[34] Simmons CF, Bogusky RT, Humes HD. Inhibitory effects of gentamicin on renal mitochondrial oxidative phosphorylation. J Pharmacol Exp Ther 1980; 214: 709-715.

[35] Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria oxidative stress and cell death. Apoptosis 2007; 12: 913-922.

[36] Yokouchi M, Hiramatsu N, Hayakawa K, Okamura M, Du S, Kasai A, et al. Involvement of selective reactive oxygen species upstream of proapoptotic branches of unfolded protein response. J Biol Chem 2008 ; 283: 4252-4260.

[37] Cuzzocrea S, Thiemermann C, Salvemini D. Potential therapeutic effect of antioxidant therapy in shock and inflammation. Curr Med Chem 2004; 11: 1147-1162.

[38] Karahan I, Ateşşahin A, Yilmaz S, Ceribaşi AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. Toxicology 2005; 215: 198-204 .

[39] Mohammed Ali NA, Saeed SZ. Nephro-Protective Effect of Punica granatum in Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. Med J Babylon 2012; 9: 220-229.

[40] Kaledaite R, Bernatoniene J, Majiene D, Dvorackova K, Masteikova R, Muselik J, et al. Investigation of antiradical activity of Salvia officinalis L., Urtica dioica L., and Thymus vulgaris L. extracts as potential candidates for a complex therapeutic preparation. J Med Plant Res 2011; 5: 6090-6096.

[41] Sohn EJ, Kang DG, Lee HS. Protective effects of glycyrrhizin on gentamicin-induced acute renal failure in rats. Pharmacol Toxicol 2003; 93: 116-122.

[42] Williams PD, Trimble ME, Crespo L, Holohan PD, Freedman JC, Ross CR. Inhibition of renal Na+, K+-adenosine from renal aminoglycoside accumulation. J Biol Chem 2002; 277: 618-622.

[4] Denamur S, Tyteca D, Marchand-Brynaert J, Van Bambeke F, Tulkens PM, Courtoy PJ, Mingeot-Leclercq MP. Role of oxidative stress in lysosomal membrane permeabilization and apoptosis induced by gentamicin, an aminoglycoside antibiotic. Free Radic Biol Med 2011; 51: 1656-1665.

[5] Morales AI, Detaille D, Prieto M, Puente A, Briones E, Arévalo M, et al. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. Kidney Int 2010; 77: 861-869.

[6] Morales AI, Rodríguez-Barbero A, Vicente-Sánchez C, Mayoral P, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Resveratrol inhibits gentamicin-induced mesangial cell contraction. Life Sci 2006; 78: 2373-2377.

[7] Martínez-Salgado C, Eleno N, Tavares P, Rodríguez-Barbero A, García-Criado J, Bolaños JP, López-Novoa JM. Involvement of reactive oxygen species on gentamicin-induced mesangial cell activation. Kidney Int 2002; 62: 1682-1692.

[8] Derakhshanfar A, Bidadkosh A, Kazeminia S. Vitamin E protection against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats: a biochemical and histopathologic study. Iran J Vet Res 2007; 8: 231-238.

[9] Stojiljković N, Veljković S, Mihailović D, Stoiljković M, Radovanović D, Randelović P. The effect of calcium channel blocker verapamil on gentamicin nephrotoxicity in rats. Bosn J Basic Med Sci 2008; 8: 170-176.

[10] Farombi EO, Ekor M. Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. Food Chem Toxicol 2006; 44: 1443-1448.

[11] Cetinus E, Kilinc M, Inanc F, Kurutas EB, Buzkan N. The role of urtica dioica (urticaceae) in the prevention of oxidative stress caused by tourniquet application in rats. Tohoku J Exp Med 2005; 205: 215-221.

[12] Safamehr A, Mirahmadi M, Nobakht A. Effect of nettle (Urtica dioica) medicinal plant on growth performance, immune responses, and serum biochemical parameters of broiler chickens. Intl Res J Appl Basic Sci 2012; 3: 721-728.

[13] Ziyyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli A, Serhrouchni M, Benjelloun W. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. J Ethnopharmacol 1997; 58: 45-54.

[14] Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. J Ethnopharmacol 2001; 75: 95-115.

[15] Sezik E, Yeşi□lada E, Tabata M, Honda G, Takaishi y, Fujita T, et al. Traditional medicine in Turkey VIII. folk medicine in east anatolia; erzurum, erzi□ncan, a□ri, kars, i□dir provinces. Economic Botany 1997; 51: 195-211.

[16] Guil-Guerreroa JL, Rebolloso-Fuentes MM, Torija Isasa ME. Fatty acids and carotenoids from Stinging Nettle (Urticadioica L.). J Food Comp Anal 2003; 16: 111-119.

[17] Monfared M, Kamkar A, Ghaffari-Khaligh S, Jebelli-Javan A, Asadi F, Akhundzadeh-Basti A. Antioxidative effects of Iranian Urtica dioica L. extracts on the oxidation of sunflower oil. J Med Plants Res 2011; 5: 4438-4445. (Persian).

[18] Riehemann K, Behnke B, Schulze-Osthoff K. Plant extracts from stinging nettle (Urtica dioica), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF-kappaB. FEBS Lett 1999; 442: 89-94.

[19] Testai L, Chericoni S, Calderone V, Nencioni G, Nieri P, Morelli I, Martinotti E. Cardiovascular effects of Urtica dioica L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. J Ethnopharmacol 2002; 81: 105-109.

[20] Mahjoub S, Davari S, Moazezi Z, Qujeq D. Hypolipidemic effects of ethanolic and aueous extracts of Urtica dioica in Rats. World Appl Sci J 2012; 17: 1345-1348.

[21] Golalipour MJ, Ghafari S, Kouri V, Kestkar AA. Proliferation of the β-Cells of pancreasin diabetic rats treated with urtica dioica. Int J Morphol 2010; 28: 399-404.

[22] Moghaddam AH, Nabavi SM, Nabavi SF, Bigdellou R, Mohammadzadeh S, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant, antihemolytic and nephroprotective activity of aqueous extract of Diospyros lotus seeds. Acta Pol Pharm 2012; 69: 687-692.

Archive of SID

www.SID.ir

triphosphatase by gentamicin. J Pharmacol Exp Ther 1984; 231: 248-253.

[43] Levi M, Cronin RE. Early selective effects of gentamicin on renal brush-border membrane Na-Pi cotransport and Na-H exchange. Am J Physiol 1990; 258: 1379-1387.

[44] Gowrisri M, Kotagiri S, Vrushabendra Swamy BM, Archana Swamy P, Vishwanath KM. Anti-oxidant and nephroprotective activities of Cassia occidentalis leaf extract against gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Res J Pharm Biol Chem Sci 2012; 3: 684-694.

[45] Morales AI, Buitrago JM, Santiago JM, Fernández-Tagarro M, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Protective effect of trans-resveratrol on gentamicin-induced nephrotoxicity. Antioxid Redox Signal 2002; 4: 893-898.

[46] Pedraza-Chaverrí J, Barrera D, Maldonado PD, Chirino YI, Macías-Ruvalcaba NA, Medina-Campos ON, et al. S-allylmercaptocysteine scavenges hydroxyl radical and singlet oxygen in vitro and attenuates gentamicin-induced oxidative and nitrosative stress and renal damage in vivo. BMC Clin Pharmacol 2004; 4: 1-13.

[47] Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, Di Paola R, Britti D, et al. role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats. Eur J Pharmacol 2002; 450: 67-76.

[48] Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R, et al. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. Free Radic Biol Med 2003; 35: 317-324.

[49] Zhou Y, Vaidya VS, Brown RP, Zhang J, Rosenzweig BA, Thompson KL, et al. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium. Toxicol Sci 2008; 101: 159-170.

[50] Upaganlawar A, Farswan M, Rathod S, Balaraman R. Modification of biochemical parameters of gentamicin nephrotoxicity by coenzyme Q10 and green tea in rats. Indian J Exp Biol 2006; 44: 416-418.

[51] Ozen T, Korkmaz H. Modulatory effect of Urtica dioica L. (Urticaceae) leaf extract on biotransformation enzyme systems, antioxidant enzymes, lactate dehydrogenase and lipid peroxidation in mice. Phytomedicine 2003; 10: 405-415.

[52] Kanter M, Coskun O, Budancamanak M. Hepatoprotective effects of Nigella sativa L and Urtica dioica L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. World J Gastroenterol 2005; 11: 6684-6688.

[53] Sayhan MB, Kanter M, Oguz S, Erboga M. Protective effect of Urtica dioica L. on renal ischemia/reperfusion injury in rat. J Mol Histol 2012; 43: 691-698.

[54] Khalili M, Kiasalari Z. Anti-inflammatory effect of alcoholic Urtica Dioica extract in male NMRI rats. Koomesh 2006; 7: 197-204. (Persian).

[55] Neugarten J, Aynedjian HS, Bank N. Role of tubular obstruction in acute renal failure due to gentamicin. Kidney Int 1983; 24: 330-335.

Archive of SID

www.SID.ir

Therapeutic effects of *Urtica dioica* methanolic extract on gentamicin induced nephrotoxicity in rats

Mahboobeh Ahmadi (M.Sc)[1] ,Saeed Hajihashemi (Ph.D)[1]*, Ali Chehrei (Ph.D)[2] Nasser Hosseini(M.Sc)[3]
1 – Dept. of Physiology, Arak university of Medical Sciences, Arak, Iran
2 – Dept. of Pathology , Amir al Momenin Hospital, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
3 – Dept. of Medicinal Plants, Arak University, Arak, Iran

(Received: 19 dec 2012; Accepted: 19 Aug 2013)

Introduction: Gentamicin (GD) is an aminoglycoside antibiotic that is used to treat infections with gram-negative bacteria. Due to side effects such as nephrotoxicity, its use is limited. The aim of this study was to evaluate the therapeutic effects of methanolic extract extract of *Urtica dioica* (UD) on GD-induced nephrotoxicity.

Materials and Methods: 32 male Wistar rats weighting between 200-250 g were randomly divided into 4 groups (n = 8 in each group):1- control group received no drug orgentamicin, 2- treatment group with GD (100 mg/kg/d) intraperitoneally for 8 days and distilled water (4 ml/kg) by gavage for two days, 3-treatment group with saline intraperitoneally for 8 days and UD extract (200 mg/kg)for two days, and 4 - treatment group with GD (100 mg/kg/d) intraperitoneally for 8 days and UD extract (200 mg/kg) for two days. On the tenth day, after the last administration, the animals were placed in metabolic cages and urine volume was measured gravimetrically. Following this, the animals were anesthetized, and blood pressure and renal artery blood flow were measured. After that, blood sampls were taken from aorta, and the levels of urea, creatinine, sodium, potassium and osmolality were determined in plasma and also urine samples. Finally, the left kidney was maintained in 10% formalin for histological examination and the right kidney was kept in -20^{o}C for biochemical examination of malondialdehyde (MDA) and the ferric reducing ability of plasma (FRAP) (markers of oxidative stress).

Results: UD extract significantly inhibited GM-induced enhancement of plasma creatinine, BUN, absolute excretion of sodium, fractional excretion of sodium and potassium, and MDA levels. UD extract also restored GM-induced derecment in creatinine clearance, urine osmolarity, renal blood flow and FRAP levels.

Conclusion: This study showed that UD extract likely via the reduction of oxidative stress and anti inflammatory and vasodilatory effects could improve nephrotoxicity induced by gentamicin.

Keywords: Gentamicin, Nephrotoxicity, Urtica dioica, Kidney diseases, Rat

Corresponding author: Fax: +98 863 41735021 Tel: +98 863 4173502
hajihashemi@arakmu.ac.ir

Archive of SID

How to cite this article:
Ahmadi M, Hajihashemi S, Chehrei A, Hosseini N. Therapeutic effects of Urtica dioica methanolic extract on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. koomesh. 2014; 15 (2) :220-231
URL http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a_code=A-10-1851-1&slc_lang=en&sid=1

www.SID.ir