Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۴، شماره۵ (شماره پیاپی ۵۸)، آذر و دی ۱۳۹۰، ۵۲-۴۳

# تاثیر رزمارینیک اسید بر مهار گسترش مزانژال در رت‌های دیابتی: نفرکتومی یک طرفه

**دکتر مجید طوافی[1*]، احمد تمجیدی پور[2]، دکتر علیرضا خلعتبری[3]**

۱- دانشیار، دکترای تخصصی بافت شناسی، گروه علوم تشریح ، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، لرستان ، ایران
۲- مربی، گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، لرستان، ایران
۳- استادیار، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علو پزشکی لرستان،لرستان، ایران

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۸

## چکیده

**زمینه و هدف:** نفروپاتی دیابتی یکی از شایع‌ترین علل رسیدن به مرحله نهایی بیماری کلیوی است. هدف این پژوهش بررسی نقش آنتی اکسیدانی، آنتی دیابتی و ضد التهابی رزمارینیک اسید در مهار نفروپاتی دیابتی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ،۴۰ راس رت نر مورد جراحی نفرکتومی چپ قرار گرفتند.رت‌ها به طور تصادفی به چهار گروه (هر گروه ۱۰ رت) تقسیم شدند. گروه یک کنترل، گروه دوم دیابتی بدون درمان، گروه‌های سوم و چهارم گروه‌های درمانی با رزمارینیک اسید به ترتیب با دوز درمانی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم انتخاب شدند. در گروه‌های دوم، سوم و چهارم با تزریق زیر جلدی آلوکسان دیابت القاء گردید. بعد از ۸ هفته درمان، مالون دی آلدهید سرمی اندازه‌گیری شد. برش‌های پارافینی از کلیه تهیه و به روش پاس رنگ آمیزی گردید. حجم گلومرول، حجم مزانژال داخل گلومرولی و حجم مویرگ گلومرولی با روش‌های استریولوژیک برآورد گردید. اطلاعات به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ و تست ناپارمتری من ویتنی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته ها:** سطح سرمی مالون دی آلدهید در گروه‌های تحت درمان با رزمارینیک اسید به طور معنی‌داری در سطح گروه کنترل حفظ شده بود. هیپرتروفی گلومرولی، گسترش مزانژال و کاهش مویرگ‌های گلومرولی در گروه‌های درمانی با رزمارینیک اسید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان بهبود یافته بود، ولی با سطح این متغیرها در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشت.

**نتیجه گیری:** رزمارینیک اسید می‌تواند هیپرتروفی گلومرولی، گسترش مزانژال و کاهش حجم مویرگ گلومرولی را در رت های دیابتی بهبود بخشد.

**واژگان کلیدی:** اسکلرز گلومرولی، رزمارینیک اسید، مالون دی آلدهید، نفروپاتی دیابتی

***نویسنده مسئول:** خرم آباد. دانشگاه علوم پزشکی لرستان، گروه علوم تشریح

Email: mtavafi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID


**مقدمه**

نفروپاتی دیابتی علت شایع رسیدن به مرحله نهایی بیماری کلیوی (دیالیز و پیوند کلیه) است(۱). نفروپاتی دیابتی یک بیماری پیشرونده است که با تجمع ماتریکس خارج سلولی در مزانژئوم و بافت بینابینی کلیه مشخص شده و به انسداد مویرگ‌های گلومرولی و نارسایی کلیوی منجر می‌گردد(۲). مکانیسم‌های زیادی در خصوص پاتوژنز نفروپاتی دیابتی تاکنون عنوان شده است، که شروع کننده تمامی این مکانیسم‌های آسیب زایی هیپرگلیسمی است. از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها عبارتند از: افزایش فعالیت آنژیوتانسین ۲ (AgII= Angotensin) درون کلیوی که منجر به آسیب زایی در کلیه به ویژه در گلومرول‌ها می‌شود، ایجاد محصولات نهایی گلیکوزیله نوین( Advanced glycation end products =AGEs)، فعال شدن مسیر پلی اول یا مسیر هگزوکیناز، افزایش فعالیت آلدول ردوکتاز، فعال شدن پروتئین کیناز C (Pkc)، افزایش فاکتور رشد شبه انسولینی -۱ ( Insulin like growth factor-1=IGF-)، افزایش سیتوکاین‌هایی مثل فاکتور رشد مشتق از پلاکت( Platelet drived growth factor=PDGF)،فاکتور رشد بافت پیوندی (Connective tissue growth factor=CTGF) و همچنین استرس اکسیداتیو و آسیب حاصل از رادیکال‌های آزاد می‌باشند(۳-۱). علاوه بر این که استرس اکسیداتیو خود عاملی بر ایجاد و پیشرفت نفروپاتی دیابتی است، استرس اکسیداتیو محصول مشترک اکثر مکانیسم‌های آسیب زایی در دیابت بوده و نیز استرس اکسیداتیو می‌تواند سایر مکانیسم‌های آسیب زایی در نفروپاتی دیابتی(AgII ,AGEs,PKC,TGF، PDGF) را تحریک نماید(۸-۴). بنابراین استرس اکسیداتیو به عنوان نقطه کانونی مکانیسم-های آسیب‌زایی در دیابت به شمار می‌رود که بایستی در درمان مورد نظر قرار گیرد. شناخت و کنترل این مکانیسم‌ها راهی برای درمان و مهار پیشرفت نفروپاتی دیابتی است و از طرفی امروزه بیماران بیشتر متمایل به مصرف محصولات طبیعی و داروهای گیاهی هستند(۹).

گیاه رزماری (Rosmarinous officinalis) در طب سنتی در درمان برخی بیماری‌ها نظیر دیابت قندی، بیماری‌های تنفسی، مشکلات معدی و بیماری‌های التهابی به کار میرود. هم اکنون مشخص شده است که این گیاه حاوی مولکول‌های آنتی اکسیدانی چون رزمارینیک اسید، کارنازول و رزماری دیفنول می‌باشد(۱۰، ۱۱). در این بررسی رزمارینیک اسید به لحاظ ویژگی‌های مفیدش جهت مهار نفروپاتی دیابتی به کار رفت، این ویژگی‌ها شامل خواص آنتی اکسیدانتی، ضد التهابی کاهنده فاکتور هسته ای کاپا بتا (NFκB)، افزاینده گلوتاتیون پراکسیداز، فعالیت ضد Bcl-2 و برداشت کننده پراکسی نیتریت می‌باشند(۱۶-۱۰).

هیچ مطالعه‌ای بر تاثیر رزمارینیک اسید در تعدیل استرس اکسیداتیو در نفروپاتی دیابتی در حیوانات آزمایشگاهی صورت نگرفته است.

## مواد و روش‌ها

رت‌های نر از نژاد اسپراگ-داولی ( Sprague_ Dawley) با سن دو ماهه از انستیتو پاستور کرج خریداری شدند و به آنها دو هفته استراحت داده شد تا با محیط جدید سازش پیدا کنند. بعد از سازش حیوانات ۴۰ رت به چهار گروه ۱۰ تایی به طور تصادفی تقسیم شدند. در این مطالعه تجربی تمامی رت‌ها تحت جراحی نفرکتومی طرف چپ(برداشتن کلیه چپ) قرار گرفتند. به دلیل این که ضایعات کلیوی دیابت نسبتاً دیررس هستند، از این رو برای به دست آوردن ضایعات شدیدتر و سریع‌تر و خصوصاً تسریع اسکلروز گلومرولی تمامی حیوانات مورد مطالعه تحت جراحی نفرکتومی یکطرفه واقع شدند(۱۷). کارهای عملی بر اساس مصوبات کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گرفت.

گروه یک به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. یک هفته بعد از جراحی، حیوانات گروه‌های دوم، سوم و چهارم برای ایجاد دیابت آماده شدند. بعد از گرسنگی شبانه ابتدا از حیوانات از طریق دم خونگیری به عمل آمد. هر حیوان با ترازوی الکترونیکی توزین و سپس آلوکسان

www.SID.ir

Archive of SID


تتراهیدرات با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (محلول در آب مقطر) در ناحیه پوست پشت گردن به صورت زیر جلدی تزریق گردید(۱۸).

بیست و چهار ساعت بعد از تزریق آلوکسان بتدریج حیوانات علائم دیابتی شدن را نشان دادند. به طوری که مصرف آب آنها و حجم ادرار آنها زیاد می‌شد و ۳۶ ساعت بعد از تزریق آلوکسان ادرار حیوانات با کاغذهای تست کیفی گلوکز بررسی و وجود قند در ادرار مشخص گردید. برای اطمینان پنج روز بعد از تزریق آلوکسان از این حیوانات آزمایش قند خون به عمل آمد .چون قند خون آنها بیشتر از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر(۱۶/۷ میلی مول بر لیتر) بود، تمامی آنها به عنوان حیوان دیابتی به حساب آمدند. حیوانات درشرایط تاریکی و روشنایی ۱۲/۱۲ ساعت ، دمای ۳±۲۱ درجه سانتی گراد با آب و غذای فراوان نگهداری شدند(۸). در طول تحقیق هیچگونه انسولینی بکار برده نشد. در هر گروه هنگام تطابق با دیابت و سمیت آلوکسان در چند روز اول بعد از تزریق، ۴-۲ رت مردند .حیوانات به مدت ۸ هفته بعد از دیابتی شدن نگهداری شدند.

رزمارینیک اسید از شرکت سیگما- آلدریخ (۹۷ درصد C18H16O8) با وزن مولکولی ۳۶۰/۱۳۱ و شماره محصول ۵۳۶۹۵۴) خریداری گردید.

گروه‌های سوم و چهارم دیابتی تحت درمان با رزمارینیک اسید از روز اول القاء دیابت با دزهای۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم روزانه از دهان و بطریقه گاواژ تحت درمان قرار گرفتند(۱۹). بعد از ۸ هفته حیوانات ابتدا توزین و تحت بیهوشی از قلب خونگیری به عمل آمد. چند قطره از خون جهت تعیین قند خون با گلوکومتر به کار رفت . نمونه خون ۲۰ دقیقه در دمای اتاق حفظ و بعد از ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (۲۰۰۰ دور بر دقیقه) سرم به دست آمده در فریزر نگهداری شد .بعد از خونگیری و بعد از تزریق فیکساتیو در قلب، کلیه حیوان در وضعیت بیهوشی جدا، توزین گشته و بعد از شستشو در محلول فیکساتیو نرمال سالین ۱۰ درصد قرار داده شد.

حدود ۴۸ ساعت بعد از ثبوت کلیه‌ها هر کلیه به اسلایس‌های تقریباً ۱ میلی‌متری (عمود بر محور طولی کلیه) بریده شد. بعد از پردازش بافتی برش‌های پارافینی به ضخامت ۵ میکرون از هر اسلایس تهیه شد. از هر اسلایس یک لام تهیه شد. برش‌ها با روش پریودیک اسید شیف تغییر نکند رنگ آمیزی شدند. جهت برآورد حجمی نواحی متفاوت کلیه از روش شمارش نقطه استفاده گردید.

تصویر میدان دید میکروسکوپ توسط دوربین متصل به میکروسکوپ به کامپیوتر منتقل و از طریق ویدئو پروژکتور به روی پروب (مربع ۱۱× ۱۱ سانتیمتر دارای ۲۲۴ نقطه ترسیم شده روی کاغذ) چسبانده به دیوار تابانده شد. فاصله ویدئو پروژکتور به پروب طوری تنظیم شد تا با استفاده از لنز ۱۰ شیئی بزرگنمایی خطی نهایی ۸۰ باشد. برای محاسبه دانسیته حجمی گلومرول بر کورتکس از هر کلیه تمام لام‌های تهیه شده از اسلایس‌هایش بررسی شدند. با تاباندن تصویر میکروسکوپی میدان دید تصادفی از کورتکس به پروب، اگر گلومرولی در داخل پروب واقع و یا با اضلاع بالا و راست پروب برخورد می‌کرد مورد شمارش نقطه واقع و اگر گلومرولی با اضلاع پایین و چپ پروب برخورد داشت از محاسبه کنار گذاشته می‌شد. در هر لام دو تا سه میدان دید تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع بین ۱۰۰-۷۰ گلومرول برای هر کلیه مورد شمارش نقطه قرار گرفت دانسیته حجمی گلومرول از فرمول زیر برآورد گردید(۲۰، ۲۱).

$$\Sigma / Vv(glom/cortex) = \Sigma Pp$$

$\Sigma Pp$ = مجموع تعداد نقاط که با گلومرول‌ها در n میدان تحت بررسی برخورد داشته‌اند.

$\Sigma Pt$ = مجموع تعداد نقاط پروب در n میدان دید تحت بررسی.

برآورد حجم تام گلومرول‌های کلیه :

جهت برآورد حجم تام گلومرول‌های کلیه نیز از فرمول زیر استفاده شد(۲۰). حجم بر حسب میلی متر مکعب به دست آمد و به جای حجم کلیه (Vkid) وزن آن استفاده شد (۱ گرم = $1cm^3$) (۲۲).

www.SID.ir

Archive of SID


Vtotal(glom/kid) = Vv(glom/cortex) .[ Vkid .Vv(cortex/kid)]

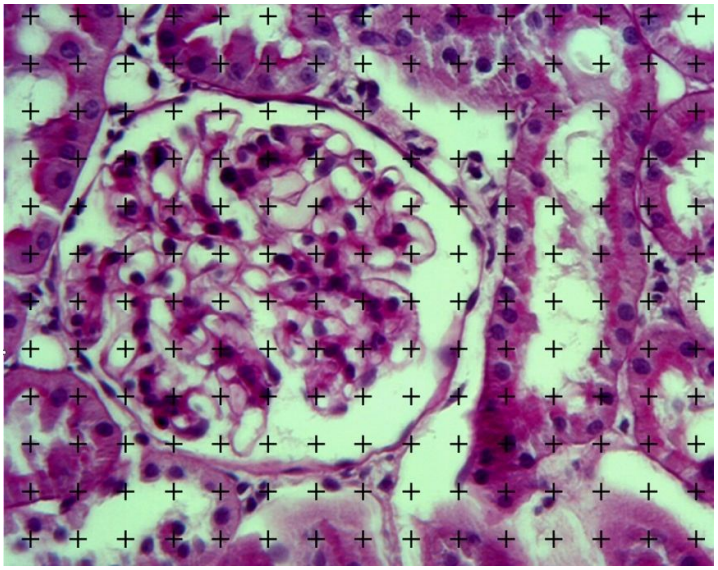
جهت برآورد دانسیته حجمی کورتکس بر کلیه نیز از روش شمارش نقطه استفاده گردید. تمام برش‌های تهیه شده از هر کلیه به کار گرفته شد. چون تصویر تمامی برش کلیه حتی از میدان دید لنز ۴ میکروسکوپ فراتر بود، دوربین بر روی یک لوپ نصب گردید و تصویرمیدان دید به کمک کامپیوتر و ویدئو پروژکتور به یک پروب نقطه(با فاصله نقاط ۶ میلیمتر) تابانده شد در بزرگنمایی خطی ۲۰ برابر نقاط واقع بر کورتکس و نقاط واقع بر تمامی مقطع کلیه شمارش می‌شد. از نسبت نقاط شمرده شده در کورتکس تمام مقاطع مورد بررسی هرکلیه بر نقاط شمرده شده بر تمام مقاطع هر کلیه، دانسیته حجمی کورتکس بر کلیه (Vv(cortex/kid) برآورد گردید.

## برآورد دانسیته حجمی مزانژئوم بر گلومرول

جهت برآورد دانسیته حجمی مزانژئوم برای هر کلیه از هر اسلایس یک لام به کار رفت. از هر کلیه به طور متوسط مقطع ۴۰ گلومرول مورد بررسی قرار گرفت(۲۰). در بزرگنمایی ۲۰۰ میکروسکوپ یک گلومرول تصادفی انتخاب و به کمک دوربین متصل به میکروسکوپ و کامپیوتر تصویر میدان دید میکروسکوپ به زیر یک گرید نقطه ای درشت (با فاصله نقاط ۶ میلی‌متر که بر صفحه پاورپوینت رسم شده بود) منتقل و نقاط برخورد با گلومرول (مویرگ‌ها و مزانژئوم ) شمارش شد و تصویر در زیر پروب نقطه به وضوح دیده می شد(تصویر۱). سپس تصویر همین گلومرول برگرید نقطه‌ای کوچک (با فاصله نقاط ۳ میلی متر بر صفحه پاورپوینت) منتقل و نقاط برخورد با مزانژئوم (ناحیه پاس مثبت درون گلومرول و هسته‌های محصور در این ماتریکس) با رعایت اصول شمارش نقطه شمارش گردید (تصویر۲). دانسیته حجمی مزانژئوم بر گلومرول با فرمول زیر برآورد گردید(۲۳). بزرگنمایی دوربین میکروسکوپ ۲.۴۵ برابر بود

Vv(mes/glom) = FPM / CPG . 4

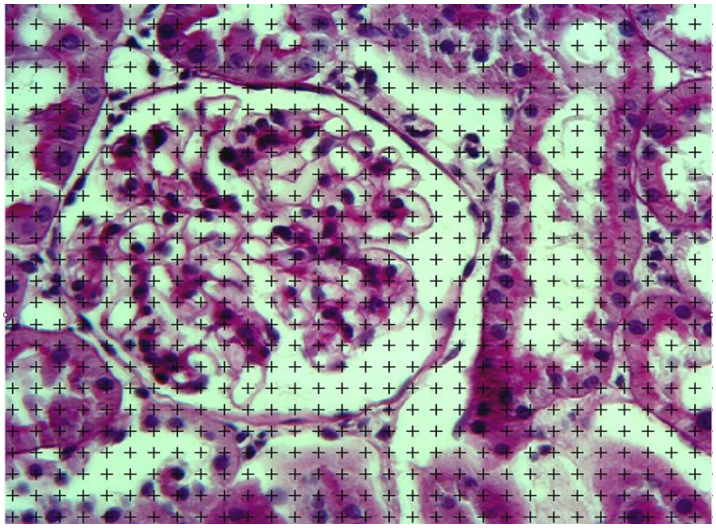
FPM باربر است با که در این فرمول مجموع نقاط کوچک بر خورد کرده با مزانژئوم، CPG بیانگر مجموع تعداد نقاط درشت برخورد کرده با گلومرول‌ها و ۴ نسبت مساحت یک نقطه بزرگ به مساحت یک نقطه کوچک می‌باشد.



**تصویر ۱ قرار گرفتن تصویر میکروسکوپی در زیر یک پروب با فاصله نقاط ۶ میلیمتر را در صفحه پاورپوینت نشان می‌دهد (بزرگنمایی خطی نهایی ۴۸۰ برابر)**

www.SID.ir

Archive of SID

**تصویر ۲ قرار گرفتن تصویر میکروسکوپی در زیر یک پروب با فاصله نقاط ۳ میلیمتر را در صفحه پاورپوینت نشان می‌دهد (بزرگنمایی خطی نهایی ۴۸۰ برابر)**

با حاصل ضرب دانسیته حجمی مزانژئوم در حجم گلومرول‌های کلیه، حجم تام مزانژئوم برآورد گردید.

بر همان تصویرگلومرول افتاده بر گرید نقطه‌ای کوچک (تصویر ۲)، تعداد نقاط واقع بر فضای داخلی مویرگ‌های گلومرولی شمارش گردید و با استفاده از فرمول دانسیته حجمی مزانژئوم بر گلومرول، دانسیته حجمی مویرگ گلومرولی بر گلومرول برآورد شد (به جای FPM مجموع نقاط کوچک واقع بر داخل لومن مویرگ قرار داده شد) و سپس با ضرب آن در حجم گلومرولی کلیه حجم تام مویرگ گلومرولی برآورد گردید.

مالون دی‌آلدهید سرمی به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته شد . مالون دی‌آلدهید با تست تیوباربیتوریک اسید سنجیده شد. جذب ترکیب رنگی مالون دی‌آلدهید-تیوباربیتوریک اسید در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید(۲۴). داده‌ها به دست آمده به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ مورد بررسی قرار گرفت.

## یافته ها

مقایسه قند خون رت‌های گروه‌های مختلف قبل و بعد از دیابتی شدن و هم‌چنین بعد از هشت هفته درمان با رزمارینیک اسید نشان داد که رزمارینیک اسید تأثیر معنی-داری بر کاهش قند خون رتهای دیابتی ندارد(جدول ۱). به علاوه اثر آلوکسان بر افزایش قند خون در رت‌های دیابتی مشخص شد($p<۰/۰۱$).

**جدول ۱ . اثر رزمارینیک اسید بر میزان قند خون در رتهای دیابتی**

| گروه های آزمایشی | تعداد قبل(بعد) از دیابت | قند خون (میانگین± انحراف معیار) قبل از دیابتی شدن | قند خون(میانگین± انحراف معیار) ۵ روز بعد از دیابتی شدن | قند خون(میانگین± انحراف معیار) بعد از ۸ هفته درمان با رزمارینیک اسید |
|---|---|---|---|---|
| کنترل | ۱۰ (۱۰) | ۱۲۰/۸±۸/۴ | ۱۱۵/۶±۵/۵ | ۱۲۴/۸±۴/۱ |
| دیابتی بدون درمان | ۱۰(۶) | ۱۳۵/۲±۳/۱ | * ۴۱۳/۲±۳۳* | ۴۲۵/۶±۵۲/۷* |
| دیابتی+رزمارینیک اسید ۱۰۰ میلی گرم | ۱۰(۸) | ۱۲۸/۴±۶/۸ | * ۴۷۹/۲±۴۰/۴* | ۴۵۶/۵±۳۵/۱* |
| دیابتی+رزمارینیک اسید ۲۰۰ میلی گرم | ۱۰(۸) | ۱۱۲/۲±۷ | * ۳۹۹/۱±۴۱/۸ | * ۳۵۶±۱۲/۱ * |

* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل(P< ۰/۰۱)،# اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابتی بدون درمان P<۰/۰۱

www.SID.ir

Archive of SID


مقایسه مالون دی‌آلدهید در گروه‌های آزمایشی نشان داد که مصرف رزمارینیک اسید توانسته است در گروه‌های دیابتی سوم و چهارم به طور معنی‌داری پراکسیداسیون لیپیدی را در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان مهار نماید و به طور معنی‌داری آن را در سطح گروه کنترل حفظ کند (p<۰/۰۱)(جدول ۲).

مقایسه حجم گلومرولی در کلیه (بر حسب میلی-متر مکعب) در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد، درمان پیش‌گیری با مصرف رزمارینیک اسید در گروه‌های دیابتی سوم و چهارم توانسته است به طور معنی‌داری افزایش حجم گلومرولی (هیپرتروفی گلومرولی) را مهار ولی نتوانسته آن را در سطح کنترل حفظ نماید(p<۰/۰۱)(جدول ۲).

نتایج نشان داد مصرف رزمارینیک اسید جهت پیش‌گیری از نفروپاتی دیابتی به طور معنی‌داری موجب مهار گسترش مزانژال نسبت به گروه دیابتی بدون درمان شده است، ولی نتوانسته است آنرا در سطح گروه کنترل حفظ نماید (p<۰/۰۱) .بین دو دز درمانی تفاوت معنی‌داری در مهار گسترش مزانژال دیده شد(جدول ۲).

مقایسه حجم مویرگ گلومرولی در گروه‌های آزمایشی نشان داد مصرف رزمارینیک اسید فقط در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانسته است به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی بدون درمان کاهش حجم مویرگ گلومرولی را مهار نماید، ولی نتوانسته است آن را در سطح کنترل حفظ نماید(p<۰/۰۱)(جدول ۲) .

**جدول ۲ . اثر رزمارینیک اسید بر میزان مالون دی آلدهید، حجم گلومرولی،حجم مزانژئوم و حجم مویرگ گلومرولی بر کلیه(میانگین± انحراف معیار)**

| گروه های آزمایشی | تعداد | مالون دی آلدهید سرمی (نانومول بر میلی لیتر) | حجم گلومرول ( میلی متر مکعب) | حجم مزانژئوم (میلی متر مکعب) | حجم مویرگ گلومرولی (میلی متر مکعب) | وزن کلیه (گرم) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| کنترل | ۱۰ | ۰/۵۱±٪۱۲ | ۲۳/۷۶±٪۹۹ | ۳/۵۸±۰/۳ | ۲۲/۳۷±٪۹۱ | ۱/۱۶±٪۲۹ |
| دیابتی بدون درمان | ۶ | * ۱/۷۵±٪۲ | * ۵۵/±۳/۴۷ | * ۷/۳۷±۰/۴ | * ۱۶/۳±٪۷۲ | * ۱/۵۱±٪۳ |
| دیابتی+رزمارینیک اسید ۱۰۰ میلی گرم | ۸ | #۰/۶۸±٪۵ | * #۳۰/۷±۱/۶۱ | * #۵/۰۲±۰/۴۷ | * ۱۷/۴۸±۱/۰۳ | # ۱/۱۹±٪۱ |
| دیابتی+رزمارینیک اسید ۲۰۰ میلی گرم | ۸ | # ۰/۵۹±٪۵ | * #۳۳/۵۳±۲/۸۶ | * # ۵/۳۹±۰/۵۱ | * # ۱۸/۹۱±۰/۴۹ | * # ۱/۳۲±٪۲ |

**# اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابتی بدون درمان(P<۰/۰۱)، * اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل(P<۰/۰۱)**

## بحث

این مطالعه جهت بررسی اثر رزمارینیک اسید برحفظ ساختار کلیوی در نفروپاتی دیابتی انجام گرفته است. نظر به چند عاملی بودن مکانیسم آسیب‌زایی در نفروپاتی دیابتی، درمان نگهدارنده بایستی در چندین مکانیسم آسیب‌زایی دخالت کند. از بررسی‌های انجام شده در خصوص مکانیسم آسیب زائی نفروپاتی دیابتی با توجه به اطلاعات امروزی می‌توان گفت به دنبال هیپرگلیسمی استرس اکسیداتیو خود ایجاد ضایعه کلیوی می‌کند، مثلا رادیکال آزاد سوپر اکسید از طریق پراکسیداسیون لیپیدی، فعال کردن فاکتور هسته‌ای کاپا-بتا ، تولید پراکسی نیتریت، فعال کردن پروتئین کیناز سی(Pkc) می‌تواند موجب آسیب کلیوی شود(۷). استرس اکسیداتیو می‌تواند سایر مکانیسم‌ها چون سیستم رنین –آنژیوتانسین، مسیر پولی اول یا مسیر هگزوکیناز، پروتئین کیناز سی (Pkc) و محصولات نهایی گلیکوزیله نوین را فعال کند(۶-۱). مکانیسم‌های آسیب زایی چون سیستم آنژیوتانسین II از طریق ایجاد سوپر اکسید و محصولات گلیکوزیله نهایی با تولید گونه های واکنش اکسیژن از طریق استرس اکسیداتیو ایجاد ضایعه می‌کنند(۱، ۴، ۵، ۷). در این دید نو با بررسی در مکانیسم‌های آسیب‌زایی در نفروپاتی دیابتی می‌توان گفت، استرس اکسیداتیو علاوه بر این که به طور مستقیم ایجاد ضایعه کلیوی می‌نماید رد

www.SID.ir

Archive of SID


پای استرس اکسیداتیو درآسیب‌زائی سایر مکانیسم‌ها دیده شده و استرس اکسداتیو می‌تواند سایر مکانیسم‌ها را تحریک کند.

بررسی حاضر نشان داد که مالون دی‌آلدهید سرمی (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) با مصرف رزمارینیک اسید در هر دو دوز درمانی در دیابتی‌های تحت درمان (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور معنی‌داری استرس اکسیداتیو را مهار و مالون دی‌آلدهید سرمی را در سطح کنترل حفظ نموده است، که این خود از قابلیت بالای آنتی اکسیدانی این ماده می‌باشد.

هم‌چنین این مطالعه اثر معنی‌دار رزمارینیک اسید را در مهار هیپرتروفی گلومرولی در دیابتی‌های تحت درمان نسبت به دیابتی‌های بدون درمان نشان داد. مهار هیپرتروفی گلومرولی نیز با آنتی اکسیدانت هایی چون ویتامین E و آلفا توکوفرول گزارش شده است(۲۶،۲۵).

دیابت موجب تولید بیش از حد ماتریکس مزانژال شده و منجر به گسترش مزانژل (گلومرولواسکلرز) می‌گردد. مصرف رزمارینیک اسید هر چند نتوانسته است حجم مزانژئوم را در سطح گروه کنترل حفظ کند، ولی نسبت به دیابتی‌های بدون درمان تفاوت معنی‌داری را در مهار گسترش مزانژال نشان داد. گزارشاتی است که مصرف ویتامین C، آلفا لیپوئیک اسید، ویتامینE و فرولیک اسید توانسته است اسکلرز گلومرولی را در رت‌های دیابتی تعدیل نماید(۲۹-۲۷) .

در حفظ مویرگ گلومرولی درمان با رزمارینیک اسید فقط در دیابتی‌های تحت درمان با دوز ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری نسبت به دیابتی بدون درمان داشت، هر چند نتوانسته است حجم توده مویرگ گلومرولی را در سطح کنترل حفظ نماید. در بررسی‌های گذشته در خصوص حجم مویرگ گلومرولی در دیابت گزارشی دیده نشد.

علیرغم مهار مالون دی‌آلدهید سرمی، در هیچ‌کدام از متغیرهای مربوط به گلومرول (هیپرتروفی گلومرولی- اسکلرز گلومرولی و حجم مویرگ گلومرولی ) مصرف رزمارینیک اسید نتوانست سطح آن متغیر را در سطح کنترل حفظ نماید.

بر خلاف گزارشات بررسی‌های تجربی زیادی مبنی بر اثر مفید آنتی اکسیدان‌ها بر مهار نفروپاتی دیابتی، شواهدی بر اثر بخشی این ترکیبات در بررسی‌های کلینیکی بر بهبود نفروپاتی دیابتی وجود ندارد و حتی بدتر هم بوده است(۳۰).

مطالعات تجربی نقش استرس اکسیداتیو در شروع و پیشرفت نفروپاتی دیابتی را نشان داده‌اند. در نفروپاتی دیابتی ضایعات ساختاری کلیه سال‌ها قبل از تشخیص با ملاک‌های آزمایشگاهی چون وجودآلبومین در ادرار، فشار خون بالا و کاهش تصفیه گلومرولی صورت می‌گیرد(۳۱). بنابراین دیابتی‌ها نباید انتظار بکشند تا علایم کلینیکی و آزمایشگاهی نفروپاتی دیابتی دیده شود و درمان را شروع کنند بلکه با توجه به نقش استرس اکسیدتیو به عنوان نقش کلیدی در شروع و پیشبرد نفروپاتی دیابتی پیشنهاد می‌شود دیابتی هایی که به نفروپاتی نرسیده اند، به عنوان یک درمان پیش گیرنده و کند کننده پیشرفت نفروپاتی دیابتی از آنتی اکسیدان‌ها استفاده نمایند(۲۹).

نظر به این که اثرات ثانویه هیپرگلیسمی به هیپرگلیسمی دائم وابسته نیست، تنها کنترل گلوکز نمی‌تواند مانع رسیدن به نفروپاتی دیابتی شود(۳۲). حتی با این که مصرف رزمارینیک اسید تاثیر معنی‌داری بر کاهش قند خون رت‌های دیابتی نداشته است، ولی توانسته است هیپرتروفی گلومرولی، گلومرولواسکلرز و کاهش مویرگ گلومرولی را نسبت به دیابتی‌های بدون درمان به طور معنی‌داری بهبود ببخشد. نفرون‌ها قبل از تولد و کمی بعد از تولد ساخته می‌شوند و بعد از آن دیگر نفروژنزی وجود نخواهد داشت. بنابر این با ایجاد ضایعات گلومرولی توان تصفیه‌ای کلیه کاهش و تعداد نفرونها نیز رو به کاهش خواهد گذاشت.

اگر چه جزئیات مولکولی مکانیسم‌های حفاظتی رزمارینیک اسید در مهار نفروپاتی دیابتی نمی‌تواند کاملاً با نتایج ما توضیح داده شود، مصرف این عصاره با خواص

www.SID.ir

Archive of SID


فوق به دیابتی ها به ویژه آنهایی که به نفروپاتی دیابتی نرسیده‌اند، قبل از این که به نفروپاتی دیابتی برسند توصیه می‌گردد.

## نتیجه گیری

مصرف رزمارینیک اسید در رتهای دیابتی به طور معنی‌داری هیپرتروفی گلومرولی ، گسترش مزانژال و کاهش حجم مویرگ گلومرولی را نسبت به دیابتی‌های بدون درمان بهبود می بخشد .

## تشکر و قدر دانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به لحاظ تأمین بودجه مالی این طرح و نیز ریاست و کارکنان مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان صمیمانه قدر دانی می‌گردد.

## منابع

1.Vasavada N, Agarwal R. Role of oxidative stress in diabetic nephropathy. Advances in chronic kidney disease. 2005;12(2):146-54.
2.Kang ES, Lee GT, Kim BS, Kim CH, Seo GH, Han SJ, et al. Lithospermic acid B ameliorates the development of diabetic nephropathy in OLETF rats. European journal of pharmacology. 2008;579(1-3):418-25.
3.Schena FP, Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. Journal of the American Society of Nephrology. 2005;16(3 suppl 1):S30-S33.
4. Stephens JW, Khanolkar MP, Bain SC. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. Atherosclerosis. 2009;202(2):321-9.
5. Rodrigo R, Bosco C. Oxidative stress and protective effects of polyphenols: comparative studies in human and rodent kidney. A review. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 2006;142(3-4):317-27.
6. Choi SW, Benzie IFF, Ma SW, Strain J, Hannigan BM. Acute hyperglycemia and oxidative stress: direct cause and effect? Free Radical Biology and Medicine. 2008;44(7):1217-31.
7. Ha H, Hwang IA, Park JH, Lee HB. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy. Diabetes research and clinical practice. 2008;82:S42-S5.
8. Haidara MA, Mikhailidis DP, Rateb MA, Ahmed ZA, Yassin HZ, Ibrahim IM, et al. Evaluation of the effect of oxidative stress and vitamin E supplementation on renal function in rats with streptozotocin-induced Type 1 diabetes. Journal of Diabetes and its Complications. 2009;23(2):130-6.
9. Al-Qattan K, Thomson M, Ali M. Garlic (Allium sativum) and ginger (Zingiber officinale) attenuate structural nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism. 2008;3(2):e62-e71.
10. Huang S, Zheng R. Rosmarinic acid inhibits angiogenesis and its mechanism of action in vitro. Cancer letters. 2006;239(2):271-80.
11. BakIrel T, BakIrel U, Keles OÜ, Ülgen SG, Yardibi H. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis) in alloxan-diabetic rabbits. Journal of ethnopharmacology. 2008;116(1):64-73.
12. Petersen M, Simmonds MSJ. Rosmarinic acid. Phytochemistry. 2003;62(2):121-5.
13. Lee HJ, Cho HS, Park E, Kim S, Lee SY, Kim CS, et al. Rosmarinic acid protects human dopaminergic neuronal cells against hydrogen peroxide-induced apoptosis. Toxicology. 2008;250(2-3):109-15.
14. Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry. 2008;110(1):76-82.
15. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovascular Diabetology. 2005;4(1):5-9.
16. Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Nabeshima T. A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against

www.SID.ir

Archive of SID


impairment of memory induced by A [beta] 25-35. Behavioural brain research. 2007;180(2):139-45.
17. Bi-Cheng L, Qi C, Dong-Dong L, Jing S, AO P, Xiong-Zhong R, et al. Mechanisms of irbesartan in prevention of renal lesion in streptozotocin-induced diabetic rats. Acta pharmacologica Sinica. 2003;24(1): 67-73.
18. Fernandes NPC, Lagishetty CV, Panda VS, Naik SR. An experimental evaluation of the antidiabetic and antilipidemic properties of a standardized Momordica charantia fruit extract. BMC complementary and alternative medicine. 2007;7(1):29.
19. Makino T, Ono T, Liu N, Nakamura T, Muso E, Honda G. Suppressive effects of rosmarinic acid on mesangioproliferative glomerulonephritis in rats. Nephron. 2000;92(4):898-904.
20. Kim KH, Kim Y, Park HW, Jeong HJ, Mauer M. A re-evaluation of the renal ablation model of progressive renal disease in rats. Journal of nephrology. 2003;16(2):196-202.
21. Gundersen H, Bendtsen T, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. Apmis. 1988;96(1 6):379-94.
22. Woods LL, Ingelfinder JR, Nyengaard JR, Rasch R. Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats. Pediatric research. 2001;49(4):460-7.
23. Drummond K, Mauer M. The Early Natural History of Nephropathy in Type 1 Diabetes. Diabetes. 2002;51(5):1580-7.
24. Afshari AT, Shirpoor A, Farshid A, Saadatian R, Rasmi Y, Saboory E, et al. The effect of ginger on diabetic nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation in rats. Food Chemistry. 2007;101(1):148-53.
25. Kim SS, Gallaher D, Csallany AS. Vitamin E and probucol reduce urinary lipophilic aldehydes and renal enlargement in streptozotocin-induced diabetic rats. Lipids. 2000;35(11):1225-37.
26. Nascimento Gomes G, Barbosa F, Radaeli R, Cavanal M, Mello Aires M, Zaladek Gil F. Effect of D-alpha-tocopherol on tubular nephron acidification by rats with induced diabetes mellitus. Brazilian journal of medical and biological research. 2005;38(7):1043-51.
27. Lee EY, Lee MY, Hong SW, Chung CH, Hong SY. Blockade of oxidative stress by vitamin C ameliorates albuminuria and renal sclerosis in experimental diabetic rats. Yonsei Medical Journal. 2007;48(5):847-55.
28. Winiarska K, Malinska D, Szymanski K, Dudziak M, Bryla J. Lipoic acid ameliorates oxidative stress and renal injury in alloxan diabetic rabbits. Biochimie. 2008;90(3):450-9.
29. Fujita A, Sasaki H, Doi A, Okamoto K, Matsuno S, Furuta H, et al. Ferulic acid prevents pathological and functional abnormalities of the kidney in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty diabetic rats. Diabetes research and clinical practice. 2008;79(1):11-7.
30. Obrosova IG, Fathallah L, Liu E, Nourooz-Zadeh J. Early oxidative stress in the diabetic kidney: effect of DL-[alpha]-lipoic acid. Free Radical Biology and Medicine. 2003;34(2):186-95.
31. Caramori ML, Kim Y, Huang C, Fish AJ, Rich SS, Miller ME, et al. Cellular Basis of Diabetic Nephropathy. Diabetes. 2002;51(2):506-13.
32. Dalla Vestra M, Fioretto P, editors. Diabetic nephropathy: Renal structural studies in type 1 and type 2 diabetic patients. Internatrional Congress Series. 2003;1253: 163–9.

www.SID.ir