

## اثر عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر ساختار هیستولوژیکی کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی

محمد جعفر گلعلی پور<sup>۱\*</sup>، اناه محمد غراوی<sup>۱</sup>، ثریا غفاری<sup>۱</sup>، رامین آذر هوش<sup>۲</sup>، محمد افشار<sup>۳</sup>

### چکیده

مقدمه: از علل مهم مرگ و میر افراد دیابتی، عوارض کلیوی دیابت می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که هیپرگلیسمی سبب تغییرات هیستولوژیکی و مورفومتریک در کلیه می‌شود. این مطالعه به منظور بررسی اثر درمانی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر تغییرات هیستولوژیک و مورفومتریک کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی نر ویستار به سه گروه شاهد، دیابتی و درمانی تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۸۰ mg/kg) در موش‌های گروه دیابتی و درمانی القا شد. در گروه درمانی، پس از دیابتی شدن موش‌ها با استرپتوزوتوسین، به مدت چهار هفته عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گزنه (۱۰۰ mg/kg/day) از طریق تزریق داخل صفاقی داده شد. در پایان هفته پنجم، پس از انجام آزمایش‌ها، کلیه حیوانات در محلول بافر فرمالین فیکس و رنگ‌آمیزی گردید. آنالیز آماری مربوط به داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه انجام گرفت.

یافته‌ها: میانگین گلوکز خون در پایان هفته پنجم در گروه کنترل، دیابتیک و درمانی به ترتیب ۹۹/۴، ۴۵۴/۷ و ۴۴۷/۴ تعیین شد که در گروه درمانی در مقایسه با گروه دیابتی، تغییری نداشت. نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه شاهد، دیابتی و درمانی به ترتیب ۰/۴۲، ۰/۵۱ و ۰/۶۷ بدست آمد ( $P < 0/05$ ). مساحت گلومرول در گروه شاهد، دیابتیک و درمانی به ترتیب ۱۳۳۵/۳، ۱۴۴۱/۸ و ۱۴۷۷/۵۹ میکرومتر مربع تعیین گردید. قطر گلومرول‌ها در گروه دیابتی ۱۶۲/۲ میکرومتر نسبت به گروه‌های شاهد (۱۵۶/۱) و درمانی (۱۵۴/۰۸) افزایش یافت. قطر لوله‌های نزدیک در گروه شاهد و دیابتی و درمانی به ترتیب ۱۴/۳۷، ۱۵/۲۶ و ۱۶/۴۷ میکرومتر تعیین گردید. قطر لوله‌های نزدیک در گروه دیابتیک و درمانی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. نسبت وزن کلیه به بدن، مساحت و قطر گلومرول‌ها، لوله‌های دور و نزدیک در گروه‌های دیابتی و درمانی نسبت به گروه کنترل افزایش داشت. در گروه دیابتی، یافته‌های آسیب شناسی به نفع گلومرولو اسکروز بود. ساختار کلیه در گروه درمانی مانند گروه دیابتی بود و یافته‌های آسیب شناسی به نفع گلومرولو اسکروز بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گزنه، پس از القای دیابت، تأثیری بر شاخص‌های مورفومتریک و هیستوپاتولوژیک نسج کلیه در اثر دیابت ندارد.

واژگان کلیدی: گزنه، دیابت، کلیه، مورفومتری، موش صحرایی

۱- گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۲- گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۳- گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی بیرجند، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

\* نشانی: گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، تلفن: ۴۲۲۱۲۸۹-۰۱۷۱، نمابر: ۴۴۲۱۶۵۷-۰۱۷۱، پست

الکترونیک: mjgolalipour@yahoo.com

## مقدمه

دیابت از شایع‌ترین بیماری‌های غدد اندوکرین می‌باشد. در این بیماری متابولیسمی، عملکرد سایر سیستم‌های بدن به تدریج دچار اختلال می‌شود. عامل اصلی در ایجاد عوارض دیابت، عدم کنترل مناسب قند خون در این بیماری متابولیسمی است [۱].

از آنجایی که عوامل مشابهی در ایجاد عوارض کلیوی و دیگر عوارض دیابت از جمله رتینوپاتی و اختلالات عروق ریز دخیل می‌باشند، مطالعات متعددی بر روی تغییرات کلیه پس از دیابت متمرکز شده است [۱].

بسیاری از داروهای مورد استفاده در بیماری دیابت، علیرغم فواید غیر قابل انکار، دارای اثرات مخرب نیز می‌باشند به همین دلیل استفاده از درمان‌های جایگزین یا مکمل مورد توجه محققان قرار گرفته است [۲]. یک مطالعه نشان داد که بسیاری از بیماران دیابتی، همراه با داروهای کنترل کننده قند خون از دیگر داروها نظیر گزنه نیز استفاده می‌کنند [۳].

تیره گزنه (*Urticaceae*)، شامل گیاهانی است عموماً علفی، چند ساله، به ارتفاع ۸۰-۱۰ سانتی‌متر و بیشتر اعضای هوایی آن پوشیده از کرک قلاب مانند و یا مخروطی شکل می‌باشد [۴]. از واریته‌های مختلف گزنه *Urtica dioica* به عنوان گیاه دارویی از زمان‌های بسیار دور مورد توجه قرار داشته است [۵].

گیاه گزنه در طب سنتی ایران به عنوان داروی کمکی در درمان دیابت معرفی شده است [۴]. همچنین گزنه به عنوان ضد التهاب، کاهنده قند خون، دیورتیک، ضد درد، بی حس کننده موضعی، رفع التهاب پروستات، قاعده آور و رفع اختلال خونی بکار می‌رود [۵]. ترکیبات گزنه شامل، فلاونوئید، ترکیبات هیدروفیلیک نظیر لکتین و پلی ساکاریدها، ترکیبات استروئیدی نظیر استیگومسترون و همچنین موادی نظیر هیستامین، اسید فرمیک، استیل کولین، اسید استیک، اسید بوتیریک، لکوترین، ۵ هیدروکسی تربیتامین است [۶ و ۷].

فعالیت آنتی اکسیدانتی گزنه به دلیل داشتن فلاونوئید می‌باشد. از آنجا که استرس اکسیداتیو یکی از سازوکارهای پاتوفیزیولوژیکی پیشرفت تغییرات هیستولوژیکی کلیه

است [۸]، بنظر می‌رسد گزنه در کنترل تغییرات ساختاری کلیه تأثیر داشته باشد.

مطالعات نشان داده است که در مراحل اولیه هیپرگلیسمی بدنبال تزریق STZ، اندازه کلیه‌ها و گلومرول شدیداً افزایش می‌یابد [۹]. مطالعه‌ای نشان داد که انسولین سبب کاهش اندازه کلیه‌ها و گلومرول‌های کلیه‌های هیپرگلیسمیک می‌گردد اما به اندازه اولیه قبل از بیماری نمی‌رسد [۱۰].

از طرفی مطالعات قبلی نشان داده است که عصاره برگ گیاه گزنه به صورت حفاظتی (مصرف گزنه قبل از ایجاد دیابت)، سبب کاهش گلوکز سرم و افزایش سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس پانکراس می‌گردد [۱۱]. لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر درمانی گیاه گزنه بعد از القای دیابت بر روی ساختار هیستولوژیکی و تغییرات مورفومتریکی کلیه موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

## روش‌ها

### طراحی آزمایش

مطالعه به صورت تجربی بر روی ۳۰ موش صحرایی ویستار به وزن  $50 \pm 170$  گرم از جنس نر که از حیوانخانه دانشکده پزشکی دانشگاه گلستان تهیه شده بود، انجام گرفت. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت گردید. موش‌های صحرایی قبل از نمونه‌گیری حداقل ۱۲ ساعت گرسنه بودند. نمونه‌گیری‌ها تماماً در یک زمان مشخص (۸-۱۰) صبح انجام گرفت. تمامی حیوانات از تغذیه یکسان و شرایط یکسان نور و تاریکی برخوردار بودند. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به سه گروه ده تایی تقسیم شدند:

I- گروه موش‌های شاهد سالم: نمونه‌های این گروه در اولین روز آزمایش، توزین و تست تحمل گلوکز GTT بر روی آنها انجام گرفت. نمونه‌ها تا ۳۶ روز هیچ‌گونه دارویی (STZ و گزنه) دریافت نکردند.

II- گروه موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین: این گروه نیز در روز صفر توزین و GTT شده و با تزریق STZ

نهایی بعد از صاف کردن با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ و تغلیظ کردن تهیه گردید.

### ایجاد هیپرگلیسمی با استرپتوزتوسین و انجام آزمایش‌های پایلوت

جهت ایجاد دیابت، موش‌های صحرایی نر سالم با دوزهای ۵۵، ۶۰، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ mg/kg استرپتوزتوسین (بافر استات یک دهم مولار با  $PH = 4$ ) تحت تزریق داخل صفاقی قرار گرفتند. نمونه خون قبل از تزریق و ۴۸ ساعت بعد از تزریق جمع‌آوری شد. موش‌های صحرایی هیپرگلیسمیک که بیش از دو هفته قند خون بالای ۲۵۰ mg/dl داشتند، به عنوان دیابتی تعیین گردیدند. با توجه به مشاهدات صورت گرفته، دوز مناسب استرپتوزتوسین برای این آزمایش ۸۰ mg/kg داخل صفاقی انتخاب گردید.

### اندازه‌گیری سطح گلوکز خون

برای آزمایش اندازه‌گیری سطح گلوکز خون از گلوکومتر استفاده شد [۱۲]. در این روش، قطره‌ای از خون بالانست زدن به دم حیوان مستقیماً بر روی نوار کاغذی گلوکومتر منتقل و بعد از چند ثانیه، دستگاه غلظت گلوکز خون را برحسب میلی‌گرم در دسی لیتر نشان می‌داد. برای ارزیابی دقت اندازه‌گیری با این روش، میزان گلوکز خون یک موش صحرایی نرمال ۵ مرتبه متوالی اندازه‌گیری شد.

تست تحمل گلوکز داخل صفاقی جهت تعیین روند ترشح انسولین انجام شد. دکستروز در دوز ۲ گرم در هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق و نمونه‌های خونی، در زمان صفر، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه جمع‌آوری و اندازه‌گیری گردید. تست تحمل گلوکز بعد از تزریق گزنه و استرپتوزتوسین و در هفته‌های ۱، ۳ و ۵ انجام گردید [۱۳].

### بررسی‌های هیستوپاتولوژی

پس از انجام آزمایش‌ها، موش‌های صحرایی با کلروفورم بیهوش شده و تشریح گردیدند. پس از تشریح، کلیه‌های آنها خارج شده، در محلول بافر فرمالین فیکس گردید. نمونه‌ها سپس تحت فرایند فرآوری بافتی قرار گرفتند. از

با غلظت ۸۰ mg/kg دیابتی شدند. یک هفته پس از تزریق STZ، تست تحمل گلوکز، جهت اطمینان از دیابتی شدن آنها انجام گرفت.

III- گروه موش‌های درمانی (treatment): موش‌های صحرایی بودند که پس از توزین و GTT اولیه هم‌زمان با گروه دوم با STZ دیابتی شدند و یک هفته پس از تزریق STZ و اطمینان از دیابتی بودن آنها با انجام GTT، به مدت چهار هفته، روزانه گزنه با غلظت ۱۰۰ mg/kg دریافت کردند [۵].

غلظت مؤثر از عصاره گزنه به صورت تازه در هر روز از رقیق کردن عصاره تغلیظ شده با آب مقطر تهیه شد. جهت از بین بردن تفاوت در گروه شاهد، حجم معینی از نرمال سالیین به گروه شاهد تزریق شد.

گلوکز خون تمام موش‌ها در ابتدای مطالعه و در پایان هفته اول، سوم و پنجم اندازه‌گیری، ثبت و آنالیز گردید. داده‌های مربوط به بررسی‌های هیستولوژیکی و داده‌های مربوط به وزن موش‌های صحرایی، وزن کلیه، حجم کلیه، کورتکس، مدولا و نیز مساحت و قطر گلوبومرول‌ها، قطر لوله‌های دور و نزدیک در گروه‌های مختلف جمع‌آوری گردیده و برای آنالیز نتایج به رایانه انتقال داده شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون ANOVA، آنالیز واریانس و آزمون توکی انجام گرفت. ضریب اطمینان مطالعه ۹۵٪ تعیین شد.

### آماده‌سازی عصاره

برگ‌های جمع‌آوری شده از سرشاخ‌های هوایی گیاه در فصل بهار جمع‌آوری گردیده و اسانس گیاهی در واحد مزروعی کشت و داشت و برداشت استان گلستان تهیه گردید. کد هر بار یومی (۱-۷۷-۵) توسط دانشکده داروسازی مازندران تعیین گردید. برای عصاره‌گیری گیاه برگ‌های جمع‌آوری شده در سایه خشک شده، سپس در جریان هوای ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد پودر ریز تهیه گردید. برای عصاره‌گیری روش ماسراسیون به مدت ۷۲ ساعت با هم زدن مداوم انجام گرفت (نسبت حلال با استفاده از محلول هیدرو الکلی ۶۰٪ از اتانل). مایع ژلاتینی

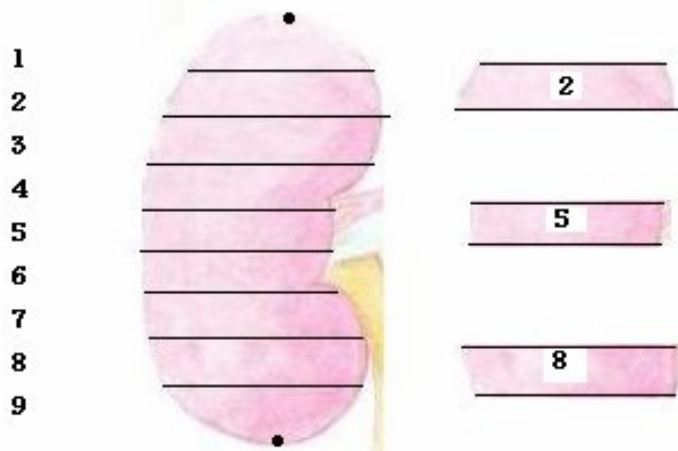
هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی گردید و به دقت شماره گذاری شد (شکل ۱). سپس تصاویر تهیه شده با بزرگ‌نمایی نهایی ۴۰ زیر میکروسکوپ پروجکشن Olympus وارد نرم‌افزار Olysia متصل به رایانه گردید و مساحت کورتکس و مدولا برای هر برش اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب مجموع مساحت برای هر برش و سپس مجموع مساحت کل کورتکس و مدولا برای هر کلیه تعیین گردید. با مشخص شدن مساحت، فاصله بین مقاطع و همچنین برش‌های اول و آخر هر کلیه با قوانین فرمول‌های استرئولوژیکی حجم کل، حجم کورتکس و حجم مدولا تعیین گردید. فرمول مورد استفاده برای حجم به صورت زیر می‌باشد [۱۴ و ۱۵].

هر گروه تعداد ۳ الی ۵ نمونه قالب‌گیری گردید. سپس کلیه‌ها از یک سمت (نقطه شروع) تا پایان با دقت به قطعات یک میلی‌متری تقسیم گردید. به طور میانگین حدود ۱۰-۱۱ قطعه یک میلی‌متری از کلیه‌ها بدست آمد. پس از فرآوری بافتی، تعداد ۱ تا ۳ عدد مقطع بافتی از این قطعات یک میلی‌متری تهیه گردید. اولین مقطع برای تعیین حجم انتخاب گردید. از آنجا که از هر گروه ۱۰ کلیه انتخاب گردید و با تقسیم هر یک از آنها به ۱۰ الی ۱۲ قطعه یک میلی‌متری، بطور متوسط ۱۰۰ قطعه یک میلی‌متری بدست آمد؛ در مجموع با احتساب ۱ الی ۳ مقطع بافتی ۵ میکرونی از هر قطعه، تعداد ۲۰۰ تا ۳۰۰ مقطع بافتی مورد بررسی قرار گرفت. تمامی مقاطع بافتی با روش

$$V = \frac{\sum_{i=1}^m P.a / p.t}{M^2}$$

حجم =  $V$  مساحت =  $P.a$  فاصله بین مقاطع =  $p.t$  بزرگ‌نمایی =  $M^2$

نقطه شروع



نقطه پایان

شکل ۱- مقاطع بافتی کلیه موش‌ها

گردند (شکل ۱). از این قطعات تعداد ۱ تا ۳ برش ۵ میکرونی جدا گردید. هر برش بدست آمده در ۳ ناحیه مورد بررسی قرار گرفت.

سپس از قطعات شماره ۲، ۵ و ۸ که به طور میانگین در محدوده ۱/۳ اولیه، میانی و انتهایی کلیه قرار داشتند، برای بررسی لوله‌های درهم پیچیده دور نزدیک و گلمرول‌ها استفاده گردید تا تقریباً از تمامی نواحی کلیه مقاطع تهیه

## یافته‌ها

میانگین گلوکز خون در پایان هفته پنجم در گروه کنترل، دیابتیک و درمانی به ترتیب ۹۹/۴، ۴۵۴/۷ و ۴۴۷/۴ mg/dl که در گروه درمانی در مقایسه با گروه دیابتی تغییری نداشت. میزان گلوکز سرم خون در گروه شاهد در حد طبیعی بود (جدول ۱).

در گروه کنترل، ساختار گلومرول‌های کلیوی و توبول‌ها و نیز بافت بینابینی و عروق پارانشیمی طبیعی بود. در گروه دیابتی، افزایش خفیف تا متوسط در ماتریکس مزانژیوم در اغلب (۷۵٪) گلومرول‌ها دیده شد. تغییرات به شکل منتشر در هر کدام از گلومرول‌ها ملاحظه و تغییرات فوکال دیده نشد. یافته‌ها به نفع گلومرولو اسکروز بود. ساختار کلیه در گروه درمانی مانند گروه دیابتی بوده و یافته‌های آسیب شناسی به نفع گلومرولو اسکروز بود.

اطلاعات مربوط به وزن موش‌های صحرایی، وزن کلیه، حجم کلیه، کورتکس، مدولا و نیز مساحت و قطر گلومرول‌ها، قطر لوله‌های دور و نزدیک در گروه‌های مختلف در جداول ۲ الی ۴ نمایش داده شده است.

نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه شاهد، دیابتی و درمانی به ترتیب ۰/۴۲، ۰/۵۱ و ۰/۶۷ تعیین شد. نسبت وزن کلیه در سه گروه با استفاده از آزمون آنالیز واریانس معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). در گروه درمانی، این نسبت در مقایسه با گروه دیابتی و گروه شاهد افزایش داشت (جدول ۲).

حجم کورتکس در گروه شاهد و دیابتی و درمانی به ترتیب ۱۶۶/۰۸، ۱۳۹/۶۱ و ۱۴۷/۱۱ میکرومتر مربع تعیین گردید که اختلاف آماری موجود بین دو گروه، به علت تفاوت گروه شاهد با گروه دیابتی بود ( $P < 0/05$ ). همچنین حجم مدولا در ۳ گروه از نظر آماری تفاوت معنی‌دار داشت که این تفاوت ناشی از تفاوت بین گروه دیابتی با شاهد ( $P < 0/01$ ) و درمانی با شاهد ( $P < 0/04$ ) بود (جدول ۳).

در ارتباط با نسبت حجم کورتکس به مدولا، اختلاف آماری بین گروه کنترل با گروه دیابتی و درمانی وجود داشت ( $P < 0/05$ ). مساحت گلومرول در گروه شاهد، دیابتیک و درمانی به ترتیب ۱۳۳۵/۳، ۱۴۴۱/۸۵ و ۱۴۷۷/۵۹ تعیین گردید که اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه دیابتی با گروه شاهد و درمانی وجود داشت ( $P < 0/05$ ).

قطر گلومرول در گروه شاهد و دیابتی و درمانی به ترتیب ۱۵۶/۱۶، ۱۶۲/۲۳ و ۱۵۴/۰۸ میکرومتر تعیین گردید. اختلاف قطر گلومرول در گروه دیابتی در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار ( $P < 0/03$ ) بود (جدول ۴). قطر لوله‌های نزدیک در گروه شاهد و دیابتی و درمانی ۱۴/۳۷، ۱۵/۲۶ و ۱۶/۴۷ میکرومتر تعیین گردید. قطر لوله‌های نزدیک در گروه دیابتیک و درمانی نسبت به گروه شاهد افزایش داشت (جدول ۴).

جدول ۱- میانگین گلوکز خون در موش‌های صحرایی گروه شاهد، دیابتی و درمانی

گروه	گلوکز خون (mg/dl)		
	قبل از تزریق استرپتوزوتوسین	هفته اول	هفته سوم
I شاهد	۸۵±۱	۸۷±۱	۹۰±۲
II دیابتی	۱۰۲±۳	۲۱۴±۲۳	۲۴۳±۳۴**
III درمانی	۹۲±۴	۳۸۸±۱۷	۴۹۶±۲۴**

\*\* تفاوت معنی‌داری بین گروه دیابتی (II)، گروه درمانی تحت تأثیر عصاره گزنه (III) نسبت به گروه شاهد از نظر افزایش گلوکز خون دیده شد ( $P < 0/001$ ).

† مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده‌اند.

جدول ۲- میانگین وزن بدن در ابتدا، هفته‌های اول و پنجم و وزن کلیه و نسبت وزن کلیه به وزن بدن در موش‌های صحرایی گروه شاهد، دیابتی و درمانی (دیابت-گزنه)

گروه	وزن بدن (گرم)	وزن بدن (گرم)	وزن کلیه (گرم)	نسبت وزن کلیه به وزن بدن
(تعداد = ۱۰)	قبل از تزریق استریتوزوتوسین	هفته اول	هفته پنجم	
I شاهد	۲۰۰/۲±۱۳/۴	۲۰۸/۴±۱۲/۳	۲۳۰/۰±۹	۰/۴۲
II دیابتی	۱۳۰/۹±۱۰/۲	۱۲۵/۸±۸/۵	۱۴۴/۷۰±۶/۸	۰/۵۱
III درمانی	۱۲۱/۳±۶/۹	۱۱۵/۲±۶/۵	۱۱۴/۱۰±۶/۷	۰/۶۷

† مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده‌اند.

جدول ۳- میانگین حجم کلیه، حجم کورتکس، حجم مدولا، نسبت حجم کورتکس مدولا و نسبت حجم کلیه به وزن کلیه در موش‌های صحرایی گروه شاهد، دیابتی و درمانی

گروه	حجم کلی کلیه	نسبت حجم کلیه به وزن کلیه	حجم کورتکس	حجم مدولا	نسبت حجم کورتکس به مدولا
(تعداد = ۱۰)	(میکرومتر مکعب)		(میکرومتر مکعب)	(میکرومتر مکعب)	
I شاهد	۳۲۳/۵±۶۶/۵	۳۲۳	۱۶۶±۲۰/۲	۱۲۳/۹±۳۹/۳	۱/۳۴
II دیابتی	۲۵۹±۵۴/۹	۳۵۰	۱۳۹/۶±۳۴/۷	۱۰۶/۲±۴۶	۱/۳۱
III درمانی	۲۶۷±۲۸/۲	۳۴۸	۱۴۷/۱±۱/۲	۸۹/۹±۱۳/۰۱	۱/۶۵

† مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده‌اند.

جدول ۴- میانگین مساحت و قطر گلوبول و قطر لوله‌های در هم پیچیده دور و نزدیک در موش‌های صحرایی گروه شاهد، دیابتی و درمانی

گروه	مساحت گلوبول	قطر گلوبول	قطر لوله نزدیک	قطر لوله دور
(تعداد = ۱۰)	(میکرومتر مربع)	(میکرومتر)	(میکرومتر)	(میکرومتر)
I شاهد	۱۳۳۵/۲±۱۴۵/۲	۱۵۶/۱±۱۱/۴	۱۴/۳±۳	۱۱/۳±۲/۲
II دیابتی	۱۴۴۱/۸±۱۲۷/۲	۱۶۲/۲±۱۱/۲	۱۵/۲±۳	۱۱/۳±۲/۲
III درمانی	۱۴۷۷/۵±۳۴۲/۵	۱۵۴±۲۰/۸	۱۶/۴±۳/۳	۱۱/۳±۲/۴

† مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده‌اند.

## بحث

گلوبول‌ها و لوله‌های نزدیک و دور و وزن و حجم کلیه را در موش‌های دیابتیک با استفاده از انسولین درمانی تعدیل می‌گردد [۱۱، ۱۰]. مطالعه قبلی ما در موش‌های صحرایی دیابتیک نشان داد که تغییرات مورفومتریک ناشی از هیپرگلیسمی در گلوبول‌ها و لوله‌های نزدیک و دور و وزن و حجم کلیه‌ها در موش‌های دیابتیک با استفاده از عصاره گزنه به صورت حفاظتی تعدیل می‌گردد [۱۶]. یکی از دلایل اصلی بزرگ شدن کلیه بدنناال STZ، هیپرپلازی و نه هیپرتروفی سلولی می‌باشد [۱۷]. از سوی دیگر بین قند خون و اندازه کلیه رابطه مستقیم و معنی‌داری وجود دارد [۱۸]. به عبارت دیگر با افزایش قند خون، اندازه و وزن کلیه افزایش می‌یابد. بنابر این می‌توان نتیجه

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز عصاره برگ گزنه به میزان ۱۰۰ mg/kg به مدت چهار هفته (بعد از دیابتی شدن)، از افزایش قند خون در گروه درمانی در مقایسه با گروه دیابتیک نمی‌کاهد و همچنین از تغییرات مورفومتریک ناشی از دیابتی شدن شامل مساحت گلوبول‌ها و قطر لوله‌های نزدیک و حجم کورتکس و مدولا و تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کلیه، جلوگیری نمی‌کند. یافته‌های این مطالعه با نتایج مطالعه کلعلی پور و مطالعه Rasch و همکاران در رت‌های دیابتیک مشابهت ندارد. مطالعه Rasch و همکاران در رت‌های دیابتیک نشان داد که تغییرات مورفومتریک ناشی از هیپرگلیسمی در

و اصولاً بزرگی کلیه در دیابت اغلب تلفیقی از هیپرتروفی و هیپرپلازی لوله‌ای و هیپرپلازی و گسترش فضای بینابینی است که این موارد پاسخی به افزایش فیلتراسیون مایعات و گلوکز و باز جذب فعال آنها می‌باشد [۲۴].

از آنجا که در جریان رشد کلیه در طی دیابت، گلومرول‌ها فقط بخش کوچکی (کمتر از ۱ درصد) از حجم کورتکس را اشغال می‌کنند، لذا بزرگی کلیه بطور غالب وابسته به تغییرات لوله‌ای بینابینی است [۲۴].

مساحت گلومرول‌ها و قطر لوله‌های نزدیک توسط عصاره در گروه درمانی در مقایسه با گروه دیابتی تغییری نداشت اما مساحت گلومرول‌ها و قطر لوله‌های نزدیک با استفاده از عصاره گزنه به صورت حفاظتی در مقایسه با گروه دیابتی تعدیل شده بود [۱۶]. با وجود این، به نظر می‌رسد تجویز عصاره برگ گزنه به میزان ۱۰۰ mg/kg به مدت چهار هفته (بعد از دیابتی شدن)، نتوانست افزایش مساحت گلومرول‌ها و قطر لوله‌های نزدیک را مهار کند.

تحقیقات روی مورفولوژی گلومرول‌ها در دیابت، بیانگر ارتباط مستقیم بین ساختار و عملکرد است که توجه آسیب شناسان ابتدا به افزایش ضخامت غشای پایه جلب شده و سپس تعداد و حجم گلومرولی مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۵].

مهمترین بخش عملکردی آسیب‌پذیر در نفروپاتی، گلومرول‌ها می‌باشد [۲۶، ۲۷]. یکی از سازوکارهای مطرح در افزایش حجم گلومرول، تکامل عروق خونی (مویرگ‌های) جدید است که این عامل پودوسیت‌ها را برای افزایش تعداد زواید جهت همپوشانی مویرگ‌ها تحریک می‌کند. به همین دلیل اندازه و حجم گلومرول و طبعاً حجم کلیه افزایش می‌یابد [۲۸]. کاهش حجم گلومرول پس از درمان بدلیل کاهش تعداد عروق است. همچنین غشای پایه اضافی در گلومرول‌ها و مزانژال جمع می‌گردد [۱۰]. این آسیب در مطالعه حاضر نیز دیده شد. در این مطالعه، عصاره گزنه در گروه درمانی نتوانست از افزایش مساحت و اندازه گلومرول‌ها در مقایسه با گروه دیابتی جلوگیری نماید.

در این مطالعه، همچنین عصاره گزنه بعد از دیابتی شدن موش‌ها، به صورت درمانی و بر خلاف مصرف پیش درمانی عصاره گزنه قبل از دیابتی شدن موش‌ها [۱۶]،

گرفت که دیابت وزن کلیه را افزایش می‌دهد. در این مطالعه همچنین کاهش نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه درمانی در مقایسه با گروه دیابتی وجود داشت.

همچنین افزایش وزن کلیه در رت‌های بالغ و نابالغ دیابتی شده متفاوت است. در رت‌های بالغ، این افزایش به دلیل هیپرتروفی کلیه و در رت‌های نابالغ به دلیل رشد طبیعی کلیه است [۱۹]. هیپرتروفی اولیه کلیوی در رت‌های دیابتیک با چندین عامل از جمله غلظت گلوکز، جریان گلوکز از طریق بخش اکسیداتیو مسیر پنتوز فسفات و همچنین فعالیت دهیدروژناز گلوکز ۶ فسفات، رابطه مستقیمی دارد [۲۰].

در بسیاری از مطالعات صورت گرفته بر روی مدل‌های حیوانی، به دنبال دیابت، افزایش وزن، اندازه و حجم کلیه گزارش گردیده است. البته لازم به ذکر است که این افزایش در مراحل مختلف متفاوت می‌باشد. در مراحل اولیه، افزایش و در مراحل نهایی تر نفروپاتی کلیه، حجم و اندازه و وزن کاهش نشان می‌دهد [۲۱]. بعد از طبیعی شدن قند خون، حجم کلیه کاهش می‌یابد [۲۲]. در مطالعه ما نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه دیابتی و گروه درمانی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت که دلیل بر بزرگ شدن کلیه است. از آنجا که در مطالعه حاضر، گزنه نتوانست قند خون را تعدیل نماید، افزایش وزن کلیه ناشی از دیابت در گروه درمانی در مقایسه با گروه دیابتی و گروه شاهد بالاتر بود. در یک مطالعه [۱۰]، وزن کلیه رت‌ها ده روز بعد از دیابتی شدن افزایش یافت و بعد از درمان با انسولین، وزن کلیه کاهش یافت اما به وزن قبل از دیابت نرسید.

نسبت حجم کورتکس به مدولا در گروه دیابتی کمتر از گروه کنترل و در گروه درمانی بیشتر از گروه کنترل و دیابتی بود. کاهش این نسبت شاید به دلیل مراحل اولیه ایجاد نفرواسکلروز ناشی از دیابت باشد [۲۳] و از سوی دیگر، افزایش مدولا را نشان می‌دهد. این یافته در بیماران دارای فشار خون نیز گزارش شده است که نسبت حجم کورتکس به مدولا کاهش می‌یابد [۲۳].

افزایش حجم مدولا و بالطبع کاهش نسبت کورتکس/مدولا در رت‌های دیابتی، ممکن است به علت افزایش در بافت پارانشیم کلیوی و همچنین افزایش در مجاری و لوله‌ها باشد

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره گیاه به صورت درمانی و بعد از ایجاد دیابت در موش صحرایی فاقد اثرات تعدیل کننده قند خون بوده و نمی تواند از تغییرات مورفومتریکی و هیستوپاتولوژیک کلیه جلوگیری نماید.

### سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان به خاطر حمایت مالی اجرای این مطالعه تشکر و قدردانی می گردد.

نتوانست قطر لوله های نزدیک را نسبت به گروه دیابتی کاهش داده و به گروه شاهد نزدیک نماید. علل تغییرات لوله های در هم پیچیده نزدیک به دنبال دیابت، به طور کامل مشخص نشده است. اما چندین عامل مانند فاکتورهای رشد از جمله فاکتور رشد شبه انسولینی، در آن نقش دارند [۲۹،۳۰]. کاهش فیلتراسیون گلومرولی، مقدار مایع کمتری برای بازجذب وارد لوله ها می نماید [۳۲،۳۱]. علت عدم تأثیر تجویز عصاره برگ گزنه به میزان mg/kg ۱۰۰ به مدت چهار هفته (بعد از دیابتی شدن)، ممکن است ناشی از تخریب شدید سلول های بتا و یا کم بودن دوز استفاده شده در این مطالعه باشد.

### مأخذ

- American Association of Diabetes Educators. Intensive diabetes management: implications of the DCCT and UKPDS. *Diabetes Educ* 2002; 5: 735-40.
- Hunt LM, Arar NH, Akana LL. Herbs, prayer, and insulin: Use of medical and alternative treatments by a group of Mexican-American diabetic patients. *J Fam Pract* 2000; 49: 216-223.
- Ryan EA, Pick ME, Marceau C. Use of alternative medicines in diabetes mellitus. *Diabetes Med* 2001; 18: 242-5.
- Zargari A. *Medicinal plants*, 6<sup>th</sup> ed, Tehran University of Medical Sciences 1375; pp. 401-9.
- Kavalali G, Tuncel H, Goksel S, Hatemi HH. Hypoglycemic activity of *Urtica pilulifera* in streptozotocin-diabetic rats. *Ethnopharmacol* 2003; 84(2-3): 241-5.
- Wagner H, Willer F, Samtleben R, Boos G. Search for the antiprostatic principle of stinging nettle (*Urtica dioica*) roots. *Phytomedicine* 1994; 1: 213-24.
- Emmelin N, Feldberg W. Distribution of acetylcholine and histamine in nettle plants. *New Phytol* 1949; 48: 143-8.
- Feldman EL, Stevens MJ, Greene DA. Pathogenesis of diabetic neuropathy. *Clinic Neurosc* 1997; 4: 365-70.
- Tuttle KR, Lewis JB. Effect of insulin therapy on renal hemodynamic response to amino acids and renal hypertrophy in non-insulin-dependent diabetes. *Kidney International* 1992; 42: 167-73.
- Rasch R, Dorup J. Quantitative morphology of the rat kidney during diabetes mellitus and insulin treatment. *Diabetologia* 1997; 40: 802-9.
- Golalipour MJ, Khori V. The protective effect of the hydroalcoholic extract of *Urtica dioica* leaves on blood glucose concentration and  $\beta$ -cells in hyperglycemic rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences* 2007; 9(1): 7-13.
- Jackson-Guilford J, Leander J D & Nisenbaum L K, The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. *Neurosci Lett* 2000; 91: 293.
- Jalal R, Bagheri SM, Moghimi A, Behnam Rasuli M. Hypoglycemic Effect of Aqueous Shallot and Garlic Extracts in Rats with Fructose-Induced Insulin Resistance. *J Clin Biochem Nutr* 2007; 41(3): 218-223.
- Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, et al. The new stereological tools: Disector, fractionator nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988; 96: 857-81.
- Schmitz A, Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular volume in type 2 (noninsulin-Dependent) diabetes estimated by a direct and unbiased stereologic method. *Lab Invest* 1990; 62(1): 108-13.
- Golalipour M.J., Mohammad Gharravi A., Ghafari S., Azarhoush R. Protective Effect of URTICA DIOICA on renal morphometric and histologic alterations in streptozotocin diabetic Rats. *JBUMS* 2009; 10(6): 8-15.
- Seyer-Hansen K, Hansen J, Gundersen HJ. Renal hypertrophy in experimental diabetes. A morphometric study. *Diabetologia* 1980; 18: 501-5.
- Gotzsche O, Gundersen HJ, Osterby R. Irreversibility of glomerular basement membrane accumulation despite reversibility of renal hypertrophy with islet transplantation in early experimental diabetes. *Diabetes* 1981; 30: 481-5.
- Pette D, Luh WW, Bucher T. Comparable and specific proportions in the mitochondrial enzyme activity pattern. *Biochem. Biophys Res Commun* 1962; 7:419-424.

20. Steer KA, Sochor M, Gonzalez AM, McLean P. Regulation of pathways of glucose metabolism in kidney: specific linking of pentose phosphate pathway activity with kidney growth in experimental diabetes and unilateral nephrectomy. *FEBS Lett* 1982; 150: 494-8.
21. Tuttle KR, Bruton JL, Perusek MC, Lancaster JL, Kopp DT, DeFronzo RA. Effect of strict glycemic control on renal hemodynamic response to amino acids and renal enlargement in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1991; 324: 1626-32.
22. Seyer-Hansen K, Hansen J, Gundersen HJ. Renal hypertrophy in experimental diabetes. A morphometric study. *Diabetologia* 1980; 18: 501-5.
23. Kojima S, Shida M, Tanaka K, Takano H, Yokoyama H, Kuramochi M. Renal macrostructure and cortical circulation in hypertension assessed by dynamic computed tomography. *Am J Hypertens* 2001; 14(6 Pt 1): 516-23.
24. Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in experimental diabetes: A comparison to compensatory hypertrophy. *Diabetologia* 1978; 14: 325-8.
25. Osterby R. Glomerular structural changes in type I [insulin -dependent diabetes mellitus]: causes, consequences and prevention. *Diabetologia* 1992; 35(9): 803-12.
26. Lundbaek K. *Nephropathy in diabetic subjects*. In: Leibel BS, Wrenshall GA. On the Nature and Treatment of Diabetes. Excerpta Media Foundation, Amsterdam 1965. P. 436-46.
27. Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32: 64- 78.
28. Rasch R, Norgaard JO. Renal enlargement: comparative autoradiographic studies of 3H-thymidine uptake in diabetic and uninephrectomized rats. *Diabetologia* 1983; 25: 280-7.
29. Flyvbjerg A, Bornfeldt KE, Marshall SM, Arnqvist HJ, Orskov H. Kidney IGF-I mRNA in initial renal hypertrophy in experimental diabetes in rats. *Diabetologia* 1990; 33: 334-8.
30. Flyvbjerg A, Frystyk J, Marshall SM. Additive increase in kidney insulin-like growth factor I and initial renal enlargement in uninephrectomized-diabetic rats. *Horm Metab Res* 1990; 22: 516-20.
31. Rasch R. Kidney Na, K-ATPase activity in streptozotocin- diabetic rats. *Scan J Clin Lab Invest* 1986; 46: 59-62.
32. Wald H, Scherzer P, Popovtzer. MM Enhanced renal tubular ouabain-sensitive ATPase in streptozotocin diabetes mellitus. *Am J Physiol* 1986; 251:164-70.