

## تأثیر اسانس مرزه خوزستانی (Satureja Khuzestanica) بر مهار تغییرات گلوامرولی در رتهای

### دیابتی - نفرکتومی یکطرفه

مجید طوافی<sup>1</sup>، حسن احمد وند<sup>2</sup>، احمد تمجیدی پور<sup>3</sup>، علیرضا خلعتبری<sup>4</sup>، بهرام دلفان<sup>5</sup>، مهدی بیرجندی<sup>6</sup>

1-استادیار بافت شناسی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

2- استادیار بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

3- مربی آناتومی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

4- استادیار آناتومی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

5- دانشیار فارماکولوژی، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

6- مربی آمار، گروه آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره دوازدهم / شماره 3 / پاییز 89 / مسلسل 45

### چکیده

دریافت مقاله: 89/4/23، پذیرش مقاله: 89/6/21

**\* مقدمه و هدف:** نفروپاتی دیابتی علت شایع رسیدن به مرحله نهایی بیماری کلیوی است. اسانس مرزه خوزستانی برای اولین بار بعنوان آنتی اکسیدان، آنتی دیابت و ضد التهاب در مهار نفروپاتی دیابتی بکار گرفته شد.

**\* مواد و روش ها:** چهل رت نر مورد جراحی نفرکتومی چپ قرار گرفتند. رتها بطور تصادفی به چهار گروه (هر گروه 10 راس) تقسیم شدند، گروه یک کنترل، گروه دوم دیابتی بدون درمان، گروههای سوم و چهارم گروههای درمانی با اسانس مرزه به ترتیب با دوز درمانی 250ppm و 500ppm در آب خوردن. در گروههای دوم، سوم و چهارم با تزریق زیر جلدی آلوکسان دیابت القا گردید. بعد از 8 هفته درمان مالون دی الهید سرمی اندازه گیری شد. برشهای پارافینی از کلیه تهیه و بطریقه پاس رنگ امیزی گردید. حجم گلوامرول، حجم مزانژال داخل گلوامرولی و حجم مویرگی گلوامرولی با روشهای استریولوژیک برآورد گردید. اطلاعات به کمک نرم افزار SPSS13 و تست ناپارا متری من-ویتنی در  $p < 0/05$  مورد مقایسه قرار گرفتند.

**\* یافته ها:** هیپرتروفی گلوامرولی، گسترش مزانژالی و کاهش مویرگهای گلوامرولی در گروههای درمانی با اسانس مرزه خوزستانی بطور معنی داری در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان مهار شده بود ولی با سطح این متغیرها در گروه کنترل تفاوت معنی داری داشت. سطح سرمی مالون دی آلدئید در گروههای تحت درمان بطور معنی داری در سطح گروه کنترل حفظ شده بود ( $p < 0/05$ ).

**\* بحث و نتیجه گیری:** اسانس مرزه خوزستانی بطور معنی داری ( $p < 0/05$ ) میتواند هیپرتروفی گلوامرولی، گسترش مزانژالی را مهار و حجم مویرگ گلوامرولی را در رتهای دیابتی حفظ نماید.

**\* واژه های کلیدی:** نفروپاتی دیابتی، اسانس مرزه خوزستانی، هیپرتروفی گلوامرولی، گسترش مزانژالی و استرس اکسیداتیو

آدرس مکاتبه: خرم آباد، کیلو متر 3 جاده خرم آباد - بروجرد، مجتمع پردیس دانشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی،

دانشکده پزشکی گروه علوم تشریح

پست الکترونیک: mtavafi@yahoo.com

## مقدمه

است که مواد موثره در گیاهان زمانی بیشترین تاثیر را خواهد داشت که بصورت عصاره بوده و با هم بکار میروند (9).

مرزه خوزستانی (*Satureja Khozestanica*) گیاه بومی ایران است که بطور وسیعی در بخشهای شمالی کشور گسترش دارد. این گیاه متعلق به جنس *satureja* و خانواده *Lamiaceae* بوده و در طب سنتی این گیاه به عنوان ضد درد و ضد عفونت معروف است (10). این گیاه در غرب و جنوب کشور نیز دیده میشود.

به لحاظ خواص آنتی اکسیدانی-آنتی دیابتی-آنتی هیپرلیپیدمی (11) و ضد التهابی اسانس مرزه خوزستانی (12) برای اولین بار اثر این اسانس در مهار نفروپاتی دیابتی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

رت های نر از نژاد *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 40 رت به چهار گروه 10 تایی تقسیم شدند. تمامی رتها تحت جراحی نفرکتومی طرف چپ (برداشتن کلیه چپ) قرار گرفتند. بدلیل اینکه ضایعات کلیوی دیابت نسبتاً دیررس هستند از این رو برای بدست آوردن ضایعات شدیدتر و سریعتر و خصوصاً تسریع اسکروز گلومرولی تمامی حیوانات مورد مطالعه تحت جراحی نفرکتومی یکطرفه واقع شدند (13). کارهای عملی بر اساس مصوبات کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گرفت.

نفروپاتی دیابتی علت شایع رسیدن به مرحله نهایی بیماری کلیوی (دیالیز و پیوند کلیه) است (1). نفروپاتی دیابتی یک بیماری پیشرونده است که با تجمع ماتریکس خارج سلولی در مزانژئوم وبافت بینابینی کلیه مشخص شده و به نارسایی کلیوی منجر می گردد (2). مکانیسمهای زیادی در خصوص پاتوژنز نفروپاتی دیابتی تاکنون عنوان شده است که شروع کننده تمامی این مکانیسمها آسیب زایی هیپر گلیسمی است. مهمترین این مکانیسمها عبارتند از: افزایش فعالیت آنژیوتانسین 2<sup>1</sup> ( $AgII$ ) درون کلیوی که منجر به آسیب زایی در کلیه بویژه در گلومرولها میشود، ایجاد محصولات نهایی گلیکوزیله نوین<sup>2</sup> ( $AGEs$ )، فعال شدن مسیر پلی اول یا مسیر هگزو کیناز، افزایش فعالیت الدول ردوکتاز، فعال شدن پروتئین کیناز C ( $PKC$ )، افزایش فاکتور رشد شبه انسولینی-1 ( $IGF-1$ )<sup>3</sup>، افزایش سیتو کاینهای چون  $TGF-B^4$ ,  $PDGF^5$ ,  $CTGF^6$ - استرس اکسیداتیو و آسیب حاصل از رادیکالهای آزاد (3-1). علاوه بر اینکه 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 ( $AgII$ ,  $TGF$ ,  $PKC$ ,  $AGEs$  و  $PDGF$ ) را تحریک نماید (4-8). بنابر این استرس اکسیداتیو بعنوان نقطه کانونی مکانیسمهای آسیب زایی 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. امروزه بیماران متقاضی محصولات طبیعی و داروهای گیاهی هستند و مشخص شده

1-Angotensin II  
2-Advanced glycation end products  
3-Insulin like growth factor-1  
4-Transforming growth factor- $\beta$   
5-Platelet driven growth factor  
6-Connective tissue growth factor

حیوانات به چهار گروه 10 تایی تقسیم شدند. 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 هر حیوان با ترازوی الکترونیکی توزین و سپس آلوکسان تتراهیدرات با دوز 100 mg/kg (محلول در آب مقطر) در ناحیه پوست پشت گردن بصورت زیر جلدی تزریق گردید (14).

بیست و چهار ساعت بعد از تزریق آلوکسان بتدریج حیوانات علائم دیابتی شدن را نشان می دادند. بطوریکه مصرف آب آنها و حجم ادرار آنها زیاد شد و 36 ساعت بعد از تزریق آلوکسان ادرار حیوانات با کاغذهای تست کیفی گلوکز بررسی و وجود قند در ادرار اثبات گردید. برای اطمینان پنج روز بعد از تزریق آلوکسان از این حیوانات آزمایش قند خون به عمل آمد. چون قند خون آنها بیشتر از 300 mg/dl (16/7 mmol/l) بود تمامی آنها به عنوان حیوان دیابتی به حساب آمدند (8).

حیوانات در شرایط تاریکی و روشنایی 12/12 ساعت، دمای  $3 \pm 21$  درجه سانتی گراد با آب و غذای فراوان نگهداری شدند. 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 2 تا 4 رت مردند. حیوانات به مدت 8 هفته بعد از دیابتی شدن نگهداری شدند.

تهیه اسانس مرزه: عمل اسانس گیری در مرکز تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گردید. بخشهای هوایی گیاه مرزه کشت شده در خرم آباد در فصل گلدهی جمع آوری گردید. بخشهای هوایی گیاه در سایه خشک شده و به مدت 5 ساعت در دستگاه کلونجر تقطیر شد. روغن بدست آمده بر روی سولفات سدیم بدون آب آگیری و محصول در دمای 4 درجه نگهداری شد.

گروههای سوم و چهارم دیابتی تحت درمان با اسانس مرزه از روز سوم القای دیابت با دزهای 250ppm و 500 ppm در آب خوردن (11) به ترتیب تحت درمان بودند. بعد از 8 هفته حیوانات ابتدا توزین و تحت بیهوشی از قلب خونگیری بعمل آمد. نمونه خون 15 دقیقه در دمای اتاق حفظ و بعد از سانتریفوژ سرم آمده در فریزر -70 درجه سانتیگراد نگهداری شد. بعد از خونگیری و بعد از تزریق فیکساتیو از طریق تزریق، قلب و کلیه حیوان در وضعیت بیهوشی جدا و بعد از شستشو در محلول فیکساتیو فرمال سالین قرار داده شد.

از مطالعات بافتی: بعد از حدود 48 ساعت بعد از ثبوت کلیه ها هر کلیه توسط تیغ تیزی اسلابسهای تقریباً 1 میلیمتری (عمود بر محور طولی کلیه) تهیه شد. بعد از پردازش بافتی برشهای پارافینی به ضخامت 5 میکرون از هر اسلایس تهیه شد. از هر اسلایس دو لام تهیه شد. برشها با روش PAS (پریودیگ اسید شیف) رنگ آمیزی شدند. جهت برآورد حجمی نواحی متفاوت کلیه از روش شمارش نقطه استفاده گردید.

برروی کاغذ یک مربع  $11 \times 11$  سانتی متری رسم و در داخل این مربع نقطه (Plus) طراحی شد یعنی یک پروب  $11 \times 11$  با 224 نقطه تهیه شد.

برآورد دانسیته حجمی گلومرول بر کورتکس کلیه: توسط دوربین متصل به میکروسکوپ تصویر به کامپیوتر منتقل و از طریق ویدئو پروژکتور به روی پروب چسبانده به دیوار تابانده میشد. فاصله ویدئو پروژکتور به پروب طوری تنظیم شد تا با استفاده از لنز 10 شیئی بزرگنمایی خطی 80 باشد. برای محاسبه  $Vv(\text{glom}/\text{cortex})$  (دانسیته حجمی گلومرول بر کورتکس). از هر کلیه لامهای تهیه شده از تمام اسلایسهایش بررسی شدند. با تاباندن تصویرنواحی تصادفی از

جهت برآورد دانسیته حجمی مزانژئوم برای هر کلیه از هر اسلایس یک لام بکار رفت. از هر کلیه بطور متوسط مقطع 40 گلومرول مورد بررسی قرار گرفت (15). در بزرگنمایی 400 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 6 میلی متر که بر صفحه پاور پوینت رسم شده بود) منتقل و نقاط برخورد با گلومرول شمارش می شد، سپس روی همین گلومرول گرید نقطه ای کوچک (با فاصله نقاط 3 میلی متر) منتقل و نقاط برخورد با مزانژئوم (ناحیه پاس مثبت درون گلومرول) با رعایت اصول شمارش نقطه شمارش گردید. دانسیته حجمی مزانژئوم بر گلومرول از فرمول شماره 3 برآورد گردید (18).

$$Vv(\text{mes}/\text{glom}) = \text{FPM} / \text{CPG} \times 4$$

فرمول شماره (3).

$\text{FPM} =$  مجموع نقاط کوچک بر خورد کرده با مزانژئوم .  
 $\text{CPG} =$  مجموع تعداد نقاط درشت برخورد کرده با گلومرول ها .  
 (4) = نسبت مساحت یک نقطه بزرگ به مساحت یک نقطه کوچک) .

با حاصل ضرب دانسیته حجمی مزانژئوم در حجم گلومرولهای کلیه، حجم تام مزانژئوم برآورد گردید. بر همان تصویر گلومرول افتاده بر گرید نقطه ای کوچک، تعداد نقاط واقع بر فضای داخلی مویرگهای گلومرولی شمارش گردید و با استفاده از فرمول شماره 3 دانسیته حجمی مویرگ گلومرولی بر گلومرول برآورد (به جای FPM مجموع نقاط کوچک بر خورد کرده با مویرگ قرار داده شد) و سپس با ضرب آن در حجم گلومرولی کلیه حجم تام مویرگ گلومرولی برآورد گردید. مالون دی آلدیید سرمی به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته شد. مالون دی آلدیید

کورتکس به پروب اگر گلومرولی با اضلاع پروب برخورد می کرد آنهایی که با اضلاع بالا و راست پروب برخورد می کرد مورد شمارش نقطه واقع و اگر گلومرولی با اضلاع پایین و چپ پروب برخورد داشت از محاسبه کنار گذاشته می شد. در هر لام دو تا سه میدان دید تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع بین 70 تا 100 گلومرول برای هر کلیه مورد شمارش نقطه قرار گرفت (15).

دانسیته حجمی گلومرول از فرمول شماره 1 برآورد گردید (15 و 16).

$$\sum P_t / V_v(\text{glom}/\text{cortex}) = \sum P_p$$

(فرمول شماره 1)

$$\sum P_p =$$

مجموع تعداد نقاط که با گلومرولها در n

میدان تحت بررسی برخورد داشته اند .

$$\sum P_t =$$

مجموع تعداد نقاط پروب در n میدان دید تحت

بررسی .

برآورد حجم تام گلومرولهای کلیه :

جهت برآورد حجم تام گلومرولهای کلیه از فرمول شماره 2 استفاده شد (15). حجم بر حسب میلی متر مکعب بدست می آید .

$$V_{\text{total}}(\text{glom}/\text{kid}) =$$

(فرمول شماره 2)

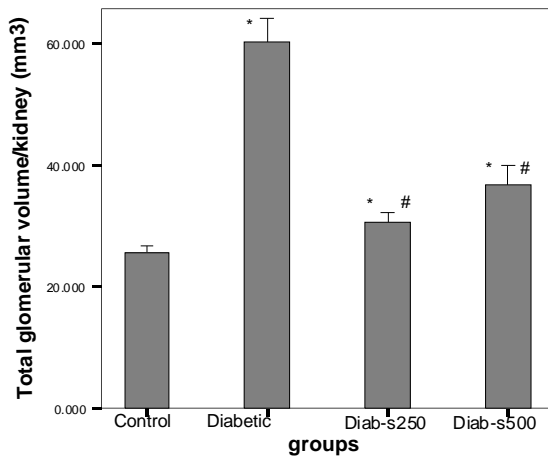
$$V_v(\text{glom}/\text{cortex}) \times [V_{\text{kid}} \cdot V_v(\text{cortex}/\text{kid})]$$

به جای حجم کلیه (Vkid) وزن آن استفاده شد

(یک گرم = یک سانتیمتر مکعب) (17).

جهت برآورد دانسیته حجمی کورتکس بر کلیه  $V_v(\text{cortex}/\text{kid})$  نیز از روش شمارش نقطه استفاده گردید (استفاده از یک لوپ که روی آن یک ترانسپرنسی واجد نقطه بود و لام روی آن قرار گرفته و هنگام دیدن نقاط واقع بر کورتکس و مقطع کلیه شمارش میشد، نسبت نقاط شمرده شده در کورتکس بر نقاط شمرده شده بر تمام مقطع دانسیته حجمی کورتکس بر کلیه را برآورد میکنند) .

مقایسه میانگین حجم گلومرولی در کلیه (بر حسب میلیمتر مکعب) در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد درمان با مصرف اسانس مرزه در گروه‌های دیابتی سوم و چهارم توانسته است بطور معنی داری افزایش حجم گلومرولی (هیپرتروفی گلومرولی) را مهار ولی نتوانسته آنرا در سطح کنترل حفظ نماید (نمودار 2).



نمودار شماره 2- مقایسه میانگین حجم تام گلومرولی در هر کلیه (بر حسب میلیمتر مکعب) در گروه‌های مورد مطالعه Diabetic = دیابتی های بدون درمان ، Diab-S250 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 250 ppm ، Diab-S500 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 500 ppm در آب خوردن . \*  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کنترل ، #  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان.

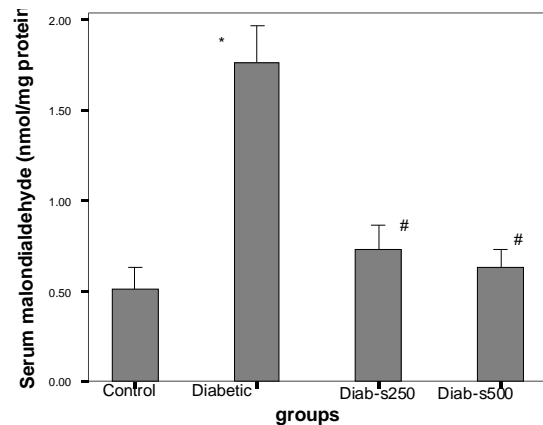
نتایج نشان می‌دهد مصرف اسانس مرزه جهت پیش گیری از نفروپاتی دیابتی بطور معنی داری موجب مهار گسترش مزانژال نسبت به گروه دیابتی بدون درمان شده است ولی نتوانسته است آنرا در سطح گروه کنترل حفظ نماید . بین دو دز درمانی تفاوت معنی داری در مهار گسترش مزانژال دیده نمیشود (نمودار 3).

مقایسه حجم مویرگ گلومرولی در گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد مصرف اسانس مرزه تنها در دوز 500 ppm توانسته است بطور معنی داری نسبت به گروه دیابتی بدون درمان کاهش

با تست اسید تیوباربیتوریک سنجیده شد. جذب ترکیب رنگی مالون دی آلدئید-اسید تیوباربیتوریک در طول موج 532 نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گیری گردید (11-19) . اطلاعات کمی بدست آمده به کمک نرم افزار SPSS13 مورد بررسی قرار گرفت . بررسی معنی دار بودن اختلاف میانگینهای هر متغیر با آزمون Mann-Withney و  $P < 0/05$  (فاصله اطمینان 95%) بررسی شد و نتایج بصورت نمودار ارائه گردید .

### یافته ها :

مقایسه مالون دی آلدئید در گروه‌های آزمایشی نشان می‌دهد که مصرف اسانس مرزه نتوانسته است در گروه‌های دیابتی سوم و چهارم در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان بطور معنی داری پراکسیداسیون لیپیدی را مهار نماید و بطور معنی داری آنرا در سطح گروه کنترل حفظ کند(نمودار 1) .



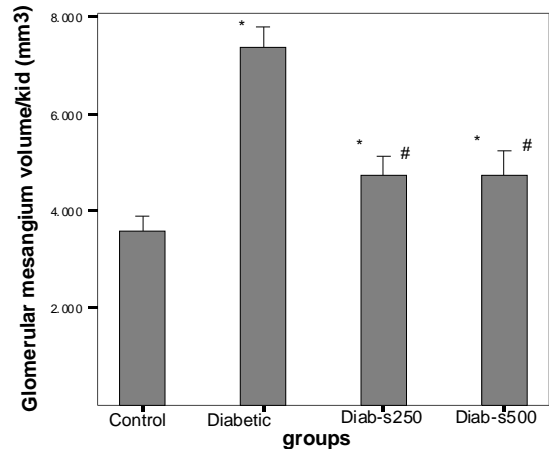
نمودار شماره 1- مقایسه میانگین مالون دیآلدئید سرمی(شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) . در گروه‌های مورد مطالعه Diabetic = دیابتی های بدون درمان ، Diab-S250 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 250 ppm ، Diab-S500 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 500 ppm در آب خوردن . \*  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کنترل ، #  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان.

## بحث و نتیجه گیری :

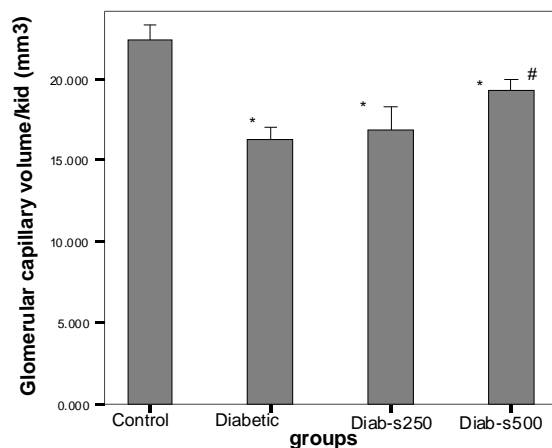
این مطالعه جهت بررسی اثر اسانس گیاه مرزه خوزستانی بر حفظ ساختار کلیوی در نفروپاتی دیابتی انجام گرفته است. نظر به چند عاملی بودن مکانیسم آسیب زایی در نفروپاتی دیابتی، درمان نگهدارنده بایستی در چندین مکانیسم دخالت کند. از بررسی های انجام شده در خصوص مکانیسم آسیب زائی نفروپاتی دیابتی با توجه به اطلاعات امروزی میتوان گفت استرس اکسیداتیو خود بدنبال هیپر گلیسمی ایجاد ضایعه کلیوی میکند. مثلاً رادیکال آزاد سوپر اکسید از طریق پراکسیداسیون لیپیدی، فعال کردن فاکتور هسته ای کاپا-بتا (7)، تولید پراکسی نیتريت، فعال کردن پروتئین کیناز C موجب آسیب کلیوی می شود. استرس اکسیداتیو میتواند سایر مکانیسمها چون سیستم رنین-آنژیوتانسین، مسیر پولی اول، پروتئین کیناز C و محصولات نهایی گلیکوزیله نوین را فعال کند. (6-1). مکانیسمهای آسیب زائی چون سیستم آنژیوتانسین II از طریق ایجاد سوپر اکسید (1,5,7) و محصولات گلیکوزیله نهایی با تولید گونه های واکنش اکسیژن (4) از طریق استرس اکسیداتیو ایجاد ضایعه میکنند. بواقع در این دید نو با بررسی در مکانیسمهای آسیب زائی در نفروپاتی دیابتی میتوان گفت استرس اکسیداتیو علاوه بر اینکه بطور مستقیم ایجاد ضایعه کلیوی مینماید رد پای استرس اکسیداتیو در آسیب زائی سایر مکانیسمها دیده شده و استرس اکسیداتیو میتواند سایر مکانیسمها را تحریک کند.

بررسی حاضر نشان میدهد که مالون دی الدهید سرمی (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) با مصرف اسانس مرزه در هر دو دوز درمانی در دیابتی های تحت درمان (500ppm و 500ppm در آب خوردن) بطور معنی داری استرس اکسیداتیو را مهار و مالون دی الدهید سرمی را در سطح کنترل حفظ

حجم مویرگ گلومرولی را مهار نماید ولی نتوانسته است آن را در سطح کنترل حفظ نماید (نمودار 4).



نمودار شماره 3- مقایسه میانگین حجم تام مزانژوم در هر کلیه (بر حسب میلیمتر مکعب) در گروههای مورد مطالعه. Diabetic = دیابتی های بدون درمان، Diab-s250 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 250 ppm، Diab-s500 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 500 ppm در آب خوردن. \* P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل، # P<0.05 در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان.



نمودار شماره 4- مقایسه میانگین حجم تام مویرگ گلومرولی در هر کلیه (بر حسب میلیمتر مکعب) در گروههای مورد مطالعه. Control = گروه کنترل، Diabetic = دیابتی های بدون درمان، Diab-s250 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 250 ppm، Diab-s500 = دیابتی های تحت درمان با اسانس مرزه 500ppm در آب خوردن. \* P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل، # P<0.05 در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان.

نموده است که این خود از قابلیت بالای آنتی اکسیدانی این اسانس میباشد .

مطالعه ما اثر معنی دار اسانس مرزه در مهار هیپر تروفی گلومرولی را در دیابتی های تحت درمان نسبت به دیابتی های بدون درمان نشان میدهد. مهار هیپرتروفی گلومرولی نیز با کاربرد عصاره سیر، جینگر (9)، جینکو (20) و نیز با کاربرد آنتی اکسیدانت هایی چون ویتامین E و آلفا توکوفرول گزارش شده است (21 و 22).

دیابت موجب تولید بیش از حد ماتریکس مزانژال شده و منجر به گسترش مزانژل (گلومرولواسکلروز) میگردد. مصرف همیشه سبز (*lindera* (Ever green spice bush) *strychnifolia* (23)، عصاره برگ گیاه ستاره کره ای *Aster koraiensis* (24) و مصرف ویتامین C، اسیدآلفا لیپوئیک، ویتامین E (25-26) و اسید فولیک (27) توانسته است اسکروز گلومرولی را در رتهای دیابتی مهار نماید.

بررسی ما مهار کاهش حجم توده مویرگ گلومرولی را در ppm 500 اسانس مرزه نشان میدهد. هر چند نتوانسته است حجم توده مویرگ گلومرولی را در سطح کنترل حفظ نماید ولی نسبت به دیابتی بدون درمان تفاوت معنی داری نشان میدهد. در بررسی های گذشته گزارشی در خصوص حجم مویرگ گلومرولی در دیابت دیده نشد.

علیرغم مهار مالون دی الدهید سرمی (90%)، در هیچکدام از متغیرهای مربوط به گلومرول (هیپرتروفی گلومرولی، اسکلرز گلومرولی و حجم مویرگ گلومرولی) مصرف اسانس مرزه نتوانست سطح آن متغیر را در سطح کنترل حفظ نماید ولی نسبت به دیابتی های بدون درمان تفاوت معنی داری نشان میدهد.

جزء اصلی اسانس مرزه کارواکرول (*Carvacrol*) بوده (28) و سایر ترکیبات چون فلاونوئیدها، تری ترپنوئیدها،

استروئیدها و تاننها نیز در این گیاه گزارش شده است (29). کارواکرول و فلاونوئیدها دارای خواص آنتی اکسیدانتی هستند (30-28).

بر خلاف گزارشات بررسی های تجربی زیادی مبنی بر اثر مفید آنتی اکسیدانها بر مهار نفروپاتی دیابتی، شواهدی بر اثر بخشی این ترکیبات در بررسیهای کلینیکی در بهبود نفروپاتی دیابتی وجود ندارد و حتی بدتر هم بوده است (31).

مطالعات تجربی نقش استرس اکسیداتیو در شروع و پیشرفت نفروپاتی دیابتی را نشان داده اند. در نفروپاتی دیابتی ضایعات ساختاری کلیه سالها قبل از تشخیص ملاکهای آزمایشگاهی چون آلبومینوریا، فشار خون بالا و کاهش تصفیه گلومرولی صورت میگردد (32). بنابر این دیابتی ها نباید انتظار بکشند تا علائم کلینیکی و آزمایشگاهی نفروپاتی دیابتی دیده شود و درمان را شروع کنند بلکه با توجه به نقش استرس اکسیدتیو بعنوان نقش کلیدی در شروع و پیشبرد نفروپاتی دیابتی (27) پیشنهاد میشود دیابتی هایی که به نفروپاتی نرسیده اند بعنوان یک درمان پیش گیرنده و کند کننده پیشرفت نفروپاتی دیابتی از آنتی اکسیدانها استفاده نمایند. نظر به اینکه اثرات ثانویه هیپر گلیسمی به هیپر گلیسمی دائم وابسته نیست تنها کنترل گلوکز نمیتواند مانع رسیدن به نفروپاتی دیابتی شود (33). باید دانست که نفرونها قبل از تولد و کمی بعد از تولد ساخته می شوند و بعد از آن دیگر نفروژنزی وجود نخواهد داشت. بنابر این با ایجاد ضایعات گلومرولی توان تصفیه ای کلیه کاهش و تعداد نفرونها نیز رو به کاهش خواهد گذاشت.

علاوه بر اثرات مفید آنتی اکسیدانی، آنتی دیابتی، ضد التهابی و ضد هیپرلیپیدمی اسانس مرزه و اینکه تستهای سمیت و تراژوژنی بی ضرر بودن این عصاره را تایید نموده اند (11) و تهیه این اسانس در حجم بالا و قیمت پایین امکان پذیر است.

اگر چه جزئیات مکانیسمهای حفاظتی اسانس مرزه خوزستانی در مهار نفروپاتی دیابتی نمیتواند کاملاً با نتایج ما توضیح داده شود، مصرف این اسانس با خواص فوق به دیابتی ها بویژه آنهایی که به نفروپاتی دیابتی نرسیده اند قبل از اینکه به نفروپاتی دیابتی برسند توصیه میگردد.

اسانس مرزه خوزستانی میتواند در مهار نفروپاتی دیابتی بعنوان پیشگیری موجب کاهش پیشرفت

هیپرتروفی گلومرولی، کاهش گسترش مزانزالی شود و از کاهش حجم مویرگ گلومرولی جلوگیری نماید.

### تشکر و قدر دانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، ریاست و کارکنان مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی لرستان صمیمانه قدر دانی میگردد.

## References

1. Vasavada N and Agarwal R. Role of Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 2005;12(2) : 146-154.
2. Kang ES, Lee GT, Kim BS, Kim CH, Seo GH, Han SJ, et al. Litospermic acid B ameliorates the development of diabetic nephropathy in OLETF rats. *European journal of Pharmacology*. 2008;79:418-425.
3. Shena F and Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Journal of American Society of Nephrology* . 2005;16(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; 202:321-329.
5. Rodrigo R and Bosco C. Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. A review. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2006 ;142 :317 – 327.
6. Choi SW, Benzie IF, Ma SW, Strain JJ, Hannigan BM. Acute hyperglycemia and oxidative stress :Direct cause and effect? *Free Radical Biology & Medicine*. 2008; 44:1217-1231.
7. Ha H, Hwang IA, Park JH, Lee HB. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetic Research and Clinical Practice*. 2008; 82: S42-S45.
8. Haidara MA, Mikhailidis DP, Rateb MA, Ahmed ZA, Yassin HZ, Ibrahim IM and Rashed LA. Evaluation of the effect of oxidative stress and vitamin E supplementation on renal function in rat with streptozotocin-induced type 1 diabetes. *J Diabetes and its Complications*. 2009; 23(2):130-136.
9. Qattan KA, Thomson M, Muslim A . Garlic (*Allium Sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) attenuate structural nephropathy Progression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*. 2008;3: 62-71.
10. Zargari A, *Medicinal Plants*. 4th ed. Tehran University Publications, Tehran, 1990; pp.42-45. (In Persian)
11. Abdollahi A, Salehnia AN, Mortazavi HR, Ebrahimi M, Shafiee A, Fouladian H, et al. Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproductive stimulatory properties and safety of essential oil of *Satureja Khuzistanica* in rat *in vivo* . *Medical Science Monitor*. 2003; 9(9):331-335.
12. Amanlou M, Dadkhah F, Salehnia A and Farsam H. An anti-inflammatory and antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad extract. *Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Science*. 2005; 8(1): 102-106.
13. Liu BC, Chen Q, Luo DD, Sun J, Phillips AO, Ruan XZ and Liu NF. Mechanisms of irbesartan in prevention of renal lesion in streptozotocin induced diabetic rats. *Acta Pharmacol Sin*. 2003;24(1):67-73.
14. Fernandes NP, Lagishetty CV, Panda VS and Naik SR. An experimental evaluation of the antidiabetic and antilipidemic properties of a standardized *Momordica charantia* fruit extract. *Gournal of*

- Complementary Alternative Medicine. 2007; 24;7:29.
15. Kim K, Youngki K, Hye p, Hyeon J and Mauer M. A re-evaluation of the renal ablation model of progressive renal disease in rats. *Journal of nephrology* .2003;16:196-202.
  16. Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Miller A and Nielsen K. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pharmacologica, Microbiologica et Immunologica* . 1988; 96: 379-394.
  17. Woods L, Ingelfinder J, Nyengaard J and Rasch R. Maternal Protein Restriction Suppresses the Newborn Renin-Angiotensin System and Programs Adult Hypertension in Rats. *Pediatric Research* . 2001;9:60-467 .
  18. Drummond K, and Mauer M .The Early Natural History of Nephropathy in Type 1 Diabetes II. Early Renal Structural Changes in Type 1 Diabetes. *Diabetes* . 2002;51:1580-1587.
  19. Afshari AT, Shirpoor A, Farshid A, Saadatian R, Yousef R, Saboory E, et al . The effect of ginger on diabetic nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation in rats. *Food Chemistry*. 2007;101 :148–153.
  20. Welt K, Weiss J, Martin R, Hermsdorf T, Drews S, Fitzl G, Ginkgo biloba extract protects rat kidney from diabetic and hypoxic damage. *Phytomedicine*. 2007; 4(2-3):96-203.
  21. Kim SS, Galaher DD, Csallany AS. Vitamin E and probucol reduce urinary lipophilic aldehydes and renal enlargement in streptozotocin –induced diabetic rats. *Lipids* . 2000;35(11):1225-37.
  22. Nascimento GG, Barbosa FT, Radaeli RF, Cavanal MF, Mello AM and Zaladek GF. 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.
  23. Ohno T, Takemura G, Murata I, Kagawa T, Akao S, Minatoguchi S, et al, Water extract of the root of *Lindera strychnifolia* slows down the progression of diabetic nephropathy in db/db mice. *Life Sciences* .2005;77: 1391–1403
  24. Sohn E, Kim J, Kim CS, Kim YS, Jang DS, Kim J.S. Extract of the aerial parts of *Aster koraiensis* reduced development of diabetic nephropathy via anti-apoptosis of podocytes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010;391 (1): 733-38.
  25. 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):847-855.
  26. Winarska K, Malinska D, Szymanski K, Dudziak M and Bryla J. Lipoic acid ameliorates oxidative stress and renal injury in alloxan diabetic rabbits. *Biochemic* . 2008; (3):50-9 .
  27. 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.

- Diabetic Research and Clinical Practice. 2008;79:11-17.
28. Farsam H, Amanlou M, Radpour MR, Salehinia AN, Shafiee A. Composition of the essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzistanica* Jamzad from Iran. *Flavour Frag Journal*. 2004;19,308–10.
29. Moghaddam FM, Farimani MM, Salahvarzi S, Amin G. Chemical constituents of dichloromethane extract of cultivated *Satureja Khuzistanica*. *Evid Based Complementary Alternative Medicine*. 2007;4:95–8.
30. Hazzit M, Baaliouamer A, Falerio MI and Miguel MG. Composition of the essential oil of *tymus* and *origanum* species from Algeria and their anti oxidant and antimicrobial activities. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2006; 54(17):6314-21.
31. Obrosova II, 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;34:186-195.
32. Caramori ML, Kim Y, Huang C, Fish AJ, Rich SS, Miller ME, et al. Basis of diabetic nephropathy: Study design and renal structure –functional relationship in patient with long standing type I diabetes. *Diabetes* 2002;51:506-513.
33. Vestra MD, Fioretto P. Diabetic nephropathy: renal structural studies in type 1 and type 2 diabetic patients. *International Congress Series*. 2003;1253: 163–169.