اثرات محافظتی عصاره گیاه مریم‌گلی در برابر نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین در رت

سعید چنگیزی آشتیانی[۱]*؛ مصطفی جعفری[۲]؛ هوشنگ نجفی[۳]؛ محبوبه احمدی[۱]

چکیده

زمینه: تجمع داخل سلولی آمینوگلیکوزیدهای تجویز شده در کورتکس کلیه باعث ایجاد نفروتوکسیسیتی می‌شود. هدف این مطالعه، بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی برگ‌های گیاه مریم گلی در برابر سمیت کلیوی القاشده توسط جنتامایسین بود.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر رت نر از نژاد اسپراگ-دالی و دامنه وزنی ۳۰۰-۲۰۰ گرم به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۱- کنترل، ۲- شاهد که نرمال سالین به‌مدت یک هفته داخل صفاقی تزریق می‌شد، ۳- گروهی که جنتامایسین (۸۰ میلی‌گرم بازای هر کیلو وزن در روز) به‌مدت یک هفته داخل صفاقی تزریق می‌شد (GEN)، ۴- گروه دریافت‌کننده عصاره مریم‌گلی (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن در روز) بعلاوه جنتامایسین با دوز ۸۰ میلی‌گرم (GEN+SO 50) و ۵- گروه دریافت‌کننده عصاره مریم‌گلی (۱۰۰ میلی گرم بازای هر کیلو وزن در روز) به‌علاوه جنتامایسین با دوز ۸۰ میلی‌گرم (GEN+SO 50) تقسیم شدند. در طول ۶ ساعت آخر دوره، جهت جمع‌آوری ادرار، رت‌ها به قفس متابولیک انتقال می‌یافتند و در انتهای آن پس از بیهوشی عمیق با تیوپنتال، نمونه خون از آئورت گرفته می‌شد و کلیه چپ جهت بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو خارج می‌شد. آنالیز آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه صورت گرفت.

یافته‌ها: میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) که توسط جنتامایسین کاهش یافته بود به‌طور نسبی توسط مصرف عصاره مریم‌گلی بهبود پیدا کرد که منجر به کاهش غلظت کراتینین و اوره- نیتروژن پلاسما گردید. به‌علاوه، در گروه‌های GEN+SO میزان دفع نسبی سدیم و پتاسیم کاهش یافت و دفع مطلق پتاسیم زیاد گردید. همچنین میزان استرس اکسیداتیو که توسط جنتامایسین افزایش یافته بود توسط مصرف عصاره مریم‌گلی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: عصاره مریم‌گلی دارای اثرات محافظت‌کنندگی در برابر آسیب‌های کلیوی ایجادشده توسط جنتامایسین می‌باشد که احتمالاً بواسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است. اما تحقیقات بیشتر برای شناخت مکانیسم دقیق اثر آن لازم است.

کلیدواژه‌ها: جنتامایسین، مریم‌گلی، استرس اکسیداتیو، سمیت کلیوی.

«دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۲۴»

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک

۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اراک

۳. مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

* **عهده‌دار مکاتبات:** اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۰۸۶۱-۴۱۷۳۶۳۹

E-mail: dr.ashtiyani@arakmu.ac.ir

مقدمه

جنتامایسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های قدرتمند مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی و گرم مثبت می‌باشد، اما استفاده از آن به‌دلیل نفروتوکسیسیتی وابسته به دوز محدود شده است (۱). گرچه اکثر آمینوگلیکوزیدها پس از تجویز توسط کلیه‌ها دفع می‌شوند، اما تقریباً ۱۰-۵ درصد دوز دارو در کورتکس کلیه تجمع می‌یابد و به‌مدت طولانی پس از قطع دارو در آن‌جا باقی می‌ماند (۲). نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین نیز به وضوح با تجمع دارو در بخش پیچ‌دار

توبول پروکزیمال (Proximal convoluted tubule: PCT) مرتبط است که سبب شماری از تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک می‌شود (۳). تجمع داخل سلولی جنتامایسین می‌تواند از چندین راه سبب آپوپتوز و نکروز سلول‌های اپیتلیال توبول پروکزیمال (Proximal Tubule Epithelial Cells: PTECs) شود (۴). باور بر این است که توکسیسیتی ناشی از جنتامایسین عمدتاً به‌دلیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS)، پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و آسیب DNA می‌باشد (۷-۵). به‌همین دلیل اکثر تحقیقات برای جلوگیری از نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین بر روی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف متمرکز شده است (۸).

امروزه درمان‌های گیاهی مانند استفاده از مکمل‌ها و عصاره گیاهانی که غنی از پلی‌فنول‌ها خصوصاً فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی هستند در سراسر جهان معمول شده است. زیرا نشان داده شده که ترکیبات فنولی دارای اثرات محافظت‌کنندگی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن بوده و نیز سیستم آنتی‌اکسیدان بدن را تقویت می‌کنند (۱۱-۹). یکی از این گیاهان که از دیرباز در طب سنتی کاربرد داشته است گیاه مریم‌گلی با نام علمی Salvia Officinalis می‌باشد که متعلق به خانواده Lamiaceae بوده و دارای حدود ۹۰۰ گونه است (۱۲ و ۱۳). نشان داده شده که برگ‌های گیاه مریم‌گلی داری خواص متعددی از جمله ضد باکتریایی (۱۴)، ضد ویروسی (۱۵)، کاهنده قندخون (۱۶)، ضد موتاسیون (۱۷)، ضد التهاب (۱۸) و ضد استرس اکسیداتیو (۱۹ و ۲۰) می‌باشد که برخی از این اثرات درمانی به‌واسطه داشتن فلاونوئیدهای مهمی از جمله اسید کارنوزیک، اسید رزمارینیک، اسید کافئیک و اسید سالویانولیک می‌باشد (۲۳-۲۱). بنابراین، با توجه به مکانیسم نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه مریم‌گلی، این تحقیق با هدف بررسی اثرات محافظت‌کنندگی عصاره هیدروالکلی برگ این گیاه در برابر نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین انجام شد.

مواد و روش‌ها

۱- نحوه تهیه عصاره

گیاه مریم‌گلی از مزرعه گیاهان دارویی دانشگاه اراک تهیه شد و برگ‌های خشک‌شده آن توسط مخلوط‌کن آسیاب گردید. سپس ۶۰ گرم از پودر حاصل به‌منظور عصاره‌گیری به همراه ۳۰۰ میلی‌لیتر الکل اتانول ۸۰ درصد به‌مدت ۷۲ ساعت در دستگاه عصاره‌گیری (Soxhlet apparatus) قرار گرفت. آنگاه محلول استخراج‌شده فیلتر شد و توسط Rotavapor در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و ۱۵۰ دور در دقیقه تحت تبخیر قرار گرفت به‌گونه‌ای وزن نهایی عصاره به ۳/۵ گرم رسید (۱۹).

۲- پروتکل آزمایش

این تحقیق تجربی بر روی ۴۰ سر رت نر از نژاد Sprague-Dawley و در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۰۰ گرم انجام شد و در طی انجام آن کلیه کدهای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت مراعات گردید. همه حیوان‌های مورد آزمایش در محدوده دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد، شرایط محیطی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگه‌داری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به ۵ گروه (n=8) تقسیم شدند. در گروه کنترل، حیوانات طی مدت آزمایش هیچ‌گونه حامل یا دارویی دریافت نمی‌کردند. اما گروه شاهد ۰/۵ میلی‌لیتر نرمال‌سالین را روزانه به‌صورت داخل صفاقی به‌مدت ۷ روز دریافت کردند. گروه بعدی، گروه جنتامایسین (GM) بود. این گروه، جنتامایسین شرکت البرز را با دوز ۸۰mg/kg/day,ip و همچنین ۰/۵ میلی‌لیتر نرمال‌سالین به‌عنوان حامل دارو به‌مدت ۷ روز به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه چهارم پروتکلی شبیه گروه جنتامایسین داشت به‌علاوه اینکه عصاره گیاه مریم‌گلی

(SO) را نیز با دوز ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، هر ۲۴ ساعت به‌صورت داخل صفاقی به‌مدت ۷ روز دریافت کردند [(GM+SO (50]، گروه آخر نیز عصاره گیاه را با دوز ۱۰۰mg/kg/day به‌صورت داخل صفاقی به‌مدت ۷ روز دریافت کردند [(GM+SO (100]. عصاره گیاه هر روز یک ساعت بعد از تزریق جنتامایسین به‌صورت داخل صفاقی تجویز شد. بعد از تجویز آخرین نوبت عصاره گیاه مریم‌گلی و جنتامایسین، همه حیوانات فوراً به‌صورت جداگانه در قفس‌های متابولیک به‌منظور جمع‌آوری ادرار ۶ ساعته قرار داده شدند و پس از جمع‌آوری نمونه ادرار، با استفاده از تزریق داخل صفاقی تیوپنتال (۵۰mg/kg ip) حیوانات بیهوش و نمونه‌های خون از آئورت شکمی تهیه گردید. سپس کلیه چپ به‌منظور اندازه‌گیری توانایی آنتی‌اکسیدانی/احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی (FRAP) و میزان مالون دی آلدئید (MDA) که حاصل پروکسیداسیون لیپیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن است خارج شد و پس از فریز آنی در دمای ۲۰°C- نگه‌داری گردید. غلظت سدیم، پتاسیم، اوره- نیتروژن و کراتینین در نمونه‌های ادراری و پلاسمای جمع‌آوری‌شده اندازه‌گیری شد و سپس مقادیر دفع مطلق و نسبی سدیم و پتاسیم به‌منظور بررسی عملکرد کلیه‌ها و کلیرانس کراتینین (CCr) به‌عنوان معیاری از میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) محاسبه گردید.

۳- اندازه‌گیری پارامترهای مورد بررسی

اندازه‌گیری غلظت کراتینین و اوره-نیتروژن پلاسما با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Technicon, RA-1000 - امریکا) انجام گردید. جهت اندازه‌گیری غلظت سدیم و پتاسیم نمونه‌های پلاسمایی و ادراری از دستگاه Easy lyte (medica, USA) استفاده شد و با استفاده از فرمول‌های مربوطه، مقادیر کلیرانس کراتینین (CCr) و دفع مطلق و نسبی سدیم و پتاسیم محاسبه گردیدند. جهت بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو، مقادیر MDA و FRAP در نمونه‌های بافتی کلیه‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید (MDA) بافت کلیه از روش ohkawa استفاده شد (۲۴). بعد از جدا کردن کلیه و وزن کردن آن، بافر فسفات به نسبت ۱ به ۱۰ (W/V) به آن اضافه شد و سپس به‌وسیله هموژنایزر هموژنیزه گردید. آنگاه اسید استیک ۲۰ درصد، تیوباربیتوریک اسید ۰/۸ درصد، سولفات دئودودسیل سدیم ۸/۱ درصد و عصاره بافتی به همه لوله‌های آزمایش اضافه شد. لوله‌های حاوی سوسپانسیون بافتی فوق به‌مدت ۶۰ دقیقه به‌وسیله بن ماری در دمای ۹۵ درجه گرما داده شدند. پس از انجام واکنش، کمپلکس صورتی رنگی تشکیل شد که توسط ان-بوتانل خارج شد و جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jane way) در طول موج ۵۲۳nm اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست‌آمده برحسب نانومول بر گرم وزن کلیه (nmol/gKW) گزارش شدند.

اندازه‌گیری توانایی آنتی‌اکسیدانی/احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی (FRAP) یکی از رایج‌ترین روش‌های ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی تام محسوب می‌شود. این روش بر اساس توانایی مایعات بافتی در احیای یون‌های فریک (Fe3+) به یون فرو (Fe2+) در حضور ماده‌ای به نام تری پریدیل-S- تریازیدین (TPTZ) استوار است و روش Benzie & Strain جهت سنجش FRAP مورد استفاده قرار گرفت (۲۵). برای این کار ابتدا معرف FRAP تازه تهیه شد که حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱۰ میلی‌مولار TPTZ در اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار به اضافه ۲/۵ میلی‌لیتر از FeCl3 و ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۳ مولار با PH=۳ بود. آنگاه عصاره بافتی به محلول فوق اضافه و به دمای ۳۷°C رسانده شد. مقادیر FRAP با اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۵۹۳nm محاسبه گردید. نتایج به‌دست‌آمده بر حسب میکرومول بر گرم وزن کلیه (µmol/gKW) گزارش شدند.

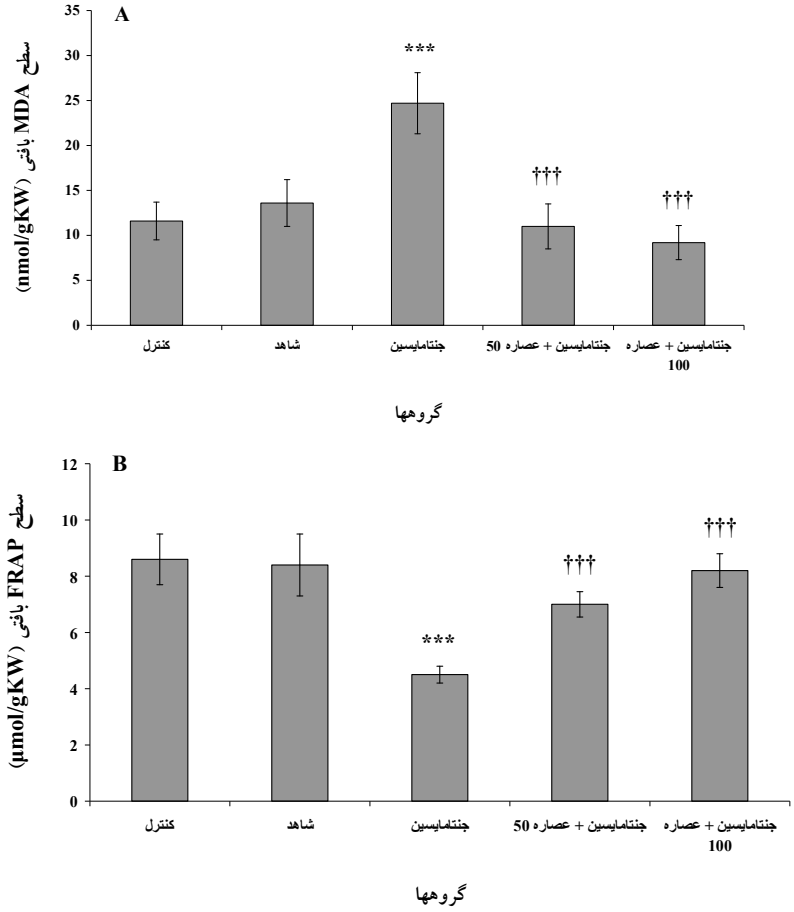
۴- آنالیز آماری

نتایج به‌صورت میانگین±خطای معیار (mean±SE) ارایه شده‌اند. آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن تست دانکن جهت مقایسه بین‌گروهی تمام پارامترهای اندازه‌گیری‌شده و یا محاسبه‌شده مورد استفاده قرار گرفت و برای تعیین میزان دقیق P از تست LSD استفاده گردید. تمام داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS 18 مورد آنالیز قرار گرفتند و P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

۱- اثر به‌کارگیری عصاره گیاه مریم‌گلی بر میزان استرس اکسیداتیو

میزان MDA، FRAP و تمام پارامترهای عملکردی کلیه‌ها در گروه کنترل، تفاوت معناداری با مقادیر آن‌ها در گروه شاهد نشان نداد. بنابراین هیچ‌کدام از تغییرات مشاهده‌شده در گروه‌های تحت آزمایش نمی‌تواند ناشی از پروتکل آزمایش باشد. جنتامایسین باعث شد مقدار MDA بافتی حدود ۸۰ درصد نسبت به مقدار آن در گروه شاهد افزایش پیدا کند (P<۰/۰۰۱) (شکل A-۱).



شکل ۱-مقایسه میانگین میزان مالون دی‌آلدهید (A) و قدرت احیاکنندگی (B) بافتی در بین رت‌های گروه‌های کنترل، دریافت‌کننده نرمال‌سالین (شاهد)، دریافت‌کننده جنتامایسین و گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گیاه مریم‌گلی با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲۴ ساعت.

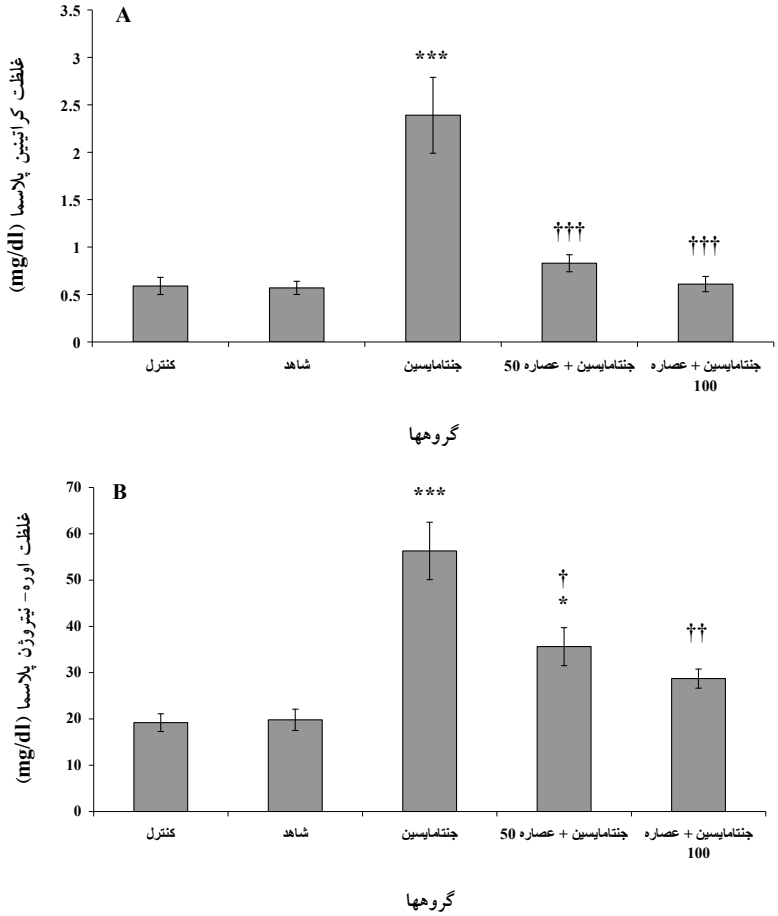
* P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شاهد.

† P<۰/۰۵، †† P<۰/۰۱، ††† P<۰/۰۰۱ برای مقایسه گروه جنتامایسین با گروه‌های دریافت‌کننده عصاره

به‌کارگیری عصاره گیاه مریم‌گلی در گروه GM+SO توانست مانع افزایش MDA ناشی از جنتامایسین گردد (P<۰/۰۰۱ برای هردو دوز). به‌نحوی‌که میزان MDA در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره به حدود آن در گروه شاهد رسید و فاقد تفاوت معنادار با یکدیگر بودند. از طرف دیگر، تزریق داخل صفاقی جنتامایسین توانست منجر به کاهش قابل ملاحظه مقدار FRAP بافتی در گروه جنتامایسین (۴/۵±۰/۳ میکرومول بر گرم وزن کلیه) در مقایسه با میزان آن در گروه شاهد (۸/۴±۱/۱ میکرومول بر گرم وزن کلیه) گردد (P<۰/۰۰۱). درمان با عصاره گیاه مریم‌گلی توانست سبب افزایش میزان FRAP در هردو گروه (50) GM+SO و (100) GM+SO نسبت به مقدار آن در گروه جنتامایسین گردد (P<۰/۰۰۱). گرچه میزان افزایش در گروه (100) GM+SO اندکی بیشتر از گروه (50) GM+SO بود اما به حد معناداری نرسید (شکل B-۱).

۲- اثر بکارگیری عصاره گیاه مریم‌گلی بر تست‌های عملکردی کلیه‌ها

به‌کارگیری جنتامایسین باعث افزایش قابل ملاحظه غلظت کراتینین و اوره- نیتروژن پلاسما نسبت به گروه شاهد گردید (P<۰/۰۰۱ برای هردو پارامتر) (شکل ۲).



شکل ۲– مقایسه میانگین غلظت کراتینین (A) و اوره – نیتروژن (B) پلاسما در بین رت‌های گروه‌های کنترل، دریافت‌کننده نرمال‌سالین (شاهد)، دریافت‌کننده جنتامایسین و گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گیاه مریم‌گلی با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲۴ ساعت.

* P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شاهد.

† P<۰/۰۵، †† P<۰/۰۱، ††† P<۰/۰۰۱ برای مقایسه گروه جنتامایسین با گروه‌های دریافت‌کننده عصاره.

غلظت کراتینین در گروه‌های GM+SO (50) و GM+SO (100) به‌طور معناداری نسبت به میزان آن در گروه جنتامایسین کم‌تر بود (P<۰/۰۰۱ برای هر دو دوز) و تفاوت معناداری با گروه شاهد نداشت. مصرف عصاره گیاه مریم‌گلی با دوز ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن توانست غلظت اوره-نیتروژن پلاسما را به‌طور معناداری (P<۰/۰۵) نسبت به گروه جنتامایسین کاهش دهد ولی همچنان با مقدار آن در گروه شاهد تفاوت معنادار داشت (P<۰/۰۵). اما غلظت اوره-نیتروژن پلاسما در گروه GM+SO (100) به حدود آن در گروه شاهد رسید و تفاوتی با آن نداشت.

جنتامایسین میزان کلیرانس کراتینین را در مقایسه با گروه شاهد به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش داد (P<۰/۰۰۱) (جدول۱). اما درمان با عصاره گیاه مریم‌گلی به‌صورت معناداری سبب افزایش کلیرانس کراتینین در مقایسه با گروه جنتامایسین گردید (P<۰/۰۰۱ برای هردو دوز).

میزان دفع مطلق سدیم (UNaV°) در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت اما به حد معناداری نرسید. دفع نسبی سدیم (FENa) در گروه جنتامایسین به‌طور معنادار نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۱). درمان با هردو دوز عصاره گیاه مریم‌گلی باعث کاهش معنادار آن در مقایسه با گروه جنتامایسین گردید (P<۰/۰۱ برای هردو دوز). دفع مطلق پتاسیم (UKV°) در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). عصاره گیاه مریم‌گلی با دوز ۵۰ میلی‌گرم باعث افزایش غیرمعنادار و دوز ۱۰۰ میلی‌گرم، افزایش معنادار (P<۰/۰۵) دفع مطلق پتاسیم گردید. دفع نسبی پتاسیم (FEK) نیز در گروه جنتامایسین نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۱). تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه مریم گلی توانست میزان دفع نسبی پتاسیم را کاهش دهد (P<۰/۰۱ برای هردو دوز).

جدول ۱- تغییرات پارامترهای عملکردی کلیه به‌دنبال تزریق جنتامایسین و تأثیر عصاره گیاه مریم‌گلی بر روی آن‌ها

گروه‌ها	پارامترهای مورد سنجش				
	کلیرانس کراتینین (ml/min/kg)	دفع مطلق سدیم (mmol/min/kg)	دفع نسبی سدیم (٪)	دفع مطلق پتاسیم (mmol/min/kg)	دفع نسبی پتاسیم (٪)
کنترل	۷/۳۹±۰/۶۸	۱/۷۳±۰/۲۳	۰/۱۷±۰/۰۲	۳/۷۱±۰/۶۸	۱۳/۲۲±۲/۳۱
شاهد	۷/۶۵±۰/۷۸	۲/۱۳±۰/۷۳	۰/۱۸±۰/۰۵	۳/۹۱±۰/۸۵	۱۱/۲۸±۱/۶۸
جنتامایسین	***۳/۲۶±۰/۴۱	۱/۹۳±۰/۱۱	**۰/۵۲±۰/۱۲	*۲/۱۷±۰/۳۱	**۲۱/۲۲±۵/۰۳
جنتامایسین + عصاره (۵۰ میلی گرم)	†††۷/۱۹±۰/۴۹	۱/۷۴±۰/۲۴	††۰/۲۳±۰/۰۵	۳/۲۱±۰/۲۴	††۹/۷۱±۱/۱۲
جنتامایسین + عصاره (۱۰۰ میلی گرم)	†††۷/۲۳±۰/۵۴	۱/۶۵±۰/۲۴	††۰/۲۰±۰/۰۲	†۳/۵۲±۰/۵۶	††۹/۱۸±۱/۵۹

مقادیر به‌صورت میانگین±خطای معیار نمایش داده شده‌اند.

* P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شاهد.

†P<۰/۰۵، †† P<۰/۰۱، ††† P<۰/۰۰۱ برای مقایسه گروه جنتامایسین با گروه‌های دریافت‌کننده عصاره.

بحث

این مطالعه با هدف کلی بررسی اثرات مصرف عصاره هیدروالکلی برگ‌های گیاه مریم گلی در جلوگیری از نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین در رت انجام گردید. همان‌گونه که مشاهده شد میزان استرس اکسیداتیو، پارامترهای پلاسمایی و عملکرد دفعی کلیه‌ها در گروه‌های کنترل و شاهد تفاوتی با یکدیگر نداشتند بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که استرس ناشی از جراحی نتوانسته است باعث ایجاد تغییراتی در گروه‌های مورد آزمایش گردد.

جنتامایسین یک آنتی‌بیوتیک آمینوگلیکوزید است که به‌طور وسیعی در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی استفاده می‌شود اما استفاده آن به‌دلیل ایجاد سمیت کلیوی محدود شده است (۲۶). جنتامایسین به‌طور فعال در توبول پروکزیمال باز جذب می‌شود و تجمع جنتامایسین در سلول‌های توبولار سبب آسیب به این قطعه و اختلال گردش خون کلیوی می‌شود که در نتیجه آن GFR کاهش یافته و غلظت کراتینین و اوره - نیتروژن پلاسما افزایش می‌یابد (۲۷). در این مطالعه نیز مقایسه نتایج گروه جنتامایسین با گروه شاهد نشان می‌دهد که در گروه جنتامایسین، میزان کلیرانس کرآتینین که بیانگر مقدار فیلتراسیون گلومرولی است کاهش یافته که منجر به افزایش شدید غلظت کراتینین و اوره - نیتروژن پلاسمایی در این گروه شد. اما علی‌رغم کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی، میزان دفع مطلق سدیم در گروه جنتامایسین کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نداشت. این مسأله به‌خاطر کاهش میزان بازجذب توبولی ناشی از آسیب‌های توبولی می‌باشد و افزایش دفع نسبی سدیم در این گروه تأییدکننده این مطلب می‌باشد. همچنین، دفع مطلق پتاسیم نیز در گروه جنتامایسین نسبت به گروه شاهد به‌خاطر کاهش فیلتراسیون گلومرولی کاهش یافت اما از آن‌جایی‌که پتاسیم دارای ترشح توبولی نیز می‌باشد میزان کاهش دفع مطلق آن کم‌تر از کاهش فیلتراسیون گلومرولی بود. از طرف دیگر، دفع نسبی پتاسیم نیز در گروه جنتامایسین نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است که بیانگر کاهش بازجذب توبولی ناشی از آسیب سلول‌های اپی‌تلیوم توبولی است. همچنین، جنتامایسین باعث شده که مقدار MDA بافتی، کاهش و میزان FRAP نسبت به مقادیر آن‌ها در گروه شاهد افزایش یابد. محققان بر این باورند افزایش تولید ROS توسط جنتامایسین واقعه کلیدی در توکسیسیته ناشی از مصرف آن می‌باشد (۵ و ۶). ROS نیز سبب فعال‌سازی فاکتور هسته‌ای کاپا-بتا می‌شود که به‌نوبه خود منجر به فعال‌سازی فرایندهای التهابی نیز می‌شود (۲۸). بیان شده که استرس اکسیداتیو و التهاب، نقش محوری در نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین دارند (۲۹). سه هدف اصلی که در سلول‌ها مورد حمله ROS قرار می‌گیرند لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌باشند. ROS با اسیدهای چرب غیراشباع لیپیدها به‌صورت زنجیره‌ای وارد واکنش شده و باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که MDA محصول این پراکسیداسیون است و با مورد حمله قرار دادن گروه‌های SH- و NH2- پروتئین‌ها منجر به غیرفعال شدن آن‌ها می‌شود و همچنین با تغییر دادن ساختار و خصوصیات شیمیایی DNA، منجر به شکسته شدن رشته‌های DNA می‌گردد (۳۰).

با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی عصاره گیاه مریم‌گلی، در این مطالعه برای اولین‌بار اثرات محافظتی آن در برابر نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین مورد ارزیابی قرار گرفت. در گروه‌هایی که عصاره گیاه مریم‌گلی و جنتامایسین را به‌طور همزمان دریافت کردند میزان GFR به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای بیشتر از گروه جنتامایسین بود که منجر به کاهش غلظت اوره- نیتروژن و کراتینین پلاسما شد. جنتامایسین با ایجاد آسیب توبولی و اختلال گردش خون کلیوی منجر به کاهش GFR و در نتیجه افزایش غلظت اوره - نیتروژن و کراتینین پلاسما می‌گردد و بهبود این پارامترها در گروه دریافت‌کننده عصاره بیانگر آن است که توانسته است اختلال گردش خون را کاهش دهد. از طرف دیگر ،دریافت عصاره

مریم‌گلی توانست میزان آسیب‌های سلولی حاصل از به‌کارگیری جنتامایسین را در اپی‌تلیوم توبولی کاهش دهد زیرا میزان دفع نسبی سدیم و پتاسیم هردو در گروه دریافت‌کننده عصاره کم‌تر از گروه جنتامایسین بود (جدول ۱).

همچنین به‌کارگیری عصاره گیاه مریم‌گلی توانست میزان MDA را در بافت کلیه کاهش و میزان FRAP را افزایش دهد. این مسأله بیانگر کاهش میزان استرس اکسیداتیو و افزایش قدرت احیاءکنندگی بافت کلیه می‌باشد و این یافته همسو با نتایج تحقیقات دیگر می‌باشد (۲۳-۱۹). تحقیقات دیگری نیز نشان داده‌اند که به‌کارگیری عوامل آنتی‌اکسیدان می‌توانند مانع افزایش غلظت کراتینین و اوره-نیتروژن پلاسما بدنبال مصرف جنتامایسین گردند (۳۱). از آن‌جایی‌که عصاره مریم‌گلی نیز دارای اثرات آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب قدرتمندی می‌باشد بنابراین احتمالاً به‌واسطه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود توانسته است سبب کاهش اثرات سمی جنتامایسین بر سلول‌های توبولی کلیه گردد.

نتیجه‌گیری

تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی برگ‌های گیاه مریم‌گلی به‌مدت ۷ روز می‌تواند سبب محافظت کلیه‌ها در برابر اختلالات حاصل از تزریق جنتامایسین در رت گردد. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی شناخته‌شده برای عصاره گیاه مریم‌گلی، محتمل است این گیاه از این راه‌ها و یا روش‌های ناشناخته دیگری اثرات خود را اعمال نماید که نیاز به انجام تحقیقات بیشتر دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک که ما را در طرح و انجام پژوهش شماره ۵۲۵ و دارای کد کمیته اخلاق به شماره ۹-۱۲۶-۹۱ یاری دادند کمال تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Al-Shabanah OA, Aleisa AM, Al-Yahya AA, Al-Rejaie SS, Bakheet SA, Fatani AG, et al. Increased urinary losses of carnitine and decreased intra mitochondrial coenzyme A in gentamicin-induced acute renal failure in rats. Nephrol Dial Transplant. 2010;25(1):69-76.
2. Bledsoe G, Shen B, Yao YY, Hagiwara M, Mizell B, Teuton M, et al. Role of tissue kallikrein in prevention and recovery of gentamicin-induced renal injury. Toxicol Sci. 2008;102(2):433-43.
3. Banday AA, Farooq N, Priyamvada S, Yusufi AN, Khan F. Time dependent effects of gentamicin on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane and oxidative stress in rat kidney tissues. Life Sci. 2008;82(9-10):450-9.
4. McWilliam SJ, Antoine DJ, Sabbisetti V, Turner MA, Farragher T, Bonventre JV, et al. Mechanism-based urinary biomarkers to identify the potential for aminoglycoside-induced nephrotoxicity in premature neonates: a proof-of-concept study. PLoS One. 2012;7(8):e43809.
5. Pai PG, Chamari Nawarathna S, Kulkarni A, Habeeba U, Reddy CS, Teerthanath S, et al. Nephroprotective effect of ursolic acid in a murine model of gentamicin-induced renal damage. ISRN Pharmacol. 2012;2012: 410902.
6. Tavafi M, Ahmadvand H, Toolabi P. Inhibitory effect of olive leaf extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Iranian Journal of Kidney Disease. 2012;6(1):25-32.
7. Randjelovic P, Veljkovic S, Stojiljkovic N, Jankovic-Velickovic L, Sokolovic D, Stoiljkovic M, et al. Salicylic acid attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Scientific World Journal. 2012;2012:390613.
8. Tavafi M, Ahmadvand H. Effect of Rosmarinic acid on inhibition of gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Tissue Cell. 2011;43(6):392-7.
9. Grzegorczyk I, Matkowski A, Wysokinska H. Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of Salvia Officinalis L. Food Chem. 2007;104:536-41.
10. Subapriya R, Kumaragurupan R, Abraham SK, Nagini S. Protective effects of ethanolic neem leaf extract on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced genotoxicity and oxidative stress in mice. Drug Chem. Toxicol. 2004;27:15-26.

11. Weisburger JH. Antimutagenesis and anticarcinogenesis, from the past to the future. Mutat Res. 2001;480-481:23-35.
12. Abbas Abad AN, Nouri MHK, Tavakkoli F. Effect of Salvia Officinalis hydroalcoholic extract on Vincristine-induced neuropathy in mice. Chinese Journal of Natural Medicines. 2011; 9(5): 354-8.
13. Eidi A, Eidi M. Antidiabetic effects of sage (Salvia Officinalis L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2009;3(1):40-4.
14. Longaray APD, Moschen-Pistorello IT, Artico L, Atti-Serafi ni L, Echeverrigaray S. Antibacterial activity of the essential oils of Salvia Officinalis L. and Salvia Triloba L. cultivated in South Brazil. Food Chem. 2007;100:603-8.
15. Smidling D, Mitic-Culafic D, Vukovic-Gacic B, Simic D, Knezevic-Vukcevic J. Evaluation of antiviral activity of fractionated extracts of sage Salvia Officinalis L. Arch Biol Sci Belgrade. 2008;60(3):421-9.
16. Eidi M, Eidi A, Zamanizadeh H. Effect of Salvia Officinalis L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2005;100:310-13.
17. Vukovic-Gacic B, Nikcevic S, Beric-Bjedov T, Knezevic-Vukcevic J, Simic D. Antimutagenic effect of essential oil of sage (Salvia Officinalis L.) and its monoterpenes against UV-induced mutations in Escherichia coli and Saccharomyces cerevisiae. Food Chem Toxicol. 2006;44:1730-8.
18. Baricevic D, Sosa S, Della LR, Tubaro A, Simonovska B, Krasna A, et al. Topical anti-inflamatory activity of Salvia Officinalis L. leaves: the relevance of ursalic acid. J Ethnopharmacol. 2001;75:125-32.
19. Eidi M, Eidi A, Bahar M. Effects of Salvia Officinalis L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. Nutrition. 2006;22(3):321-6.
20. Zupko I, Hohmann J, Redei D, Falkay G, Janicsak G, Mathe I. Antioxidant activity of leaves of Salvia species in enzyme-dependent and enzyme-independent systems of lipid peroxidation and their phenolic constituents. Planta Med. 2001;97:383-9.
21. Cuvelier ME, Berset C, Richard H. Antioxidant constituents in sage (Salvia Officinalis). J Agr Food Chem. 1994;42:665-9.
22. Lima CF, Carvalho F, Fernandes E, Bastos ML, Santos-Gomes PC, Fernandes-Ferreira M, et al. Evaluation of toxic/protective effects of the essential oil of Salvia Officinalis on freshly isolated rat hepatocytes. Toxicol in vitro. 2004;18:457-65.
23. Lu Y, Foo LY. Antioxidant activities of polyphenols from sage (Salvia Officinalis). Food Chem. 2001;75:197-202.
24. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979;95(2): 351-8.
25. Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol. 1999;299:15-27.
26. Ahn JM, You SJ, Lee YM, Oh SW, Ahn SY, Kim S, et al. Hypoxia-inducible factor activation protects the kidney from gentamicin-induced acute injury. PLoS One. 2012;7(11):e48952.
27. Okokon JE, Nwafor PA, Noah K. Nephroprotective effect of Croton zambesicus root extract against gentamicin-induced kidney injury. Asian Pac J Trop Med. 2011;4(12):969-72.
28. 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(1):33-45.
29. Huang SS, Zheng RL. Rosmarinic acid inhibits angiogenesis and its mechanism of action in vitro. Cancer Lett. 2006;239(2):271-80.
30. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39(1):44-84.
31. Changizi Ashtiani S, Najafi H, Firozifard MR, Shafaat O. Grape Seed Extract for reduction of Renal Disturbances Following Reperfusion in Rats. Iranian Journal of Kidney Disease. 2013;7(1):275-83.