

تأثیر تجویز مقادیر مختلف استرپتوزوتوسین بر پارامترهای مورفومتریک کلیه رت

دکتر زهرا حیدری، دکتر حمیدرضا محمودزاده ثاقب، دکتر سید محمدحسین نوری موگهی

چکیده

مقدمه: به علت ارتباط بین ساختار و عملکرد، مطالعه حجم گلومرول‌ها در درک شروع و پیشرفت گلومرولوپاتی دیابتی بسیار مهم است. هدف مطالعه حاضر محاسبه حجم کلیه و همچنین حجم مطلق گلومرول‌ها و تعداد کل گلومرول‌ها در رت‌های دیابتی به دنبال کاربرد دوزهای مختلف استرپتوزوتوسین (STZ) به وسیله روش‌های مورفومتریک بدون تورش است. **مواد و روش‌ها:** ۳۰ رت نر از نژاد ویستار با وزن متوسط ۱۱۰ گرم به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی STZ به میزان ۱۵، ۴۵ و ۹۰ mg/kg القا شد. نمونه‌ها ۵۶ روز بعد از تجویز، تحت بیهوشی به وسیله کتامین هیدروکلراید پس از جدا کردن کپسول در محلول لیلی تغییر یافته تثبیت شدند. بعد از پاساژ معمول بافتی و رنگ‌آمیزی، روش‌های مورفومتریک برای محاسبه حجم نواحی مختلف کلیه، حجم مطلق گلومرول‌ها و تعداد کل گلومرول‌ها استفاده شد. **یافته‌ها:** در این تجربه حجم بافت کورتیکال کلیه در تمام گروه‌های تجویز دارو افزایش نشان داد در حالی که حجم مدولا تنها در گروهی که STZ ۹۰ mg/kg دریافت کرده بود افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.01$). حجم گلومرول‌ها نیز در تمام گروه‌های تجویز افزایش معنی‌داری یافته بود ($p < 0.01$) ولی هیچ تغییری در تعداد کل گلومرول‌ها مشخص نشد ($p > 0.05$). **نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که حداقل در دوره‌های کوتاه‌مدت القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین تجویز دوزهای بالاتر ممکن است اثرات بیشتری بر کلیه داشته باشد و موجب عدم تعادل بیشتری در تجدید سلولی شود.

واژگان کلیدی: دیابت، استرپتوزوتوسین، کلیه، گلومرول‌ها، مورفومتري

مقدمه

هیپرتروفی و هیپرفیلتراسیون گلومرولی از جمله ویژگی‌های سیر دیابت قندی در انسان و نمونه‌های تجربی می‌باشند.^{۱-۳} به نظر می‌رسد که میزان بزرگ شدن کلیه و افزایش فیلتراسیون گلومرولی پیشگویی‌کننده ایجاد نفروپاتی دیابتی پیشرفته باشد.^{۱،۲} مشخص شده که رشد

گروه بافت‌شناسی،

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی زاهدان
نشانی مکاتبه: زاهدان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی -
درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، بخش بافت‌شناسی، صندوق
پستی ۴۸۸-۹۸۱۶۵ - دکتر زهرا حیدری
E-mail: histologyzdmu.ac.iro.com

کلیه‌ها با میزان هیپرگلیسمی ارتباط دارد و قبل از افزایش فیلتراسیون گلومرولی به وقوع می‌پیوندد. تعدادی از مطالعات کلینیکی و تجربی به منظور مشخص کردن تغییرات اولیه در کلیه دیابتی که بعداً با افزایش دفع آلبومین در ادرار و ضایعات کلیوی همراه خواهد بود - انجام گرفته است. تغییرات متابولیک، عملکردی و ساختمانی در رت‌های دیابتی شده با آلوکسان (AL) و استرپتوزوتوسین (STZ) تشابه اساسی با آنچه در بیماران دیابتی اتفاق می‌افتد داشته است.^{۴-۸،۱} چندین تکنیک برای القای تجربی دیابت وجود دارد، از جمله: نابود کردن شیمیایی توده سلول‌های بتا یا برداشتن آنها توسط جراحی و حتی برداشتن پانکراس.^{۸،۱} همچنین فاکتورهای

شیمیایی مختلفی می‌توانند تغییرات دیابتی را ایجاد کنند. دو ماده مهم که مورد استفاده گسترده‌ای در این زمینه دارند، آلوکسان و استرپتوزوتوسین می‌باشند.^{۸-۱۲}

استرپتوزوتوسین وقتی به صورت یک تک دوز بالا (۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) یا چند دوز پایین‌تر در رت و سایر جوندگان استفاده شود، باعث القای دیابت و فقدان انسولین شدید می‌گردد. در مورد دوم، دیابت تدریجاً ایجاد می‌شود و به نظر می‌رسد که پایه خودایمنی داشته باشد. دوزهای بالاتر ممکن است فقدان انسولین شدیدتری ایجاد نمایند و در صورت عدم دریافت انسولین، بیمار دچار کتوز خود به خودی و حتی مرگ می‌شود.^۹ استرپتوزوتوسین طی ۱-۲ روز با آسیب به غشای سلول‌های بتا و القای شکست رشته‌های DNA باعث نکروز سلول‌های بتا و سبب پیدایش دیابت می‌شود.^{۱۴}

به علت ارتباط بین ساختمان و عملکرد، مطالعه حجم گلومرول‌ها برای درک شروع و پیشرفت گلومرولوپاتی دیابتی اهمیت دارد.^{۱۵} تغییر در حجم کلیه و حجم مطلق گلومرول‌ها در بیماران و رت‌های دیابتی در تحقیقات دیگری نیز گزارش شده است.^{۱۵،۱۶} بعضی مطالعات نیز تغییراتی در تعداد گلومرول‌ها به دنبال دیابت و سایر بیماری‌های کلیوی را گزارش نموده‌اند.^{۱۷-۱۹}

از آنجایی که دفع مواد زاید حاصل از سوخت و ساز (متابولیسم) به طور عمده توسط پالایش و ترشح از موئینه‌های گلومرولی صورت می‌گیرد، محاسبه تعداد و حجم گلومرول‌ها - که به طور غیرمستقیم نشان دهنده سطح پالایش کننده است - از اهمیت زیادی برخوردار است؛ بدین جهت تعیین تفاوت حجم کل گلومرول‌ها به عنوان شاخصی از سطح کل پالایش گلومرولی در نظر گرفته می‌شود.^{۱۸}

هدف مطالعه حاضر محاسبه حجم کلیه، حجم مطلق گلومرول‌ها و تعداد کل گلومرول‌های کلیوی در رت‌های دیابتی به دنبال کاربرد دوزهای مختلف استرپتوزوتوسین، با استفاده از روش‌های جدید مورفومتریک است.

مواد و روش‌ها

مدل حیوانی

۳۰ رت نر جوان از نژاد ویستار با وزن متوسط ۱۱۰ گرم، به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. دوره تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و حرارت در حد ۱۹-۲۲

درجه سانتیگراد بود و حیوانات دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. دیابت با یک تزریق داخل صفاقی STZ به میزان ۱۵، ۴۵ و ۹۰ mg/kg در ۱ میلی‌لیتر بافر استات در سه گروه القا شد. به رت‌های گروه شاهد همان حجم آب مقطر و به رت‌های گروه شاهد مثبت یک میلی‌لیتر بافر استات تزریق شد. ۵۶ روز بعد از تجویز، پس از توزین، حیوانات به وسیله کتامین هیدروکلراید بیهوش شدند. شکم باز شد و کلیه‌ها به وسیله پرفورزیون شریانی محلول لیلی تغییر یافته تثبیت شدند. پس از جداسازی کپسول، کلیه‌ها برای فیکساسیون تکمیلی در همان محلول به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت اتاق غوطه‌ور گردیدند.

نمونه‌گیری و پاساژ بافتی

از هر رت، کلیه راست انتخاب شد. به منظور به دست آوردن ۹ تا ۱۳ برشⁱ با ضخامت مشخص t در امتداد محور بلند کلیه، طول کلیه به وسیله یک کولیس مشخص شد. برای اطمینان از تصادفی بودن کامل، کلیه‌های تثبیت شده در آگار ۷٪ قالب‌گیری شدند و به وسیله یک دستگاه برش بافتیⁱⁱ برش داده شدند.^{۲۰،۲۱} ضخامت برش‌ها در طول مطالعه ۱ میلی‌متر بود. برش‌ها به ترتیب شماره با حفظ جهت برش در سبدهای پاساژ بافتی قرار گرفتند و سپس به روش معمول پاساژ داده شدند و در پاراپلاست قالب‌گیری شدند. از هر برش، سه مقطعⁱⁱⁱ با ضخامت ۷ میکرومتر به وسیله میکروتوم روتاتوری تهیه شد و با تکنیک H&E رنگ آمیزی شد.

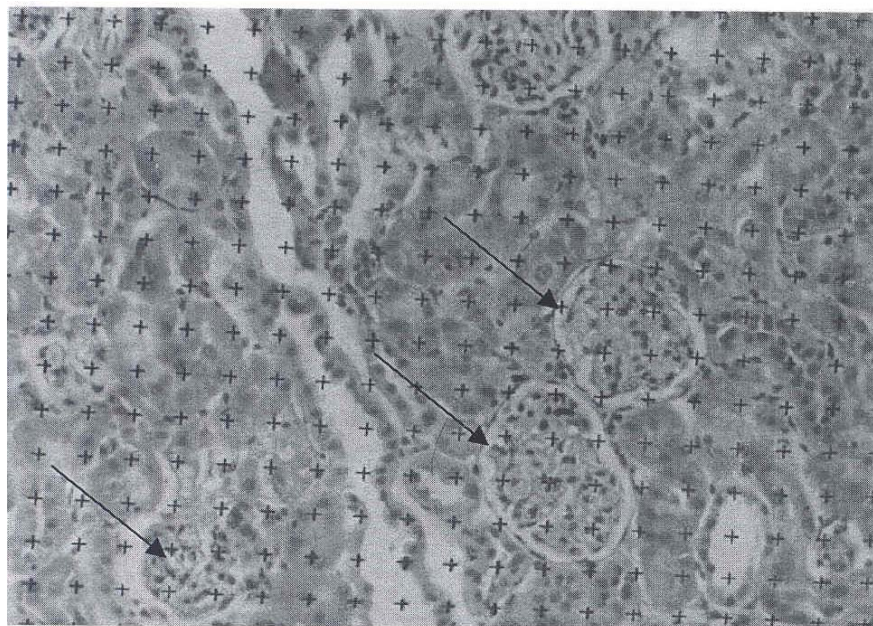
مورفومتری

مطالعه مورفومتریک با استفاده از میکرو پروژکتورهای نوری (Ken-A-Vision X-1000-1, USA) انجام شد. پس از آنکه تصاویر نمونه‌ها روی میز کار انداخته شد، شبکه نقاط استاندارد به طور تصادفی روی تصویر انداخته شد. برای محاسبه حجم کورتکس، مدولا و کلیه کامل شمارش نقاط با استفاده از اصول کوالیه صورت گرفت. اولین مقطع از هر سه تایی انتخاب شد و به

i- Slice

ii- Tissue slicer

iii- Section



تصویر ۱- قسمتی از بافت کلیه رت به همراه گرید علامت های صلیبی مربوط به محاسبه حجم گلومرول های کلیه با پیکان نمایش داده شده اند.

برای محاسبه دانسیته عددی گلومرول ها از دیسکتور فیزیکیⁱⁱ استفاده شد. دیسکتور یک پروپ سه بعدی است که ساختارها را به نسبت تعدادشان و صرف نظر از اندازه و شکلشان نمونه گیری می کند. دیسکتور دربرگیرنده یک سیستم آزمون جامع و قوانین شمارش است. اولین و سومین مقطع از هر برش به عنوان مقاطع مرجعⁱⁱⁱ و منبع جستجو^{iv} انتخاب شدند. در نتیجه فاصله^v ۱۴ میکرومتری بین مقاطع مرجع و جستجو وجود داشت.^{۲۱} سپس هر جفت مقطع بر روی دو میکروپروژکتور قرار داده شد و تصویر مقاطع بر میز کار انداخته شد و پروفیل های گلومرول ها در دو مقطع موازی مقایسه شدند. با استفاده از سیستم آزمون جامع که متشکل از یک سری فریم^v با خطوط ممنوعه و آزاد است، شمارش تعداد پروفیل های گلومرول ها در مقطع اول (مرجع) انجام شد. مشروط بر اینکه آن پروفیل ها در مقطع دوم (جستجو) دیده نشوند و با خط ممنوعه نیز برخورد نکرده باشند (تصویر ۲).

طور کامل و منطقه به منطقهⁱ با درشت نمایی نهایی ۳۲ برابر، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. حجم با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$V = \frac{\sum_{i=1}^m P_i \cdot a_i / p_i \cdot t}{2}$$

در این فرمول ΣP تعداد نقاطی است که با شیء مورد نظر برخورد کرده باشند. a/p مساحت مربوط به اطراف هر نقطه است، t ضخامت متوسط برش و M^2 مربع بزرگ نمایی نهایی است.^{۱۵،۱۶،۲۰،۲۲،۲۳} محاسبه کسر حجمی (V_v) اجزا در فضای مرجع به وسیله شمارش نقاط برخورد تصادفی گرید استاندارد با مقاطع و با استفاده از معادله $V_v = \Sigma P(\text{phase}) / \Sigma P(\text{ref})$ به دست می آید (تصویر ۱). در این معادله $\Sigma P(\text{phase})$ و $\Sigma P(\text{ref})$ به ترتیب تعداد نقاط برخورد در تمام پروفیل ها و در فضای مرجع است. حجم مطلق گلومرول ها به طور غیرمستقیم به وسیله ضرب کردن کسر حجمی در حجم فضای مرجع محاسبه شد.^{۲۰،۲۱}

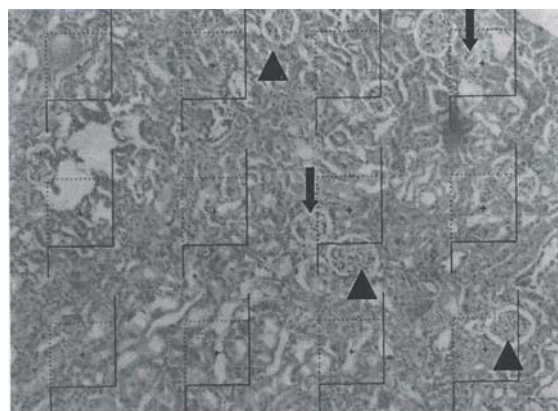
ii- Physical disector

iii- Reference

iv- Look up

v- Frames

i- Field by field



گروه‌ها از آزمون شفه برای مشخص کردن تفاوت بین دو گروه استفاده شد. در هر مورد اگر احتمال عدم وجود اختلاف کمتر از ۵٪ بود فرضیه صفر مردود اعلام گردید.

جدول ۱ - میانگین وزن حیوانات بر حسب گرم (gr) در گروه‌های شاهد، شاهد مثبت و گروه‌های سه گانه مورد تجویز مقادیر مختلف استرپتوزوتوسین در پایان دوره آزمایش

گروه‌ها	وزن بر حسب گرم
گروه شاهد	۱۴۴/۳۳±۰/۴۹*
گروه شاهد مثبت	۱۴۶/۸۳±۰/۶۷
گروه تجویز ۱۵ mg/kg	۱۴۴/۰۰±۱/۱۳
گروه تجویز ۴۵ mg/kg	۱۳۶/۸۳±۰/۸۳†
گروه تجویز ۹۰ mg/kg	۱۳۵/۰۰±۰/۳۳†

* اعداد نشان‌دهنده میانگین±خطای معیار (Mean±SEM) است.
† p<۰/۰۱

تصویر ۲- بافت کلیه رت و گردید مربوط به شمارش تعداد گلومرول‌ها توسط روش دیسکتور نمایش داده شده است، گلومرول‌های قابل شمارش با پیکان و گلومرول‌هایی که قابل شمارش نیستند با سر پیکان نمایش داده شده‌اند.

در هر کلیه در حدود ۳۰ تا ۶۰ فریم از تمام مقطع‌ها انتخاب شد و شمارش پروفیل‌های گلومرول‌ها انجام شد. دانسیته عددی به وسیله استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$N_V = \frac{\sum Q}{a/f.h.\sum P}$$

که در آن N_V تخمینی از دانسیته عددی است. $\sum Q$ مجموع گلومرول‌های شمارش شده، $\sum P$ مجموع فریم‌های مربوط به نقاط برخورد با فضای مرجع (قشر کلیه) و a/f و h به ترتیب نشانگر ارتفاع دیسکتور و مساحت فریم است. در بیولوژی، نسبت‌هایی نظیر دانسیته عددی فقط وقتی کاملاً قابل تفسیر می‌شوند که برای به دست آوردن تخمینی از کمیت کل، با تخمینی از حجم کامل مرجع ترکیب شوند. از تخمین دانسیته عددی گلومرول‌ها و حجم کورتکس، تعداد کل گلومرول‌ها به وسیله رابطه زیر به دست می‌آید.
۲۲،۱۷،۱۸،۲۴

$$N(\text{glom}) = V(\text{cortex}). N_V(\text{glom})$$

تجزیه و تحلیل آماری

از آنالیز واریانس یک طرفه برای تجزیه و تحلیل اختلاف‌های بین گروه‌ها استفاده شد و در صورت تفاوت بین

جدول ۲ - میانگین حجم مطلق کورتکس، مدولا و حجم مطلق کل کلیه بر حسب میلی‌متر مکعب در گروه‌های شاهد، شاهد مثبت و گروه‌های سه گانه مورد تجویز مقادیر مختلف استرپتوزوتوسین

گروه‌ها	حجم کورتکس	حجم مدولا	حجم کل کلیه
گروه شاهد	$475/17 \pm 7/50^*$	$391/66 \pm 5/02$	$866/83 \pm 10/05$
گروه شاهد مثبت	$480/00 \pm 9/57$	$391/33 \pm 4/97$	$871/33 \pm 7/90$
گروه تجویز ۱۵ mg/kg	$555/67 \pm 4/51^\dagger$	$388/50 \pm 7/24$	$944/17 \pm 4/34^\dagger$
گروه تجویز ۴۵ mg/kg	$657/33 \pm 9/11^\dagger$	$395/33 \pm 9/04$	$1045/33 \pm 8/12^\dagger$
گروه تجویز ۹۰ mg/kg	$893/33 \pm 12/19^\dagger$	$568/67 \pm 8/77^\dagger$	$1462/00 \pm 17/19^\dagger$

* اعداد نشان‌دهنده میانگین $\pm$ خطای معیار (Mean $\pm$ SEM) است.

$p < 0.01^\dagger$

یافته‌ها

در پایان این تجربه وزن متوسط حیوانات در گروه‌های دیابتی شده با ۴۵ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در مقایسه با گروه‌های شاهد و شاهد مثبت کاهش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.01$) ولی اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه تجویز ۱۵ mg/kg استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه‌های شاهد وجود نداشت ($p > 0.05$) (جدول ۱).

حجم مطلق بافت قشری در گروه‌های تجویز ۱۵، ۴۵ و ۹۰ mg/kg به ترتیب ۱۶٪، ۳۸٪ و ۸۸٪ افزایش نشان داد که در مقایسه با گروه‌های شاهد این افزایش معنی‌دار بود ($p < 0.01$). از طرف دیگر، افزایش حجم مدولا تنها در گروه ۹۰ mg/kg استرپتوزوتوسین مشاهده شد که در مقایسه با شاهد ۴۵٪ افزایش حجم نشان داده بود و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.01$). حجم مدولا در دو گروه دیابتی دیگر تفاوت معنی‌داری با گروه‌های شاهد نشان نداد ($p > 0.05$). حجم کامل کلیه رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه‌های شاهد افزایش نشان داد ($p < 0.01$) که ممکن است این افزایش بیشتر به علت افزایش بافت کورتکس باشد تا مدولا (جدول ۲).

حجم مطلق گلوامرول‌ها، به عنوان نماینده واحدهای ساختمانی و عملکردی کلیه، در گروه‌های تجویز ۱۵، ۴۵ و ۹۰ mg/kg استرپتوزوتوسین به ترتیب ۹٪، ۲۷٪ و ۶۰٪ افزایش نشان داد که در مقایسه با گروه‌های شاهد این افزایش حجم کل گلوامرول‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p < 0.01$). از طرف دیگر، محاسبه تعداد کل گلوامرول‌ها در بین کلیه‌های دیابتی و طبیعی هیچ تغییر معنی‌داری نشان نداد.

($p > 0.05$). گرچه کاهشی حدود ۲٪ در تعداد کل گلوامرول‌ها در گروه ۹۰ mg/kg وجود داشت، گروه شاهد مثبت نیز همان کاهش را نشان داده بود (جدول ۳).

بحث

از آنجا که بیماران دیابتی در ابتدا به نفروپاتی از مراحل مختلفی گذر می‌کنند، اطلاعات کمی می‌تواند به صورت نشانگری برای بروز یا میزان پیشرفت بیماری در نظر گرفته شود. تصور می‌شود دوزهای مختلف استرپتوزوتوسین بتواند تغییرات ساختمانی متفاوتی در کلیه و به خصوص گلوامرول‌ها القا نماید، بنابراین اطلاعات کمی درباره پیشگویی

جدول ۳ - میانگین حجم مطلق گلوامرول‌های کلیه بر حسب میلی‌متر مکعب و میانگین تعداد کل گلوامرول‌های کلیه در گروه‌های شاهد، شاهد مثبت و گروه‌های سه گانه مورد تجویز مقادیر مختلف استرپتوزوتوسین

گروه‌ها	حجم مطلق گلوامرول‌ها	تعداد کل گلوامرول‌ها
گروه شاهد	$11/87 \pm 0/25^*$	3140.3 ± 257
گروه شاهد مثبت	$12/01 \pm 0/20$	3067.3 ± 226
گروه تجویز ۱۵ mg/kg	$13/03 \pm 0/16^\dagger$	3110.2 ± 221
گروه تجویز ۴۵ mg/kg	$15/12 \pm 0/17^\ddagger$	3108.0 ± 215
گروه تجویز ۹۰ mg/kg	$19/00 \pm 0/35^\ddagger$	3071.7 ± 170

* اعداد نشان‌دهنده میانگین $\pm$ خطای معیار هستند (Mean $\pm$ SEM).

$p < 0.05^\dagger$

$p < 0.01^\ddagger$

عملکرد گلومرولی و مسیر پیشرفت صدمات ناشی از دیابت در کلیه می‌تواند اهمیت داشته باشد.^{۲۵}

پایه تغییرات ساختمانی گلومرول‌ها، تغییراتی است که در سطح اجزای سلولی آن اتفاق می‌افتد و این تغییرات می‌تواند به صورت تغییر حجم یا تغییر در تعداد گلومرول‌ها در یک بررسی مورفومتریک کشف شود. تغییرات هیپرتروفیک، به علت نقش احتمالی‌شان در پیشرفت تخریب ساختمانی نهایی، توجه بیشتری را به خود جلب کرده است.^{۲۵}

طی مراحل اولیه، حجم گلومرولی در مقایسه با افراد دیابتی ۷۰٪ افزایش نشان می‌دهد. این افزایش به علت هیپرتروفی ماتریکس مزانژیال و نیز سایر ساختارهای گلومرولی است.^{۲۶} چنان که قبلاً به اثبات رسیده است، القاء دیابت قندی به وسیله استرپتوزوتوسین باعث افزایش حجم گلومرولی و هیپرتروفی کلیه می‌شود.^{۲۷، ۲۸، ۲۹} تجربه حاضر نشان داد که نه تنها دیابت بر پارانشیم کلیه اثر می‌گذارد بلکه دوزهای مختلف STZ در یک دوره کوتاه مدت اثرات متفاوتی بر بافت کلیه و حجم مطلق گلومرول‌ها دارند. مهمترین دستاورد این تحقیق آن بود که تک دوزهای متفاوت STZ ممکن است واکنش‌های متفاوتی ایجاد نمایند در حالی که تجویز دوز بالای STZ باعث افزایش بیشتر حجم گلومرول‌ها می‌شود. افزایش ماتریکس خارج سلولی ممکن است باعث افزایش حجم کلی در گلومرول‌ها شده باشد. از طرف دیگر، تجزیه و تحلیل‌های مورفومتریک قبلی درباره نفروپاتی دیابتی، افزایش حجم کلیه را به دنبال بیماری دیابت در انسان و در حیوانات آزمایشگاهی، توصیف نموده‌اند.^{۳۰-۳۲، ۳۷} افزایش حجم کل و مخصوصاً کورتکس کلیه که به روش مورفومتری در این مطالعه محاسبه شد، با مطالعات گذشته همخوانی دارد. در این مطالعه به ویژه وابستگی شدیدی بین دوز بالای STZ و افزایش حجم کلیه دیده شد و برخلاف مطالعات گذشته، افزایش حجم مدولا تنها در گروه تجویز ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم STZ از نظر آماری معنی‌دار بود.

برخی پژوهشگران در دوره‌های بلندمدت ابتلا به دیابت، کاهش تعداد گلومرول‌ها را گزارش نموده‌اند.^{۳۱، ۳۲} نتایج مطالعه دیگری مشخص کرد که تعداد کل گلومرول‌ها در گروهی که با استرپتوزوتوسین به مدت طولانی (۱۲ ماه) دیابتی شده بودند کاهش معنی‌داری نشان داد در حالی که در گروه‌های دیابتی کمتر از ۹ ماه این تفاوت معنی‌دار نبود. این مطالعه مؤید این فرضیه است که در دیابت طولانی مدت تعدادی از گلومرول‌ها مسدود و ناپدید می‌شوند.^{۳۳} در حالی

که هیچ تغییر قابل توجهی در تعداد گلومرول‌ها در دوره کوتاه‌مدت و مراحل اولیه دیابت در رت‌ها وجود ندارد.^{۳۳}

در مطالعه حاضر با کاربرد روش دیسکتور فیزیکی، که یک روش مورفومتریک بدون تورش است هیچ تغییری در تعداد کلی گلومرول‌های کلیوی پس از ۵۶ روز مشخص نشد. با توجه به مطالعات گذشته که اثر دیابت بر کاهش تعداد گلومرول‌ها در دوره طولانی درگیری با بیماری را عنوان کرده بودند، نتایج مطالعه حاضر قابل انتظار است و احتمالاً در مراحل پیشرفته‌تر بعدی دیابت، حذف گلومرول‌های مسدود شده باعث کاهش معنی‌دار تعداد خواهد شد. یک توضیح احتمالی برای این نتایج آن است که بیماران دیابتی و یا حیوانات دیابتی شده تجربی، با پیشرفت گلومرولوپاتی دیابتی گلومرول‌های خود را از دست می‌دهند. در طولانی‌مدت، گلومرول‌های مسدود شده احتمالاً ناپدید می‌شوند و از نظر تئوری این امر می‌تواند منجر به کاهش تعداد گلومرول‌ها شود. در مجموع می‌توان گفت، در شروع دیابت تعداد گلومرول‌ها غیر طبیعی نیست و در جریان نفروپاتی شدید، گلومرول‌ها ناپدید خواهند شد. به عبارت دیگر با پیشرفت بیماری دیابت و کاهش تعداد گلومرول‌ها، ایجاد گلومرولوپاتی دیابتی تسهیل خواهد شد.

گرچه هیچ تغییر قابل توجهی در تعداد کلی گلومرول‌ها در دوره‌های کوتاه‌مدت دیده نمی‌شود، از دست رفتن گلومرول‌ها و کاهش تعداد آنها به عنوان علامت برجسته پیشرفت بیماری نفروپاتی دیابتی در رت‌هایی که با استرپتوزوتوسین دیابتی شده‌اند، می‌تواند در نظر گرفته شود.^{۳۳}

تغییرات هیپرتروفیک شامل افزایش حجم گلومرول‌ها، حجم بافت مزانژیال و طول مویرگ‌ها و سطح ناحیه فیلتراسیون نیز به منظور جبران از دست رفتن گلومرول‌ها صورت می‌گیرد.^{۲۶} ناهنجاری‌های ساختمانی که اغلب با تغییرات عملکردی کلیه‌ها در دیابت مرتبط‌اند، در اندازه‌گیری‌های مورفومتریک به صورت افزایش حجم کلیه‌ها ظاهر می‌شوند. این تغییرات مخصوصاً در ناحیه قشر و به صورت گسترش بافت مزانژیال و مویرگ‌ها و همچنین ضایعات عروقی و بافت بینابینی بروز می‌کند. در دوره‌های کوتاه‌مدت بر خلاف دوره‌های طولانی مدت دیابت، تغییرات تخریبی در پارانشیم کلیه آثار چشمگیری ندارد که بتواند منجر به مسدود شدن و حذف گلومرول‌ها شود. در موقعیت‌های طبیعی، بخش‌های گلومرولی و لوله‌ای کلیه از

نتایج کلی مطالعه حاضر با تحقیقات کیفی و کمی دیگر همخوانی دارد. همچنین دستاورد مهم این تحقیق آن است که به روشنی نشان می‌دهد مورفومتری می‌تواند به عنوان روشی دقیق در تعیین تغییرات پارانشیم کلیه کاربرد داشته باشد و در آسیب‌شناسی بالینی و تجربی به عنوان یک روش قوی و کارآمد در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری‌های کلیه و در جریان دیابت به کار رود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله لازم می‌دانند از حمایت‌های مسئولان محترم دانشگاه علوم پزشکی زاهدان که زمینه‌های لازم برای انجام این تحقیق را فراهم نموده‌اند، صمیمانه تشکر نمایند.

References

- Christiansen T, Rasch R, Stodkilde-Jorgensen H, Flyvbjerg A. Relationship between MRI and morphometric kidney measurements in diabetic and non-diabetic rats. *Kidney Int* 1997; 51:50-6.
- Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med* 1984; 311:89-93.
- Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in experimental diabetes mellitus *Kidney Int* 1983; 23:643-6.
- Ørskov H, Olsen TS, Nilsen K, Rafaelsen OJ, Lundbaek K. Kidney lesions in rats with severe long-term alloxan diabetes: Influence of age, alloxan damage, and insulin administration. *Diabetologia*; 1965; 1:172-9.
- Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in streptozotocin-diabetic rats. *Clin Sci Mol Med Suppl* 1976; 51:551-5.
- Seyer-Hansen K, Hansen J, Gundersen HJ. Renal hypertrophy in experimental diabetes. A morphometric study. *Diabetologia* 1980; 18:501-5.
- Osterby R, Gundersen HJ. Glomerular size and structure in diabetes mellitus. I. Early abnormalities. *Diabetologia* 1975; 1:225-9.
- Rasch R. Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. *Kidney size and glomerular volume. iabetologia*. 1979; 6:125-8.
- Islas-Andrade S, Monsalve CRM, Escobedo de la Pena J, Polanco AC, Palomino MA, Feria Velasco A. Streptozotocin and alloxan in experimental diabetes: Comparison of the two models in rats. *Acta. Histochem. Cytochem*. 2000; 33: 201-208.
- Dunn JS, Letchie NGB. Experimental alloxan diabetes in the rat. *Lancet*. 1943; 2:384-387.
- Frankel BJ, Heldt AM, Gerritsen GC, Grodsky GM. Insulin, glucagon, and somatostatin release from the prediabetic Chinese hamster *Diabetologia* 1984; 27:387-91.
- Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *diabetes* 1976; 25:595-603.

سلول‌های پایداری تشکیل می‌شوند. همانندسازی سلول‌های گلومرولی طی مرحله اول دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین و همچنین در چندین مدل تجربی گلومرولواسکلروز مانند رشد جبرانی کلیه، افزایش نشان می‌دهد.^{۲۹} تحقیقات مشابه، در توافق با این تجربه، نشان داده‌اند که در دوره‌های کوتاه‌مدت دیابت القا شده با STZ در رت‌ها، افزایش حجم بافت کورتیکال و حجم گلومرول‌ها از دست رفتن نفرون‌های صدمه دیده را جبران نمی‌کند. به نظر می‌رسد که در مسیر اولیه دیابت بین تکثیر سلولی و وقوع آپوپتوز در سلول‌ها عدم تعادل وجود داشته‌باشد. باید در نظر داشت که حداقل در دوره‌های کوتاه‌مدت، تجویز دوزهای بالاتر STZ ممکن است آثار بارزتری داشته باشد و عدم تعادل بیشتری در روند تجدید سلول‌ها ایجاد نماید.

- Gaulton GN, Schwartz JL, Eardley DD. Assessment of the diabetogenic drugs alloxan and streptozotocin as models for the study of immune defects in diabetic mice. *Diabetologia* 1985; 28:769-75.
- Yamamoto H, Uchigata Y, Okamoto H. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature* 1981; 294:284-6.
- 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; 62:108-13.
- Hinchliffe SA, Sargent PH, Howard CV, Chan YF, van Velzen D. Human intrauterine renal growth expressed in absolute number of glomeruli assessed by the disector method and Cavalieri principle. *Lab Invest* 1991; 64:777-84.
- Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 1984; 134:127-36.
- Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular number in a range of animals estimated by a simple and unbiased morphometric method. *Acta Stereol*. 1990; 2:243-58.
- Bendtsen TF, Nyengaard JR. The number of glomeruli in type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1992; 35:844-50.
- Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988; 96:379-94.
- Buzello M. Comparison of two stereological methods for quantitative renal morphology: a modified fractionator and modified Weibel-Gomez method. *Pathol Res Pract* 2000; 196:111-7.
- Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, et al. The new morphometric tools: Disector, fractionator nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*. 1988; 96: 857-881.

23. Heidari Z, Mahmoudzadeh Sagheb HR, Dezfoulan AR, Barbarestani M, Noori SMH. A stereological analysis of renal glomeruli following chronic lead intoxication in rat during a continuous period of 8 weeks. *Acta Medica Iranica* 2002; 40: 73-8
 24. Nyengaard JR. Stereologic methods and their application in kidney research. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:1100-23.
 25. Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM. The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. *Am J Med* 1982; 72:375-80.
 26. Østerby R. Structural changes in the diabetic kidney. *Clin Endocrinol Metab.* 1986; 15:733-51.
 27. Artacho-perula E, Roldan- villalobos R, Salcedo- leal I, Vaamonde- lemos R. Morphometric estimates of volume-weighted mean glomerular volume in Streptozotocin-diabetic rats. *Lab Invest.* 1993; 68:56-61.
 28. Rudberg S, Osterby R, Dahlquist G, Nyberg G, Persson B. Predictors of renal morphological changes in the early stage of microalbuminuria in adolescents with IDDM. *Diabetes Care* 1997; 20:265-71.
 29. Pesce C, Menini S, Pricci F, Favre A, Leto G, DiMario U, et al. Glomerular cell replication and cell loss through apoptosis in experimental diabetes mellitus. *Nephron.* 2002; 90:484-8.
 30. Engerman RL, Kern TS. Hyperglycemia and development of glomerular pathology: diabetes compared with galactosemia. *Kidney Int* 1989; 36:41-5.
 31. Christiansen T, Rasch R, Stodkilde-Jorgensen H, Flyvbjerg A. Relationship between MRI and morphometric kidney measurements in diabetic and non-diabetic rats. *Kidney Int* 1997; 51:50-6.
 32. Bendtsen TF, Nyengaard JR. The number of glomeruli in type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia.* 1992; 35:844-50.
۳۳. حیدری زهرا، محمودزاده ثاقب حمیدرضا، نوری موگهی سید محمد حسین. محاسبه تغییرات تعداد گلومرول‌های کلیوی در رت دیابتی شده با استفاده از تکنیک‌های استریولوژیک، نشریه پزشکی یاخته، ۱۳۸۲؛ سال ۵، شماره ۱۷، صفحات ۴۳ تا ۴۷.