

## اثر پیشگیری‌کننده‌ی آب سیر در آسیب‌های کلیوی ناشی از دیابت ملیتوس در موش‌های صحرایی

مصطفی راشکی‌کمک<sup>۱</sup>، دکتر علی گل<sup>۱</sup>، دکتر شهریار دبیری<sup>۲</sup>

۱) گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان (هسته‌ی تحقیقاتی سلول و غدد درون‌ریز)، ۲) گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: کرمان، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، مجتمع دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، دکتر علی گل؛  
e-mail: agol@mail.uk.ac.ir

### چکیده

مقدمه: از آنجا که همه‌ی پژوهش‌های انجام شده در زمینه‌ی خواص سیر در بهبود نفروپاتی دیابتی پس از ایجاد دیابت انجام شده است، بر آن شدیم تا خواص پیشگیری‌کننده‌ی آب سیر را بر عوارض کلیوی دیابت مورد مطالعه قرار دهیم. مواد و روش‌ها: چهل سر موش صحرایی نر به ۵ گروه تقسیم شدند: ۱- گروه طبیعی (N)، ۲- گروه طبیعی + سیر (N+G) که به مدت ۶ هفته آب سیر دریافت کردند، ۳) گروه دیابتی (D) که با تزریق استروپتوزوتوسین (STZ) به میزان ۶۰ mg/Kg به صورت داخل صفاقی دیابتی شده بودند، ۴) گروه دیابتی + سیر قبل (D+Gb): که برای سه هفته قبل و سه هفته بعد از تزریق STZ آب سیر را دریافت نمودند، ۵) گروه دیابتی + سیر بعد (D+Ga)، این گروه سه روز بعد از تزریق STZ آب سیر را برای ۳ هفته دریافت کردند. یافته‌ها: نتایج نشان داد دیابت باعث افزایش معنی‌داری در میزان کراتینین سرم، کلیرانس کراتینین و هم‌چنین کاهش معنی‌داری در نسبت اوره به کراتینین ادرار (Ur:Cr) در گروه دیابتی نسبت به سایر گروه‌ها شد. مصرف سیر موجب هدایت این تغییرات به حدود طبیعی شد، به طوری که مصرف سیر قبل از تزریق STZ در گروه D+Gb اختلاف معنی‌داری را در همه‌ی عوامل مورد بررسی در مقایسه با گروه D+Ga ایجاد کرد. نتیجه‌گیری: در این مطالعه، برای اولین بار نشان داده شد که مصرف سیر قبل از ایجاد دیابت موجب کاهش بیشتری در عوارض کلیوی نسبت به گروهی می‌شود که پس از ایجاد دیابت سیر دریافت کنند. بنابراین، سیر می‌تواند هر دو نقش پیشگیری‌کننده و درمانی را در برابر عوارض دیابت ایفا نماید.

واژگان کلیدی: دیابت ملیتوس، سیر، نفروپاتی، موش صحرایی

دریافت مقاله: ۸۷/۱۲/۱۳ دریافت اصلاحیه: ۸۸/۲/۷ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۸

### مقدمه

نفروپاتی دیابتی یکی از مهم‌ترین عوامل نقص در عملکرد فیزیولوژیک کلیه‌ها در بیماری دیابت ملیتوس است و پیش‌بینی شده است که تأثیر زیادی بر کیفیت زندگی افراد دیابتی بگذارد.<sup>۱</sup> از جمله علایم نفروپاتی دیابتی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: افزایش ضخامت غشای پایه‌ی گومرول‌ها،<sup>۲</sup> افزایش و گسترش بافت‌بینایی کلیه،<sup>۳</sup> افزایش

غلظت کراتینین و هم‌چنین افزایش کلیرانس کراتینین (GFR)،<sup>۱</sup> افزایش اوره سرم<sup>۴، ۵</sup> و کاهش نسبت اوره به کراتینین ادرار (Ur:Cr).<sup>۶</sup> از طرف دیگر، در کشورهای در حال توسعه نفروپاتی دیابتی یکی از عمده‌ترین مشکلات پیش‌رونده و انتهای کلیوی است<sup>۷</sup> که منجر به دیالیز، پیوند کلیه و در نهایت مرگ و میر بیماران می‌شود.<sup>۱</sup> به عبارت

i- Glomerular Filtration Rate

سیر با نام علمی «آلیوم ساتیوم»<sup>iii</sup> از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است.

سیر یکی از ادویه‌های مفیدی است که برای پخت و پز غذاها از آن استفاده می‌شود.<sup>۱۳</sup> از جمله اثرهای مفید سیر که مورد بررسی علمی قرار گرفته است، می‌توان به خواص: آنتی‌اکسیدان،<sup>۱۴</sup> ضد باکتری،<sup>۱۵</sup> ضد آترواسکلروز، ضد تشکیل پلاک‌های خونی،<sup>۱۶</sup> ضد چربی،<sup>۱۷</sup> و پایین‌آورنده‌ی قند خون<sup>۱۸</sup> اشاره کرد. سیر دارای ترکیبات زیادی است که عمده‌ی این ترکیبات حاوی جزء سولفوروی هستند. از جمله‌ی این ترکیبات می‌توان به S-آلیل مرکاپتو سیستئین (SAMC)، دی آلیل دی سولفید (آلیسین)، دی آلیل سولفید (DAS)، S-آلیل سیستئین (SAC) و S-متیل سیستئین (SMC) اشاره کرد.<sup>۱۳،۱۹</sup> این ترکیبات قادرند رادیکال‌های آزاد به ویژه رادیکال‌های هیدروکسیل را نابود سازند. مشخص شده که SAMC، DAS، SAC،<sup>۱۹</sup> SMC<sup>۲۰</sup> و همچنین عصاره‌ی سیر سبب کاهش اثر منفی نفروتوکسیسیته ناشی از جنتامایسین،<sup>۲۱</sup> سیکلوسپورین A،<sup>۲۲</sup> کلرید جیوه<sup>۲۱</sup> و دیابت بر کلیه می‌شود و در نتیجه سبب بهبود کلیرانس کراتینین، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، کاهش فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، و کاهش نکرور در توپول‌های پروگزیمال و به طور کلی بهبود آسیب‌های ناشی از نفروپاتی می‌شوند. القای دیابت در موش‌های صحرایی موجب افزایش کلیرانس کراتینین و افزایش غلظت کراتینین و اوره‌ی سرم می‌گردد.<sup>۲۳</sup> استفاده از آب سیر هموزن (FGH) و یا آب سیر (Garlic juice) سبب بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی در کلیه‌ی موش‌های صحرایی می‌شود. به عبارت دیگر، بافت کلیه تغییرات مثبت می‌یابد و موجب کاهش میزان کلیرانس کراتینین می‌شود.<sup>۲۳</sup>

با توجه به این‌که همه‌ی مطالعه‌های انجام شده درباره‌ی خواص مفید سیر در بهبود نفروپاتی دیابتی همگی پس از ایجاد دیابت انجام شده است و با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ای علمی در زمینه‌ی خواص پیشگیری‌کننده‌ی سیر بر عوارض کلیوی ناشی از نفروپاتی دیابتی انجام نشده است، بنابراین، بر آن شدیم تا خواص پیشگیرانه‌ی سیر بر عوارض نفروپاتی دیابتی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین را مورد مطالعه و بررسی قرار دهیم.

دیگر، دیابت با اختلال در متابولیسم گلوکز و پروتئین‌ها موجب بروز مشکلات ذکر شده در کلیه می‌شود. از عوامل مختلفی برای ارزیابی عملکرد کلیه‌ها استفاده می‌شود. از جمله‌ی این نمایه‌ها می‌توان به غلظت کراتینین سرم، کلیرانس کراتینین، اوره‌ی سرم و همچنین Ur:Cr ادراری<sup>۱</sup> اشاره نمود. Ur:Cr ادراری می‌تواند نشانه‌ای از نقص در عملکرد گلومرول‌های کلیوی و به طور کلی پیشگویی‌کننده‌ی وضعیت سلامت کلیه‌ها باشد. تغییر در Ur:Cr در اثر تغییرات نامتعارف اوره به کراتینین به دلیل کم‌آبی، بیماری‌های کلیوی یا مسدود شدن جریان ادرار ایجاد می‌شود. افزون بر آن، Ur:Cr موجب تفکیک ازتمی پیش‌کلیوی از ازتمی پس‌کلیوی می‌شود.<sup>۲</sup> در ازتمی پیش‌کلیوی علاوه بر افزایش قابل ملاحظه‌ی GFR، میزان اوره‌ی سرم نیز افزایش می‌یابد،<sup>۳</sup> اما در ازتمی پس‌کلیوی میزان کراتینین و اوره‌ی سرم افزایش می‌یابد.<sup>۴</sup> دانش کنونی ما درباره‌ی نفروپاتی دیابتی محدود است. با وجود این، مطالعه‌هایی که در این زمینه انجام شده‌اند، مشخص کرده‌اند که کنترل عامل‌هایی مانند قند و فشار خون موجب بهبود در عملکرد کلیه و در نهایت بهبود نفروپاتی دیابتی می‌شوند. برای مثال مهار تشکیل «محصولات انتهایی قنددار شده» (AGEPs)<sup>۱</sup> نقش مهمی در محدود کردن آسیب‌های ناشی از نفروپاتی دیابتی دارد.<sup>۵</sup> فرضیه‌های متعددی بیان می‌کنند که افزایش قند خون در دیابت سبب فعال شدن مسیرهای تولید گونه‌های اکسیژن بافعال (ROS)<sup>ii</sup> در میتوکندری و در نتیجه افزایش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در دیابت می‌شوند.<sup>۱۰</sup> مطالعه‌هایی که در این زمینه انجام شده، مشخص کرده‌اند که ROS نقش مهمی در پاتوژنز آسیب‌های ناشی از نفروپاتی ایجاد شده توسط جنتامایسین<sup>۱۱</sup> و سیکلوسپورین A<sup>۱۲</sup> دارد. با توجه به روند رو به رشد دیابت در سراسر جهان و در حالی که علم پزشکی سعی در کنترل عوارض ناشی از دیابت دارد، در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی و طب سنتی برای کنترل دیابت در جوامع شیوع بیشتری یافته است.<sup>۱۳</sup> به تازگی مطالعه‌های گسترده‌ای در زمینه‌ی درمان دیابت و عوارض ناشی از آن با استفاده از گیاهان دارویی انجام شده است که تا به امروز نیز ادامه دارد. برای مثال می‌توان گیاهانی همچون پیاز،<sup>۱۴</sup> زنجبیل<sup>۵</sup> و صبر زرد<sup>۱۵</sup> را نام برد. از بین گیاهان مختلفی که در این زمینه مورد توجه قرار گرفته است،

i- Advanced Glycation End Products (AGEPs)

ii - Reaction Oxygen Species (ROS)

iii- Allium sativum

## مواد و روش‌ها

آب سیر بر اساس روشی که قبلاً توسط دِمرداش<sup>۳۳</sup> در سال ۲۰۰۵ توصیف شده است، تهیه شد. پس از خریداری سیر از مغازه‌ای محلی پوست آن جدا و پس از شست و شو با آب مقطر به قطعات کوچکی برش داده شد. میزان ۱۰۰ گرم سیر با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در مخلوطکن ریخته شد و پس از ۱۰ دقیقه مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده و در نهایت، در لوله‌های آزمایش ریخته شد و تا زمان مصرف در فریزر در دمای ۱۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. برای ایجاد دیابت نوع ۱ از استروپتوزوتوسین (STZ) خریداری شده از شرکت سیگمای آمریکا استفاده شد. دوز داروی به کار برده شده برای دیابتی کردن موش‌های صحرائی ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود که پس از حل کردن در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق گردید. سه روز پس از تزریق STZ، خونگیری از گوشه چشم آن‌ها به عمل آمد و موش‌هایی که میزان قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.<sup>۳۴</sup>

در این آزمایش از ۴۰ سر موش صحرائی نژاد ویستار که دارای میانگین وزن  $20 \pm 250$  گرم بودند، استفاده شد. موش‌ها پس از تهیه در قفس‌های استاندارد قرار داده شدند. برای سازگاری، یک هفته قبل از آزمایش حیوانات مورد مطالعه در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و آب و غذای طبیعی و دمای  $2 \pm 23$  درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم گردیدند. دوره‌ی آزمایش برای هر گروه ۶ هفته بود. گروه‌های آزمایشی به این شرح بودند: ۱- گروه نرمال (N)؛ ۲- گروه طبیعی + سیر (N+G)؛ ۳- گروه دیابتی (D)؛ ۴- گروه دیابتی + سیر قبل (D+G<sub>b</sub>)؛ و ۵- گروه دیابتی + سیر بعد (D+G<sub>a</sub>). گروه N: این گروه با شروع دوره به مدت ۶ هفته آب مقطر به میزان ۱ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن توسط گاواژ دریافت نمودند. گروه N+G: این گروه با شروع دوره آب سیر را به مدت ۶ هفته به میزان ۱ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن توسط گاواژ دریافت کردند. گروه D: این گروه در پایان هفته سوم STZ دریافت نمودند. گروه D+G<sub>b</sub>: در این گروه با شروع دوره، دریافت سیر آن‌ها آغاز شد و سپس در پایان هفته‌ی سوم STZ به آن‌ها تزریق گردید و دریافت سیر به مدت ۳ هفته دیگر در

آن‌ها ادامه یافت. گروه D+G<sub>a</sub>: دریافت سیر در این گروه در پایان هفته‌ی سوم سه روز پس از تزریق STZ و اثبات دیابت در آن‌ها آغاز شد و به مدت ۳ هفته ادامه یافت. در پایان دوره هر موش در قفسه متابولیک قرار داده شد تا میزان مصرف آب و همچنین میزان حجم ادرار ۲۴ ساعته برای محاسبه‌ی کلیرانس کلیوی به دست آید و در نهایت با قطع سر و جمع آوری نمونه‌ی خون آن‌ها، سرم خون توسط دستگاه سانتریفوژ جدا و در دمای ۳۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری میزان کراتینین و اوره در فریزر قرار داده شد.

غلظت کراتینین سرم به روش JAFFE با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون ایران (دقت با  $CV\% < 3/3$  و حساسیت  $0.2 \text{ mg/dL}$ ) و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور RA1000 ساخت شرکت تکنیکون آمریکا اندازه‌گیری شد. همچنین، غلظت اوره توسط روش اوره‌آز<sup>۳۵</sup> و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون ایران (دقت با  $CV\% < 3/27$  و حساسیت  $2 \text{ mg/dL}$ ) که اساس کار نورسنجی بود و غلظت در ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

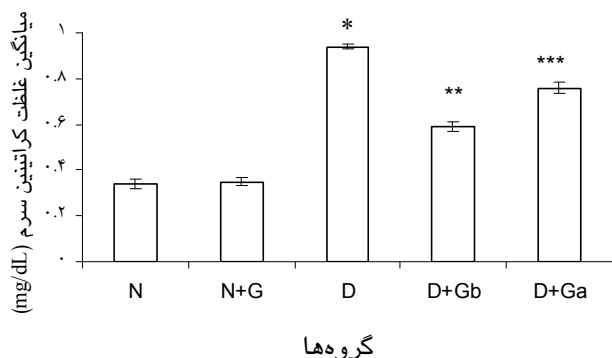
غلظت کراتینین ادرار توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون ایران (دقت با  $CV\% < 3/3$  و حساسیت  $0.2 \text{ mg/dL}$ ) و روش JAFFE اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا ادرار رقیق گردید (نسبت ۱:۴۹) و سپس میزان غلظت کراتینین ادرار اندازه‌گیری شد. اساس این کار نیز بر نورسنجی بود که غلظت در ۴۹۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

غلظت اوره‌ی ادرار توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون ایران (دقت با  $CV\% < 3/27$  و حساسیت  $2 \text{ mg/dL}$ ) و روش اوره‌آز اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا ادرار رقیق گردید (نسبت ۱:۱۰۰) و سپس کار نورسنجی بر آن انجام شد. غلظت در ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

کلیرانس کلیوی کراتینین با استفاده از فرمول استاندارد کلیرانس محاسبه گردید.<sup>۳۵</sup>

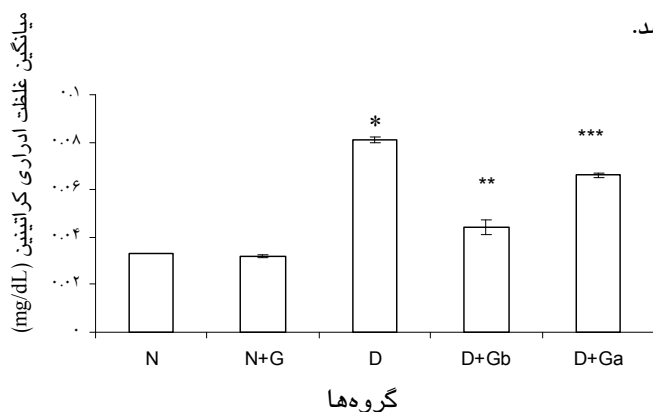
آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۵ انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین±خطای معیار بیان شده‌اند. برای بررسی آماری از آنالیز واریانس یک طرفه و سپس از پس‌آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و  $p < 0.05$  از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها



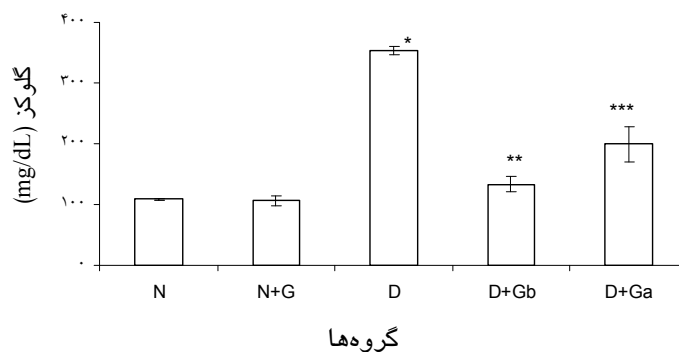
نمودار ۲- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار غلظت کراتینین سرم در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.001$ ). \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G و D+Ga ( $p < 0.001$ ). \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ). N = نرمال، N+G = نرمال+سیر، D = دیابتی، D+Gb = دیابتی + سیر قبل، D+Ga = دیابتی + سیر بعد

نمودار ۳ بیانگر غلظت کراتینین ادرار است. افزایش معنی‌داری در گروه D نسبت به همه‌ی گروه‌ها مشاهده شد ( $p < 0.001$ ). علاوه بر این، در گروه D+Gb افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های N ( $p < 0.01$ ) و N+G ( $p < 0.001$ ) و کاهش معنی‌داری نسبت به گروه D+Ga ( $p < 0.001$ ) مشاهده شد. افزایش معنی‌داری در گروه D+Ga نسبت به گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ) مشاهده شد.



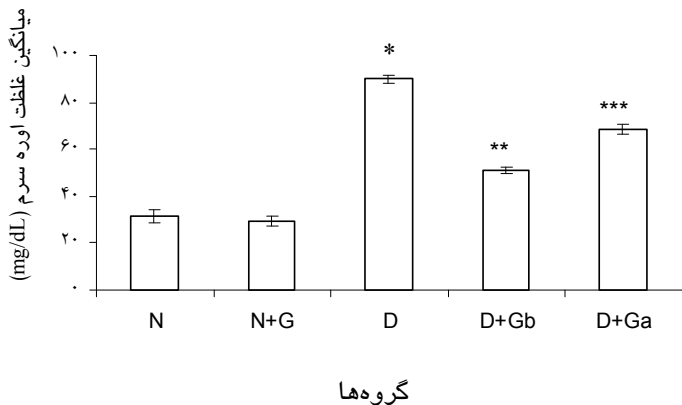
نمودار ۳- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار غلظت کراتینین ادرار در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.001$ ). \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.01$ ). \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ). N = نرمال، N+G = نرمال+سیر، D = دیابتی، D+Gb = دیابتی + سیر قبل، D+Ga = دیابتی + سیر بعد

نمودار ۱ غلظت گلوکز سرم را نشان می‌دهد: افزایش معنی‌داری در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.001$ ) مشاهده شد، همچنین در گروه D+Gb کاهش معنی‌داری نسبت به گروه D+Ga ( $p < 0.05$ ) مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری در گروه D+Gb نسبت به گروه‌های N و N+G مشاهده نشد. گروه D+Ga اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ) نشان داد.

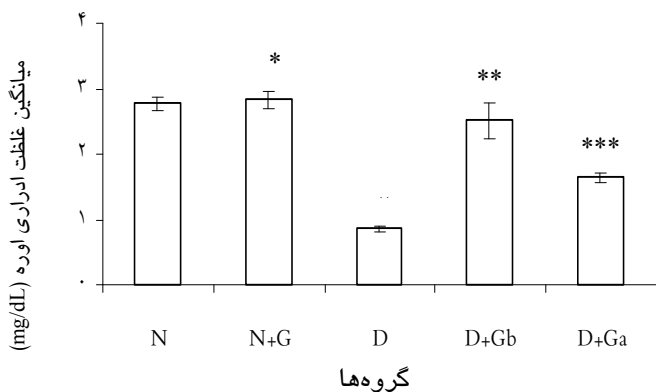


نمودار ۱- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار غلظت گلوکز سرم در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.001$ ). \* اختلاف معنی‌دار با گروه D+Ga ( $p < 0.05$ ). \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه N ( $p < 0.01$ ) و با گروه N+G ( $p < 0.001$ ). N = نرمال، N+G = نرمال + سیر، D = دیابتی، D+Gb = دیابتی + سیر قبل، D+Ga = دیابتی + سیر بعد

نمودار ۲ بیانگر غلظت کراتینین سرم است. افزایش معنی‌داری در گروه D در مقایسه با تمام گروه‌ها ( $p < 0.001$ ) مشاهده شد. همچنین، افزایش معنی‌داری در گروه D+Gb در مقایسه با گروه‌های N، N+G ( $p < 0.001$ ) و کاهش معنی‌داری نسبت به گروه D+Ga مشاهده شد. افزایش معنی‌داری در گروه D+Ga نسبت به گروه‌های N و N+G مشاهده شد.



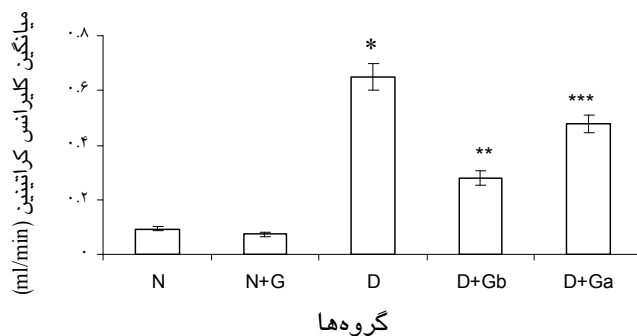
نمودار ۵- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار غلظت اوره سرم در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.0001$ ), \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G و D+Ga ( $p < 0.0001$ ), \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ )، N= نرمال، N+G= نرمال+سیر، D= دیابتی، D+Gb= دیابتی+سیر قبل، D+Ga= دیابتی + سیر بعد



نمودار ۶- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار غلظت ادراری اوره در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.0001$ ), \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G و D+Ga ( $p < 0.0001$ ), \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ )، N= نرمال، N+G= نرمال+سیر، D= دیابتی، D+Gb= دیابتی+سیر قبل، D+Ga= دیابتی+سیر بعد

نمودار ۷، نسبت Ur:Cr ادراری را نشان می‌دهد. کاهش معنی‌داری در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) و D+Ga ( $p < 0.05$ ) مشاهده شد. همچنین کاهش معنی‌داری در گروه D+Gb در مقایسه با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) و افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه D+Ga ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد. بین گروه D+Ga با گروه‌های N و N+G اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد.

نمودار ۴، بیانگر کلیرانس کلیوی کراتینین است. افزایش معنی‌داری در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد. همچنین، افزایش معنی‌داری در گروه D+Gb نسبت به گروه‌های N، N+G ( $p < 0.0001$ ) و کاهش معنی‌داری نسبت به گروه D+Ga ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد. افزایش معنی‌داری در گروه D+Ga نسبت به گروه‌های N، N+G ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد.



نمودار ۴- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار کلیرانس کراتینین در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) و D+Ga ( $p < 0.0001$ )، \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G و D+Ga ( $p < 0.0001$ ), \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ )، N= نرمال، N+G= نرمال+سیر، D= دیابتی، D+Gb= دیابتی+سیر قبل، D+Ga= دیابتی + سیر بعد

نمودار ۵، غلظت اوره‌ی سرم را نشان می‌دهد. افزایش معنی‌داری در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد. در گروه D+Gb افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) و کاهش معنی‌داری نسبت به گروه D+Ga ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه D+Ga نسبت به گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد.

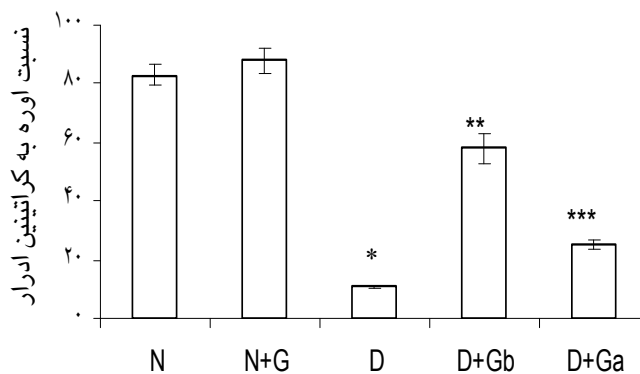
نمودار ۶، بیانگر میانگین غلظت ادراری اوره است. کاهش معنی‌داری در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) و D+Ga ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد. همچنین، افزایش معنی‌داری در گروه D+Gb نسبت به گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) و کاهش معنی‌داری با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد. علاوه بر این، کاهش معنی‌داری در گروه D+Ga نسبت به گروه‌های N و N+G ( $p < 0.0001$ ) مشاهده شد.

## بحث

این مطالعه نشان داد که دیابت موجب افزایش در میزان کلیرانس کراتینین (GFR)، غلظت کراتینین و اوره‌ی سرم، مصرف آب و کاهش نسبت Ur:Cr ادراری می‌شود و مصرف آب سیر توانست متغیرها را به سمت طبیعی شدن ببرد به طوری‌که مصرف سیر قبل از تزریق STZ موجب بروز اختلاف معنی‌داری بین دو گروه D+G<sub>a</sub> و D+G<sub>b</sub> شد که یافته‌ها حاکی از اثر پیشگیری کننده‌ی سیر در بروز آسیب‌های ناشی از دیابت داشت.

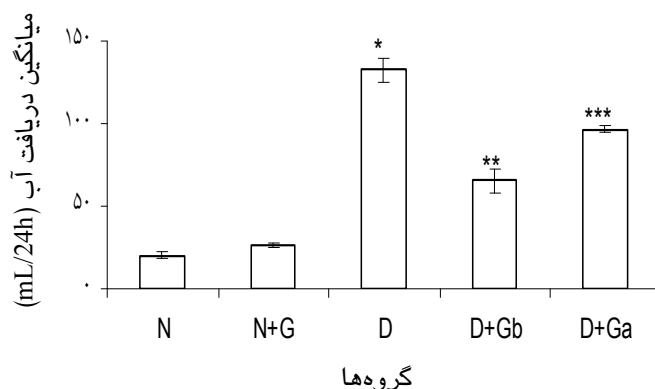
مطالعه‌های بسیاری مشخص کرده‌اند که در بیماری دیابت میزان آسیب‌های کلیوی (نفروپاتی) افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد.<sup>۲۶</sup> برای مثال از اولین ویژگی‌های بروز نفروپاتی دیابتی این است که میزان GFR (کلیرانس کراتینین) در بیماران افزایش می‌یابد.<sup>۲۷</sup> در نهایت، نفروپاتی سبب کاهش عملکرد فیزیولوژیک کلیه<sup>۱</sup> و تغییر در ساختار آن می‌شود.<sup>۲۷</sup> مطالعه‌ی ما نیز نشان داد که در دیابت میزان کلیرانس کراتینین، غلظت اوره و کراتینین سرم افزایش و نسبت Ur:Cr کاهش قابل توجهی می‌یابد.

دلایل ایجاد آسیب‌های ناشی از نفروپاتی دیابتی را این گونه بیان می‌کنند که افزایش قند خون موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و در نهایت ایجاد نقایص کلیوی می‌شود.<sup>۲۸</sup> از طرف دیگر، مطالعه‌ها نشان داده‌اند که با افزایش استرس اکسیداتیو بر میزان ضخامت غشای پایه گلومرول‌ها افزوده شده، مزانشیم گسترش زیادی پیدا می‌کند<sup>۲۹</sup> این تغییرات منجر به هیپرتروفی شدن کلیه و کاهش عملکرد فیزیولوژیک آن مانند افزایش غلظت اوره و کراتینین، افزایش GFR<sup>۲۷</sup> و کاهش نسبت Ur:Cr می‌شود. یافته‌های ما نیز این تغییرات را نشان داد. افزایش قند خون سبب تشکیل AGEps می‌شود که خود یکی از عوامل تشکیل ROS و ایجاد آسیب‌های ناشی از آن است. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که سیر دارای توانایی پیشگیری از هیپرتروفی غده‌ی آدرنال و افزایش قند خون است. دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی سیر را حضور ترکیبات سولفوردار در آن ذکر نموده‌اند که توانایی کاهش آسیب‌های ناشی از نفروپاتی دیابتی را نیز دارا می‌باشد.<sup>۳۰</sup> گزارش‌های متناقضی مبنی بر خواص ضد دیابتی سیر ارائه شده است. برای مثال، استابا و کوررکر<sup>۳۹</sup> نشان دادند که ترکیبات شیمیایی که از سیر گرفته می‌شود به شیوه‌ی تهیه، دما، مدت زمان و از همه مهم‌تر حلالی که برای استخراج این ترکیبات



نمودار ۷- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای معیار نسبت Ur:Cr ادراری در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.001$ ) و \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه N و N+G ( $p < 0.05$ ) و \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ). N= نرمال، N+G= نرمال+سیر، D= دیابتی، D+Gb= دیابتی+سیر قبل، D+Ga= دیابتی+سیر بعد

نمودار ۸ بیانگر میانگین مصرف آب در مدت ۲۴ ساعت است. افزایش معنی‌داری در گروه D نسبت به گروه‌های N، N+G، D+G<sub>a</sub> و D+G<sub>b</sub> ( $p < 0.001$ ) مشاهده شد. همچنین، کاهش معنی‌داری در گروه D+G<sub>b</sub> نسبت به گروه‌های D+G<sub>a</sub> و N ( $p < 0.01$ ) و افزایش معنی‌داری با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ) مشاهده شد. علاوه بر آن افزایش معنی‌داری در گروه D+G<sub>a</sub> نسبت به گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ) مشاهده شد.



نمودار ۸- مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  خطای آب مصرفی در گروه‌های مختلف. \* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N، N+G، D+Gb و D+Ga ( $p < 0.001$ ) و \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ )، با گروه D+Ga ( $p < 0.01$ ) و \*\*\* اختلاف معنی‌دار با گروه‌های N و N+G ( $p < 0.001$ ). N= نرمال، N+G= نرمال+سیر، D= دیابتی، D+Gb= دیابتی+سیر قبل، D+Ga= دیابتی+سیر بعد

نمود: ۱- بهبود فاکتورهای همودینامیک کلیوی، به طوری که سیر سبب کاهش فشار خون سیستمی و کلیه‌ها می‌شود و از میزان آسیب‌های ناشی از دیابت می‌کاهد. ۲- افزایش قند و چربی خون در افراد دیابتی منجر به آسیب‌ها کلیوی می‌شوند و سیر به دلیل دارا بودن خواص ضد چربی و ضد قند خود موجب کاهش این آسیب‌ها می‌شود.<sup>۱۸،۲۰</sup> ۳- میزان تولید رادیکال‌های آزاد در دیابت افزایش می‌یابد<sup>۲۶،۱۱</sup> و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند سبب کاهش آسیب‌های ناشی از دیابت شود.<sup>۲۷</sup> بر اساس گزارش‌های دمردش، مشخص شده است که سیر باعث تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در کلیه‌ی موش‌های صحرایی در نتیجه کاهش آسیب‌های نفروپاتی دیابتی می‌شود.<sup>۲۳</sup> ۴- با توجه به این‌که سیر دارای خواص ضد التهابی است، احتمال می‌رود با کاهش رهاسازی فاکتورهای رشد و التهابی سبب کاهش آسیب‌های ناشی از نفروپاتی دیابتی شود.<sup>۲۳</sup>

در این مطالعه برای اولین بار نشان داده شد که مصرف سیر موجب افزایش معنی‌داری در نسبت اوره به کراتینین در موش‌های دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌ها می‌شود. مصرف سیر قبل از تزریق STZ در گروه  $D+G_b$  موجب کاهش زیاد آسیب‌های کلیوی ناشی از دیابت مانند کاهش قند خون، کراتینین سرم، کراتینین ادرار، GFR، اوره‌ی سرم، مصرف آب و افزایش نسبت اوره به کراتینین ادرار و اوره‌ی ادرار می‌شود به طوری که اختلاف معنی‌داری با گروه  $D+G_a$  در این زمینه وجود داشت. همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه  $D+G_b$  در مقایسه با گروه‌های N و  $N+G$  مشاهده نشد. با توجه به این‌که در مورد خواص پیشگیرانه‌ی سیر مطالعه‌های بسیار اندکی انجام شده است، با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی سیر که قبلاً اثبات شده، احتمال می‌رود که سیر با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در کلیه موجب کاهش بسیار شدید این آسیب‌ها شود. در این مطالعه مشاهده شد که سیر می‌تواند هر دو نقش درمانی و پیشگیری کننده را در زمینه‌ی عوارض کلیوی ناشی از دیابت ایفا نماید. با مطالعه‌های بعدی این امید می‌رود که سیر در سبب غذایی روزانه‌ی خانوارها قرار گیرد.

از آن استفاده می‌شود بستگی دارد و بر همین اساس روحانی و بلوچ‌نژاد مجرد نتوانستند خواص ضد دیابتی عصاره‌ی آبی سیر را نشان دهند و عنوان کردند که عصاره‌ی آبی سیر فقط تأثیر معنی‌داری بر فعالیت عروق می‌گذارد.<sup>۲۱، ۲۲</sup> مشخص شده است که حدود ۱/۳ از افراد دیابتی که به هنگام درمان‌های دارویی از سیر نیز استفاده کرده‌اند بهبودی بیشتر یافته‌اند.<sup>۲۳</sup> مشابه با یافته‌های دمردش<sup>۲۳</sup> در مطالعه‌ی ما دیده شد که آب سیر باعث کاهش قند خون در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی سیر می‌شود. علاوه بر این، میزان قند خون در گروه  $D+G_b$  نسبت به گروه  $D+G_a$  کاهش معنی‌داری را نشان داد. عمل هیپوگلیسمیک سیر می‌تواند به واسطه‌ی افزایش ترشح انسولین از پانکراس، آزاد شدن انسولین از باندهای انسولینی و یا افزایش حساسیت گیرنده‌ها به انسولین باشد.<sup>۲۴</sup>

آگوستی و شیلان نشان دادند که آلیسین توانایی کاهش آسیب‌های کلیوی ناشی از دیابت را در موش‌های صحرایی دارد و همانند انسولین و گلی‌بن‌کلامید عمل می‌کند.<sup>۲۵</sup> طی مطالعه‌های انجام شده مشخص شده که عصاره‌ی سیر از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی خود موجب کاهش ۵۰٪ در میزان کلیرانس کراتینین<sup>۵</sup> و کاهش اوره سرم می‌شود. مطالعه‌های دیگری نشان داد که مصرف ۱۶ هفته‌ای روغن سیر در موش‌های دیابتی منجر به کاهش کلیرانس کراتینین و بهبود عملکرد کلیه شده است. این یافته‌ها مشابه یافته‌های به دست آمده از آزمایش‌های ما است که مصرف آب سیر توانست سبب بهبود عوارض کلیوی در گروه  $D+G_a$  شود. علاوه بر این، مصرف سیر به مدت ۳ هفته قبل از تزریق STZ (گروه  $D+G_b$ ) توانست آسیب‌های ناشی از نفروپاتی دیابتی (افزایش غلظت کراتینین و اوره سرم، GFR) را به صورت چشمگیری کاهش دهد به طوری که با گروه  $D+G_a$  نیز دارای اختلاف معنی‌دار بود. همچنین، در این مطالعه نشان داده شد که میزان ازت می‌پس‌کلیوی که در اثر دیابت ایجاد می‌شود و منجر به آسیب‌های پیشرونده‌ی کلیوی می‌شود در اثر مصرف سیر کاهش معنی‌داری می‌یابد. سازوکارهای مختلفی در بهبود بیماری‌های ناشی از دیابت نقش دارند که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره

## References

1. Thomson M, Al-Amin ZM, Al-Qattan KK, Shaban LH, Muslim A. Anti-diabetic and Hypolipidemic properties of garlic (*Allium sativum*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Diabetes & Metabolism* 2007; 15: 108-15.
2. Rainer L, Schleicher ED. Molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Clinica Chimica Acta* 2000; 297: 135-44.
3. Kodera Y, Ayabe M, Ogasawara K, Yoshida S, Hayashi N, Ono K. Allixin accumulation with long-term storage of garlic. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2002; 50: 405-7.
4. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006; 13:624-9.
5. Al-Qattan KK, Thomson M, Al-Mutawa'a S, Al-Hajeri D, Drobiova H, Ali M. Nitric oxide mediates the blood-pressure lowering effect of garlic in the rat two-kidney, one-clip model of hypertension. *J Nutr* 2006; 136 Suppl 3: S774-6.
6. Thomas L, Huber AR. Renal function--estimation of glomerular filtration rate. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 1295-302.
7. Wu YG, Lin H, Qi XM, Wu GZ, Qian H, Zhao M, et al. Prevention of early renal injury by mycophenolate mofetil and its mechanism in experimental diabetes. *Int Immunopharmacol* 2006; 445-53.
8. American Diabetes Association. Standard of medical care in diabetes. *Diabetes care* 2008 Suppl 1: S12-54.
9. Ahmad MS, Ahmed N. Antiglycation properties of aged garlic extract: possible role in prevention of diabetic complications. *J Nutr* 2006; 136(3Suppl):796S-9S.
10. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes* 2008; 57: 1446-54.
11. Pedraza-Chaverri J, Gonzalez-Orozco AE, Maldonado PD, Barrera D, Medina-Campos ON, Hernandez-Pando R. Diallyl disulfide ameliorates gentamicin-induced oxidative stress and nephropathy in rats. *Eur J Pharmacol* 2003 18; 473:71-8.
12. Wongmekiat O, Thamprasert K. Investigating the protective effects of aged garlic extract on cyclosporine-induced nephrotoxicity in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19: 555-62.
13. Liu CT, Sheen LY, Lii CK. Does garlic has a role as an antidiabetic agent? *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 1353-64.
14. Augusti KT. Therapeutic values of onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.). *Indian J Exp Biol* 1996; 34: 634-40.
15. Ajabnoor MA. Effects of aloes on blood glucose levels in normal and alloxan diabetic mice. *J Ethnopharmacol* 1990; 28: 215-20.
16. Mathew BC, Daniel RS, Augusti KT. Hypolipidemic effect of garlic protein substituted for casein in diet of rats compared to those of garlic oil. *Indian J Exp Biol* 1996; 34: 337-40.
17. Tessema B, Mulu A, Kassu A, Yismaw G. An in vitro assessment of the antibacterial effect of garlic (*Allium sativum*) on bacterial isolates from wound infections. *Ethiop Med J* 2006; 44: 385-9.
18. Amonkar SV, Banerjee A. Isolation and characterization of larvicidal principle of garlic. *Science* 1971; 174: 1343-4.
19. Zheng F, He C, Cai W, Hattori M, Steffes M, Vlassara H. Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet low in glycoxidation products. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18: 224-37.
20. Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD, Medina-Campos ON, Olivares-Corichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernandez-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 602-11.
21. El-Shenawy SM, Hassan NS. Comparative evaluation of the protective effect of selenium and garlic against liver and kidney damage induced by mercury chloride in the rats. *Pharmacol Rep* 2008; 60: 199-208.
22. Marice AD, Abd-Allah GM, El-Yamany MF. Renal oxidative stress and nitric oxide production in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats: the possible modulatory effects of garlic (*Allium sativum* L.). *Biotechnol Appl Biochem* 2009; 52:227-32.
23. El-Demerdash FM, Yousef MI, El-Naga NIA. Biochemical study on the hyperglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 2005; 43: 57-63.
24. Hosseinzadeh H, Ramzani M, Danaei AR. Antihyperglysemic effect and acute toxicity of *Securigera securidaca* L. seed Extracts in mice. *Phytotherapy Research* 2002; 16: 745-7.
25. Hall JE, Guyton AC, Farr BM. A single-injection method for measuring glomerular filtration rate. *Am J Physiol* 1977; 232: 72- 6.
26. Ahmed MH, Osman MM. Improving laboratory diagnosis of diabetic nephropathy with the use of glomerular filtration rate. *Diabetes Technol Ther* 2006; 8: 688-90.
27. Rosolowsky ET, Niewczas MA, Ficociello LH, Perkins BA, Warram JH, Krolewski AS. Between hyperfiltration and impairment: demystifying early renal functional changes in diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2008 13; 82 Suppl 1:S46-53.
28. Sharma S, Kulkarni SK, Chopra K. Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*), ameliorates diabetic nephropathy in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 940-5.
29. Jäckle-Meyer I, Szukics B, Neubauer K, Metzke V, Petzoldt R, Stolte H. Extracellular matrix proteins as early markers in diabetic nephropathy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33: 211-9.
30. Moreno FJ, Corzo-Martínez M, del Castillo MD, Mar V. Changes in antioxidant activity of dehydrated onion and garlic during storage. *Food Research International* 2006; 39: 891-7.
31. Baluchnejadmojarad T, Rohgani M. Endothelium dependent and -independent effect of aqueous extract of garlic on vascular reactivity on diabetic rats. *Filoterapia* 2003; 74: 630-37.
32. Baluchnejadmojarad T, Rohgani M. Garlic extract attenuates time-dependent changes in the reactivity of isolated aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Life Sci* 2003; 73: 2281-9.
33. Ryan EA, Pick ME, Marceau C. Use of alternative medicines in diabetes mellitus. *Diabet Med* 2001; 18:242-5.



34. Taghizadeh Afshari A, Shirpoor A, Farshid A, Saadatian R, Rasmi Y, Saboory E. The effect of ginger on diabetic nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation in rats. *Food Chemistry* 2007;101: 148-153.
35. Sheela CG, Kumud K, Augusti KT. Anti-diabetic effects of onion and garlic sulfoxide amino acids in rats. *Planta Med* 1995; 61: 356-7.
36. Coughlan MT, Mibus AL, Forbes JM. Oxidative stress and advanced glycation in diabetic nephropathy. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1126: 190-3.
37. Haidara MA, Mikhailidis DP, Rateb MA, Ahmed ZA, Yassin HZ, Ibrahim IM. Evaluation of the effect of oxidative stress and vitamin E supplementation on renal function in rats with streptozotocin-induced Type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2009; 23: 130-6.
38. Romen W, Takahashi A. Autoradiographic studies on the proliferation of glomerular and tubular cells of the rat kidney in early diabetes. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1982; 40: 339-45.
39. Liu C-T, Hse H, Lii C-K, Chen P-S, Sheen L-Y. Effects of garlic oil and diallyl trisulfide on glycemic control in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 516: 165-73.

Original Article

## Preventive Effects of Garlic Juice on Renal Damages Induced by Diabetes Mellitus in Rats

Rashki Kemmak M<sup>1</sup>, Gol A<sup>1</sup>, Dabiri SH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, (Cell and Endocrine Research Center);

<sup>2</sup>Department of Pathology, Afzalipour Medical School, Kerman, IR.Iran

e-mail: agol@mail.uk.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Since all previous studies on the ameliorative effects of garlic in diabetic nephropathy have been conducted after diabetes induction, we decided to assess its preventive role on renal complications in diabetes. **Materials and Methods:** Forty male rats were divided into 5 groups as follows: 1- Group normal (N) 2- Group Normal+Garlic (N+G), received garlic juice for 6 weeks. 3- Diabetic (D) received STZ, 60 mg/kg BW /i.p. 4- Group diabetic+garlic before (D+Gb), received garlic juice for 3 weeks before STZ injection and continued for over three weeks. 5- Group diabetic+garlic after (D+Ga), three days after STZ injection, they received garlic juice for 3 weeks. Garlic juice was given by gavage (1ml/100g BW). **Results:** Diabetic rats showed significant increase in serum creatinine and urea, creatinine clearance (GFR), water intake, and decreased urinary urea to creatinine ratio (Ur:Cr), compared to the other groups ( $P<0.0001$ ). Administration of garlic juice in diabetic rats restored these changes towards normal to some extent. Long-term consumption of garlic juice in group D+Gb caused significant improvement, compared to that seen in group D+Ga. **Discussion:** In this study, for the first time, we showed that administration of garlic juice before diabetes induction resulted in enhanced amelioration of renal complications compared to the group receiving it after induction, indicating that garlic juice can play both a preventive and a therapeutic role in such patients.

**Keywords:** Diabetes mellitus, Garlic, Nephropathy, Rat