بررسی اثرات عصاره الکلی دانه سیاهدانه بر سنگ کلیه ناشی از اتیلن گلیکول در رت

*[1]دکتر موسی الرضا حاج زاده ، [2] دکتر علیرضا خویی، [3] دکتر محمد رضا پریزاده، [4] دکتر زهرا حاج زاده

چکیده

هدف

سنگ های ادراری از شایع ترین بیماریهای سیستم ادراری هستند که علاوه بر هزینه های سنگین درمان، گاه برای خارج کردن آن ها نیاز به عمل جراحی و یا شکستن آن می باشد. عوارض جانبی و احتمالی سنگ ها نیز قابل توجه است و لذا تشخیص و درمان زودرس سنگ های کلیه و مجاری ادراری و دفع آن، می تواند از بزرگ شدن سنگ و عوارض بعدی آن جلوگیری کند. تخم سیاهدانه از مواد مفید و موثری است که خواص ضد دردی، ضد التهابی، کاهش چربی های سرم، تغییر فعالیت برخی از آنزیم ها و افزایش گلوتاتیون در بافت کلیه و نیز بهبود و ترمیم بافتی. پس از ایجاد سمیت کلیوی برای آن گزارش شده است. هدف این پژوهش بررسی اثرات احتمالی عصاره اتانولی دانه سیاهدانه بر روی سنگ کلیه ناشی از اتیلن گلیکول در رت می باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه ۳۲ سر رت نر از نژاد ویستار به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه (A) کنترل سالم، که در آب آشامیدنی به میزان ۱٪ آب مقطر در مدت تجربه، دریافت کردند و به آب آشامیدنی گروه (B) کنترل منفی، گروه (C) پیشگیری و گروه (D) درمان به مدت ۳۰ روز اتیلن گلیکول به مقدار ۱٪ اضافه شد. در گروه C از شروع تجویز اتیلن گلیکول و در گروه D از روز چهاردهم پس از شروع تجویز اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی، روزانه ۲۵۰mg/kg وزن بدن از عصاره اتانولی دانه سیاهدانه به آب مصرفی رت ها اضافه شد. جهت اندازه گیری اگزالات کلسیم ادرار در روزهای صفر (قبل از شروع تجربه) ۷، ۱۴ و ۳۰ هر یک از رت ها را داخل قفس متابولیک گذاشته و نمونه ادرار ۲۴ ساعته آن ها جمع آوری شد. در پایان تجربه تمام رت ها با گیوتین کشته شدند و کلیه آن ها به سرعت جدا گردید، سپس با روش های آسیب شناسی برش هایی از هر کلیه آماده شد و با میکروسکوپ نوری و درشت نمایی ۴۰×۱۰ از نظر حضور تجمعات اگزالات کلسیم بررسی شد. اگزالات کلسیم ادرار نیز با اسپکتروسکوپ جذب اتمی اندازه گیری شد.

نتایج

نتایج نشان می دهد که در گروه B، تعداد تجمع سنگ های کلیوی (۹/۸۸ ± ۵۵/۰۵) در مقایسه با گروه A (بدون تجمع بلور) افزایش معنی داری یافته است ($p<0/001$). در گروه C (۷/۴ ± ۱۹/۷۵) و D (۹۷/۸ ± ۲۴/۱۴) تعداد تجمعات سنگ ها در مقایسه با گروه B به طور معنی داری کاهش یافته ($p<0/05$) ولی در مقایسه با گروه A تفاوت معنی داری ندارند. بررسی بیوشیمیایی ادرار در پایان تجربه (روز سی ام)، افزایش معنی دار اگزالات کلسیم ادرار را در گروه B (۱/۲۶ mg/dl ± ۱۵/۵۷) در مقایسه با گروه های A (۱ ± ۸/۴۳) و C (۰/۷ ± ۸/۱) ($p<0/001$) و در مقایسه با گروه D (۱/۲ ± ۱۰/۶۴) ($p<0/05$) نشان می دهد.

نتیجه گیری

یافته های این پژوهش نشان می دهد، عصاره الکلی سیاهدانه در جلوگیری از تجمع کریستالهای اگزالات کلسیم و در خرد کردن سنگ کلیه موثر است. اگرچه مکانیسم این اثرات معلوم نیست اما شاید بتوان این اثرات را به خواص ضد چربی و ضد التهابی سیاه دانه و دخالت در فرایند تخریب سلولی آن مرتبط دانست و لذا می توان مصرف آن را برای موارد انسانی نیز توصیه کرد.

کلمات کلیدی: سیاهدانه، سنگ کلیه، اتیلن گلیکول، اگزالات کلسیم، سنگ های ادراری، رت.

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

* نویسنده مسئول، تلفن: ۸٤۱۳۵۷۹ ، ۸٤٤۰۳۵۰ - ۰۵۱۱، MS-Hajzadeh@MUMS.ac.ir

۲- دانشیار گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

٤- دکترای داروسازی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سنگ های کلیوی پس از عفونت های ادراری و اختلالات پاتولوژیک پروستات، سومین بیماری شایع دستگاه ادراری هستند (۱). اکثر افراد مبتلا به سنگ های کلیوی از دردهای شدید کولیکی رنج می برند که غالبا با داروهای رایج ضد درد از بین نمی رود و برای تسکین درد از داروهای مخدر استفاده می شود. در بیماران مبتلا به سنگ کلیه علاوه بر درد، ممکن است انسداد شدید مجاری ادرار و هیدرونفروز، عفونت و خونریزی شدید مجاری ادرار نیز ایجاد شود که در برخی موارد نیاز به خارج کردن سنگ با عمل جراحی و یا شکستن آن است. درمان جراحی و یا شکستن سنگ علاوه بر هزینه های سنگینی که به بیمار تحمیل می کند، عوارض جانبی متعددی از جمله عفونت دستگاه ادراری دارد که ممکن است علاوه بر آسیب شدید بافت کلیه موجب عفونت عمومی بدن شود. با توجه به هزینه های بالای درمانی و عوارض جانبی متعاقب ابزار گذاری و جراحی مجاری ادرار، امروزه توجه ویژه ای به مصرف فراورده های گیاهی شده است.

تجزیه سنگ های ادراری نشان می دهد که سنگ های اگزالات کلسیم حداکثر شیوع با میزان ۵۸/۸٪ دارد (۲). یون اگزالات در چای، قهوه و سبزیجاتی مانند اسفناج به فراوانی یافت می شود. ۸۰٪ اگزالات موجود در ادرار منشا اندوژن دارد و در کبد از اسید آسکوربیک و گلیسین ساخته می شود. پس از جذب اگزالات از روده باریک، اگزالات جذب شده در پلاسما و بافتها متابولیزه نمی شود بلکه به همان صورت در ادرار ظاهر می شود. وجود کلسیم در روده باریک عامل مهمی در جذب اگزالات است. منیزیم و سدیم ادرار نیز ممکن است با اگزالات کمپلکس تشکیل دهند، لذا کنترل میزان اگزالات دفعی از ادرار نقش مهمی در تشکیل سنگ های اگزالات کلسیم دارد (۱).

تخم سیاهدانه از مواد مفید و موثری است که خواص درمانی بسیاری از جمله اثرات ضد درد، ضد التهاب (۳)، ضد تشنج (۴، ۵)، آنتی اکسیدان (۶)، کاهش چربیهای سرم(۷)،کاهش قند خون (۸)،کاهش اوره سرم و تری گلیسریدها و کلسترول تام (۹) و تغییر فعالیت برخی آنزیم ها و اثرات ضد سرطان (۱۰) برای آن گزارش شده است. در کتاب معارف گیاهی (۱۱) خوردن آن با عسل برای خرد کردن سنگ کلیه و مثانه و در کتاب مخزن الادویه (۱۲) نیز خوردن آن با آب و عسل برای خرد کردن سنگ کلیه و مثانه در انسان پیشنهاد شده است . با توجه به این موارد در این مطالعه اثر عصاره اتانولی دانه سیاهدانه در جلوگیری از تشکیل سنگ کلیه در رت مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

تیمار حیوانات: تعداد ۳۲ سر رت نر از نژاد ویستار با میانگین وزن g ۱۰ ± ۲۰۰ به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم گردیدند. رت ها در شرایط استاندارد با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی گراد و با سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طول تجربه حیوانات به آب آشامیدنی و غذا دسترسی آزاد داشتند و تیمار رت های هر گروه در طول ۳۰ روز تجربه به صورت زیر انجام شد:

گروه کنترل سالم (A): به آب آشامیدنی این گروه در طول مدت تجربه معادل ۱٪ آب مقطر اضافه شد.

گروه کنترل منفی(B): به آب آشامیدنی این گروه ۱٪ اتیلن گلیکول در طول مدت تجربه اضافه شد. در طی دوره آزمایش، این گروه هیچ درمان دیگری دریافت نکرد. تجویز اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی برای تشکیل سنگ اگزالات کلسیم یک روش تایید شده است (۱۳، ۱۴، ۱۵). آب مصرفی رت های گروه C و D در طول تجربه در هر شبانه روز اندازه گیری شد تا مقدار عصاره لازم برای هر رت محاسبه و روزانه به طور تازه به آب اضافه شود.

گروه پیشگیری (C): در این گروه از روز اول تا پایان تجربه همراه با تجویز اتیلن گلیکول ۱٪ ، ۲۵۰ mg/ kg body weight (B.W) از عصاره اتانولی سیاهدانه- که به روش سوکسله تهیه شده بود- نیز به آب آشامیدنی رت ها اضافه شد.

گروه درمان (D): در این گروه رت ها از روز اول ۱٪ اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی دریافت کردند و از روز چهاردهم نیز تا پایان تجربه همراه با اتیلن گلیکول معادل ۲۵۰mg/ kg وزن بدن از عصاره اتانولی سیاهدانه دریافت نمودند.

Archive of SID

www.SID.ir

جمع آوری ادرار: جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته رت های هر گروه در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۳۰ پژوهش به طور انفرادی و در قفس متابولیک انجام شد. هر رت پس از توزین داخل قفس متابولیک قرار گرفت و بعد از ۲۴ ساعت نمونه های ادرار جمع آوری و هر نمونه تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد.

بررسی بیوشیمیایی: اگزالات کلسیم ادرار با روش بیوشیمیایی، دستگاه جذب اتمی (Atomic absorbtion) اندازه گیری شد(۱۶). بعد از آماده شدن نمونه ها جذب هر نمونه با اسپکتروسکوپ جذب اتمی در طول موج ۴۲۲/۷ نانومتر خوانده شد.

بررسی آسیب شناسی: بعد از تیمار رت ها به مدت ۳۰ روز، در روز سی و یکم رت ها با اتر به طور ملایم بیهوش و سپس کشته شدند و کلیه آن ها به سرعت جدا شد. پس از وزن کردن، هر جفت کلیه داخل لوله محتوی فرمالین قرار داده شد و برای بررسی آسیب شناسی به بخش آسیب شناسی بیمارستان امام رضا (ع) ارسال گردید. برشهای میکروسکوپی به ضخامت ۵ میکرون از نقاط مختلف کلیه رت ها تهیه و با روش هماتوکسیلین – ائوزین رنگ آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری المپوس مورد مطالعه قرار گرفتند. در هر برش ۱۰ میدان میکروسکوپی با درشت نمایی(۴۰×۱۰) به طور تصادفی انتخاب شد و تعداد بلورهای اگزالات (لوله های حاوی این بلورها) در این میادین میکروسکوپی شمارش و با توجه به تعداد میادین در هر لام و نمونه، تعداد بلورهای اگزالات به صورت میانگین گزارش شد.

محاسبات آماری: برای تجزیه و تحلیل داده ها از برنامه نرم افزاری Instat استفاده شد و سپس برای مقایسه گروه ها با یکدیگر آزمون ANOVA و متعاقب آن تست Tukey- Kramer انجام شد. نمودارها نیز با استفاده از برنامه نرم افزاری Excel رسم شدند.

نتایج

عصاره گیری

عصاره گیری دانه سیاهدانه با روش سوکسله انجام شد و در این روش از هر ۱۰۰g پودر سیاهدانه، ۳۳/۳g عصاره الکلی به رنگ قهوه ای تیره به دست آمد که در آب با کمک توئین ۸۰ به خوبی حل شد.

نتایج بررسی بیوشیمیایی ادرار

همان طور که جدول ۱ نشان می دهد در روز صفر مقادیر اگزالات کلسیم ادرار ۲۴ ساعته رت های تمام گروهها یکسان و هیچگونه تفاوت معنی داری مشاهده نشد. در روز هفتم نیز مقادیر اگزالات کلسیم ادرار ۲۴ ساعته رت های تمام گروهها تفاوت معنی داری نشان نداد. در روز چهاردهم غلظت اگزالات کلسیم ادرار ۲۴ ساعته گروه کنترل منفی (۱۳/۴۷±۰/۵۹) نسبت به گروه کنترل سالم (۸/۸۸±۰/۴۴) و گروه پیشگیری (۹/۳۹±۱/۲۶) افزایش معنی داری یافته بود ($p< ۰/۰۵$). در روز سی ام غلظت اگزالات کلسیم ادرار ۲۴ ساعته گروه کنترل منفی (۱۵/۵۷±۱/۲۶) نسبت به گروه کنترل سالم (۸/۴۳±۱) و گروه پیشگیری (۸/۱±۰/۷۰) افزایش معنی داری نشان داد ($p< ۰/۰۰۱$). همچنین غلظت اگزالات کلسیم ادرار ۲۴ ساعته گروه پیشگیری و گروه درمان با سیاهدانه نسبت به گروه کنترل منفی به طور معنی داری به ترتیب با $p< ۰/۰۰۱$ و $p< ۰/۰۵$ کاهش یافته بود. غلظت اگزالات ادرار گروه های کنترل سالم و پیشگیری و درمان با سیاهدانه تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۱).

نتایج بررسی آسیب شناسی

بررسی آسیب شناسی جهت تشخیص آسیب احتمالی به بافت و شمارش بلورهای اگزالات کلسیم در بافت کلیه انجام شد که این رسوبات به صورت بلورهای شفاف در لوله های کلیوی با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده بودند (اشکال ۶-۱).

گروه کنترل سالم (A)

همانطور که شکل ۱ نشان می دهد تمام سطح برشهای بافتی کلیه ها در این گروه با میکروسکوپ نوری با درشت نمایی های مختلف میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت و در هیچ یک از لوله های ادراری بافت کلیه ی رت های این گروه هیچ بلور و یا آسیب کلیوی مشاهده نشد. تعداد تجمع بلوری اگزالات کلسیم در ۱۰ میدان میکروسکوپی در گروه کنترل سالم با گروه کنترل منفی تفاوت معنی داری را نشان می دهد ($p<۰/۰۰۱$) ولی در مقایسه با گروههای پیشگیری و درمان تفاوت معنی داری ندارد ($p>۰/۰۵$) (شکل ۷).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: غلظت اگزالات کلسیم ادرار ۲٤ ساعته گروههای مختلف بر حسب mg/dl.

زمان / گروه	A	B	C	D
روز صفر	٦/۲۷ ± ۱/۱۳۳	٤/۹۳ ± ۱/۱۷۳	۷/٦۸ ± ۰/٦۳۰	۷/۱۷ ± ۰/۵۱
روز هفت	۸/۷٦ ± ۰/٦۸۸	۹/۳۱ ± ۰/۹٦۰	۷/۳۱ ± ۱/۱۱۵	۸/٦۳ ± ۰/۵۷۸
روز چهارده	۸/۸۸ ± ۰/٤٤۵	۱۳/٤۷ ± ۰/۵۸۹ *	۹/۳۹ ± ۱/۲۵٦ ☆	۱۲/٦۸ ± ۱/۲۳۳
روز سی	۸/٤۳ ± ۱/۰۰٤	۱۵/۵۷ ± ۱/۲٦۳ ***	۸/۱ ± ۰/۷۰٤ ☆☆☆	۱۰/٦٤٦ ± ۱/۲۰۲ ★

میزان اگزالات کلسیم بر حسب Mean±SEM می باشد. $p<0/05$ * اختلاف معنی دار بین گروه کنترل منفی با گروه کنترل سالم، $p<0/05$☆ اختلاف معنی دار بین گروه کنترل منفی با گروه پیشگیری، $p<0/001$*** اختلاف معنی دار بین گروه کنترل منفی با گروه کنترل سالم ، $p<0/001$☆☆☆اختلاف معنی دار گروه کنترل منفی با پیشگیری و $p<0/05$ ☆ اختلاف معنی دار بین گروه کنترل منفی با گروه درمان می باشند.

گروه کنترل منفی (B)

در این گروه که در تمام سی روز مطالعه، اتیلن گلیکول دریافت می کردند، اگزالات کلسیم به فراوانی در بافت کلیه رسوب کرده بود به گونه ای که در بررسی میکروسکوپی بافت کلیه تجمعات گسترده ای از بلورهای اگزالات کلسیم در تعداد زیادی از لوله های ادراری و در قسمتهای مختلف لوله نظیر لوله پروگزیمال، لوله هنله، لوله دیستال و مجاری جمع کننده (شکل ۲) و حتی در کالیس ها (شکل ۳) دیده شد. واحد شمارش شامل بلورهای چند ضلعی و بزرگی بود که اغلب به صورت گروه های ۴ - ۳ تایی تجمع یافته بودند. در این گروه معادل ۹/۸۸۰ ± ۵۵/۰۵ واحد بلور در ده میدان به طور تصادفی شمارش شد. روند تشکیل بلور به نحوی بوده که در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معنی داری را نشان می داد ($p<0/001$) و از طرف دیگر در مقایسه با گروه پیشگیری و درمان نیز تفاوت معنی داری داشت ($p<0/05$) (شکل ۷).

گروه پیشگیری (C)

این گروه از روز اول تجربه همراه با اتیلن گلیکول عصاره سیاهدانه دریافت نمود. در بررسی میکروسکوپی بافت کلیه ها در این گروه تعداد بسیار کمی بلور مشاهده شد. به طرز جالب توجهی اندازه این بلورها بسیار کوچکتر از بلورهای مشاهده شده در بافت کلیه گروه کنترل منفی بود. در این بافتها هر واحد شامل تجمعی از ۲ تا ۳ بلور کوچک بود و تعداد واحدهای شمارش شده در ده میدان معادل ۷/۳۹۸ ± ۱۹/۷۵ به دست آمد. در مقایسه گروه ها با تست ANOVA و سپس Tukey- Kramer این گروه تفاوت معنی داری با گروه کنترل منفی داشت ($p<0/05$) و هیچ تفاوت معنی داری با سایر گروه ها نداشت ($p>0/05$).

گروه درمان (D)

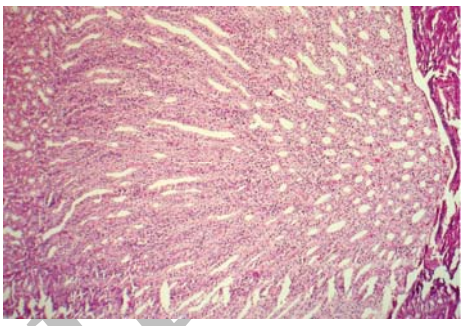
این گروه از روز اول فقط اتیلن گلیکول و از روز چهاردهم همراه با آن، عصاره سیاهدانه در آب آشامیدنی دریافت کردند. در بررسی میکروسکوپی نمونه های بافتی، بلورهای اگزالات کلسیم با ابعاد متفاوت از بزرگ تا کوچک در لوله های ادراری به وضوح دیده شدند که قسمت های بیشتری از بافت کلیه را درگیر نموده بودند. ده میدان میکروسکوپی به صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفت که هر واحد بلور شمارش شده شامل تجمعات ۴-۳ تایی بلورهای اگزالات کلسیم بود. تجمعات شمارش شده در این گروه معادل ۹/۰۷۸ ± ۲۴/۱۴ بود. در مقایسه گروهها با تست ANOVA و سپس Tukey-Kramer این گروه تفاوت معنی داری با گروه کنترل منفی نشان داد ($p<0/05$) و در مقایسه با گروه های کنترل سالم و پیشگیری هیچ تفاوت معنی داری نداشت ($p>0/05$).

وزن کلیه ها

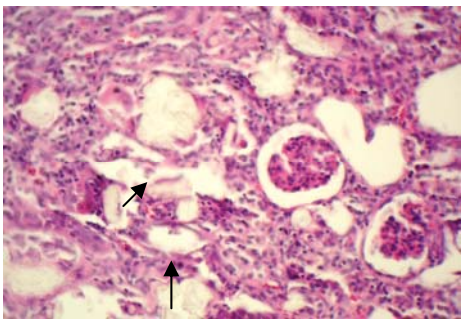
همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود میانگین وزن کلیه ها در پایان تجربه در گروه دریافت کننده اتیلن گلیکول ۰/۳۴±۳ گرم و به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل سالم (۰/۱۹±۱/۹۲) است. در گروه های پیشگیری و درمان میانگین وزن کلیه ها تفاوت معنی داری با گروه کنترل منفی ندارد.

Archive of SID

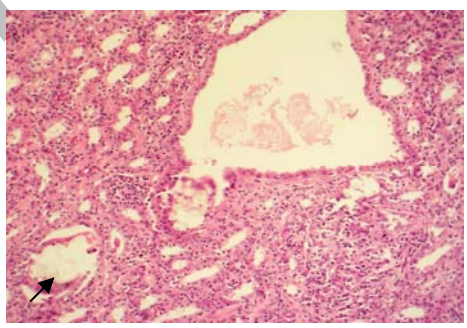
www.SID.ir



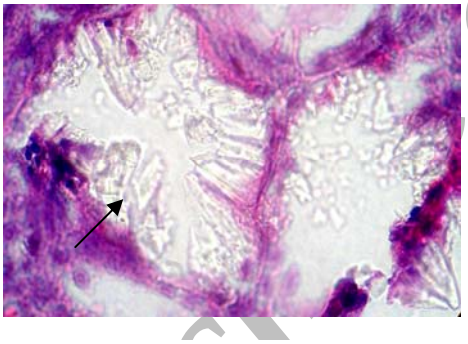
شکل ۱: نمای مدولا و پاپی کلیه طبیعی بدون سنگ، درشت نمایی (۲۰×۱۰)، رنگ آمیزی H/E.



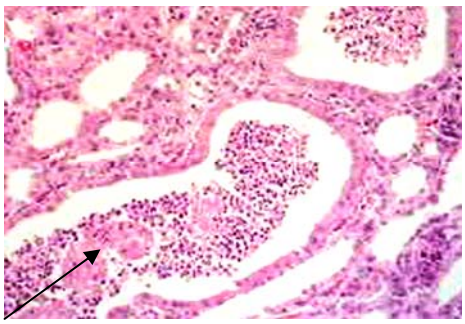
شکل ۲: سنگ های کلیوی در لوله های مختلف ادراری همراه با اتساع آن ها در اثر مصرف اتیلن گلیکول، درشت نمایی (۴۰×۱۰)، رنگ آمیزی H/E.

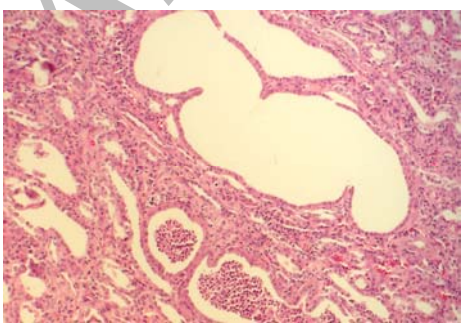


شکل ۳: بقایای سنگ در کالیسهای کلیوی، درشت نمایی (۲۰×۱۰)، رنگ آمیزی H/E.



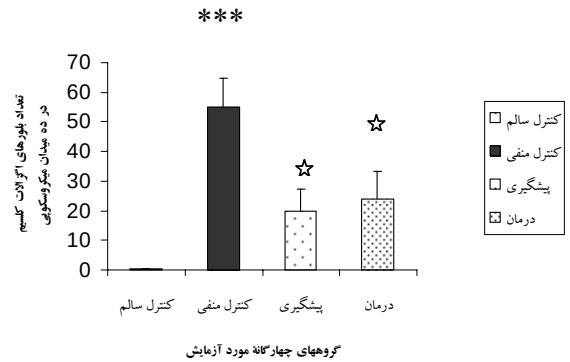
شکل ٤: بلورهای اگزالات کلسیم، درشت نمایی (۱۰۰×۱۰)، رنگ آمیزی H/E.





شکل ۵ و ٦: آسیب به لوله های ادراری در اثر بلورهای تشکیل شده به صورت تخریب سلول های پوششی و واکنش لکوسیتی با تشکیل سیلندر گرانولر لکوسیتی همراه با اتساع لوله ها، رنگ آمیزی H/E ، ۵: درشت نمایی (۴۰×۱۰) ، ٦: درشت نمایی (۱۰×۱۰) .

www.SID.ir



شکل ۷: تعداد تجمعات بلورهای اگزالات کلسیم بافت کلیه در رت های مورد آزمایش. نتایج به صورت Mean ± SEM می باشد. ۰/۰۰۱>p*** اختلاف معنی دار گروه کنترل منفی با گروه کنترل سالم و ۰/۰۵>p☆ اختلاف معنی دار گروه کنترل منفی با گروه های پیشگیری و درمان را نشان می دهند.

جدول ۲: میانگین وزن کلیه رت های گروههای مورد آزمایش بر حسب گرم

گروهها	کنترل سالم	کنترل منفی	پیشگیری	درمان
وزن کلیه	۱/۹۱۹±۰/۱۹	۳/۰۰۰±۰/۳۴۵ *	۲/۹۸۵ ±۰/۱۳۲	۲/۴۰۷±۰/۲۲۴

بحث و نتیجه گیری

مهمترین یافته این پژوهش اثرات عصاره الکلی سیاهدانه بر جلوگیری از تشکیل سنگ های اگزالات کلسیم در گروه پیشگیری و کاهش تعداد سنگ ها در گروه درمان است و همان طور که در شکل(۷) دیده می شود عصاره الکلی سیاهدانه با دوز مورد استفاده در این پژوهش به طور معنی داری (p< ۰/۰۵) در هر دو گروه پیشگیری و درمان تعداد تجمعات بلورهای اگزالات کلسیم را کاهش داده است، به نحوی که با گروه کنترل سالم تفاوت معنی داری ندارد (p> ۰/۰۵). با توجه به اینکه در گروه درمان در مدت زمان دو هفته از تجویز اتیلن گلیکول، سنگ های اگزالات کلسیم تشکیل شده و تجمعات بلوری شکل می گیرد، می توان گفت که عصاره سیاهدانه موجب خرد کردن و خروج سنگ های اگزالات کلسیم شده است. یافته های ما در این مطالعه، آشکارا نشانگر اثرات کاهش دهنده سنگ های کلیوی اگزالات کلسیم هم در گروه پیشگیری و هم در گروه درمان است که اهمیت اثرات عصاره را نشان می دهد. برحسب اطلاع ما تاکنون مطالعه ای که در آن اثر عصاره های سیاهدانه بر سنگ کلیه بررسی شده باشد وجود ندارد و لذا در خصوص چگونگی اثرات سیاهدانه بر سنگ کلیه و مکانیسم های احتمالی آن به طور دقیق نمی توان اظهار نظر نمود.

در ادرار رت های مبتلا به سنگ کلیوی اگزالات کلسیم، هم یون کلسیم و هم یون اگزالات افزایش می یابد و علاوه بر شرایط مذکور بالا بودن سطح پتاسیم و کاهش سطح منیزیم سرم نیز در سنگ سازی دخالت دارد. در مطالعه ای که توسط Christina و همکاران بر روی سنگ اگزالات کلسیم در رت انجام شد، تجویز پودر ریشه گیاه *Cyclea pellata* توانست سنگ سازی را مهار کند. در پژوهش مذکور کاهش اگزالات کلسیم ادرار و کاهش پتاسیم و افزایش منیزیم سرم بر اثر تجویز عصاره مشاهده شد که اثر مهاری گیاه بر سنگ اگزالات کلسیم را مربوط به تغییرات مذکور دانستند (۱۳). در پژوهش دیگری رت های تغذیه شده با کلسترول + چربی دچار برخی اختلالات متابولیک شامل dyslipidemia، هیپراگزالوری، هیپرکالسیوری و نفروکلسینوز کلسیم و فسفات شدند، یعنی اختلال چربیهای سرم، زمینه ساز تغییرات مذکور و سنگ کلیه شد (۱۷) و با توجه به اینکه سیاه دانه اثرات کاهنده چربی دارد (۷) ممکن است بخشی از اثرات عصاره سیاهدانه در پژوهش حاضر در جلوگیری و دفع سنگ های کلیوی به علت اثرات ضد چربی آن باشد.

کریستالهای اگزالات کلسیم و سطوح بالای اگزالات برای سلول های پوششی لوله های کلیه آسیب رسان هستند و سلول های پوششی برای مقابله با آن تعدادی ماکرومولکول از قبیل Bikunin و اوستئوپونتین می سازند که ممکن است در اتصال کریستال ها به سطح سلول ها دخالت داشته باشند. از طرفی خرابی سلولی موجب تولید محصولاتی می شود که هسته سازی هتروژن کریستال ها را القا می کنند و موجب تسریع چسبندگی و تجمع کریستال ها می شوند. آسیب سلول های پوششی لوله های ادراری که در اثر رادیکالهای آزاد به وجود می آید نیز می تواند هسته سازی هتروژن کریستال ها را القا نماید (۱۸). در دانه سیاهدانه ترکیبات فلاونوئیدی از جمله گلیکوزیدهای فلاونوئید شامل kaempferol، quercetin و 3-quercetin وجود دارد (۱۹) و ترکیبات

Archive of SID
www.SID.ir

فلاونوئیـدی موجـود در گیاهـان در عـصاره الکلـی نیـز وارد می شوند (۲۰ و ۲۱) و از طرفی فلاونوئیـدها و از جملـه فـراوان ترین آن هـا یعنـی فلاونوئیـدهای quercetin و kaempferol دارای اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدان می باشـند (۲۳-۲۰) و لذا ممکن است بخشی از اثر سیاهدانه در جلـوگیری و درمـان سنگ های کلیوی که در این پژوهش دیده مـی شـود بـه علـت اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدان ترکیبـات سیاهدانه موجـود در عصاره الکلی باشد که با دخالت در پروسـه تخریـب سـلولی ناشی از کریستال ها، احتمالاً از آزاد شدن و یا عمل فاکتورهای پیشرونده التهاب و موثر در هسته سـازی هتـروژن کریـستال هـا جلوگیری می نماید (۲۴).

در بررسی فیتوشـیمیایی عـصاره الکلـی سـیاهدانه کـه روی گونه سیاهدانه خراسان انجام شده مشخص شد که در این گونه، ترکیبـاتی نظیـر: تـانن (+۳)، فلاونوئیـد (+) و آلکالوئیـد (+۲) وجـود دارد (۲۵). برخـی فلاونوئیـدها بـا جلـوگیری از رونـد پراکسیداسیون، به عنوان شکار کننـده رادیکالهـای سوپراکـسید در خون عمل می کنند و با حذف رادیکالهای آزاد، آسیب هـای سـلولی وارده تخفیـف یافتـه و از بـین خواهـد رفـت. از بـین فلاونوئیدها، آگلیکون و گلیکوزیـدهای فلاونولهـا کـه در دانـه سیاهدانه نیز وجود دارند (۲۲) آثار آنتـی اکـسیدانی قـویتر و در نتیجـه اثـر ضـد رادیکـالی بیـشتری دارنـد (۲۶). در مطالعـات دیگری نشان داده شده است که سیاهدانه دارای اثر ضد التهـابی از طریـق تثبیـت غـشا ماسـت سـل هـا و مهـار ۵- لیپواکـسیژناز می باشد و بر ژنهایی که سبب فعال شدن لکوسیت ها می شـوند نیز اثر مهاری دارد (۲۴)، عصاره آبی سیاهدانه (۳) و ترکیبـات فلاونوئید کـه در عـصاره اتـانولی سیاهدانه وجـود دارنـد (۱۹) دارای خاصیت ضد التهابی اند (۲۳-۲۰)، بنابراین عصاره الکلـی سیاهدانه ممکن است با مکانسیم مذکور سـبب کـاهش التهـاب کلیوی شده باشد. برخی از مطالعات جدید پیشنهاد می کند کـه سنگ های کلسیمی کلیه نیز مانند سنگ های استراویت ممکـن است منشا عفونی داشته باشند که نقـش نـانو باکتریهـا بـا ایجـاد یک پوسته کلسیم- فسفات در این زمینه مطرح است (۲۷) و بـا توجه به اینکه ترکیبـات سـیاهدانه دارای اثـرات ضـد میکروبـی می باشند ممکن است بخشی از اثرات سیاهدانه در درمان سنگ کلیه به نحوی مرتبط با اثرات آن در مهار عوامل عفونی و شاید نانوباکتریها باشد (۲۸).

در ایـن پـژوهش اضـافه نمـودن ۱٪ اتـیلن گلیکـول بـه آب آشـامیدنی رت هـا موجـب تـشکیل سـنگ کلیـه گردیـد و همان طـور کـه در شـکلهای ۲ و۳ دیـده مـی شـود، تجمعـات بلورهـای اگـزالات کلـسیم در لولـه هـای ادراری و اگـزالات کلسیم ادرار نیـز افـزایش یافتـه اسـت. عـصاره الکلـی سـیاهدانه موجـب کـاهش اگـزالات ادرار و احتمـالا موجـب دفـع اتـیلن گلیکول به صورتی دیگر غیر از اگزالات کلسیم شده است و یا ترکیباتی در این عصاره با باند شـدن بـه اگـزالات و دفـع آن از طریق ادرار موجب شده است که بـه صـورت اگـزالات کلـسیم در ادرار دیده نشود. البته مکانیسم دقیق عملکرد عـصاره الکلـی سیاهدانه بر متابولیسم و تجزیه اتیلن گلیکول شناخته نشده است. در طول مدت تجربه در رت های دریافت کننده اتیلن گلیکـول علائمـی مثـل بیقـراری، تکـرار ادرار، کـاهش نوشـیدن آب و هماتوری مشاهده شد که بخشی از علائم کلینیکی است کـه در بیماران مبتلا به سنگ کلیه نیز وجود دارد.

اتـیلن گلیکـول در بـدن متابولیـت هـای سـمی نظیـر گلیکوآلدهید وگلی اگزالات تولید می کند که منجر به آسیب بافتی و افزایش اگزالات ادرار می شوند (۲۹) و چنانچـه مقـدار اگـزالات و اسـیداوریک و یـا هـر دو در ادرار زیـاد باشـد انسیدانس تشکیل سنگ های کلسیمی افـزایش مـی یابـد (۳۰). توده های اگزالات کلسیم تـشکیل شـده قطـری حـدود ۲۵-۲۰ میکرومتـر دارنـد کـه کـوچکتر از قطـر خروجـی مجـاری جمع کننده ادرار است، اما چسبیدن توده های اگزالات کلـسیم به سطوح مجاری ادرار باعث رشد آن ها می شود به طوری کـه نمی توانند دفع شوند (۳۱).

در این مطالعه همان طور کـه در جـدول ۲ نـشان داده شـده وزن کلیه رت های گروه تیمار شده با اتـیلن گلیکـول در پایـان تجربه به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) بیشتر از گروه کنترل سـالم می باشد و اتیلن گلیکول موجب افزایش وزن کلیه رت ها شده که این افزایش وزن می تواند به علت جمع شـدن آب در بافـت کلیه و یا به علت آسیب التهابی سلولهای پوشـشی نفـرون باشـد که بر اثر تجمع بلورهای اگزالات کلسیم در لولـه هـای کلیـه و

Archive of SID
www.SID.ir

سطوح بالای اگزالات در بافت کلیه به وجود آمده است (شکلهای ۵ و۶). با توجه به این که در این پژوهش وزن کلیه رت های دو گروه پیشگیری و درمان با سیاهدانه، تفاوت معنی داری با گروه کنترل سالم ندارد، لذا به نظر می رسد که تجویز عصاره سیاهدانه موجب کاهش وزن کلیه های دو گروه تیمار شده به سطح گروه کنترل سالم شده باشد. بخشی از این اثر را شاید بتوان به اثرات ضد التهابی سیاهدانه نسبت داد که در چندین مطالعه هم برای عصاره آبی (۳) و هم با ترکیبات دیگر سیاهدانه از جمله فلاونوئیدها که در عصاره الکلی وارد می شود (۲۰ و ۲۱) و نیز با تیموکینون گزارش شده است (۲۴).

در این مطالعه عصاره الکلی سیاهدانه به مقدار ۲۵۰mg/kg وزن بدن به طور معنی داری تجمع بلورهای اگزالات کلسیم در بافت کلیه را کاهش می دهد و البته از شدت آسیب وارده به لوله ها و کالیسها نیز جلوگیری می کند. مشاهدات آسیب شناسی نیز نشان داد که تجویز عصاره سیاهدانه بر پیشگیری موثرتر از درمان سنگ کلیه بوده و لذا به نظر می رسد که فرآورده های سیاهدانه از جمله عصاره الکلی آن که در این پژوهش به کار برده شد، در پیشگیری و درمان سنگ کلیه در افرادی که مستعد تشکیل سنگ های اگزالاتی هستند می تواند موثر باشد، اگرچه لازم است با انجام آزمایشات بالینی این اثر بخشی به اثبات برسد.

تشکر و قدردانی

بخشی از هزینه این پژوهش توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تامین شده است که به این وسیله تشکر و قدردانی می شود.

References

۱. تاناگو، امیل، مک آنینک، جک. اورولوژی عمومی اسمیت، سبحانیان (مترجمان)، خسرو، حافظی ، محسن، علیزاده صوری، علی، چاپ اول، موسسهٔ فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده - نشر طبیب، تهران، ۱۳۸۰،۱۸-۲۱ و ۲۹۹-۳۲۵.

2. Menon M. I., Resnick M., Urinary lithiasis: etiology, diagnosis, and medical management, In: Walsh P.C., Hall D. (eds),Compbell`s Urology., Saunders company, London, 2002, 3229-3305.
3. Al-Ghamdi M. S., 2001, The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*, J. Ethnopharmacol., 45-48.
4. Hosseinzadeh H., parvardeh S., 2004, Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice, Phytomedicine, 11: 56-64.
5. Hosseinzadeh H., Parvardeh S., Nassiri-Asl, M., Mansouri, M.T., 2005, Intracerebroventricular administration of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, suppresses epileptic seizures in rats. Med. Sci. moni., 11: 106-110.
6. Burits M., Bucar F., 2000, Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil, Phytother. Res., 14: 323-328.
7. Sattar A., Latif M. S. Z., Tayyib M., 2002, Estimation of serum lipids in Albino rats fed on atherogenic supplemented palm oil diet and *Nigella sativa*, J. Rawalpindi Medical College, 6:48-51.
8. EL-Dakhakhny M., Madi N. J., Lembert N., Ammon H. P., 2002, The hypoglycemic effect of *Nigella sativa* oil is mediated by Extrapancreatic actions, Planta Med., 68: 465-466.
9. Badary O. A., Abded-Naim A. B., 2000, The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats, J. Toxicol., 143 : 219-226.

۱۰. مجاب، فراز. فارماکوپه گیاهی ایران، جلد دوم، چاپ اول، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت غذا و دارو، تهران، ۱۳۸۱، ۴۶۶-۴۷۰.

۱۱. میرحیدر، حسین. معارف گیاهی، جلد پنجم ، چاپ پنجم، انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی تهران، تهران، ۱۳۸۳، ۲۱۴-۲۱۱.

۱۲. عقیلی، خراسانی . مخزن الادویه، انتشارات و آموزش انقلاب اسلامی تهران، ۱۳۷۱، ۵۵۷-۵۵۶.

13. Christina A. J., Packia Lakshim M., Nagarajan M., Kurian S., 2002, Modulatory effect of *Cyclea peltata* Lam. On stone formation induced by ethylene glycol treatment in rats, Methods Find Exp. Clin. Pharmacol., 24: 77-79.
14. Sakly R., Chaouch A., El-Hani A., Najjar M. F., 2003, Effects of intraperitoneally administered vitamin E and selenium on calcium oxalate renal stone formation: experimental study in rat, Ann. Urol. (Paris), 37: 47-50.
15. Fan J., Chandhoke P. S., Grampsas S. A., 1999, Role of sex hormones in experimental calcium oxalate nephrolithiasis, J. Am. Soc. Nephrol., 10: 376-380.

Archive of SID
www.SID.ir

16. Sriboonlue P., Suwantrai S., Prasongwatana V., 1998, An indirect method for urinary oxalate estimation, Clin. Chimie Acta, 273: 59-68.
17. Schmiedl A., Schwille P. O., Bonucci E., Erben R. G., Grayczyk A., Sharma V., 2000, Nephrocalcinosis and hyperlipidemia in rats fed a cholesterol- and fat-rich diet: association with hyperoxaluria, altered kidney and bone minerals, and renal tissue phospholipid-calcium interaction, Urol. Res., 28:404-15.
18. Khan S. R., Thamilselvan S., 2000, Nephrolithiasis: a consequence of renal epithelial cell exposure to oxalate and calcium oxalate crystals, Mol. Urol., 4: 305-312.
19. Merfort I., Wray V., Barakat H. H., Hussein S. A. M., Nawwar M. A. M., Willuhn G., 1997, Falvonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*, Phytochemistry,46: 359-363.
20. Ahmed M. S., El Tanbouly N. D., Islam W. T., Sieem A. A., El Senousy A. S., 2005, Antiinflammatory flavonoids from *opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. Flowers growing in Egypt, Phytother, 19: 807-9.
21. Xu J., Li X., Zhang P., Li Z. L., Wang Y., 2005, Antiinflammatory constituents from the roots of *Smilax bockii* warb, Arch. Pharm. Res., 28: 395-9.
22. Comalada M., Ballester I., Bailon E., Sierra S., Xaus J., Galvez J., Medina FS., Zarzuelo A, 2006, Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: Analysis of the structure-activity relationship, Biochem. Pharmacol., 72: 1010-1021.
23. Nair M. P., Mahajan S., Reynolds J. L., Aalinkeel R., Nair H., Schwartz S. A., Kandaswami C., 2006, The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (Tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF- kappa beta system, Clin. Vaccin Immunol., 13: 319-28.
24. El- Dakhakhny M., Madi N. J., Ammon H. P., 2002, *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-Lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats, J. Ethnopharmacol., 81: 161-164.
25. Fazly Bazzaz B. S., Haririzadeh G., Imami S. A., Rashed M. H., 1997, Survey of Iranian plants for alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins [Khorasan province] , Int. J. Pharmacog., 35: 17-30.
۲۶. طاحونه یان گل خطمی، زهرا، بررسی اثر عصاره دانه گیاه خار مریم روی سمیت کلیوی سیس پلاتین در رت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده داروسازی مشهد، پایان نامه برای دریافت درجه دکتری داروسازی، ۸۳-۱۳۸۲، ۷۳-۷۴.
27. Kramer G., Klingler H. C., Steiner G. E., 2000, Role of bacteria in the development of kidney stones, Curr. Opin. Urol., 10: 35-38.
28. Hanafy M. S., Hatem M. E., 1991, Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin), J. Ethnopharmacol., 34: 275-278.
29. Halabe A., Shor R., Wong N. L., Sutton R. A., 2003, Effect of vitamin D_3 on the conversion of ethylene glycol to glycolate and oxalate in ethylene glycol-fed rats, Clinical Chimie Acta, 330: 135-139.
30. Fredric L., Coe., Andrew Evan., Elaine Worcester, 2005, Kidney stone disease, J. Clin. Invest., 115: 2598-2608.
31. Henry J. B., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Saunders Company, Toronto, 1996, 449-450.

Archive of SID

www.SID.ir