

مقاله تحقیقی

اثر عصاره الکلی دانه گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) بر جلوگیری از تشکیل کریستال های اگزالات کلسیم در بافت کلیه موش های صحرایی نر بالغ

حسین احمدیان^{۱*}، علیرضا صادقی پور^۲، مصطفی حمیدی نعمانی^۱

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین - پیشوا، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی، ورامین - پیشوا، ایران
۲. مرکز تحقیقات انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

* مسوؤل مکاتبات: پست الکترونیکی: biology.zist@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۸

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره هیدروالکلی دانه گشنیز بر کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در موش های صحرایی نر نژاد ویستار می باشد. در ابتدا، عصاره هیدروالکلی گیاه در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تهیه شد. کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم توسط اضافه نمودن کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی به ترتیب به مدت ۳ و ۳۵ روز القاء شد. گروه کنترل توسط آب آشامیدنی تیمار شدند. گروه های تجربی علاوه بر آب آشامیدنی حاوی کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول توسط غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه به روش درون صفاقی به مدت ۳۸ روز تیمار شدند. بعد از ۳۸ روز، حیوانات توسط اتر بیهوش شده و کلیه سمت چپ آنها خارج شده و در فیکساتیو قرار گرفت. نمونه ها برای مطالعات بافت شناسی آماده شده و توسط هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شدند. نتایج نشان دادند که تیمار عصاره موجب کاهش تعداد کریستال های اگزالات کلسیم در بافت کلیه حیوانات تجربی در مقایسه با گروه کنترل بیمار می گردد. همچنین، تیمار عصاره آسیب توبولو-اینتراستیشیال را در حیوانات تیمار شده کاهش می دهد. بنابراین، گیاه می تواند مانع تشکیل سنگ کلیه در حیوانات تیمار شده گردد.

واژه های کلیدی: گشنیز، اگزالات کلسیم، کریستالیزاسیون، سنگ کلیه، رت

مقدمه

جغرافیایی متفاوت است. بیماری سنگ کلیه پیش از ۲۰ سالگی شیوع کمتری داشته و پیک بروز آن در دهه سوم تا چهارم زندگی است. شیوع سنگ های ادراری در مردان ۳-۲ برابر زنان است (۱). روش های نوین درمان سنگ های ادراری شامل درمان با لیزر، سنگ شکنی از طریق ایجاد مسیر پوستی (Percutaneous Nephrolithotomy, PCNL)، سنگ شکنی از طریق مجرای ادرار (Transurethral lithotripsy, TUL) و بالاخره روش سنگ شکنی برون-اندامی (ESWL) است که در آن، بدون استفاده از

سنگ کلیه (Calculi Kidney) جسم سختی است که از املاح موجود در ادرار تشکیل می شود. سنگ های کلیوی بصورت منفرد یا متعدد، در اندازه های متفاوت و به اشکال گوناگون دیده شده و در نواحی مختلف سیستم ادراری مانند لگنچه، میزنای یا مثانه تشکیل می شوند. تشکیل سنگ، نیاز به ادرار فوق اشباع دارد و این حالت بستگی به pH ادرار، قدرت یونی، غلظت مواد محلول و ترکیب مواد مختلف در ادرار دارد. شیوع بیماری سنگ کلیه در طول زندگی فرد در حدود ۱۵-۱ درصد برآورد می شود که بر اساس سن، جنس، نژاد و مکان

عصاره گشنیز دارای هر دو فعالیت شبه انسولین و آزاد کننده انسولین در موش های دیابتی است (۹،۱۰). از آنجایی که اثر دانه گشنیز در درمان بیماری سنگ کلیه هنوز بطور دقیق مورد بررسی قرار نگرفته است، در پژوهش حاضر اثر عصاره هیدروآتانی دانه گشنیز بر جلوگیری از تشکیل کریستال های اگزالات کلسیم در موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری و شناسایی گیاه

دانه گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum L.*) از منطقه ورامین جمع آوری شد و شناسایی تاگزونومیک آن در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام گرفت. دانه های گیاه در حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در سایه خشک شده و توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر تبدیل گردید. پودر خشک تا زمان آزمایش در فریزر یخچال نگهداری گردید.

آماده سازی عصاره

پودر حاصله از دانه گشنیز با اتانل ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس عصاره الکلی گیاه با استفاده از دستگاه سوکسله (Suxhlet) تهیه و توسط دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید.

حیوانات آزمایشگاهی

موش های صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در شرایط مناسب آزمایشگاهی با درجه حرارت کنترل شده 23 ± 2 درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی هوا بین ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند.

الفای سنگ کلیه در حیوانات

برای ایجاد سنگ کلیه در موش های صحرایی، از کلرید آمونیوم (۱ درصد) و اتیلن گلیکول (۰/۷۵ درصد) در آب آشامیدنی استفاده شد. ابتدا، حیوانات کلرید آمونیوم ۱ درصد را به مدت ۳ روز در آب آشامیدنی

بیهوشی و برش جراحی، سنگ های ادراری را می توان طی مدت زمان کوتاهی خرد کرد (۲).

امروزه با روشن شدن عوارض جانبی و آثار زیان بخش داروهای شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی و طبیعی مورد توجه پژوهشگران معاصر قرار گرفته است و در مطالعات متعدد اثرات داروهای گیاهی مختلف در درمان سنگ کلیه مورد بررسی قرار گرفته است.

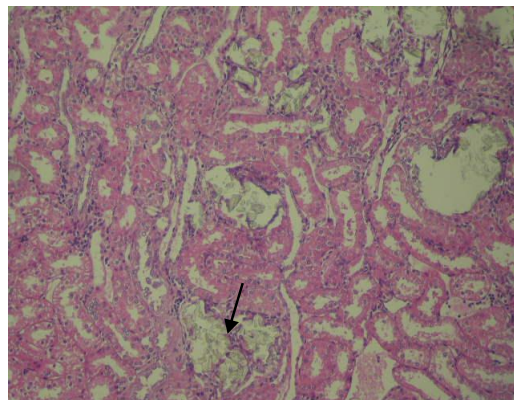
گشنیز (*Coriandrum sativum L.*) به نام های cilantro (اسپانیایی)، dhania (هندی) malli یا (مالایی) نیز نامیده می شود که یک گیاه یک ساله از خانواده Apiaceae می باشد. گشنیز بومی اروپای جنوبی، افریقای شمالی و آسیای جنوب شرقی است. در زبان انگلیسی، برگ ها و دانه ها coriander نامیده می شوند. دانه گشنیز یک از ادویه های موجود در garam masala و کاری هندی است، که اغلب دانه های آسیاب شده در مقادیر زیاد همراه با زیره بکار برده می شوند. این دانه ها بصورت یک غلیظ کننده نیز عمل می کند. جوشانده آبی دانه های گشنیز بصورت یک داروی طبیعی برای سرماخوردگی نوشیده می شود. دانه گشنیز در خارج از آسیا بعنوان سبزی در ترشی ها استفاده شده و در آلمان و افریقای جنوبی در تهیه سوسیس کاربرد دارد. دانه گشنیز در روسیه و اروپای مرکزی جزء موقتی نان چاودار بوده و بصورت یک مکمل به جای زیره سیاه بکار برده می شود (۳).

گشنیز مشابه با بسیاری از ادویه ها دارای آنتی-اکسیدانت است. در مطالعه ای مشخص شده که برگ ها و دانه ها دارای آنتی اکسیدانت ها می باشد، ولی برگ های گشنیز دارای اثرات قوی تری هستند (۴). مواد شیمیایی مشتق از برگ های گشنیز دارای فعالیت آنتی باکتریال بر ضد *Salmonella choleraesuis* (۵) هستند. گشنیز بصورت یک داروی گیاهی برای اضطراب و بی خوابی در ایران استفاده می شود. تجربیات انجام شده روی موش، از استفاده این گیاه بعنوان ضد اضطراب حمایت می کند (۶). دانه های گشنیز در طب هندی سنتی بعنوان دیورتیک از طریق جوشاندن مقادیر مساوی دانه های گشنیز و زیره، سرد کردن و صاف کردن مایع حاصله استفاده می شوند (۷). در طب سنتی، این گیاه بعنوان ضدنفخ و هضم کننده استفاده می گردد (۸). گشنیز بعنوان یک درمان سنتی برای دیابت توصیه شده است. تحقیقات نشان داده اند که

دریافت کردند (n=9). همچنین، روزانه ۰/۵ میلی لیتر سالین به طور درون صفاقی دریافت نمودند (n=9). گروه های ۳، ۴، ۵ و ۶ یا گروه های تجربی: رت هایی که علاوه بر دریافت کلرید آمونیوم به مدت ۳ روز و اتیلن گلیکول به مدت ۳۵ روز در آب آشامیدنی، عصاره هیدروالکلی دانه گشنیز را در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت درون صفاقی دریافت نمودند (n=9).

مطالعات بافت شناسی

پس از ۳۸ روز و خاتمه دوره تیمار، حیوانات توسط اتر، بیهوش و کلیه سمت راست آن ها خارج شد و در بافر فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید. پس از انجام مراحل آب گیری، قالب گیری در پارافین، مقاطعی به ضخامت ۳ میکرون تهیه شد. از مقاطع تهیه شده از هر کلیه، ۳ مقطع، انتخاب و به روش هماتوکسیلین - اتوزین رنگ آمیزی شد (شکل ۱). تعداد کریستال های اگزالات کلسیم در کل هر مقطع شمارش شدند.



شکل ۱ - تصویر میکروسکوپ توری از کریستال های اگزالات کلسیم در مقاطع کلیه موش های تیمار شده توسط کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول. ←: کریستال های اگزالات کلسیم را نشان می دهد. بزرگنمایی $\times 250$ (H&E).

نتایج تحقیق نشان داد که تیمار عصاره هیدروالکلی دانه گشنیز در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی داری در تعداد کریستال های اگزالات کلسیم در کلیه موش های صحرایی تیمار شده می گردد (شکل ۲).

دریافت کردند. سپس، اتیلن گلیکول ۰/۷۵ درصد را به مدت ۳۵ روز دریافت نمودند. به منظور اطمینان از ایجاد کریستال های اگزالات کلسیم، حیوانات توسط اتر، بیهوش و کلیه سمت راست آن ها خارج شده و در فیکساتیو فرمالدئید قرار گرفت. پس از قالب گیری، برش گیری و رنگ آمیزی نمونه ها به روش هماتوکسیلین - اتوزین، از وجود کریستال های اگزالات کلسیم توسط میکروسکوپ نوری اطمینان حاصل شد (۱۱).

گروه های مورد مطالعه

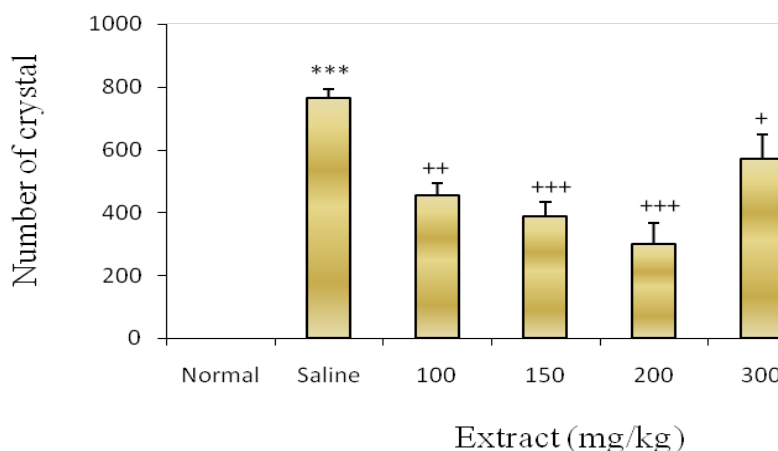
پس از اطمینان از ایجاد کریستال های اگزالات کلسیم در بافت کلیه حیوانات، ادامه آزمایش ها با تیمار عصاره گیاهی انجام شد. گروه های مورد مطالعه عبارت بودند از:

گروه ۱ یا کنترل سالم: رت هایی که هیچ گونه بیماری را دریافت نکردند (n=9).
گروه ۲ یا کنترل بیمار: رت هایی که کلرید آمونیوم را به مدت ۳ روز و سپس اتیلن گلیکول را به مدت ۳۵ روز

آنالیز آماری

داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همه داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ ارائه شدند. اختلاف بین گروه ها در سطح معنی داری $p < 0.05$ تعیین شد.

نتایج



شکل ۲ - تاثیر عصاره هیدروالکلی دانه گشنیز در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار. هر ستون Mean \pm S.E.M. را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه سالم (Normal) را نشان می‌دهد. $p < 0.05$ +, $p < 0.01$ ++, $p < 0.001$ +++ اختلاف از گروه سالیین (Saline) را نشان می‌دهد.

موش‌های صحرائی تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. از طرف دیگر، تیمار عصاره گیاهی موجب کاهش آسیب بافتی در بافت کلیوی در مقایسه با گروه کنترل می‌شود.

مطالعات اندکی در مورد اثر دانه گشنیز بر بیماری سنگ کلیه انجام شده است. در توافق با نتایج تحقیق حاضر، مطالعات نشان داده اند که در طب سنتی هند دانه گشنیز به همراه زیره بعنوان یک دیورتیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶).

Badiâa Lyoussi و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که تزریق درون وریدی عصاره آبی دانه گشنیز دارای اثرات دیورتیک در موش‌های صحرائی می‌باشد. نتایج آنها نشان داد که تیمار عصاره گیاه موجب دیورز، افزایش دفع الکترولیت‌ها و افزایش تصفیه گلوامرولی می‌گردد. مکانیسم اثر گیاه مشابه اثر فوروسمید (Furosemide) که داروی استاندارد دیورتیک است، می‌باشد (۹).

Jabeen و همکاران نیز در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که عصاره میوه گشنیز موجب کاهش فشار خون شده و دارای اثر دیورتیک است (۱۰).

بحث

گیاهان دارویی با عوارض جانبی کمتر، به دلیل طبیعی بودن، جایگزین‌های خوبی برای داروهای شیمیایی بوده و در نواحی مختلف جهان کاربرد گسترده‌ای دارند. استفاده از گیاهان دارویی برای دفع یا حل نمودن سنگ‌های کلیوی از زمان‌های قدیم متداول بوده و استفاده از آن‌ها به دلیل سهل‌الوصول و ارزان بودن، رو به افزایش است.

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر دانه گشنیز که در طب سنتی ایران برای دفع یا حل کردن سنگ‌های کلیوی توصیه می‌شود، انجام گرفت. در پژوهش حاضر، اثر عصاره هیدروالکلی دانه گشنیز بر جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در موش‌های صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار با آشامیدن آب محتوی اتیلن‌گلیکول و کلرید آمونیوم مبتلا به سنگ کلیه شدند.

نتایج تحقیق نشان داد که تیمار درون صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه گشنیز به موش‌های صحرائی که توسط اتیلن‌گلیکول و کلرید آمونیوم دهیدراته شده بودند، موجب کاهش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در مقاطع بافت کلیه و کاهش آسیب‌های بافتی در کلیه‌های

است و به استفاده سنتی از این گیاه جهت درمان سنگ‌های کلیوی اعتبار می‌دهد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی واحد ورامین - پیشوا قدردانی می‌گردد.

اثر دانه گشنیز در درمان بیماری سنگ کلیه و جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اغزالات کلسیم تاکنون بطور دقیق روشن نشده است. لذا، پژوهش حاضر گزارش مستندی است که در مورد اثر گیاه دارویی گشنیز بر جلوگیری از تشکیل سنگ کلیه اغزالات کلسیمی و کاهش آسیب‌های ناشی از تشکیل کریستال ارائه شده

منابع مورد استفاده

1. Tanagho, E.A., McAninch, J.W., 2007. Smith's General Urology .17nd ed. New York: McGraw-Hill Medical, pp: 246.
2. Graham, S.D., Keane, T.E., 2015. Glenn's Urologic Surgery. 8th edition, Philadelphia: LWW, pp: 1078.
3. Zohary, D., Hopf, M., 2000. Domestication of plants in the old world, third edition Oxford: Oxford University Press, pp: 205-206.
4. Wangenstein, H., Samuelsen, A.B., Malterud, K.E., 2004. Antioxidant activity in extracts from coriander. Food Chemistry 88 (2): 293.
5. Kubo, I., Fujita, K.I., Kubo, A., Nihei, K.I., Ogura, T., 2004. Antibacterial activity of coriander volatile compounds against *Salmonella choleraesuis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52 (11): 3329-3332.
6. Emamghoreishi, M., Khasaki, M., Aazam, M.F., 2005. *Coriandrum sativum*: evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze. Journal of Ethnopharmacology 96 (3): 365-370.
7. Dawakhana, H., 2007. Coriander: Cure from the kitchen. hashmi. com. <http://www.hashmi.com/coriander.html>. Retrieved 2007-07-18.
8. Coriander. PDR Health. Archived from the original on 2007-06-01. http://web.archive.org/web/20070601175355/http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrugpr
9. Gray, A.M., Flatt, P.R., 2007. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant *Coriandrum sativum* (coriander). British Journal of Nutrition 81(3): 203.
10. Eidi, M., Eidi, A., Saeidi, A., Molanaei, S., Sadeghipour, A.R., Bahar, M., Bahar, K., 2008. Effect of coriander seeds (*Coriandrum sativum*) ethanol extract on insulin release from pancreatic beta cells in streptozotocin-induced diabetic rats. Phytotherapy Research 23(3): 404-6.
11. Divakar, K., Pawar, A.T., Chandrasekhar, S.B., Dighe, S.B., Divakar, G., 2010. Protective effect of the hydro-alcoholic extract of *Rubia cordifolia* roots against ethylene glycol induced urolithiasis in rats. Food Chem Toxicol 48: 1013-1018.
12. Aissaoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyouss, B., 2008. Acute diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats. Journal of Ethnopharmacology 115: 89-95.
13. Jabeen, Q., Bashir, S., Lyoussi, B., Gilani, A.H., 2009. Coriander fruit exhibits gut modulatory, blood pressure lowering and diuretic activities. Journal of Ethnopharmacology 122: 123-130.