



## مقاله پژوهشی

### تأثیر عصاره هیدروالکلی ترب سیاه بر کلیه و عملکرد آن در موش‌های آزمایشگاهی نژاد cBalb

مریم کریمی دهکردی<sup>\*</sup>، ایمان جعفری<sup>۱</sup>، گوزل رهبر<sup>۲</sup>، منیره شفاهی<sup>۳</sup>، فروغ محمدی<sup>۴</sup>

۱- گروه دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- گروه داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

۴- گروه دامپزشکی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

\*مسئول مکاتبات: ma\_karimivet58@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۴

DOI: 10.22034/ascij.2023.1961079.1397

#### چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ترب سیاه (*Raphanus sativua*) بر شمارش کامل سلول‌های خونی و عملکرد کلیه در موش سوری انجام شد. ۴۰ سر موش سفید به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. موش‌های گروه کنترل فقط محلول فیزیولوژیکی دریافت کردند و موش‌های گروه دوم تا چهارم به ترتیب، روزانه به میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، عصاره گیاهی ترب سیاه از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. پس از دوره آزمایش ۲۱ روزه، خونگیری از قلب جهت شمارش کامل سلول‌های خونی (هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلوبول‌های قرمز و سفید) و اندازه‌گیری ازت اوره و کراتینین سرم انجام شد. نتایج نشان داد که تیمار با عصاره ترب سیاه در هیچ کدام از دوزهای مورد مطالعه، تغییر معنی‌داری در شمارش سلول‌های خونی و میزان ازت اوره و کراتینین ایجاد نمی‌کند ( $p > 0.05$ ). این نتایج با بررسی هیستوپاتولوژیک کلیه تایید شد. تیمار موش‌ها با عصاره ترب، منجر به کاهش غیر معنی‌دار ازت اوره خون و کراتینین نسبت به گروه کنترل گردید. همچنین با افزایش دوز عصاره، میزان ازت اوره و کراتینین در هر گروه نسبت به گروه قبلی کاهش داشت، هر چند این کاهش معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). نتایج مطالعه حاضر حاکی از عدم سمیت کلیوی عصاره در دوزهای مصرفی در مطالعه می‌باشد و می‌توان گفت در شرایط فیزیولوژیک، استفاده از عصاره هیدروالکلی ترب سیاه نه تنها در دوزهای بالا اثر سمی بر کلیه ندارد، بلکه دارای اثرات مثبت بر روی عملکرد کلیه می‌باشد.

کلمات کلیدی: ترب سیاه، عصاره هیدروالکلی، کلیه، موش.

#### مقدمه

کوهستانی و دشت‌های شمالی رشد می‌کند. به‌طور گسترده در سراسر جهان رشد می‌کند و بیش از ۱۵۰۰ سال است که مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترب گیاهی چند منظوره است، زیرا از قسمت‌های مختلف آن در بسیاری از زمینه‌های غذایی، درمانی و صنعتی استفاده می‌شود. این گیاه دارای اهمیت اقتصادی است، برگ

ترب سیاه با نام علمی *Raphanus sativus*، یکی از گیاهان مهم پزشکی است که از خانواده Brassicaceae است. این خانواده شامل بیش از ۳۳۰ جنس و تقریباً ۳۷۰۰ گونه است. مصر را منشا کشت آن می‌دانند (۱۲). در ژاپن و آسیای جنوب شرقی گسترده است (۱) و در مناطق معتدل، مناطق

عوارض جانبی هستند، نقش مهمی در غلبه بر بسیاری از مشکلات پیش روی داروها دارد و جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی می‌باشند (۱۸). با این وجود، گیاهان دارویی خالی از ضرر و عارضه نیستند و برخلاف آنچه بیشتر مردم فکر می‌کنند، مصرف آنها همیشه مفید نیست و استفاده از دوز بالای آنها می‌تواند باعث آرژی و یا مسمومیت شود و ممکن است نارسایی کبد یا کلیه و حتی مرگ را در پی داشته باشد. از این‌رو، بررسی تاثیر گیاهان دارویی بر عملکرد بافت‌های مهم و حیاتی بدن و سمیت عصاره‌های حاصل از آنها، در پیشگیری از وقوع چنین عوارض نامطلوب می‌تواند حائز اهمیت باشد. ترب سیاه در کنار خواص و فواید بسیاری که برای سلامتی دارد، ممکن است مضرات و عوارضی نیز داشته باشد. ترب سیاه حاوی ترکیبات سمی به نام گلوکوزینولات است. گلوکوزینولات یکی از اجزای طبیعی بسیاری از گیاهان تند مانند خردل، کلم و ترب است (۱۱). از آنجایی که کلیه‌ها نقش تصفیه خون از مواد زائد و دفع متابولیت‌های بدن را دارند، این موضوع اهمیت بررسی سمیت کلیوی این گیاه را نشان می‌دهد. اثرات بیولوژیک برخی گیاهان، از جمله گیاه ترب سیاه، بر سلامت انسان همچنان ناشناخته باقی مانده‌است. با وجود ترکیبات فعال موجود در این گیاه که احتمالاً در عملکرد کبد، کلیه و کنترل چربی خون مؤثر است و استفاده طولانی مدت آن در طب سنتی برای درمان بیماری‌های کبدی و کلیوی، مطالعات آزمایشگاهی و *in vivo* کمی در این زمینه وجود دارد. با توجه به انحصاری بودن این گیاه در کشور ایران، هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات جانبی و مضار احتمالی عصاره الکلی گیاه ترب سیاه بر پارامترهای هماتولوژی و تست‌های عملکرد کلیوی در موش‌های سوری بود. همچنین وجود یا عدم وجود ضایعات پاتولوژی بافت کلیه در حضور این گیاه بررسی گردید.

هایش حاوی درصد بالایی از پروتئین، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات و مواد معدنی مانند کلسیم، پتاسیم، منیزیم، مس و آهن است (۱۰). بنابراین برای درمان بیماری سوءتغذیه مرتبط با درد گوارشی و بیماری‌های مختلف معده استفاده می‌شود. همچنین به عنوان یک دیورتیک برای درمان مشکلات مختلف سیستم ادراری استفاده می‌شود (۲). گیاه ترب منبع خوبی از ویتامین C است، بنابراین در سمزدایی کبد، یرقان و درمان بیماری‌های زنان و فشار خون بالا نقش دارد (۱). اثرات بیولوژیکی ترب سیاه به ترکیبات آن از جمله آنتوسیانین، پلیفلن‌ها، گلوکوزینولات و متابولیت آن، ایزووتیوسیانات، نسبت داده شده است که هر کدام از این ترکیبات با اثرات آنتی‌اکسیدانی مرتبط هستند (۶، ۲۵).

عصاره ترب از رشد غیرطبیعی سلول‌های ماهیچه صاف عروقی به عنوان یکی از ویژگی‌های بارز بیماری عروقی، از جمله تصلب شرايين جلوگیری می‌کند (۲۵). Lugasi و همکاران (۲۰۰۱) ثابت کردند که عصاره ریشه تربیچه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی است (۱۴). ریشه تربیچه دارای یک اثر بازدارنده بر تغییرات غشایی ناشی از رژیم غذایی غنی از چربی است و به‌طور مفیدی بر فعالیت پاکسازی طبیعی مخاط روده بزرگ موش صحرایی تأثیر می‌گذارد و از غشای سلولی در برابر پراکسیداسیون لیپیدی محافظت می‌کند (۲۴). عصاره خام ترب همچنین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است و آنتی‌اکسیدان L-تریپتوفان از عصاره ترب جدا شده است (۲۶).

از سال‌ها پیش، از گیاهان در درمان انواع بیماری‌ها و بدخیمی‌ها استفاده شده (۱۶) که عمدتاً به صورت طبیعی مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند (۷). اخیراً مصرف گیاهان دارویی به دلیل کارایی درمانی، ارزش اقتصادی و کم‌هزینه بودن و با این دید که فاقد

نگهداری شدند. غذای مورد استفاده آنها، غذای فشرده و آماده ساخت کارخانه خوراک دام پارس و آب مصرفی، آب تصفیه شده شهری بود که در ظرف آبخوری از جنس PVC در دسترس حیوان قرار می-گرفت. این مقاله، مستخرج از پایان نامه دانشجوی دکترای دامپژوهشی، با کد پایان نامه ۱۳۹۸۱۸۲۵۹۱ ۱۳۳۲۹۴۶۲۱۶۳۹۴۵۵۱۳۹۸۱۸۲۵۹۱ می‌باشد. روش تحقیق و رفتار با حیوانات در مراحل مختلف مطالعه، با تایید شورای تحصیلات تکمیلی دانشکده دامپژوهشی و طبق دستورالعمل‌های مربوطه به انجام رسید. به منظور انجام آزمایشات، حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه ده‌تایی طبقه‌بندی شدند. دسته اول به عنوان گروه کنترل، تحت هیچ درمانی قرار نگرفته و فقط به آب و غذا دسترسی داشتند. به دسته دوم تا چهارم به عنوان گروه‌های آزمایش، دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن از عصاره ترب سیاه به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. موش‌های آزمایشگاهی بعد از ۲۰ روز یعنی در روز بیست و یکم پس از توزیین، بیهودش شده و سپس خونگیری از ورید کاروتید گردن انجام شد. اولین نمونه خون برای هر حیوان در یک لوله حاوی EDTA جمع آوری شد و برای شمارش کامل سلول-های خون استفاده شد. این موارد شامل شمارش گلبول‌های قرمز (RBC)، شمارش گلبول‌های سفید (WBC) و تعداد نوتروفیل‌ها و لنفوسيت‌ها، هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (Hct)، میانگین حجم گلبول‌های قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین درون گلبول قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول‌های قرمز (MCHC) می‌باشد. نمونه خون دوم در لوله بدون EDTA جمع آوری و برای تعیین اوره و کراتینین در سرم استفاده شد. نمونه‌های خون و سرم به آزمایشگاه دامپژوهشی رویان پژوه واقع در شهرکرد ارسال و غلظت پارامترهای بیوشیمیایی سرم با استفاده

تا در مورد میزان سلامت مصرف این گیاه در دوزهای متداول اظهار نظر علمی گردد. امید است نتایجی راه-گشا جهت بررسی‌های بیولوژیک آینده در این مورد به دست آید.

## مواد و روش‌ها

اندام ریشه‌ای گیاه ترب سیاه از مراکز معتبر فراهم گردید و نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری و شناسایی توسط هرباریوم دانشگاه آزاد شهرکرد شناسایی و تائید شد. گیاه ترب سیاه پس از طی مراحل شستن توسط آسیاب خرد شد. عصاره آبی گیاه ترب سیاه با استفاده از دستگاه سوکسله تهیه گشت. ابتدا ۵۰ گرم ترب سیاه داخل کاغذ کارتوش (Cartuosh) ریخته و در دستگاه قرار داده شد. سپس ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط گرمکن دستگاه به دستگاه ریخته شد. آب مقطر توسط گرمکن دستگاه به جوش آمده و در نهایت موجب جداسازی عصاره گیاه ترب سیاه شد. مبرد، کار سرد کردن بخارات اضافی را بر عهده داشت و بنابراین کاهش حجم محلول بسیار آهسته بود. پس از حدود ۱۰ ساعت مایع نسبتاً غلیظی در ته بالن جمع شد. سپس با حذف حلال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد عصاره تمام استخراج شد. پس از حذف حلال، عصاره با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر تهیه شد. محلول تهیه شده از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده و استریل شد (۲۱). برای بررسی سمیت کلیوی عصاره ترب سیاه، از تعداد ۴۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c استفاده شد. حیوانات در لانه حیوانات دانشکده دامپژوهشی که دارای سیکل ۱۲ ساعت روشناجی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای هوا بین ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد بوده و در قفسهایی از جنس PVC با درپوش توری فلنری که کف آنها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود،

### نتایج

در گروه‌هایی که با عصاره ترب سیاه درمان شده بودند (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) هیچ مرگی رخ نداد. نتایج مطالعه هماتولوژیک (جدول ۱) نشان داد که تیمار با عصاره ترب سیاه هیچ تغییر قابل توجهی در پارامترهای خون ایجاد نمی‌کند ( $p > 0.05$ ). در قسمت دیگری از نتایج (جدول ۲)، مشخص شد که تیمار با سه دوز آزمایش شده عصاره ترب سیاه (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن)، هیچ تغییر معنی‌داری در پارامترهای بیوشیمیایی خون در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد ( $p > 0.05$ ). همان طور که در جدول می‌بینیم با افزایش دوز عصاره، میزان اوره و کراتینین کاهش می‌یابد، به طوریکه در گروهی که بالاترین دوز عصاره ترب را دریافت کرده بودند (۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) اوره و کراتینین به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است. هر چند این کاهش در هیچ یک از دوزها معنی‌دار نبود ( $p = 0.06$ ).

در مشاهدات هیستوپاتولوژی، در گروه کنترل، بافت کلیه و سلول‌های پوششی آن در وضعیت سالم می‌باشدند (شکل ۱). در گروه دریافت کننده عصاره ترب سیاه در هر سه دوز، گلومرول کلیه و توبول‌ها در وضعیت سالم می‌باشند (شکل ۲). در مجموع، کلیه‌های موش‌هایی که با عصاره ترب درمان شدند، تصویر بافت‌شناسی طبیعی را نشان دادند.

جدول ۱- تأثیر سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر پارامترهای هماتولوژی در موش ماده نژاد c/Balb (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

پارامتر هماتولوژی	گروه کنترل	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
هماتوکریت (درصد)	$27\pm 5/1^a$	$23\pm 4/8^a$	$22\pm 5/2^a$	$30\pm 6/1^a$
گلبول قرمز $\times 10^7$ (در میکرولیتر)	$6/1\pm 0/47^a$	$6/3\pm 0/31^a$	$6/3\pm 0/51^a$	$6/3\pm 0/61^a$
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	$8/8\pm 1/21^a$	$9/1\pm 0/91^a$	$9/4\pm 1^a$	$8/7\pm 1/15^a$
MCV (فیتوالیتر)	$45/3\pm 7/57^a$	$51/9\pm 8/1^a$	$52/8\pm 6/5^a$	$50/9\pm 7^a$
MCHC (پیکوگرم)	$33/6\pm 6/73^a$	$28/4\pm 6/3^a$	$27/9\pm 5/9^a$	$28\pm 8/1^a$
MCH (گرم بر دسی‌لیتر)	$14/4\pm 2/16^a$	$15\pm 2/19^a$	$14/6\pm 1/86^a$	$13/7\pm 3/7^a$

از دستگاه اتوآنالایزر BT-3000 (Italy, Biotechnica Instruments-Biotechnica) کمک کیت‌های تجاری موجود در بازار (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری گردید. در ادامه، به‌منظور ارزیابی و مشاهدات هیستوپاتولوژیک، بعد از بیهوشی، آرامکشی و کالبدسکافی موش‌ها، کلیه جهت بررسی هیستوپاتولوژی خارج گردید. در این بررسی، بیهوشی با استفاده از محفظه شیشه‌ای دربدار محتوى پنهان آغشته به دی‌اتیل‌اتر انجام شد که پس از گذشت ۳-۵ دقیقه حیوان در بیهوشی مناسب قرار می‌گرفت. پس از آرامکشی با رعایت اصول اخلاقی و خارج ساختن کلیه از بدن موش آزمایشگاهی، این ارگان در محلول فرمالین ۱۰ درصد ثابت و پس از آب‌گیری با الکل به‌وسیله گزیلن، باقیمانده الکل خارج شد و توسط دستگاه آماده‌ساز بافت، بلوك پارافینی تهیه گردید. با میکروتوم از بلوك‌ها برش با ضخامت ۴-۵ میکرون تهیه و به روش معمولی با هماتوکسیلین و اوزین (HandE) رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مجهر به دوربین عکاسی بررسی هیستوپاتولوژی انجام شد. نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۶ و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت و سطح معنی‌داری  $0.05$  در نظر گرفته شد.

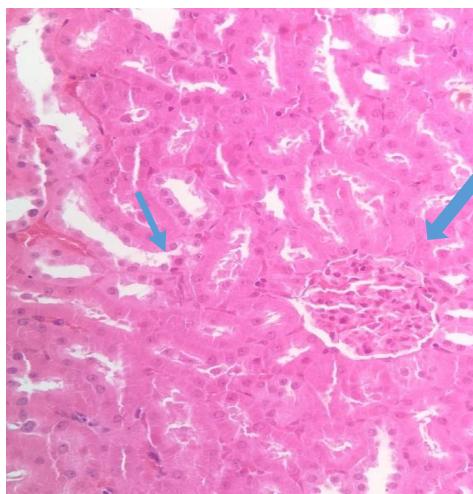
$13/1 \pm 1/4^a$	$14/5 \pm 0/2^a$	$13/8 \pm 3/17^a$	$13/5 \pm 1/26^a$	گلوبول سفید $\times 10^3$ (در میکرولیتر)
$9/1 \pm 0/7^a$	$9/8 \pm 2/8^a$	$9 \pm 1/1^a$	$9/6 \pm 1/1^a$	لنفوسيت $\times 10^3$ (در میکرولیتر)
$4 \pm 0/5^a$	$4/7 \pm 0/44^a$	$4/8 \pm 1/7^a$	$3/9 \pm 0/8^a$	نوتروفیل $\times 10^3$ (در میکرولیتر)

کترل: عصاره دریافت نکردن، ۵۰: دریافت عصاره ترب سیاه به میزان ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، ۱۰۰: دریافت عصاره به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، ۱۵۰: دریافت عصاره به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ( $p > 0.05$ ).

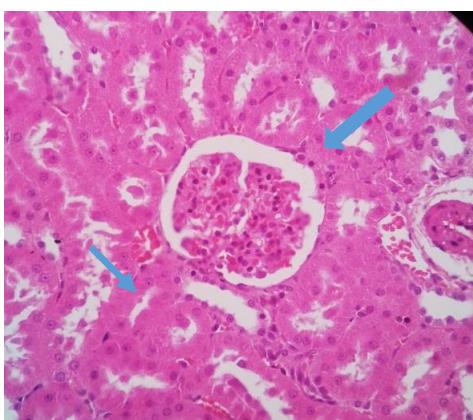
جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف عصاره ترب سیاه بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم موش ماده نژاد Balb/c

پارامتر بیوشیمیایی	گروه کترل	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
ازت اوره خون (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	$3683 \pm 9/7^a$	$31/9 \pm 11/7^a$	$29/5 \pm 13/7^a$	$24/7 \pm 11/1^a$
کراتینین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	$52/0 \pm 8/0^a$	$39/0 \pm 18/0^a$	$35/0 \pm 69/0^a$	$39/0 \pm 10/0^a$

کترل: عصاره دریافت نکردن، ۵۰: دریافت عصاره ترب سیاه به میزان ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، ۱۰۰: دریافت عصاره به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، ۱۵۰: دریافت عصاره به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است ( $p > 0.05$ ).



شکل ۱- مقطع هیستوپاتولوژی کلیه در گروه کترل، ساختار بافتی گلومرول (پیکان بزرگ) و لوله‌ها (پیکان کوچک) فاقد جراحت بوده و طبیعی است (HandE, 400x).



شکل ۲- مقطع هیستوپاتولوژی کلیه در گروه دریافت کننده عصاره ترب سیاه با دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم، ساختار بافتی گلومرول (پیکان بزرگ) و لوله‌ها (پیکان کوچک) فاقد جراحت بوده و طبیعی است (HandE, 400x).

## بحث

نهایی باعث افزایش قابل توجهی در WBC، و کاهش قابل توجهی در RBC و پلاکت‌ها شد. حیوانات در همان گروه تغییرات معنی‌دار در MCV، MCH و MCHC در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. در موش‌های مسموم که همزمان با عصاره ترب (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) تحت درمان قرار گرفتند، تغییرات خونی بهبود یافت (۲۲).

با توجه به نقش کلیه در دفع اوره و کراتینین، سنجش غلظت این دو پارامتر در خون، یکی از شاخصه‌های تعیین سلامت کلیه می‌باشد به طوری که در نارسائی‌های کلیوی میزان اوره و کراتینین خون افزایش می‌یابد. در این مطالعه، تفاوت معنی‌داری در غلظت اوره و کراتینین در گروه‌های دریافت کننده عصاره با دوزهای مختلف، نسبت به گروه کنترل دیده نشد ( $p > 0.05$ ). عدم افزایش غلظت اوره و کراتینین با مصرف عصاره، نشان دهنده عدم وجود اثرات منفی عصاره بر روی عملکرد کلیوی در دفع آنها می‌باشد. همان طور که در جدول ۲ می‌بینیم، مقادیر اوره با افزایش دوز عصاره ترب سیاه، کاهش یافته هر چند معنی‌دار نیست ( $p > 0.05$ ). مشابه با تغییرات غلظت اوره، با مصرف عصاره، غلظت کراتینین نیز کاهش یافت.

بهبود غلظت اوره در گروه‌های درمان شده با عصاره ترب با مطالعه Al-Timimi و همکارانش (۲۰۱۹) مطابقت داشت (۳). ترب ممکن است با جلوگیری از پراکسید چربی‌ها، در از بین بردن آسیب‌های کلیوی نقش داشته باشد. همچنین از آنجایی که ترکیبات شیمیایی برگ ترب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند، این گیاه در محافظت از کلیه‌ها نقش مهمی دارد (۱۵). عصاره ترب سیاه باعث کاهش و جلوگیری از تشکیل سنگ‌های ادراری می‌شود. این مکانیسم مربوط به اثر دیورتیک آن است، غلظت ادرار را کاهش می‌دهد و

کلیه نقش مهمی در دفع مواد زائد متابولیک از خون و دفع مواد شیمیایی در ادرار دارد. علاوه بر این، کلیه نقش غیرقابل انکاری در تنظیم فشار خون و تعادل فیزیولوژیک بدن دارد. از این رو، اطمینان از سلامت و عملکرد مناسب آن، در تست دارو الزامی است و بررسی هیستوپاتولوژی و عملکرد آن می‌تواند شاخص مناسبی از میزان تاثیر گیاهان داروئی بر بدن باشد (۵).

با توجه به گزارشات متعددی که در مورد اثرات درمانی گیاه ترب سیاه وجود دارد، مطالعه فوق با هدف بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی این گیاه بر شمارش کلی سلول‌های خونی و فعالیت کلیه، از طریق ارزیابی اوره و کراتینین سرم و بررسی هیستوپاتولوژی کلیه، با تزریق درون صفاقی در موش سوری بالب سی (Balb/c) طراحی و انجام گردید. نتایج مطالعه هماتولوژیک (جدول ۱) نشان داد که تیمار با عصاره ترب، هیچ تغییر قابل توجهی در پارامترهای خونی ایجاد نکرد ( $p > 0.05$ ). در قسمتی از نتایج مطالعه Salah-Abbès و همکاران در سال ۲۰۰۸، تاثیر عصاره الكلی ترب سیاه بر پارامترهای هماتولوژی موش بالب سی بررسی گردید. در این مطالعه، زمانی که موش‌های سالم و نرمال عصاره ترب سیاه را به نهایی به میزان ۱۰ و ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند (۲۲)، مطابق با نتایج مطالعه ما، هیچ تغییر معنی‌داری در هیچ کدام از شاخصه‌های هماتولوژی (RBC، WBC، هماتوکریت، هموگلوبین، MCH، MCHC و MCV) نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. به جز اینکه دریافت عصاره به میزان ۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم، سبب افزایش قابل توجه RBC، WBC، هموگلوبین و پلاکت‌ها گردید. بقیه پارامترهای هماتولوژی در این دوز نیز، مشابه با نتایج ما بی‌تغییر ماندند. در این مطالعه، سم زیرالنون به

kutshik و همکاران (۲۰۲۰) و Goorani و همکاران (۲۰۱۹) نیز مشاهده شد (۹، ۱۳). ثابت شده است مصرف ترب سیاه منجر به افزایش تولید ادرار می‌شود، لذا کاهش غلظت اوره در تیمارهای مورد بررسی در مطالعه‌ما، می‌تواند ناشی از افزایش جریان ادرار باشد. در مطالعه Dhahir و AL-Naely (۲۰۲۲)، علاوه بر اینکه کراتینین در همه گروههای تیمار شده با عصاره‌های ترب سیاه نسبت به گروه مبتلا به زردی، کاهش معنی‌داری نشان داد، اما مطابق با نتایج مطالعه‌ما، تفاوت معنی‌داری بین غلظت کراتینین در این تیمارها در مقایسه با گروه شاهد وجود نداشت (۸).

عصاره ترب دارای اثر محافظتی بر کلیه‌ها است زیرا حاوی گروهی از ترکیبات پلی‌فلن مانند کاتچین، سیرینجیک اسید و اسید سینامیک است (۱۷)، که مکانیسم این ترکیبات در محافظت از سیستم ادراری، با کاهش میزان فعالیت آنزیم پروتئین و افزایش فعالیت آنتیاکسیدان سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز مرتبط است (۲۳).

علاوه بر این، نتایج نشان داد که بافت کلیه در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره ترب طبیعی است. این نتیجه با مطالعه Sadeek و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۸) و Dhahir و AL-Naely در سال ۲۰۲۲ (۲۰) مطابقت دارد. Sadeek و همکاران (۲۰۱۸)، مطالعه‌ای را به‌منظور بررسی اثر آب ترب یا نان تست غنی شده با پودر ترب، در ایجاد عوارض کبدی و کلیوی در موش صحرایی انجام دادند. در بررسی هیستوپاتولوژیک، مصرف آب ترب و یا نان تست غنی شده با پودر ترب، هیچ تغییر معنی‌داری در بافت کبد و کلیه نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد (۲۰). در مطالعه Dhahir و AL-Naely (۲۰۲۲) گروه تحت درمان با عصاره ترب به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، شکاف متوسطی را در پوشش اپیتلیال لوله‌های کلیوی

در نتیجه از تشکیل سنگ‌های ادراری جلوگیری می‌کند (۴).

در تعدادی مطالعات، نقش محافظت‌کننده‌گی عصاره ترب سیاه در مقابل مسمومیت‌های کلیوی نشان داده شده است، به طوری‌که با مصرف عصاره، غلظت اوره و کراتینین خون کاهش یافت. Salah-Abbès و همکاران در سال ۲۰۰۸، تاثیر عصاره ترب سیاه را به‌نهایی بر فعالیت بیولوژی کلیه از طریق اندازه‌گیری کراتینین بررسی نمودند، همچنین نقش حفاظتی این عصاره را در موش‌های بالب سی مسموم شده با سم زیرالنون بررسی کردند. بعد از مصرف عصاره ترب سیاه، هیچ تغییر معنی‌داری در غلظت کراتینین در دوزهای مورد مطالعه مشاهده نشد (۲۲)، که از این نظر با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد. مصرف زیرالنون منجر به افزایش معنی‌دار کراتینین گردید. در حالیکه درمان همزمان زیرالنون با عصاره ترب، منجر به بهبود علکرد و هیستوپاتولوژی کلیه گردید.

Dhahir و AL-Naely در سال ۲۰۲۲، مطالعه‌ای را به‌منظور بررسی اثر عصاره الکلی و نانو عصاره ترب (Raphanus sativua) بر عملکرد کبد و کلیه در موش‌های صحرایی که به‌طور تجربی توسط فنیل هیدرازین القای زردی داشتند، انجام دادند. پس از آزمایش ۲۱ روزه و انجام تست‌های عملکردی کلیه، نتایج نشان داد که زردی باعث کاهش معنی‌دار در میانگین وزن کلیه و افزایش معنی‌دار غلظت اوره و کراتینین می‌شود. در مطالعه مذکور، تیمار موش‌های صحرایی مبتلا به هیپریلی‌روبینمی با عصاره برگ ترب، منجر به افزایش معنی‌دار وزن کلیه و کاهش معنی‌دار غلظت اوره و کراتینین در مقایسه با گروه کنترل گردید (۸) که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد. افزایش در عملکرد کلیه در گروه مبتلا به زردی که عصاره معمولی ترب را دریافت کرده بودند در مقایسه با سایر درمان‌ها، در مطالعات

می‌توان بیان داشت مصرف عصاره در دوزهای مورد استفاده، اثر سمی بر عملکرد کلیه نداشته و حتی در دوزهای بالا می‌تواند دارای اثرات مثبت بر روی فعالیت کلیه باشد. از این رو پیشنهاد می‌گردد که این گیاه برای مطالعه‌های بیشتر حیوانی و بالینی در بیماری‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد. البته باید توجه نمود که نتایج فوق، زمانی قبل ارجاع خواهد بود که بررسی‌های دقیق بیشتری بر روی انواع حیوانات آزمایشگاهی و با روش‌های دارورسانی مختلف انجام گیرد و همچنین بتوان مواد مؤثره موجود در عصاره گیاهی را به دقت آنالیز و از منظر بیولوژیک مورد مطالعه قرار داد.

#### منابع

1. Agarwal K., Varma R. 2014. Radical scavenging ability and biochemical screening of a common Asian vegetable-*Raphanus sativus* L. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 27(1):127-134.
2. Alqasoumi S., Al-Yahya M., Al-Howiriny T.A.W.F.E.Q., Rafatullah, S.Y.E.D. 2008. Gastroprotective effect of radish``*Raphanus sativus*`` L. on experimental gastric ulcer models in rats. *Farmacia-Bucuresti*, 56(2):204.
3. Al-Timimi M.L.M., Hassan E.S., Al-Nafakh R.T., Lteef Alfadhl S.A., Mohammad A.R., 2019. Biochemical study of the protective effect of vitamin c and radish on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 13(4):436-440.
4. Aziz F.M., Hassan D.H. 2020. Radish juice promote kidney stone deposition in ethylene glycol-induced urolithiasis in rats. *Cihan University-Erbil Scientific Journal*, 4(1):57-61.
5. Bortis K. 2000. Principles of Clinical Biochemistry of Tate. Andisheh Rafi Publications, 2:449-568.

نشان داد که این را می‌توان به وجود یک ترکیب فنولی در عصاره ترب به ویژه اسید فولیک که یک آنتی‌اکسیدان قوی است، نسبت داد (۸). همچنین در این مطالعه، گروه مبتلا به زردی که عصاره ترب به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کرده بودند، بهبودی در بافت کلیه را نشان دادند که با مطالعه- Al Timimi و همکارانش (۲۰۱۹) مطابقت دارد (۳). این محققین، توانایی مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو، بهبود بافت کلیه و جلوگیری از سمیت کلیوی ناشی از جنتامايسین را در حیوانات آزمایشگاهی نشان دادند. ترب حاوی ویتامین C است که از سمیت کلیوی ناشی از جنتامايسین محافظت می‌کند و سبب کاهش تغییرات سیتوپلاسمی می‌شود. همچنین، انعقاد را در لوله‌های کلیوی کاهش می‌دهد (۱۹) زیرا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند و قادر به جذب گونه‌های فعال اکسیژن است و در نتیجه از آسیب سلول‌های کلیه جلوگیری می‌کند.

#### نتیجه‌گیری

در این پژوهش که بر روی موش سوری و از طریق تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه ترب سیاه انجام پذیرفت، مشخص گردید که عصاره مذکور فاقد سمیت معنی‌دار بر عملکرد کلیه بوده و از طرفی هیچ گونه آسیب بافتی، متوجه کلیه در حیوان مورد آزمایش نشده است. مصرف عصاره ترب به طور میانگین نه تنها منجر به افزایش معنی‌دار غلظت اوره و کراتینین نشده است، بلکه سبب کاهش غلظت اوره و کراتینین خون نیز می‌شود. همچنین نتایج نشان داد حداقل دوزی از عصاره (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) جهت بروز اثرات مثبت آن بر روی کاهش غلظت کراتینین خون کافی است، هر چند معنی‌دار نبود. در دوز بالاتر عصاره (۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) این کاهش در میزان پارامترهای فوق بیشتر می‌باشد. در نتیجه

14. Lugasi A., Dwoeschak E., Blazovics A., Kery A. 2001. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus L.* var *niger*) root. *Phytotherapy Research*, 12(7):502-506.
15. Mahjoubi-Samet A., Fetoui H., Zeghal N. 2008. Nephrotoxicity induced by dimethoate in adult rats and their suckling pups. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 91(2):96-103.
16. Man's D.R., Rocha A.B., Schwartsmann G. 2000. Anticancer drug discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compound. *The Oncologist*, 5(3):185-98.
17. Nowack R., Flores-Suarez F., Birck R., Schmitt W., Benck U. 2011. Herbal treatments of glomerulonephritis and chronic renal failure: Review and recommendations for research. *Journal of Plant Pathology*, 3(9):124-136.
18. Ochekpe N.A., Olorunfemi P.O., Ngwuluka N.C. 2009. Nanotechnology and drug delivery part 1: background and applications. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8(3): 265-274.
19. Rehman K., Akash M.S., Azhar S., Khan S.A., Abid R., Waseem A., Murtaza G., Sherazi T.A. 2012. A biochemical and histopathologic study showing protection and treatment of gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits using vitamin C. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(3):360-365.
20. Sadeek R.A., Abd Elsabor R.G., Hassan H.M. Potential protective effects of red radish (*Raphanus sativus*) in alleviation of health complications caused by ibuprofen. April 2018 Conference: Tenth Annual International Scientific Conference (Specific scientific conference in Egypt and the Arab world in the light of sustainable development strategies). At: Faculty of Specific Education At: Mansoura University.
6. Castro-Torres I.G., De la O-Arciniega M., Gallegos-Estudillo J., Naranjo-Rodríguez E.B., Domínguez-Ortíz M.Á., *Raphanus sativus L.* 2014. var *niger* as a source of phytochemicals for the prevention of cholesterol gallstones. *Phytotherapy Research*, 28:167-171.
7. Dai J., Mumper R.J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10):7313-7352.
8. Dhahir M.R., AL-Naely A.J., 2022. Effect of alcoholic and nano-extract of red radish, *Raphanus sativua* on liver and kidney function in rats induced jaundiced. *Iranian Journal of Ichthyology*, 9:148-160.
9. Goorani S., Sharifiar N., Seydi N., Zangeneh A., Moradi R., Tari B., Nazari F., Zangeneh M.M., 2019. The aqueous extract of *Allium saralicum* RM Fritsch effectively treat induced anemia: experimental study on Wistar rats. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 19(4):403-413.
10. Ibrahim L.F., Elkhateeb A., Marzouk M.M., Hussein S.R., Abdel-Hameed E.S.S., Kassem M.E. 2016. Flavonoid investigation, LC-ESI-MS profile and cytotoxic activity of *Raphanus raphanistrum* L. (Brassicaceae). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(7):786-793.
11. Ishida M., Hara M., Fukino N., Kakizaki T., Morimitsu Y. 2014. Glucosinolate metabolism, functionality and breeding for the improvement of Brassicaceae vegetables. *Breeding Science*, 64(1):48-59.
12. Jan M., Badar A. 2012. Effect of crude extract of *Raphanus sativus* roots on isolated trachea of albino rat. *Pakistan Journal of Physiology*, 8(1):23-26.
13. Kutshik R.J., Jiyil M.K., Mafuyai C.E., Ichor L.L. 2020. Anti-Anaemic Effect of *Cnidoscolus chayamansa* (Mc Vaugh) Leaf Extract on Phenyl Hydrazine-Treated Rats. *Journal of Advances in Biology and Biotechnology*, 23(11):23-32.

24. Sipos P., Hagymasi K., Lugasi A., Feher E., Blazovics A. 2002. Effects of black radish root (*Raphanus sativus* L. var *niger*) on the colon mucosa in rats fed a fat rich diet. *Phytotherapy Research*, 16(7): 677-679.
25. Suh S.J., Moon S.K., Kim C.H. 2006. *Raphanus sativus* and its isothiocyanates inhibit vascular smooth muscle cells proliferation and induce G1 cell cycle. *International Immunopharmacology*, 6(5): 854-861.
26. Takaya Y., Kondo Y., Furukawa T., Niwa M. 2003. Antioxidant constituents of radish sprout (Kaiware-daiikon), *Raphanus sativus* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27):8061-8066.
21. Sadeghi T., Shariati M., Mokhtari M. 2019. The effect of *Passiflora caerulea* leaf hydroalcohol extract on some biochemical factors in adult male rat. *Journal of Animal Physiology and Development*, 12(1):59-67.
22. Salah-Abbès J.B., Abbès S., Ouanes Z., Houas Z., Abdel-Wahhab M.A., Bacha H., Oueslati R. 2008. Tunisian radish extract (*Raphanus sativus*) enhances the antioxidant status and protects against oxidative stress induced by zearalenone in Balb/c mice. *Journal of Applied Toxicology*. 28(1):6-14.
23. Sindhu G., Nishanthi E., Sharmila R. 2015. Nephroprotective effect of vanillic acid against cisplatin induced nephrotoxicity in wistar rats: a biochemical and molecular study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(1):392-404.

## Effect of Black Radish Hydroalcoholic Extract on Kidney and Functional Kidney in Balb/c Mice

Maryam Karimi Dehkordi<sup>1\*</sup>, Iman Jafari<sup>1</sup>, Guzel Rahbar<sup>2</sup>, Munira Shafahi<sup>3</sup>, Forough Mohammadi<sup>4</sup>

1- Department of Veterinary, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2- Department of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

3- Department of Biology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

4- Department of Veterinary, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

### Abstract

This study was performed to evaluate the effect of hydroalcoholic extract of black radish (*Raphanus sativua*) on complete blood cell count and kidney function in mice. Forty white mice were divided into four equal groups. Mice in the control group received only saline solution and mice in the second to fourth groups received 50, 100 and 150 mg/kg body weight of black radish plant extract, respectively, by intraperitoneal injection. After a 21-day trial period, blood samples were taken from the heart to count complete blood cells (hematocrit, hemoglobin, red and white blood cells) and urea nitrogen and creatinine in serum were measured. The results showed that treatment with black radish extract in any of the studied doses did not cause a significant change in blood cell count and nitrogen urea and creatinine ( $p < 0.05$ ). These results were confirmed by histopathological examination of the kidney. Treatment of mice with horseradish extract resulted in a non-significant decrease in blood urea nitrogen and creatinine compared to the control group. Also, with increasing the dose of the extract, the amount of urea nitrogen and creatinine in each group decreased compared to the previous group, although this decrease was not significant ( $p < 0.05$ ). The results of the present study indicate the extract in the doses used in the study, is not nephrotoxic and it can be said that under physiological conditions, the use of hydroalcoholic extract of radish not only has no toxic effect on the kidney in high doses, but also has positive effects on kidney function.

**Keywords:** Black Radish, Hydro Alcoholic Extract, Kidney, Mice.

