

## مقاله تحقیقی

### اثر عصاره آبی ساقه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم و ادرار در موش های صحرایی نر مبتلا به سنگ کلیه

مریم طهرانی پورا<sup>۱</sup>، غلامحسین واعظی<sup>۲</sup>، مهدیه الزمان امامیان<sup>۳\*</sup>، خدیجه نژاد شاهرخ آبادی<sup>۴</sup>

۱- دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز، ایران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، استادیار فیزیولوژی جانوری، نیشابور، ایران

۴- استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

مسئول مکاتبات: [mahdie.zaman@yahoo.com](mailto:mahdie.zaman@yahoo.com)

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد واحد مشهد و دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۳

## چکیده

کاسنی در طب سنتی به عنوان محافظ کلیه و سنگ شکن استفاده می شود. در این مطالعه اثر عصاره آبی ساقه کاسنی بر پیشگیری از ایجاد سنگ اگزالات کلسیم در کلیه رت ها بررسی شد. ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در چهار گروه شامل کنترل سالم، گروه دریافت کننده اتیلن گلیکول، گروه های پیشگیری با دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg با تزریق داخل صفاقی عصاره آبی ساقه کاسنی به همراه ۱٪ اتیلن گلیکول، به مدت ۳۰ روز آزمایش شدند. در روزهای صفر، ۱۵ و ۳۰، سطح کلسیم، اسید اوریک، سیترات، کراتینین، pH و حجم ادرار و روز ۳۱، سطح سرمی کلسیم، اسید اوریک و کراتینین تعیین شد. RNA از بافت کلیه استخراج و cDNA سنتز شد. توسط تکنیک Real time PCR، سطح بیان ژن های کد کننده IL-1 $\beta$ ، TNF- $\alpha$  مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز داده ها به کمک آزمون ANOVA، تست Tukey و نرم افزار SPSS انجام شد. در گروه های پیشگیری سطح ادراری کلسیم (روز ۱۵ و دوز ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) و سطح سیترات ادرار (روز ۱۵) و سطح سرمی کلسیم، اسید اوریک، کراتینین و بیان ژن کد کننده TNF- $\alpha$  کاهش معنی دار یافت. حجم ادرار (روز ۳۰) و بیان ژن IL-1 $\beta$  (دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) نیز افزایش معنی دار یافت. احتمالاً ساقه کاسنی به دلیل خاصیت دیورتیک، موجب کاهش کلسیم ادرار در دوز ۵۰ mg/kg و پارامترهای سرم شده است. اما در دوز ۲۰۰ mg/kg، تاثیری بر پیشگیری از تشکیل سنگ کلیه ندارد و موجب افزایش التهاب کلیوی ناشی از افزایش IL-1 $\beta$  و برخی پارامترهای ادراری نیز شده است.

واژه های کلیدی: ساقه کاسنی (*Cichorium intybus* L.)، سنگ کلیه، رت، IL-1 $\beta$ ، TNF- $\alpha$

## مقدمه

دلیل تغییر رژیم غذایی و شیوه زندگی در حال افزایش می باشد و عوامل مختلفی مانند سابقه ژنتیکی، سن، جنس، بیماری هایی همچون هیپرپاراتیروئیدی شرایط آب و هوایی

سنگ های ادراری پس از عفونت های ادراری و اختلالات پاتولوژیک پروستات، سومین بیماری شایع دستگاه ادراری است که شیوع آن در کشورهای صنعتی به

این جایگزینی حداقل عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی است (۲).

گیاه کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus* L. از مهم ترین گیاهان خانواده آستراسه می باشد. این گیاه دارای ریشه نسبتاً ضخیم، ساقه حامل تعداد زیادی گل های آبی، بنفش کم رنگ و گاهی سفید است. کاسنی بومی منطقه مدیترانه، آسیا و شمال آفریقا است (۱۶). کاسنی در درمان یرقان، مشکلات طحال، مشکلات روده ای مانند مشکلات گوارشی، التهاب معده و بی اشتها توصیه می شود. در پزشکی یونانی از کاسنی به عنوان ضدسمومیت و محافظ کلیه استفاده می شود. از عصاره و چای برگ های کاسنی به عنوان سنگ شکن برای از بین بردن مخاط داخلی و تولید صفر استفاده می شود (۲۲). کاسنی غنی از کاروتن، اسید اسکوربیک و مواد معدنی کلسیم، فسفر، منیزیم، آهن، منگنز، روی، مس، سدیم، پتاسیم، سلنیوم و غیره است (۱۶). با توجه به این اثرات کاسنی، در این مطالعه تلاش شده تا اثر عصاره آبی ساقه کاسنی بر پیشگیری از ایجاد سنگ اگزالات کلسیم در کلیه موش صحرایی نر نژاد ویستار دریافت کننده اتیلن گلیکول بررسی گردد.

#### مواد و روش ها

نمونه ساقه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) از روستای اسدآباد نیشابور جمع آوری شده و بعد از شناسایی توسط متخصصین گیاه شناسی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به شرح زیر شناسایی و در هرباریوم کدگذاری شد:

*Cichorium intybus* L.  
Family: Asteraceae (Compositae)  
Voucher sp. no. : 38201(FUMH)

#### روش عصاره گیری

ابتدا ساقه های کاسنی در سایه خشک و تا زمان عصاره گیری در محیط خنک نگهداری شدند و در آسیاب برقی کاملاً پودر شده، سپس ۱۰۰ گرم از پودر در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب شد و به مدت ۷۲ ساعت در آن در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. محلول حاصل نیز با پمب خلاء و قیف بوختر صاف شد و پس از حذف ناخالصی در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد در آن خشک شد (۵). از پودر خشک شده برای تهیه دوزه های ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر

محل زندگی، مقدار آب مصرفی و املاح موجود، استرس، رژیم غذایی داروها در بروز این بیماری دخیل هستند (۱۲). تشکیل سنگ در کلیه به اشباع ادرار از مواد تشکیل دهنده کریستال گفته می شود. در یک فرد سالم، تشکیل کریستال در توبول های ادراری اتفاق نمی افتد، اما تغییر در شرایط طبیعی تبلور ترکیبات در ادرار منجر به تشکیل سنگ می شود (۲۱). به طور مثال سنگ های کلسیمی به دلیل تشکیل بلورهای اگزالات کلسیم و فسفات کلسیم در ادرار ایجاد می شوند که تشکیل این بلورها ناشی از افزایش کلسیم و اسید اوریک ادرار و یا کاهش pH ادرار است. در بیماران مبتلا به سنگ کلیه علاوه بر تغییر سطح سرمی کلسیم، میزان سیترات و کلسیم در ادرار نیز تغییر می کند (۱۲). عواملی مانند استرس اکسیداتیو، آسیب سلول های اپی تلیال کلیه و همچنین التهاب عوامل درگیر در تشکیل سنگ کلیه هستند (۱۳). بررسی ها نشان دادند ترشح سایتوکین ها با آزاد شدن هورمون های استرس مرتبط می باشد و یک عامل استرس زا باعث القاء سنتز سایتوکاین های پیش التهابی در بدن می شود. افزایش التهاب و عفونت با ایجاد تغییر در غلظت سایتوکاین های التهابی و ضدالتهابی، برهم خوردن تعادل لنفوسیت ها و کاهش فعالیت نوتروفیل ها همراه می باشند (۴). در جریان التهاب نیز، میانجی های مختلفی توسط سلول های سیستم ایمنی، از جمله سایتوکاین پیش التهابی  $TNF-\alpha$  ترشح می شوند که باعث تشدید پاسخ ایمنی می گردند (۲۰). فاکتور  $TNF-\alpha$  فیلتراسیون گلومرول را کاهش داده و باز جذب سدیم توبولی در کلیه را تحت تاثیر قرار می دهد (۷). همچنین کاهش سطح سرمی  $TNF-\alpha$  به عنوان یکی از سایتوکاین های مهم التهاب زا، توسط عصاره کلروفومی کاسنی حاکی از اثرات ضد التهابی این عصاره می باشد که در تایید این نتیجه، در مطالعات دیگری اثر ضد التهابی گیاه کاسنی در درمان التهاب لته دندان گزارش شده است. همچنین مشخص شده است که عصاره آبی کاسنی در بیماران موجب کاهش میزان هیپستامین خون می گردد (۱۴). ترشح  $IL-1\beta$  نیز به عنوان یکی از دیگر سایتوکاین های التهابی باعث یک پاسخ التهابی عمومی از جمله اعزام نوتروفیل ها و ماکروفاژها به محل تشکیل کریستال های کلسیمی در توبول های ادراری می شود (۱۵). امروزه گیاهان دارویی به عنوان نوآوری های زیستی در عرصه پزشکی جایگزینی مناسبی برای داروهای شیمیایی هستند. یکی از علل مهم

### استخراج RNA، سنتز cDNA و سنجش بیان ژن های TNF- $\alpha$ ، IL-1 $\beta$ با استفاده از روش Real time PCR

از بافت هر دو کلیه نمونه برداری شد. سپس مراحل استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA و طبق پروتکل شرکت دنا زیست - مشهد به روش ستونی انجام شد. با استفاده از تکنیک اسپکتروفوتومتری نانودراپ از کمیت RNA استخراج شده و استخراج صحیح آن اطمینان حاصل شد. دستگاه به طور اتوماتیک غلظت RNA را با استفاده از جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر، محاسبه می کند. دستگاه غلظت نمونه مورد نظر را در طول موج مربوطه، بر حسب میکروگرم بر میکرولیتر، محاسبه می کند. همچنین جهت اطمینان از کنترل کیفیت مقدار RNA استخراج شده، RNA بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد قرار داده شد. بسته به غلظت RNA که برای هر نمونه در نانودراپ مشخص شده، بین ۲ تا ۳ میکرولیتر از هر یک از نمونه های RNA برداشته شد و با استفاده از کیت سنتز cDNA (شرکت پارس توس) و آنزیم رونویسی معکوس و پرایمرهای Oligo dt طبق دستورالعمل شرکت سازنده به cDNA تبدیل شد. توالی نوکلئوتیدی پرایمر Forward و توالی نوکلئوتیدی پرایمر Revers مکمل ژن های IL-1 $\beta$ ، TNF- $\alpha$  در رت از طریق نرم افزار الیگو ۷ (سایت NCBI) مورد بررسی قرار گرفت تا از اختصاصی بودن محل جفت شدن پرایمرها اطمینان حاصل شود (جدول ۱). تکنیک Real time PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن های TNF- $\alpha$ ، IL-1 $\beta$  و ژن GAPDH که به عنوان House keeping استفاده شد، و طبق پروتکل پیشنهادی کیت شرکت پارس توس انجام پذیرفت. واکنش Real time PCR برای تکثیر ژن های TNF- $\alpha$ ، IL-1 $\beta$  طبق پروتکل با ۱۰ میکرولیتر سایبرگرین، ۱ میکرولیتر cDNA Template، ۷/۷ میکرولیتر آب مقطر و پرایمر اختصاصی در دمای ۶۳ درجه سانتیگراد انجام شد. مرحله تکثیر شامل یک مرحله واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵C به مدت ۲۰ ثانیه، باز شدن رشته الگو در دمای ۹۵C به مدت ۱۵ ثانیه، اتصال پرایمر به الگو و تکثیر قطعه مورد نظر در دمای ۶۱C به مدت ۳۰ ثانیه و در پایان یک مرحله انتهایی در دمای ۷۲C به مدت ۵ دقیقه بود.

کیلوگرم وزن بدن موش استفاده شد (۹). این عصاره روزانه به صورت تازه تهیه و در اختیار حیوانات قرار داده شد.

### تیمار حیوانات

تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (wistar) با سن یکسان و میانگین وزنی  $10 \pm 250$  گرم به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی شامل گروه کنترل سالم، گروه دریافت کننده اتیلن گلیکول (EG)، گروه های پیشگیری با دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی ساقه کاسنی تقسیم شدند (۱۲). موش ها در اتاق حیوانات با درجه حرارت  $22 \pm 23$  درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات ضمن دسترسی آزادانه به آب و غذا در مدت ۳۰ روز به صورت زیر تیمار شدند: به آب اشامیدنی تمام گروه ها به جز گروه کنترل سالم، ۱٪ اتیلن گلیکول در مدت ۳۰ روز اضافه شد. همچنین در گروه کنترل سالم و گروه اتیلن گلیکول، ۱٪ آب مقطر به صورت درون صفاقی از روز اول تیمار به مدت ۳۰ روز تزریق شد. گروه های پیشگیری عصاره آبی ساقه کاسنی را به مدت ۳۰ روز به صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند (۸، ۱۱). این مطالعه بر اساس مصوبه کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد و مطابق اعلامیه هلسینکی انجام شد (۲۳).

### جمع آوری نمونه های خون و ادرار و بررسی بیوشیمیایی

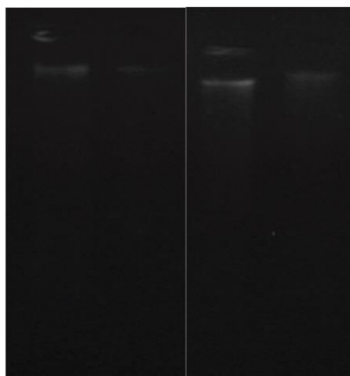
جهت بررسی پارامترهای ادراری موثر بر سنگ سازی، موش های صحرایی در روزهای صفر، ۱۵ و ۳۰ پژوهش به طور انفرادی در قفس متابولیک قرار گرفتند و در پایان ۲۴ ساعت حجم ادرار جمع آوری شده از هر موش صحرایی اندازه گیری و نمونه ادرار هر موش جهت اندازه گیری کلسیم، سترات، اسید اوریک، کراتینین، حجم ادرار و pH ادرار به آزمایشگاه فرستاده شد. در روز سی و یکم مطالعه پس از بیهوشی با اتر نمونه خون موش های صحرایی هر گروه مستقیماً از قلب تهیه و جهت اندازه گیری میزان کلسیم، اسید اوریک و کراتینین سرم به آزمایشگاه فرستاده شد.

جدول ۱ - توالی پرایمر مورد استفاده برای بررسی بیان ژن های TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , GAPDH

Gene	Primer Sequence		TM
GAPDH	Forward:	5'-TGCTGGTGCTGAGTATGTCG-3'	60°C
	Reverse:	5'-GCATGTCAGATCCACAACGG-3'	60°C
TNF- $\alpha$	Forward:	5'-GGTGATCGGTCCCAACAAGGA-3'	56.3°C
	Reverse:	5'-CACGCTGGCACAGCCACTC-3'	57.6°C
IL-1 $\beta$	Forward:	5'-CTCCATGAGCTTTGTACAAGG-3'	52.4°C
	Reverse:	5'-TGCTGATGTACCAGTTGGGG-3'	53.8°C

( $P < 0.001$ ) به ویژه در دوز ۵۰ نسبت به گروه دریافت کننده اتیلن گلیکول و حتی نسبت به گروه سالم، کاهش معناداری یافته است (نمودار ۱). افزایش معنی دار بیان ژن IL-1 $\beta$  در گروه های پیشگیری با دوز پایین (۵۰:  $P < 0.05$ ) و بالاخص به طور معنی دار در گروه پیشگیری با دوز بالا (۲۰۰:  $P < 0.001$ ) نسبت به گروه دریافت کننده اتیلن گلیکول مشاهده می شود (نمودار ۲). تصویر ژل الکتروفورز (شکل ۱) مربوط به استخراج RNA می باشد.

۱      ۲      ۳      ۴



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز از میزان کیفیت RNA استخراج شده، ترتیب گروه ها ۱: گروه کنترل سالم، ۲: گروه اتیلن گلیکول (۱٪)، ۳: اتیلن گلیکول (۱٪) + دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ساقه کاسنی، ۴: گروه اتیلن گلیکول (۱٪) + دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ساقه کاسنی.

### بحث و نتیجه گیری

ادرار بسیاری از افراد به وسیله ترکیبات تشکیل دهنده سنگ مانند کلسیم و اسید اوریک اشباع می شود. اکثر سنگ های ادراری حاوی کلسیم هستند. سنگ های کلسیمی زمانی بوجود می آیند که ادرار با اغزالات یا کلسیم اشباع می شود (۶). اما ساقه کاسنی به جز در دوز ۲۰۰ که

### آنالیز آماری

تمامی داده ها و نمودارها به صورت  $\text{mean} \pm \text{S.E}$  ارائه شده است و اطلاعات بدست آمده پس از محاسبه و انجام تست نرمال، توسط نرم افزار SPSS، آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA One Way) و متعاقب آن تست Tukey، تجزیه و تحلیل و نمودارها توسط برنامه نرم افزاری Excel رسم شدند. اختلاف معنی دار بین گروه ها با سطح معنی داری ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شده است.

### نتایج

سطح ادراری کراتینین، حجم ادرار ۲۴ ساعته، کلسیم، اسید اوریک، سیترات و pH ادرار روز صفر تیمار در گروه های مختلف تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد ( $P > 0.05$ ) (جدول ۲). حجم ادرار روز ۳۰ در گروه های پیشگیری (دوزهای ۵۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg) نسبت به گروه اتیلن گلیکول افزایش معنی داری ( $P < 0.01$ ) یافته است (جدول ۲). در روز ۱۵ تیمار در گروه های پیشگیری (دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم)، میانگین غلظت کراتینین، سیترات ( $P < 0.001$ ) در ادرار، حجم ادرار و سطح کلسیم ادرار (دوز ۵۰:  $P < 0.05$ )، در روز ۳۰ میانگین pH ادرار (دوز ۲۰۰ mg/kg) نسبت به گروه اتیلن گلیکول کاهش یافته است. سطح سیترات ادرار در روز ۳۰ افزایش یافته و حتی در گروه پیشگیری (دوز ۲۰۰ mg/kg)، تفاوت معنی داری با گروه کنترل سالم ندارد. همچنین کلسیم روز ۳۰ در گروه پیشگیری (دوز ۵۰ mg/kg) کاهش، اما گروه پیشگیری (دوز ۲۰۰ mg/kg) افزایش دارد (جدول ۱). میانگین pH ادرار روز ۱۵ در گروه پیشگیری (دوز mg/kg ۵۰) افزایش یافته است و در روز ۳۰، pH ادرار تفاوت معنی داری ندارد (جدول ۲). کراتینین ( $P < 0.05$ )، اسید اوریک ( $P < 0.01$ ) و کلسیم ( $P < 0.01$ ) سرم در گروه اتیلن گلیکول نسبت به گروه های دیگر افزایش یافته است (جدول ۳). بیان TNF- $\alpha$  در هر دو گروه های پیشگیری

حاضر چون سطح سیترات و pH ادرار کاهش یافته است کاهش تشکیل کریستال های کلسیمی در دوز ۵۰ از طریق مکانیسم فوق قابل قبول نمی باشد. از طرفی چون مشخص شده قلیایی شدن ادرار بر اثر کمپلکس سیترات پتاسیم میزان حلالیت اسید اوریک را افزایش می دهد و از اشباع اگزالات کلسیم توسط اورات جلوگیری می کند (۱۰) و به این دلیل که اسید اوریک توسط عصاره آبی ساقه کاسنی افزایش یافته است و به علت افزایش سیترات و ایجاد اسیدوز ادراری، سیترات نتوانسته از طریق انحلال اسید اوریک، در کاهش کریستال های اگزالات کلسیم موثر باشد.

موجب افزایش معنی دار کلسیم ادرار شده، در مجموع در سطح کلسیم سرم و همچنین کلسیم ادرار (روز ۱۵ تیمار و در دوز ۵۰) کاهش معنی داری ایجاد کرده است. با توجه به این که سنگ های کلسیمی مهمترین نوع سنگ ها هستند این مسئله در مورد ساقه کاسنی بویژه نسبت به دوز مصرفی عصاره، مطالعات بیشتری را می طلبد. سیترات یک بازدارنده مهم سنگ کلیه است. هر شرایطی که منجر به اسیدوز داخل سلولی شود، منجر به کاهش غلظت سیترات ادراری می شود. از طرفی افزایش pH ادرار، یک عامل در تشکیل کمپلکس کلسیم- فسفات، کلسیم- سیترات می باشد و از تشکیل سنگ جلوگیری می کند (۶). در تحقیق

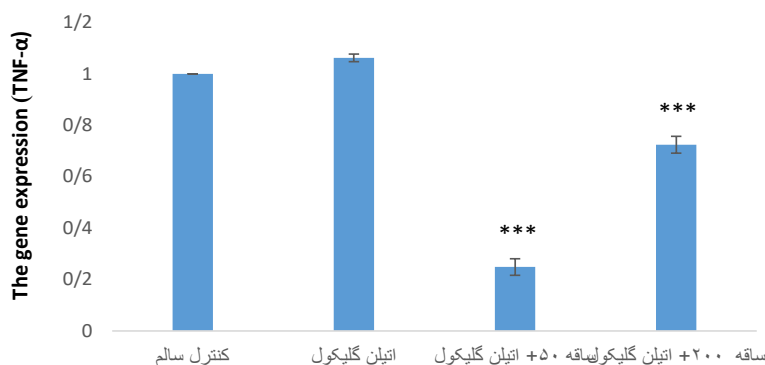
جدول ۲ - اثر عصاره آبی ساقه کاسنی در دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش بر پارامترهای ادرار ۲۴ ساعته در موش های صحرایی نر.

P value	دوز ۲۰۰mg/kg عصاره + اتیلن گلیکول	دوز ۵۰mg/kg عصاره + اتیلن گلیکول	اتیلن گلیکول ٪	کنترل سالم	روز	پارامتر
	۱/۰ ± ۰۴/۱۳	۱/۰ ± ۰۲۷/۰۷	۰/۰ ± ۰۸۵/۱۱	۱/۰ ± ۰۱۶/۱۲	صفر	کلسیم (mg/dl)
P<۰/۰۰۵	۰/۰ ± ۰۷۶/۲۷	# ۰/۰ ± ۰۲/۰۳	۰/۰ ± ۰۹۱/۱۶	۰/۰ ± ۰۳۷/۰۳	۱۵	
	۲/۰ ± ۰۲۱/۶۳	۰/۰ ± ۰۷۷/۱۱	۱/۰ ± ۰۳۶/۱۸	۰/۰ ± ۰۳/۱۲	۳۰	
	۱/۰ ± ۰۵/۲۵	۰/۰ ± ۰۷۹/۲۲	۱/۰ ± ۰۳۱/۰۹	۱/۰ ± ۰۲۳/۱۵	صفر	اسید اوریک (mg/dl)
	۰/۰ ± ۰۴۲/۰۸	۰/۰ ± ۰۹۳/۲۲	۰/۰ ± ۰۵۷/۱۳	۰/۰ ± ۰۴۱/۱۵	۱۵	
	۱/۰ ± ۰۷/۲۵	۰/۰ ± ۰۷/۲۳	۰/۰ ± ۰۹۳/۲	۰/۰ ± ۰۲۳/۱۳	۳۰	
	۳/۰ ± ۰۴/۹۸	۳/۱ ± ۰۲۶/۰۵	۳/۰ ± ۰۳۱/۲۳	۲/۰ ± ۰۱/۰۹	صفر	کراتینین (mg/dl)
	۱/۰ ± ۰۶۵/۳۵	۱/۰ ± ۰۳/۴۹	۱/۰ ± ۰۸۴/۲۶	۲/۰ ± ۰۵/۶۶	۱۵	
	۴/۰ ± ۰۱۵/۹۸	۳/۰ ± ۰۱/۴۷	۲/۰ ± ۰۵/۳۶	۲/۰ ± ۰۹۳/۹۴	۳۰	
	۸/۰ ± ۰۸۷/۹۶	۵/۲ ± ۰۹۳/۰۹	۷/۱ ± ۰۸/۵۵	۸/۰ ± ۰۶۲/۷۵	صفر	سیترات (mg/dl)
P<۰/۰۰۱	** ۳/۰ ± ۰۲۴/۶۹	*** ۱/۰ ± ۰۴۲/۵۵	۷/۰ ± ۰۹۵/۲۵	۷/۱ ± ۰۵۲/۲۶	۱۵	
	۸/۱ ± ۰۱۷/۸۸	۳/۱ ± ۰۲۲/۹۱	۵/۰ ± ۰۷/۹	۸/۱ ± ۰۹۶/۶	۳۰	
	۱۱/۱ ± ۰۲/۵۹	۱۰/۱ ± ۰۶/۸۶	۱۲/۱ ± ۰۴/۰۲	۱ ± ۰/۰۷	صفر	حجم ادرار (ml)
	۹/۲ ± ۰۷/۴۸	۱ ± ۰/۸۹	۰ ± ۰/۱۲/۹۴	۱ ± ۰/۱۳/۰۴	۱۵	
P<۰/۰۱	** ۱۴/۰ ± ۰۸/۲	** ۱۳/۰ ± ۰۲/۹۱	## ۷/۱ ± ۰۵/۳	۱۴/۱ ± ۰۶/۱۶	۳۰	
	۶/۰ ± ۰۲/۴۸	۶/۰ ± ۰۶/۲۴	۰ ± ۰/۰۷	۰ ± ۰/۰۶	صفر	pH
	۶/۰ ± ۰۲/۲	۸/۰ ± ۰۲/۵۸	۶/۰ ± ۰۸/۲	۶/۰ ± ۰۴/۲۴	۱۵	
	۰ ± ۰/۰۶	۶/۰ ± ۰۲/۲	۶/۰ ± ۰۲/۳۷	۶/۰ ± ۰۲/۲	۳۰	

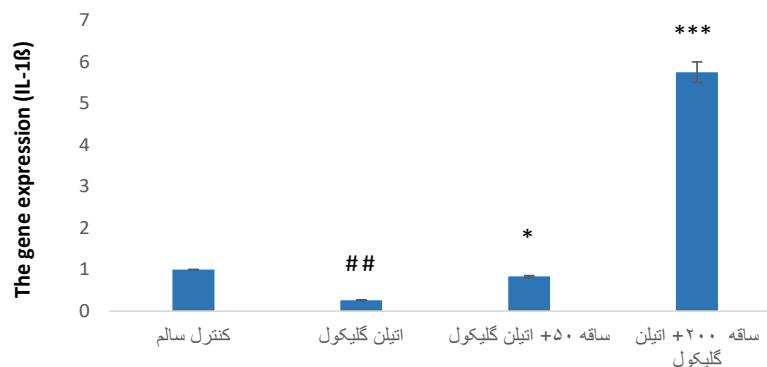
جدول ۳: اثر عصاره آبی ساقه کاسنی در دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش بر سطح سرمی کراتینین، اسید اوریک، کلسیم در موش های نر نژاد ویستار.

P value	دوز ۲۰۰mg/kg + اتیلن گلیکول ٪	دوز ۵۰mg/kg + اتیلن گلیکول ٪	اتیلن گلیکول ٪	کنترل سالم	پارامترها
P<۰/۰۰۵	* ۰/۰ ± ۰۵۷/۰۳	۰/۰ ± ۰۷۲/۰۳	# ۰/۰ ± ۰۹۴/۱۴	۰/۰ ± ۰۵۶/۰۶	کراتینین (mg/dl)

P<0/01	** 0.±3/62	** 4/0.±1/82	## 12/2±32/32	3/0.±62/39	اسید اوریک (mg/dl)
P<0/01	* 9/0.±47/14	9/0.±6/11	# 10/0.±42/22	8/0.±8/34	کلسیم (mg/dl)



نمودار ۱: اثر عصاره آبی ساقه کاسنی در دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بر میزان بیان ژن TNF-α در موش های صحرایی مبتلا به سنگ کلیه. \*\*\* مقایسه بیان ژن TNF-α بین گروه اتیلن گلیکول با گروه های پیشگیری را نشان می دهد (P<0/001).



نمودار ۲: اثر عصاره آبی ساقه کاسنی در دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بر میزان بیان ژن IL-1β در موش های صحرایی مبتلا به سنگ کلیه. ## مقایسه بیان ژن IL-1β بین گروه اتیلن گلیکول با گروه کنترل سالم (P<0/01)، \* بین گروه اتیلن گلیکول با گروه پیشگیری با دوز ۵۰ mg/kg (P<0/05)، \*\*\* بین گروه اتیلن گلیکول با گروه پیشگیری با دوز ۲۰۰ mg/kg (P<0/001) را نشان می دهد.

ارتباط با اثر ساقه بر افزایش فیلتراسیون گلومرولی نیز می باشد، زیرا اگر چه افزایش کراتینین ادرار معنی دار نمی باشد اما نسبت به کاهش معنی دار آن در سرم و افزایش حجم ادرار می تواند اثر قابل ملاحظه ای بر کلیرانس کراتینین به عنوان شاخص عملکرد کلیه و به تبع آن افزایش میزان فیلتراسیون گلومرولی داشته باشد (۱) که

می دانیم کاسنی مدر است (۲۲) و ساقه کاسنی حجم ادرار را افزایش داده است (روز ۳۰: P<0/01) و حجم بالای ادرار به کاهش اشباع ترکیبات تشکیل دهنده کریستال کمک می کند (۶) و از عوامل مهارکننده در تشکیل سنگ های کلیوی است. یک احتمال دیگر اثر عصاره ساقه کاسنی در کاهش دوز ۵۰ کلسیم ادرار در

سنگ های کلسیمی و اوریکی مخرب ارزیابی گردد. حتی با اینکه بیان  $TNF-\alpha$ ، کاهش یافته است اما کاهش در دوز ۵۰ محسوس تر است. افزایش سطح ادراری کلسیم و اسید اوریک در دوز ۲۰۰ نیز این موضوع را تایید می کند. همچنین در نتایج حاصل از مطالعه‌ای آمده: تغییرات بیان سایتوکین در بافت کلیه همونیزه شده در موش های تحت تیمار با پروتئین های سیتوتوکسیک افزایش بیان در سایتوکاین های پیش التهابی  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  را نشان داده است (۱۷) و در تحقیق حاضر با افزایش  $IL-1\beta$  در دوز های ۵۰ و به ویژه ۲۰۰ (نمودار ۲) مواجه ایم و چون بیان  $TNF-\alpha$ ، در دوز ۲۰۰ نسبت به دوز ۵۰ افزایش بیشتری نشان می دهد، تقریباً یک ارتباط همسویی را با افزایش دوز هم برای  $IL-1\beta$  و هم برای  $TNF-\alpha$  شاهد هستیم.  $IL-1\beta$  مشخص شده که تولید ماده P و پروستاگلاندین E2 (prostaglandin E2) را افزایش می دهد (۲۴). بنابراین احتمالاً افزایش معنی دار  $IL-1\beta$  در تیمار با دوز ۲۰۰ ساقه کاسنی، به دلیل آزاد شدن پروستاگلاندین های التهابی از اطراف توبول های ادراری با افزایش دوز عصاره باشد. ساقه کاسنی به واسطه کاهش سطح سرمی کلسیم، کراتینین و اسید اوریک، کاهش سطح ادراری این پارامترها بیشتر در دوز ۵۰ و افزایش حجم ادرار و کاهش بیان  $TNF-\alpha$  می تواند در دوز ۵۰ در جلوگیری از تشکیل کریستال های کلسیمی موثر باشد. اما با افزایش دوز عصاره این اثر معکس می گردد و به نظر می رسد با افزایش دوز عصاره ساقه میزان تشکیل سنگ های کلسیمی و التهابات ناشی از القاء  $IL-1\beta$  افزایش می یابد که نیاز به بررسی بیشتری دارد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مساعدت و همراهی دانشگاه آزاد مشهد و دانشگاه علوم پزشکی مشهد به ویژه جناب آقای دکتر محمدیان، دکتر حسین آیت الهی و دکتر موسی الرضا حاج زاده تشکر و قدردانی می گردد.

شاید بتوان اثر ساقه کاسنی بر عملکرد کلیه را در پژوهشی دیگر مورد بررسی قرار داد.

کریستال های اسید اوریک می توانند در فضای میان بافتی رسوب کنند و منجر به التهاب، فیبروز بینابینی و بیماری مزمن کلیوی (chronic kidney disease) شوند. پیلونفریت مزمن (عفونت ادراری) حاصل از سنگ استروئیت آلوده منجر به التهاب و تخریب سلول های پارانشیمی کلیه خواهد شد (۳).

با وجود این که ساقه کاسنی تا حدودی کلسیم ادرار را به ویژه در روز ۱۵ کاهش داده ( $P < 0.05$ ) اما در عین حال باعث افزایش اسید اوریک و احتمالاً کریستال های اسید اوریکی شده است که ممکن است به دلیل التهاب و عفونت کلیوی ناشی از افزایش معنی دار  $IL-1\beta$  ایجاد شده باشد. همین طور، استرس اکسیداتیو ناشی از کریستال های کلسیم، منجر به التهاب در فضای بینابینی می شود که بوسیله افزایش بیان سایتوکین های التهابی مختلف مانند،  $NF-KB$ ،  $p38-MAPK$  (پروتئین کیناز فعال کننده میتوزن) ایجاد می شود (۱۹) و چون  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  مهم ترین فعال کننده  $NF-kB$  هستند. اتصال  $NF-kB$  به DNA در ژن  $TNF-\alpha$  و سایر سایتوکین یک حلقه خودکار تنظیمی مثبت را ایجاد می کند که منجر به پیشرفت پاسخ التهابی و طولانی تر شدن فرآیند التهاب می شود (۱۸). احتمالاً افزایش  $IL-1\beta$  به واسطه  $NF-KB$  در ایجاد کریستال های کلسیم در دوز بالاتر موثر بوده است اما در مورد  $TNF-\alpha$  مکانیسم فوق رد می شود چرا که عصاره ساقه کاسنی  $TNF-\alpha$  را کاهش داده است.

همچنین در این تحقیق با افزایش دوز عصاره تقریباً نتایج معکوسی را در جهت کاهش پارامترهای ادرار و سرم مشاهده می کنیم (جداول ۲ و ۳) چرا که با اثرات مخرب مهمترین این پارامترهای ادرار، بر سنگ های کلیوی مواجه هستیم. با نظر به این که میزان بیان  $IL-1\beta$  در دوز ۲۰۰ نسبت به دوز ۵۰ افزایش یافته است (نمودار ۲)، به نظر می رسد با افزایش دوز، اثر دوز ۲۰۰ عصاره فوق بر تشکیل

### منابع

1. Bragadottir, G., Redfors, B., Ricksten, S. E., 2013. Assessing glomerular filtration rate (GFR) in critically ill patients with acute kidney injury - true GFR versus urinary creatinine clearance and estimating equations. Biomed Central 17: 1-11.
2. Dolatkahahi, M., Josephi, M., Baghernejad, G., Dolatkahahi, A., 1999. Preliminary study of medicinal plant species in Kazeroun, Fars province. Journal of Herbal Medicine 3: 47-56.
3. Rule, A.D, Bergstralh, E.J., Melton, L.J., Li, X., Weaver, A.L., Lieske, J.C., 2009. Kidney



- stones and the risk for chronic kidney disease. American Society of Nephrology 4: 804-811.
4. Farzanegi, P., Mohammad Zadeh, M., Azarbayjani, M. A., 2013. Interactive effect of exercise training with  $\omega$ -3 supplementation on resting levels of TNF- $\alpha$  and IL-10 in Karat Men. Hormozgan Medical J 18 (1): 27-36.
  5. Fatemi Tabatabaei, S. R., Rashno, M., Ghaderi, S., Askaripour, M., 2016. The aqueous extract of portulaca Oleracea ameliorates neurobehavioral dysfunction and hyperglycemia related to streptozotocin-diabetes induced in ovariectomized rats. Iranian J Pharmaceutical 15 (2): 561-571.
  6. Gupta, M., Bhayana, S., Sikka, S. K., 2011. Role of urinary inhibitors and promoters in calcium oxalate crystallisation. International Journal of Research in Pharmacy and Chemistrty 1 (4): 793-798.
  7. Habibian, M., Peeri, M., Azarbayjani, M. A., Hedayati, M., 2012. Protective effect of aerobic exercise against some of proinflammatory cytokines-induced chronic nitric oxide synthase inhibition in renal tissue rats. J Babol Univ Med Sci 15 (1): 30-37.
  8. Hadjzadeh, M. A. R., Khoei A. R., Hadjzadeh, Z., Parizady M. R., 2007. Ethanolic extract of nigella sativa L seeds on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. Endourology and Stone Disease 4 (2): 86-90.
  9. Jamshidzadeh, A., Khoshnood, M. J., Deghani, Z., Niknahad, H., 2006. Hepatoprotective activity of *Cichorium intybus* L. leaves extract against carbon tetrachloride induced toxicity. Iranian J Pharmaceutical Research 1: 41-46.
  10. Khaksari, M., Rezvani, M. E., Sajadi, M. A., Soleimani, A., 2000. The effect of topically applied water extract of *Rhazya stricta* on cutaneous wound healing in rats. Koomesh 1 (3): 1-10.
  11. Khajavi rad, A., Hajjzadeh, M. A. R., Rajaei, Z., Mohammadian, N., Valliollahi, S., Sonei, M., 2011. The Beneficial effect of cyndon dactylon frantions on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. Endourology and Stone Disease 8 (3): 179-184.
  12. Khajavi rad, A., Hadjzadeh, Monavvar, N., Ayathollahi, H., 2008. The preventive effects of ethyl acetate fractions from aqueous and ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds on calcium oxalate stones in Wistar rat. Journal of Semnan University of Medical Sciences 9 (2): 123-132.
  13. Khan, S. R., 2012. Is oxidative stress, a link between nephrolithiasis and obesity, hypertension, diabetes, chronic kidney disease, metabolic syndrome. Urol Res 40(2): 95-112.
  14. Molodi, M., Hasanzadeh, K., Rouhani, Sh., Zandi, F., Ahmadi, A., Khalvatian, P., Rostami, A., Sheikh Esmacili, F., Isadpanah, A., 2014. Effect of chicory chloroform extract on the index of liver function Indicators and serum levels of TNF- $\alpha$  in a rat model of obstructive cholestasis. J Kurdistan University of Medical Sciences 19: 10-19.
  15. Mulay, S. R., Evan, A., Anders, H., 2014. Molecular mechanism of crystal-related kidney inflammation and injury. Implications for cholestrol embolsim, crystalline nephropathies and kidney stone disease. Nephrol Dial Transplant 29 (3):507-514
  16. Quanzhen, W., Jian, C., 2011. Perspectives and utilization technologies of chicory (*Cichorium intybus* L.): A Review. African Journal of Biotechnology 10(11): 1966-1977.
  17. Riezzo, I ., Turillazzi, E., Bello, S., Cantatore, S., Cerretani, D., Di Paolo, M., Fiaschi, A., Frati P., Neri, M., Pedretti, M., Fineschi, V., 2014. Chronic nandrolone administration promotes oxidative stress, induction of pro-inflammatory cytokine and TNF- $\alpha$  mediated apoptosis in the kidneys of cd1 treated mice. Toxicology and Applied Pharmacology 280: 97-106.
  18. Rezagholizadeh, L., Pourfarjam, Y., Nowrouzi, A., Nakhjavani, M., Meysamie, A., Ziamajidi, N., S.Nowrouzi, P., 2016. Effect of *Cichorium intybus* L. on the expression of hepatic nf kb and ikkb and serum tnf- $\alpha$  in stz\_ and stz+ niacinamide-induced diabetes in rats. Diabetology & Metabolic Syndrome 8: 1-11.
  19. Sridharan, B., Micheal, S., Ramachandran, A., Ganesh, R., Viswanathan, P., 2015. Citrus bioflavonoids ameliorate hyperoxaluria induced renal injury and calcium oxalate crystal deposition in wistar rats. Advanced Pharmaceutical Bulletin 5(10): 1-9.
  20. Tartibian, B., Parse, R., bqayy, B., 2017. Response of interleukin 6, necrosis factor alpha and cortisol to intensive exercise in athlete's women. Razi J Medical Sciences 22(133): 1-7.
  21. Teerajetgul, Y., Hossain, R., Namakwa, K., Morozumi, M., Sugaya, K., Ogawa, Y., 2007. Oxalate synthesis from hydroxypyruvate in vitamin-B6-deficient rats. Urological Research 35(4): 173-178.
  22. Zaman, R., Noorul Basar, S., 2013. A review article of Beekhe Kasni (*Cichorium intybus*) its traditional uses and pharmacological actions. Research Journal of Pharmaceutical Sciences 2(8): 1-4.
  23. Zende del K., Mobasher M., Mahdavi Nia J., 2011. Helsinki declaration of revision 2008, Persian translation and its challenges. Iranian



Journal of Medical Ethics and History 5: 62-69.

24. Zhang, J. M., An, J., 2007. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin* 45(2): 27-37.