

مقاله پژوهشی

بررسی اثر عصاره آبی بذر گیاه رازیانه بر کلیه موش سوری نر بالغ از نژاد BALB/C

مهديه يادگاري^۱، منيره موحدی^{۲*}، سیده معصومه امیری^۲، فرشته گلاب^{۳*}، مجید کاتبی^۴

۱- گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران

۲- گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴- گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۰/۲۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۸/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: رازیانه از گیاهان دارویی دارای سابقه‌ای طولانی مصرف در طب سنتی است؛ اما گزارش‌هایی از سمیت این دارو در بافت‌های مختلف گزارش نشده است. در این پژوهش اثر عصاره آبی بذر گیاه رازیانه بر بافت کلیه موش نر بالغ BALB/C و فاکتورهای خونی و کلیوی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۴۰ موش نر بالغ BALB/C در محدوده وزنی ۲۲-۲۰ گرم استفاده شد. گروه‌ها شامل کنترل، شم و گروه‌های تجربی که به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی رازیانه طی مدت ۱۴ روز به صورت درون صفاقی (IP) دریافت کردند. پس از ۱۴ روز تیمار، موش‌ها بی‌هوش شدند و بعد از خون‌گیری از قلب موش‌ها، کلیه آن‌ها جهت بررسی پاتولوژی خارج شده و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی H&E با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. داده‌ها با نرم‌افزار Spss، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج: در بین گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه کنترل اختلاف معنی‌دار برای میانگین تعداد گلوMERUL ها، ضخامت کورتکس، میزان انسداد عروقی، ارتشاح لوکوسیتی و سایر شاخص‌های بافت‌شناسی وجود داشت؛ اما شاخص‌های وزن، BUN، کراتینین و ضخامت مدولا بین گروه‌ها معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره بذر گیاه رازیانه در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم فاقد اثرات سمی بر روی پارانشیم و سلول‌های کلیوی است ولی دوز ۲۰۰ اثرات سمی بر کلیه دارد.

کلمات کلیدی: رازیانه، کلیه، BUN، پاتولوژی

مقدمه

اثر مصرف داروهای شیمیایی ترکیبی، استفاده از گیاهان دارویی را مورد توجه قرار داده است. ایران به دلیل داشتن موقعیت خاص جغرافیایی و امکان رشد گونه‌های مختلف گیاهی، منبع غنی گیاهان دارویی است. لذا شناخت عمیق درباره گیاهان دارویی امری الزامی است (۲). امروزه گیاه‌درمانی به شکل استفاده از فراورده‌های گیاهی و یا عصاره تام آن‌ها در سراسر جهان، حتی در کشورهای صنعتی که از نظر تکنولوژی، علم و در اختیار داشتن داروهای شیمیایی، پیشرو تلقی می‌شوند، رایج است (۳). هم‌اکنون تلاش‌های زیادی در حال انجام است تا اثرات

گیاه‌درمانی، دانشی کهن‌سال است که ریشه در اعماق تاریخ دارد و همواره یکی از پایه‌های اصلی مکاتب رایج در تمدن باستانی مصر، هند، آشور، بابل، چین، یونان و ایران و همچنین در طب سنتی بوده است (۱). امروزه عوارض جانبی ناخواسته در

*نویسنده مسئول: ۱- فرشته گلاب، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی

Email: Fgolah520@gmail.com

ایران، تهران، ایران

https://orcid.org/0000-0003-2829-7881

۲- منیره موحدی، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال،

Email: mon_movahedi@yahoo.com

تهران، ایران

https://orcid.org/0000-0003-2986-8383



موش نر بالغ BALB/C و فاکتورهای خونی کلیوی (کراتینین و BUN) است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش در ابتدا دانه رازیانۀ تازه از شرکت پاکان بذرافشان خریداری شد و عصاره آبی آن تهیه گردید. سپس ۴۰ عدد موش سوری نر نژاد BALB/C با وزن 20 ± 2 گرم از موسسه سرم‌سازی رازی کرج خریداری شد و در اتاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی ایران با رعایت شرایط 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. بعد از یک هفته قرنطینه بودن موش‌ها، کار تزریق عصاره شروع شد. تزریقات در بازه زمانی ۱۴ روزه انجام شد. وزن موش‌ها در ابتدا و انتهای این بازه اندازه‌گیری شد. موش‌های نر BALB/C به ۵ گروه تقسیم‌بندی شدند. در هر گروه ۸ موش انتخاب شد. موش‌ها وزن شدند و دوز تزریقی بر اساس وزن آن‌ها محاسبه گردید. گروه‌بندی شامل موارد زیر است: (دوزها بر اساس مطالعات قبلی می‌باشند)

گروه ۱ (کنترل): شامل ۸ سر حیوان بود که در طی آزمایش هیچ‌گونه حلال یا عصاره‌ای دریافت نکردند.

گروه ۲ (شم): شامل ۸ سر حیوان بود که در طی ۱۴ روز تزریق، آب مقطر دریافت کردند.

گروه ۳ (تجربی ۱): شامل ۸ سر حیوان بود که مدت ۱۴ روز، ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره رازیانه دریافت کردند.

گروه ۴ (تجربی ۲): شامل ۸ سر حیوان بود که مدت ۱۴ روز، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره رازیانه دریافت کردند.

گروه ۵ (تجربی ۳): شامل ۸ سر حیوان بود که مدت ۱۴ روز، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره رازیانه دریافت کردند.

تزریق رازیانه به‌صورت درون صفاقی (IP) بر روی موش‌ها انجام شد. پس از اتمام آخرین روز تزریق (روز ۱۴) موش‌ها با کلروفرم بی‌هوش شده و سریعاً از ناحیه قلب خون‌گیری به عمل آمد و پس از سانتریفیوژ سرم آن جداسازی و جهت بررسی بعدی فاکتورهای خونی در فریزر -20°C قرار داده شد. سپس موش‌ها تشریح شدند و بافت کلیه سمت راست موش‌ها خارج و توسط نرمال سالین شست‌وشو داده شد و در داخل میکروتیوپ حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد.

آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی گیاهان به مرحله استفاده وسیع تحقیقاتی و همچنین تولیدات صنعتی برسد (۴). به نظر می‌رسد بسیاری از خصوصیات طبی گیاهان، در ارتباط با فاکتورهای نظیر کارتنوئیدها، کرومین‌ها و ترپنوئیدها است (۵). یکی از این گیاهان خوراکی که به‌عنوان داروی گیاهی از آن استفاده می‌شود، رازیانه نام دارد. رازیانه بانام علمی *Foeniculum vulgare* از خانواده چتریان است. ظاهر کلی این گیاه از نظر نوع برگ بسیار شبیه به شوید بوده ولی معطر است (۶). رازیانه دارای سابقه‌ای طولانی در طب گیاهی و سنتی است و از آن به‌عنوان یک ماده ضد نفخ و همچنین به‌عنوان عاملی برای افزایش شیر، افزایش میل جنسی در زنان، تسهیل جریان قاعدگی، تسکین درد و سوءهاضمه، زخم‌های معده، اختلالات تنفسی و در درمان آلومینوری، بی‌خوابی، اختلالات قاعدگی، سرماخوردگی و آسم استفاده می‌شود. همچنین رازیانه باعث افزایش غلظت پروتئین‌های مایع منی، ازدیاد بینایی چشم، ازدیاد ترشح شیر و افزایش اشتها می‌شود (۷). برای سالیان طولانی از گیاه رازیانه به‌عنوان گیاه دارویی در بسیاری از کشورهای آسیایی استفاده شده است (۸). همچنین از آن به‌عنوان ادویه در مناطق گرمسیری استفاده می‌شود (۹).

هر یک از اندام‌ها و اجزای بدن، دارای نقش‌های حیاتی در بدن می‌باشند که در صورت آسیب می‌توانند باعث ایجاد مشکلات و بیماری‌های زیادی گردند، یکی از این اندام‌های مهم کلیه است. کلیه راه اصلی برای دفع فراورده‌های زائد، متابولیسم و تنظیم تعادل آب و اسید و باز، تنظیم فشار شریانی و ترشح هورمون است. عملکرد ضعیف کلیه‌ها، یکی از مشکلات عمده و مهم در جوامع امروزی است (۱۰). برخی از بیماران کلیوی، در کنار مراجعه به متخصصان از روش‌های مبتنی بر طب سنتی نیز برای بهبود خود کمک می‌گیرند. از آنجاکه خانواده گیاهان دارویی نقش بسزایی در این فرایند ایفا می‌کنند، این فاکتور در کنار مراقبت‌های بهداشتی اولیه باعث افزایش چشمگیر استفاده از روش‌های مبتنی بر گیاهان دارویی و طب سنتی شده است (۱۱). رازیانه در نوشیدنی‌ها، داروها و غذاها وجود دارد. ضمناً این گیاه به‌عنوان دارو توسط پزشکان طب سنتی در موارد مختلفی به کار می‌رود (۱۲)؛ بنابراین ما به این نتیجه رسیدیم که اثرات دوزهای مختلف این گیاه را بر روی کلیه بررسی کنیم. هدف از این مطالعه، بررسی اثر عصاره آبی بذر گیاه رازیانه بر بافت کلیه‌ی

آماري داده‌ها از نظر طبيعي بودن بررسی شدند که توزیع طبيعي داشتند. آزمون آماری مورد استفاده Anova و تعقیبی Tukey بود. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شد و سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

وزن موش‌ها

همان‌طور که نتایج آزمون نشان داد، وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف و همچنین قبل و بعد از تزریق تغییرات معنی‌داری نداشت (نمودار ۱).

بررسی‌های بافت‌شناسی

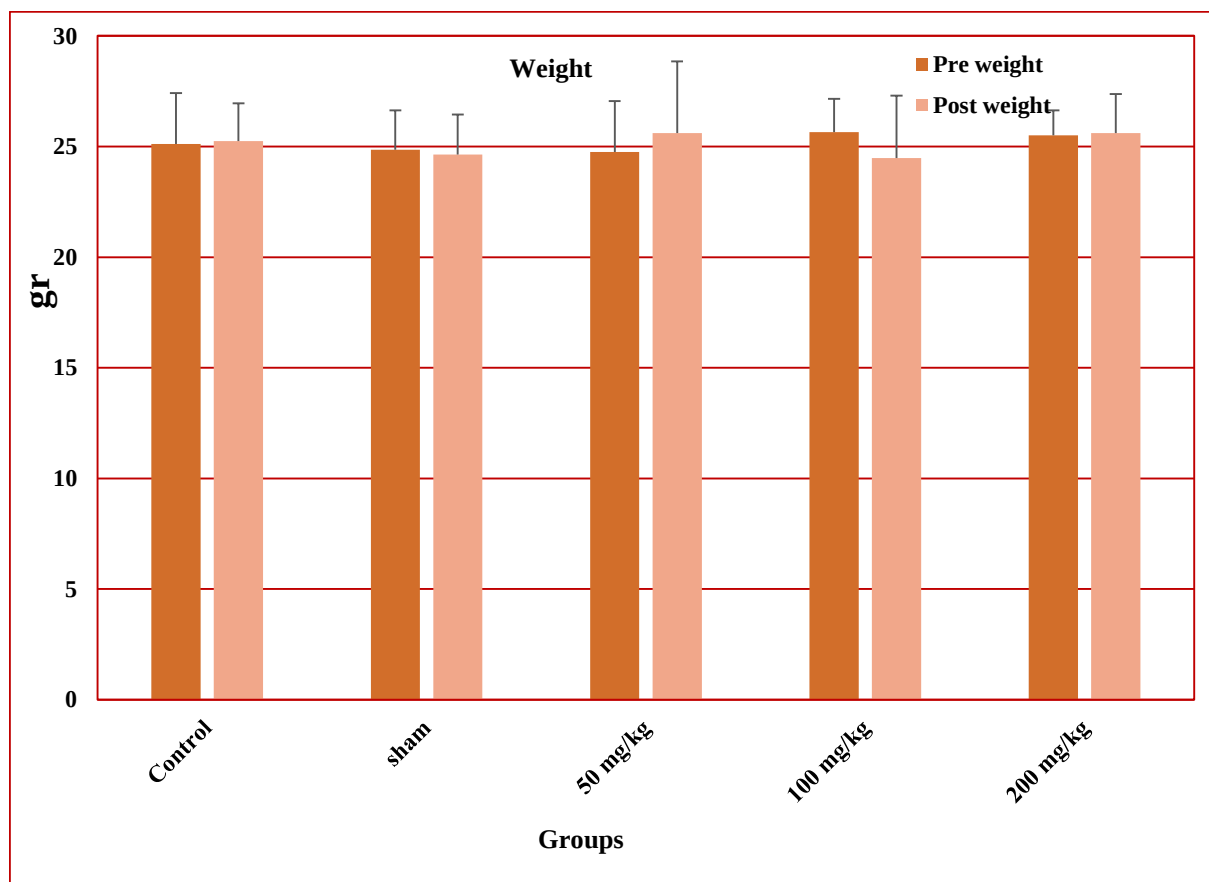
میزان ادم بینابینی در گروه‌های مختلف

تغییرات ادم بینابینی در پی تزریق عصاره آبی رازیانه در شکل ۱ نشان داده است. همان‌گونه که شکل نشان می‌دهد، میزان ادم بینابینی در توبول‌های کلیه در گروه تحت تزریق با دوز ۲۰۰

مطالعه‌ی هیستوپاتولوژی: بافت کلیه به مدت ۷۲ ساعت در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و سپس بقیه مراحل به شرح زیر انجام شد. ابتدا مراحل پاساژ بافت و بعد قالب‌گیری با پارافین طبق روش‌های روتین آماده‌سازی بافت انجام شد. سپس برش گیری به وسیله دستگاه میکروتوم با ضخامت ۲ میکرومتر انجام گرفت. مقاطع تهیه‌شده در محل موردنظر بر روی لام انتقال داده شد و با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوژین (H&E) رنگ‌آمیزی شد. در مرحله آخر برش‌های تهیه‌شده آب‌گیری شده و شفاف‌سازی شدند و فرآیند مانت کردن انجام گردید. لام‌های تهیه‌شده با دقت و توسط دستگاه میکروسکوپ نوری (Nikon) مورد ارزیابی قرار گرفتند و با استفاده از دوربین مخصوص میکروسکوپ متصل به کامپیوتر از نقاط موردنظر تصویر تهیه گردید و شاخص‌های آسیب مورد ارزیابی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از جمع‌آوری داده‌های کمی، تجزیه و تحلیل آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام گرفت. قبل از انجام آزمون



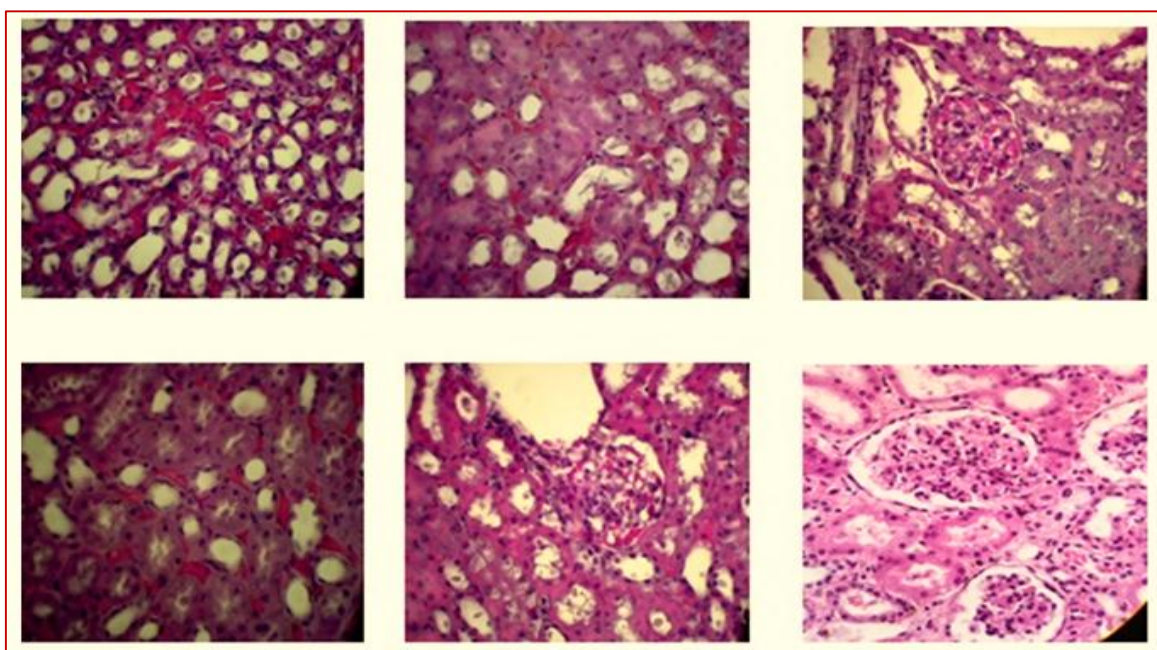
نمودار ۱- مقایسه وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف و قبل و بعد از تزریق. همان‌طور که نشان داده شده است بین گروه‌های مختلف و همچنین قبل و بعد از تزریق تغییرات معنی‌داری نداشته است. نتایج به شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده است.

همان گونه که در شکل نشان می‌دهد میزان تحلیل توبولی بافت کلیه موش‌ها در گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (C) نسبت به گروه کنترل (F) بیشتر است. به دلیل هیپرتروفی و از دست رفتن مرز مشخص سلول‌ها و در نتیجه نکرز لوله‌های کلیوی فضای داخلی لوله‌ها کاهش یافته است همچنین کاهش در فضای لومن نیز دیده می‌شود که در نهایت منجر به ناپدید شدن آن‌ها و جایگزینی با بافت بینابینی شده است. ولی در گروه‌های تحت تأثیر با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰

میلی گرم بر کیلوگرم (A) نسبت به گروه کنترل (F) افزایش یافته است. سلول‌ها دچار هیپرتروفی و واکوئل شده‌اند و حدود مرز سلول‌ها به وضوح قابل تشخیص نیست و اتساع لوله‌های ادراری دیده می‌شود. ولی در گروه‌های تحت تأثیر با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در بافت کلیه تغییراتی مشاهده نشد.

میزان تغییرات اپیتلیالی

تغییرات اپیتلیالی در بین گروه‌های تحت تزریق عصاره آبی رازیانه در شکل ۱ نشان داده است. همان گونه که در شکل نشان



شکل ۱- مقایسه بافت کلیه در گروه کنترل و گروه تحت تزریق با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، (بزرگنمایی ۱۰۰X). همان طور که مشاهده می‌شود آسیب اپیتلیال کلیه (A)، انفیلتراسیون لکوسیتها (B)، ادم بینابینی (C)، تحلیل توبولی (D) و انسداد عروقی (E) در گروه ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم رازیانه مشاهده می‌شود؛ که در مقایسه با گروه کنترل (F) مشهود است.

میلی گرم بر کیلوگرم در بافت کلیه تغییراتی مشاهده نمی‌شود.

میزان انسداد عروقی

میزان انسداد عروقی در بین گروه‌های تحت تزریق عصاره آبی رازیانه و گروه کنترل و شم در شکل ۱ نشان داده است. همان گونه که در شکل نشان می‌دهد میزان انسداد عروقی بافت کلیه موش‌ها در گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (D) نسبت به گروه کنترل (F) بیشتر است. تغییر شکل‌های ایجاد شده در بافت لوله و گلوبول منجر به انسداد فضای لومن و انسداد عروقی در بافت شده است که می‌تواند اختلال عملکردی کلیه را در پی داشته باشد. ولی در گروه‌های

می‌دهد میزان آسیب اپیتلیالی بافت کلیه موش‌ها در گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (B) نسبت به گروه کنترل (F) بیشتر است. تغییر اندازه سلول‌ها، هسته‌های پیکنوز شده به دلیل افزایش کروماتین و فراگمنته شده آن‌ها، واکوئل شدن سلول‌ها، کاهش فضای بومن دیده می‌شود و لوله‌های کلیوی آرایش منظم خود را از دست داده‌اند. ولی در گروه‌های تحت تأثیر با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در بافت کلیه تغییراتی مشاهده نمی‌شود.

میزان تحلیل توبولار

میزان تحلیل توبولار در بین گروه‌های تحت تزریق عصاره آبی رازیانه و گروه کنترل و شم در شکل ۱ نشان داده است.

تحت تأثیر با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در بافت کلیه تغییراتی مشاهده نمی شود.

میزان ارتشاح لوکوسیت ها

میزان ارتشاح لوکوسیت ها در بین گروه های تحت تزریق عصاره آبی رازیانه و گروه کنترل و شم در شکل ۱ نشان داده است. همان گونه که در شکل نشان می دهد میزان ارتشاح لوکوسیت ها در بافت کلیه موش ها در گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (E) نسبت به گروه کنترل (F) بیشتر است. هسته های مدور و بشدت کروماتین متراکم در لابه لای بافت کلیوی دیده

گروه های دریافت کننده ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد ($P < 0.05$). همچنین در گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم شاهد کاهش ضخامت کورتکس نسبت به گروه ها نیز بودیم ($P < 0.05$).

اندازه گیری ضخامت مدولا (میکرومتر):

همان گونه که جدول ۱ و شکل ۲ نشان می دهد ضخامت مدولا باوجود افزایش در گروه های تحت تزریق دوزهای عصاره رازیانه در بین گروه ها اختلاف معنی داری نداشتند ($P = 0.138$).

جدول ۱- میانگین ضخامت کورتکس، مدولا و شمارش گلومرول در بافت کلیه و میزان کراتینین در گروه های مختلف (mg/dl)

گروه ها	ضخامت کورتکس میانگین (میکرومتر) $\pm$ انحراف معیار	ضخامت مدولا میانگین (میکرومتر) $\pm$ انحراف معیار	شمارش گلومرول میانگین $\pm$ انحراف معیار	کراتینین میانگین (mg/dl) $\pm$ انحراف معیار
کنترل	۴۷۷/۱۴ $\pm$ ۳۹/۰۳	۸۱۸/۵۷ $\pm$ ۱۶۹/۸۴	۶/۹۴ $\pm$ ۰/۷۱	۰/۵۰ $\pm$ ۰
شم	۴۴۵ $\pm$ ۹۵/۲۳	۷۹۱/۴۲ $\pm$ ۱۴۸/۳۷	۶/۶۸ $\pm$ ۰/۷۶۲	۰/۵۰ $\pm$ ۰
دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۴۶۷/۱۴ $\pm$ ۳۸/۱۷	۸۸۷/۱۴ $\pm$ ۱۲۴/۵۹	۶/۱۹ $\pm$ ۱/۴۵	۰/۵۱ $\pm$ ۰/۰۳
دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۳۸۵/۷۱ $\pm$ ۷۵/۴۶	۱۰۹۵ $\pm$ ۲۷۵/۹۵	۷/۰۸ $\pm$ ۰/۸۹	۰/۵۰ $\pm$ ۰
دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۷۸/۵۷ $\pm$ ۳۲/۸۷	۱۰۵۸/۵۷ $\pm$ ۴۴۳/۱۱	۴/۸۸ $\pm$ ۱/۸۴ #, \$	۰/۵۰ $\pm$ ۰

ضخامت کورتکس در گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر گروه ها کاهش معنی داری را نشان داد. همچنین موش های تحت تزریق با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل ضخامت کمتری، مشاهده شد. ضخامت مدولا در گروه های مختلف تفاوت معنی داری باهم نداشتند. تعدد گلومرول های کلیه در گروه تحت تزریق با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل و دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی داری نشان داد. بین گروه های مختلف در میزان کراتینین (CR) اختلاف معنی داری مشاهده نشد. $P < 0.05$ * تفاوت معنادار با سایر گروه ها. $P < 0.05$ * تفاوت معنادار با گروه کنترل. $P < 0.05$ * تفاوت معنادار با گروه ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

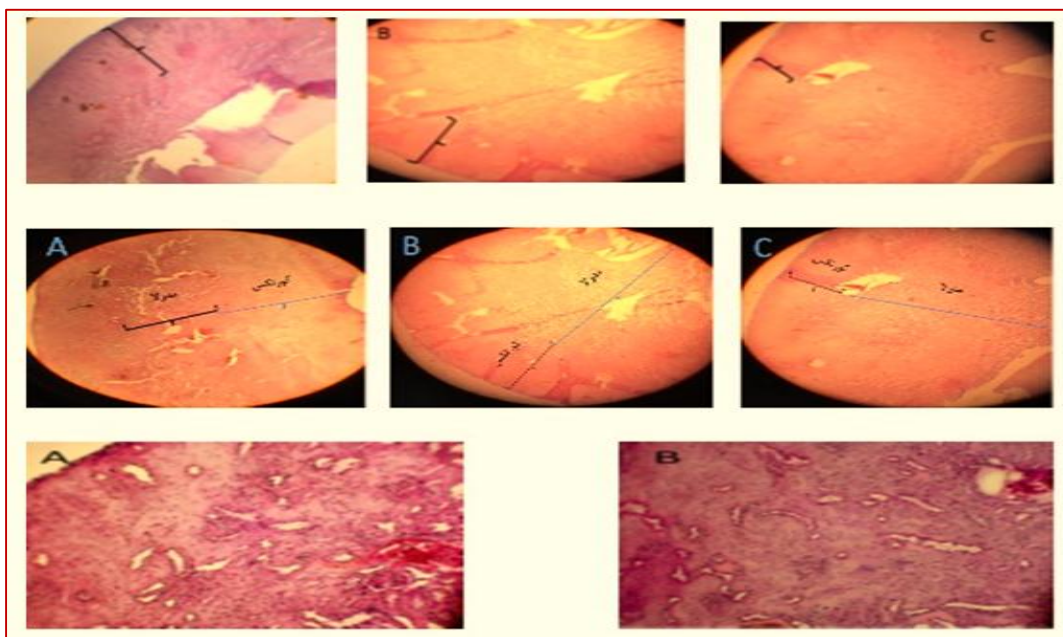
اندازه گیری شمارش گلومرول ها در بافت کلیه

نتایج نشان داد تعداد گلومرول ها در بین گروه های مورد بررسی پس از تزریق آب مقطر یا دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند ($P = 0.13$). آنالیز تعقیبی میانگین داده ها مشخص کرد تعداد گلومرول ها در پی تزریق دوزهای عصاره آبی رازیانه در گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل ($P = 0.026$) و نسبت به دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ($P = 0.016$) کاهش معنی دار داشت (جدول ۱، شکل ۲).

می شود که می تواند شامل اینفیلتراسیون لنفوسیت ها و نوتروفیل ها باشد. ولی در گروه های تحت تأثیر با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در بافت کلیه تغییراتی مشاهده نمی شود.

اندازه گیری ضخامت کورتکس (میکرومتر):

همان گونه که جدول ۱ و شکل ۲ نشان می دهد ضخامت کورتکس در بین گروه های مورد بررسی پس از تزریق آب مقطر یا دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند. میزان ضخامت کورتکس در



شکل ۲- ضخامت کورتکس در بین گروه کنترل (A) و گروه‌های تحت تزریق با دوزهای ۱۰۰ (B) و ۲۰۰ (C) میلی گرم بر کیلوگرم. (بزرگنمایی $\times 40$). میزان ضخامت کورتکس در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد. همچنین در گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم شاهد کاهش بیشتر ضخامت کورتکس بودیم. ضخامت مدولا در گروه‌های مختلف کنترل (D)، دوز ۱۰۰ (E) و دوز ۲۰۰ (F) باوجود افزایش در گروه‌های تحت تزریق، افزایش یا کاهش در هیچ کدام از گروه‌ها وجود نداشت (بزرگنمایی $\times 40$). مقایسه تعداد گلومرول‌ها در گروه کنترل و گروه تحت تزریق با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، گروه کنترل (G)، گروه تحت تزریق با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (H) (بزرگنمایی $\times 100$). همان‌طور که می‌بینیم تعداد گلومرول‌ها در پی تزریق دوزهای عصاره آبی رازیانه در گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است.

بررسی فاکتورهای خونی

بررسی میزان BUN (mg/dl):

تزریق دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی رازیانه، تغییری در بین گروه‌ها مشاهده نشد. میزان کراتینین:

نتایج بررسی میزان کراتینین (mg/dl): میزان کراتینین در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل تغییری ننموده است (جدول ۱).

بحث

در این مطالعه فراورده گیاهی عصاره آبی رازیانه بر فاکتورهای خونی و کلیوی موش نر بالغ BALB/C آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. این مطالعه باهدف بررسی تأثیر دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی رازیانه بر فاکتورهای خونی و کلیوی موش‌های سالم جنس نر بود. نتایج این مطالعه نشان داد که انفیلتراسیون لکوسیت‌ها، ادم بینابینی، تحلیل

توبولی و انسداد عروقی در گروه با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم رازیانه مشاهده می‌شود؛ که در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است. ولی در گروه‌های با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تغییر قابل توجهی با گروه کنترل مشاهده نشد؛ بنابراین افزایش دوز عصاره این گیاه تا ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سبب بروز اثرات پاتولوژیکی می‌گردد. همچنین مشخص شد تعداد گلومرول‌ها نیز با افزایش غلظت عصاره آبی رازیانه کاهش می‌یابد که با افزایش غلظت رازیانه به ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم شاهد کاهش قابل توجه تعداد گلومرول‌ها بودیم. ضخامت کورتکس نیز وابسته به غلظت با افزایش دوز تزریق کاهش معنی‌داری را نشان داد. ولی در ضخامت مدولا تغییری مشاهده نشد. همچنین در این مطالعه وزن موش‌ها قبل و بعد از تزریق دوزهای مختلف عصاره آبی رازیانه تغییری مشاهده نشد. استفاده از سطوح کراتینین پلاسما ابزاری برای عملکرد کلیه است. در این مطالعه میزان کراتینین در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. BUN، در متابولیسم حاصل ترکیبات حاوی

ما است. Sadrefozalayi و همکاران نشان دادند عصاره آبی دانه رازیانه اثرات مفیدی (به خصوص در دوز ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بر عملکرد کلیه در موش polycystic ovary syndrome (PCOS) دارد (۱۵).

مطالعات انجام شده نشان می دهند رازیانه از اجزاء مختلفی مانند ترانس آنتول، استراگول، D-Limonene و کومارین تشکیل شده است (۱۶). اثر هر کدام از این ها به طور جداگانه روی کلیه بررسی شده است. جزء اصلی رازیانه ترانس آنتول است. Minnema و همکاران نشان دادند مصرف طولانی مدت ترانس آنتول با دوز ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش وزن کلیه می شود (۱۷). گزارش های دیگری نیز همین نتیجه را نشان می دهند که مبنی بر این است که ترانس آنتول می تواند اثرات مخربی داشته باشد (۱۸، ۱۹).

D-Limonene جزء دیگر رازیانه است که به طور طبیعی در چند اسانس گیاهی دیگر نیز وجود دارد. این ماده به طور کامل در دستگاه گوارش جذب می شود و در بافت های مختلف، از جمله کلیه و کبد پخش می شود (۲۰). D-Limonene در غلظت بالاتری در بافت چربی توزیع می شود که خواص آنتی اکسیدانی قوی داشته و حلال عالی کلسترول است (۲۱). گزارش ها نشان می دهد که D-limonene می تواند اثرات مخرب نیز داشته باشد. Flamm و همکاران گزارش کردند که این ماده احتمال ابتلا به هیپرپلازی و سرطان را در کلیه موش صحرایی افزایش می دهد (۲۲). Gordon و همکاران نشان دادند که d-limonene به طور طبیعی باعث ایجاد تومور در دوزهای بالا فقط در کلیه موش صحرایی نر می شود. با تجویز دوزهای خاصی از d-limonene به موش های صحرایی نر، مشخص شده است که آلفا ۲-U گلوبولین بیش از حد در سلول های بخش P2 توبول های پروگزیمال کلیه تجمع می یابد و در نتیجه تشکیل قطرات هیالین به عنوان اضافه بار پروتئین ایجاد می شود که باعث ضایعات نفروپاتیک می شود (۲۳). Diaz و همکاران (۲۴) گزارش کردند که D-limonene که جزء اصلی رازیانه است می تواند کارسینوژن باشد چون باعث نفروپاتی و تومور کلیه در رت نر شده است.

جزء دیگر رازیانه کومارین است. ضایعاتی مرتبط با تجویز کومارین در موش صحرایی در کبد و کلیه دیده شده است. ضایعات شامل نکروز سلول های کبدی، فیبروز، تغییر سیتولوژیک، هیپرپلازی مجرای صفراوی و همچنین نفروپاتی بوده است (۲۵).

نیتروژن است که در بدن حیوانات نقش مهمی ایفا می کند و در عین حال، ماده اصلی حاوی نیتروژن، در ادرار پستانداران به شمار می آید. نتایج این مطالعه نشان داد تزریق دوزهای متفاوت رازیانه تغییر معنی داری در میزان این فاکتور در پلاسما نمی دهد. رازیانه از گیاهان دارویی دارای سابقه ای طولانی مصرف در طب گیاهی و سنتی است؛ اما گزارش هایی از سمیت این دارو در بافت های مختلف گزارش شده است. با توجه به اینکه داروهای گیاهی نیز دارای عوارض جانبی هستند بر آن شدیم که اثرات دوزهای مختلف رازیانه را بر بافت کلیه بررسی کنیم.

چند مطالعه اثر رازیانه را بر بافت کلیه مورد بررسی قرار داده اند. Luaibi و همکاران با بررسی هایی که بر روی موش صحرایی نر انجام دادن نشان دادند که تجویز رازیانه در غلظت ۵۰ گرم/کیلوگرم وزن بدن به مدت ده روز، باعث دژنراسیون خفیف سلول های اپیتلیال کلیوی در توبول های پیچیده دیستال و پروگزیمال می شود. در تجویز به مدت ۲۰ و ۳۰ روز نیز اثرات تقریبی مشابهی مشاهده شد. تغییرات بافت شناسی پس از تجویز رازیانه در غلظت ۱۰۰ گرم/کیلوگرم وزن بدن برای ده روز نشان داد دژنراسیون و نکروز سلول های اپیتلیال کلیوی با انفیلتراسیون خفیف سلول های التهابی ایجاد می شود. گروه تجربی ۲۰ روز تغییرات بیشتر را نشان داد، اما ۳۰ روز درمان با رازیانه تغییرات بیشتری را در سلول های اپیتلیال شامل نکروز و نفوذ سلول های التهابی در مقایسه با کنترل ایجاد کرد. تجویز رازیانه با دوز ۲۰۰ گرم/کیلوگرم وزن بدن برای ۱۰ روز نکروز شدید اپیتلیال و انفیلتراسیون سلول های التهابی را در بر داشت و همچنین در گروه ۲۰ و ۳۰ روز تغییرات بسیار شدیدتر بود. آن ها نتیجه گرفتند میزان آسیب کلیه وابسته به دوز رازیانه و مدت تجویز آن است (۱۳). نتیجه مطالعه ما هم نشان داد که آسیب کلیه وابسته به دوز است. اثر رازیانه بر روی غده تیروئید نیز بررسی شده است. Noori Mohammed Luaibi و همکاران نشان دادند دوز بالا و افزایش زمان مصرف رازیانه باعث نکروز و دژنراسیون فولیکول های غده تیروئید می شود (۱۴).

Luaibi و همکاران نشان دادند مصرف ۳۰ روز رازیانه با دوز ۲۰۰ گرم/کیلوگرم باعث کاهش وزن کلیه می شود. آن ها بیان کردند دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ گرم/کیلوگرم به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز باعث افزایش اوره و کراتینین می شود و همچنین دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ گرم/کیلوگرم باعث افزایش دفع پروتئین توتال می شود (۱۳). علت این تفاوت دریافت دوز بیشتر رازیانه نسبت به مطالعه



مطالعه نشان داد که به‌طور کلی عصاره آبی گیاه رازیانه در دوزهای پایین‌تر فاقد اثرات سمی بر روی پارانشیم و سلول‌های کلیوی است ولی دوز بالا دارای اثرات مخربی روی کلیه است.

تشکر و قدردانی

با تشکر از کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، این پروژه با کد ۱۶۲۳۶۰۹۲۳ در دانشگاه آزاد اسلامی به ثبت رسیده است.

تعارض منافع

بین نتایج مطالعه و منافع نویسندگان هیچ‌گونه تعارضی وجود ندارد.

در مطالعات دیگر اثر گیاهان دیگر را نیز بررسی کرده‌اند. Ibrahim و همکاران نشان دادند که مصرف زیره برای ۹ هفته می‌تواند باعث آسیب کلیه و روده و کبد شود (۲۶). Awe و همکاران نیز نشان دادند که مصرف عصاره الکلی برگ گیاه جعفری در دوز بیشتر از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث نکروز و التهاب در کبد و کلیه می‌شود (۲۷).

بنابراین با اینکه مصرف داروهای گیاهی می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌ها مؤثر باشند ولی باید میزان مصرف آن‌ها محدود باشد تا از بروز عوارض جانبی جلوگیری شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه مشخص شد که گیاه رازیانه که به‌طور وسیع در قالب فرآورده‌های دارویی یا غیر دارویی ارائه می‌گردد می‌تواند دارای اثرات متفاوتی بر کلیه باشد. نتایج این

References

1. Sereshty M, Azari P, Rafiean M, Kheiri S. Use of herbal medicines by pregnant women in Shahr-e-Kord. *Journal of Reproduction & Infertility*. 2006;7(2):125-32.
2. Ahvazi M, Khalighi-Sigaroodi F, Charkhchiyan MM, Mojab F, Mozaffarian V-A, Zakeri H. Introduction of Medicinal Plants Species with the Most Traditional Usage in Alamut Region. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2011;11(1):185-94.
3. Siah M. The effect of aqueous extract of fennel on the secretion of prolactate and lactation in female wistar rats *Journal of Animal Biology*. 2009;1(3):55-63. [In Persian].
4. Choi E-M, Hwang J-K. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. *Fitoterapia*. 2004;75(6):557-65.
5. Singh G, Maurya S, De Lampasona M, Catalan C. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food control*. 2006;17(9):745-52.
6. Patra M, Shahi SK, Midgely G, Dikshit A. Utilization of essential oil as natural antifungal against nail-infective fungi. *Flavour and fragrance journal*. 2002;17(2):91-4.
7. Savino F, Cresi F, Castagno E, Silvestro L, Oggero R. A randomized double-blind placebo-controlled trial of a standardized extract of *Matricariae recutita*, *Foeniculum vulgare* and *Melissa officinalis* (ColiMil®) in the treatment of breastfed colicky infants. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2005;19(4):335-40.
8. Díaz-Maroto MC, Díaz-Maroto Hidalgo IJ, Sánchez-Palomo E, Pérez-Coello MS. Volatile components and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare* mill.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(13):5385-9.
9. Huton W, Casio A. Herbs and spices of Indonesia. Singapore: Barkeley Books Pte Ltd; 2003.
10. Wallace MA. Anatomy and physiology of the kidney. *AORN journal*. 1998;68(5):799-820.
11. Xiao Y-P, Zeng J, Jiao L-N, Xu X-Y. Review for treatment effect and signaling pathway regulation of kidney-tonifying traditional Chinese medicine on osteoporosis. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*. 2018;43(1):21-30.

12. Moini Jazani A, Hamdi K, Tansaz M, Nazemiyeh H, Sadeghi Bazargani H, Fazljou SMB, et al. Herbal Medicine for Oligomenorrhea and Amenorrhea: A Systematic Review of Ancient and Conventional Medicine. *BioMed Research International*. 2018;18:1-22.
13. Luaibi NM, Al-Tamimi AAA, Shafiq AA. Physiological and Histological Effects of Fennel Seeds (*Foeniculum Vulgare*) on Kidneys in Male Rats. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences* 2017;5(1):45-55.
14. Luaibi NM. Physiological, hormonal and histological effects of fennel seeds (*Foeniculum vulgare*) in thyroid and testes of male rats. *Plant Archives*. 2018;18(1):341-53.
15. Sadrefozalayi S, Farokhi F. Effect of the aqueous extract of *Foeniculum vulgare* (fennel) on the kidney in experimental PCOS female rats. *Avicenna journal of phytomedicine*. 2014;4(2):110.
16. Rather MA, Dar BA, Sofi SN, Bhat BA, Qurishi MA. *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016;9(no. S2):S1574-S83.
17. Minnema D. 90-Day subchronic dietary toxicity study of trans-anethole in rats. Corning Hazleton, Inc, Vienna, VA, USA Study No CHV. 1997:2595-104.
18. Newberne PM. Histopathological examination of livers of rats. I. 28-Day dose ranging study. II. 90-Day dietary toxicity study of trans-anethole. Draft report submitted to trans-anethole committee, Flavor and Extract Manufacturers' Association. Submitted to WHO by Flavor and Extract Manufacturers' Association of United States, Washington DC, United States; 1997.
19. Minnema DJ. 90-Day subchronic dietary toxicity study of trans-anethole in rats. Corning Hazleton Inc. Vienna, Virginia, USA. Study no. CHV 2595-104. At finalization. Submitted to WHO by Flavor and Extract Manufacturers' Association of the United States, Washington DC, United States; 1997c.
20. Crowell PL, Lin S, Vedejs E, Gould MN. Identification of metabolites of the antitumor agent d-limonene capable of inhibiting protein isoprenylation and cell growth. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 1992;31(3):205-12.
21. Sun J. D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review*. 2007;12(3):259-65.
22. Flamm WG, Lehman-McKeeman LD. The human relevance of the renal tumor-inducing potential of d-limonene in male rats: implications for risk assessment. *Regulatory toxicology and pharmacology*. 1991;13(1):70-86.
23. Hard GC, Whysner J. Risk assessment of d-limonene: an example of male rat-specific renal tumorigens. *Critical reviews in toxicology*. 1994;24(3):231-54.
24. Díaz-Maroto MC, Pérez-Coello MS, Esteban J, Sanz J. Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (*Foeniculum vulgare* Mill.) from Central Spain. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006; 54(18): 6814-8.
25. Program NT. NTP toxicology and carcinogenesis studies of coumarin (CAS No. 91-64-5) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage Studies). National Toxicology Program technical report series. 1993;422:1-340.
26. Ibrahim I, Elbadwi S, Bakhiet A, Abdel Gadir W, Adam S. A 9-week feeding study of *Cuminum cyminum* and *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2007;2:666-71.
27. Awe EO, Banjoko SO. Biochemical and haematological assessment of toxic effects of the leaf ethanol extract of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex AW Hill (Parsley) in rats. *BMC complementary and alternative medicine*. 2013;13(1):75.



Original Article

The Effect of Aqueous Extract of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) on Kidney in BALB/C Adult Male Mic

Yedgarari M¹, Movahedi M^{2*}, Amiri SM², Golab F^{3*}, Katebi M⁴

1. Department of Animal Biology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2. Department of Cellular and Molecular Biology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Anatomy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

Received: 31 Oct 2020

Accepted: 18 Jan 2021

Abstract

Background & Objective: Fennel as a medicinal plant has a long history of use in traditional herbal medicine. But there have been few reports of this drug toxicity in different tissues. In this study, the effect of aqueous extract of fennel on the kidneys of adult male BALB/C mice and renal blood factors was investigated.

Materials & Methods: In this study, 40 adult male BALB/C mice in the range of 20-22 g were used. Mice were divided into 5 groups. Group 1: Control, Group 2: Sham, that received normal saline intraperitoneal (IP) for 14 days. Experimental groups received doses of 50, 100 and 200 mg/kg of body weight of the aqueous extract of fennel IP for 14 days. After 14 days of treatment, the mice were anesthetized and after blood sampling from the heart, their kidneys were removed for pathology examination. Histological sections were prepared and stained with H & E and investigated by the optical microscope. Data were analyzed using SPSS software.

Result: The mean number of glomeruli, cortex thickness, vascular occlusion, leukocyte infiltration and other histologic indices in the group received 200 mg/kg of an aqueous extract of fennel had a significant difference with control group. However, weight, BUN, creatinine and medulla thickness indices did not have any significant difference with the control group.

Conclusion: The results showed that aqueous extract of fennel at doses of 50 and 100 mg/kg had no toxic effects on parenchyma and renal cells, but dose of 200 mg/kg had toxic effects on the kidney.

Keywords: Fennel, kidney, BUN, pathology

*Corresponding Author: 1. Golab Fereshteh, Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: Fgolab520@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-2829-7881>

2. Movahedi Monireh, Department of Cellular and Molecular Biology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: mon_movahedi@yahoo.com

<https://orcid.org/0000-0003-2986-8383>