

اثرات مصرف عصاره آبی برگ بنه (*Pistacia atlantica*)

بر نفروپاتی دیابتی در موش صحرایی

خدیجه وظیفه شناس درمیان^۱، مهران حسینی^۲، ریحانه رضائی^۱، سمیرا ایزی^۳، محمد ملکانه^۴

^۱ گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران، ^۲ مرکز تحقیقات طب تجربی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران، ^۳ گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۱۷

چکیده:

زمینه و هدف: امروزه به دلیل افزایش اقبال عمومی مردم در استفاده از گیاهان دارویی، ارزیابی کارایی و بی خطری این ترکیبات مورد اهمیت قرار گرفته است. در برخی مطالعه‌ها، عصاره برگ پسته وحشی (بنه) به عنوان ترکیبی با خواص کاهنده قند خون مطرح شده است. با این حال، مطالعه‌ای در خصوص اثرات احتمالی آن بر نفروپاتی دیابتی صورت نگرفته است، لذا هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات مصرف عصاره آبی برگ پسته وحشی بر نفروپاتی دیابتی در موش صحرایی دیابتیک بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۲۰۰-۱۸۰ گرم) مبتلا شده به دیابت شدید به وسیله استرپتوزوتوسین و ۸ سر موش سالم همسن به طور مساوی به ۶ گروه تقسیم و به مدت سی روز متوالی به شرح پیرو مورد تیمار خوراکی قرار گرفتند. گروه‌های ۱، ۲ و ۳ دیابتیک دریافت کننده عصاره آبی برگ بنه در دوزهای ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن، گروه ۴ دیابتیک دریافت کننده داروی کاپتوپریل با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم و گروه‌های ۵ دیابتیک و گروه سالم نیز به عنوان گروه‌های کنترل، نرمال سالین دریافت نمودند. در پایان پارامترهای بیوشیمیایی؛ قند خون، حجم ادرار، پروتئین ادرار ۲۴ ساعته، کراتینین و نیتروژن اوره خون و همچنین تغییرات کیفی آسیب‌شناسی کلیه برای تمام گروه‌ها انجام گرفت و مقادیر مرتبط در بین گروه‌ها مقایسه گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین مقادیر قند خون ($118/33 \pm 28/5$)، اوره نیتروژن ($27/17 \pm 2/86$)، کراتینین خون ($1/3 \pm 0/45$) و همچنین حجم ادرار ($24/66 \pm 5/10$) و پروتئین ادرار ($1/51 \pm 25/67$) در موش‌های دیابتیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم بود (همگی $p < 0/001$). همچنین آسیب‌های بافتی نظیر گلودمولواسکروزیس، انتشار ماتریکس مزانشیال، چسبندگی کلافه گلودمولی به کپسول بومن نیز در گروه‌های دیابتی مشاهده گردید. بر خلاف داروی کاپتوپریل، که توانسته بود به طور معنی‌داری میانگین اوره نیتروژن ($12/5 \pm 2/81$; $p < 0/001$)، کراتینین ($0/97 \pm 0/14$; $p = 0/034$) و پروتئین ادرار ($12/66 \pm 3/48$; $p = 0/002$) موش‌های دیابتی را درمقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش دهد و ارزیابی بافت‌شناسی نیز در این گروه مؤید اثرات تعدیل کننده آن بود، اما مصرف عصاره آبی برگ بنه در هیچ یک از دوزها نتوانست آسیب‌های اشاره شده را در موش‌های دیابتیک بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری: نتایج یافته‌های این مطالعه نشان داد که عصاره آبی برگ بنه هیچ گونه اثر سودمندی بر نفروپاتی دیابتی در مدل حیوانی ندارد.

واژگان کلیدی: پسته وحشی، کاپتوپریل، نفروپاتی دیابتی، رت

*نویسنده مسئول: محمد ملکانه، بیرجند، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، گروه بیوشیمی

Email: drmalekaneh@yahoo.com

مقدمه

بیماری دیابت نوعی اختلال متابولیک است که مشخصه آن افزایش قند خون در نتیجه کاهش و یا عدم کارایی انسولین می‌باشد (۱). عدم مهار افزایش قندخون منجر به آسیب به قسمت‌های مختلف بدن از جمله اعصاب و عروق خونی می‌گردد (۲). از این رو بیش از یک‌سوم مبتلایان به دیابت، در دوران ابتلا به این بیماری عوارض عصبی و عروقی به خصوص رتینوپاتی و نفروپاتی را تجربه می‌کنند (۳). عوارض کلیوی دیابت به نام نفروپاتی دیابتی شناخته شده و سبب کاهش پیشرونده عملکرد کلیوی و نهایتاً عدم کارایی کامل این ارگان می‌شود (۴). امروزه می‌دانیم، نفروپاتی دیابتی به عنوان عامل بیش از ۱۴ درصد موارد مرگ و میر ناشی از دیابت و ۴۰ درصد نارسایی‌های کلیوی شناخته می‌شود (۵). دیابت با ایجاد ضایعات هم در بخش توبولی کلیه و هم در بخش گلومرولی منجر به نفروپاتی می‌گردد (۶). نفروپاتی دیابتی در بخش گلومرولی کلیه منجر به اسکروزیس، انتشار ماتریکس مزانشیال و ضخیم شدگی غشای پایه می‌شود (۷). از جمله علایم شاخص نفروپاتی دیابتی می‌توان به نشانه‌هایی مثل افزایش دفع آلبومین در ادرار، پرفشاری خون، ادم و کاهش پیشرونده فیلتراسیون گلومرولی اشاره نمود (۸). عوامل بیوشیمیایی و مولکولی متعددی چون افزایش قند خون، استرس اکسیداتیو، افزایش غلظت محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون^(۱)، التهاب می‌تواند در نفروپاتی تأثیرگذار باشد با این حال عدم شناخت دقیق مولکولی

این اختلال، درمان آن را با چالش مواجه کرده است (۹). در حال حاضر برای درمان نفروپاتی دیابتی علاوه بر داروهای تنظیم کننده گلوکز خون، از داروهای کاهنده فشارخون و همچنین رژیم‌های با محدودیت پروتئین و سدیم استفاده می‌شود با این وجود هنوز شیوع نفروپاتی دیابتی و نارسایی کلیوی در بیماران دیابتی بالا است (۱۰).

در سال‌های اخیر شاهد معرفی گیاهان دارویی متعددی با خواص کاهنده قندخون هستیم، اما هم‌چنان مطالعه‌های اندکی در خصوص تعیین اثربخشی این گیاهان بر سایر عوارض ناشی از دیابت مثل نفروپاتی وجود دارد (۱۱). ازجمله گیاهان دارویی با خواص کاهنده قند خون می‌توان به پسته کوهی یا بنه (*Pistacia atlantica*) اشاره کرد. درخت بنه متعلق به خانواده سماق Anacardiaceae است. گیاهان متعلق به این خانواده دارای حدود ۷۵ جنس و ۶۰۰ گونه می‌باشند. تاکنون حدود ۲۰ گونه پسته شناسایی شده است. پنج گونه فراوان این گیاه شامل؛ *Pistacia vera* (پسته)، *Pistacia khinjuk* (پسته وحشی)، *Pistacia terebinthus* (سقز)، *Pistacia lentiscus* (مصطکی) و *Pistacia atlantica* (بنه یا پسته کوهی) می‌باشند (۱۲ و ۱۳). خاستگاه سه گونه؛ پسته، پسته وحشی و بنه ایران است (۱۴). در طب سنتی قسمت‌های مختلف این جنس به دلایل قایل بودن

1- Advanced Glycation end Products

خواصی چون؛ محرک جنسی، ضد میکروبی، کاهنده فشارخون و همچنین جهت درمان بیماری‌ها و عوارض دهان و دندان، بیماری‌های گوارشی، کبدی، اختلالات مجاری ادرار و سیستم تنفس کاربرد داشته است (۱۵). یافته‌های بررسی‌های علمی اخیر برخی از این خواص از جمله؛ خواص آنتی اکسیدانی (۱۶)، ضد میکروبی (۱۷)، ضد ویروسی (۱۸)، آنتی کولین استراز (۱۹)، ضد التهابی (۲۰)، ضد درد (۲۱)، کاهنده قند خون (۲۲)، ضد سرطانی (۲۳)، کاهنده چربی‌های خون (۲۴)، حفاظت قلبی و کبدی (۲۵ و ۲۶) و همچنین سودمندی آن بر اختلالات سیستم گوارش را تأیید کرده‌اند (۲۷). البته بیشتر تحقیقات اشاره شده خواص میوه بنه را مورد ارزیابی قرار داده‌اند. مطالعه بر روی دیگر اجزا این گیاه اندک صورت گرفته است. مطالعه‌های انجام شده بر روی پوست، برگ و میوه سبز این گیاه نشان داده است که پوست آن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی، برگ و میوه آن دارای اثرات ضد سرطانی است (۲۸). هم اکنون رایج‌ترین موارد مصرف این گیاه نزد طب سنتی استفاده از میوه این گیاه جهت تقویت اعصاب، رفع کم‌خونی، نرمی استخوان و از صمغ این گیاه به عنوان ملین در درمان ناراحتی‌های گوارشی استفاده می‌شود (۲۹). مطالعه‌های داخلی اخیر نشان دادند که عصاره برگ این گیاه می‌تواند عملکرد سلول‌های بتای جزایر پانکراس را بهبود بخشد و سبب کاهش قند خون در موش‌های دیابتیک شود (۳۰). امروزه در بین جوامع مختلف افزایش مصرف گیاهان دارویی با توجه

به وجود پیش‌زمینه ذهنی مردم مبنی بر نداشتن عوارض سوء مشاهده می‌شود. این افزایش اقبال عمومی به مصرف گیاهان دارویی باعث شده است که تحقیقات علمی در خصوص تعیین کارایی و همچنین ارزیابی خطر^(۱) مصرف این ترکیب‌ها بیش از پیش مورد توجه قرار گیرند. گیاهان دارویی متعددی وجود دارند که محققان با انجام پژوهش‌های علمی و استفاده از مدل‌های حیوانی و یا سلولی اثر بخشی آنها را تأیید و یا رد نموده‌اند و حتی اثرات جدیدی را به آن‌ها نسبت داده‌اند که خوشبختانه در کشور ما نیز تحقیق‌هایی در حوزه گیاهان دارویی با رشد خوبی همراه بوده و جایگاه خود را در حوزه تحقیق‌های پزشکی تثبیت کرده است (۳۲ و ۳۱).

با این حال تاکنون مطالعه‌ای بر روی اثر عصاره برگ این گیاه بر عملکرد کلیوی در نمونه انسانی یا حیوانی مشاهده نشده است. از این رو هدف از این مطالعه بررسی اثرات کلیوی این گیاه در مدل حیوانی نفروپاتی دیابتی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، برگ درخت بنه از منطقه بیرجند (استان خراسان جنوبی) در بهار سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری گردید. پس از تأیید هویت و اخذ کد هرباریوم (N.H. ۴۵۱) از گروه گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، در سایه خشک گردیده و به وسیله آسیاب پودر شد. پودر به دست آمده با نسبت ۱:۲۰ (وزنی: حجمی) با آب مقطر به مدت ۲۴

ساعت در دمای اتاق و بر روی همزن مغناطیسی خیسانده شده سپس محلول به دست آمده به وسیله کاغذ صافی (واتمن)، صاف گردید (۱۴). در نهایت هر ده سی سی از این محلول بر روی پتری دیش ریخته شد و در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه قرار گرفت. پس از تبخیر کامل حلال، پودر باقی مانده از ظرف‌ها برداشته شد (۳۳). در این روش به ازای هر ۵۰ گرم پودر برگ بنه ۵ گرم عصاره حاصل گردید.

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی (۲۰۰-۱۸۰ گرم) استفاده شد. القای دیابت به وسیله تزریق درون صفاقی یک دوز محلول استرپتوزوتوسین (۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به رت‌های ناشتا انجام پذیرفت. پس از دو هفته رت‌های دارای قند خون بالاتر از ۳۵۰ یلی‌گرم بر دسی‌لیتر دیابتی در نظر گرفته شدند (۳۴). به منظور پیشرفت دیابت و ظاهر شدن عوارض آن و همچنین سازگار شدن حیوان با آزمایشگاه، رت‌ها به مدت دو هفته بدون مداخله در شرایط کنترل شده (دمای ۲۵-۲۱ درجه سانتی‌گراد و چرخه نور-روشنایی ۱۲ ساعته) درون قفس‌هایی از جنس پلی اتیلن در محل آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند نگهداری شدند. در طول طرح حیوانات دسترسی آزاد به غذای استاندارد حیوانات (تولید شرکت خوراک دام جوانه خراسان) و آب شهری سالم داشتند. روش کار در این طرح مطابق شرح پیش رو به تصویب کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی، معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه

علوم پزشکی بیرجند رسید (IR.BUMS.1394.372). پس از گذشت زمان مذکور، به‌طور مجدد قند خون تمامی رت‌ها به وسیله دستگاه قند خون جیبی (مارک آکو چک، ساخت کشور آلمان) ارزیابی گردید و رت‌های با قندخون بالاتر از ۳۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر انتخاب گردیدند.

در این پژوهش ۴۰ رت دیابتیک که کمترین اختلاف را در مقادیر قند خون با یکدیگر داشتند انتخاب و به‌طور تصادفی به ۵ گروه مساوی تقسیم گردیدند. هشت سر موش سالم (هم سن با گروه‌های دیابتیک) نیز به عنوان گروه کنترل سالم تخصیص یافتند. تعیین دوزهای مداخله بر اساس تحقیق کاسابری و همکاران که فعالیت کاهنده قند خون برگ بنه را مورد ارزیابی قرار داده بودند صورت پذیرفت. در مطالعه یاد شده محققین دوزهای ۱۲۵ و ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن را استفاده نموده بودند و نتایج آنها نشان داد که در اثری وابسته به دوز عصاره برگ بنه سبب کاهش قند خون موش‌های سالم در تست تحمل گلوکز گردیده بود (۲۲)، لذا دوزهای انتخابی در مطالعه حاضر در دامنه نزدیک به دوزهای ذکر شده انتخاب گردید. به این ترتیب گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ دیابتیک به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن از عصاره آبی برگ بنه به صورت روزانه و به مدت ۳۰ روز متوالی با حجم یکسان (۱ میلی لیتر) گاوژ شدند. گروه ۴ دیابتیک به عنوان گروه کنترل مثبت روزانه (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن)

داروی کاپتوپریل دریافت کردند. گروه ۵ دیابتیک و گروه کنترل سالم روزانه هم حجم سایر گروه‌ها (یک میلی‌لیتر) نرمال سالین دریافت نمودند. در این پژوهش استرپتوزوتوسین از شرکت سیگما (آمریکا) و داروی کاپتوپریل از شرکت اکسیر (ایران) تهیه و استفاده گردید.

جهت تهیه کلیه محلول‌ها، از حلال سدیم کلراید ۰/۹ درصد استفاده شد. در روز بیست و نهم مداخله، تمام موش‌ها در قفس‌های متابولیک قرار داده شدند، تا نمونه ادرار ۲۴ ساعته آن‌ها برای اندازه‌گیری پروتئین تام گرفته شود. در روز سی‌ام، ضمن رعایت شرایط ناشتای ۱۴ ساعته، رت‌ها پس از بیهوشی عمیق با اتر، مورد خونگیری قلبی قرار گرفتند و پلاسمای خون آن‌ها برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی، کراتینین و اوره نیتروژن خون^(۱) جداسازی شد. در ادامه کلیه راست موش‌ها برداشته شد و پس از توزین، برای انجام پروسه پاساژ بافتی، در محلول فیکساتیو بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی با استفاده از کیت‌های استاندارد (پارس آزمون، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (پرستیژ ۲۴ آی، ژاپن) انجام گرفت. پس از پاساژ بافتی و تهیه بلوک‌های پارافینی، مقاطع بافتی، با ضخامت حداکثر ۵ میکرومتر به وسیله میکروتوم برش داده شد و با تکنیک پرئودیک اسید شیف^(۲) رنگ‌آمیزی گردیدند. برای ارزیابی تغییرات بافتی، از هر موش سه لام و از هر لام ده فیلد میکروسکوپی به وسیله میکروسکوپ نوری (المپیوس، ژاپن) مورد

مشاهده قرار گرفت. تغییرات کیفی شامل؛ هیالینیزاسیون، ضخیم‌شدگی کپسول بومن، گشادشدگی مویرگ‌های گلومرول‌ها و اسکروزیس، انتشار ماتریکس مزانشیال و هایپر سلولاریتی به صورت وجود دارد- ندارد در چک لیست ارزیابی هر گلومرول مد نظر قرار گرفت (۳۵).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

اندازه‌گیری پارامترهای قندخون، وزن بدن، وزن کلیه و حجم ادرار در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. مقایسه مقادیر قند خون موش‌ها قبل از شروع تیمار نشان داد که گروه‌های دیابتیک، قند خون حدود ۳ برابر گروه کنترل سالم داشتند ($p=0/0001$). در پایان مطالعه نیز قند خون گروه کنترل دیابتیک به طور معنی‌داری ($p=0/002$) بیشتر از گروه کنترل سالم بود. مقایسه گروه‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میانگین قند خون گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ عصاره ($p=0/51$)، دوز ۲۰۰ عصاره ($p=0/95$)، دوز ۴۰۰ عصاره ($p=0/76$) و گروه دریافت‌کننده کاپتوپریل ($p=0/57$) با گروه کنترل دیابتیک وجود نداشت. به عبارتی هیچ یک از مداخلات انجام شده نتوانسته بود سبب کاهش معنی‌دار قند خون در موش‌های دیابتی گردد. در

1- Blood Urea Nitrogen (BUN)

2- Periodic acid-Schiff (PAS)

مقایسه با گروه کنترل سالم مقادیر حجم ادرار ۲۴ ساعته ($p=0/005$) و شاخص وزن کلیه نسبت به وزن بدن ($p=0/002$) در گروه کنترل دیابتی بطور معنی داری افزایش و در مقابل وزن کل بدن کاهش یافته بود ($p=0/01$). عصاره برگ بنه در دوزهای ۱۰۰ ($p=0/02$) و ۲۰۰ ($p=0/01$) توانست به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی حجم ادرار را در موش‌ها کاهش دهد، اما مقایسه میانگین حجم ادرار گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰ عصاره ($p=0/74$) و داروی کاپتوپریل ($p=0/38$) تفاوت معنی داری را با گروه کنترل دیابتی نشان نداد. عصاره برگ بنه در هیچ یک از دوزها نتوانست از کاهش وزن بدن و همچنین افزایش شاخص وزن کلیه به وزن بدن در موش‌های دیابتی جلوگیری نماید. به نحوی که مقایسه میانگین وزن موش‌های دریافت کننده دوز ۱۰۰ ($p=0/97$)، دوز ۲۰۰ ($p=0/22$) و دوز ۴۰۰ ($p=0/84$) و همچنین داروی کاپتوپریل ($p=0/84$) تفاوت معنی داری با گروه کنترل دیابتی نداشت. مقایسه شاخص وزن کلیه نسبت به وزن بدن نیز نشان داد که تفاوت معنی داری بین گروه‌های دریافت کننده دوز ۱۰۰ ($p=0/43$)، دوز ۲۰۰ ($p=0/80$)، دوز ۴۰۰ ($p=0/85$) و داروی کاپتوپریل ($p=0/90$) با گروه کنترل دیابتی وجود نداشت. داده‌های مربوط فاکتورهای بیوشیمیایی؛ پروتئین ادرار، کراتینین و نیتروژن اوره خون در جدول ۲ قابل مشاهده است. موش‌های گروه کنترل دیابتیک بعد از ۶ هفته (دو هفته قبل از شروع مطالعه و چهار هفته بعد) در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معنی داری مقادیر پروتئین ادرار ($p=0/0001$)، نیتروژن اوره ($p=0/0001$) و

کراتینین خون ($p=0/0001$) بالاتری داشتند. عصاره برگ بنه در هر سه دوز، نتوانست پارامترهای یاد شده را تغییر دهد. به این ترتیب که میانگین پروتئین ادرار در گروه‌های دریافت کننده دوز ۱۰۰ عصاره ($p=0/20$)، دوز ۲۰۰ عصاره ($p=0/26$) و دوز ۴۰۰ عصاره ($p=0/05$) تفاوتی با گروه کنترل دیابتی نداشت، اما موش‌های دریافت کننده داروی کاپتوپریل به طور معنی داری ($p=0/002$) پروتئین ادرار کمتری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی داشتند و میانگین پروتئین ادرار در این گروه اختلاف معنی داری با گروه کنترل سالم نداشت ($p=0/38$). مقایسه میانگین نیتروژن اوره خون در بین گروه‌ها نشان داد که گروه‌های دریافت کننده دوز ۱۰۰ عصاره ($p=0/90$)، دوز ۲۰۰ عصاره ($p=0/64$) و دوز ۴۰۰ عصاره ($p=0/28$) تفاوت معنی داری با گروه کنترل دیابتی نداشتند، اما میانگین نیتروژن اوره خون در گروه دریافت کننده کاپتوپریل به طور معنی داری ($p=0/0001$) کمتر از گروه کنترل دیابتی بود و اختلاف معنی داری با گروه کنترل سالم نداشت ($p=0/13$). مقایسه میانگین کراتینین خون در بین گروه‌ها نشان داد که گروه‌های دریافت کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰ ($p=0/46$)، ۲۰۰ ($p=0/92$) و ۴۰۰ ($p=0/54$) اختلاف معنی داری با گروه کنترل دیابتی نداشتند، اما میانگین کراتینین خون در موش‌های دریافت کننده کاپتوپریل به طور معنی داری ($p=0/034$) کمتر از گروه کنترل دیابتی بود و تفاوت معنی داری با گروه کنترل سالم نداشت ($p=0/81$). به عبارتی کاپتوپریل توانسته بود افزایش دفع پروتئین

ادرار و همچنین نیتروژن اوره و کراتینین خون را به خوبی و در حد نرمال مهار نماید.

مطالعه بافت‌شناسی گلومرول‌های کلیوی در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که تغییرات پاتولوژیک نظیر افزایش ماتریکس مزانشیال، گلومرولواسکلروزیس، هایپر سلولاریتی و ضخیم شدگی غشا پایه گلومرول‌ها و توبول‌های کلیوی در

موش‌های دیابتی به وضوح قابل مشاهده است. مصرف عصاره برگ بنه در هیچ یک از دوزها تأثیری بر تعدیل این عوارض نشان نداد. مصرف ۴ هفته کپتوپریل افزایش ماتریکس مزانشیال را اندکی مهار کرده و از اسکروز منتشر گلومرول‌ها جلوگیری نمود (تصویر ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار پارامترهای؛ قند خون ناشتا، وزن رت، شاخص نسبت وزن کلیه به وزن بدن و حجم ادرار ۲۴ ساعته در پایان مطالعه بین گروهها

گروه ها	کنترل سالم	عصاره (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	عصاره (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	عصاره (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	کاپتوپریل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	کنترل دیابتیک
متغیر						
قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۰۷/۷۱ $\pm$ ۱۶/۱۹	۴۱۳/۱۷ $\pm$ ۱۳۸/۳۸*	۴۱۷/۱۷ $\pm$ ۵۳/۰۴*	۴۰۵/۰۰ $\pm$ ۳۹/۶۵*	۳۳۸/۳۴ $\pm$ ۱۳۶/۵۲*	۳۸۳/۵ $\pm$ ۱۱۸/۳۳*
وزن (گرم)	۲۳۷/۴۳ $\pm$ ۱۵/۱۰	۱۷۰/۵ $\pm$ ۱۲/۵۱*	۱۴۹ $\pm$ ۱۱/۶۶*	۱۶۶/۳۳ $\pm$ ۳۸/۸۴*	۱۶۵/۳۴ $\pm$ ۳۸/۸۴*	۱۴۴/۱۷ $\pm$ ۲۸/۷۶*
شاخص وزن کلیه:وزن بدن	۰/۰۰۲۲ $\pm$ ۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۴۶ $\pm$ ۰/۰۰۰۷۹*	۰/۰۰۴۹ $\pm$ ۰/۰۰۰۲۹*	۰/۰۰۵۱ $\pm$ ۰/۰۰۱۰۳*	۰/۰۰۵۰۳۴ $\pm$ ۰/۰۰۱۳*	۰/۰۰۵۰۳۹ $\pm$ ۰/۰۰۰۶۹*
حجم ادرار ۲۴ ساعته	۶/۴۲ $\pm$ ۱/۳۳	۹/۱۶ $\pm$ ۱/۲۹*	۱۲/۵۰ $\pm$ ۳/۸۷ ^{##}	۱۷/۵۰ $\pm$ ۳/۸۷*	۲۲/۵۰ $\pm$ ۲/۲۳*	۲۴/۶۶ $\pm$ ۵/۱۰*

علامت * نشانگر اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) با گروه کنترل سالم می‌باشد.

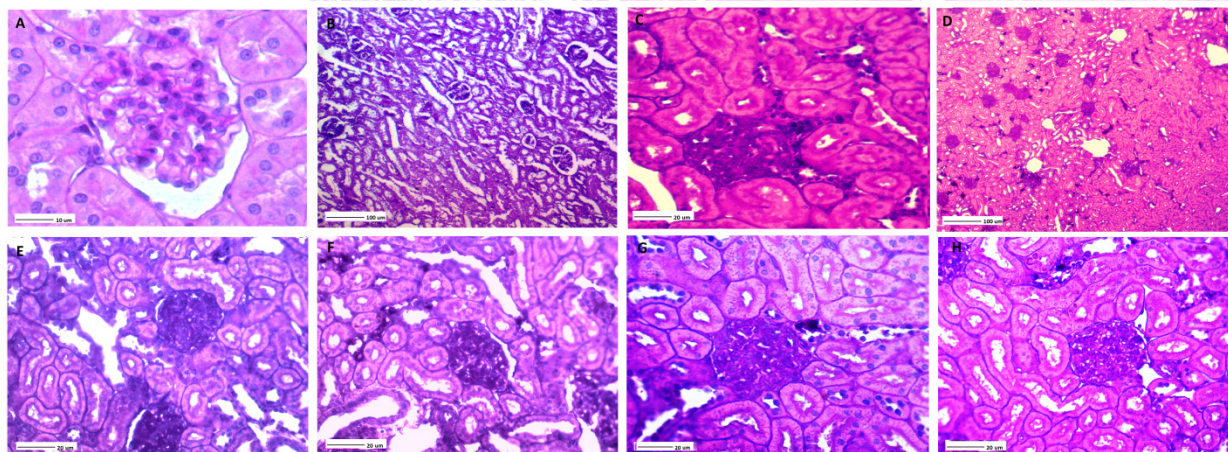
علامت # نشانگر وجود اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) با گروه کنترل دیابتیک می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار پارامترهای نیتروژن اوره ، کراتینین خون و پروتئین ادرار در پایان مطالعه بین گروهها

گروه ها	کنترل سالم	عصاره (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	عصاره (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	عصاره (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	کاپتوپریل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	کنترل دیابتیک
متغیر						
نیتروژن اوره خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۰/۷۷ $\pm$ ۱/۳۷	۳۷/۰ $\pm$ ۲/۱۰*	۲۶/۱۷ $\pm$ ۲/۵۶*	۲۷/۱۷ $\pm$ ۲/۲۳*	۱۲/۵ $\pm$ ۲/۸۱ [#]	۳۷/۱۷ $\pm$ ۲/۸۶*
کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۹۳ $\pm$ ۰/۴۲	۱/۲۵ $\pm$ ۰/۰۸*	۱/۷۸ $\pm$ ۰/۱۳*	۱/۹۶ $\pm$ ۰/۱۳*	۰/۹۷ $\pm$ ۰/۱۴ [#]	۱/۳ $\pm$ ۰/۴۵*
پروتئین ادرار (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۱/۶۷ $\pm$ ۲/۲۰	۲۰/۲۲ $\pm$ ۵/۴۶*	۲۱/۲۷ $\pm$ ۵/۰۶*	۲۱/۲۷ $\pm$ ۵/۰۶*	۱۳/۶۶ $\pm$ ۳/۴۸ [#]	۲۵/۶۷ $\pm$ ۱/۵۱*

علامت * نشانگر اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) با گروه کنترل سالم می‌باشد.

علامت # نشانگر وجود اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) با گروه کنترل دیابتیک می‌باشد.



تصویر ۱: تصاویر میکروسکوپی از گلومرول‌های کلیوی گروه‌های مورد مطالعه، رنگ‌آمیزی اختصاصی PAS. (A) گلومرول طبیعی بزرگ نمایی 600X. (B) تصویری از قشر کلیه گروه کنترل سالم با بزرگنمایی 100X مبین گلومرول‌های طبیعی با فضای ادراری نرمال، ساختار غشای پایه منظم کپسول بومن و توبول‌های کلیوی بدون چسبندگی کلافه گلومرولی و عدم انتشار ماتریکس مزانشیال. (C) گلومرول مربوط به گروه کنترل دیابتی با اسکروز و هایپر سلولاریتی شدید و همچنین چسبندگی سرتاسری کلافه گلومرولی به جدار کپسول بومن. بزرگ نمایی 400X. (D) تصویری از قشر کلیه متعلق به گروه کنترل دیابتی با بزرگنمایی 100X، به پاسخ رنگی بافت به رنگ‌آمیزی PAS توجه شود. در مقایسه با گروه کنترل سالم نواحی PAS مثبت به شدت افزایش یافته است. گلومرولواسکلروزیس وسیع که تمام گلومرول‌های موجود را درگیر کرده است به آسانی قابل تشخیص است. (E) گلومرول متعلق به گروه دریافت‌کننده عصاره ۱۰۰ برگ بنه بزرگنمایی 400X، اسکروز وسیع، افزایش ضخامت غشاهای پایه و هایپر سلولاریتی گلومرول قابل مشاهده است. (F) گلومرول گروه دریافت‌کننده عصاره ۲۰۰ برگ بنه بزرگنمایی 400X، ضایعات اشاره شده برای گروه قبلی همچنان بدون تغییر قابل مشاهده است. (G) گلومرول گروه دریافت‌کننده عصاره ۴۰۰ برگ بنه بزرگنمایی 400X، ضایعات نفروپاتی دیابتی همچنان قابل مشاهده بوده و تغییری نکرده اند. (H) گلومرول گروه دریافت‌کننده داروی کاپتوپریل، بزرگنمایی 400X، گلومرولواسکلروزیس اندکی تعدیل شده است و هایپر سلولاریتی مشاهده نمی‌شود. انتشار ماتریکس مزانشیال واضح‌ترین عارضه این گراف می‌باشد.

بحث

دیابتی در حیوانات بودند، اما نتایج ما نشان دادند که برخلاف انتظار، مصرف چهار هفته ای عصاره بنه در سه دوز متفاوت نتوانست عوارض کلیوی ناشی از دیابت (تغییرات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک) را در موش‌ها مهار نماید.

امروزه می‌دانیم ترکیب‌های گیاهی مختلفی با خاصیت آنتی‌دیابتیک وجود دارند که می‌توانند بر نفروپاتی دیابتی نیز مؤثر باشند (۳۴). از طرفی ترکیب‌ها و داروهایی نیز وجود دارند که تحقیق‌ها

در این مطالعه با ایجاد یک مدل نفروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی، اثر عصاره آبی برگ بنه که تعدادی از مقالات آن را دارای خواص ضد دیابت معرفی کرده‌اند (۲۲ و ۳۰)، بر شاخص‌های بیوشیمیایی نشانگر عملکرد کلیوی و همچنین تغییرات بافت‌شناسی آن مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه نشان داد که تغییرات بیوشیمیایی و پاتولوژیک مشاهده شده، تأییدی بر ایجاد نفروپاتی

نشان داده است بدون اثر بر میزان قندخون شاخص‌های عملکردی کلیوی ناشی از نفروپاتی دیابتی را تعدیل می‌کنند. به عنوان مثال، جمی‌گلیپتین، دارویی شیمیایی با خواص غیر کاهنده قند خون است که جز خانواده مهارکننده‌های دی‌پپتیدیل پپتیداز می‌باشد. این دارو با مهار آپوپتوز سلول‌های اپیتلیال اختصاصی گلومرول در مسیری غیر وابسته به قند خون، می‌تواند ضایعات بافتی گلومرول‌ها را بهبود بخشد (۳۶). با توجه به این موارد به نظر می‌رسد تعدیل عوارض کلیوی دیابت از مسیرهای دیگر غیر وابسته به کاهش قند خون نیز میسر است.

در این مطالعه برای اولین بار اثرات ناشی از عصاره آبی برگ بنه بر عملکرد کلیه رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، از منظر بیوشیمیایی و پاتولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه از جمله عدم توانایی این عصاره در کاهش قند خون، با تعدادی از مطالعه‌های قبلی انجام شده هم خوانی داشت. به عنوان مثال، در مطالعه محمودزاده و همکاران مصرف عصاره هیدروالکلی بنه در دوز خوراکی (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به مدت شش هفته همراه با تمرین‌های هوازی توانست قند خون موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین را کاهش دهد (۳۰). در مطالعه اشاره شده، نویسندگان به صراحت عنوان نکرده‌اند که از چه اندامی از گیاه بنه استفاده کرده‌اند از این‌رو نمی‌توان دریافت که آیا اثرات آنتی‌دیابتیک مشاهده شده مربوط به برگ بنه است یا میوه و یا پوست. چنانچه در مقدمه نیز عنوان

گردید اثرات کاهنده قند خون میوه بنه در مطالعه‌های گذشته دیگر نیز گزارش شده است (۲۶). افزون بر این، در مطالعه محمود زاده و همکاران، گزارش شده است که مصرف بنه سبب ترمیم آسیب سلول‌های پانکراس شده است، اما با مطالعه مقاله به داده‌های مبنی بر بررسی پاتولوژی بافت پانکراس برنمی‌خوریم. با وجود این اختلاف مطالعه‌های دیگری نیز وجود داشته که یافته‌های تحقیق حاضر را تأیید می‌کنند. در مطالعه که هامدان و همکاران انجام داده‌اند عصاره برگ بنه با غلظت (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) نتوانست قند خون را در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین کاهش دهد، اما اثر مهارکنندگی آلفا آمیلاز در محیط خارج از بدن دیده شده است (۳۷). آلفا آمیلازها گروهی از آمیلازها هستند که باعث تجزیه زنجیره‌های کربوهیدرات مانند نشاسته می‌شوند، به عبارتی فعالیت آنها سبب جذب گلوکز بیشتر در بدن می‌شود (۳۸)، اما همان‌طور که اشاره شده علی‌رغم اثر مهار آلفا آمیلازی در محیط خارج از بدن، اما عصاره برگ بنه نتوانسته بود اثرات کاهنده قند خون را در موش دیابتی از خود نشان دهد. یافته‌های مطالعه حاضر نیز با این نتایج هم‌خوانی داشت. در این مطالعه از داروی کاپتوپریل به عنوان داروی مهار کننده عوارض کلیوی دیابت استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف یک ماهه این دارو اگر چه نتوانست افزایش قند خون، کاهش وزن بدن، افزایش حجم ادرار و شاخص وزن کلیه به وزن بدن را مهار نماید، اما قادر بود به طور

مؤثری دفع پروتئین، افزایش کراتینین و نیتروژن اوره خون را در موش‌های دیابتی مهار و تعدیل نماید. این یافته‌ها با نتایج مطالعه‌های گذشته که از داروی کاپتوپریل در موش‌های دیابتی استفاده کرده بودند هم‌خوانی داشت (۳۹). در مطالعه عبد الله و گوما مصرف خوراکی شش هفته ای کاپتوپریل (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) را در بر عملکرد کلیوی و عصبی در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آنان نشان داد که کاپتوپریل توانسته بود در مدت زمان ذکر شده اوره نیتروژن و کراتینین خون را در موش‌های دیابتی به طور مؤثری کاهش دهد (۴۰).

به طور کلی یافته‌های اخیر در مورد مکانیسم اثر گیاهان دارویی در درمان دیابت و عوارض آن حول محورهای خواصی همچون آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و تنظیم کننده سیستم ایمنی بوده و در اکثر مطالعه‌های انجام شده، اثرات مشاهده شده به این خواص نسبت داده شده اند (۴۱). طبق مطالعه‌های صورت گرفته برگ، میوه و صمغ گیاه بنه به علت داشتن ترکیب‌هایی مثل؛ آلفا پینن ترپینولون^(۱)، سابینن^(۲) و میرسن دارای خواص ضد التهابی می‌باشد (۴۲). بخش‌های هوایی این گیاه نیز حاوی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان معروفی نظیر؛ کاتچین^(۳)، اپی‌کاتچین^(۴)، کوئرسیتین^(۵) و گالیک اسید^(۶) می‌باشد (۴۳ و ۴۴). با توجه به وجود ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی در این گونه گیاهی انتظار می‌رفت عصاره این گیاه بتواند در بهبود دیابت و

نفروپاتی مؤثر باشد، اما یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد عصاره آبی برگ این گیاه نه تنها تأثیری بر نفروپاتی دیابتی بلکه بر کاهش قند خون نیز ندارد. می‌توان این طور نتیجه‌گیری نمود، اگرچه دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی در ترکیب‌های گیاهی می‌تواند به عنوان مکانیسم اثر احتمالی آنها در تعدیل عوارض بیولوژیکی بیماری‌های متابولیک نظیر؛ دیابت مطرح باشد، اما این مدعا همواره صحیح نیست. چراکه احتمالاً مکانیسم ایجاد نفروپاتی دیابتی از مسیرهای متفاوت مسیر اکسیدانی نیز ایجاد گردد (۴۵) و مکانیسم‌های اثرگذار دیگری نیز می‌توانند در اثر بخشی یک ترکیب گیاهی دخیل باشند که می‌باید در مطالعه‌های حوزه گیاهان دارویی به آنها نیز پرداخته شود. از جمله محدودیت‌های طرح پیشرو می‌توان به کوتاه بودن نسبی زمان تیمار (یکماه) و هم‌چنین عدم اندازه‌گیری تغییرات هورمون انسولین اشاره نمود که پیشنهاد می‌گردد در مطالعه‌های آینده مورد توجه قرار گیرند.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق به وضوح نشان داد که عصاره برگ بنه در هیچ یک از دوزهای مورد بررسی (۴۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن) اثر سودمندی بر کاهش قند خون، پروتئین ادرار، کراتینین

1- α - pinene Terpinelone

2-Sabinene

3-Catechin

4-Epicatechin

5-Quercetin

6-Gallic acid

علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند تشکر و
قدردانی می‌نمایند.

و اوره نیتروژن خون و همچنین تغییرات بافت‌شناسی
کلیه در موش‌های صحرایی دیابتیک نداشت. با عنایت
به خواست مردم به استفاده از گیاهان دارویی،
بررسی کارآیی این گیاهان می‌تواند در ارایه
توصیه‌های مناسب حتی از سوی پزشکان و کادر
درمانی مؤثر باشد. علی‌رغم این که در این تحقیق برگ
بنه هیچ اثر سودمندی را نشان نداد، محققین پیشنهاد
می‌کنند مطالعه‌های بیشتر و حتی مشابه جهت تبیین
خواص آن صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل یافته‌های طرح تحقیقاتی
مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم
پزشکی بیرجند (شماره: ۱۴/۹۴) می‌باشد که با حمایت
مالی این دانشگاه انجام گردید. بدین وسیله از
حمایت‌های معاونت محترم تحقیقات و مسئولین مرکز
تحقیقات طب تجربی و آزمایشگاه بافت‌شناسی گروه

REFERENCES

- 1.Chikhi I, Allali H, Dib MEA, Medjdoub H, Tabti B. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplex halimus* L.(Chenopodiaceae) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Dis* 2014; 4(3): 181-4.
- 2.Inzucchi S, Bergenstal R, Fonseca V, Gregg Ed, Mayer-Davis B, Spollett G, et al. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010; 33(1): S62-9.
- 3.Noel Van Buren P, Toto R. Current update in the management of diabetic nephropathy. *Curr Diabetes Rev* 2013; 9(1): 62-77.
- 4.Jain A, Nahata A, Lodhi S, Singhai AK. Effects of *Tephrosia purpurea* and *Momordica dioica* on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition* 2014; 4(3): 383-9.
- 5.Arumugam S, Sreedhar R, Miyashita S, Karuppagounder V, Thandavarayan RA, Giridharan VV, et al. Comparative evaluation of torasemide and furosemide on rats with streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Exp Mol Pathol* 2014; 97(1): 137-43.
- 6.Wang J, Liu H, Li N, Zhang Q, Zhang H. The protective effect of fucoidan in rats with streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Marine Drugs* 2014; 12(6): 3292-306.
- 7.Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2007; 27(2):195-207.
- 8.Schena FP, Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(3): S30-S3.
- 9.Sun YM, Su Y, Li J, Wang LF. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 433(4): 359-61.
- 10.Lim AKH. Diabetic nephropathy – complications and treatment. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2014; 7: 361-81.
- 11.Shafi S, Tabassum N, Ahmad F. Diabetic nephropathy and herbal medicines. *International Journal of Phytopharmacology* 2012; 3(1): 10-17.
12. Kole C. Wild crop relatives: Genomic and breeding resources: Cereals. Berlin: Springer;2011;321.
- 13.Mozaffarian V. Trees and shrubs of Iran. Tehran: Farhang Moaser [1452] p Pe (En) Geog; 2005; 2.
- 14.Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names: Latin, English, Persian: Farhang Mo'aser; 1996; 18-20.
- 15.Bozorgi M, Memariani Z, Mobli M, Salehi Surmaghi MH, Shams-Ardekani MR, Rahimi R. Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *Scientific World Journal* 2013; 15: 2013.
- 16.Bhouri W, Derbel S, Skandrani I, Boubaker J, Bouhlef I, Sghaier MB, et al. Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro : an International Journal Published in Association with BIBRA* 2010; 24(2): 509-15.
- 17.Ramezani M, Khaje-Karamoddin M, Karimi-Fard V. Chemical Composition and anti-helicobacter pylori activity of the essential oil of *pistacia vera*. *Pharmaceutical Biology* 2004; 42(7): 488-90.
- 18.Ozcelik B, Aslan M, Orhan I, Karaoglu T. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiol Res* 2005;160(2):159-64.
- 19.Benamar H, Rached W, Derdour A, Marouf A. Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Biological Sciences* 2010; 10(1): 1-9.
- 20.Sharifi MS, Hazell SL. Isolation, analysis and antimicrobial activity of the acidic fractions of Mastic, Kurdica, Mutica and Cabolica gums from genus *Pistacia*. *Glob J Health Sci* 2012; 4(1): 217-28.

21. Hosseinzadeh H, Behravan E. Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Pistacia vera Leaf Extract in Mice. Iran J Pharm Res 2011; 10(4): 821-8.
22. Kasabri V, Afifi FU, Hamdan I. In vitro and in vivo acute antihyperglycemic effects of five selected indigenous plants from Jordan used in traditional medicine. J Ethnopharmacol 2011; 133(2): 888-96.
23. Giaginis C, Theocharis S. Current evidence on the anticancer potential of Chios mastic gum. Nutr Cancer 2011; 63(8):1174-84.
24. Marinou KA, Georgopoulou K, Agrogiannis G, Karatzas T, Iliopoulos D, Papalois A, et al. Differential effect of Pistacia vera extracts on experimental atherosclerosis in the rabbit animal model: an experimental study. Lipids Health Dis 2010; 9: 73.
25. Dedoussis GV, Kaliora AC, Psarras S, Chiou A, Mylona A, Papadopoulos NG, et al. Antiatherogenic effect of Pistacia lentiscus via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. Atherosclerosis 2004;174(2): 293-303.
26. Ljubuncic P, Song H, Cogan U, Azaizeh H, Bomzon A. The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of Pistacia lentiscus in experimental liver disease. J Ethnopharmacol 2005; 100(1-2): 198-204.
27. Rahimi R, Shams-Ardekani MR, Abdollahi M. A review of the efficacy of traditional Iranian medicine for inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol 2010; 16(36): 4504-14.
28. Sari I, Baltaci Y, Bagci C, Davutoglu V, Erel O, Celik H, et al. Effect of pistachio diet on lipid parameters, endothelial function, inflammation, and oxidative status: a prospective study. Nutrition 2010; 26(4): 399-404.
29. Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK. Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. Afr J Pharm Pharmacol 2008; 2(2): 022-8.
30. Mahmudzadeh T, Saghebjo M, Seghatol Eslami A, Hedayati M. Effect of aerobic training and pistacia atlantica extract consumption on pancreatic β -cells function in streptozotocin-induced diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2014; 13(3): 252-62.
31. Dourandishan M, Hossieni M, Malekaneh M, Bagherzade G. Effect of otostegia persica's root extract on the blood biochemical factors in diabetic hyperlipidemic rats. Quarterly of Horizon of Medical Sciences 2014; 20(1): 17-21.
32. Vafaei Nejad S, Serki E, Hassanpour Fard M, Hosseini M. Hypolipidemic activity of aqueous extract of turnip (brassica rapa) root in hyperlipidemic rats. Quarterly of Horizon of Medical Sciences 2015; 21(1): 45-51.
33. Fard MH, Naseh G, Lotfi N, Hosseini SM, Hosseini M. Effects of aqueous extract of turnip leaf (Brassica rapa) in alloxan-induced diabetic rats. Avicenna J Phytomed 2015; 5(2):148.
34. Ghravani Z, Zardast M, Hassanpour-Fard M, Hosseini M. Effects of hydro.alcoholic extract of internal septum of walnut on diabetic nephropathy in rats. Journal of Birjand University of Medical Sciences 2015; 22(2): 104-14.
35. Appelhoff RJ, Hill JV, Findon G, Frampton CM, Perry E, Ponnampuruma D, et al. Differential contribution of diabetes and the Ren2 gene to glomerular pathology in diabetic (mREN-2) 27 rats. Lab Invest 2010; 90(8): 1225-35.
36. Jung E, Kim J, Kim SH, Kim S, Cho M-H. Gemigliptin improves renal function and attenuates podocyte injury in mice with diabetic nephropathy. Eur J Pharmacol 2015; 761:116-24.
37. Hamdan I, Afifi F. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. J Ethnopharmacol 2004; 93(1): 117-21.
38. Reddy N, Nimmagadda A, Rao KS. An overview of the microbial α -amylase family. Afr J Biotechnol 2004; 2(12): 645-8.
39. Akbar DH, Hagra MM, Amin HA, Khorshid OA. Comparison between the effect of glibenclamide and captopril on experimentally induced diabetic nephropathy in rats. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst 2013; 14(2): 103-15.

40. Abd Allah ES, Gomaa AM. Effects of curcumin and captopril on the functions of kidney and nerve in streptozotocin-induced diabetic rats: role of angiotensin converting enzyme 1. *Appl Physiol Nutr Metab* 2015; 40(10): 1061-7.
41. Zhong Y, Deng Y, Chen Y, Chuang PY, He JC. Therapeutic use of traditional Chinese herbal medications for chronic kidney diseases. *Kidney Int* 2013; 84(6): 1108-18.
42. Mecherara-Idjeri S, Hassani A, Castola V, Casanova J. Composition of leaf, fruit and gall essential oils of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. *JEOR* 2008; 20(3): 215-9.
43. Bhouri W, Derbel S, Skandrani I, Boubaker J, Bouhlef I, Sghaier MB, et al. Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicol In Vitro* 2010; 24(2): 509-15.
44. Yousfi M, Djeridane A, Bombarda I, Duhem B, Gaydou EM. Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytother Res* 2009; 23(9): 1237-42.
45. Fried LF, Emanuele N, Zhang JH, Brophy M, Conner TA, Duckworth W, et al. Combined angiotensin inhibition for the treatment of diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 2013; 369(20): 1892-903.

The Effects of Aqueous Extract of Wild Pistachio (*Pistacia Atlantica*) leaves on Diabetic Nephropathy in Rat

Vazifeshenas-Darmiyan KH¹, Hosseini M², Rezaei R¹, Ezi S³, Malekaneh M^{1*}

¹Department of biochemistry, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran, ²Research Centre of Experimental Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran, ³ Department of Anatomical Sciences, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Received: 22 Dec 2015

Accepted: 7 Jul 2016

Abstract

Background & aim: Due to increased public interest in the use of herbal medicine, their efficacy and safety evaluation have become important. In some studies, *Pistacia atlantica* leave (PAL) extract suggested as a hypoglycemic agent. However, there is no study about its effects on diabetic nephropathy. Therefore, the present work was conducted to evaluate the effects of aqueous extract of PAL on some biochemical and pathological aspects related to renal function in diabetic rats.

Methods: In the present experimental study, 40 severe diabetes male Wistar rats (180-200 gr) with STZ and eight healthy rats at the same age were equally divided into 6 groups and followed for a period of thirty days as the oral treatment respectively. Diabetic groups I, II and III received 100, 200 and 400 mg/kg of PAL extracts, diabetic group IV received 50 mg/kg Captopril and diabetic group V and healthy group received saline 0.9% as control groups. Finally, fasting blood glucose (FBG), Urine volume and 24 h urine total protein (UTP), blood nitrogen urea (BUN) and plasma creatinine (Cr) were assessed biochemically and also qualitative renal histomorphological alterations were assessed pathologically. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post hoc test.

Results: In diabetic control group the FBS (383.5 ± 118.33), BUN (27.17 ± 2.86), Cr (1.3 ± 0.45), Urine volume (24.66 ± 5.10) and UTP (25.67 ± 1.51) of groups 1-5 significantly increased in comparison with normal control group ($p < 0.0001$ each). In addition: severe glomerulosclerosis, mesangial matrix expansion and tuft-capsule adhesion were observed in diabetic rats. Unlike captopril, which could significantly reduce the mean level of urea nitrogen ($p < 0.001$; 12.5 ± 2.81), creatinine ($p = 0.034$; 0.97 ± 0.14) and protein ($p = 0.002$; 13.66 ± 3.48) compared with diabetic controls the histology of the group was evaluated and confirmed its moderator effects,

Conclusion: The results clearly demonstrate that PAL did not have any beneficial effects on diabetic nephropathy in rats.

Key words: *Pistacia atlantica*, Captopril, Diabetic Nephropathy, Rat

Correspondence author: Malekaneh M, Department of Biochemistry, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Email: drmalekaneh@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Vazifeshenas-Darmiyan Kh, Hosseini M, Rezaei R, Ezi S, Malekaneh M. The Effects of Aqueous Extract of Wild Pistachio (*Pistacia Atlantica*) leaves on Diabetic Nephropathy in Rat. Armaghane-danesh 2016; 21 (5): 420-434.