

Effect of Conjugated Blackcurrant Extract and Zinc Oxide Nanoparticles on Histopathologic Damage of Kidney Tissue in Diabetic Rats

Ahmadi Sagerlou S¹, Alipanah-Moghadam R*¹, Salimnejad R²

1. Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences , Ardabil, Iran

2. Department of Anatomical Sciences and Pathology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

* *Corresponding author.* Tel: +984533534691, Fax: +984533513424, E-mail: alipanahreza9@gmail.com

Received: Jun 20, 2018 Accepted: Dec 21, 2018

ABSTRACT

Background & objectives: One of the most important diabetes complications is chronic renal failure. This disorder is one of the most important progressive renal problems that is closely associated with high mortality rate in diabetic patients. The purpose of this study was to evaluate the effect of conjugated blackcurrant extract and zinc oxide nanoparticles on histopathologic damages of kidney tissue in diabetic rats.

Methods: A total of thirty adult Wistar rats were used and they were randomly divided into the following six groups (n=5): control group; diabetic group (170 mg/kg alloxan); diabetic group treated with insulin (170 mg/kg alloxan & 10 U/kg insulin); diabetic group treated with ZnO nanoparticle (170 mg/kg alloxan & 8 mg/kg ZnO nanoparticle); diabetic group treated with extract (170 mg/kg alloxan & 150 mg/kg blackcurrant extract) and diabetic group treated with extract conjugated with ZnO nanoparticles (170 mg/kg alloxan & 8 mg/kg blackcurrant extract conjugated with ZnO nanoparticle). Diabetes mellitus was induced by intraperitoneal injection of alloxan monohydrate. Conjugated blackcurrant extract and ZnO nanoparticles were produced using green synthesis method. The tissues were stained with hematoxylin and eosin stain. Image J software was used for evaluation of histopathological changes.

Results: The comparison between groups treated with blackcurrant extract, ZnO nanoparticles and blackcurrant extract conjugated with ZnO nanoparticle showed that these compounds somewhat protect kidney tissue from diabetes damage . The highest protective effect was observed in diabetic group treated with ZnO nanoparticles conjugated with blackcurrant extract.

Conclusion: Our study, for the first time, showed that the conjugation of blackcurrant extract to ZnO nanoparticles can be effective in preventing renal- tissue damage in diabetic patient.

Keywords: Blackcurrant; ZnO Nanoparticles; Diabetes; Renal Damage

تاثیر عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی بر آسیب‌های هیستوپاتولوژیک بافت کلیه در موش صحرایی دیابتی

سپیده احمدی سقرلو^۱، رضا علی پناه مقدم^{۱*}، رامین سلیم نژاد^۲

۱. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۵۳۳۵۳۴۶۹۱، فاکس: ۰۴۵۳۳۵۱۳۴۲۴، پست الکترونیک: alipanahreza9@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مهمترین عوارض بیماری دیابت، نارسایی مزمن کلیوی است که با شدت مرگ و میر در این بیماران ارتباط تنگاتنگی دارد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی بر آسیب‌های هیستوپاتولوژیک بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی است.

روش کار: در این مطالعه از ۳۰ سر موش صحرایی و بیستار در ۶ گروه ۵ تایی استفاده گردید. گروه‌ها شامل: گروه کنترل، گروه دیابتی (۱۷۰ mg/kg آلوکسان)، گروه دیابتی- انسولین (۱۷۰ mg/kg آلوکسان و ۱۰ U/kg انسولین)، گروه دیابتی- نانوذره (۱۷۰ mg/kg آلوکسان و ۸ mg/kg نانو ذرات اکسید روی)، گروه دیابتی- عصاره (۱۷۰ mg/kg آلوکسان و ۱۵۰ mg/kg عصاره قره قاط) و گروه دیابتی- نانوذره-عصاره (۱۷۰ mg/kg آلوکسان و ۸ mg/kg عصاره قره قاط متصل به نانوذرات اکسید روی) بودند. دیابت در موش‌های صحرایی مورد آزمایش با تزریق داخل صفاقی آلوکسان منوهیدرات ایجاد شد. برای تهیه عصاره قره قاط متصل به نانوذره از روش سنتز زیستی استفاده شد. برای بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیکی از رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و نرم افزار Image J استفاده گردید.

یافته‌ها: مقایسه بین گروه‌های تحت تیمار با عصاره قره قاط، نانو ذرات اکسید روی و عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی نشان داد که این ترکیبات از آسیب بافتی ناشی از دیابت در بافت کلیه تا حدودی محافظت می‌کنند و بیشترین تاثیر محافظتی در برابر دیابت در گروه عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی می‌تواند در جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از دیابت در بافت کلیه موش صحرایی تاثیر مثبتی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: قره قاط، نانوذرات اکسید روی، دیابت، آسیب کلیوی

پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۳۰

دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۳۰

مقدمه

دیابت شیرین شایع‌ترین اختلال متابولیسمی است که در سرتاسر جهان در حال گسترش بوده و بطور متوسط دارای شیوع جهانی ۸/۶ درصد در بالغین می‌باشد [۱،۲]. میزان شیوع دیابت در ایران از متوسط جهانی بیشتر بوده و ۱۰/۴ درصد است [۲]. عوارض

بیماری دیابت به‌عنوان یکی از مشکلات اساسی در پزشکی محسوب می‌شود. یکی از مهمترین عوارض بیماری دیابت نارسایی مزمن کلیوی است [۳]. نغروپاتی دیابتی شایع‌ترین علت نارسایی مزمن کلیوی در سرتاسر جهان می‌باشد که می‌تواند به نارسایی کامل کلیوی منجر شود. این اختلال یکی از مهمترین

بنابراین با توجه به تأثیر بهتر مولکول‌های متصل شده به نانوذرات همچنین با توجه به اثرات ضددیابتی قره قاط، در این مطالعه برای اولین بار سعی شده است تأثیر عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی بر آسیب‌های هیستوپاتولوژیک بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش کار

این پژوهش یک مطالعه مورد-شاهد بوده که با کد اخلاقی IR.ARUMS.REC.1394.22 به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل رسیده و با رعایت استانداردهای اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است. در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار استفاده گردید. موش‌های صحرایی در قفس‌های پلاستیکی استاندارد مخصوص نگهداری موش‌ها، که غذا و آب کافی در دسترس آنها قرار داشت نگهداری شدند. محل نگهداری موش‌های صحرایی از نظر دما، رطوبت و نور در حد استاندارد تنظیم شده بود. وزن تقریبی موش‌های صحرایی بین ۲۰۰-۱۵۰ گرم بود. برای تهیه عصاره گیاه قره قاط، ابتدا میوه‌های خشک شده قره قاط از محل فروش گیاهان دارویی معتبر خریداری شد و سپس درهاون چینی پودر شد. این پودر به مدت چهار روز در اتانول به نسبت یک به ده خیسانده شده و به طور متناوب با استفاده از شیکر مخلوط شد. ۲۰ میلی لیتر از عصاره حاصله برای سنتز عصاره متصل به نانوذرات اکسید روی جدا شده و مابقی با ریختن بر سطح صاف و قرار دادن در معرض هوای آزاد جهت حذف حلال و خشک شدن کنار گذاشته شد. پودر حاصله برای تهیه دوزهای مورد نظر عصاره قره قاط استفاده گردید.

تهیه عصاره قره قاط متصل به نانوذرات اکسید روی

برای تهیه عصاره قره قاط متصل به نانوذرات اکسید روی از روش سنتز زیستی استفاده شد [۱۲]. در این

مشکلات پیش‌رونده و التهابی کلیوی می‌باشد که ۳۰ تا ۵۰ درصد بیماران دیابتی را درگیر می‌کند و با شدت مرگ و میر در این بیماران ارتباط تنگاتنگی دارد. از مهمترین مشخصه‌های هیستوپاتولوژیک نفروپاتی دیابتی افزایش ضخامت غشای پایه گلو مری، کوچک شدن فضای کپسول بومن و غیر طبیعی شدن شکل جسمک کلیوی^۱ می‌باشد [۴]. عوامل مختلفی در ایجاد نفروپاتی دیابتی نقش دارند که از آن جمله می‌توان به استعداد ژنتیکی، غلظت بالای گلوکز، فعال شدن مسیر تبدیل گلوکز به سوربیتول، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش ترکیبات گلیک و فشار بالای گلو مری اشاره کرد [۵]. پیشگیری از نفروپاتی جزو اولویت‌های پزشکی برای بیماران دیابتی محسوب می‌گردد و مهمترین اقدام در این زمینه کنترل گلوکز خون می‌باشد [۶]. یکی از گیاهان دارویی که اخیراً در زمینه کنترل گلوکز خون و دیابت مورد توجه محققین قرار گرفته است قره قاط می‌باشد. این گیاه در اکثر نواحی جنگلی آسیای صغیر، قفقاز، سبیری، آمریکای شمالی و به خصوص اروپا یافت می‌شود. این گیاه در ایران در جنگل‌های اطراف اردبیل، ارسباران و ارتفاعات استان گیلان می‌روید و قسمت‌های مورد استفاده آن شامل: برگ، ریشه و میوه است. مهم‌ترین مصرف دارویی مربوط به میوه این گیاه است. پلی‌فنول‌ها ترکیبات اصلی بیولوژیک قره قاط محسوب می‌شوند [۷، ۸]. قره قاط علاوه بر خواص کاهنده گلوکز خون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد توموری نیز می‌باشد [۹، ۱۰]. یکی از تکنیک‌هایی که به تازگی در زمینه درمان، تشخیص یا کنترل بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است اتصال مولکول‌های مختلف به نانوذرات است. نشان داده شده است اتصال ترکیبات مختلف به نانوذرات باعث نفوذ راحت‌تر و تأثیر بهتر این ترکیبات در سطح سلولی می‌شود [۱۱].

^۱ جسمک کلیوی به مجموعه کلافه مویرگی و کپسول بومن پیرامون آن گفته می‌شود.

روش ۲۰ میلی لیتر از عصاره تهیه شده را به همراه ۸۰ میلی لیتر آب مقطر در یک بشر ریخته سپس مقدار ۶/۴۲ گرم نمک نیترات روی به آن اضافه شد و با استفاده از همزن مغناطیسی کاملاً مخلوط شد. سپس pH محلول با استفاده از سود ۵ مولار در حدود ۱۰ تنظیم شد. سوسپانسیون حاصله به مدت ۱۵ دقیقه در داخل مایکروبیو قرار داده شد. نمونه بدست آمده دو بار با آب مقطر و یک بار با اتانول و به کمک سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰rpm هر بار به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شد و در هر بار مایع رویی دور ریخته شد. در پایان کار رسوب باقی مانده از شستشوی نهایی به مدت ۲۴ ساعت در فور در دمای ۶۰ درجه قرار داده شد تا خشک شود. حضور گروه‌های آلی عصاره قره‌قاط در سطح نانوذرات اکسید روی توسط آنالیز توزین حرارتی تایید شد. با استفاده از تکنیک XRD^۱ اندازه نانوذرات اکسید روی و عصاره قره‌قاط متصل به نانوذرات اکسید روی تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱. اندازه نانوذرات اکسید روی و عصاره قره‌قاط متصل به

نانوذرات اکسید روی	
اندازه (نانومتر)	نمونه
۱۵/۱۸	نانوذرات اکسید روی
۱۳/۹۴	عصاره قره‌قاط متصل به نانوذرات اکسید روی

گروه‌های مورد مطالعه و روش انجام آزمایش: جهت بررسی تاثیر عصاره قره‌قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی بر آسیب‌های هیستوپاتولوژیک بافت کلیه، ۳۰ سر موش صحرایی به ۶ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. یک گروه بعنوان گروه کنترل (دریافت کننده سرم فیزیولوژی) و گروه دوم بعنوان گروه دیابتی (دریافت کننده آلوکسان با دوز ۱۷۰ mg/kg)، گروه سوم بعنوان گروه دیابتی-انسولین (دریافت کننده آلوکسان با دوز ۱۷۰ mg/kg و انسولین با دوز U/kg ۱۰)، گروه چهارم بعنوان گروه دیابتی-نانوذره (دریافت کننده آلوکسان با دوز ۱۷۰ mg/kg و

نانوذره اکسید روی با دوز ۸ mg/kg)، گروه پنجم بعنوان گروه دیابتی-عصاره (دریافت کننده آلوکسان با دوز ۱۷۰ mg/kg و عصاره قره‌قاط با دوز ۱۷۰ mg/kg) و گروه ششم بعنوان گروه دیابتی-نانوذره-عصاره (دریافت کننده آلوکسان با دوز ۱۷۰ mg/kg و نانوذرات اکسید روی متصل شده به عصاره قره‌قاط با دوز ۸ mg/kg) انتخاب شدند. دیابت در موش‌های صحرایی مورد آزمایش با تزریق داخل صفاقی آلوکسان منویدرات (شرکت سیگما-آمریکا) به میزان ۱۷۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد شد [۱۳]. مدت زمان انجام آزمایش ۱۶ روز بود. در پایان روز شانزدهم و بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی ابتدا پس از بیهوش کردن، از قلب موش‌های صحرایی مورد مطالعه خونگیری شد، سپس کلیه موش‌های صحرایی جدا سازی شد و برای مطالعات هیستوپاتولوژیک در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. روش بررسی هیستوپاتولوژیک: برای بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اُوزین (H&E) استفاده شد. در این روش نمونه‌ها پس از ثابت شدن در فرمالین ۱۰ درصد مراحل پاساژ بافتی را طی کرده و در نهایت قالب گیری گردید. از قالب‌های مورد نظر به روش برش گیری تصادفی مقاطع ۵ میکرونی تهیه شده و روی لام قرار گرفت. در نهایت نمونه‌ها به روش H&E رنگ آمیزی گردید. پس از تهیه لام‌های گروه‌های مختلف، تغییرات بافتی مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین بررسی‌های مرفومتريک شامل اندازه‌گیری قطر جسمک کلیوی و قطر فضای ادراری^۲ نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری قطر جسمک کلیوی در هر لام ۵ جسمک کلیوی بررسی شد. به این منظور پس از تهیه تصاویر بافتی با استفاده از نرم افزار Image J در هر جسمک کلیوی دو قطر بزرگ و کوچک اندازه‌گیری

^۲ اختلاف قطر جسمک کلیوی و قطر گلوبول به عنوان قطر فضای ادراری گفته می‌شود.

^۱ X-Ray Powder Diffraction

شد و سپس میانگین آنها محاسبه گردید و به عنوان قطر جسمک کلیوی در نظر گرفته شد. در نهایت برای بدست آوردن تغییرات فضای ادراری قطر گلومرولها نیز به روش فوق محاسبه گردید و حاصل اختلاف قطر جسمک کلیوی و گلومرول به عنوان قطر فضای ادراری در نظر گرفته شد [۱۴].

روش تحلیل آماری داده‌ها

نتایج مربوط به بررسی تغییرات بافت شناسی در نمونه‌های بافتی به صورت کیفی توصیف گردید و تغییرات مشاهده شده گزارش گردید. همچنین نتایج حاصل از تغییرات قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنوآ و توکی، برای مقایسه بین گروهی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف استاندارد محاسبه شدند.

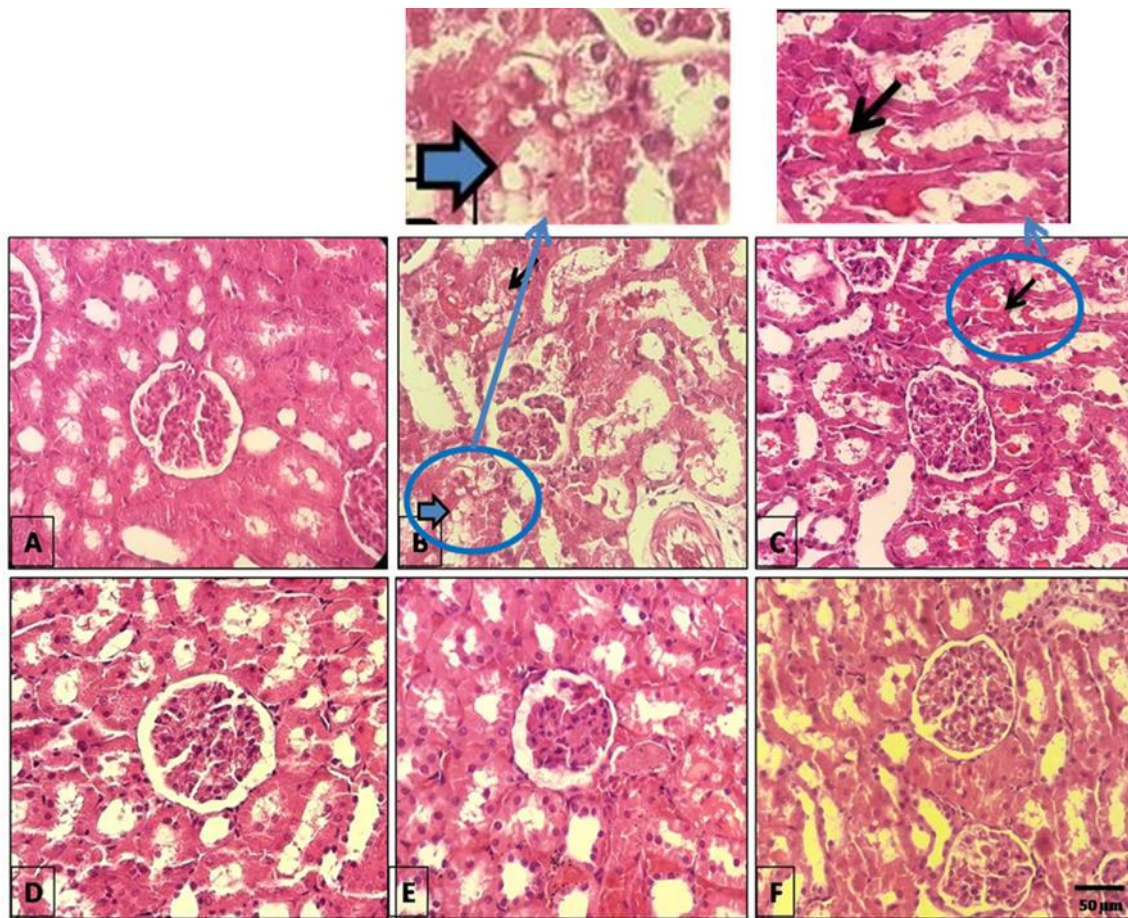
یافته‌ها

بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نشان داد که ساختمان بافتی کلیه‌ها در گروه کنترل حالت نرمال داشته و ساختار کپسول بومن، گلومرول‌های کلیوی و لوله‌های پیچیده پروگزیمال و دیستال و همچنین بافت بینابینی طبیعی می‌باشد (شکل ۱- A). در گروه دیابتی، آسیب بافتی شامل تخریب تعدادی از گلومرول‌ها، آسیب لوله‌های پیچیده پروگزیمال و دیستال و نیز واکوئله شدن سلول‌ها مشاهده شد. در این گروه نفرون‌ها شکل طبیعی خود را از دست داده و در حال تخریب شدن بودند. همچنین در گروه دیابتی، داخل برخی از لوله‌های پیچیده پروگزیمال و دیستال مایع کلوییدی که نشان دهنده وجود کست‌های کلیوی است مشاهده گردید (شکل ۱- B و شکل ۲). علاوه بر این، بررسی‌های مورفومتریک نشان داد که در گروه دیابتی قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد ($p < 0.05$) (نمودار ۱). مطالعه حاضر نشان داد در سایر گروه‌های مورد

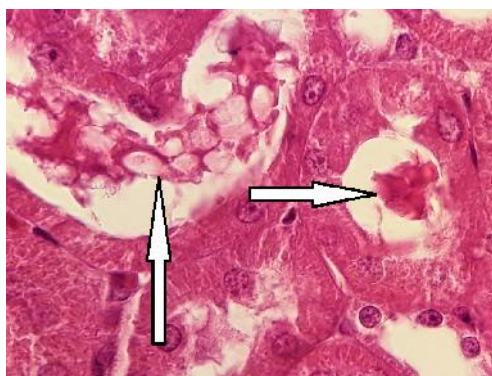
مطالعه، میزان آسیب وارده به ساختار بافتی کلیه نسبت به گروه دیابتی کمتر بود. در گروهی که همزمان با دیابت، انسولین دریافت کرده بود هرچند ساختار بافتی نفرون‌ها دچار آسیب‌هایی شده بود و در داخل برخی از لوله‌های پیچیده کست‌های کلوییدی مشاهده می‌شد اما میزان آسیب نسبت به گروه دیابتی کمتر بود (شکل ۱- C). بررسی‌های مورفومتریک هم نشان داد که در این گروه قطر جسمک کلیوی نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری دارد ($p < 0.05$) (نمودار ۱). از طرف دیگر مقایسه بین گروه‌های تحت تیمار با عصاره قره قاط، نانوذره اکسید روی و عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی نشان داد که این ترکیبات از آسیب بافتی ناشی از دیابت در بافت کلیه تا حدودی محافظت می‌کنند و بیشترین تأثیر محافظتی در برابر دیابت در گروه عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی مشاهده گردید (شکل ۱- D، ۱- E و F) بطوریکه در گروه عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی بررسی‌های مورفومتریک نشان داد قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری نسبت به گروه دیابتی به طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($p < 0.05$) (نمودار ۱) ولی در سایر گروه‌های مورد مطالعه هرچند تغییراتی در قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری مشاهده می‌شد، اما این تغییرات معنی‌دار نبود. نتایج مربوط به اندازه قطر فضای ادراری و قطر جسمک کلیوی در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. اندازه قطر جسمک کلیوی و قطر فضای ادراری بر اساس واحد میکرو متر در گروه‌های مورد مطالعه

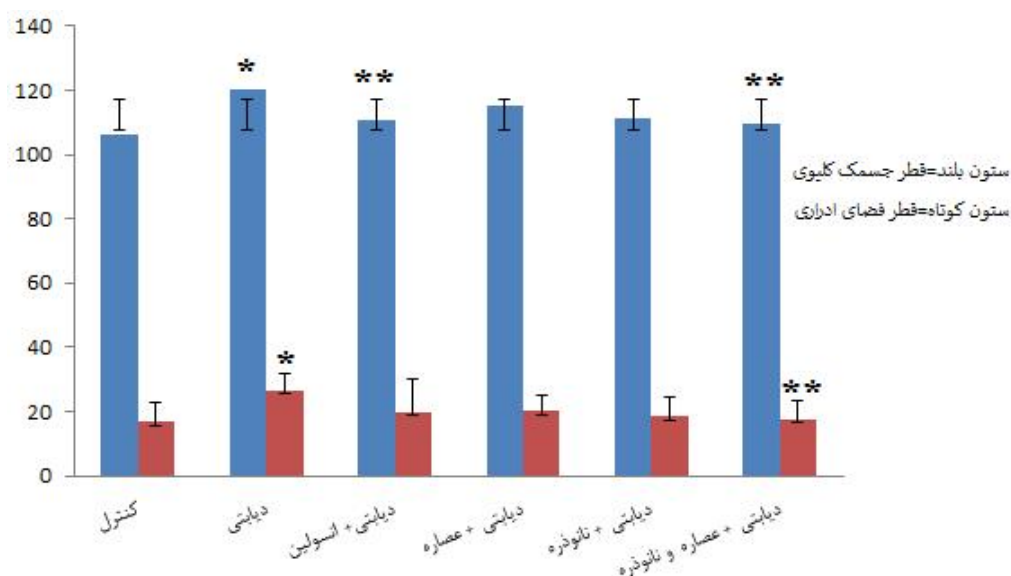
گروه‌های مورد مطالعه	قطر جسمک کلیوی (Mean \pm SD)	قطر فضای ادراری (Mean \pm SD)
کنترل	۱۰۶/±۳۴ ۵/۹۸	۱۶/±۲۲ ۵/۹۱
دیابتی	۱۲۰/±۲۷ ۶/۵۳	۲۶/±۵۷ ۴/۹۴
دیابتی-انسولین	۱۱۰/±۸۳ ۸/۳۱	۱۹/±۹۷ ۱۰/۳۲
دیابتی-نانوذره	۱۱۱/±۳۹ ۵/۰۱	۱۸/±۳۷ ۶/۱۳
دیابتی-عصاره	۱۱۴/±۹۲ ۹/۸۳	۲۰/±۰۶ ۴/۸۵
دیابتی-نانوذره-عصاره	۱۰۹/±۴۶ ۴/۷۱	۱۷/±۳۴ ۶



شکل ۱. ساختمان میکروسکوپی بافت کلیه در گروه‌های مورد مطالعه (A): گروه کنترل (ساختمان طبیعی جسمک کلیوی و لوله‌های پیچیده قابل مشاهده می‌باشد). (B): گروه دیابت (نوک پیکان واکوئل‌ها را نشان می‌دهد) (C): گروه انسولین (نوک پیکان کست کلیوی را نشان می‌دهد). (D): گروه عصاره: (E): گروه نانوذره: (F): گروه نانوذره به همراه عصاره قره قاط



شکل ۲. کست کلیوی در داخل نفرون در گروه دیابتی با بزرگنمایی بیشتر با فلش نشان داده شده است



نمودار ۱. مقایسه قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری در بین گروه‌های مورد مطالعه

* افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل ($p < 0.05$)

** کاهش معنی دار نسبت به گروه دیابتی ($p < 0.05$)

بحث

نتایج مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد که عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی می‌تواند اثرات محافظتی در برابر آسیب بافتی کلیه ناشی از دیابت داشته باشد. از آنجایی که کلیه‌ها نقش مرکزی در تنظیم محیط داخلی بدن و دفع مواد زائد حاصل از متابولیسم دارند کاهش عملکرد کلیه‌ها با افزایش میزان مرگ و میر ارتباط مستقیمی دارد. یکی از اختلالات شایعی که با کاهش پیشرونده عملکرد کلیه‌ها همراه است نارسایی مزمن کلیوی است. نارسایی مزمن کلیوی بعنوان یکی از مهمترین الویت‌های درمانی بهداشت عمومی در جهان به حساب می‌آید چرا که میزان شیوع آن در سطح جهان و اکثر کشورها از جمله ایران رو به گسترش بوده و به صورت اپیدمی در آمده است. تخمین زده می‌شود که در حال حاضر حدود ۵۰۰،۰۰۰،۰۰۰ بیمار نارسایی مزمن کلیوی در سرتاسر جهان وجود دارد [۱۵]. در حال حاضر بیش از یک میلیون بیمار مرحله آخر کلیوی در سرتاسر جهان وجود دارد و تعداد این بیماران بطور

نگران کننده‌ای در سطح جهان در حال افزایش است [۱۶]. بیماری دیابت شیرین یکی از علل اصلی نارسایی مزمن کلیوی محسوب می‌شود و پیش‌بینی می‌شود میزان شیوع نارسایی مزمن کلیوی با افزایش بیماری دیابت طی سال‌های آتی افزایش یابد که نشانگر بحران پیش روی بهداشت عمومی جهان در سال‌های آینده می‌باشد [۱۷]. با توجه به اینکه در سال‌های اخیر رویکرد استفاده از عصاره‌های گیاهی در طب بالینی گسترش یافته است یکی از گیاهانی که در زمینه کنترل قند خون و پاتوژنز دیابت در سال‌های اخیر مورد توجه فراوانی قرار گرفته است عصاره قره قاط می‌باشد [۱۸، ۱۹]. نشان داده شده است که عصاره قره قاط دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و کاهنده قند خون بوده و می‌تواند در پیشگیری از دیابت و نیز کاهش دوز داروهای کنترل کننده دیابت مورد استفاده قرار گیرد [۱۹، ۲۰]. همچنین محققین نشان داده‌اند گیاهان خانواده قره قاط با مکانیسم‌هایی از قبیل افزایش تولید انسولین، کاهش آپوپتوز و تحریک تکثیر سلول‌های بتای پانکراس و نیز افزایش

جذب گلوکز در بافت‌های محیطی اثرات ضددیابتی خود را اعمال می‌نمایند [۲۱]. از تکنیک‌هایی که اخیراً برای افزایش اثرات ترکیبات مختلف در سطح سلولی استفاده شده است اتصال این ترکیبات با نانوذرات می‌باشد [۱۱]. نانوذرات اکسید روی یکی از پرکاربردترین نانوذرات مورد استفاده در پزشکی و تهیه ترکیبات کونژوگه می‌باشد که در تحقیقات متعددی از آن استفاده شده است [۲۲]. مطالعه چندانی در مورد تاثیر عصاره قره‌قاط روی بیماری کلیوی وجود ندارد ولی مطالعات انجام شده با استفاده از ترکیبات مشابه عصاره قره‌قاط در بیماری کلیوی نشان‌دهنده تاثیر مفید این ترکیبات روی بیماری کلیوی می‌باشد [۲۳]. در مطالعه‌ای وارگاس و همکاران نشان دادند ترکیبات فلاونوئیدی تاثیر محافظتی موثری در جلوگیری از آسیب کلیوی در برابر گلوکرونفریت، نفروپاتی دیابتی و آسیب کلیوی ناشی از مواد شیمیایی و شیمی درمانی اعمال می‌کنند. همچنین تحقیقات آنها نشان داد فلاونوئیدها از آسیب کلیوی ناشی از پرفشاری خون نیز با کاهش فشار خون و نیز تاثیر مستقیم روی پارانشیم کلیوی ممانعت می‌نمایند [۲۴]. همچنین نشان داده شده است گیاهان غنی از آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنولی که در عصاره قره‌قاط هم به مقدار زیادی وجود دارند [۲۵]، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی بوده و از آسیب‌های بافتی و کلیوی ناشی از چرخه التهاب-استرس اکسیداتیو در بیماران مزمن کلیوی و همودیالیزی جلوگیری می‌کنند [۲۶، ۲۷]. در مطالعه‌ای بردلین و همکاران نشان دادند آنتوسیانین‌های موجود در گیاه سبادریفا می‌تواند در جلوگیری از پیشرفت بیماری مزمن کلیوی نقش داشته باشد. آنها نتیجه گرفتند که مصرف چای این گیاه می‌تواند برای بیماری مزمن کلیوی بسیار موثر باشد [۲۸]. در مطالعه‌ای هم تاپ و همکاران با بررسی تاثیر عصاره‌های چند گیاه از جمله نوبیلیس، کاروی، گراندیس و آرونسیس روی گلیکولیزاسیون آلبومین و تشکیل محصولات گلیکه

نتیجه گرفتند عصاره‌های گیاهان دارای ترکیبات فنولی علاوه بر اینکه دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بالقوه‌ای هستند می‌توانند از گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها هم جلوگیری کنند و در بهبود نفروپاتی دیابتی نقش موثری داشته باشند [۲۹]. ابراهیم و همکاران نیز در یک پژوهش روی تاثیر عصاره خانواده توت فرنگی روی نفروپاتی دیابتی در موش صحرایی به این نتیجه رسیدند که این گیاهان دارای اثرات ضد دیابتی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدآپوپتوز هستند. بنابراین استفاده از عصاره خانواده توت فرنگی می‌تواند از پیشرفت نفروپاتی دیابتی جلوگیری کند [۳۰]. بنظر می‌رسد عصاره قره‌قاط هم با توجه به اینکه حاوی مقدار زیادی ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌باشد [۲۵] دارای اثرات بیولوژیک یاد شده بوده و نتایج مطالعه حاضر هم نشانگر تاثیر مثبت عصاره قره‌قاط در جلوگیری از آسیب کلیوی ناشی از دیابت است که با مطالعات یاد شده همسو می‌باشد. از طرف دیگر در سال‌های اخیر استفاده از نانو مواد مورد توجه محققین قرار گرفته است و در این زمینه نانوذرات اکسید روی یکی از پرکاربردترین نانوذرات هستند که در انتقال کونژوگه‌های دارویی و رساندن آنها به سلول‌های هدف مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۲۲]. با وجود اینکه مکانیسم دقیق انتقال نانو مواد کاملاً روشن نیست ولی با این وجود می‌توان به مواردی نظیر اندازه بسیار کوچک نانو مواد (نانومتر) در مقایسه با اندازه بسیار بزرگ سلول (میکرومتر)، افزایش نسبت سطح به حجم و تاثیر بیشتر آنها و نیز تغییر ویژگی‌های مورفولوژیکی و شیمیایی آنها در مقایسه با شکل غیر نانو آنها اشاره نمود که در ورود این کونژوگه‌ها بدرون سلول‌ها نقش بسیار موثری دارد [۳۱]. بنابراین با توجه به نتایج مطالعه حاضر که نشان داد عصاره قره‌قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی بطور معنی داری باعث کاهش آسیب‌های کلیوی ناشی از دیابت می‌شود بنظر می‌رسد کونژوگه عصاره قره‌قاط و نانوذرات اکسید روی نفوذ به

محدودیت‌های پژوهش

از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به مراقبت دقیق شبانه روزی از موش‌های مورد مطالعه و محدودیت‌های کار با نانوذرات اکسید روی اشاره نمود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با هزینه مالی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انجام شده است و نویسندگان از واحد پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل کمال تشکر و قدردانی را دارند.

مراتب راحت‌تری به درون سلول دارد و این امر می‌تواند در تشدید اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی و سایر اثرات قره قاط مشابه سایر گیاهان دارای ترکیبات فنولی نقش داشته باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد عصاره قره قاط متصل شده به نانوذرات اکسید روی می‌تواند در جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از دیابت در بافت کلیه موش صحرایی تأثیر مثبتی داشته باشد.

References

- 1- Wang Q, Zhang X, Fang L, Guan Q, Guan L, Li Q. Prevalence, awareness, treatment and control of diabetes mellitus among middle-aged and elderly people in a rural Chinese population: A cross-sectional study. *PloS one*. 2018 Jun;13(6):1-11.
- 2- Ebrahimi H, Emamian MH, Hashemi H, Fotouhi A. High incidence of diabetes mellitus among a middle-aged population in iran: a longitudinal study. *Can J Diabetes*. 2016 Dec;40(6):570-5.
- 3- Shi G-J, Shi G-R, Zhou J-y, Zhang W-j, Gao C-y, Jiang Y-p, et al. Involvement of growth factors in diabetes mellitus and its complications: a general review. *Biomed Pharmacother*. 2018 May;101(2018):510-27.
- 4- Al-Qattan K, Thomson M, Ali M. Garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) attenuate structural nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab*. 2008 April;3(2): 62-71.
- 5- Pourghasem M, Shafi H, Babazadeh Z. Histological changes of kidney in diabetic nephropathy. *Caspian J Intern Med*. 2015 Summer;6(3): 120-7.
- 6- Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR. Diabetic kidney disease challenges, progress, and possibilities. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017 Dec;12(12):2032-45.
- 7- Fathi M, Badi HN, Ghanbari A, Asghari-Zakaria R. Pomological and phytochemical diversity in Iranian populations of Caucasian whortleberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.). *Sci. Hortic*. 2019 Jan;243(2019):107-15.
- 8- Latti AK, Kainulainen PS, Hayirlioglu-Ayaz S, Ayaz FA, Riihinen KR. Characterization of anthocyanins in caucasian blueberries (*vaccinium arctostaphylos* L.) native to Turkey. *J Agric Food Chem*. 2009 May;57(12):5244-9.
- 9- Adina F, Cecilia G, Felicia G, Carmen D, Ovidiu T. Identification and quantification of phenolic compounds from red currant (*ribes rubrum* l.) and raspberries (*rubus idaeus* L.). *Inter J Pharm, Phyto & Ethno*. 2017 Jan; 6: 30-37.
- 10- Ho GTT, Nguyen TKY, Kase ET, Tadesse M, Barsett H, Wangenstein H. Enhanced glucose uptake in human liver cells and inhibition of carbohydrate hydrolyzing enzymes by nordic berry extracts. *Molecules*. 2017 Oct;22(10):1-15.
- 11- Spicer CD, Jumeaux C, Gupta B, Stevens MM. Peptide and protein nanoparticle conjugates: versatile platforms for biomedical applications. *Chem Soc Rev*. 2018 May;47(10):3574-620.
- 12- Alaghemand A, Khaghani S, Bihamta MR, Gomarian M, Ghorbanpour M. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Nigella Sativa* L. Extract: The Effect on the Height and Number of Branches. *J Nanostruct*. 2018 Jan;8(1):82-8.

- 13- Misra M, Aiman U. Alloxan: An unpredictable drug for diabetes induction? *Indian J Pharmacol.* 2012 Jul;44(4): 538–539.
- 14- Banik S, Aktar F. Diameter of renal corpuscles of bangladeshi people in different age groups. *J Enam Med Col.* 2014 Feb;4(1):36-8.
- 15- Najafi I, Shakeri R, Islami F, Malekzadeh F, Salahi R, Yapan-Gharavi M, et al. Prevalence of chronic kidney disease and its associated risk factors: the first report from Iran using both microalbuminuria and urine sediment. *Arch Iran Med.* 2012 Feb;15(2):70-5.
- 16- Huda MN, Alam KS. Prevalence of chronic kidney disease and its association with risk factors in disadvantageous population. *Int J Nephrol.* 2012 Jul; 18(1):1-7.
- 17- Stenvinkel P. Chronic kidney disease: a public health priority and harbinger of premature cardiovascular disease. *J Intern Med.* 2010 Nov;268(5):456-67.
- 18- Castro-Acosta ML, Smith L, Miller RJ, McCarthy DI, Farrimond JA, Hall WL. Drinks containing anthocyanin-rich blackcurrant extract decrease postprandial blood glucose, insulin and incretin concentrations. *J Nutr Biochem.* 2016 Dec;38:154-61.
- 19- Iizuka Y, Ozeki A, Tani T, Tsuda T. Blackcurrant extract ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic mice in association with increased basal secretion of glucagon-like peptide-1 and activation of amp-activated protein kinase. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2018 Aug;64(4):258-64.
- 20- Huang W, Yan Z, Li D, Ma Y, Zhou J, Sui Z. Antioxidant and anti-inflammatory effects of blueberry anthocyanins on high glucose-induced human retinal capillary endothelial cells. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 Feb; 2018: 1-10.
- 21- Edirisinghe I, Burton-Freeman B. Anti-diabetic actions of Berry polyphenols–Review on proposed mechanisms of action. *J Berry Res.* 2016 Jun;6(2):237-50.
- 22- Mirzaei H, Darroudi M. Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications. *Ceramics International.* 2017 Jan;43(1):907-14.
- 23- Ali Asgar M. Anti-diabetic potential of phenolic compounds: A review. *Int J Food Prop.* 2013 Aug;16(1):91-103.
- 24- Vargas F, Duran R, Alejandra P, Garcia-Guillen AI, Wangenstein R, Tendero P, et al. Flavonoids in kidney health and disease. *Front Physiol.* 2018 Apr;9(394): 1-12.
- 25- Busso Casati C, Baeza R, Sánchez V. Comparison of the kinetics of monomeric anthocyanins loss and colour changes in thermally treated Blackcurrant, Maqui Berry and Blueberry pulps from Argentina. *J Berry Res.* 2017 May;7(2):85-96.
- 26- Spormann TM, Albert FW, Rath T, Dietrich H, Will F, Stockis J-P, et al. Anthocyanin/polyphenolic–rich fruit juice reduces oxidative cell damage in an intervention study with patients on hemodialysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008 Dec;17(12):3372-80.
- 27- Saldanha JF, Leal VdO, Stenvinkel P, Carraro-Eduardo JC, Mafra D. Resveratrol: why is it a promising therapy for chronic kidney disease patients? *Oxid Med Cell Longev.* 2013 Dec;2013: 1-6.
- 28- Ali BH, Cahlikova L, Opletal L, Karaca T, Manoj P, Ramkumar A, et al. Effect of aqueous extract and anthocyanins of calyces of hibiscus sabdariffa (Malvaceae) in rats with adenine-induced chronic kidney disease. *J Pharm Pharmacol.* 2017 Sep;69(9):1219-29.
- 29- Tupe RS, Sankhe NM, Shaikh SA, Kemse NG, Khaire AA, Phatak DV, et al. Nutraceutical properties of dietary plants extracts: Prevention of diabetic nephropathy through inhibition of glycation and toxicity to erythrocytes and HEK293 cells. *Pharm Biol.* 2015 Jan;53(1):40-50.
- 30- Ibrahim DS, Abd El-Maksoud MA. Effect of strawberry (fragaria× ananassa) leaf extract on diabetic nephropathy in rats. *Int J Exp Pathol.* 2015 Apr;96(2):87-93.
- 31- Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opin Drug Deliv.* 2010 Sep;7(9):1063-77.