

اثر عصاره هیدروآتانلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب (*Equisetum arvense* L.) بر جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر بالغ

• مریم عیدی*: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین - پیشوا، دانشکده علوم زیستی، پیشوا، ایران

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۱

چکیده

تشکیل سنگ‌های ادراری یک مشکل جهانی است و هیچ گروه نژادی، جغرافیایی و فرهنگی را در بر نمی‌گیرد. انواع متعددی از سنگ‌های ادراری بر اساس ترکیب شیمیایی وجود دارند. سنگ‌های آهکی معمول‌ترین سنگ‌های کلیه هستند که بیش از ۸۰٪ سنگ‌ها را تشکیل می‌دهند. سنگ‌های اگزالات کلسیم معمول‌ترند. در طب سنتی ایران، گیاهان دارویی بسیاری برای درمان سنگ‌های کلیوی استفاده می‌شوند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره هیدروآتانلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب بر کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار می‌باشد. در پژوهش تجربی حاضر در ابتدا، عصاره هیدروآتانلی گیاه در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تهیه شد. کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم توسط اضافه‌نمودن کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی به ترتیب به مدت ۳ و ۳۸ روز القاء شد. گروه شاهد توسط آب آشامیدنی تیمار شدند. گروه‌های تجربی علاوه بر آب آشامیدنی حاوی کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول توسط غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه به روش درون‌صفافی به مدت ۴۱ روز تیمار شدند. بعد از ۴۱ روز، موش‌های صحرایی توسط اتر بی‌هوش شده و کلیه سمت چپ آن‌ها خارج شده و در فیکساتیو قرار گرفت. نمونه‌ها برای مطالعات بافت‌شناسی آماده شده و با روش هماتوکسیلین-اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. نتایج نشان دادند که تیمار عصاره موجب کاهش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه حیوانات تجربی در مقایسه با گروه شاهد بیمار می‌گردد. هم‌چنین، تیمار عصاره آسیب توبولو-اینتراستیشیال را در حیوانات تیمار شده کاهش می‌دهد. بنابراین، گیاه می‌تواند مانع تشکیل سنگ کلیه در حیوانات تیمار شده گردد.

کلمات کلیدی: دم اسب، اگزالات کلسیم، کریستالیزاسیون، سنگ کلیه، موش صحرایی



مقدمه

سنگ کلیه به صورت کالکولوس کلیوی (از لغات لاتین *ren calculus* یا ریگ (*pebble*) شناخته شده که در حقیقت تجمع کریستال‌ها یا جسم سختی است که در کلیه‌ها از مواد معدنی موجود در رژیم غذایی تشکیل می‌شود. سنگ‌های ادراری به‌طور تپیک متناسب با موقعیت‌شان در کلیه، پیشابراه یا مثانه و یا نوع ترکیب شیمیایی آن‌ها (حاوی کلسیم، *stuvite*، اسید اوریک یا سایر ترکیبات) طبقه‌بندی می‌شوند. ۸۰ درصد از بیماران مبتلا به سنگ کلیه، مرد هستند. مردان اغلب اولین ای‌زود بیماری را بین ۳۰ تا ۴۰ سالگی تجربه می‌کنند، در حالی که سن شروع در مورد زنان، کمی دیرتر است (۹).

احتمال ابتلا به سنگ کلیه در دوره زندگی افراد در حدود ۱۵-۱۰ درصد در کشورهای توسعه یافته بوده، ولی تا ۲۵-۲۰ درصد در کشورهای خاور میانه افزایش می‌یابد. افزایش خطر دهیدراسیون در آب و هوای گرم همراه با رژیم غذایی که ۵۰ درصد کلسیم کمتر و ۲۵۰ درصد اگزالات بیشتر دارد، در مقایسه با رژیم غذایی کشورهای غربی، احتمال ابتلا را در خاورمیانه بالاتر می‌برد (۴) اگرچه، سنگ‌های اسید اوریکی عملاً در خاورمیانه از سنگ‌های حاوی کلسیم معمول‌تر هستند (۱۰). شیوع سالانه (تعداد موارد جدید در سال) سنگ‌های کلیوی در امریکای شمالی و اروپا ۵/۰ درصد است. فرکانس این بیماری در جمعیت ایالات متحده از ۳/۲ درصد به ۵/۲ درصد از اواسط ۱۹۷۰ تا اواسط ۱۹۹۰ افزایش یافته است (۶). هزینه کل برای درمان بیماری سنگ کلیه ۲ بیلیون دلار در آمریکا در سال ۲۰۰۳ بوده است (۸).

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری سنگ کلیه از قدیم معمول بوده است. دم اسب گیاهی با ریزوم افقی یا زاویه‌دار، دارای ساقه بندبند، به ارتفاع ۵۰ تا ۶۰ سانتی‌متر و به‌صورت دو نوع زایا و نازا است. در اغلب نواحی مرطوب می‌روید و چون ساقه زیرزمینی آن تا دو متر و داخل خاک نفوذ می‌کند، خارج کردن گیاه با ریزوم کامل از زمین تقریباً غیرممکن است. ساقه‌های بارور آن که در آغاز بهار، قبل از پیدایش ساقه‌های نازا ظاهر می‌شوند، کوتاه‌ترند، ولی دارای قطر بیش‌تری هستند. ساقه‌های بارور به رنگ مایل به قرمز و فاقد دانه‌های کلروفیل هستند (۱). ساقه‌های نازا به رنگ سبز در اردیبهشت و خرداد ظاهر می‌شوند و منشعب هستند. در هر بند ساقه نازا، برگ‌های باریک و کوچک به وضع فراهم پدید می‌آیند

که از به هم پیوستن قاعده آن‌ها نوعی غلاف در دور هر بند به وجود می‌آید (۱).

قسمت‌های مختلف گیاه دارای اسید سیلیسیلیک، اکسالیک، مالیک، آکونیتیک و ساپونین به نام اکونیسستین است. از دیگر مواد ترکیبات فنلی، آلکالوئیدی، ترکیب گوگردی به نام دی متیل سولفور می‌باشد. پتاسیم، سلنیوم و کلسیم از املاح معدنی مهم این گیاه هستند (۲).

گیاه دم اسب اثر مدر قوی، بندآورنده خون، ترمیم‌کننده بافت‌ها و تامین‌کننده عناصر معدنی بدن را دارد. این گیاه را می‌توان در درمان بیماری سل از داروهای مفید به حساب آورد. در استعمال خارجی، دارای اثر ضدعفونی‌کننده و التیام‌دهنده زخم‌هاست. دم اسب استحکام‌دهنده مفاصل، تاندون و استخوان‌ها، برطرف‌کننده مشکلات کلیه و مثانه، رفع مشکلات آب‌آوردن انساج و کاهش تورم پروستات است. سیلیس دارای خاصیت تحریک موضعی است و احتمالاً روی متابولیسم پوست و مفاصل، تاندون‌ها و استخوان‌ها عمل می‌کند. به همین دلیل در شکستگی‌ها، بیماری‌های روماتیسمی، اختلالات موضعی، عروق محیطی، سرمازدگی و تورم بعد از ترومبوز مفید است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد سیلیس کلونیدی موجود در عصاره دم اسب تاثیر قابل‌توجهی در افزایش خاصیت ارتجاعی و کششی پوست و مو دارد و موجب التهاب و خارش پوست سر می‌شود. به‌نظر می‌رسد املاح فراوان و ویتامین‌های دیگر عصاره دم اسب مواد ضروری فولیکول‌ها را تامین و موجب تقویت مو می‌گردند (۲).

مهم‌ترین اثرات شناخته شده گیاه دم اسب شامل اثرات ضد باکتری، ضد ادم، ضد التهاب، ضد اسپاسم، قابض، ضد نفخ، ادرارآور، معرق، قاعده آور، بندآورنده خون‌ریزی، محرک سیستم ایمنی بدن و بهبود دهنده زخم است (۲).

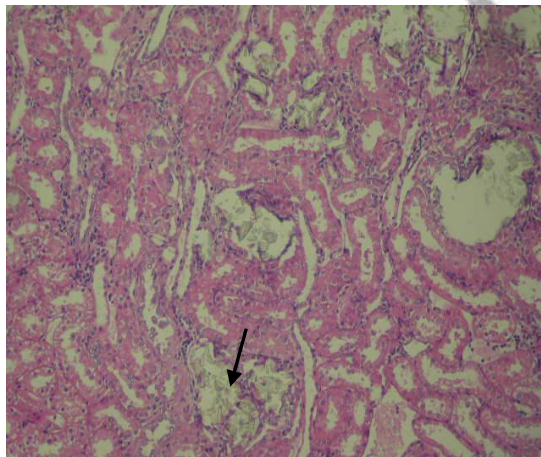
از آنجایی که اثر بخش‌های هوایی گیاه دم اسب بر ممانعت از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در کلیه هنوز به‌طور دقیق مورد بررسی قرار نگرفته است، در پژوهش حاضر اثر عصاره هیدروآتانلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب بر جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر، ابتدا بخش‌های هوایی گیاه دم اسب (*Equisetum arvense* L.) از منطقه شمال ایران



تاریکی و رطوبت نسبی هوا بین ۴۰ تا ۶۰ درصد نگه‌داری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند. برای ایجاد سنگ کلیه در موش‌های صحرایی، از کلرید آمونیوم (۱ درصد) و اتیلن گلیکول (۰/۷۵ درصد) در آب آشامیدنی استفاده شد. ابتدا، حیوانات کلرید آمونیوم ۱ درصد را به مدت ۳ روز در آب آشامیدنی دریافت کردند. سپس، اتیلن گلیکول ۰/۷۵ درصد را به مدت ۳۸ روز دریافت نمودند. به منظور اطمینان از ایجاد کریستال‌های اگزالات کلسیم، حیوانات توسط اتر، بی‌هوش و کلیه سمت چپ آن‌ها خارج شده و در فیکساتیو فرمالدئید قرار گرفت. پس از قالب‌گیری، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی نمونه‌ها به روش هماتوکسیلین - اتوزین، از وجود کریستال‌های اگزالات کلسیم توسط میکروسکوپ نوری اطمینان حاصل شد (تصویر ۱).



تصویر ۱ - تصویر میکروسکوپ توری از کریستال‌های اگزالات کلسیم در مقاطع کلیه موش‌های تیمار شده توسط کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول. ← کریستال‌های اگزالات کلسیم را نشان می‌دهد (بزرگنمایی $\times 250$ (H&E))

۳۸ روز در آب آشامیدنی، عصاره هیدروالکلی گیاه دم اسب را در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه به صورت درون‌صفاقی دریافت نمودند ($n=9$). پس از ۴۱ روز و خاتمه دوره تیمار، موش‌های صحرایی توسط اتر، بی‌هوش و کلیه سمت چپ آن‌ها خارج شد و در بافر فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید. پس از انجام مراحل آب‌گیری، قالب‌گیری در پارافین، مقاطعی به ضخامت ۳ میکرون تهیه شد. از مقاطع تهیه شده از هر کلیه، ۳ مقطع، انتخاب و به روش هماتوکسیلین - اتوزین رنگ‌آمیزی شد. تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در کل هر مقطع شمارش شدند.

جمع‌آوری شد و شناسایی تاگزونومیکی آن در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام گرفت. گیاه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک شده و توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر تبدیل گردید. پودر خشک تا زمان آزمایش در فریزر یخچال نگه‌داری گردید. پودر حاصله از گیاه با اتانل ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس عصاره الکلی گیاه با استفاده از دستگاه سوکسله (Suxhlet) تهیه و توسط دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید.

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در شرایط مناسب آزمایشگاهی با دمای کنترل شده 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت

پس از اطمینان از ایجاد کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه حیوانات، ادامه آزمایش‌ها با تیمار عصاره گیاهی انجام شد. گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از:

گروه ۱ یا شاهد سالم: رت‌هایی که هیچ‌گونه بیماری را دریافت نکردند ($n=9$).

گروه ۲ یا شاهد بیمار: رت‌هایی که کلرید آمونیوم را به مدت ۳ روز و سپس اتیلن گلیکول را به مدت ۳۸ روز دریافت کردند. هم‌چنین، روزانه ۰/۵ میلی‌لیتر سالین به‌طور درون‌صفاقی دریافت نمودند ($n=9$).

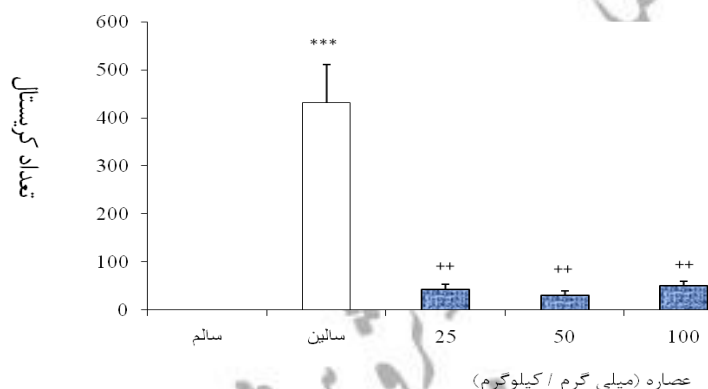
گروه‌های ۳، ۴ و ۵ یا گروه‌های تجربی: رت‌هایی که علاوه بر دریافت کلرید آمونیوم به مدت ۳ روز و اتیلن گلیکول به مدت



نتایج

نتایج تحقیق نشان داد که تیمار عصاره هیدروآتانلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی‌داری در تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در کلیه موش‌های صحرایی تیمار شده می‌گردد (نمودار ۱).

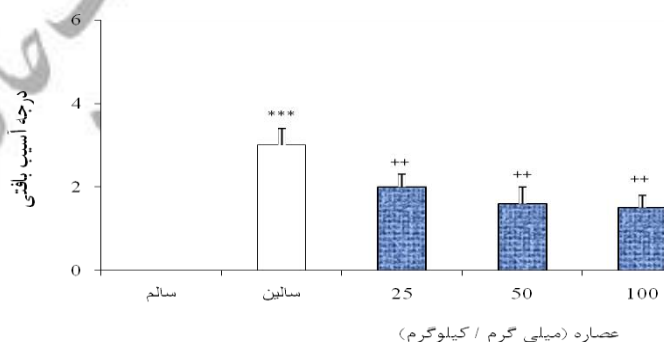
داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همه داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{S.E.M.}$ ارائه شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تعیین شد.



نمودار ۱- تاثیر عصاره هیدروآلتکلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون $\text{Mean} \pm \text{S.E.M.}$ را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه سالم (Normal) را نشان می‌دهد. $p < 0.01$ ** اختلاف از گروه سالین را نشان می‌دهد.

شده با عصاره گیاهی می‌گردد (نمودار ۲).

تیمار عصاره هیدروآلتکلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب موجب کاهش بافتی کلیه‌ها در حیوانات تیمار



نمودار ۲- تاثیر عصاره هیدروآلتکلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر آسیب بافتی کلیه‌ها در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون $\text{Mean} \pm \text{S.E.M.}$ را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه سالم (Normal) را نشان می‌دهد. $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ +++ اختلاف از گروه سالین (Saline) را نشان می‌دهد.

بحث

خون حیوانات تیمار شده افزایش می‌دهد (۵).
Ladio و Molares در سال ۲۰۱۲ اثر درمانی گونه دیگری از جنس *Equisetum bogotense* (Equisetum) را گزارش کردند (۷). اثر بخش‌های هوایی گیاه دم اسب در درمان بیماری سنگ کلیه و جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم تاکنون به‌طور دقیق روشن نشده است. لذا پژوهش حاضر گزارش مستندی است که در مورد اثر گیاه دارویی دم اسب بر جلوگیری از تشکیل سنگ کلیه اگزالات کلسیمی و کاهش آسیب‌های ناشی از تشکیل کریستال ارائه شده است و به استفاده سنتی از این گیاه جهت درمان سنگ‌های کلیوی اعتبار می‌دهد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا به‌واسطه تامین بودجه لازم برای انجام این پژوهش قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. زرگری، ع.، ۱۳۹۰، گیاهان دارویی، جلد ۵، ص ۱۳۴-۱۲۲.
۲. صالحی سورمقی، م. ح.، ۱۳۸۹، گیاهان دارویی و گیاه درمانی، جلد ۳، ص ۱۹۹-۱۹۵.
3. Grases, F.; Melero, G.; Costa-Bauzá, A.; Prieto, R. and March, J.G., 1994. Urolithiasis and phytotherapy. *Int Urol Nephrol.*, Vol. 26, pp. 507-11.
4. Lieske, J.C. and Segura, J.W., 2004. Chapter 7: Evaluation and medical management of kidney stones". In Potts, J. M., *Essential Urology: A guide to clinical practices* (1st Ed.). Totowa, New Jersey: Humana Press. pp. 117-52.
5. Masteiková, R.; Klimas, R.; Samura, B.B.; Savickas, A.; Samura, B.A.; Belaij, S.I.; Samura, I.B.; Rabisková, M.; Chalupová, Z. and Bernatoniene, J., 2007. An orientational examination of the effects of extracts from mixtures of herbal drugs on selected renal functions. *Ceska. Slov. Farm.* Vol. 56, pp. 85-9.
6. Moe, O.W., 2006. *Kidney stones: pathophysiology and medical management.* The Lancet, Vol. 367, pp. 333-44.
7. Molares, S. and Ladio, A., 2012. Mapuche perceptions and conservation of Andean

گیاهان دارویی با عوارض جانبی کم‌تر، به‌دلیل طبیعی بودن، جایگزین‌های خوبی برای داروهای شیمیایی بوده و در نواحی مختلف جهان کاربرد گسترده‌ای دارند. استفاده از گیاهان دارویی برای دفع یا حل‌نمودن سنگ‌های کلیوی از زمان‌های قدیم متداول بوده و استفاده از آن‌ها به‌دلیل سهل‌الوصول و ارزان بودن، رو به افزایش است.

تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر بخش‌های هوایی گیاه دم اسب که در طب سنتی ایران برای دفع یا حل‌کردن سنگ‌های کلیوی توصیه می‌شود، انجام گرفت. در پژوهش حاضر، اثر عصاره هیدروالکلی گیاه دم اسب بر جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با آشامیدن آب محتوی اتیلن‌گلیکول و کلرید آمونیوم مبتلا به سنگ کلیه شدند.

نتایج تحقیق نشان داد که تیمار درون صفاقی عصاره هیدروالکلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب به موش‌های صحرایی که توسط اتیلن‌گلیکول و کلرید آمونیوم دهیدراته شده بودند، موجب کاهش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در مقاطع بافت کلیه موش‌های صحرایی تیمار شده در مقایسه با گروه شاهد می‌گردد. از طرف دیگر، تیمار عصاره گیاهی موجب کاهش آسیب بافتی در بافت کلیوی حیوانات تیمار شده در مقایسه با گروه شاهد می‌شود.

مطالعات اندکی در مورد اثر گیاه دم اسب بر بیماری سنگ کلیه انجام شده است. Grases و همکاران در سال ۱۹۹۴ اثر گیاه *Equisetum arvense* را در موش‌های صحرایی بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد گیاه دم اسب بواسطه اثر آنتی‌سپتیک فعال، اپی‌تلیوم ادراری را از حمله باکتری‌ها محافظت کرده و مانع تشکیل میکرونوکلئوس در بافت پوششی مجاری ادراری می‌شود. اثر گیاه احتمالاً به‌واسطه وجود ساپونین‌ها است. ساپونین‌ها مانع اثر موکوپروتئین‌ها می‌گردند و از آن‌جایی که موکوپروتئین‌ها پروموتور فرآیندهای کریستالیزاسیون هستند، پس گیاه دم اسب به‌واسطه دارا بودن ساپونین‌ها مانع تشکیل سنگ کلیه می‌گردد (۳).

Masteiková و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که گیاه دم اسب در مقایسه با داروی hydrochlorothiazide دارای اثر دیورتیک بالایی است. هم‌چنین گیاه دم اسب میزان kallikrein-kinins و prostaglandine E2 را در پلاسما



9. **Preminger, G.M., 2007.** Chapter 148: Stones in the urinary tract. In Cutler, R. E. the Merck Manual of Medical Information Home Edition (3rd Ed.). Whitehouse Station, New Jersey: Merck Sharp and Dohme Corporation.
10. **Reilly, R.F., 2005.** Chapter 13: Nephrolithiasis, pp. 192–207 in Reilly Jr. and Perazella.
- Nothofagus forests and their medicinal plants: a case study from a rural community in Patagonia, Argentina. Biodivers. Conserv. Vol. 21, 1079–1093.
8. **Pietrow, P.K. and Karellas, M.E., 2006.** Medical management of common urinary calculi. American Family Physician, Vol. 74, pp. 86–94.

فصلنامه علمی-پژوهشی محیط زیست جانوری



Effect of *Equisetum arvense* L. aerial parts of ethanolic extract on prevention of calcium oxalate crystals in kidney of male Wistar rats

- **Maryam Eidi***: Department of Biology, Faculty of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Received: September 2012

Accepted: November 2012

Keywords: *Equisetum arvense* L., Calcium oxalate, Crystallization, Kidney stone, Rat

Abstract

Urolithiasis is a worldwide problem, sparing no geographical, cultural, or racial groups. Kidney stones are composed of inorganic and organic crystals amalgamated with proteins. Crystallisation and subsequent lithogenesis can happen with many solutes in the urine. Calcareous stones are still by far the most common nephroliths accounting for more than 80% of stones. In Iranian folk medicine, many plants are used for the treatment of kidney stones. In the present study, effect of *Equisetum arvense* L. aerial parts hydro-alcoholic extract on calcium oxalate crystallization was studied in male rats. At first, hydro-alcoholic extract of plant at doses of 25, 50 and 100 mg/kg were prepared. Crystallization of calcium oxalate was induced by adding ammonium chloride and ethylene glycol in drinking water for 3 and 38 days, respectively. Control group was treated by drinking water. Experimental groups were treated by plant extract at doses 25, 50 and 100 mg/kg for 41 days, interperitoneally. After 41 days, animals were anesthetized by ether and left kidneys removed and put them in buffered formaldehyde. Specimens were prepared for histological studies and stained by H&E staining method. Results showed that treatment of extract decreased the number of crystals in kidney sections of experimental animals in comparison with control group. Also, administration of plant extract decreased tubule-interstitial damages in treated animals. So, the plant can prevent the formation of calcium oxalate crystals in kidney.

