ORIGINAL ARTICLE

Effects of Extract of Crocus sativus Petal on Renal Function in Diabetic Rats

Masoumeh Zarezadeh[1],
Khadijeh Vazifeshenas- Darmiyan[1],
Mohammad Afshar[2,3],
Maryam Valavi[1],
Elham Serki[1],
Mehran Hosseini[4]

[1] Msc in Biochemistry, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[3] Medical Toxicology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[4] BSc in Public Health,Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjnad, Iran

(Received July 31, 2016; Accepted October 15, 2016)

Abstract

Background and purpose: Multiple lines of evidence demonstrated that *Crocus sativus* petals (saffron) have beneficial effects on some diseases such as diabetes. This study was carried out to elucidate the effects of ethanolic extract of SP on renal function in diabetic rats.

Materials and methods: In this experimental study, streptozotocin (STZ)-induced diabetic male Wistar rats (180-200 g) were orally treated with normal saline or 100 or 200 mg/kg of SP extract once a day for 28 days. Finally, fasting blood sugar (FBS), urine volume, 24 h urine total protein (UTP), blood nitrogen urea (BUN), and plasma creatinine (Cr) were assessed biochemically, and qualitative renal histomorphological alterations were evaluated pathologically. Data was analyzed using ANOVA and Kruskal-Wallis tests in SPSS, version 22.

Results: The FBS, urine volume, UTP, BUN, and Cr levels significantly increased in diabetic rats compared to those of the normal control group ($P<0.05$). SP treatment significantly lowered the FBS level at 200 mg/kg ($P=0.011$) and decreased urine volume and BUN at both doses (100 and 200 mg/kg) in diabetic rats. However, neither of the doses could modify UTP and Cr. There were several histological alterations such as thickening of the basement membrane of the Bowman's capsule, sclerosis, mesangial matrix expansion, and hyaline deposit in glomeruli of the diabetic rats. These alterations were found to be ameliorated when SP extract was administrated.

Conclusion: SP may have beneficial effects against diabetic nephropathy through reducing extracellular matrix accumulation and its antioxidant properties.

Keywords: diabetes, kidney, nephropathy, rat, saffron petal

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(147): 11-24 Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران

دوره بیست و هفتم شماره ۱۴۷ فروردین سال ۱۳۹۶ (۲۴-۱۱)

اثر عصاره الکلی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus*) بر عملکرد کلیوی رت‌های دیابتی

معصومه زارع‌زاده [1]

خدیجه وظیفه‌شناس درمیان [1]

محمد افشار [2,3]

مریم ولوی [1]

الهام سرکی [1]

مهران حسینی [4]

چکیده

سابقه و هدف: براساس یافته‌های علمی، گلبرگ زعفران می‌تواند تأثیرات سودمندی بر روی برخی بیماری‌ها نظیر دیابت داشته باشد. این پژوهش به‌منظور ارزیابی تأثیرات عصاره الکلی گلبرگ زعفران بر روی عملکرد کلیوی موش‌های صحرایی دیابتی، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت (توسط استرپتوزوسین) به مدت ۲۸ روز با عصاره گلبرگ زعفران در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg و یا نرمال سالین، به‌صورت خوراکی تیمار شدند. درپایان، پارامترهای قند خون ناشتا (FBS)، حجم ادرار ۲۴ ساعته، پروتئین ادرار (UTP)، نیتروژن اوره خون (BUN)، کراتینین خون (Cr) و تغییرات کیفی بافت‌شناسی گلومرول‌های کلیه ارزیابی شدند. مقایسه بین‌گروهی داده‌ها با کمک آزمون‌های آماری ANOVA و Kruskal-Wallis و نرم‌افزار آماری SPSS 22 انجام شد.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه کنترل سالم، پارامترهای FBS، حجم ادرار، BUN، UTP و Cr در موش‌های دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($P<0.05$). تیمار موش‌های دیابتی با دوز ۲۰۰ mg/kg از عصاره گلبرگ زعفران، سبب کاهش FBS ($P=0.011$) و در هردو دوز سبب کاهش حجم ادرار و BUN گردد ($P<0.05$)؛ اما در هیچ دوزی نتوانست سبب تعدیل UTP و Cr شود. عوارض بافت‌شناسی متعددی نظیر ضخیم‌شدگی غشای پایه کپسول بومن، اسکلروز، انتشار ماتریکس مزانشیال و هیالینیزاسیون در گلومرول‌های گروه کنترل دیابتی مشاهده شد که تیمار موش‌ها با عصاره گلبرگ زعفران توانست در هردو دوز، برخی از این عوارض را تعدیل کند.

استنتاج: گلبرگ زعفران احتمالاً می‌تواند به‌وسیله کاهش تجمع ماتریکس خارج سلولی و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی، تأثیرات سودمندی بر نفروپاتی دیابتی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، کلیه، گلبرگ زعفران، موش صحرایی، نفروپاتی

مولف مسئول: مهران حسینی– بیرجند، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، معاونت تحقیقات و فناوری مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی E-mail: mehranhosseiny@yahoo.co.in

۱. کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۲. استاد، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۳. مرکز تحقیقات سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۴. کارشناس بهداشت عمومی، مرکز تحقیقات سلولی ومولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

☜ تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۵/۱۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۷/۲۴

مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غیرواگیر و مزمن در سطح جهان است. با توجه به رشد و توسعه کشورها و پدیده شهرنشینی در کنار تغییر سبک زندگی مردم و نیز کاهش فعالیت فیزیکی، ابتلا به این بیماری روزبه‌روز در حال افزایش می‌باشد. انجمن جهانی دیابت در سال ۲۰۱۱، شمار مبتلایان به این بیماری را ۳۶۶ میلیون نفر برآورد کرده است که پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۳۰، این تعداد به ۵۵۲ میلیون نفر برسد. این انجمن، آمار مبتلایان به دیابت در کشور ایران را در سال ۲۰۱۱، ۴,۵۹۶,۰۰۰ برآورد کرده است که پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۳۰ شمار آن‌ها به حدود دو برابر؛ یعنی ۸,۴۸۳,۰۰۰ برسد (۱). از آنجا که دیابت متابولیسم بدن را دچار تغییر می‌کند، تأثیرات و عوارض متعددی به‌ویژه در بافت‌هایی که سلول‌های تشکیل‌دهنده آن بدون احتیاج به انسولین توانایی برداشت گلوکز را دارند، ایجاد می‌کند (۵-۲).

نفروپاتی یکی از عوارض بسیار جدی بیماری دیابت است و سبب اختلال عملکرد کلیه‌ها در این بیماران می‌شود (۶). نفروپاتی دیابتی با افزایش حجم کلیه‌ها، افزایش سطح آلبومین ادرار، کاهش عملکرد کلیه و سخت‌شدگی گلومرول‌ها (گلومرو اسکلروزیس) و فیبروز گسترده توبول‌های کلیوی مشخص می‌شود (۷). علائم اولیه کلینیکی به‌صورت پرادراری، دفع آلبومین و پروتئین می‌باشد و سرانجام نفروپاتی تا حدی پیشرفت می‌کند که عملکرد کلیه به‌کلی از بین می‌رود (۸).

درمان فعلی نفروپاتی دیابتی، استفاده از بلاکرهای رنین- آنژیوتانسین است که نتایج مطالعات متعدد نشان داده‌اند برای کنترل این عارضه دیابت، عملکرد کافی و رضایت‌بخش ندارند (۹،۱۰). امروزه اقبال عمومی مردم به استفاده از گیاهان دارویی برای درمان اختلالات متابولیسمی نظیر دیابت و دیس لیپیدمی افزایش یافته و گسترش تحقیقات این حوزه مؤید صحت این مدعا است (۱۱-۱۴). یافته‌های علمی اخیر نشان می‌دهند گلبرگ زعفران (*Crocus sativus*) که عموماً به‌عنوان بخش دورریز این گیاه مطرح است، خواص آنتی‌اکسیدانی دارد و می‌تواند به‌عنوان منبع طبیعی آنتی‌اکسیدان مدنظر قرار گیرد (۱۵). دو ماده آنتی‌اکسیدان کامپفرول (Kaempferol) و کروسین (Crocin) در گلبرگ زعفران شناسایی شده‌اند. بررسی‌های گیاه‌شیمی نشان داده‌اند که کروسین و کامپفرول، به‌ترتیب ۱۲/۲ و ۰/۶ درصد (نسبت وزنی: وزنی) گلبرگ زعفران را تشکیل می‌دهند (۱۶). شواهد علمی وجود دارد که مصرف خوراکی کامپفرول در موش‌های کوچک آزمایشگاهی مبتلا به دیابت، سبب تعدیل عوارض نوروپاتی دیابتی شده است (۱۷). همچنین، مطالعه‌ای که اخیراً بر روی موش‌های دیابتی انجام شده، نشان داده است که کروسین (به‌عنوان ماده اصلی گلبرگ زعفران) می‌تواند عوارض کلیوی دیابت را در موش‌ها تعدیل کند (۱۸).

با جستجو در بانک‌های اطلاعاتی، تأثیراتی نظیر حفاظت کبدی در مقابل آسیب ناشی از استامینوفن (۱۹) و تتراکلرید کربن (۲۰)، ضددردی (۲۱)، ضدافسردگی (۲۲) و همچنین کاهنده قند خون (۲۳) برای گلبرگ زعفران مشاهده شده است. باوجوداین، تاکنون مطالعه‌ای که به ارزیابی تأثیرات کلیوی آن در بیماران یا مدل حیوانی دیابت پرداخته باشد، انجام نشده است. ازاین‌رو، با توجه به حضور متابولیت‌های ثانویه گیاهی در گلبرگ زعفران و خواص اثبات‌شده دیگری که پیش‌تر به آن‌ها اشاره شد، احتمال دارد گلبرگ زعفران تأثیرات سودمندی بر عملکرد کلیوی بیماران دیابتی داشته باشد؛ بنابراین، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیرات عصاره الکلی گلبرگ زعفران بر شاخص‌های بافت‌شناسی و بیوشیمیایی عملکرد کلیوی در موش‌های مبتلا به نفروپاتی دیابتی ایجادشده توسط استرپتوزوسین، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در مرکز تحقیقات طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شده است. همه ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، مطابق با کدهای راهنمای کار با حیوانات ابلاغی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی مدنظر قرار گرفت. روش کار در این طرح، مطابق شرح پیش رو به تصویب کمیته اخلاق، معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند رسید (کد اخلاق: IR.BUMS.۱۳۹۴.۳۷۲).

گلبرگ تازه زعفران پس از جمع‌آوری از مزارع روستای حاجی‌آباد توابع شهرستان کاشمر (خراسان رضوی) و تأیید هویت و اخذ کد هرباریوم (۲۶۶۹ N.H.) از گروه گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، در دمای اتاق و در شرایط سایه خشک شد. برای استخراج عصاره، g ۱۰۰ پودر گلبرگ زعفران در L ۱ (نسبت ۱ به ۱۰ وزنی/حجمی) الکل اتیلیک ۸۰ درصد، بر روی دستگاه همزن مغناطیسی در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد (دمای اتاق) و به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. سپس، محلول به‌دست آمده در ابتدا با فیلترهایی با درصد تخلخل نزولی و درنهایت با کاغذ صافی (ساخت شرکت Whatman، کشور انگلستان) فیلتر شد. محلول به‌دست‌آمده به‌وسیله دستگاه روتاری اواپوراتور تغلیظ و درنهایت، به‌وسیله دستگاه فریزر درایر، پودر لیوفلیزه به‌دست آمد.

در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی (g ۲۰۰-۱۸۰) استفاده شد. القای دیابت به‌وسیله تزریق درون‌صفاقی یک دوز محلول استرپتوزوسین (mg ۶۰ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به رت‌های ناشتا انجام پذیرفت. پس از دو هفته، رت‌های دارای قند خون بالاتر از mg/dL ۳۵۰، دیابتی درنظر گرفته شدند (۲۴). به‌منظور پیشرفت دیابت و ظاهرشدن عوارض آن و همچنین کم‌شدن مرگ‌ومیر حیوانات در طول مطالعه، رت‌ها به مدت چهار هفته بدون مداخله در شرایط کنترل‌شده (دمای ۲۵-۲۱ درجه سانتی‌گراد و چرخه نور/ روشنایی ۱۲ ساعته) درون قفس‌هایی از جنس پلی‌اتیلن در محل آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند نگهداری شدند. در طول طرح، حیوانات به غذای استاندارد حیوانات (تولید شرکت خوراک دام جوانه خراسان) و آب شهری سالم دسترسی آزاد داشتند. پس از گذشت زمان مذکور، مجدد قند خون همه رت‌ها به‌وسیله دستگاه قند خون جیبی (Accu Chek، ساخت کشور آلمان) ارزیابی شد و رت‌های با قند خون بالاتر از mg/dL ۳۵۰ انتخاب شدند.

در این پژوهش، ۳۲ رت دیابتیک که کمترین اختلاف را در مقادیر قند خون با یکدیگر داشتند، انتخاب و به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. هشت سر موش سالم (هم‌سن با گروه‌های دیابتی) نیز به‌عنوان گروه کنترل سالم (CON) تخصیص یافتند. گروه‌های I و II دیابتیک به‌ترتیب با دوزهای ۱۰۰ و mg ۲۰۰ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره الکلی گلبرگ زعفران (به‌ترتیب SP100 و SP200) به‌صورت روزانه و به مدت ۲۸روز متوالی با حجم یکسان (ml ۱) گاواژ شدند. گروه III دیابتیک به‌عنوان گروه کنترل مثبت روزانه (mg ۵۰ به ازای هر کیلو وزن بدن) داروی کاپتوپریل دریافت کرد (CAP50). گروه IV دیابتیک به‌عنوان گروه مدل دیابتی درنظر گرفته شد (DM) که با گروه CON در طول طرح روزانه، هم‌حجم دیگر گروه‌ها (ml ۱) نرمال سالین دریافت کردند. در این پژوهش، استرپتوزوسین از شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) و داروی کاپتوپریل از شرکت اکسیر (ایران) تهیه و استفاده گردید. تهیه همه محلول‌ها، با کمک حلال سدیم کلراید ۰/۹ درصد صورت گرفت.

در روز بیست و نهم مداخله، تمام موش‌ها در قفس‌های متابولیک قرار داده شدند تا نمونه ادرار ۲۴ ساعته آن‌ها برای اندازه‌گیری پروتئین تام جمع آوری شود. در روز سی‌ام، ضمن رعایت شرایط ناشتای ۱۴ ساعته، رت‌ها پس از بیهوشی عمیق با اتر خون‌گیری قلبی شدند و پلاسمای خون آن‌ها برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی (قند خون ناشتا (Fast blood sugar: FBS)، اوره نیتروژن خون (Blood Urea Nitrogen: BUN)، کراتینین خون (Cr) جداسازی گردید و از نمونه‌های ادرار جهت ارزیابی پروتئین ادرار (Urine Total Protein: UTP) و حجم ادرار) استفاده گردید. درادامه، بلافاصله کلیه راست موش‌ها برداشته و پس از توزین، برای انجام فرآیند پاساژ بافتی، در محلول فیکساتیو بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی با استفاده از کیت‌های استاندارد (ساخت شرکت پارس آزمون، کشور ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (Prestige 24i، کشور ژاپن) صورت گرفت. پس از پاساژ بافتی و تهیه بلوک‌های پارافینی، مقاطع بافتی با ضخامت حداکثر ۵ μm به‌وسیله میکروتوم برش داده شدند و با تکنیک پریودیک اسید شیف (Periodic acid–Schiff: PAS) رنگ‌آمیزی گردیدند. برای ارزیابی تغییرات بافتی، از هر موش سه لام و از هر لام ۱۰ فیلد میکروسکوپی به‌وسیله میکروسکوپ نوری (Olympus، کشور ژاپن) مشاهده شد. تغییرات کیفی شامل: هیالینیزاسیون، ضخیم‌شدگی کپسول بومن، اسکلروزیس، انتشار ماتریکس مزانشیال و هایپرسلولاریتی به‌صورت وجود دارد/ندارد، در چک‌لیست ارزیابی هر گلومرول مدنظر قرار گرفت (۲۵).

آمار توصیفی برای گروه‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. بررسی توزیع متغیرها با آزمون Shapiro-Wilk نشان داد که به‌جز متغیر وزن، همه متغیرها توزیع غیرنرمال داشتند. ازاین‌رو، میانگین متغیر وزن با آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد مقایسه بین‌گروهی قرار گرفت. از آنجا که فرض برابری واریانس‌ها برای آن برقرار نبود (آزمون Levene)، برای مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها از آزمون تعقیبی Dunnet T3 استفاده شد. برای دیگر متغیرهای قند خون، اوره نیتروژن خون، کراتینین خون، پروتئین و حجم ادرار و همچنین نسبت وزن کلیه به وزن بدن، از آزمون آماری ناپارامتریک Kruskal-Wallis و در صورت وجود تفاوت معنی‌دار، از مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها (Pairwise Comparison) در خروجی ناپارامتریک این آزمون استفاده شد. سپس، داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SPSS 22 با ضریب اطمینان ۹۵ درصد آنالیز شدند.

یافته‌ها

میانگین پارامترهای قند خون، وزن بدن، شاخص نسبت وزن کلیه به وزن بدن و حجم ادرار در جدول شماره ۱ آورده شده است. مقایسه میانگین قند خون با آزمون Kruskal-Wallis نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد (P≤۰/۰۰۰۱). میانگین قند خون

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین ± 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

گروه‌ها متغیر	کنترل سالم	کنترل دیابتیک	کاپتوپریل (۵۰ mg/kg)	عصاره (۱۰۰ mg/kg)	عصاره (۲۰۰ mg/kg)
قند خون (mg/dL)	۱۰۷/۷۱ ± ۱۶/۱۹ *	۴۸۳/۵ ± ۱۱۸/۳۳	۴۳۸/۳۴ ± ۱۳۶/۵۲	۲۶۹/۲۵ ± ۲۴/۳۶	۱۸۵/۷۵ ± ۱۷/۱۲ *
وزن (g)	۲۳۷/۴۳ ± ۱۵/۱۰ *	۱۴۴/۱۷ ± ۲۸/۷۶	۱۶۵/۳۴ ± ۳۸/۸۴	۱۷۱/۵۰ ± ۲۰/۵۴	۱۷۸/۰۰ ± ۹/۹۵
شاخص وزن کلیه:وزن بدن	۰/۰۰۳۲ ± ۰/ ۰۰۰۲*	۰/۰۰۵۰۳۹ ± ۰/۰۰۰۶۹	۰/۰۰۵۰۳۴ ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۵۷۳۷ ± ۰/۰۰۱۶ *	۰/۰۰۵۲۷۶ ± ۰/۰۰۰۵۵ *
حجم ادرار (ml/24h)	۶/۴۲ ± ۱/۳۳ *	۲۴/۶۶ ± ۵/۱۰	۲۲/۵۰ ± ۲/۲۳	۸/۸۷ ± ۰/۶۰ *	۸/۶۰ ± ۱/۵۲ *

*: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک

گروه‌های DM، CAP50 و SP100 به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از میانگین قند خون گروه CON بود؛ اما میانگین قند خون گروه SP200 تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل سالم نداشت (P=۰/۱۷). مقایسه میانگین قند خون گروه‌های مورد مداخله با گروه مدل دیابتی، نشان داد که گروه‌های SP100 (P=۰/۱۳) و CAP50 (P=۰/۵۵) اختلاف معنی‌داری با گروه DM نداشتند؛ اما میانگین قند خون گروه SP200 به‌طور معنی‌داری (P=۰/۰۱۱) کمتر از گروه DM بود. گروه CAP50 در مقایسه با گروه SP200 میانگین قند خون بیشتری داشت (P=۰/۰۴۸)؛ اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های CAP50 و SP100 مشاهده نشد (P=۰/۳۹). مقایسه میانگین قند خون گروه‌های SP100 با SP200 تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P=۰/۲۶).

مقایسه میانگین وزن بدن در بین گروه‌ها با آزمون ANOVA نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌ها وجود دارد (P≤۰/۰۰۰۱). مقایسه بین‌گروهی با آزمون DUNETT T3 نشان داد که در مقایسه با میانگین وزن گروه CON، همه گروه‌های DM، CAP50، SP100 و SP200 به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) وزن کمتری داشتند. مقایسه گروه DM با گروه‌های CAP50 (P=۰/۹۹)، SP100 (P=۰/۹۹) و SP200 (P=۰/۹۸) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. همچنین، مقایسه میانگین وزن گروه CAP50 با گروه‌های SP100 (P=۱/۰۰) و SP200 (P=۰/۹۸) تفاوت معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین وزن در گروه‌های SP100 و SP200 نیز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P=۱/۰۰).

مقایسه شاخص وزن کلیه به وزن بدن با آزمون Kruskal- Wallis نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت (P≤۰/۰۰۰۱). مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد که در مقایسه با گروه CON میانگین این شاخص در گروه‌های DM، CAP50، SP100 و SP200 به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر بود. مقایسه گروه‌های مورد مداخله با گروه DM نشان داد که گروه‌های SP100 (P=۰/۰۰۷) و SP200 (P=۰/۰۳۳) شاخص وزن کلیه به وزن بدن بزرگ‌تری در مقایسه با گروه DM داشتند؛ درحالی‌که میانگین این شاخص در گروه CAP50 با گروه DM تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P=۰/۷۸). همچنین، هردو گروه SP100 و SP200 میانگین شاخص وزن کلیه به وزن بدن بیشتری در مقایسه با گروه CAP50 داشتند (به‌ترتیب P=۰/۰۰۳ و P=۰/۰۱۵)؛ درحالی‌که مقایسه گروه‌های SP100 وSP200 اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P= ۰/۵۳).

مقایسه حجم ادرار در گروه‌ها نیز مؤید وجود تفاوت معنی‌دار بین آن‌ها بود (P≤۰/۰۰۰۱). میانگین حجم ادرار ۲۴ ساعته گروه CON به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کمتر از گروه‌های DM و CAP50 بود؛ درحالی‌که میانگین حجم ادرار گروه‌های SP100 (P=۰/۰۵۵) و SP200 (P=۰/۱۴) تفاوت معنی‌داری با گروه CON نداشتند. مقایسه میانگین حجم ادرار گروه DM با گروه CAP50 تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P=۰/۵۴)؛ اما میانگین حجم ادرار ۲۴ ساعته در گروه‌های SP100 (P=۰/۰۱۱) و SP200 (P=۰/۰۰۳) به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه DM بود. مقایسه حجم ادرار گروه CAP50 با گروه‌های مورد مداخله، نشان داد که این گروه به‌طور معنی‌داری حجم ادرار بیشتری در مقایسه با گروه‌های SP100 و SP200 داشته است (هردو P=۰/۰۰۱). مقایسه میانگین حجم ادرار دو گروه SP100 و SP200 تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان نداد (P=۰/۶۲).

میانگین و انحراف معیار پارامترهای بیوشیمیایی، نیتروژن اوره خون و کراتینین خون و همچنین پروتئین ادرار ۲۴ ساعته، در جدول شماره ۲ ارائه شده است. مقایسه بین گروهی هریک از این پارامترها با آزمون

جدول شماره۲: مقایسه میانگین ± انحراف معیار پارامترهای نیتروژن اوره خون، کراتینین خون و پروتئین ادرار در پایان مطالعه بین گروه‌ها

گروه‌ها متغیر	کنترل سالم	کنترل دیابتیک	کاپتوپریل (۵۰ mg/kg)	عصاره (۱۰۰ mg/kg)	عصاره (۲۰۰ mg/kg)
نیتروژن اوره خون (mg/dl)	* ۱۰/۷۷ ± ۱/۳۷	۲۷/۱۷ ± ۲/۸۶	* ۱۲/۵ ± ۲/۸۱	* ۱۴/۰۰ ± ۱/۷۵	* ۱۳/۶۳ ± ۱/۹۱
کراتینین (mg/dl)	* ۰/۸۱ ± ۰/۲۴	۱/۳ ± ۰/۱۵	* ۰/۹۷ ± ۰/۱۴	۱/۳۶ ± ۰/۱۵	۱/۱۲ ± ۰/۱۳
پروتئین ادرار (mg/dl)	* ۱۱/۶۷ ± ۲/۲۰	۲۵/۶۷ ± ۱/۵۱	* ۱۳/۶۶ ± ۳/۴۸	۳۰/۱۳ ± ۷/۵۶	۱۸/۷۵ ± ۶/۴۰

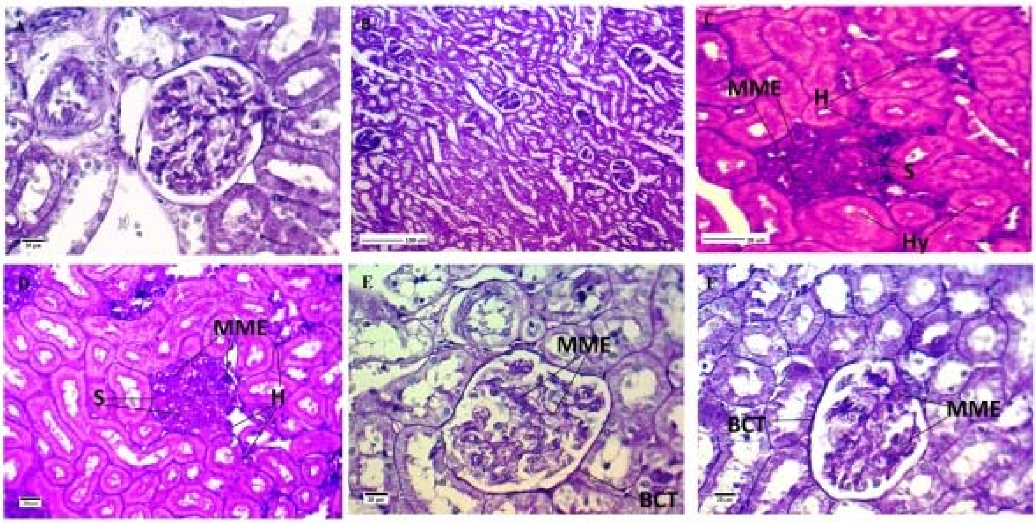
***:** P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک

Kruskal-Wallis، وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها را نشان داد (هرسه P<۰/۰۰۰۱). میانگین نیتروژن اوره خون در گروه CON به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه DM (P=۰/۰۰۴) بود؛ اما تفاوت معنی‌داری با گروه‌های CAP50، SP100 و SP200 نداشت. مقایسه نیتروژن اوره خون گروه DM با گروه‌های مورد مداخله، نشان داد که گروه‌های CAP50 (P=۰/۰۰۲)، SP100 (P=۰/۰۱۵) و SP200 (P=۰/۰۰۷) به‌طور معنی‌داری نیتروژن اوره خون کمتری در مقایسه با این گروه داشتند. مقایسه نیتروژن اوره خون گروه CAP50 با گروه‌های SP100 (P=۰/۲۳) و SP200 (P=۰/۳۶) تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. مقایسه نیتروژن اوره خون گروه‌های SP100 با گروه SP200 نیز اختلاف معنی‌داری نداشت (P=۰/۷۵).

میانگین کراتینین خون گروه CON به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کمتر از گروه‌های DM، SP100 و SP200 بود؛ درحالی‌که تفاوت معنی‌داری با گروه CAP50 (P=۰/۵۳) نداشت. میانگین کراتینین خون در گروه DM به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های CAP50 (P=۰/۰۰۸) بود؛ درحالی‌که تفاوت معنی‌داری با گروه‌های SP100 (P=۰/۶۷) و SP200 (P=۰/۱۴) مشاهده نشد.

مقایسه میانگین پروتئین ادرار ۲۴ ساعته نشان داد که میانگین آن در گروه CON به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کمتر از گروه‌های DM، SP100 و SP200 بود؛ درحالی‌که با گروه CAP50 اختلاف معنی‌داری نداشت (P=۰/۴۸). مقایسه میانگین پروتئین ادرار ۲۴ ساعته گروه DM با گروه‌های مداخله SP100 (P=۰/۷۹) و SP200 (P=۰/۰۶۳) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد؛ اما به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه CAP50 (P=۰/۰۰۲) بود. میانگین پروتئین ادرار در گروه CAP50 به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه SP100 (P=۰/۰۰۷) بود؛ اما تفاوت معنی‌داری با گروه SP200 (P=۰/۱۲) نداشت. گروه SP200 به‌طور معنی‌داری سطح پروتئین ادرار کمتری در مقایسه با گروه SP100 داشت (P=۰/۰۲۲).

بررسی‌های کیفی بافت‌شناسی گلومرول‌های کلیوی در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که در گروه مدل دیابتی، ضایعاتی از جمله اسکلروزیس، انتشار ماتریکس مزانشیال، هیالینیزاسیون و هایپرسلولاریتی به‌عنوان ضایعات غالب در اکثر لام‌های بافت‌شناسی این گروه کاملاً مشهود بود؛ درحالی‌که هیچ‌یک از عوارض یادشده در گروه کنترل سالم مشاهده نشد. گروه دریافت‌کننده کاپتوپریل اندکی عوارض تعدیل‌یافته‌تری را نسبت به گروه مدل دیابتی نشان داد؛ اما همچنان انتشار ماتریکس مزانشیال و هایپرسلولاریتی در حدود ۷۰ درصد گلومرول‌های این گروه مشاهده شد. گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گلبرگ زعفران در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg، انتشار ماتریکس مزانشیال بسیار کمتری نسبت به گروه مدل دیابتی داشتند و هایپرسلولاریتی و اسکلروز نیز در گلومرول‌های این گروه‌ها مشاهده نشد. تنها انتشار خفیف ماتریکس مزانشیال و اندکی ضخیم‌شدگی کپسول بومن، از جمله ضایعات قابل‌اشاره در این گروه‌ها بود. تصویر شماره ۱ نمونه میکروگراف گلومرول‌های کلیوی مربوط به گروه‌های



تصویر شماره ۱: تصاویر میکروسکوپی از گلومرول‌های کلیوی گروه‌های مورد مطالعه با رنگ‌آمیزی اختصاصی PAS
اسکلروزیس (S)، انتشار ماتریکس مزانشیال (MME)، هیالینیزاسیون (Hy)، هایپرسلولاریتی (H)، ضخیم‌شدگی غشای پایه کپسول بومن (BCT)، A) گلومرول طبیعی، بزرگنمایی 400X، B) تصویری از قشر کلیه گروه کنترل سالم (CON) 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 (DM) با اسکلروز و هایپرسلولاریتی شدید و همچنین چسبندگی سرتاسری کلافه گلومرولی به جدار کپسول بومن. هیالینیزاسیون و فیبروز بین توبولی نیز مشاهده می‌شود. بزرگنمایی 400X، D) تصویری از قشر کلیه متعلق به گروه دریافت‌کننده کاپتوپریل (CAP50)، به پاسخ رنگی بافت به رنگ‌آمیزی PAS توجه شود. نواحی PAS مثبت مانند گروه کنترل دیابتی به‌شدت افزایش یافته است. گلومرولواسکلروزیس، هایپرسلولاریتی و انتشار ماتریکس مزانشیال قابل‌مشاهده است، E) گلومرول متعلق به گروه دریافت‌کننده عصاره mg/kg ۱۰۰ گلبرگ زعفران (SP100)، بزرگنمایی 400X، انتشار خفیف ماتریکس مزانشیال و ضخیم‌شدگی کپسول بومن مشاهده می‌شود، F) گلومرول گروه دریافت‌کننده عصاره mg/kg ۲۰۰ گلبرگ زعفران (SP200)، بزرگنمایی 400X، ضایعات اشاره‌شده برای گروه قبلی همچنان بدون تغییر قابل‌مشاهده است.

مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

بحث

در پاتوژنز عوارض دیابت از جمله نفروپاتی، مسیرهای متعددی معرفی شده‌اند که مهم‌ترین آن‌ها عبارت‌اند از: ۱. افزایش‌یافتن فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین (افزایش فشارخون و کاهش دفع آب و نمک)، ۲. افزایش تولید محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته (به‌طور خلاصه پروتئین‌ها و چربی‌ها در حضور گلوکز زیاد گلیکه شده و تبدیل به محصولاتی می‌شوند که عامل مهمی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها نظیر دیابت، آترواسکلروز، پیری و آلزایمر هستند)، ۳. از آنجا که سلول‌های کلیوی برای دریافت قند به گیرنده انسولین احتیاج ندارند، در شرایط دیابت گلوکز زیادی وارد آن‌ها می‌شود که به‌طور اجباری مسیر سوربیتول آلدوز ردوکتاز فعال می‌گردد و سوربیتول درون سلول تجمع پیدا می‌کند و سبب ادم سلولی می‌شود؛ به‌عبارت‌دیگر، گلوکز اضافی بدن به‌وسیله آنزیم آلدوز ردوکتاز به سوربیتول تبدیل می‌شود که یک توکسین بافتی می‌باشد و در ایجاد رتینوپاتی، نوروپاتی، نفروپاتی و بیماری عروقی مؤثر است. تجمع سوربیتول سبب کاهش میواینوزیتول و اختلال در متابولیسم فسفواینوزیتید و درنتیجه، کاهش فعالیت پمپ Na+K+ATpase می‌گردد. بدین ترتیب، با انتقال‌نیافتن کافی قند به سلول‌ها و تجمع متابولیت‌های جایگزین آن در

سلول‌ها، تأثیرات مخرب آن‌ها در بافت‌ها بروز پیدا می‌کند، ۴. فعال‌شدن پروتئین کیناز C (افزایش تولید ماتریکس خارج سلولی، افزایش باز جذب نمک و آب، افزایش فشارخون و...)، ۵. افزایش سایتوکاین‌هایی نظیر IGF-1 و TGF-β (فیبروز، اسکلروز و...) و درنهایت، مسیر استرس اکسیداتیو که این مورد در تمام مسیرهای قبلی نیز قابل‌ردیابی است (۲۶). ازاین‌رو، نفروپاتی دیابتی حاصل مکانیسم‌های متعدد و پیچیده‌ای است و ازطرفی، کنترل آن نیز می‌تواند از چندین روش صورت گیرد.

در این مطالعه، بررسی تأثیرات مصرف ۲۸ روزه عصاره الکلی گلبرگ زعفران بر روی عملکرد کلیوی موش‌های دیابتی، از منظر تغییرات بیوشیمی و بافت‌شناسی ارزیابی شد. یافته‌های بیوشیمی و پاتولوژی این مطالعه نشان دادند که عوارض کلیوی دیابت در موش‌ها آشکار شده است و در همه پارامترهای مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل سالم (CON) با گروه مدل (DM) وجود دارد.

مدل ایجاد دیابت توسط استرپتوزوسین، مدل پذیرفته‌شده‌ای است که در حیوانات سبب بروز عوارض ثانویه دیابت نظیر نفروپاتی دیابتی می‌شود (۲۷). مطالعات نشان داده‌اند که پس از چهار الی هشت هفته از تزریق استرپتوزوسین در موش‌های نژاد اسپراگ دالی یا ویستار، همه علائم نفروپاتی دیابتی نظیر پروتئین اوری، افزایش نیتروژن اوره و کراتینین خون، دیس لیپیدمی و انتشار ماتریکس بین‌سلولی و همچنین فیبروز توبول‌های کلیوی و اسکلروز گلومرول‌ها ایجاد می‌شوند (۲۹،۲۸). همچنین، شواهد علمی وجود دارند که استرپتوزوسین به‌طور مستقیم سبب آسیب به DNA سلول‌های کلیوی می‌شود. البته این اثر حداقل سه هفته پس از تزریق آن مشاهده می‌شود؛ بنابراین، توصیه شده است برای انجام مطالعه بر روی نفروپاتی دیابتی در مدل حیوانی، حداقل سه هفته پس از دیابتی‌شدن با استرپتوزوسین، مداخلات به تعویق بیفتند (۳۱،۳۰).

یافته‌های این مطالعه نشان دادند که گلبرگ زعفران توانست سبب کاهش قند خون، حجم ادرار و کاهش نیتروژن اوره خون نسبت به گروه کنترل دیابتی شود. البته گفتنی است این تأثیرات با افزایش دوز عصاره گلبرگ زعفران به‌صورت ملموس‌تر مشاهده شد. بروز آسیب‌های بافتی نیز در گروه‌های دریافت‌کننده گلبرگ زعفران بسیار اندک و در حد افزایش خفیف ماتریکس مزانشیال کلافه گلومرولی و ضخیم‌شدگی کپسول بومن مشاهده شد. در مقام مقایسه، اگرچه داروی کاپتوپریل تنها توانست در کاهش سه فاکتور پروتئین اوری، کراتینین و نیتروژن اوره خون همان‌طورکه انتظار می‌رفت، به‌خوبی عمل کند (۳۲)، اما در کنترل قند خون و کاهش حجم ادرار هیچ‌گونه اثری نداشت. مهم‌تر آنکه مطالعات بافت‌شناسی گلومرول‌های کلیوی در این گروه، اسکلروز و انتشار وسیع ماتریکس مزانشیال را نشان دادند و رنگ‌پذیری (واکنش) بیشتری در تکنیک PAS داشتند که خود مؤید تجمع مواد قندی در سلول‌های کلیه این گروه بود. ازاین‌رو، به‌نظر می‌رسد عصاره گلبرگ زعفران تأثیرات سودمند بیشتری در مقایسه با داروی کاپتوپریل داشته است. باوجود مشاهده تأثیرات مطلوب گلبرگ زعفران بر تعدیل عوارض پاتولوژیک در گلومرول‌های کلیه، نباید از کارایی نداشتن آن در تعدیل کراتینین و همچنین شاخص وزن کلیه به وزن بدن در رت‌های دیابتی غافل بود.

عصاره گلبرگ زعفران همان‌طورکه انتظار می‌رفت، توانست قند خون را در موش‌ها در اثری وابسته به دوز کاهش دهد که پیش‌تر نیز توسط همتی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش شده بود (۲۳). عصاره گلبرگ زعفران در مهار کاهش وزن در موش‌های دیابتی، همانند داروی کاپتوپریل ناتوان بود. اگرچه موش‌های دریافت‌کننده عصاره گلبرگ زعفران میانگین وزن بیشتری در مقایسه با گروه کنترل داشتند، از نظر آماری این تفاوت معنی‌دار

نبود. از دلایل احتمالی این یافته می‌توان به مدت‌زمان دیابتی‌بودن موش‌ها درحالی‌که هیچ مداخله‌ای را دریافت نمی‌کردند، اشاره نمود. چنان‌چه در قسمت روش کار بیان شد، موش‌های دیابتی به‌منظور بروز عوارض دیابت به مدت یک ماه بدون دریافت مداخله نگهداری شدند. در این مدت موش‌های گروه کنترل وزن‌گیری نرمال خود را داشتند؛ درحالی‌که موش‌های دیابتی به‌شدت دچار کاهش وزن شده بودند. بر این اساس، مدت‌زمان ۲۸ روزه تیمار برای جبران این کاهش وزن، فرصت کافی را به موش‌های دیابتیک نداد. مطالعات گذشته بر روی موش‌های دیابتیک از نژاد ویستار نیز نشان دادند که در مدت‌زمان هشت هفته، این اختلاف وزن در صورت مؤثربودن (ضددیابتیک بودن مداخله) با گروه کنترل از بین می‌رود (۳۳).

عصاره گلبرگ زعفران نه‌تنها شاخص نسبت وزن کلیه به وزن بدن را در موش‌های دیابتی کاهش نداده بود؛ بلکه به‌طوری معنی‌دار و حتی بیشتر از گروه مدل دیابتی سبب افزایش آن شده بود. در بیماران مبتلابه دیابت نوع ۱، بزرگ‌شدن کلیه‌ها شایع است که با افزایش دفع پروتئین از کلیه‌ها، افزایش حجم و وزن کلیه نیز ادامه پیدا می‌کند (۳۴). در این پژوهش نیز گلبرگ زعفران اثر قابل‌توجهی در تعدیل دفع پروتئین نداشت؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که افزایش شاخص وزن کلیه به وزن بدن، به‌دلیل ناتوانی گلبرگ زعفران در کاهش دفع پروتئین در مدت‌زمان مطالعه بوده باشد. باوجوداین، گلبرگ زعفران به‌خوبی توانست حجم ادرار را در موش‌های دیابتی کاهش دهد که این اثر احتمالاً به‌دلیل کاهش قند خون یا عملکرد شبه انسولینی آن است (۳۵)؛ زیرا همان‌طورکه نتایج این تحقیق نشان داد، داروی کاپتوپریل اثر کاهنده قند خون نداشته و حجم ادرار موش‌های دریافت‌کننده این دارو نیز کاهش نیافته بود.

گلبرگ زعفران توانست به‌خوبی افزایش نیتروژن اوره خون را مهار کند؛ در اندازه‌ای که مقایسه سطح نیتروژن اوره گروه‌های دریافت‌کننده گلبرگ زعفران با گروه دریافت‌کننده داروی کاپتوپریل، تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. بررسی نیتروژن اوره و کراتینین خون از جمله آزمایش‌های اولیه و ساده‌ای به‌شمار می‌رود که غالباً به‌منظور ارزیابی عملکرد کلیه‌ها انجام می‌شود. اوره و کراتینین، دو محصول زائد متابولیسم سلول‌های بدن هستند که باید به‌وسیله کلیه‌ها دفع شوند. هنگامی‌که بیماری کلیوی نظیر نفروپاتی دیابتی، فرد یا حیوان را مبتلا کند، دفع این مواد دچار مشکل می‌شود و سطح آن در خون افزایش می‌یابد (۳۶). همان‌طورکه در مقدمه اشاره شد، کروسین و کامپفرول دو ترکیب اصلی موجود در گلبرگ زعفران هستند (۱۶). یافته‌های این مطالعه با نتایج مطالعه Altionz و همکاران که به‌تازگی منتشر گردیده (۲۰۱۵)، همخوانی داشت. در مطالعه یادشده، مصرف سه هفته دوز ۲۰mg/kg کروسین خوراکی توانسته بود از افزایش BUN و کراتینین خون در موش‌های دیابتی جلوگیری کند (۱۸). جستجوی ما درباره مطالعه‌ای که تأثیرات کامپفرول بر روی نفروپاتی دیابتی را بررسی کرده باشد، نتیجه‌ای را در بر نداشت؛ اما در مطالعه‌ای که توسط Abo-Salem در سال ۲۰۱۴ انجام شده است، مصرف خوراکی کامپفرول در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوسین در دوزهای ۲۵–۱۰۰ mg/kg، توانسته بود تأثیرات سودمندی در کاهش قند خون و همچنین تعدیل استرس اکسیداتیو و مارکرهای التهابی خون داشته باشد (۱۷).

درگیری کلیوی در بیماران دیابتی در انسان، در قالب پنج مرحله طبقه‌بندی شده است که هرکدام از این مرحله‌ها، ویژگی‌ها و علائم خاص خود را دارند. به‌طور خلاصه، این مرحله‌ها عبارت‌اند: ۱. افزایش فیلتراسیون گلومرولی و افزایش حجم و وزن کلیه، ۲. بروز ضایعات اولیه گلومرولی (در این مرحله یافته‌های پاتولوژیکی نظیر انتشار ماتریکس مزانشیال و افزایش ضخامت کپسول بومن مشاهده می‌شوند)، ۳. مرحله اولیه نفروپاتی دیابتی که دفع

پروتئین آلبومین شروع می‌شود، ۴. مرحله نمود بالینی نفروپاتی که با علائم دفع شدید پروتئین و کاهش فیلتراسیون گلومرولی همراه است و ۵. این مرحله به مرحله پایانی نفروپاتی دیابتی شهرت دارد و عملکرد کلیه در آن به کمتر از ۱۰ درصد حالت نرمال می‌رسد. بیماران در این مرحله ادرار کمی دارند و غالباً به‌سختی می‌توانند ادرار کنند. از یافته‌های پاتولوژیک این مرحله، می‌توان به اسکلروز منتشر یا نقطه‌ای و از بین رفتن فضای ادراری اشاره کرد (۳۷). ازاین‌رو، به‌نظر می‌رسد با توجه به نتایج به‌دست آمده، گروه مدل دیابتی علائمی نزدیک به مرحله ۴ انسانی نشان داده است. در عوض، نتایج تغییرات بیوشیمیایی و پاتولوژیک گروه‌های دریافت‌کننده گلبرگ زعفران (به‌خصوص در دوز بالا) نشان دادند که وضعیتی بینابین مرحله ۱ و ۲ را داشتند؛ زیرا هم بروز ضایعات اولیه نفروپاتی دیابتی همچون افزایش شاخص وزن کلیه به وزن بدن در این گروه‌ها وجود داشت و هم اینکه ضایعات پاتولوژیک نظیر ضخیم‌شدگی کپسول بومن با انتشار خفیف ماتریکس مزانشیال مشاهده شد.

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهند که افزایش قند خون، حجم ادرار، نیتروژن اوره خون و همچنین مارکرهای پاتولوژیک کلیوی مانند ضخیم‌شدگی کپسول بومن، افزایش انتشار ماتریکس مزانشیال کلافه گلومرولی و اسکلروز، در موش‌های دیابتی تیمارشده با عصاره گلبرگ زعفران کاهش و تعدیل پیدا کرده است؛ هرچند که گلبرگ زعفران در مدت‌زمان ۲۸ روز نتوانست سبب کاهش دفع پروتئین و کاهش غلظت خونی کراتینین شود؛ بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که گلبرگ زعفران می‌تواند تأثیرات سودمندی بر دیابت و تعدیل نفروپاتی دیابتی داشته باشد. انجام مطالعات تجربی بیشتر با هدف تعیین مکانیسم‌های اثر گلبرگ زعفران بر کاهش عوارض نفروپاتی دیابتی و همچنین، بررسی تأثیرات مصرف همزمان گلبرگ زعفران با داروهای استاندارد کنترل نفروپاتی دیابتی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل یافته‌های طرح تحقیقاتی مصوب (شماره: ۱۴/۹۴) معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند است که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد. نویسندگان بدین‌وسیله از همکاری مسئولان مرکز تحقیقات طب تجربی و آزمایشگاه بافت‌شناسی گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

1. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Res Clin Pract. 2011 ; 94(3):311-321.
2. Hami J, Vafaei-nezhad S, Ghaemi K, Sadeghi A, Ivar G, Shojae F, et al. Stereological study of the effects of maternal diabetes on cerebellar cortex development in rat. Metab Brain Dis. 2016; 31(3):643-652.
3. Hami J, Vafaei-Nezhad S, Ivar G, Sadeghi A, Ghaemi K, Mostafavizadeh M, et al. Altered expression and localization of synaptophysin in developing cerebellar cortex of neonatal rats due to maternal diabetes mellitus. Metab Brain Dis. 2016.
4. Lotfi N, Hami J, Hosseini M, Haghir D, Haghir H. Diabetes during pregnancy enhanced neuronal death in the hippocampus of rat offspring. Int J Dev Neurosci. 2016; 51:28-35.
5. Vafaei-Nezhad S, Hami J, Sadeghi A, Ghaemi K, Hosseini M, Abedini M, et al. The impacts

of diabetes in pregnancy on hippocampal synaptogenesis in rat neonates. Neuroscience. 2016; 318:122-133.
6. Ritz E, Rychlik I, Locatelli F, Halimi S. End-stage renal failure in type 2 diabetes: A medical catastrophe of worldwide dimensions. Am J kidney Dis . 1999;34(5):795-808.
7. Murussi M, Murussi N, Campagnolo N, Silveiro SP. Early detection of diabetic nephropathy. Arq Bras Endocrinol Metabolo. 2008; 52(3):442-451.
8. Mariappan MM. Signaling mechanisms in the regulation of renal matrix metabolism in diabetes. Expe Diabetes Res. 2012;749812.
9. Luk A, Chan JC. Diabetic nephropathy--what are the unmet needs? Diabetes Res Clin Pract. 2008 ; 82 (Suppl 1):S15-20.
10. Pandey A, Tripathi P, Pandey R, Srivatava R, Goswami S. Alternative therapies useful in the management of diabetes: A systematic review. J Pharm Bioallied Sci. 2011; 3(4):504-512.
11. Dourandishan M, Hossieni M, Malekaneh M, Bagherzade G. Effect of Otostegia persica's root extract on the blood biochemical factors in diabetic hyperlipidemic rats. Ofoghe – Danesh . 2014; 20(1):17-21 (Persian).
12. Hassanpour Fard M, 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):148-156.
13. .HassanpourFard M, Naseh G, Lotfi N, Hosseini M. Effect of aqueous extract of turnip root on glucose and lipid profile in Alloxan induced diabetic rats. J Gorgan Univ Med Sci. 2015; 17(4):36-42 (Persian).
14. Vafaei Nejad S, Serki E, Hassanpour Fard M, Hosseini M. hypolipidemic activity of aqueous extract of Turnip (Brassica rapa) root in hyperlipidemic rats. Ofoghe Danesh (Quarterly of Horizon of Medical Sciences). 2015; 21(1):45-51 (Persian).
15. Zeka K, Ruparelia KC, Continenza MA, Stagos D, Vegliò F, Arroo RRJ. Petals of Crocus sativus L. as a potential source of the antioxidants crocin and kaempferol. Fitoterapia. 2015; 107:128-134.
16. Serrano-Díaz J, Sánchez AM, Maggi L, Martínez-Tomé M, García-Diz L, Murcia MA, et al. Increasing the applications of Crocus sativus flowers as natural antioxidants. J Food Sci. 2012; 77(11):C1162-C1168.
17. Abo-Salem OM. Kaempferol attenuates the development of diabetic neuropathic pain in mice: Possible anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms. Macedonian Journal of Medical Sciences. 2014; 7(3):424-430.
18. Altinoz E, Oner Z, Elbe H, Cigremis Y, Turkoz Y. Protective effects of saffron (its active constituent, crocin) on nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. Hum Exp Toxicol. 2015; 34(2):127-134.
19. Omidi A, Riahinia N, Montazer Torbati MB, Behdani M-A. Hepatoprotective effect of Crocus sativus (saffron) petals extract against acetaminophen toxicity in male Wistar rats. Avicenna J Phytomed. 2014; 4(5):330-336 (Persian).
20. Iranshahi M, Khoshangosht M, Mohamm-adkhani Z, Karimi G. Protective effects of aqueous and ethanolic extracts of saffron stigma and petal on liver toxicity induced by carbon tetrachloride in mice. Pharma-cologyonline. 2011; 1:203-212.
21. Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinoci-ceptive and anti-inflammatory effects of

Crocus sativus L. stigma and petal extracts in mice. BMC Pharmacol. 2002;2:7.

22. .Moshiri E, Basti AA, Noorbala A-A ,Jamshidi A-H, Hesameddin Abbasi S, Akhondzadeh S. Crocus sativus L. (petal) in the treatment of mild-to-moderate depression: A double-blind, randomized and placebo-controlled trial. Phytomedicine. 2006 ; 13(9–10):607-611.
23. Hemmati M, Asghari S, Zohoori E, Karamian M. Hypoglycemic effects of three Iranian edible plants; jujube, barberry and saffron: Correlation with serum adiponectin level. Pak J Pharm Sci. 2015;28(6):2095-2099.
24. Ghiravani Z, Zardast M, Hassanpour-Fard M, Hosseini M. Effects of hydro.alcoholic extract of internal septum of walnut on diabetic nephropathy in rats. J Birjand Univ Med Sci. 2015; 22(2):104-114 (Persian).
25. Appelhoff RJ, Hill JV, Findon G, Frampton CM, Perry E, Ponnamperuma D, et al. Differential contribution of diabetes and the Ren2 gene to glomerular pathology in diabetic (mREN-2) 27 rats. Laboratory Investigation. 2010; 90(8):1225-1235.
26. Tavafi M. Diabetic nephropathy and antioxidants. J Nephropathol. 2013; 2(1):20-27
27. Shokrzadeh M, Jahani M, Vafaeipour Z, Shaki F. Protective Effect of Nanoceria against Renal Mitochondrial Damage in Streptozocine-induced Diabetic Mice. J Mazandaran Univ Med Sci. 2016;25(132):258-269.
28. Casey RG, Joyce M, Roche-Nagle G, Chen G, Bouchier-Hayes D. Pravastatin modulates early diabetic nephropathy in an experimental model of diabetic renal disease. J Surg Res. 2005; 123(2):176-181.
29. Haidara MA, Mikhailidis DP, Rateb MA, Ahmed ZA, Yassin HZ, Ibrahim IM, et al. Evaluation of the effect of oxidative stress and vitamin E supplementation on renal function in rats with streptozotocin-induced Type 1 diabetes. J Diabetes Complications. 2009; 23(2):130-136.
30. Hassanzadeh-Taheri M, Hosseini M, Hassanpour-Fard M, Ghiravani Z, Vazife-shenas-Darmiyan K, Yousefi S, et al. Effect of turnip leaf and root extracts on renal function in diabetic rats. Orient Pharm Experimen Med. 2016; 16(4):279-86.
31. Ghiravani Z, Hosseini M, Taheri MMH, Fard MH, Abedini MR. Evaluation of hypoglycemic and hypolipidemic effects of internal septum of walnut fruit in alloxan-induced diabetic rats. Afr J Traditi, Complement Altern Med. 2016; 13(2):94-100.
32. Vazifeshenas-Darmiyan K, Hosseini M, Rezaei R, Ezi S, Malekaneh M. Effects of aqueous extract of wild pistachio (Pistacia atlantica) leaves on diabetic nephropathy in rat. Armaghane- Danesh. 2016; 21(5)(112):420-434.
33. Wang G, Li W, Lu X, Zhao X, Xu L. Taurine attenuates oxidative stress and alleviates cardiac failure in type I diabetic rats. Croat Med J. 2013; 54(2):171-179.
34. Kakoki M, Takahashi N, Jennette JC, Smithies O. Diabetic nephropathy is markedly enhanced in mice lacking the bradykinin B2 receptor. Proc Nat Acad Sci U S A. 2004; 101(36):13302-13305.
35. Nakhoul F, Abassi Z, Morgan M, Sussan S, Mirsky N. Inhibition of diabetic nephropathy in rats by an oral antidiabetic material extracted from yeast. J Am Soc Nephrol. 2006; 17(4 suppl 2):S127-S131.
36. Dabla PK. Renal function in diabetic

nephropathy. World J Diabetes. 2010; 1(2):48-56.
37. Weir GC, Jameson JL, De Groot LJ. Endocrinology Adult and Pediatric: Diabetes Mellitus and Obesity. 6th ed . Elsevier Health Sciences; 2013.