

## بررسی استریولوژیکی و سنجش میزان مالون دی آلدهید، اوره و کراتینین سرم با اثر عصاره هیدروآلکی زنجبیل بر آسیب کلیوی ناشی از بیس فنل آ در موش نژاد NMRI

محمد علی شریعت زاده، فاطمه رفیعی\*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران

E-mail: f25r66@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۲

### چکیده

بیس فنل آ یک ترکیب زنواستروژنی است که به طور گسترده در صنایع کاغذ و پلاستیک استفاده می شود. این ترکیب می تواند گونه های فعال اکسیژن (ROS) را از طریق افزایش استرس اکسیداتیو در اندام های مختلف مانند کلیه تولید کند. هدف از این مطالعه بررسی اثر حفاظتی عصاره زنجبیل روی بافت کلیه و برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم در مقابل اثرات سمی بیس فنل آ می باشد. موش های نر نژاد NMRI با میانگین وزنی  $3 \pm 32$  گرم به طور تصادفی در ۴ گروه کنترل، بیس فنل آ ( $240 \text{ mg/kg/day}$ )، عصاره زنجبیل ( $500 \text{ mg/kg/day}$ ) و بیس فنل آ + زنجبیل دسته بندی شدند ( $n=6$ ). تیمار دهانی تا ۳۴ روز به طول انجامید و بعد از آن وزن بدن و کلیه چپ ثبت شد. بعد از فیکس شدن بافت، برش های بافتی تهیه و به روش های پدیده های رنگ آمیزی شدند. نهایتاً مطالعات استریولوژیکی روی حجم کلیه، کورتکس و مدولا، لوله های کلیوی، جسمک کلیوی و اجزای آن صورت گرفت. همچنین سطوح مالون دی آلدهید، اوره و کراتینین سرم نیز اندازه گیری شد. داده ها با روش one way ANOVA آنالیز شدند و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد. افزایش معنی داری در وزن کلیه، کورتکس، لوله های کلیوی و اجزای آن ها، گلوومرول، تافت، جسمک کلیوی و میزان مالون دی آلدهید، اوره و کراتینین سرم در گروه بیس فنل آ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. در گروه عصاره زنجبیل + بیس فنل آ، زنجبیل به طور معنی داری پارامترهای نامبرده را در مقایسه با گروه بیس فنل آ بهبود بخشید. با توجه به این یافته ها می توان پیشنهاد داد که عصاره زنجبیل با کاهش MDA، اوره و کراتینین سرم و آسیب های بافتی احتمالاً یک نقش حفاظتی در آسیب ناشی از بیس فنل آ در کلیه دارد.

**کلیدواژه ها:** بیس فنل آ، عصاره زنجبیل، استریولوژی، کلیه

### مقدمه

استون در مجاورت اسید سولفوریک غلیظ ( به عنوان آب گیر) می باشد. این ماده نوعی ترکیب آلی با فرمول شیمیایی  $C_{15}H_{16}O_2$  است [22] که به عنوان مونومر

بیس فنل آ (BPA) از مشتقات آلکیل فنل هاست و محصول واکنش تراکمی دو مول فنل و یک مول

دستگاه تناسلی نر و کاهش ظرفیت تولید اسپرم شود [13].

مشخص شده است که بیس‌فنل آ حتی در دوزهای پایین منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود که این امر استرس اکسیداتیو را در پی خواهد داشت. BPA می‌تواند موجب القا استرس اکسیداتیو در کلیه شده و آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی مثل ضایعات نکروتیک [14] و کاهش طول توبول‌های کلیوی و به هم خوردگی گلومرول‌ها را به دنبال داشته باشد. [15]

کلیه یکی از اندام‌های حیاتی بدن است که در شبانه روز چندین بار خون را تصفیه کرده و مواد زاید حاصل از متابولیسم را از طریق ادرار دفع می‌نماید [17]. کلیه عمل تصفیه کردن را با فیلتراسیون پلاسما درون گلومرول‌ها انجام می‌دهد و نهایتاً با دفع مواد زاید از طریق ادرار خون را پاک می‌کند و هم‌زمان مواد مورد نیاز بدن را به خون باز می‌گرداند [10].

زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinalis* یک گیاه مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری متعلق به خانواده zingiberaceae می‌باشد. ریزوم زنجبیل از دیرباز به صورت پودر یا تازه به عنوان یک ادویه در تمام نقاط جهان استفاده می‌شود [28]. همچنین مطالعات نشان داده است که عصاره هیدرو الکلی آن در درمان اختلالات کلیوی (نارسایی حاد و مزمن) موثر است [8]. یکی از ویژگی‌های مهم زنجبیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است که این خصوصیت به دو ترکیب بسیار مهم موجود در آن یعنی جینجروول و شوگااول مربوط می‌شود [1]. خاصیت آنتی‌اکسیدانی زنجبیل منجر به کاهش سطح مالون‌دی‌آلدهید (MDA) می‌شود. روغن زنجبیل اثر حفاظتی روی آسیب DNA

در پلاستیک‌های پلی‌کربناتی و رزین‌های اپوکسی و پلی‌استایرن به کار می‌رود و در تولید انواع وسایل و مواد، از جمله مواد پرکننده دندان، ظروف یک‌بار مصرف، پوشش داخل قوطی‌های کنسرو و بطری‌های آب معدنی استفاده می‌شود. این ماده یک زئوآستروژن محیطی محسوب می‌شود [3,7]. طبق مطالعات صورت گرفته می‌توان منبع اصلی مواجهه انسان با این ماده را مصرف غذاها و نوشیدنی‌های آلوده‌ای دانست که در تماس با رزین‌های اپوکسی یا پلی‌کربنات قرار دارند. مشخص شده است که در بزاق دهان افرادی که مورد درمان دندانپزشکی قرار گرفته‌اند و حتی در ادرار نیز، مقادیر کمی BPA یافت می‌شود. محققان دریافته‌اند که بیش از نیمی از بیس‌فنل آ در مواجهه با پوست جذب می‌شود و سرعت عبور آن بسیار بالاست [11]. این ماده به دلیل داشتن اثرات استروژنی روی سیستم تولید مثل، جزء مختل‌کننده‌های سیستم اندوکرینی محسوب می‌شود [25]. توانایی BPA در تقلید اثرات استروژن طبیعی، ناشی از شباهت گروه فنل آن با استرادیول است که این ماده سنتزی می‌تواند مسیرهای وابسته به استروژن را فعال کند. ۱۷- بتا استرادیول هورمونی طبیعی است که بر تکوین و حفظ خصوصیات جنسی ماده و بلوغ و عملکرد ارگان‌های جنسی ضمیمه اثر می‌گذارد. با اینکه BPA یک استروژن زیست محیطی ضعیف است ولی مطالعات نشان داده‌اند که می‌تواند از مسیرهای مختلف باعث ایجاد پاسخ‌های سلولی، حتی در غلظت کم باشد [2]. کاهش باروری جنس مذکر، سرطان پروستات و بیضه، ناهنجاری تکامل جنسی و تغییر عملکرد غدد هیپوفیز و تیروئید تا حدی به این ماده نسبت داده شده است. مداخله در فعالیت اندروژن‌ها در طی تکامل می‌تواند منجر به ناهنجاری

از تشریح، کلیه چپ آنها خارج شد. پس از جدا کردن کپسول، کلیه‌ها وزن شده و حجم آنها به روش غوطه‌ورسازی ثبت گردید. سپس کلیه‌ها وارد فیکساتیو تازه بوئن شده و پس از ۲۴ ساعت از فیکساتیو خارج و برش‌های IUR از آنها تهیه شد. سپس مراحل پاساژ بافتی روی برش‌ها انجام شد. مراحل بعدی شامل تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌های ۵ میکرونی توسط میکروتوم و رنگ‌آمیزی به روش هایدن‌هان‌آزان بود. برای محاسبه میزان چروکیدگی از سه برش ایجاد شده به روش IUR، سه قطعه گرد تهیه و در هر یک دو قطر عمود بر هم توسط کولیس ورنیه اندازه‌گیری و میانگین شعاع آنها (r<sub>before</sub>) محاسبه شد. بعد از مراحل پاساژ بافتی و رنگ‌آمیزی، مجدداً دو قطر عمود بر هم در هر سه قطعه روی لام اندازه‌گیری و میانگین شعاع آنها (r<sub>after</sub>) محاسبه شد. آنگاه با استفاده از فرمول زیر میزان چروکیدگی محاسبه گردید.

$$\text{shrinkage} = 1 - \left( \frac{r_{\text{after}}^2}{r_{\text{before}}^2} \right)^{\frac{3}{2}}$$

حجم نهایی از فرمول 1-shrinkage محاسبه و با ضرب در حجم غوطه‌ورسازی، حجم واقعی کلیه به دست آمد. برای محاسبه حجم کورتکس و مدولا از به روش تصادفی منظم نقاط برخورد کرده با پروب را در ۱۵ میدان دید شمارش کرده و نهایتاً نقاط برخورد کرده از پروب با کل میدان دید یا  $\sum_{i=1}^n P_{\text{total}}$ ، نقاط برخورد کرده با کورتکس یا  $\sum_{i=1}^n P_{\text{cortex}}$  و نقاط برخورد کرده با مدولا یا  $\sum_{i=1}^n P_{\text{medulla}}$  مشخص گردید و دانسیته حجمی کورتکس و مدولا با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$$V_v \text{ medulla} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{\text{medulla}}}{\sum_{i=1}^n P_{\text{total}}}$$

ناشی از H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> دارد و از طرفی اثر محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو نیز ایفا می‌کند [20]. عصاره زنجبیل آنزیم‌های سیکلوآکسیژناز و لپوکسیژناز را در بیوستنز پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها مهار می‌کند و این امر موجب کاهش سطح کلسترول، فشار خون و کاهش لخته شدن خون می‌شود [27].

با توجه به اثرات سمی بیس‌فنل‌آ مبنی بر القا استرس اکسیداتیو و وجود ترکیبات آنتی‌اکسیداتی در عصاره زنجبیل، می‌توان این طور فرض کرد که این ترکیبات بتوانند اثرات مخرب این آلاینده‌ی زیست محیطی را خنثی نمایند. لذا این پژوهش با هدف بررسی نقش عصاره‌ی زنجبیل بر کاهش اثرات مخرب بیس‌فنل‌آ روی بافت کلیه و سرم با استفاده از تکنیک استریولوژی صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی از موش‌های نر بالغ نژاد NMRI با میانگین وزنی  $32 \pm 3$  گرم که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شده بودند، استفاده شد. موش‌ها در خانه حیوانات دانشگاه اراک در شرایط استاندارد (دمای  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و نور با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و دسترسی کامل به آب و غذا نگهداری شده و کلیه اصول اخلاقی رفتار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. حیوانات به طور تصادفی در ۴ گروه ( $n=6$ ): کنترل، تیمار با بیس‌فنل‌آ ( $240 \text{ mg/kg/day}$ )، تیمار با عصاره زنجبیل ( $500 \text{ mg/kg/day}$ ) و تیمار همزمان بیس‌فنل‌آ و عصاره زنجبیل تقسیم شدند. تیمار دهانی به وسیله گاوژ به مدت ۳۴ روز انجام گرفت. بعد از دوره تیمار، موش‌ها توسط دی‌اتیل‌اتر بیهوش و بعد

محاسبه طول لوله‌های دور و نزدیک: برای محاسبه طول لوله‌ها به طور تصادفی ۱۵ میدان دید با عدسی ۴۰ انتخاب و با استفاده از فرمول زیر طول محاسبه گردید:

$$L_V = 2 \times \frac{\sum_{i=1}^n Q_i}{a/f \sum_{i=1}^n P_i}$$

که در آن  $\sum Q_i$  مجموع لوله‌های انتخاب شده،  $a/f$  سطح فریم مورد نظر در مقیاس واقعی بافت و  $\sum P_i$  مجموع نقاط برخوردکننده با بافت کلیه می‌باشد. برای محاسبه طول مطلق دانسیته طولی را در حجم نهایی کلیه ضرب می‌کنیم.

$$L_{VP} = L_{V_V} \times V_{\text{kidney}}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار Spss16 و روش آنالیز واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) و تست آماری Tukey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و اختلاف میانگین در سطح  $p < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

### تغییرات هیستوپاتولوژیک کلیه

ساختمان طبیعی کلیه که دارای لوله‌ها با سلول‌های اپی‌تلیومی منظم روی غشا پایه ولومن طبیعی و گلومرول‌ها با ساختار و اندازه طبیعی در گروه‌های کنترل و عصاره زنجبیل مشاهده شد. اما در گروه بیس فنل آپی‌تلیوم لوله‌ها نامنظم، لومن گسترده، حاشیه مسواکی لوله‌های نزدیک دچار آسیب و گلومرول‌ها دچار هیپرتروفی شده‌اند. این در حالی است که در گروه تیمار با بیس فنل آ+ عصاره زنجبیل اپی‌تلیوم طبیعی به همراه لومن و حاشیه مسواکی مشخص و گلومرول‌هایی تقریباً مشابه گروه کنترل، دیده شد.

$$V_V \text{ cortex} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{\text{cortex}}}{\sum_{i=1}^n P_{\text{total}}}$$

حجم کورتکس و مدولا از طریق ضرب کردن دانسیته هر یک از آن‌ها در حجم کل کلیه به دست آمد.

$$\begin{aligned} V_V \text{ cortex} \times V_{\text{total}} &= V_{\text{cortex}} \\ V_V \text{ medulla} \times V_{\text{total}} &= V_{\text{medulla}} \end{aligned}$$

دانسیته حجمی هر یک از اجزای کورتکس (لوله‌های نزدیک و دوریه همراه لومن و اپی‌تلیوم آن‌ها، جسمک کلیوی و بافت بینابینی) نیز به روش تصادفی منظم محاسبه شد به این ترتیب که کل نقاط برخورد کرده از پروب با میدان دید یا  $\sum_{i=1}^n P_{\text{total}}$  و نقاط برخورد کرده با هر یک از اجزا یا  $\sum_{i=1}^n P_x$  نشان داده شد و دانسیته حجمی از فرمول زیر محاسبه شد که در آن  $x$  می‌تواند نشان دهنده هر یک از اجزای نامبرده باشد.

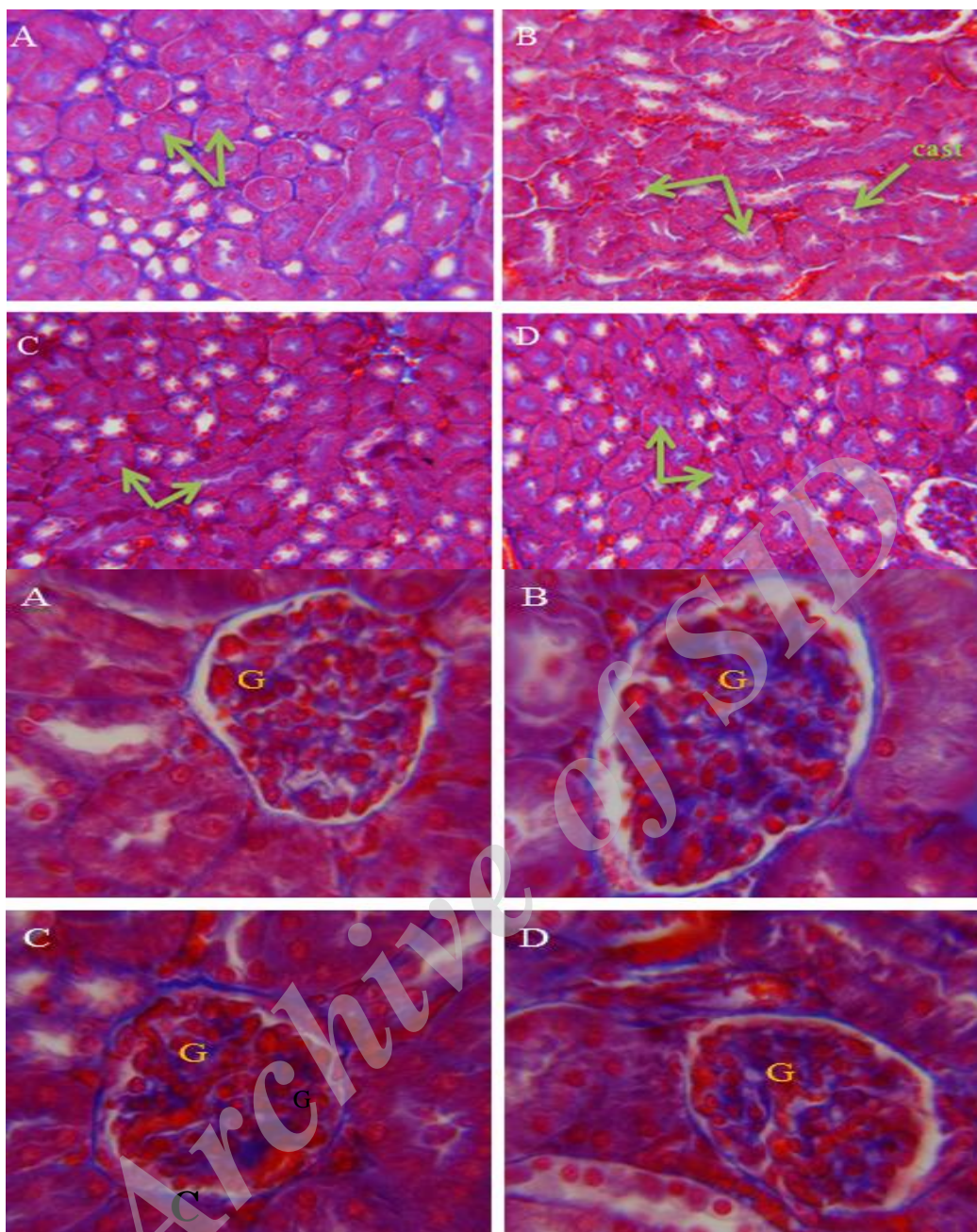
$$V_{VX} = \frac{\sum_{i=1}^n P_x}{\sum_{i=1}^n P_{\text{total}}}$$

سپس حجم نهایی لوله‌ها، لومن و اپی‌تلیوم آن‌ها، بافت بینابینی و جسمک کلیوی از ضرب دانسیته حجمی آن‌ها در حجم کورتکس محاسبه گردید.

$$V_x = V_{\text{cortex}} \times V_{V_x}$$

برای محاسبه حجم اجزای گلومرولوس (تافت و کاپیلاری) نقاط برخورد کرده با گلومرولوس یا  $\sum_{i=1}^n P_{\text{glomerolus}}$  و نقاط برخورد کرده با هر یک از اجزا یا  $\sum_{i=1}^n P_x$  نشان داده شده و دانسیته حجمی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد که با ضرب کردن آن‌ها در حجم گلومرولوس حجم نهایی هر یک از آن‌ها به دست می‌آید.

$$\begin{aligned} V_{VX} &= \frac{\sum_{i=1}^n P_x}{\sum_{i=1}^n P_{\text{glomerolus}}} \\ V_x &= V_{\text{glomerolus}} \times V_{V_x} \end{aligned}$$



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپی از کلیه موش‌های نر بالغ تیمار شده با بیس‌فنل‌آ و عصاره زنجبیل (برش‌های ۵ میکرونی، رنگ‌آمیزی هایدن هان آزان، بزرگنمایی ۴۰۰×). نشان دهنده تغییرات هیستوپاتولوژیک لوله‌های کلیوی:

A: لوله‌های کلیوی با سلول‌های اپی‌تلیومی منظم و حاشیه مسواکی و لومن مشخص (پیکان) در گروه کنترل

B: لوله‌های کلیوی با حاشیه مسواکی به هم ریخته به همراه اتساع لومن (پیکان) لوله‌ها در گروه بیس‌فنل‌آ

C: لوله‌های کلیوی با سلول‌های اپی‌تلیومی طبیعی به همراه حاشیه مسواکی و لومن مشخص (پیکان) در گروه بیس‌فنل‌آ+ عصاره زنجبیل

D: لوله‌های کلیوی طبیعی (پیکان) با ساختمانی مشابه گروه کنترل

مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشته است

( $P < 0.001$ ). در گروهی که همزمان با بیس‌فنل‌آ

عصاره زنجبیل دریافت می‌کردند، حجم کلیه و حجم

حجم کلیه و اجزای آن

نتایج این پژوهش تجربی نشان داد که میانگین

حجم کلیه و حجم کورتکس در گروه بیس‌فنل‌آ در

نسبت به گروه کنترل ( $P < 0/002$ ) دیده شد. حجم جسمک کلیوی در گروه بیس فنل آ نسبت به سه گروه دیگر افزایش معنی دار داشت ( $P < 0/02$ ). حجم کاپیلاری، غشا بومن و فضای بومن در گروه های مختلف تفاوت معنی داری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ) (جدول ۴). از مقایسه میانگین طول لوله های دور و نزدیک در گروه های مختلف تفاوت معنی داری مشاهده نشد. میانگین وزن موش ها پس از پایان دوره تیمار در گروه های مختلف، اختلاف معنی داری را نشان نداد ولی وزن کلیه در گروه بیس فنل آ افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل ( $P < 0/01$ ) نشان داد (جدول ۱).

#### میزان مالون دی آلدئید، اوره و کراتینین

افزایش معنی دار میزان مالون دی آلدئید در گروه بیس فنل آ نسبت به گروه کنترل ( $P < 0/001$ ) مشاهده شد. همچنین میزان کراتینین در گروه بیس فنل آ افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل ( $P < 0/01$ ) داشت. افزایش معنی دار میزان اوره در گروه بیس فنل آ نسبت به گروه کنترل ( $P < 0/01$ ) دیده شد (جدول ۵).

کورتکس نسبت به گروه بیس فنل آ کاهش یافته و تقریباً به حد گروه کنترل رسیده بود. حجم مدولا در گروه های مختلف افزایش معنی داری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ) (جدول ۲). افزایش معنی داری در حجم لوله پیچیده نزدیک ( $P < 0/01$ )، حجم اپی تلیوم ( $P < 0/02$ ) و حجم لومن ( $P < 0/001$ ) در گروه بیس فنل آ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. از سوی دیگر این پارامترها در گروه بیس فنل آ بعلاوه عصاره زنجبیل کاهش معنی داری نسبت به گروه بیس فنل آ یافت ( $P < 0/04$ ). افزایش معنی دار حجم لوله های پیچیده دور در گروه بیس فنل آ در مقایسه با گروه کنترل ( $P < 0/004$ ) مشاهده شد. حجم اپی تلیوم لوله های دور در گروه بیس فنل آ افزایش معنی داری را در مقایسه با گروه های کنترل ( $P < 0/006$ ) نشان داد. همچنین افزایش معنی دار حجم لومن لوله های دور در گروه بیس فنل آ در مقایسه با گروه کنترل ( $P < 0/04$ ) دیده شد. حجم بافت بینابینی در گروه های مختلف افزایش معنی داری را نشان نداد (جدول ۳). حجم گلو مریولوس در گروه تیمار بیس فنل آ افزایش معنی داری نسبت به سه گروه کنترل ( $P < 0/01$ ) نشان داد. افزایش معنی داری در حجم تافت در گروه بیس فنل آ

جدول ۱: مقایسه میانگین وزن موش (gr) و وزن کلیه (gr) در گروه های مختلف موش نر بالغ پس از ۳۴ روز تیمار با بیس فنل آ ( $240 \text{ mg/kg/day}$ ) و عصاره زنجبیل ( $500 \text{ mg/kg/day}$ ). مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{sd}$  می باشد. میانگین با کد حرف های مختلف، دارای

تفاوت معنا دار می باشد ( $p < 0.05$ ). ANOVA, Tukey's test.

گروه ها	وزن موش قبل از تیمار (gr)	وزن موش بعد از تیمار (gr)	وزن کلیه (gr)
کنترل	$2/24 \pm 32/1^a$	$3/95 \pm 36/31^a$	$0/01 \pm 0/21^a$
بیس فنل آ	$1/76 \pm 33/51^a$	$3/34 \pm 23/7^a$	$0/02 \pm 0/26^b$
بیس فنل آ + زنجبیل	$1/62 \pm 33/2^a$	$5/01 \pm 34/13^a$	$0/02 \pm 0/22^a$
عصاره زنجبیل	$33/36 \pm 1/36^a$	$34/08 \pm 6/19^a$	$0/21 \pm 0/01^a$

جدول ۲: مقایسه میانگین حجم کل کلیه، حجم کورتکس و مدولا بر حسب ( $\text{mm}^3$ ) در گروه های مختلف موش نر بالغ پس از ۳۴ روز تیمار با بیس فنل آ ( $240 \text{ mg/kg/day}$ ) و عصاره زنجبیل ( $500 \text{ mg/kg/day}$ ). مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{sd}$  می باشد. میانگین با کد حرف های مختلف، دارای تفاوت معنا دار می باشد ( $p < 0.05$ ) ANOVA, Tukey' s test.

گروه ها	حجم کل کلیه ( $\text{mm}^3$ )	حجم کورتکس ( $\text{mm}^3$ )	حجم مدولا ( $\text{mm}^3$ )
کنترل	$5/51 \pm 136^a$	$7/21 \pm 109^a$	$4/44 \pm 26/61^a$
بیس فنل آ	$18/7 \pm 180^b$	$22/98 \pm 149^b$	$7/88 \pm 30/61^a$
بیس فنل آ+عصاره زنجبیل	$20/08 \pm 142^a$	$18/13 \pm 118^a$	$5/78 \pm 24/37^a$
عصاره زنجبیل	$9/67 \pm 137^a$	$8/29 \pm 115^a$	$6/63 \pm 21/36^a$

جدول ۳: مقایسه میانگین حجم لوله پیچیده نزدیک به همراه اپیتلیوم و لومن ( $\text{mm}^3$ )، حجم لوله پیچیده دور به همراه اپیتلیوم و لومن ( $\text{mm}^3$ ) و حجم بافت بینابینی ( $\text{mm}^3$ ) در گروه های مختلف موش نر بالغ پس از ۳۴ روز تیمار با بیس فنل آ ( $240 \text{ mg/kg/day}$ ) و عصاره زنجبیل ( $500 \text{ mg/kg/day}$ ). مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{sd}$  می باشد. میانگین با کد حرف های مختلف، دارای تفاوت معنا دار می باشد ( $p < 0.05$ ) ANOVA, Tukey' s test.

گروه ها	حجم لوله پیچیده نزدیک ( $\text{mm}^3$ )			حجم لوله پیچیده دور ( $\text{mm}^3$ )			حجم بافت بینابینی ( $\text{mm}^3$ )
	حجم کل ( $\text{mm}^3$ )	حجم اپیتلیوم ( $\text{mm}^3$ )	حجم لومن ( $\text{mm}^3$ )	حجم کل ( $\text{mm}^3$ )	حجم اپیتلیوم ( $\text{mm}^3$ )	حجم لومن ( $\text{mm}^3$ )	
کنترل	$8/66 \pm 71/38^a$	$7/39 \pm 57/32^a$	$1/91 \pm 14/06^a$	$2/29 \pm 18/14^a$	$2/25 \pm 12/36^a$	$0/9 \pm 5/77^a$	$2/24 \pm 16/76^a$
بیس فنل آ	$14/98 \pm 92/95^b$	$14/67 \pm 76/17^b$	$5/48 \pm 23/8^b$	$5/76 \pm 25/75^b$	$3/36 \pm 17/38^b$	$2/7 \pm 8/36^b$	$3/82 \pm 21/18^a$
بیس فنل آ+زنجبیل	$10/30 \pm 74/71^a$	$10/62 \pm 60/25^{ab}$	$2/71 \pm 14/46^a$	$1/64 \pm 18/19^a$	$1/32 \pm 13/15^a$	$1/1 \pm 5/04^a$	$2/8 \pm 20/64^a$
زنجبیل	$8/35 \pm 75/12^a$	$6/53 \pm 59/71^{ab}$	$3/16 \pm 15/41^a$	$1/47 \pm 17/78^a$	$1/75 \pm 12/58^a$	$0/86 \pm 5/19^a$	$2/27 \pm 18/8^a$

جدول ۴: مقایسه میانگین حجم گلو مروز ( $\text{mm}^3$ )، حجم تافت ( $\text{mm}^3$ )، حجم کاپیلاری ( $\text{mm}^3$ )، حجم غشای بومن ( $\text{mm}^3$ )، حجم فضای بومن ( $\text{mm}^3$ ) و حجم جسمک کلیوی ( $\text{mm}^3$ ) در گروه های مختلف موش نر بالغ پس از ۳۴ روز تیمار با بیس فنل آ ( $240 \text{ mg/kg/day}$ ) و عصاره زنجبیل ( $500 \text{ mg/kg/day}$ ). مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{sd}$  می باشد. میانگین با کد حرف های مختلف، دارای تفاوت معنا دار می باشد ( $p < 0.05$ ) ANOVA, Tukey' s test.

گروه ها	حجم گلو مروز ( $\text{mm}^3$ )	حجم تافت ( $\text{mm}^3$ )	حجم کاپیلاری ( $\text{mm}^3$ )	حجم غشا بومن ( $\text{mm}^3$ )	حجم فضا بومن ( $\text{mm}^3$ )	حجم جسمک کلیوی ( $\text{mm}^3$ )
کنترل	$0/78 \pm 3/17^a$	$0/47 \pm 1/8^a$	$0/29 \pm 1/24^a$	$0/33 \pm 0/94^a$	$0/15 \pm 0/66^a$	$0/95 \pm 4/78^a$
بیس فنل آ	$0/49 \pm 4/4^b$	$0/5 \pm 3/08^b$	$0/24 \pm 1/45^a$	$0/23 \pm 1/03^a$	$0/17 \pm 0/5^a$	$0/38 \pm 5/93^b$
بیس فنل آ+زنجبیل	$0/75 \pm 3/3^a$	$0/59 \pm 2/17^a$	$0/26 \pm 1/09^a$	$0/1 \pm 0/9^a$	$0/02 \pm 0/52^a$	$0/74 \pm 4/72^a$
عصاره زنجبیل	$3/1 \pm 0/32^a$	$1/8 \pm 0/23^a$	$1/18 \pm 0/22^a$	$0/09 \pm 1/02^a$	$0/15 \pm 0/64^a$	$\pm 4/07/29^a$

جدول ۵: مقایسه میزان مالون دی آلدئید (nmol/ml)، نیتروژن- اوره (mg/dl) و کراتینین (mg/dl) در سرم گروه های مختلف موش نر بالغ پس از ۳۴ روز تیمار با بیس فنل آ (۲۴۰ mg/kg/day) و عصاره زنجبیل (۵۰۰ mg/kg/day). مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{sd}$  می باشد. میانگین با کد حرف های مختلف، دارای تفاوت معنا دار می باشد (ANOVA, Tukey's test ( $p < 0.05$ )).

گروه ها	مالون دی آلدئید (nmol/ml)	کراتینین (mg/dl)	اوره (mg/dl)
کنترل	$0.44 \pm 0.38^a$	$0.49 \pm 0.03^a$	$20.78 \pm 3.09^a$
بیس فنل آ	$2.671 \pm 0.901^b$	$0.57 \pm 0.05^b$	$26.15 \pm 2.68^b$
بیس فنل آ + زنجبیل	$0.37 \pm 0.71^a$	$0.51 \pm 0.04^{ab}$	$20.36 \pm 2.56^a$
عصاره زنجبیل	$0.51 \pm 0.58$	$0.5 \pm 0.03^a$	$17.48 \pm 2.48^a$

## بحث

است. حضور کاست های هیالینی در لومن منجر به اتساع لومن و در نتیجه افزایش حجم لوله های کلیوی می شود [26]. بیس فنل آ موجب هیدرونفروزیس و بزرگ شدن کلیه می شود و وقتی مایعات در لوله ها تجمع می یابند افزایش حجم لوله ها رخ می دهد [10]. بیس فنل آ موجب تورم سلول های موجود در گلومرول می شود و از طرفی میزان فیلتراسیون گلومرولی را کاهش می دهد که این امر نشان دهنده آسیب به گلومرول هاست [9]. لذا می توان انتظار داشت که افزایش حجم گلومرول ها در این مطالعه به منظور جبران گلومرول های آسیب دیده و غیر عملکردی و دفع مواد زاید صورت گرفته است. بیس فنل آ موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش آنزیم های آنتی اکسیدانی نظیر سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز می شود و با افزایش تولید رادیکال های آزاد و نهایتاً ایجاد استرس اکسیداتیو که منجر به تحریک سیتوکاین ها و کموکاین ها می شوند، سبب ایجاد پاسخ های التهابی و آسیب به گلومرول می شود [5,23]. میزان مالون دی آلدئید (MDA) سرم در گروه تیمار شده با بیس فنل آ در این مطالعه افزایش معنی داری داشت. آلایندگی های زیست محیطی مثل بیس فنل آ از طریق روندهای طبیعی متابولسمی می توانند تولید

نتایج این پژوهش نشان می دهد موش هایی که بیس فنل آ دریافت کردند دچار افزایش وزن و حجم کلیه، حجم کورتکس، حجم لوله های دور و نزدیک، گلومرولوس و تافت شدند. بیس فنل آ به عنوان یک آلایندگی زیست محیطی می تواند در اندام های مختلف منجر به تغییر وزن شود. کلیه جزء اندام هایی است که تحت تاثیر بیس فنل آ دچار افزایش وزن می شود [24]. با توجه به اینکه کلیه دارای گیرنده های استروژنی است و این گیرنده ها تکثیر سلول های اپی تلیال را واسطه گری می کنند [6]، و نیز با توجه به اینکه بیس فنل آ یک زنواستروژن محیطی است و رفتار استروژن ها را در بدن تقلید می کند، می تواند گیرنده های استروژن را تحریک و منجر به تکثیر سلول های اپی تلیال و ایجاد کیست در کلیه شود. همچنین استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط بیس فنل آ می تواند کیستیک شدن کلیه را تشدید کند [16]. با توجه به اینکه کلیه از دو بخش کورتکس و مدولا تشکیل شده است می توان گفت افزایش حجم آن ناشی از افزایش حجم کورتکس یا مدولا یا هر دوی آنهاست [12]. بیس فنل آ سبب افزایش حجم لوله های دور و نزدیک به همراه لومن و اپی تلیوم آنها شده



### نتیجه‌گیری

با توجه به این مطالعه بیس‌فنل آ آثار مخربی روی بافت و عملکرد کلیه دارد و عصاره زنجبیل با داشتن ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی به طور قابل ملاحظه‌ای می‌تواند این اثرات نامطلوب را جبران کند.

### منابع

- [1] Ahmed M.A and Sajida H.I. 2012, Protective Effect of Ginger Extract Against Cisplatin-Induced Hepatotoxicity and Cardiotoxicity in Rats. 21(1): 27-33.
- [2] Alonso-Magdalena P., Laribi O., Ropero A.B., Fuentes E., Ripoll C., Soria B., Nadal A. 2005, Low doses of bisphenol A and diethylstilbestrol impair Ca<sup>2+</sup>-signals in pancreatic alpha-cells through a nonclassical membrane estrogen receptor within intact islets of Langerhans. *Environ Health Perspect*, 113(8): 969-977.
- [3] Brotons J. A., Olea-Serrano M. F., Villalobos M., Pedraza V., and Olea N. 1995, Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. 103(6): 608-612.
- [4] Chang Y. C., Chuang L. M. 2010, The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. *Am J Transl Res*, 2(3): 316-331.
- [5] Chitra K. C., Latchoumycandane C., Mathur P. P. 2003, Induction of oxidative stress by Bisphenol-A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology*, 14(2): 119-127.
- [6] Concolino G., Lubrano C., Ombers M., Santonati A., et al. 1993, Acquired cystic kidney disease: the hormonal hypothesis. *Urology*, 41(2): 170-175.
- [7] Crain D.A. M., Eriksen T., Iguchi S., Jobling H., Laufer G.A., and L. J. Guillette, Jr. 2007, An ecological assessment of bisphenol-A. *evidence from comparative biology*, 24(2): 225-39.
- [8] Elshater A.A., Salman M.M.A. and Moussa M.M.A. 2009, Effect of Ginger Extract Consumption on levels of blood Glucose, Lipid profile and Kidney Function in Alloxan Induced-diabetic Rats. *Egypt. Acad. J. biology*, 2(1): 153-162.
- [9] Gonzalez-Parra E., Antonio Herrero J., Elewa U., Bosch R. J., Ortiz Arduan A., Egidio J. 2013, Bisphenol A in Chronic Kidney Disease. *International Journal of Nephrology*, pages. 9.

رادیکال‌های آزاد کنند [18] و سلول‌های بدن به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها با استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد مقابله می‌کنند. اما اگر بدن قادر به انجام این دفاع آنتی‌اکسیدانی نباشد، ترکیباتی مانند چربی‌های حاوی پیوند دوگانه در مقابل رادیکال‌های آزاد به ترکیبات پراکسید و اپوکسید تبدیل می‌گردند که به عنوان پراکسیداسیون لیپیدی شناخته می‌شود و منجر به تولید مالون‌دی‌آلدهید می‌شود [19]. از نظر بیوشیمیایی از جمله شاخص‌های مهم استرس اکسیداتیو افزایش سطح مالون‌دی‌آلدهید، نیتريت و نیترات و کاهش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دسموتاز می‌باشد [4]. در مطالعه اخیر سطح اوره و کراتینین سرم در گروه تیمار شده با بیس‌فنل آ افزایش معنی‌داری داشت. مطالعات نشان می‌دهند که افزایش میزان اوره و کراتینین خون به دلیل ضعف کلیوی، می‌تواند ناشی از آسیب و تخریب پاهای کاذب پودوسیت‌های گلومرولی و در نتیجه کاهش تماس آن‌ها با غشا پایه گلومرولی و کاهش فیلتراسیون گلومرولی باشد [21]. می‌توان اینگونه توجیه کرد که بیس‌فنل آ با ایجاد نقصان شدید در متابولیسم پروتئین‌ها و موکوپلی‌ساکاریدها در بافت کلیه و کبد می‌تواند منجر به افزایش میزان اوره و کراتینین سرم شود که مطالعه Walaa و همکارانش در سال ۲۰۱۵ نیز نشان دهنده این مطلب می‌باشد [26]. عصاره زنجبیل با داشتن ترکیباتی چون شوگالول، جینجرول و زینجیرون خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای دارد که می‌تواند با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شود

- [10] Guyton A. C., Hall J.E. 2000. Text Book Of Medical Physiology. 10th Edition. W. B. Saunders Company, London.
- [11] Helal E. G.E., Badawi M. M.M., Soliman M. G., Abdel-Kawi N. A., Fadel H. A. E., Abozaid N. M. G. 2013, Physiological and Histopathological studies on Bisphenol-A compound as xenoestrogen in male albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine Jan, 50 : 127 – 136.
- [12] Hoseini L., Roozbeh J., Sagheb M., Karbalay-Doust S., Noorafshan A. 2009, Nandrolonedecanoate increases the volume but not the length of the proximal and distal convoluted tubules of the mouse kidney. Micron, 40, pp. 226-230.
- [13] Joseph L., Heo J., Park Y., Flora J.R.V., Yoon Y. 2011, Adsorption of Bisphenol A and 17  $\alpha$ -ethinyl estradiol on single walled carbon nanotubes from seawater and brackish water. Desalination, Pages 68-74.
- [14] Korkmaz A., Aydogan M., Koankaya D., Barlas N. 2009, Vitamin C coadministration augments bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol induced oxidative damage on kidney of rats. Environmental Toxicology , 26(4):325-37.
- [15] Kundakovic M., Champagne F. 2011, Epigenetic perspective on the developmental effects of bisphenol A. journal Brain, Behavior, and Immunity, 25(6):1084-93.
- [16] Latendresse J.R., Newbold R.R., Weist C.C., Delclos K B. 2001, Polycystic kidney disease induced in F1 sprague-dawley rats fed para-Nonylphenol in a soyfree, caseincontaining diet. Toxicological Sciences, 62: 140-147.
- [17] Manishasahay. 2012. Basic Nephrology and Acute Kidney Injury. Janeza Trdine.
- [18] Niki E., Saito T., Kawakami A., et al. 1984, Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. Journal BiolChem, 259(7): 4177-4182.
- [19] Packer L., Rosen P., Tritschler H. J., King G. L., Azzi A. 2000, Oxidative stress and antioxidants: The antioxidant network,  $\alpha$ -lipoic acid and diabetes. In: Packer L. Antioxidants in diabetes management. 1st ed. Basel, Switzerland: Marcel Dekker inc, p. 1-15.
- [20] Ramudu S. K., Korivi M., Kesireddy N., Chen Ch. Y., Kuo Ch. H., and Kesireddy S. R. 2011, Ginger Feeding Protects Against Renal Oxidative Damage Caused by Alcohol Consumption in Rats. 21(3): 263–270.
- [21] Shereen B.G and Doaa M.Z. 2013, Beneficial effects of green tea extract on liver and kidney function, ultrastructure, lipid profile and hematological parameters in aged male rats. Global veterinaria, 11(2): 191-205.
- [22] Šutiakov I., Kovalkovičová N., Tulenková M., Šutiakov V. 2012, Bisphenol A And Its Potential Toxic Effects On Living Organisms. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2 (2): 526-535.
- [23] Takemura T., Yoshioka, K., Murakami K., Akano N., Okada M., Aya N., Maki S. 1994, Cellular localization of inflammatory cytokines in human glomerulonephritis. Virchows Arch, 424(5): 459–464.
- [24] Tan B. L.L., Kassim N.M., Mohd A.M. 2003, Assessment of pubertal development in juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. Toxicology letters 4(03): 378-427.
- [25] Vandenberg L.N., Maffini M.V., Sonnenschein C., Rubin B.S., Soto A.M. 2009, Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine Disruption, 30(1): 75–95.
- [26] Walaa M.S., Ahmed, Walaa A. M., Nabil T.M. 2015, Bisphenol A Toxicity in Adult Male Rats: Hematological, Biochemical and Histopathological Approach. Global Veterinaria, 14 (2): 228-238.
- [27] Zahedi A., Fathiazad F., Khaki A., Ahmadnejad B. 2012, Protective Effect of Ginger on Gentamicin-Induced Apoptosis in Testis of Rats. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2(2): 197–200.
- [28] Zahedi A., Khaki A., Ahmadi-Ashtiani H.R., Rastegar H., Rezazadeh S.h. 2010, Zingiber officinale Protective Effects on Gentamicin's Toxicity on Sperm in Rats. 9(35): 93-98.
- [29]