

اثر روغن سیاه‌دانه بر بافت کلیه موش نر پس از سمیت القاء شده با بیس فنل آ: یک مطالعه استریولوژیک

دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی^{۱*}، الهام صفری سنجانی^۲، سمیرا نادری نورعینی^۳

۱- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران. ۲- کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی.

۳- کارشناس ارشد زیست سلولی تکوینی، کلینیک درمان ناباروری امید رویان، جهاد دانشگاهی واحد استان مرکزی، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: بیس فنل آ (Bisphenol A: BPA) یک ماده تخریب کننده اندوکروینی است و به عنوان یک آلاینده زیست محیطی از طریق تولید رادیکال آزاد موجب تخریب بافتی می‌گردد. این مطالعه به منظور تعیین اثر روغن سیاه دانه در برابر سمیت ناشی از بیس فنل آ بر بافت کلیه موش نر نژاد NMRI به روش استریولوژیک انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش نر بالغ نژاد NMRI با میانگین وزنی 32 ± 3 گرم به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی کنترل، بیس فنل آ (200 mg/kg/day)، بیس فنل آ (200 mg/kg/day) توام با روغن سیاه‌دانه (5 ml/kg/day) و روغن سیاه‌دانه (5 ml/kg/day) تقسیم و به مدت ۵ هفته به صورت خوراکی تیمار شدند. در پایان، موش ها تشریح، کلیه چپ آنها خارج، فیکس، برش گیری و پاساژ بافتی شد و با استفاده از روش های بدن‌ه‌ان‌آزان رنگ آمیزی گردید. سپس مقاطع بافت کلیه با استفاده از تکنیک استریولوژی بررسی و نیز سطح مالون‌دی‌آلدئید سرم (MDA) ارزیابی شد.

یافته ها: وزن و حجم کل کلیه، حجم کورتکس، حجم لوله‌های پیچیده نزدیک و دور و حجم لومن آن، حجم بافت بینابینی، حجم گلومرول، حجم تافت و همچنین سطح MDA سرم در گروه بیس فنل آ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). متغیرهای فوق در گروه بیس فنل آ به علاوه روغن سیاه‌دانه در مقایسه با میزان آنها در گروه بیس فنل آ به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: روغن سیاه‌دانه می‌تواند موجب کاهش سمیت استرس اکسیداتیو القاء شده توسط بیس فنل آ در بافت کلیه موش شود.

کلید واژه‌ها: کلیه، بیس فنل آ، روغن سیاه‌دانه، استریولوژی، موش

* نویسنده مسؤول: دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی، پست الکترونیکی m-soleimani@araku.ac.ir

نشانی: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تلفن و نمابر ۰۸۶۳-۴۱۷۳۴۰۶

وصول مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۳، اصلاح نهایی: ۱۳۹۵/۹/۷، پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۹/۹

مقدمه

بیس فنل آ [Bisphenol A: BPA] ۲،۲- بیس (۴- هیدروکسی فنیل) پروپان یک آلاینده زیست محیطی است که به عنوان یک مونومر کلیدی در تولید پلاستیک‌های پلی کربناته و اپوکسی رزین‌ها استفاده می‌شود. پلی کربنات‌ها به طور گسترده در محصولات گوناگونی شامل ظروف نگهداری غذا، بطری شیر کودکان، بطری‌های نگهداری آب، ظروف یکبار مصرف و اپوکسی رزین‌ها در ساخت آستر قوطی کنسروهای آلومینیومی غذا و نوشابه‌ها استفاده می‌شود (۱). بنابراین انسان‌ها به واسطه مصرف موادی که این ماده در ساخت و تولید آن به کار رفته است و از طریق استنشاق یا خوردن غذا و نوشیدن آب در معرض آلودگی با این ماده قرار می‌گیرند (۲). بیس فنل آ باعث تولید گونه‌های فعال

اکسیژن (ROS)، کاهش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز، افزایش پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و پراکسیداسیون لیپیدی و در نهایت باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌گردد (۳) و از این طریق می‌تواند در اندام‌های مختلف آسیب‌های متفاوتی را ایجاد کند. از آنجایی که بیس فنل آ از طریق کلیه دفع می‌شود؛ کلیه جزء مهم‌ترین اندام هدف برای سمیت بیس فنل آ محسوب می‌شود (۴). آسیب کلیوی حاصل از بیس فنل آ به لحاظ آزمایشگاهی با بالا رفتن سطوح غلظت کراتینین و اوره سرم خون (۵ و ۶) و همچنین به لحاظ هیستوپاتولوژیکی به شکل اتساع توپول‌های کلیوی (۶)، نکروز و دژنره شدن اپی تلیوم لوله‌های کلیه در پژوهش‌های مختلف مشاهده شده است (۷).

گردید و پس از شستشوی مختصر با نرمال سالین توسط ترازو وزن و حجم اولیه آن به روش غوطه‌ورسازی اندازه‌گیری شد (۱۳). بافت‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون فیکساتور بوئن قرار داده شدند. سپس با استفاده از روش Orientator از آنها برش‌های IUR (Isotropic Uniform Random Sampling) تهیه شد. پس از طی مراحل آماده‌سازی بافت و تهیه بلوک پارافینی، با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌های ۵ میکرونی تهیه شد و به‌روی اسلاید منتقل گردید. در نهایت برش‌ها با روش Heidenhain' azan رنگ‌آمیزی شدند. به‌منظور محاسبه میزان چروکیدگی با استفاده از تروکار از سه برش ایجاد شده به روش IUR سه قطعه گرد تهیه و در هر یک دو قطر عمود بر هم اندازه‌گیری و سپس میانگین شعاع آنها حساب گردید. آنگاه با استفاده از فرمول زیر میزان چروکیدگی بافت محاسبه شد (۱۴).

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

در فرمول فوق r_{before} و r_{after} به ترتیب نشان‌دهنده میانگین شعاع قطعات دایره‌ای قبل و بعد از مراحل پاساژ بافتی و رنگ‌آمیزی است. سپس با استفاده از فرمول زیر حجم نهایی کلیه تعیین گردید.

$$V_{\text{Total}} = V_{\text{Immersion}} \times (1 - \text{volume shrinkage})$$

برای محاسبه حجم کورتکس و حجم مدولا از روش‌های استریولوژیکی استفاده گردید. به این ترتیب که با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی منظم به‌طور میانگین ۱۶ میدان دید از هر اسلاید ۵ میکرونی با قرار دادن پروب نقطه‌ای روی هر فیلد مورد بررسی قرار گرفت. در این معادله $(\sum_{i=1}^n P_{\text{total}})$ ، $(\sum_{i=1}^n P_{\text{cortex}})$ و $(\sum_{i=1}^n P_{\text{medulla}})$ به ترتیب کل نقاط برخورد کرده از پروب با کل میدان دید انتخاب شده، نقاط برخورد کرده با کورتکس و نقاط برخورد کرده با مدولا است. سپس دانسیته حجمی با استفاده از فرمول‌های زیر برای کورتکس و مدولا برآورد گردید (۱۴).

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

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

سپس حجم مطلق هر قسمت با ضرب کردن دانسیته حجمی در حجم کل کلیه $(V_{\text{cortex or medulla}} = V_{\text{v cortex or medulla}} \times V_{\text{total}})$ در هر موش به‌دست آمد.

فرمول محاسبه دانسیته حجمی اجزای کورتکس (لوله‌های پیچیده نزدیک و دور به همراه لومن و اپی‌تلیوم آنها، گلوومرولوس و

امروزه استفاده از گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانتی در برابر مسمومیت ناشی از مواد شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. از جمله می‌توان به سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) اشاره کرد که گیاهی متعلق به خانواده آلاله‌ها (*Ranunculaceae*) است و با نام رایج سیاه‌دانه شناخته می‌شود. این گیاه بومی آسیا بوده و در اروپا و آفریقای شمالی نیز کشت می‌شود. سیاه‌دانه به‌طور سنتی برای مقاصد دارویی و غذایی استفاده می‌شود و به عنوان یک داروی طبیعی در درمان بیماری‌هایی مثل آسم، پرفشاری خون، دیابت، التهاب، سرفه، برونشیت، سردرد، اگرما، تب، سرگیجه و آنفولانزا به کار می‌رود. همچنین به‌عنوان ادویه و چاشنی در غذاها کاربرد فراوان دارد (۸).

اثرات فارماکولوژیک متعددی از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، تقویت‌کننده سیستم ایمنی و آنتی‌هیستامینی از عصاره و روغن سیاه‌دانه گزارش شده است (۹). تیموکینون و مونوترین‌ها ترکیبات اصلی سیاه‌دانه هستند که پراکسیداسیون چربی غیرآنزیماتیک لیپوزوم‌ها را مهار می‌کنند. همچنین تیموکینون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است که ارگان‌ها را علیه آسیب‌های اکسیداتیو لقا شده و به‌وسیله رادیکال‌های آزاد تولید شده محافظت می‌کند (۱۰). این مطالعه به‌منظور بررسی تغییرات آسیب‌شناسی ناشی از مواجهه با بیس‌فنل‌آ و تاثیر روغن سیاه‌دانه به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت بر روی بافت کلیه موش انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۴ سر موش نر از نژاد NMRI در محدوده وزنی 32 ± 3 گرم خریداری شده از انستیتو پاستور ایران در گروه زیست‌شناسی دانشگاه اراک انجام شد.

حیوانات به‌صورت تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم و در شرایط استاندارد (دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و نور با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی) نگهداری شدند. به‌طوری که امکان دسترسی به آب و غذا برایشان فراهم بود. در راستای انجام این تحقیق سعی گردید کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردد.

گروه‌های مورد آزمایش شامل کنترل، بیس‌فنل‌آ (200 mg/kg/day)، بیس‌فنل‌آ (200 mg/kg/day)، توام با روغن سیاه‌دانه (5 ml/kg/day) و تیمار با روغن سیاه‌دانه (5 ml/kg/day) بود (۱۱). تیمار موش‌ها با بیس‌فنل‌آ و روغن سیاه‌دانه به‌توجه به تقسیم‌بندی گروه‌ها به مدت ۵ هفته (۵) و با استفاده از گاوآژ انجام گردید. بیس‌فنل‌آ ابتدا در اتانول حل و سپس در روغن ذرت رقیق گردید؛ به‌طوری که غلظت نهایی اتانول در روغن ذرت به میزان ۵/۶ درصد بود (۱۲).

پس از پایان دوره تیمار، موش‌ها توزین و توسط دی‌اتیل‌اتر بیهوش شد. پس از باز کردن حفره شکمی، کلیه چپ (به‌منظور ایجاد همسانی در نمونه‌های مورد بررسی) به دقت از محل جدا

شده در لوله‌های استریل ویژه خون‌گیری به‌وسیله دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و سرم آن در لوله‌های مخصوص سرم‌گیری در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید نگهداری شد. برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید، روش Buege و Aust مورد استفاده قرار گرفت (۱۵). برای این کار از محلول TCA-TBA-HCL شامل ۱۵ درصد تری‌کلرواستیک اسید (TCA)، ۳۷۵/۰ درصد تیوباربتوریک اسید (TBA) و اسید کلریدریک (HCL) ۲۵/۰ نرمال استفاده شد. روش کار به این صورت بود که ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه با یک میلی‌لیتر از محلول TCA-TBA-HCL مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. مایع رویی به دقت جدا و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در برابر بلانک blank خوانده شد. در این روش یک مولکول MDA با دو مولکول تیوباربتوریک اسید واکنش داده و ترکیبی با رنگ قرمز تولید می‌کند که پرتوهای با طول موج حدود ۵۳۵-۵۳۲ نانومتر را جذب می‌کند. غلظت MDA بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر (nmol/ml) محاسبه شد (۱۵). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون‌های ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به صورت Mean±SD بیان و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این مطالعه از دو جنبه کیفی (هیستوپاتولوژیک) و کمی (استریولوژیک) ارزیابی شد.

ارزیابی هیستوپاتولوژیک (کیفی): در مطالعات میکروسکوپی نوری انجام گرفته بر روی نمونه‌های بافتی کلیه در گروه کنترل (شکل ۲-A و ۱-A) و روغن سیاه‌دانه (شکل ۲-D و ۱-D)، ساختمان طبیعی بافت کلیه که دارای توبول‌های منظم، سلول‌های اپی‌تلیومی استوانه‌ای مستقر بر روی غشای پایه، فضای لومن و همچنین گلومرول‌های طبیعی بود؛ مشاهده شد و هیچگونه تغییرات آسیب‌شناختی و بافت‌شناختی مشاهده نگردید. در حالی که در گروه بیمار شده با بیس‌فنل آ، ضایعاتی از قبیل متسع شدن لومن لوله‌های پیچیده نزدیک و دور، ایجاد کاست (cast)، دژنره شدن توبول‌ها و همچنین تخریب حاشیه مسواکی لوله‌های نزدیک دیده شد (شکل ۱-B). در این گروه گلومرول‌ها نیز دچار هایپرتروفی شدند (شکل ۲-B). در گروه روغن سیاه‌دانه + بیس‌فنل آ این تغییرات پاتولوژیک تا حدودی بهبود یافته بود (شکل ۲-C و ۱-C). **ارزیابی استریولوژیک (کمی):** در گروه بیس‌فنل آ حجم کل کلیه (۰/۰۰۱ < P)، حجم کورتکس و حجم بافت بینابینی (۰/۰۰۲ < P) از نظر آماری تغییر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. به بیان دیگر در گروه بیس‌فنل آ برای تمامی این موارد افزایش معنی‌داری

بافت بینابینی) به صورت زیر است که در آن $\sum_{i=1}^n P_{total}$ کل نقاط برخورد کرده از پروب با کل میدان دید انتخاب شده و $\sum_{i=1}^n P_x$ نقاط برخورد کرده با هر کدام از اجزا است (۱۴).

$$V_{vx} = \frac{\sum_{i=1}^n P_i(x)}{\sum_{i=1}^n P_{total}}$$

سپس با استفاده از فرمول ($VX = V_{vx} \times V \text{ cortex}$) حجم لوله‌های پیچیده نزدیک و دور، لومن و اپی‌تلیوم آنها، بافت بینابینی و یا گلومرولوس با ضرب کردن دانسته حجمی در حجم کورتکس محاسبه شد. در فرمول X می‌تواند نشان‌دهنده لوله‌های پیچیده نزدیک و دور، لومن و اپی‌تلیوم آنها، بافت بینابینی و گلومرولوس باشد. با روشی مشابه حجم اجزای گلومرولوس ارزیابی شد. با این تفاوت که در اینجا از میدان‌های دید با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ استفاده شد که در فرمول مربوطه $\sum P(x)$ تعداد نقاط برخوردی با اجزای گلومرولوس و $\sum P_{glomerulus}$ تعداد نقاط برخوردی با گلومرولوس منظور گردید. در فرمول زیر X نشان‌دهنده اجزای گلومرولوس یعنی تافت، کاپیلاری، کپسول و فضای بومن است.

$$V_{vx} = \frac{\sum_{i=1}^n P_i(x)}{\sum_{i=1}^n P_{glomerulus}}$$

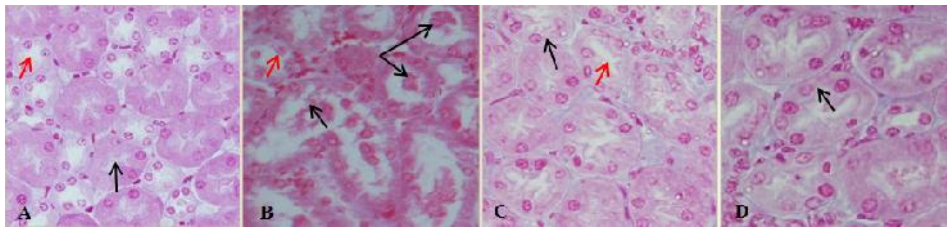
سپس حجم تافت، کاپیلاری، کپسول و فضای بومن نیز از طریق ضرب کردن دانسته حجمی هر کدام از اجزا در حجم گلومرولوس ($VX = V_{vx} \times V \text{ glomerulus}$) تخمین زده شد (۱۴).

برای محاسبه طول لوله‌های پیچیده نزدیک و دور نیز به طور تصادفی تعداد ۱۵ تا ۲۰ میدان دید از برش‌های ۵ میکرونی بافت کلیه با عدسی ۴۰ و روش تصادفی منظم انتخاب شد و با استفاده از رابطه ذیل طول لوله‌های پیچیده نزدیک و دور محاسبه شد که در آن $\sum Q_i$ مجموع لوله‌های پیچیده نزدیک و دور انتخاب شده، $\frac{q}{f}$ سطح فریم مورد نظر در مقیاس بافت و $\sum P_i$ مجموع نقاط برخورد کننده با بافت کلیه است.

$$L_v = (2) \times \frac{\sum_{i=1}^n Q_i}{\frac{q}{f} \times \sum_{i=1}^n P_i}$$

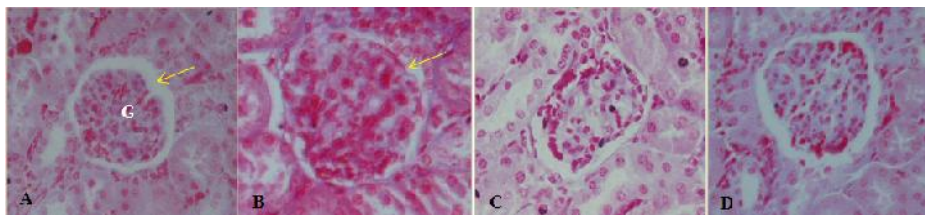
برای محاسبه طول مطلق لوله‌های پیچیده نزدیک و دور، دانسته طولی در حجم نهایی کلیه ضرب شد ($LVP = LV_v \times V_{kidney}$) (۱۴).

سنجش مالون‌دی‌آلدئید سرم: برای ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی، خون‌گیری از قلب حیوان صورت گرفت. خون جمع‌آوری



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپی از بافت کلیه موش‌های نر بالغ تیمار شده با بیس‌فل‌آ و روغن سیاه‌دانه (برش‌های ۵ میکرونی، رنگ‌آمیزی هایدن-هاین آزان، بزرگ‌نمایی ۴۰۰x)

(A) لوله‌های پیچیده نزدیک و دور با آرایش منظم سلول‌های اپی‌تلیومی همراه با حاشیه مسواکی (پیکان) و فضای لومن مشخص (پیکان قرمز) در گروه کنترل؛ (B) لوله‌های پیچیده نزدیک و دور با سلول‌های اپی‌تلیومی دژنره شده و تخریب حاشیه مسواکی (پیکان) همراه با اتساع لومن (پیکان قرمز) و ایجاد کاست در لومن لوله‌ها در گروه تیماری با بیس‌فل‌آ؛ (C) لوله‌های پیچیده نزدیک و دور با سلول‌های اپی‌تلیومی تقریباً طبیعی (پیکان) و فضای لومن مشخص (پیکان قرمز) در گروه تیماری با بیس‌فل‌آ و روغن سیاه‌دانه؛ (D) بافت و لوله‌های پیچیده نزدیک و دور طبیعی کلیه (پیکان) با ظاهری شبیه به گروه کنترل در گروه تیمار با روغن سیاه‌دانه



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپی از بافت کلیه موش‌های نر بالغ تیمار شده با بیس‌فل‌آ و روغن سیاه‌دانه (برش‌های ۵ میکرونی، رنگ‌آمیزی هایدن-هاین آزان، گلومرولوس = G، بزرگ‌نمایی ۴۰۰x)

(A) گلومرولوس با اجزاء و ساختار طبیعی (نوک پیکان نشان دهنده فضای بومن) در گروه کنترل؛ (B) گلومرولوس دچار هایپرتروفی و کاهش فضای بومن (نوک پیکان) در گروه تیماری با بیس‌فل‌آ؛ (C) گلومرولوس با ظاهری شبیه گروه کنترل در گروه بیس‌فل‌آ و روغن سیاه‌دانه؛ (D) گلومرولوس با ظاهری طبیعی و شبیه گروه کنترل در گروه تیماری با روغن سیاه‌دانه.

لومن افزایش یافت. میانگین طول لوله‌های نزدیک و دور در بین گروه‌های مختلف از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳).

علاوه بر داده‌های مربوط به بررسی‌های استریولوژیک، اطلاعات مربوط به وزن موش و کلیه در گروه‌های مختلف نیز مورد بررسی قرار گرفت. در پایان مطالعه مقایسه میانگین وزن حیوانات در گروه‌های مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد. میانگین وزن کلیه در پایان دوره تیمار در گروه بیس‌فل‌آ در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد و در گروه بیس‌فل‌آ+سیاه‌دانه نسبت به گروه بیس‌فل‌آ کاهش معنی‌داری یافت ($P<0/001$) (جدول یک). در گروه بیس‌فل‌آ نسبت به دیگر گروه‌ها از نظر MDA سرم افزایش آماری معنی‌دار وجود داشت ($P<0/001$) و در گروه تیماری همزمان سیاه‌دانه و بیس‌فل‌آ میزان MDA نسبت به گروهی که تنها بیس‌فل‌آ را دریافت کرده بودند؛ کاهش آماری معنی‌داری داشت ($P<0/001$).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر در گروه تیماری بیس‌فل‌آ تغییرات زیادی از جمله افزایش در وزن کلیه، حجم کورتکس، حجم بافت بینابینی، اتساع در لومن لوله‌های پیچیده نزدیک و دور و هایپرتروفی گلومرول‌ها دیده شد. در رابطه با افزایش وزن کلیه مطالعات دیگر نیز یافته ما را تایید می‌کند (۱۶و۴). براساس مطالعه Delclos و همکاران بیس‌فل‌آ سبب ایجاد کیست در کلیه گردید (۱۷). در انسان و حیوانات آزمایشگاهی کلیه دارای گیرنده‌های

نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. این متغیرها در گروهی که متعاقب بیس‌فل‌آ، سیاه‌دانه دریافت کرده بودند؛ به میزان معنی‌داری نسبت به گروه بیس‌فل‌آ کاهش یافت ($P<0/003$) (جدول یک). با توجه به جدول ۲، میانگین حجم لوله پیچیده نزدیک و دور در گروه بیس‌فل‌آ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($P<0/001$)؛ با این حال تفاوت آماری معنی‌داری در حجم اپی‌تلیوم لوله پیچیده نزدیک و دور در گروه بیس‌فل‌آ نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در حالی که میانگین حجم لومن لوله پیچیده نزدیک و دور در گروه بیس‌فل‌آ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافت ($P<0/001$). حجم لوله‌های پیچیده نزدیک و دور و حجم لومن آنها در گروه تیماری همزمان با بیس‌فل‌آ و سیاه‌دانه در حد گروه کنترل بود (جدول ۲).

نتایج در خصوص حجم گلومرولوس در گروه بیس‌فل‌آ نسبت به گروه‌های دیگر افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). حجم تافت در گروه بیس‌فل‌آ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<0/001$)؛ اما حجم کاپیلاری و حجم غشای کپسول بومن در بین گروه‌های مختلف موش اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد و حجم فضای بومن در گروه بیس‌فل‌آ نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری داشت ($P<0/002$) (جدول ۳). با توجه به جدول ۳ حجم گلومرول و تافت در گروه تیماری همزمان با بیس‌فل‌آ و روغن سیاه‌دانه در حد گروه کنترل کاهش و حجم

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار حجم کل کلیه، حجم مدولا، حجم کورتکس و حجم بافت بینابینی (میلی متر مکعب) و میانگین وزن کلیه (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	حجم کل کلیه	حجم کورتکس	حجم مدولا	حجم بافت بینابینی	میانگین وزن کلیه
کنترل	۱۳۹/۵۱ ± ۶/۵۳*	۱۰۶ ± ۵/۳۳*	۳۳/۵۱ ± ۷/۵*	۶/۷۹ ± ۰/۶۲*	۰/۲۱ ± ۰/۰۱*
بیس فنل آ	۱۸۴/۵۱ ± ۱۰/۴۴**	۱۳۶/۳۳ ± ۹/۸۳**	۴۸ ± ۱۲/۱۳*	۸/۷۴ ± ۰/۷۱**	۰/۲۶ ± ۰/۰۳**
بیس فنل آ + روغن سیاه دانه	۱۵۰/۵۱ ± ۱۳/۳۷*	۱۱۸/۵۱ ± ۱۰/۴۲*	۳۴ ± ۵/۸۳*	۷/۰۱ ± ۰/۷۷*	۰/۲۱ ± ۰/۰۱*
روغن سیاه دانه	۱۵۱ ± ۱۱/۱۵*	۱۱۷ ± ۲/۹۰*	۳۴ ± ۹/۴۶*	۶/۷۳ ± ۰/۷۴*	۰/۲۱ ± ۰/۰۱*

جدول ۲: مقایسه میانگین و انحراف معیار حجم لوله پیچیده نزدیک به همراه حجم لومن و اپی تلیوم (میلی متر مکعب)، حجم لوله پیچیده دور به همراه حجم لومن و اپی تلیوم (میلی متر مکعب) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	حجم لوله پیچیده نزدیک		حجم لوله پیچیده دور		طول لوله‌ها	
	حجم لومن	حجم اپی تلیوم	حجم کل	حجم لومن	لوله پیچیده دور	لوله پیچیده نزدیک
کنترل	۲۶/۳۳ ± ۰/۹۸*	۴۷/۲۶ ± ۲/۱۰*	۷۳/۵۹ ± ۲/۵۹*	۵/۹۱ ± ۰/۵۱*	۹/۲۸ ± ۰/۳۷*	۱۵/۳۱ ± ۰/۶۶*
بیس فنل آ	۳۵/۴۵ ± ۱/۳۴**	۵۱/۹۴ ± ۲/۹۵*	۸۷/۳۹ ± ۲/۴۵**	۷/۹۲ ± ۰/۷۱**	۱۰/۵۵ ± ۱/۲۴*	۱۸/۴۷ ± ۱/۸۲**
بیس فنل آ + روغن سیاه دانه	۲۶/۸۴ ± ۱/۲۱*	۵۰/۱۴ ± ۵/۰۶*	۷۶/۹۸ ± ۵/۶۳*	۶/۳۶ ± ۰/۵۵*	۱۰ ± ۰/۷۳*	۱۶/۲۶ ± ۰/۴۸*
روغن سیاه دانه	۲۵/۹۹ ± ۰/۹۰*	۴۸/۶۴ ± ۱/۸۲*	۷۴/۶۳ ± ۲/۴۷*	۵/۲۹ ± ۰/۷۰*	۹/۸۳ ± ۰/۵۸*	۱۵/۱۲ ± ۱/۲۱*

جدول ۳: مقایسه میانگین و انحراف معیار حجم گلو مریوس (میلی متر مکعب)، حجم تافت (میلی متر مکعب)، حجم کاپیلاری (میلی متر مکعب)، حجم کپسول بومن (میلی متر مکعب) و حجم فضای بومن (میلی متر مکعب) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	حجم گلو مریوس	حجم تافت	حجم کاپیلاری	حجم غشای بومن	حجم فضای بومن
کنترل	۳/۱۹ ± ۰/۷۹*	۱/۶۱ ± ۰/۳۲*	۱/۵۷ ± ۰/۴۹*	۰/۶۲ ± ۰/۲۳*	۰/۹۱ ± ۰/۲۶*
بیس فنل آ	۴/۴۲ ± ۰/۵۰**	۲/۴۱ ± ۰/۱۶**	۱/۹۵ ± ۰/۵۷*	۰/۸۱ ± ۰/۳۲*	۰/۸۱ ± ۰/۰۹**
بیس فنل آ + روغن سیاه دانه	۳/۳۰ ± ۰/۷۵*	۱/۷۲ ± ۰/۲۲*	۱/۵۸ ± ۰/۶۶*	۰/۵۹ ± ۰/۱۱*	۰/۸۴ ± ۰/۰۸*
روغن سیاه دانه	۳/۱۷ ± ۰/۳۶*	۱/۸۳ ± ۰/۲۳*	۱/۳۴ ± ۰/۲۳*	۰/۶۴ ± ۰/۰۷*	۰/۹۵ ± ۰/۰۷*

استروژن است. از طرفی به دلیل شباهت ساختاری بیس فنل آ به استروژن، اتصال آن به گیرنده‌های استروژن در سلول‌های اپی تلیال کلیه باعث فعال شدن این گیرنده‌ها و به دنبال آن افزایش تکثیر سلولی، ایجاد کیست و انسداد لوله‌های کلیوی می‌گردد (۱۸). لذا می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً افزایش وزن کلیه به دلیل تکثیر سلول‌های بافت کلیه است.

برای مشخص شدن اثرات بیس فنل آ بر روی تغییرات حجمی کلیه، کورتکس، مدولا، گلو مریوس، بافت بینابینی و لوله‌های پیچیده نزدیک و دور از روش استریولوژیک استفاده شد. در بررسی صورت گرفته در حجم کورتکس، مدولا و کل کلیه در گروه بیس فنل آ افزایش معنی‌داری مشاهده شد که با نتایج Tan و همکاران هم‌راستا است (۱۹). کلیه از دو بخش کورتکس و مدولا تشکیل شده است. افزایش حجم کورتکس ممکن است ناشی از هایپر تروفی کلیه باشد که با افزایش حجم در کلافه‌های مویرگی همراه است (۲۰). با توجه به این مطلب که بیشترین تراکم لوله‌های کلیوی در ناحیه کورتکس قرار دارد؛ بالا بودن حجم کورتکس را می‌توان به افزایش حجم لوله‌های کلیوی در این مطالعه نسبت داد. همچنین براساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ صورت گرفت؛ مشخص شد بیس فنل آ باعث نکروز سلول‌های اپی تلیومی لوله‌های کلیوی می‌شود (۷). از طرفی آتروفی و احتمالاً نکروز در لوله‌های

پیچیده نزدیک و دور نفرون‌ها می‌تواند منجر به افزایش واحدهای غیر عملکردی در کلیه‌ها شود که در این صورت هایپر تروفی (افزایش حجم) و هایپر پلازی (افزایش تعداد) نفرون‌های سالم باقی مانده و لوله‌های جمع کننده به شکل جبرانی اتفاق می‌افتد که خود می‌تواند دلیلی بر افزایش حجم بافت کلیه باشد (۲۱).

بیس فنل آ به عنوان یک آلاینده زیست محیطی باعث القاء استرس اکسیداتیو در بافت‌هایی مثل بیضه، کبد و کلیه می‌شود (۲۲). استرس اکسیداتیو از طریق افزایش بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) پودوسیت‌ها، سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های مزانشیال کلیه سبب افزایش نفوذپذیری گلو مریولی و دفع پروتئین از طریق ادرار می‌شود و از طرفی باعث افزایش بیان ژن فاکتور رشد تبدیل کننده (TGF-β)، فاکتور رشد بافت همبند (CTGF) و فاکتور رشد مشتق از پلاکت‌ها (PDGF) در سلول‌های اندوتلیال گلو مریولی، سلول‌های مزانشیال، سلول‌های توبولار، پروکسیمال، فیرو بلاست‌ها و ماکروفاژها می‌گردد (۲۳). در تایید این مطالب، نتایج مطالعه Olea-Herrero و همکاران نشان داد بیس فنل آ باعث افزایش بیان TGF-β و پروتئین‌های کلاژن نوع IV، هایپرفیلتراسیون و اتساع سلول‌های مزانشیال گلو مریول می‌شود (۲۴). در این مطالعه افزایش حجم تافت و در نتیجه گلو مریول‌ها در گروه تیماری با بیس فنل آ مشاهده شد. افزایش حجم در گلو مریول‌ها به عنوان نماینده

واحدهای ساختمانی و عملکردی کلیه، می‌تواند به‌منظور جبران عملکرد گلوامرول‌های از دست رفته، و از سوی دیگر به‌منظور تطابق با شرایط جدید و دفع مواد سمی از بدن صورت گرفته باشد. گلوامرول‌ها برای کنترل شرایط و حفظ فیلتراسیون دچار هایپرفیلتراسیون می‌شوند که این امر در نهایت منجر به افزایش حجم گلوامرول‌ها می‌گردد (۲۵).

نتایج مطالعه ما نشان داد بیس‌فنل آ به‌طور معنی‌داری باعث افزایش حجم لومن لوله‌های پیچیده نزدیک و دور می‌شود. یافته‌های حاصل از این بررسی با یافته‌های Sangai و همکاران مطابقت دارد (۵). در موش‌های صحرایی که بیس‌فنل آ را در دوزهای ۱۰، ۳۰ و به‌مدت ۳۰ روز دریافت کرده بودند؛ توبول‌های واکنش داده همراه با کاست‌های (cast) هیالینی در لومن آنها، شکل غیرطبیعی لوله‌های پیچیده نزدیک و دور، دژنره شدن لوله‌های پیچیده نزدیک و دور و همچنین اتساع لومن لوله‌های پیچیده نزدیک و دور و اتساع لوله‌های کلیوی مشاهده شد (۵و۴).

مطالعات نشان داده است که وجود اتساع نشان‌دهنده کاهش عملکرد لوله‌ها در باز جذب مواد فیلتره شده در سد پالایشی است. این وضعیت بدین گونه توجیه می‌شود که سموم مختلف با تخریب اندامک‌های سلولی باعث مختل کردن فعالیت سلول‌های پوشاننده سطح لوله‌ها و در نتیجه کاهش جذب ترشحات داخل لوله‌ها می‌شوند که به علت حجم زیاد ترشحات جذب نشده، باعث اتساع لوله‌ها خواهد شد (۲۶). بیس‌فنل آ می‌تواند باعث ایجاد خونریزی در بین لوله‌های کلیوی شود (۵) که می‌تواند یکی از علل افزایش حجم بافت بینابینی کلیه باشد. از آنجایی که بیس‌فنل آ باعث تولید ROS و رادیکال‌های آزاد می‌شود؛ می‌تواند باعث التهاب و افزایش در حجم بافت بینابینی کلیه گردد (۲۷). در بررسی حاضر بیس‌فنل آ باعث افزایش میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی یعنی مالون‌دی‌آلدئید سرم در موش‌های تیمار شده با این ماده شد. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Song و همکاران (۲۸) و Popa و همکاران (۲) از لحاظ اثر بیس‌فنل آ، در افزایش MDA همخوانی دارد. در این مطالعه تیمار همزمان روغن سیاه‌دانه با بیس‌فنل آ در گروه بیس‌فنل آ + روغن سیاه‌دانه توانست اثرات سوء بیس‌فنل آ بر بافت کلیه را تا حد زیادی جبران کند. در مطالعه‌ای مشاهده شد که روغن سیاه‌دانه باعث بهبود پارامترهای بیوشیمیایی خون و پاتولوژی کبد و کلیه در موش‌های مسموم شده با سرب می‌شود (۲۹). همچنین تجویز روغن

سیاه‌دانه به موش‌ها متعاقب تیمار با سیکلوسپورین موجب بهبود عملکرد شاخص‌های بافت‌شناسی در کلیه شده است (۳۰). روغن و اجزای فعال تشکیل‌دهنده سیاه‌دانه به ویژه تیموکینون دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی و ضدالتهابی است (۳۱) که به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانتی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد، باعث کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود و همچنین با دارا بودن خاصیت ضدالتهابی از طریق تثبیت غشاء ماست‌سل‌ها و مهار لیپوآکسیژنازها و سرکوب واسطه‌های التهابی مانند پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها اثرات ضدالتهابی خود را اعمال می‌کند (۳۲). با توجه به نتایج مطالعات گذشته در مورد نقش حفاظتی روغن سیاه‌دانه در برابر آسیب‌های اکسیداسیون در کلیه (۳۳) و خصوصیت آنتی‌اکسیدانی آن که باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی سوپراکسید دیسموتاز، گلو‌تاتیون پراکسیداز (Gpx) و یا حتی افزایش میزان کاتالاز در بافت کلیه می‌شود و با توجه به این که این آنزیم‌ها مسؤول دفاع بدن در مقابل رادیکال‌های آزاد شده ROS هستند (۳۴)؛ می‌توان بخشی از اثرهای سودمند سیاه‌دانه در مطالعه حاضر را به اثر آن در کاهش استرس اکسیداتیو به‌دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانتی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش ROS نسبت داد. با توجه به کاربردهای متنوع بیس‌فنل آ در مواد مصرفی روزمره و این که انسان به ناچار ممکن است در معرض این آلاینده زیست محیطی قرار گیرد؛ توصیه می‌شود مصرف روغن سیاه‌دانه به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت در رژیم غذایی قرار گیرد تا از عوارض جانبی مواجه با بیس‌فنل آ در شهرهای صنعتی جلوگیری شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که روغن سیاه‌دانه باعث بهبود سمیت کلیوی ناشی از بیس‌فنل آ می‌گردد. این اثر ممکن است مرتبط با خاصیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه سیاه‌دانه باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم الهام صفری (شماره ۹۲/۱۱۶/ش مورخ ۹۲/۲/۳۰) برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی سلولی تکوینی از دانشکده علوم پایه دانشگاه اراک بود. بدین وسیله از مساعدت‌های فراوان مسؤولان محترم آزمایشگاه تحقیقاتی و استریولوژی دانشگاه اراک تقدیر و سپاسگزاری می‌گردد.

References

- Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgartten FJ, Schoenfelder G. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect*. 2010 Aug; 118(8): 1055-70. doi: 10.1289/ehp.0901716
- Popa DS, Bolfa P, Kiss B, Vlase L, Pltinean R, Pop A, et al. Influence of *Genista tinctoria* L. or methylparaben on subchronic toxicity of bisphenol A in rats. *Biomed Environ Sci*.

2014 Feb; 27(2): 85-96. doi: 10.3967/bes2014.021

- Mourad IM, Khadrawy AY. The Sensitivity of Liver, Kidney and Testis of Rats to Oxidative Stress Induced by Different Doses of Bisphenol A. *International Journal of Life Science & Pharma Research*. 2012; 2(2): L19-28.
- Helal EGE, Badawi MMM, Soliman MG, Abdel-Kawi NA, Fadel HAE, Abozaid NMG. Physiological and Histopathological studies on Bisphenol-A compound as

1. xenoestrogen in male albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine (EJHM). 2013; 50: 127-36. doi: 10.12816/0000829
5. Sangai NP, Verma RJ, Trivedi MH. Testing the efficacy of quercetin in mitigating bisphenol A toxicity in liver and kidney of mice. Toxicol Ind Health. 2014 Aug; 30(7): 581-97. doi: 10.1177/0748233712457438
6. Ema M, Fujii S, Furukawa M, Kiguchi M, Ikka T, Harazono A. Rat two-generation reproductive toxicity study of bisphenol A. Reprod Toxicol. 2001 Sep-Oct; 15(5): 505-23.
7. Hassan AH, Ismail AA, Khudir AN. Effects of Pre-and Postnatal Exposure to Bisphenol- A on the Reproductive Efficacy in Male Albino Rats. Journal of Kerbala University. 2013; 11(3): 158-172.
8. Boseila AAH, Messalam AAH. Immunostimulant Effect of Different Fractions of Nigella sativa L. Seeds against Rabies Vaccine. Nature and Science. 2011; 9(2): 90-96.
9. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. Phytother Res. 2003 Apr; 17(4): 299-305.
10. Panahi M, Namjoyan F, Shakerin Z. Evaluation of antioxidant effects of nigella sativa extract on the ultra structure of neural tube defects in diabetic rats's off spring. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2011; 6(1): 16-23.
11. Begum NA, Dewan ZF, Nahar N, Rouf Mamun MI. Effect of n-Hexane extract of Nigella sativa on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Bangladesh J Pharmacol. 2006; 1(1): 16-20.
12. Sakaue M, Ohsako S, Ishimura R, Kurosawa S, Kurohmaru M, Hayashi Y, et al. Bisphenol-A Affects Spermatogenesis in the Adult Rat Even at a Low Dose. J Occup Health. 2001; 43(4): 185-190. doi: <http://doi.org/10.1539/joh.43.185>
13. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. An Acad Bras Cienc. 2003 Dec; 75(4): 469-86.
14. Hoseini L, Roozbeh J, Sagheb M, Karbalay-Doust S, Noorafshan A. Nandrolone decanoate increases the volume but not the length of the proximal and distal convoluted tubules of the mouse kidney. Micron. 2009 Feb; 40(2): 226-30. doi: 10.1016/j.micron.2008.08.004
15. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 1978; 52: 302-10.
16. Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Thomas BF, Keimowitz AR, Brine DR, et al. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. Toxicol Sci. 2002 Jul; 68(1): 121-46.
17. Delclos KB, Camacho L, Lewis SM, Vanlandingham MM, Latendresse JR, Olson GR, et al. Toxicity evaluation of bisphenol A administered by gavage to Sprague Dawley rats from gestation day 6 through postnatal day 90. Toxicol Sci. 2014 May; 139(1): 174-97. doi: 10.1093/toxsci/kfu022
18. Concolino G, Lubrano C, Ombres M, Santonati A, Flammia GP, Di Silverio F. Acquired cystic kidney disease: the hormonal hypothesis. Urology. 1993 Feb; 41(2): 170-5.
19. Tan BL, Kassim NM, Mohd MA. Assessment of pubertal development in juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. Toxicol Lett. 2003 Aug; 143(3): 261-70.
20. Heidari Z, Mahmoudzadeh Sagheb HR, Rafighdoost H, Moein AA, Noori Mougehi MH, Minaii B. A stereological study of diabetic kidney following administration of different doses of streptozotocin. DARU. 2003; 11; 3: 45-50.
21. Zahiri SH, Dezfolyan AR, Panjeh shahin MR, Mambini M, Dehghani D. [Study of stereologic method in nephrotoxicity of cisplatin the anti-neoplastic drug in male rats]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2002; 12 (37): 1-11. [Article in Persian]
22. Bindhumol V, Chitra KC, Mathur PP. Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. Toxicology. 2003 Jun; 188(2-3): 117-24.
23. Dabidi Roshan V, Savar Olya M. [Effect of Combined Regular Running Exercise and Plant Extracts on Functional and Glomerular Sclerosis Indicators of Kidney in Chronic Hypertension]. Olympic. 2012; 20(3): 45-58. [Article in Persian]
24. Olea-Herrero N, Arenas MI, Muñoz-Moreno C, Moreno-Gómez-Toledano R, González-Santander M, Arribas I, et al. Bisphenol-A induces podocytopathy with proteinuria in mice. J Cell Physiol. 2014 Dec; 229(12): 2057-66. doi: 10.1002/jcp.24665
25. Heidari Z, Mahmoudzadeh Sagheb HR, Rafighdoost H, Moien AA. [Analysis of Gross Anatomical Parameters of Kidney in Male Rats Following Lead Poisoning by Using a Stereological Method]. Tabib-E-Shargh. 2003; (5)2: 123-34. [Article in Persian]
26. Jarra BM, Taib NT. Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. Saudi Journal of Biological Sciences. 2012 Apr; 19(2): 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.12.005>
27. Klahr S. Urinary tract obstruction. Semin Nephrol. 2001 Mar; 21(2): 133-45.
28. Song S, Zhang L, Zhang H, Wei W, Jia L. Perinatal BPA exposure induces hyperglycemia, oxidative stress and decreased adiponectin production in later life of male rat offspring. Int J Environ Res Public Health. 2014 Apr; 11(4): 3728-42. doi: 10.3390/ijerph110403728
29. Farrag AR, Mahdy KA, Abdel Rahman GH, Osfor MM. Protective effect of Nigella sativa seeds against lead-induced hepatorenal damage in male rats. Pak J Biol Sci. 2007 Sep; 10(17): 2809-16.
30. Uz E, Bayrak O, Uz E, Kaya A, Bayrak R, Uz B Nigella sativa oil for prevention of chronic cyclosporine nephrotoxicity: an experimental model. Am J Nephrol. 2008; 28(3): 517-22. doi: 10.1159/000114004
31. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. Int Immunopharmacol. 2005 Dec; 5(13-14): 1749-70.
32. El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lembert N, Ammon HP. Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. J Ethnopharmacol. 2002 Jul; 81(2): 161-4.
33. Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. Toxicology. 2000 Mar; 143(3): 219-26.
34. Kanter M, Coskun O, Gurel A. Effect of black cumin (Nigella sativa) on cadmium-induced oxidative stress in the blood of rats. Biol Trace Elem Res. 2005 Dec; 107(3): 277-87.

Original Paper

Effect of *Nigella sativa* oil against Bisphenol A induced toxicity on the tissue of male NMRI mice kidney: A stereological study

Soleimani Mehranjani M (Ph.D)^{*1}, Safari Senejani E (M.Sc)², Naderi Noreini S (M.Sc)³

¹Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran. ²M.Sc in Developmental Biology.

³M.Sc in Developmental Biology, Infertility Center of Omid Royan, Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR), Arak Branch, Iran.

Abstract

Background and Objective: Bisphenol A (BPA) is an endocrine disruptor chemical and as an environmental pollutant is able to generate free radicals causing tissue damage. This study was done to investigate the effect of *Nigella sativa* oil against BPA induced toxicity on the tissue of male NMRI mice kidney by stereological method.

Methods: In this experimental study 24 adult male NMRI mice (32±3 g) were randomly allocated into control, BPA (200 mg/kg/day), BPA (200 mg/kg/day) plus *Nigella sativa* oil (5 ml/kg/day) and *Nigella sativa* oil (5 ml/kg/day) groups and treated for 5 weeks, orally. At the end, animals were sacrificed, their left kidneys were removed, fixed, sectioned, processed and stained with Heidenhain' azan staining method. Then, the kidney tissue sections were evaluated using stereological method and serum malondialdehyde (MDA) level was also measured.

Results: The total weight and volume of kidney, volume of cortex, volume of proximal and distal tubules and volume of their lumen, volume of interstitial tissue, volume of glomeruli, tuft, as well as serum MDA level significantly increased in BPA treated group compared to the controls (P<0.05). These parameters were significantly reduced in BPA plus *Nigella sativa* oil group compared to BPA ones (P<0.05).

Conclusion: This study revealed that *Nigella sativa* oil can reduce the oxidative stress toxicity induced by BPA in the mice renal tissue.

Keywords: Kidney, Bisphenol A, *Nigella sativa* oil, Stereology, Mouse

* Corresponding Author: Soleimani Mehranjani M (Ph.D), E-mail: m-soleimani@araku.ac.ir

Received 23 Jan 2016

Revised 27 Nov 2016

Accepted 29 Nov 2016