تحقیقی

اثر عصاره هیدروالکلی چای‌سبز بر بافت کلیه به دنبال سمیت القا شده توسط سدیم آرسنیت: یک مطالعه استریولوژیک

دکتر سیدمحمدعلی شریعت زاده[۱]، دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی[۲]، روژین شاه‌محمدی*[۳]، سمیرا نادری نورعینی[٤]

۱- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران. ۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

٤- کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *سدیم آرسنیت یک آلاینده زیست محیطی است که با توان تولید رادیکال آزاد می‌تواند موجب تخریب بافت شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر چای‌سبز به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی بر بافت کلیه موش‌های تیمار شده با سدیم آرسنیت انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی موش‌های نر بالغ نژاد NMRI با میانگین وزنی ۵±۳۰ گرم به طور تصادفی به ٤ گروه شش تایی کنترل، عصاره چای‌سبز (۱۰۰mg/kg/day)، سدیم آرسنیت (5mg/kg/day) و سدیم آرسنیت+چای‌سبز تقسیم و به‌مدت ۳٤ روز به صورت دهانی تیمار شدند. بعد از اتمام دوره تیمار، موش‌ها تشریح، کلیه چپ آنها خارج، فیکس، برش‌گیری و پاساژ بافتی شد و با استفاده از روش هایدن‌هان‌آزان رنگ‌آمیزی شدند. با استفاده از تکنیک استریولوژی، حجم کل کلیه، کورتکس، مدولا، لوله‌های پروکسیمال و دیستال به همراه اپی‌تلیوم و لومن آن‌ها، حجم جسمک کلیوی، گلومرولوس، تافت و کاپیلاری، غشا و فضای کپسول بومن و طول لوله پروکسیمال و دیستال مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین میزان کراتینین، اوره و مالون دی آلدئید سرم اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها : *کاهش آماری معنی‌داری در میانگین حجم کورتکس، حجم لوله نزدیک و اپی‌تلیوم و لومن آن، حجم لوله دور و لومن آن، حجم جسمک کلیوی، گلومرول و تافت و حجم فضای کپسول بومن در گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۵). این پارامترها به صورت معنی‌داری در گروه دریافت کننده چای سبز توام با سدیم آرسنیت در مقایسه با گروه دریافت کننده سدیم آرسنیت افزایش یافت (P<۰/۰۵). میزان کراتینین، اوره و مالون‌دی‌آلدئید سرم نیز افزایش آماری معنی‌داری در گروه سدیم‌آرسنیت در مقایسه با سایر گروه‌ها داشت (P<۰/۰۵). مقادیر کراتینین، اوره و مالون‌دی‌آلدئید سرم در گروه سدیم آرسنیت+چای‌سبز در سطح گروه کنترل طبیعی بود.*

نتیجه‌گیری : *چای‌سبز در مسمومیت کلیوی ناشی از سدیم ارسنیت نقش محافظتی دارد.*

کلید واژه‌ها : *کلیه ، عصاره چای‌سبز ، سدیم آرسنیت ، استریولوژی ، موش*

* نویسنده مسؤول : روژین شاه‌محمدی ، پست الکترونیکی rj.shahmohammadi@gmail.com

نشانی: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تلفن و نمابر ۰۸۶-۳٤۱۷۳٤۰۹

وصول مقاله : ۹۳/۸/۱۸ ، اصلاح نهایی : ۹۳/۹/۲۹ ، پذیرش مقاله : ۹۳/۱۰/۲۰

مقدمه

آرسنیک یک عنصر فلزی است که در خاک، هوا و آب یافت می‌شود (۱). اگرچه آرسنیک به طور گسترده در محیط اطراف وجود دارد؛ اما ندرتاً به صورت خالص در طبیعت یافت می‌شود و بیشتر به صورت اکسید پنج ظرفیتی (H3ASO4) و اکسید سه ظرفیتی (H3ASO3) وجود دارد. نمک‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم آرسنیک، ترکیبات غالب آن در طبیعت هستند (۲). به طور کلی میزان سمیت ترکیبات آرسنیک با میزان حلالیت آنها در آب و در نتیجه حلالیت در مایعات بدن در ارتباط است. از آنجایی که نمک اکسید سه ظرفیتی آرسنیک دارای حلالیت و قدرت جابجایی بیشتری نسبت به نمک اکسید پنج ظرفیتی آن است؛ از این رو اثرات سمی بیشتری نیز دارد (۱). یکی از ترکیبات آرسنیک، سدیم آرسنیت است که ماده‌ای بی‌بو و بی‌رنگ است (۳). سدیم آرسنیت بیشتر واکنش‌های آنزیمی بدن را مورد هدف قرار می‌دهد. بنابراین تقریباً روی همه ارگان‌های بدن انسان و جانوران اثر می‌گذارد (۴). آرسنیک می‌تواند در واکنش‌های اکسایش - کاهش سلولی مداخله کند و منجر به تشکیل میزان زیادی ROS از طریق یک واکنش زنجیره‌ای شود که در نهایت استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کند (۵). همچنین آرسنیک منجر به تقلیل سریع در میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم در بدن می‌شود (۶). مصرف حاد آرسنیک

می‌تواند منجر به آسیب به بافت‌های کلیه، کبد، روده و مغز شود و حتی باعث ایجاد اختلالات عملکردی در سیستم عصبی گردد (۷). مطالعات اخیر نشان داده میزان نفریت و نفروزیس در میان افرادی که آب حاوی آرسنیک می‌خورند افزایش یافته است و در چین و شیلی نیز در بین افرادی که آب حاوی آرسنیک می‌خورند؛ سرطان کلیه گزارش شده است (۸). علاوه بر این تحقیقات نشان داده‌اند تجمع آرسنیک در برخی بافت‌ها به ویژه در کلیه موجب تغییرات هیستوپاتولوژیکی در اجزای کلیه از جمله تخریب توبول‌ها و گلومرول‌ها می‌شود (۹).

چای‌سبز (*Camellia Sinensis*) از خشک کردن برگ‌های تازه چای حاصل می‌شود (۱۰). چای سبز دارای ترکیبات شیمیایی نظیر پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی، لیپیدها، استروئیدها، ویتامین‌ها، آلکالوئیدهای متیل گزانتین، رنگدانه‌ها، مواد معطر و پلی‌فنل‌ها است (۱۱). بیشترین پلی‌فنول‌های چای سبز فلاوونوئیدها هستند که بیشتر از نوع فلاوان ۳اول‌ها بوده و شامل اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات (EGCG)، اپی‌گالوکاتچین (EGC)، اپی‌کاتچین ۳ گالات (ECG) و اپی‌کاتچین (EC) است که با نام عمومی کاتچین معروف هستند (۱۰). تحقیقات نشان داده عصاره چای‌سبز دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و زدایندگی رادیکال آزاد بوده و مشخص شده کاتچین‌های چای‌سبز از پراکسیداسیون لیپیدی توسط مواد شیمیایی در کلیه و کبد حیوانات جلوگیری می‌کند (۱۲). همچنین پلی‌فنل‌های چای سبز، دارای خواص ضدسرطانی در انسان است (۱۳). با توجه به اثرات مفید و درمانی چای سبز، گمان می‌رود این گیاه بتواند از کلیه در برابر سمیت استرس اکسیداتیو سدیم آرسنیت محافظت کند؛ لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر چای سبز به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی بر بافت کلیه موش‌های تیمار شده با سدیم آرسنیت انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش نر نژاد NMRI خریداری شده از انستیتو پاستور ایران در خانه حیوانات دانشگاه اراک در شرایط استاندارد (دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد و نور محیطی با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند و اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات رعایت گردید.

موش‌های نر به چهار گروه شش تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

کنترل (دریافت کننده آب مقطر)، تیمار با سدیم آرسنیت (۵mg/kg/day) (۱۴)، تیمار با چای سبز (۱۰۰mg/kg/day) (۱۵) و تیمار با چای‌سبز+سدیم آرسنیت.

تیمار به صورت دهانی توسط گاواژ به مدت ۳۴ روز (۱۶) انجام گرفت. در پایان دوره تیمار موش‌ها به دلیل نیاز به خونگیری از قلب آنها توسط ماده بیهوش کننده دی‌اتیل‌اتر بیهوش و بعد از تشریح، کلیه چپ آنها خارج و پس از وزن کردن و تعیین حجم به روش Immersion (۱۷) در فیکساتیو بوئن فیکس گردید و با استفاده از روش orientator برش‌های IUR (۱۸) تهیه شد. پس از انجام مراحل پاساژ بافتی و تهیه بلوک پارافینی، با استفاده از میکروتوم برش‌های ۵ میکرونی تهیه و به روش هایدن هان آزان رنگ‌آمیزی شدند. به منظور محاسبه میزان چروکیدگی با استفاده از تروکار از سه برش ایجاد شده به روش IUR سه قطعه تهیه و در هر یک دو قطر عمود برهم اندازه‌گیری و سپس میانگین شعاع آنها محاسبه و به عنوان rbefor در نظر گرفته شد. بعد از مراحل پاساژ بافتی و رنگ‌آمیزی، مجدداً دو قطر عمود بر هم در سه قطعه مذکور، اندازه‌گیری و میانگین شعاع آنها به صورت rafter محاسبه شد. سپس با استفاده از فرمول زیر میزان چروکیدگی بافت محاسبه گردید (۱۹).

$$Shirinkage = -1\left(\frac{r_{after}^{2}}{r_{befor}^{2}}\right)^{\frac{3}{2}}$$

با استفاده از فرمول 1-Shirinkage، حجم نهایی نسبت به حجم اولیه محاسبه گردید و سپس با ضرب آن در حجمی که به روش Immersion به دست آمده بود حجم واقعی کلیه به دست آمد.

برای محاسبه حجم کورتکس و حجم مدولا با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی منظم به طور میانگین ۱۶ میدان دید از هراسلاید ۵ میکرونی با قرار دادن پروب نقطه‌ای روی هر فیلد مورد بررسی قرار گرفت. سپس دانسیته حجمی با استفاده از فرمول‌های زیر برای کورتکس و مدولا محاسبه گردید (۲۰).

$$Vv\ cortex = \frac{\sum_{i=1}^{n} Pcortex}{\sum_{i=1}^{n} Ptotal}$$

$$\text{Vv } medolla = \frac{\sum_{i=1}^{n} Pmedolla}{\sum_{i=1}^{n} Ptotal}$$

سپس حجم کورتکس و مدولا به طور جداگانه از طریق ضرب کردن دانسیته حجمی هر یک در حجم کل کلیه در هر موش محاسبه شد. برای محاسبه حجم اجزای (کورتکس) لوله‌های نزدیک و دور به همراه لومن و اپی‌تلیوم آنها، گلومرولوس و بافت بینابینی نیز با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی منظم به طور میانگین ۱۶ میدان دید از هر اسلاید ۵ میکرونی با قرار دادن پروب

نقطه‌ای روی هر فیلد مورد بررسی قرار گرفت و دانسیته حجمی هر یک با استفاده از فرمول زیر که در آن x می‌تواند نشان‌دهنده لوله‌ها، لومن و اپی‌تلیوم آنها، بافت بینابینی و گلومرولوس باشد؛ محاسبه شد (۲۱و۲۲).

$$Vvx = \frac{\sum_{i=1}^{n} p(x)}{\sum_{i=1}^{n} ptotal}$$

سپس با استفاده از فرمول زیر حجم لوله‌ها، لومن و اپی‌تلیوم آنها، بافت بینابینی و یا گلومرولوس به طور جداگانه از طریق ضرب کردن دانسیته حجمی هر کدام در حجم کورتکس محاسبه شد.

$$Vx=Vcortex \times Vvx$$

در فرمول فوق X می‌تواند نشان‌دهنده لوله‌ها، لومن و اپیتلیوم آنها، بافت بینابینی و گلومرولوس باشد.

برای محاسبه اجزای گلومرولوس نقاط برخورد کرده با هر یک از اجزا را بر کل نقاط برخورد کرده با گلومرولوس تقسیم کرده و سپس دانسیته حجمی هر جزء با استفاده از فرمول زیر که در آن x می‌تواند نشان‌دهنده هر یک از اجزا گلومرولوس یعنی تافت، کاپیلاری، فضا و غشای کپسول بومن باشد؛ محاسبه شد.

$$Vvx = \frac{\sum_{i=1}^{n} p(x)}{\sum_{i=1}^{n} pglomerolus}$$

سپس حجم هر یک از اجزا از طریق ضرب کردن دانسیته حجمی هر کدام در حجم گلومرولوس به شکل زیر محاسبه شد.

$$Vx=Vglomerolus \times V\square x$$

در فرمول بالا X می‌تواند نشان‌دهنده هر کدام از اجزا گلومرولوس باشد.

برای محاسبه طول لوله‌های نزدیک و دور نیز به طور تصادفی تعداد ۱۶ میدان دید از برش‌های ۵ میکرونی بافت کلیه با عدسی ۴۰ و روش تصادفی منظم انتخاب شد و با استفاده از فرمول زیر طول لوله‌های دور و نزدیک محاسبه شد.

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

در فرمول بالا ΣQi مجموع لوله‌های انتخاب‌شده، سطح فریم مورد نظر در مقیاس بافت و مجموع ΣPi نقاط برخوردکننده با بافت کلیه است. برای محاسبه طول مطلق لوله‌ها، با استفاده از فرمول زیر دانسیته طولی در حجم نهایی کلیه ضرب شد (۱۸و۱۹).

$$L(V) = V(Kidney) \times L_v(V)$$

بررسی میزان استرس اکسیداتیو از طریق سنجش میزان مالون دی‌آلدئید (MDA): برای اندازه‌گیری مالون دی آلدئید از روش Buege و Aust استفاده شد. در این روش MDA با تیوباربیوتوریک اسید واکنش داده و ترکیبی با رنگ نارنجی تولید می‌کند که پرتوهایی با طول موج ۵۳۵-۵۳۲ نانومتر را جذب و بر حسب nmol/ml بیان می‌کند (۲۳).

سنجش میزان سرمی کراتینین و نیتروژن - اوره خون با روش فتومتریک: نمونه‌های سرمی آماده نگهداری شده در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد را به منظور اندازه‌گیری کراتینین و اوره- نیتروژن خون به آزمایشگاه تشخیص طبی انتقال داده و پارامترهای ذکر شده با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون با روش فتومتریک و با دستگاه اتوآنالیز اندازه‌گیری و بر حسب mg/dl بیان شد.

داده‌ها با استفاده از SPSS-16 و ۱۶ و روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (Oneway ANOVA) و تست آماری Tukey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تغییرات هیستوپاتولوژیک: ساختمان طبیعی بافت کلیه به همراه توبول‌های منظم، سلول‌های اپی‌تلیومی استوانه‌ای مستقر بر روی غشاء پایه، فضای لومن و گلومرول‌های طبیعی در گروه‌های کنترل و عصاره چای‌سبز مشاهده شد (شکل ۱- A و D).

در گروه تیمار شده با سدیم آرسنیت، سلول‌های اپی‌تلیومی توبول‌ها از غشاء پایه جدا شده و به سمت داخل لومن رانده شده و از قسمت‌های دیگر نفرون بیشتر آسیب دیده بود (شکل۱- B). در این گروه گلومرولوس‌ها چروکیده و آتروفی شده بود و فضای کپسول بومن نیز کاهش یافت (شکل۲- B). در گروه سدیم آرسنیت+چای سبز این تغییرات هیستوپاتولوژیک تا حدودی بهبود یافت (شکل۲- C).

حجم کل کلیه، حجم کورتکس و اجزی آن و حجم مدولا: از مقایسه میانگین حجم کل کلیه و حجم مدولا پس از اتمام دوره تیمار در بین گروه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول یک).

میانگین حجم کورتکس در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها کاهش آماری معنی‌داری داشت ($P<0/02$) (جدول یک).

جدول ۱: میانگین حجم کلیه، حجم مدولا و حجم کورتکس
در گروه‌های مختلف موش نر بالغ ۳٤ روز پس از تیمار با سدیم‌آرسنیت و چای‌سبز

گروه‌ها	حجم کلیه (mm3)	حجم کورتکس (mm3)	حجم مدولا (mm3)
کنترل	۱٦۵/۳۳± ٦/۲۲	۱۳۲± ۷/۰٤	۳۳/۱۷± ٤/۰۷
سدیم آرسنیت	۱۵۰/۳۳±۸/۵۵	۱۱۸/۵۰± ۵/۵٤ *	۳۱/۸۳± ۱۱/۳٤
سدیم آرسنیت + چای‌سبز	۱٦۱/۸۳±۸/۹۱	۱۳۰/۸۳± ٦/۹۹ **	۳۱± ۷/۱۵
چای‌سبز	۱٦٤/۳۳± ۱۳/۲۳	۱۳۳/۵۰± ۹/۳۱	۳۰/۸۳± ٦/۲٤

* مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل (P<۰/۰۲)
** مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت توأم با عصاره چای‌سبز نسبت به گروه سدیم آرسنیت (P<۰/۰٤)

جدول ۲: میانگین حجم لوله نزدیک و دور به همراه حجم لومن و اپی‌تلیوم آنها و حجم بافت بینابینی
در گروه‌های مختلف موش نر بالغ ۳٤ روز پس از تیمار با سدیم آرسنیت و چای‌سبز

گروه‌ها	حجم پروکسیمال توبول (mm3)			حجم دیستال توبول (mm3)			حجم بافت بینابینی (mm3)
	حجم کل	حجم اپی‌تلیوم	حجم لومن	حجم کل	حجم اپی‌تلیوم	حجم لومن	
کنترل	۹۲/۰۸± ۳/۲۷	۵۹/۹۹± ۲/۲۸	۳۲/۰۹± ۱/٦۰	۱۹/۳۰± ۲/۲۲	۱۱/۵۰± ۱/۸٤	۷/۸۰± ۰/۵۱	۷/۸۵± ۰/۵۲
سدیم آرسنیت	۷۲/٤۵± ۳/۲۷ a1	٤٤/۳۵± ۲/۸۵ a2	۲۸/۱۰± ۱/٤۵ a3	۱۵/۹۱± ۱/۲۲ a4	۹/٤٤± ۰/۷۷	٦/٤۷± ۰/٦٤ a5	٦/۸۱± ۰/۸۷
سدیم آرسنیت+ چای‌سبز	۹۰/۱۱± ۵/٤۲ b1	۵۸/۹٦± ۵/۷۹ b2	۳۱/۱۵± ۱/۹٦ b3	۱۸/۲۹± ۱/۰٤	۱۰/۵۲± ۰/۷۱	۷/۷۸± ۰/٤۸ b4	۷/٦۳± ۰/۵۱
چای‌سبز	۸۹/٤۲± ٤/۱۸	۵۸/۵۰± ۳/٦۳	۳۰/۹۲± ۱/۲۸	۱۸/۸۵± ۲/۰۵ c	۱۰/٦٤± ۱/۵۳	۸/۲۱± ۰/۷٦	۷/۵۷± ۱/۱۱

a مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل، a1 (P<۰/۰۰۱)، a2 (P<۰/۰۰۱)، a3 (P<۰/۰۰۲)، a4 (P<۰/۰۱)، a5 (P<۰/۰۰٦)
b مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت توأم با عصاره چای‌سبز نسبت به گروه سدیم آرسنیت، b1 (P<۰/۰۰۱)، b2 (P<۰/۰۰۱)، b3 (P<۰/۰۱)، b4 (P<۰/۰۰۷)
c مقایسه آماری گروه چای‌سبز نسبت به گروه سدیم آرسنیت (P<۰/۰۳)

جدول ۳ : میانگین حجم گلومرولوس، حجم تافت، حجم کاپیلاری، حجم غشای بومن، حجم فضای بومن و حجم جسمک کلیوی
در گروه‌های مختلف موش نر بالغ ۳٤ روز پس از تیمار با سدیم آرسنیت و چای‌سبز

گروه‌ها	حجم گلومرول	حجم تافت	حجم کاپیلاری	حجم غشای بومن	حجم فضای بومن	حجم جسمک کلیوی
کنترل	۳/٤۰± ۰/۷۳	۱/۷۸± ۰/۳۱	۱/٦۲± ۰/٤۳	۰/٦۷± ۰/۱۰	۱/۰٦± ۰/۰۹	۵/۰۸± ۰/۷۱
سدیم آرسنیت	۰/۱۲± ۰/۵۰ a1	۰/۹۹± ۰/۳٤ a2	۱/۱۳± ۰/۳۰	۰/٦۷± ۰/۱۳	۰/۸٤± ۰/۱۵ a3	۳/٦۰± ۰/۵۷ a4
سدیم آرسنیت+ چای‌سبز	۳/۳۹± ۰/۳۱ b1	۱/۵۹± ۰/۱۷ b2	۱/۸۰± ۰/۲۵	۰/۷۰± ۰/۱۳	۰/۹۲± ۰/۰۳	٤/۹۸± ۰/۳۷ b3
چای‌سبز	۳/٦۵± ۰/٦٦	۱/٦٤± ۰/۱۷	۱/۹٦± ۰/٦٦ c1	۰/٦۹± ۰/۰۸	۱/۱٦± ۰/۱۲ c2	۵/۳۹± ۰/۷۸

a مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل، a1 (P<۰/۰۰۵)، a2 (P<۰/۰۰۱)، a3 (P<۰/۰۱)، a4 (P<۰/۰۰۳)
b مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت توأم با عصاره چای‌سبز نسبت به گروه سدیم آرسنیت، b1 (P<۰/۰۰۵)، b2 (P<۰/۰۰۳)، b3 (P<۰/۰۰٦)
c مقایسه آماری گروه عصاره چای‌سبز نسبت به گروه سدیم آرسنیت، c1 (P<۰/۰۱)، c2 (P<۰/۰۰۱)

جدول٤ : مقایسه طول لوله‌های نزدیک و دور در گروه‌های مختلف موش نر بالغ ۳٤ روز پس از تیمار با سدیم آرسنیت و چای‌سبز

گروه‌ها	طول لوله نزدیک (mm)	طول لوله دور (mm)
کنترل	٤٦/۳۲± ۳/٤۵	۳۸/۱۷± ۱/۸۳
سدیم آرسنیت	۵۱/۳٦± ۵/۱۰	٤۰/۹۳± ۱/۹۹
سدیم آرسنیت+ چای‌سبز	٤۷/۷۱± ۳/۵۳	۳۸/۱۸± ۱/۹۸
چای‌سبز	٤۸/۱٤± ۵/٦۰	۳۹/۰۲± ۲/۸۵

جدول ۵ : میانگین وزن موش و وزن کلیه در گروه‌های مختلف موش نر بالغ ۳٤ روز پس از تیمار با سدیم آرسنیت و عصاره چای‌سبز

گروه‌ها	میانگین وزن موش قبل از دوره تیمار (g)	میانگین وزن موش در پایان دوره تیمار (g)	میانگین وزن کلیه موش (mg)
کنترل	۳٤/۷۵± ۲/۵۰	۳۵/۹۵± ۳/٦٤	۰/۲۳± ۰/۰۱
سدیم آرسنیت	۳۳/۲٤± ۲/۹۳	۳٤/۵۵± ۲/٤۰	۰/۲۱± ۰/۰۲
سدیم آرسنیت+ چای‌سبز	۳٤/۱۸± ۱/۷۹	۳٤/٦۳± ۳/۳٦	۰/۲۲± ۰/۰۱
چای‌سبز	۳٤/٤۵± ۱/۲٦	۳٦/۷۲± ۱/۷۲	۰/۲۳± ۰/۰۳

جدول ٦ : میزان مالون دی آلدئید، کراتینین و اوره - نیتروژن سرم در گروه‌های مختلف موش نر بالغ ٣٤ روز پس از تیمار با سدیم آرسنیت و چای‌سبز

گروه‌ها	مالون دی آلدئید	کراتینین (mg/dl)	اوره- نیتروژن (mg/dl)
کنترل	٤/٢٢± ٠/٣٠	٠/٥٢± ٠/٠٤	٢١/٥٧± ٣/٩٠
سدیم آرسنیت	٦/٢٠± ٠/٢٤ a1	١/٥٦± ٠/٤٦ a2	٥٥/٩٢± ٣٠/٣٨ a3
سدیم آرسنیت+ چای‌سبز	٤/٨٤± ٠/٤٤ b1	٠/٦٨± ٠/٠٩ b2	٢١/٣٢± ٤/١٧ b3
چای‌سبز	٤/١٨± ٠/٥٠	٠/٦٠± ٠/٠٥	٢٢/٩١± ٤/٥٢

a مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل، a1 (P<٠/٠٠١)، a2 (P<٠/٠٠١)، a3 (P<٠/٠٣)
b مقایسه آماری گروه سدیم آرسنیت توأم با عصاره چای‌سبز نسبت به گروه سدیم آرسنیت، b1 (P<٠/٠٠١)، b2 (P<٠/٠٠١)، b3 (P<٠/٠٠٣)
c مقایسه آماری گروه چای‌سبز نسبت به گروه سدیم آرسنیت (P<٠/٠٠١) و سدیم آرسنیت توأم با چای‌سبز (P<٠/٠٣)

از مقایسه میانگین حجم لوله نزدیک (P<٠/٠٠١)، حجم اپی‌تلیوم (P<٠/٠٠١) و حجم لومن آن (P<٠/٠٠٢) در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها کاهش آماری معنی‌داری مشاهده شد (جدول ٢).

میانگین حجم لوله دور در گروه سدیم‌آرسنیت نسبت به گروه کنترل (P<٠/٠١) و گروه چای‌سبز (P<٠/٠٣) کاهش آماری معنی‌داری نشان داد؛ اما نسبت به گروه سدیم آرسنیت+چای سبز تفاوت آماری معنی‌داری یافت نشد. از مقایسه حجم اپی‌تلیوم لوله دور در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. از طرفی، میانگین حجم لومن این لوله در گروه سدیم آرسنیت نسبت به هر سه گروه کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<٠/٠٠٦) (جدول ٢).

از مقایسه حجم بافت بینابینی در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ٢).

از مقایسه حجم کل گلومرولوس (P<٠/٠٠٥)، حجم تافت (P<٠/٠٠١) و حجم جسمک کلیوی (P<٠/٠٠٣) در گروه‌های مختلف، کاهش آماری معنی‌داری در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده گردید (جدول ٣). حجم کاپیلاری در گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل و گروه سدیم‌آرسنیت+چای سبز تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد. در حالی که نسبت به گروه چای سبز کاهش آماری معنی‌دار بود (P<٠/٠١) (جدول ٣). میانگین حجم غشای کپسول بومن در بین گروه‌های مختلف موش اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد. میانگین حجم فضای کپسول بومن در گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل (P<٠/٠١) و گروه چای‌سبز (P<٠/٠٠١) کاهش آماری معنی‌داری داشت؛ اما نسبت به گروه سدیم آرسنیت+چای‌سبز تفاوت آماری معنی‌دار نبود. همچنین فضای کپسول بومن در گروه سدیم آرسنیت نسبت به گروه کنترل (P<٠/٠١) و عصاره چای‌سبز (P<٠/٠٠١) کاهش آماری معنی‌داری داشت (جدول ٣). از مقایسه میانگین طول توبول دیستال و پروکسیمال در بین گروه‌های مختلف موش تفاوت آماری معنی‌داری دیده نشد (جدول۴).

وزن موش و کلیه (گرم): میانگین وزن موش قبل از شروع تیمار در بین گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. همچنین از مقایسه میانگین وزن موش و وزن کلیه پس از اتمام دوره تیمار نیز در بین گروه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۵).

میزان مالون دی آلدئید، کراتینین و اوره- نیتروژن سرم خون: میزان مالون‌دی‌آلدئید سرم در بین گروه‌های مختلف موش افزایش آماری معنی‌داری را در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد (P<٠/٠٠١). همچنین در گروه سدیم آرسنیت+چای‌سبز افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه تیمار با چای‌سبز مشاهده شد (P<٠/٠٣) (جدول ۶).

از مقایسه میزان کراتینین (P<٠/٠٠١) و اوره- نیتروژن سرم خون (P<٠/٠٣) در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها افزایش آماری معنی‌داری دیده شد (جدول ۶).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر در موش‌های تیمار شده با سدیم آرسنیت، کاهش در حجم کورتکس، تخریب سلول‌های اپی‌تلیومی لوله‌های دور و نزدیک و کاهش در حجم آنها، آتروفی گلومرول‌ها و افزایش در میزان مالون دی آلدئید، اوره و کراتینین سرم مشاهده شد.

مطالعات انجام شده حاکی از تمایل بالای سدیم آرسنیت در اتصال به لیگاندهای حاوی سولفور است و از این طریق با مختل کردن عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون ردوکتاز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود (۲۴) و پراکسیداسیون لیپیدها را (MDA) افزایش می‌دهد (۲۵). در نتیجه اسیدهای چرب غیراشباع در غشای سلولی از بین رفته و منجر به تخریب غشاء سلول می‌شود (۲۶) که می‌تواند از دلایل کاهش حجم سلول‌ها و در نهایت کاهش حجم کلیه باشد.

در مسمومیت‌های ایجاد شده در کلیه، سلول‌های اپی‌تلیومی توبول‌ها معمولاً بیشتر تحت تاثیر سم قرار می‌گیرند و با توجه به این که این قسمت از نفرون نقش مهمی در ترشح مواد آلی و سموم مختلف دارد؛ نسبت به دیگر قسمت‌ها آسیب‌پذیرتر است (۲۷). در نتیجه می‌توان گفت اثرپذیری کورتکس با حجم وسیعی از توبول‌ها

نسبت به اثر سمی سدیم آرسنیت بالا بوده و در این مطالعه نیز کاهش حجم کورتکس را شاهد بودیم.

تجمع آرسنیک در برخی بافت‌ها به‌ویژه در کلیه موجب تغییرات هیستوپاتولوژیکی در اجزای کلیه از جمله تخریب توبول‌ها می‌شود (۲۸). سدیم آرسنیت می‌تواند تغییرات متابولیکی را در توبول پروکسیمال ایجاد کند (۱۸) که در نهایت منجر به نفروتوکسیسیتی شود (۲۹). همچنین مشخص شده به دلیل فعالیت جذب و ترشح لوله‌های نزدیک غلظت متابولیت‌های سمی در این سلول‌ها بیشتر از سایر قسمت‌ها است (۳۰) و در نتیجه بیشترین آسیب سدیم‌آرسنیت شامل این توبول‌ها می‌گردد و در مطالعه ما نیز کاهش حجم این توبول‌ها را شاهد بودیم.

دراین مطالعه حجم اپی‌تلیوم توبول پروکسیمال نیز کاهش معنی‌داری را در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. با توجه به این که سلول‌های اپی‌تلیومی توبول‌های کلیوی قادر به جذب آرسنات و تبدیل آن به آرسنیت هستند؛ بیشتر از سلول‌های دیگر تحت تاثیر سمیت سدیم آرسنیت قرار می‌گیرند و آسیب به آنها بارزتر است (۲۸). بنابراین با توجه به نقش این سلول‌ها در متابولیسم سم‌زدایی و ترشح مواد آلی و یونی (سموم و داروهای مختلف) و در نتیجه تماس بیشتر با سدیم آرسنیت، کاهش حجم آنها قابل انتظار است (۲۷).

دژنره شدن سلول‌های اپیتلیوم توبول‌های کلیوی ناشی از اثر پراکسیداسیون لیپیدی سدیم آرسنیت بوده و از آنجایی که کلیه غنی از فسفولیپیدها است؛ مستعد تخریب ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی توسط سدیم آرسنیت است (۳۱).

سدیم آرسنیت پروتئین‌ها را مورد هدف قرار داده و باعث تخریب آنها می‌شود و از آنجایی که غشاء پایه از لایه قاعده‌ای مویرگ و لایه قاعده‌ای پودوسیت (سلول‌های تشکیل‌دهنده تافت) تشکیل شده و پروتئین‌های کلاژن از اجزای اصلی آن به شمار می‌آیند (۳۲)؛ پشتیبان گلومرول بوده و می‌تواند دلیلی بر کاهش حجم گلومرول و تافت باشد (۳۳).

در این مطالعه حجم کل جسمک کلیوی کاهش معنی‌داری در گروه سدیم آرسنیت نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. از آنجایی که بیشترین حجم جسمک کلیوی را گلومرولوس تشکیل داده و با توجه به این که ما در این مطالعه شاهد کاهش حجم گلومرولوس بودیم و نیز مطالعات انجام شده حساسیت بالای گلومرولوس به سدیم آرسنیت را عاملی بر آتروفی و دژنره شدن گلومرول‌ها نشان می‌دهد (۱۶) و نیز نقش سدیم آرسنیت در پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان عامل دخیل در کاهش حجم گلومرولوس (۳۴)؛ می توان کاهش حجم جسمک کلیوی را قابل انتظار دانست.

رادیکال‌های آزاد مولکول‌هایی هستند که به خاطر داشتن حداقل یک جفت الکترون جفت نشده از نظر شیمیایی بسیار فعال و واکنش‌پذیر هستند. به‌طوری که قادرند با انواع ماکرومولکول‌های زیستی واکنش داده و منجر به اکسیداسیون آنها شوند (۳۵). از بین این مواد چربی‌ها نسبت به رادیکال‌های آزاد دارای بیشترین حساسیت هستند که منجر به ضایعه اکسیداتیو می‌شوند و اثر این رادیکال‌ها توسط سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به طور طبیعی خنثی می‌گردد (۳۶). افزایش رادیکال‌های آزاد و یا کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است باعث تخریب اکسیداسیونی سلولی اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه موجود در ساختمان غشاء سلولی شود که به عنوان پراکسیداسیون لیپید شناخته می‌شود. در صورتی که این تخریب اکسیداسیونی شروع شود؛ به‌طور زنجیروار ادامه یافته و مالون‌دی‌آلدئید تولید می‌شود. این وضعیت در نهایت ممکن است باعث مرگ سلولی همراه با علایم گسترده بیماری شود (۳۷).

گلوتاتیون ردوکتاز یکی از آنزیم‌های مهم آنتی اکسیدانی بدن است که دارای گروه سولفیدریل (SH-) در ساختارش بوده و نقش مهمی را در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد در بدن بر عهده دارد (۳۸) و از آنجایی که سدیم آرسنیت تمایل زیادی به پیوستگی به ترکیبات دارای گروه (SH-) دارد (۳۹)؛ با اتصال به آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز مانع از عملکرد آن شده و منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود.

در این مطالعه میزان MDA سرم در موش‌های تیمار شده با سدیم‌آرسنیت افزایش معنی‌داری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد که هم راستا با دیگر مطالعات است (۴۰).

Ammonia یکی از محصولات متابولیسم پروتئین‌ها است که در کبد به اوره تبدیل و به کلیه‌ها فرستاده شده و توسط آنها از طریق ادرار دفع می‌شود. کراتینین نیز محصول نهایی متابولیسم پروتئین‌ها است که توسط کلیه‌ها از بدن دفع می‌شود. افزایش غلظت این دو متغیر در خون نقص در عملکرد کلیه را نشان می‌دهد (۴۱).

سدیم آرسنیت با افزایش رادیکال‌های آزاد و کاهش توان سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی بدن منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو شده (۳۹) و از آنجایی که اندام هدف آن کلیه است؛ منجر به ضعف عملکردی کلیه شده و با تخریب سلولی، فیلتراسیون کلیوی را کاهش داده و دفع این مواد از بدن کاهش یافته و در نتیجه میزان آن در خون بالا می‌رود.

مطالعات دیگر نیز حاکی از آن است که افزایش میزان اوره و کراتینین خون به دلیل ضعف کلیوی، ناشی از آسیب و تخریب پاهای کاذب پودوسیت‌های گلومرولی و در نتیجه کاهش تماس آن با غشای پایه گلومرولی و کاهش فیلتراسیون گلومرولی است (۴۲).

در این مطالعه تیمار همزمان چای سبز با سدیم آرسنیت توانست

اثرات سوء سدیم آرسنیت بر بافت کلیه را تا حد زیادی جبران کند. همچنان که مطالعه حاضر نشان می‌دهد و طبق نتایج مطالعه قبلی (۱۸)، چای سبز به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی می‌تواند سطح ROS را در کلیه کاهش دهد (۴۲) و در برطرف کردن اثرات سوء سدیم آرسنیت بر بافت کلیه نقش عمده‌ای ایفا نماید. بیشترین ترکیبات چای‌سبز را پلی‌فنول‌ها تشکیل داده‌اند (۱۰) که اپی‌گالوکاتچین ۳ گالات (EGCG) یکی از مهم‌ترین این ترکیبات است و خاصیت آنتی‌اکسیدان بالای آن در بسیاری از موارد از اسیدآسکوربیک و ویتامین E قوی‌تر است (۱۰). این ترکیبات به دلیل داشتن گروه فنول جذب کننده‌های نیرومندی برای رادیکال‌های آزاد (هیدروکسید و سوپراکسید) هستند که یک الکترون دریافت می‌کنند و تشکیل رادیکال‌های پایدار فنوکسیل می‌دهند و موجب اختلال در واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون در سلول شده و از پراکسیداسیون لیپیدی و آثار مخرب آن جلوگیری می‌کند (۴۳). همچنین پلی‌فنول‌های چای‌سبز توانایی القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون گلوتاتیون پروکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز، کوئینون ردوکتاز و سوپراکسید دسموتاز را در بافت‌های گوناگون از خود نشان می‌دهند و منجر به افزایش کارایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن در برابر رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از آثار تخریبی آن‌ها در بدن می‌شوند (۴۳).

در نتیجه چای سبز در این مطالعه توانست از اثر مهاری بر روی آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن و القای استرس اکسیداتیو توسط سدیم آرسنیت جلوگیری کرده و بافت کلیه را از آثار مخرب سدیم آرسنیت محافظت کند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که چای‌سبز به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی می‌تواند اثرات تخریبی ناشی از تیمار با سدیم آرسنیت را بر روی بافت کلیه موش جبران کند. بنابراین توصیه می‌شود از چای سبز به عنوان یک مکمل در مسمومیت‌های ناشی از سدیم آرسنیت استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم روژین شاه محمدی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست سلولی تکوینی از دانشکده علوم پایه دانشگاه اراک بود و با حمایت مالی حوزه معاونت محترم پژو هشی و فناوری دانشگاه اراک به انجام رسید. بدین وسیله از همکاری مسؤولین آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه اراک صمیمانه تشکر می‌نماییم.

References

1. Pradosh R, Anupama S. Metabolism and toxicity of arsenic: a human carcinogen. Current Science. 2002; 82(1): 38-45.

2. Aronson SM. Arsenic and old myths. R I Med. 1994 Jul; 77(7):233-4.

3. Sprando RL, Collins TF, Black T, Olejnik N, Ramos-Valle M, Ruggles D. Acute toxicity of sodium arsenite in a complex food matrix. Food Chem Toxicol. 2007 Sep;45(9):1606-13.

4. Mazumder DN. Effect of chronic intake of arsenic-contaminated water on liver. Toxicol Appl Pharmacol. 2005 Aug; 206(2):169-75.

5. Liu L, Trimarchi JR, Navarro P, Blasco MA, Keefe DL. Oxidative stress contributes to arsenic-induced telomere attrition, chromosome instability, and apoptosis. J Biol Chem. 2003 Aug; 278(34):31998-2004.

6. Modi M, Kaul RK, Kannan GM, Flora SJ. Co-administration of zinc and n-acetylcysteine prevents arsenic-induced tissue oxidative stress in male rats. J Trace Elem Med Biol. 2006;20(3):197-204.

7. Kimura A, Ishida Y, Hayashi T, Wada T, Yokoyama H, Sugaya T, et al. Interferon-gamma plays protective roles in sodium arsenite-induced renal injury by up-regulating intrarenal multidrug resistance-associated protein 1 expression. Am J Pathol. 2006 Oct; 169(4):1118-28.

8. Lewis DR, Southwick JW, Oulet-Helstrom R, Rench J, Calderon RL. Drinking water arsenic in Utah: a cohort mortality study. Environ Health Perspect. 1999 May; 107(5):359-65.

9. Roy S, Bhattacharya S. Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of Channa punctatus. Ecotoxicol Environ Saf. 2006 Oct;65(2):218-29.

10. Chen D, Wan SB, Yang H, Yuan J, Chan TH, Dou QP. EGCG, green tea polyphenols and their synthetic analogs and prodrugs for human cancer prevention and treatment. Adv Clin Chem. 2011;53:155-77.

11. Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nishigak I. Beneficial effects of green tea: A literature review. Chin Med. 2010; 5:13. doi: 10.1186/1749-8546-5-13

12. Ostrowska J, Skrzydlewska E. The comparison of effect of catechins and green tea extract on oxidative modification of LDL in vitro. Adv Med Sci. 2006;51:298-303.

13. Lung HL, Ip WK, Wong CK, Mak NK, Chen ZY, Leung KN. Anti-proliferative and differentiation-inducing activities of the green tea catechin epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on the human eosinophilic leukemia EoL-1 cell line. Life Sci. 2002 Dec; 72(3):257-68.

14. Yousef MI, El-Demerdash FM, Radwan FM. Sodium arsenite induced biochemical perturbations in rats: ameliorating effect of curcumin. Food Chem Toxicol. 2008 Nov;46(11):3506-11. doi: 10.1016/j.fct.2008.08.031

15. Awoniyi DO, Aboua YG, Marnewick JL, du Plesis SS, Brooks NL. Protective effects of rooibos (Aspalathus linearis), green tea (Camellia sinensis) and commercial supplements on testicular tissue of oxidative stressinduced rats. African Journal of Biotechnology. 2011; 10(75): 17317-22. http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.2210

16. Chinoy NJ, Shah SD. Beneficial effects of some antidotes in fluoride and arsenic induced toxicity in kidney of mice. Fluoride Journal. 2004; 37(3):151-61.

17. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. An Acad Bras Cienc. 2003 Dec;75(4):469-86.

18. Soleimani Mehranjani M, Shariatzadeh SMA. [Quantitative study of the histological effects of sodium arsenite on kidney structure in rats]. J Arak Uni Med Sci. 2008; 10(4):57-63. [Article

in Persian]

19. 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

20. Pazvant G, Sahin B, Kahvecioglu K, Gunes H, Gezerince N, Bacinoglu D. The volume fraction method for the evaluation of kidney: A stereological study. Ankara Univ Vet Fak Derg. 2009; 56: 233-239.

21. Nyengaard JR, Flyvbjerg A, Rasch R. The impact of renal growth, regression and re-growth in experimental diabetes mellitus on number and size of proximal and distal tubular cells in the rat kidney. Diabetologia. 1993; 36: 1126-31.

22. Dezfoolian AAR, Panahi M, Feizi F. Stereological evaluation of renal glomeruli in offspring of diabetic female rats. Cell Journal (Yakhteh). 2009; 11(1): 17-22.

23. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 1978; 52:302-10.

24. Shila S, Subathra M, Devi MA, Panneerselvam C. Arsenic intoxication-induced reduction of glutathione level and of the activity of related enzymes in rat brain regions: reversal by DL-alpha-lipoic acid. Arch Toxicol. 2005 Mar;79(3):140-6.

25. Gupta R, Flora SJ. Protective value of Aloe vera against some toxic effects of arsenic in rats. Phytother Res. 2005 Jan;19(1):23-8.

26. Sohini, Rana SV. Protective effect of ascorbic acid against oxidative stress induced by inorganic arsenic in liver and kidney of rat. Indian J Exp Biol. 2007 Apr;45(4):371-5.

27. Silva FG. Chemical-induced nephropathy: a review of the renal tubulointerstitial lesions in humans. Toxicol Pathol. 2004 Jul-Aug; 32 (Suppl 2): 71-84.

28. Tsukamoto H, Parker HR, Gribble DH, Mariassy A, Peoples SA. Nephrotoxicity of sodium arsenate in dogs. Am J Vet Res. 1983 Dec;44(12):2324-30.

29. Flora SJ, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. Indian J Med Res. 2008 Oct;128(4):501-23.

30. Eguia L, Materson BJ. Acetaminophen-related acute renal failure without fulminant liver failure. Pharmacotherapy. 1997 Mar-Apr; 17(2):363-70.

31. Noman AS, Dilruba S, Mohanto NC, Rahman L, Khatun Z, Riad W, et al. Arsenic-induced Histological Alterations in Various Organs of Mice. J Cytol Histol. 2015 May;6(3). pii: 323.

32. Mescher A. [Basic Histology]. Translate by: Naderan M, Naderan M, Noori Moogehi SMH. 1st. Tehran: Teimourzadeh Publications. 2011.

33. Chang SI, Jin B, Youn P, Park C, Park JD, Ryu DY. Arsenic-induced toxicity and the protective role of ascorbic acid in mouse testis. Toxicol Appl Pharmacol. 2007 Jan; 218(2):196-203.

34. Saad SY, Alkharfy KM, Arafah MM. Cardiotoxic effects of arsenic trioxide/imatinib mesilate combination in rats. J Pharm Pharmacol. 2006 Apr;58(4):567-73.

35. Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. Indian J Exp Biol. 2005 Nov;43(11):963-74.

36. Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutr Rev. 1997 Jan; 55(1 Pt 2):S44-9.

37. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes. 1991 Apr;40(4):405-12.

38. Cuddihy SL, Parker A, Harwood DT, Vissers MC, Winterbourn CC. Ascorbate interacts with reduced glutathione to scavenge phenoxyl radicals in HL60 cells. Free Radic Biol Med. 2008 Apr; 44(8):1637-44. doi: 10.1016/j.freeradbiomed. 2008.01.021

39. Akter KF, Owens G, Davey DE, Naidu R. Arsenic speciation and toxicity in biological systems. Rev Environ Contam Toxicol. 2005;184:97-149.

40. Bosy A Abd El-Motelp. Ameliorative effect of n-acetyl cysteine on sodium arsenite induced toxicity and oxidative stress in mice. World Journal of Pharmaceutical Research (WJPR). 2014; 3(2): 1746-59.

41. Tandan N, Roy M, Roy S. Ameliorative potential of psidium guajava on hemato-biochemical alterations in arsenic-exposed Wistar rats. Toxicol Int. 2012 May-Aug; 19(2): 121-24. doi: 10.4103/0971-6580.97199

42. Gad SB, Zaghloul DM. Beneficial effects of green tea extract on liver and kidney functions, ultrastructure, lipid profile and hematological parameters in aged male rats. Global Veterinaria. 2013; 11(2): 191-205. doi: 10.5829/idosi.gv.2013.11.2.7472

43. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid Med Cell Longev. 2009 Nov-Dec; 2(5): 270-78. doi: 10.4161/oxim.2.5.9498

Original Paper

Effect of green tea extract (*Camellia sinensis*) on kidney toxicity induced by sodium arsenite: a stereological study

Shariatzadeh SMA (Ph.D)[1], Soleimani Mehranjani M (Ph.D)[2]
Shahmohammadi R (B.Sc)*[3], Naderi Noreini S (B.Sc)[4]

[1]Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran. [2]Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran. [3]M.Sc Student of Developmental Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran. [4]M.Sc in Developmental Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran.

Abstract

Background and Objective: Sodium Arsenite is an environmental pollutant which can generate free radicals causing tissue damage. This study was done to evaluate the effect of Green Tea (GTE), as a strong antioxidant, on kidney tissue in mice treated with Sodium Arsenite.

Methods: In this experimental study 24 adult male NMRI mice were randomly allocated into four groups including: control, GTE (100mg/kg/day), Sodium Arsenite (5mg/kg/day) and Sodium Arsenite + GTE, for 34 days, orally. Animals were scarified and left kidney was taken out, fixed, sectioned, processed and stained using Heidenhain'azan method. Using stereological technique the total volume of kidney, volume of cortex, medulla, proximal and distal tubule, renal corpuscle, gelomerelus, tuft and capillary, membrane and space of Bowman's capsule and length of proximal and distal tubule were determined. Creatinine, BUN and MDA serum samples were measured.

Results: The mean of total volume of cortex, proximal tubule, distal tubule, renal corpuscle and gelomerolus, taft, Bowman's capsule space, size of epithelium and lumen of proximal and distal tubule were significantly reduced in Sodium Arsenite group compared to control ($P<0.05$). These parameters were significantly increased in the Sodium Arsenite + GTE group in comparison with Sodium Arsenite group ($P<0.05$). The creatinine, Blood urea nitrogen (BUN) and MDA were significantly increased in the Sodium Arsenite group in compared to the control group ($P<0.05$). These parameters were significantly reduced in the Sodium Arsenite + GTE group in comparison with Sodium Arsenite group ($P<0.05$).

Conclusion: Green tea has a protective role in Sodium Arsenite induced nephrotoxicity.

Keywords: Kidney, Green Tea, Sodium Arsenite, Stereology, Mouse

*** Corresponding Author: Shahmohammadi R (M.Sc), E-mail: rj.shahmohammadi@gmail.com**

Received 9 Nov 2014 **Revised** 20 Dec 2014 **Accepted** 10 Jan 2015

Cite this article as: Shariatzadeh SMA, Soleimani Mehranjani M, Shahmohammadi R, Naderi Noreini S. [Effect of green tea extract (*Camellia sinensis*) on kidney toxicity induced by sodium arsenite: a stereological study]. J Gorgan Uni Med Sci. Spring 2016; 18(1): 30-38. [Article in Persian]