

اثر حفاظتی بنه کوهی بر آسیب کبدی و کلیوی القا شده با بوسولفان در موش آزمایشگاهی

حجت نورسته (MSc)^۱، شبنم محمدی (PhD)^{۲*}، محمدرضا نیکروش (PhD)^۱، شیرین طراز جمشیدی (MD)^۲

۱- گروه علوم تشریحی و بیولوژی سلولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

دریافت: ۹۷/۹/۱۳، اصلاح: ۹۷/۲/۱۸، پذیرش: ۹۷/۴/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: بوسولفان از جمله داروهای شیمی درمانی است که از جمله عوارض آن آسیب کبدی- کلیوی می‌باشد. بنه کوهی یکی از گونه‌های پسته وحشی دارای ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می‌باشد. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات بنه بر هیستوپاتولوژی و شاخص‌های عملکردی کبد و کلیه به دنبال آسیب کبدی و کلیوی القا شده با بوسولفان در موش بالغ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۲۸ سر موش نژاد Balb/c بطور تصادفی به چهار گروه (کنترل، بنه، بوسولفان و بنه + بوسولفان) تقسیم شدند. به گروه بوسولفان، ۱۰ mg/kg بوسولفان به صورت تک دوز و داخل صفاقی تزریق شد. گروه بنه، ۳۵ روز پلیت ۱۰ درصد بنه کوهی و گروه بنه + بوسولفان علاوه بر تک دوز ۱۰ mg/kg بوسولفان، بنه ۱۰٪ دریافت کردند. سپس آنزیم‌های کبدی آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارات آمینو ترانسفراز و اوره و کراتینین اندازه‌گیری و بررسی هیستوپاتولوژیکی انجام شد.

یافته‌ها: میانگین اوره و کراتینین در گروه بوسولفان $55/2 \pm 4/23$ و $0/11 \pm 0/8$ میلی گرم/ دسی لیتر بود که در گروه درمان شده با بنه افزایش معنی‌داری داشت (به ترتیب $P=0/009$ و $P=0/002$). کاهش معنی‌داری در میانگین آنزیم ALT در گروه درمانی نسبت به گروه تیمار شده بوسولفان ($P=0/003$) مشاهده شد. در گروه درمان شده با بنه در پارانشیم کبد استئاتوز، نکروز هپاتوسیتی و فیبروز دیده نشد. در بافت کلیه این گروه اسکروز گلومرولی، التهاب و آتروفی توبولار دیده نشد. **نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که تجویز ۱۰٪ بنه کوهی به مدت ۳۵ روز باعث بهبود هیستوپاتولوژی کبد و کلیه و شاخص‌های عملکردی کبدی و کلیوی پس از آسیب کبدی- کلیوی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بنه کوهی، پسته وحشی، موش، کبد، کلیه، بوسولفان.

مقدمه

کبد و کلیه در متابولیسم و دفع دارو و مواد مضر و نیز در حفظ هموستاز بدن نقش مهمی دارند. بنابراین آسیب‌های کبدی و کلیوی می‌تواند بسیار زیان بار باشد. صدمات کلیوی به دلایل مختلفی همچون شیمی درمانی، شوک، عفونت، جراحی و یا مصرف آنتی بیوتیک‌ها اتفاق می‌افتد (۱-۳). آسیب‌های کبدی نیز به علت مصرف برخی داروها و یا مواد شیمیایی سمی و... ایجاد می‌شود. مشخص شده که استرس اکسیداتیو در ایجاد آسیب‌های کبدی نقش مهمی ایفا می‌کنند لذا ممکن است مصرف آنتی اکسیدان‌ها در بهبود صدمات موثر باشند (۴-۵). بنه (*Pistacia atlantica*) از خانواده *Anacardiaceae* یکی از گونه‌های پسته وحشی است که به علت ترکیبات فنلی (اسیدهای فنلی، فلاونوئید و تانن‌ها) دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می‌باشد (۶-۹). بنه در سواحل مدیترانه، ترکیه، ایران، کشورهای آسیای میانه و غربی و آفریقا می‌روید. این گیاه در ایران در حد فاصل استان کردستان و فارس به طور انبوه رشد می‌کند. بنه در طب سنتی در درمان اگزما، عفونت گلو، سنگ کلیه، آسم و همچنین در درمان فشار خون، سرفه، درد معده و زردی به کار می‌رود (۶-۹). به علاوه، دارای خاصیت ضد باکتری،

ضد قارچ و ضد انگلی می‌باشد (۱۰-۱۴). Toul و همکاران گزارش کرد که بنه کوهی دارای ترکیبات توکوفرولی فراوان و بتا کاروتن بالا هست که باعث ایجاد قدرت بالای آنتی اکسیدانی آن می‌شوند (۱۵). به علاوه Rigane و همکاران وجود ترکیباتی مانند استروئید، ترپنوئید، آنتوسیانین، تانن، کومارین، پروتئین، اسید آمینه، فلاونوئید، فیتواسترول و کربوهیدرات را در قسمت‌های مختلف گیاه بنه گزارش کردند (۱۶). Gholami و همکاران گزارش کردند که تجویز بنه باعث بهبود هیستوپاتولوژی روده و کاهش سطح مارکر استرس اکسیداتیو در رت‌های مدل کولیت اولسراتیو شد (۱۷). نتایج مطالعه Heidarian و همکاران نیز نشان داد که تجویز بنه کوهی باعث افزایش آنزیم کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، ویتامین C و نیز بهبود هیستوپاتولوژی کلیه می‌شود. در حالیکه سطح اوره، اسید اوریک، کراتینین و مالون دی آلدئید کاهش یافت (۱۸). Tolooei و همکاران گزارش کردند بنه با کاهش سطح MDA و افزایش سطح آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث کاهش رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از آسیب کبدی می‌شود (۱۹). به علاوه، در گروه درمان شده با بنه سطح آنزیم‌های کبدی گلو تامیگ

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجوی حجت نورسته دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم تشریحی و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۶۱۳۴۷ دانشگاه علوم پزشکی مشهد می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر شبنم محمدی

آدرس: مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات التهاب نوروزنیک. تلفن: ۰۵۱-۳۸۰۰۲۴۵۹

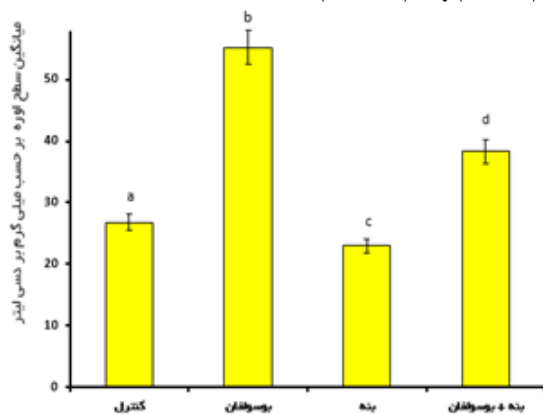
E-mail: mohammadish@mums.ac.ir

قرائت گردید. آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) نیز توسط شرکت پارس آزمون و در طول موج ۳۴۰ نانومتر بررسی گردید. همه اندازه‌گیری‌ها به صورت duplicate انجام شد (۲۸-۲۶).

بررسی هیستوپاتولوژیکی: در روز ۳۵ آزمایش، بعد از باز کردن حفره شکمی کبد و کلیه خارج و در فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و مراحل آگیری و شفاف‌سازی به ترتیب با عبور از الکل با درجات صعودی و زایلین انجام شد. سپس بافت‌ها با پارافین مذاب قالب گیری و توسط میکروتوم برش‌های ۵ میکرونی داده شد و با هماتوکسیلین-انوزین رنگ آمیزی گردید. لام‌ها پس از رنگ آمیزی با میکروسکوپ نوری توسط پاتولوژیست مورد بررسی قرار گرفت (۲۹). در نهایت گزارش پاتولوژیست به صورت کیفی با بررسی لام‌های ۲۸ سر موش ارائه شد. از هر گروه ۲۱ برش و در مجموع ۸۴ برش بررسی گردید. بررسی میزان التهاب و نکروز کبد با استفاده از modified histological activity index-grading تعیین شد (۳۰). داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و پیرایش ۲۰ و آنالیز واریانس یکطرفه و تست تعقیبی TUKEY تجزیه و تحلیل شدند و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطح اوره در سرم خون گروه‌های تحت درمان با بنه (38.3 ± 5.10) و در گروه بوسولفان (55.2 ± 4.23) میلی گرم/ دسی لیتر بود. سطح اوره در گروه بنه + بوسولفان نسبت به گروه بوسولفان کاهش معنی داری داشت ($P=0.000$). همچنین، سطح اوره در گروه‌هایی که بنه + بوسولفان را دریافت کرده بودند نسبت به گروه بنه ($P=0.01$) تفاوت معنی داری داشت (شکل ۱). به علاوه، میانگین سطح اوره در گروه بوسولفان (55.2 ± 4.23) میلی گرم/ دسی لیتر و در گروه کنترل (26.8 ± 6.2) میلی گرم/ دسی لیتر بود ($P=0.000$). میانگین سطح کراتینین در گروه تیمار شده با بنه + بوسولفان 0.5 ± 0.14 و در گروه بوسولفان 0.8 ± 0.11 میلی گرم/ دسی لیتر بود که آنالیز آماری کاهش معنی داری در گروه بنه + بوسولفان نسبت به گروه بوسولفان نشان داد ($P=0.02$) (شکل ۲). میانگین سطح کراتینین در گروه تیمار شده با بوسولفان 0.8 ± 0.11 و در گروه کنترل 0.56 ± 0.20 میلی گرم/ دسی لیتر بود که افزایش معنی داری در سطح کراتینین گروه بوسولفان نسبت به گروه کنترل ($P=0.02$) و بنه ($P=0.004$) مشاهده شد.



شکل ۱. میانگین سطح اوره در سرم خون موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر

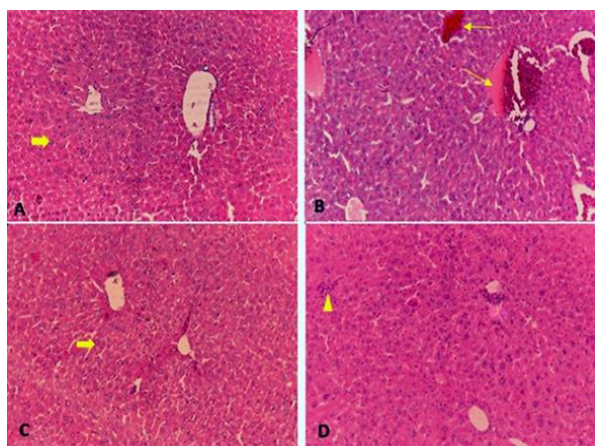
پیرووات ترانس آمیناز (GPT)، گلوتامیک اگزالواسات ترانس آمیناز (GOT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) نسبت به گروه تتراکلرید کرین کاهش یافت. Mahjoub و همکاران گزارش کردند ترکیبات اصلی میوه بنه از لحاظ فارماکولوژیکی شامل آلفا پینن، کامفرن، ترپینئول، میرسن و ساینین می‌باشد (۲۰). Norasteh و همکاران گزارش کردند که تجویز بنه باعث بهبود هیستوپاتولوژی بیضه و کاهش استرس اکسیداتیو پس از آسیب با بوسولفان در موش‌های نر گردید (۲۱). Bagheri و همکاران اثرات مثبت تجویز بنه را بر دیابت و نیز افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌های گلوکاتینون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز گزارش کردند (۲۲). Shakarami و همکاران گزارش کردند تجویز بنه باعث کاهش فاکتورهای التهابی مانند اینترلوکین در موش‌های مدل آسم می‌شود (۲۳). بوسولفان یک داروی سیتوتوکسیک است که در شیمی درمانی کاربرد فراوانی دارد و معمولاً برای درمان لوسمی مزمن، سرطان تخمدان و نیز در پیوند مغز استخوان بیماران سرطانی استفاده می‌شود (۲۴ و ۲۵). این دارو عوارض جانبی گسترده‌ای در بدن ایجاد می‌کند و روی خیلی از ارگان‌ها از جمله کبد و کلیه اثرات نامطلوبی به جای می‌گذارد (۲۴ و ۲۵). در این پژوهش از بوسولفان برای ایجاد مدل آسیب کبدی-کلیوی استفاده شد. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات تجویز بنه بر هیستوپاتولوژی کبد و کلیه و نیز سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، اوره و کراتینین به دنبال آسیب کبدی و کلیوی القا شده با بوسولفان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

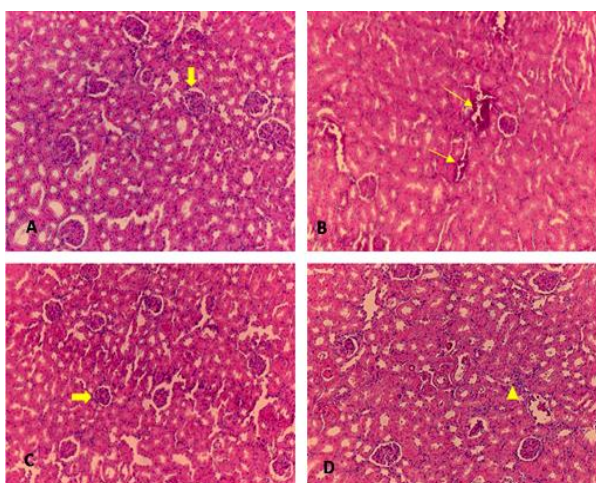
این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد IR.MUMS.fm.REC.1397.96 بر روی ۲۸ سر موش نر نژاد Balb/c انجام شد. موش‌ها تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی (درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی گراد، سیکل نوری شامل دوازده ساعت روشنایی، دوازده ساعت تاریکی) نگهداری شدند. در رفتار با آنها تمامی اصول و قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، بوسولفان، بنه و بنه + بوسولفان تقسیم شدند. گروه کنترل حلال بوسولفان (DMSO) را به صورت داخل صفاقی یکبار دریافت کرد. به گروه بوسولفان، 10 mg/kg به صورت تک دوز و داخل صفاقی تزریق شد (۲۴). گروه بنه، رژیم غذایی (پلیت) حاوی ۱۰ درصد بنه کوهی دریافت کردند. این گروه به عنوان کنترل مثبت جهت مقایسه بهتر نتایج در مطالعه در نظر گرفته شد. گروه بنه + بوسولفان، در روز اول آزمایش 10 mg/kg بوسولفان دریافت کردند. سپس، رژیم غذایی (پلیت) حاوی ۱۰ درصد بنه کوهی به مدت ۳۵ روز دریافت کردند (۲۵).

بررسی شاخص‌های عملکردی کبدی و کلیوی: در روز ۳۵ آزمایش، بعد از باز کردن شکم موش‌ها، بلافاصله نمونه خون از حفره بطنی قلب گرفته شده و به داخل میکروتیوب انتقال یافت. سپس میکروتیوب‌های حاوی نمونه‌های خون به منظور تهیه سرم خون در داخل سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. بعد از جداسازی سرم، نمونه‌ها در فریزر -20°C نگهداری شدند و سطح آنزیم‌های کبدی و اوره و کراتینین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی سطح اوره و کراتینین از کیت تشخیص کمی (شرکت پارس آزمون، ایران) استفاده شد. مطابق پروتکل کیت برای روش دو محلوله مراحل کار انجام شد. جذب نوری اوره در ۳۴۰ نانومتر و جذب نوری کراتینین در ۵۰۰ نانومتر

احتقان مشاهده گردید. در برش‌های کبد گروه درمان شده با بنه در پارانشیم کبد استئاتوز، نکروز هیپاتوسیتی و فیبروز دیده نشد. اتساع مختصر سینوزوئیدی در همگی لام‌ها وجود داشت که یافته‌ای غیر اختصاصی می‌باشد (شکل ۴). در برش‌های کلیه گروه کنترل ساختار گلومرول و توبول‌های کلیه طبیعی بود. در بررسی مقاطع کلیه گروه تیمار شده با بوسولفان احتقان و کانون‌هایی از نفريت بيناييني مشاهده شد. در گروه درمان شده با بنه اسکروز گلومرولی، افزایش سلولاريتته گلومرولی، فیبروز و التهاب اينترستيشيوم و آتروفي توبولار دیده نشد (شکل ۵).



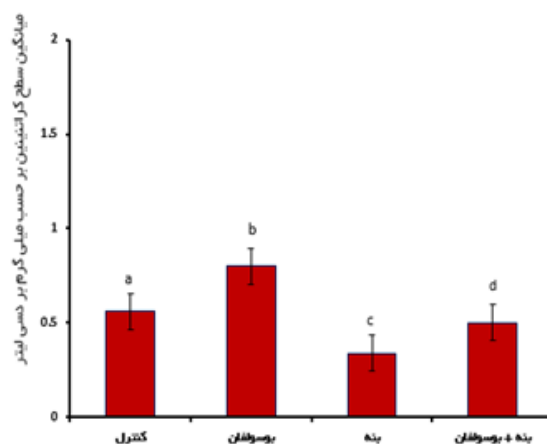
شکل ۴. تصویر کبد موش‌ها در گروه‌های مختلف که با لنز $\times 20$ گرفته شده است. گروه. A: گروه کنترل، B: گروه بوسولفان، C: گروه بنه، D: گروه بنه + بوسولفان. رنگ آمیزی: هماتوکسیلین و ائوزین. پیکان ضخیم: سلول هیپاتوسیت، پیکان نازک: احتقان، نوک پیکان: نکروز کوچک (spot necrosis)



شکل ۵. تصویر کلیه موش‌ها در گروه‌های مختلف که با لنز $\times 20$ گرفته شده است. گروه. A: گروه کنترل، B: گروه بوسولفان، C: گروه بنه، D: گروه بنه + بوسولفان. رنگ آمیزی: هماتوکسیلین و ائوزین. پیکان ضخیم: گلومرول کلیوی، پیکان نازک: احتقان، نوک پیکان: نفريت بيناييني خفيف

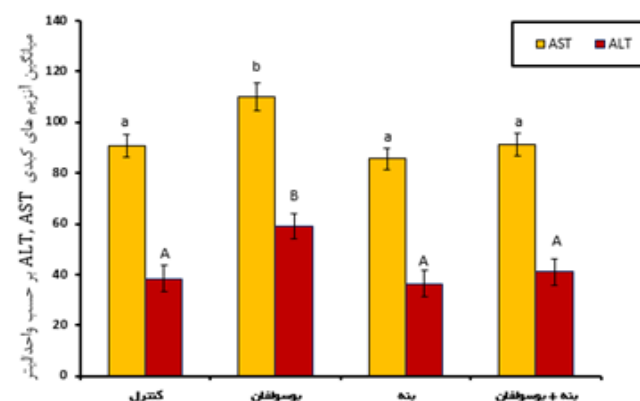
بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز دوز 10% بنه باعث بهبود هیستوپاتولوژی کبد و کلیه و کاهش سطح اوره و کراتینین سرم خون نسبت به گروه بوسولفان شد. به علاوه، درمان با بنه باعث کاهش سطح آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز و



شکل ۲. میانگین سطح کراتینین در سرم خون موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر

سطح آنزیم ALT در گروه بنه + بوسولفان $41 \pm 5/1$ و در گروه بوسولفان 59 ± 4 واحد/لیتر بود. آنالیز آماری کاهش معنی داری در میانگین سطح آنزیم ALT در گروه بنه + بوسولفان نسبت به گروه تیمار شده بوسولفان نشان داد ($P=0/03$). افزایش معنی داری در میانگین آنزیم ALT در گروه تیمار شده با بوسولفان نسبت به گروه کنترل ($P=0/013$) مشاهده شد (شکل ۳). به علاوه، سطح آنزیم ALT در سرم خون گروه بنه نسبت به گروه بوسولفان کاهش معنی داری داشت ($P=0/007$). سطح آنزیم AST در گروه بنه + بوسولفان $91/2 \pm 5$ و در گروه بوسولفان $110/1 \pm 6$ واحد/لیتر بود. آنالیز آماری کاهش معنی داری در میانگین سطح آنزیم AST در گروه بنه + بوسولفان نسبت به گروه بوسولفان ($P=0/000$) نشان داد. افزایش معنی داری در میانگین آنزیم AST در گروه تیمار شده با بوسولفان نسبت به گروه کنترل ($P=0/013$) و بنه ($P=0/013$) مشاهده شد (شکل ۳). به علاوه، سطح آنزیم AST در سرم خون گروه بنه نسبت به گروه بنه + بوسولفان کاهش معنی داری داشت ($P=0/01$).



شکل ۳. میانگین سطح آنزیم ALT و AST در سرم خون موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب واحد بر لیتر

نتایج بررسی هیستوپاتولوژی کبد و کلیه: در بررسی مقاطع کبد گروه کنترل نمای طبیعی هیپاتوسیت‌ها و فضای پورت مشاهده شد. در گروه دریافت کننده بوسولفان التهاب فضای پورت و نکروز کوچک (spot necrosis) پارانشیم کبد به همراه

مثبت بنه در افراد سالم نیز باشد. به نظر می‌رسد، مکانیسم احتمالی اثر تجویز بنه کوهی بر ساختار و عملکرد کبد و کلیه به این صورت است که بنه با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی و ترکیباتی مانند اسید گالیک، کوئرستین و لوتولین باعث کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود. اولین خط دفاعی مهم بدن آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و در مرحله بعدی آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز می‌باشد که باعث کاهش رادیکال‌های آزاد در بدن می‌گردد. چنانچه مواد غذایی حاوی مقادیر لازم آنتی‌اکسیدان‌ها نباشد، دفاع آنزیمی در برابر اکسیدان‌ها ممکن است آسیب ببیند. نتایج مطالعه نشان داد که تجویز ۱۰٪ بنه کوهی به مدت ۳۵ روز باعث بهبود هیستوپاتولوژی کبد و کلیه و شاخص‌های عملکردی کبدی و کلیوی در موش مدل آسیب کبدی-کلیوی القا شده با بوسولفان گردید. با توجه به اینکه بنه، بومی کشورمان می‌باشد، به عنوان ترکیبی ارزان و قابل دسترس حاوی خاصیت آنتی‌اکسیدان قوی است که می‌توان از آن بهره برد، پیشنهاد می‌گردد در مطالعه بعدی بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت کبد و کلیه و نیز سطح استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری شده و به علاوه، سطح آنزیم‌های ادراری فسفاتاز قلیایی و لاکتات دهیدروژناز و نیز آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز نیز بررسی گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد جهت حمایت مالی از تحقیق و از مدیریت و پرسنل آزمایشگاه مرکزی آقای مهندس فیضی، خانم امامیان و خانم امینی جهت ارائه خدمات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌گردد.

آسپارات آمینوترانسفراز گردید. Omidi و همکاران اثرات پودر بنه را بر سطح پروفایل چربی و فسفوریلاز فسفاتیدین کبد در دوره درمانی ۱۵ و ۶۰ روزه بررسی کردند. نتایج نشان داد که درمان ۱۵ روزه با بنه باعث افزایش در همه فاکسیون‌های لیپوپروتئین و کاهش تری گلیسرید شد. اگر چه سطح فسفوریلاز فسفاتیدین کبد ۱۱٪ کاهش یافت ولی از نظر آماری معنی دار نبود. در گروه درمانی که ۶۰ روز با بنه درمان شده بودند، تفاوتی در پروفایل چربی با گروه کنترل نداشتند در حالی که کاهش شدید تری گلیسرید داشتند. سطح فسفوریلاز فسفاتیدین کبد در این گروه ۱۶٪ کاهش یافت (۲۵). در مطالعه Tolooei و همکاران، بنه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان باعث کاهش MDA و افزایش سطح آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شد و آسیب کبدی را بهبود بخشید. به علاوه، در گروه درمان شده با بنه سطح آنزیم‌های کبدی گلوتامیک پیرووات ترانس آمیناز (GPT)، گلوتامیک اگزالواستات ترانس آمیناز (GOT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) نسبت به گروه تتراکلرید کرین کاهش یافت (۱۹). نتایج تحقیق دیگری نشان داد که تجویز بنه باعث کاهش بیان ژن ABCG4 در کبد موش‌ها می‌شود (۳۱). در مطالعه حاضر نیز بنه بر شاخص‌های عملکردی کبد شامل آنزیم‌های آلانین ترانس آمیناز و آسپارات ترانسفراز موثر بود و باعث بهبود علائم کبدی ناشی از بوسولفان گردید. نتایج مطالعه Heidarian و همکاران نشان داد که تجویز بنه کوهی باعث افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، ویتامین C و نیز بهبود هیستوپاتولوژی کلیه شد. در حالی که سطح اوره، اسید اوریک، کراتینین و مالون دی آلدئید کاهش یافت (۱۸). همسو با این تحقیق در مطالعه ما نیز، تجویز ۱۰٪ بنه به رژیم غذایی باعث کاهش سطح اوره و کراتینین و بهبود علائم کلیوی ناشی از تیمار با بوسولفان گردید. به علاوه، هیستوپاتولوژی کبد و کلیه بهبود یافت. با مصرف بنه در گروه بنه نسبت به گروه کنترل سطح کراتینین پایین‌تر آمد که ممکن است نشان دهنده تاثیر

Protective Effect of Bene (*Pistacia Atlantica*) on Busulfan-Induced Renal-Liver Injury in Laboratory Mice

H. Norasteh (MSc)¹, Sh. Mohammadi (PhD)^{*1}, M. Nikravesht (PhD)¹, Sh. Taraz Jamshidi (MD)²

1.Department of Anatomy and Cell Biology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

2.Department of Pathology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 22; 2020; PP: 17-23

Received: Dec 4th 2018, Revised: May 8th 2019, Accepted: Jul 7th 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Busulfan is a chemotherapy drug that has side effects such as hepatic and renal injury. *Pistacia atlantica* from the family Anacardiaceae has a potent antioxidant agent due to phenolic compounds. The purpose of this study was to investigate the effects of *Pistacia atlantica* on histopathology and liver and kidney function indicators in busulfan-induced liver and kidney injuries in adult mice.

METHODS: A total of 28 BALB/c mice were randomly divided into four groups (control, busulfan, bene and bene+busulfan). The busulfan group received 10 mg/kg busulfan as a single dose and intraperitoneally. The bene group received plate containing 10% of bene for 35 days. The bene+busulfan group received 10 mg/kg busulfan + 10% bene. Then, liver enzymes alanine amino transferase, aspartate amino transferase, urea, creatinine and histopathology of liver and kidney investigated.

FINDINGS: The mean urea ($P=0.009$) and creatinine level ($P=0.02$) in the busulfan group was 55.2 ± 4.23 and 0.8 ± 0.11 mg/dl that it was significantly higher than the bene + busulfan. A significant decrease in ALT level in the bene + busulfan group compared to the busulfan treated group ($P=0.03$). In the bene treated group steatosis, necrosis and fibrosis in the liver parenchyma and glomerular sclerosis, inflammation and tubular atrophy in kidney tissue, was not observed.

CONCLUSION: The results of present study indicated that administration of 10% bene for 35 days improved histopathology of kidney and liver as well as functional index of liver and kidney after renal-liver injury.

KEY WORDS: *Pistacia Atlantica*, Wild *Pistacia*, Mouse, Liver, Kidney, Busulfan.

Please cite this article as follows:

Norasteh H, Mohammadi Sh, Nikravesht M, Taraz Jamshidi Sh. Protective Effect of Bene (*Pistacia Atlantica*) on Busulfan-Induced Renal-Liver Injury in Laboratory Mice. J Babol Univ Med Sci. 2020; 22: 17-23.

***Corresponding Author: Sh. Mohammadi (PhD)**

Address: Neurogenic Inflammation Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

Tel: +98 51 38002459

E-mail: mohammadish@mums.ac.ir

References

1. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci.* 2002;65(2):166-76.
2. Hulse M, Rosner MH. Drugs in Development for Acute Kidney Injury. *Drugs.* 2019;79(8):811-821.
3. Holditch SJ, Brown CN, Lombardi AM, Nguyen KN, Edelstein CL. Recent Advances in Models, Mechanisms, Biomarkers, and Interventions in Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12). pii:E3011.
4. Cannistrà M, Ruggiero M, Zullo A, Gallelli G, Serafini S, Maria M, et al. Hepatic ischemia reperfusion injury: A systematic review of literature and the role of current drugs and biomarkers. *Int J Surg.* 2016;33 Suppl 1:S57-70.
5. Ramachandran A, Jaeschke H. Oxidative Stress and Acute Hepatic Injury. *Curr Opin Toxicol.* 2018;7:17-21.
6. Qiao J, Huang Y, Xia Y, Chu P, Yao H, Xu L, et al. Busulfan and cyclophosphamide induce liver inflammation through NLRP3 activation in mice after hematopoietic stem cell transplantation. *Sci Rep.* 2015;5:17828.
7. Kozub MM, Prokopiuk VY, Skibina KP, Prokopiuk OV, Kozub NI. Comparison of various tissue and cell therapy approaches when restoring ovarian, hepatic and kidney's function after chemotherapy-induced ovarian failure. *Exp Oncol.* 2017;39(3):181-85.
8. Toul F, Belyagoubi-Benhammou N, Zitouni A, Atik-Bekkara F. Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Nat Prod Res.* 2017;31(6):718-23.
9. Hatamnia AA, Abbaspour N, Darvishzadeh R. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of *Bene* (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chem.* 2014;145:306-11.
10. Bozorgi M, Memariani Z, Mobli M, Salehi Surmaghi MH, Shams-Ardekani MR, Rahimi R. Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Sci World J.* 2013;2013:219815.
11. Hatamnia AA, Rostamzad A, Hosseini M, Abbaspour N, Darvishzadeh R, Malekzadeh P, Aminzadeh BM. Antioxidant capacity and phenolic composition of leaves from 10 *Bene* (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) genotypes. *Nat Prod Res.* 2016;30(5):600-4.
12. Falahati M, Sepahvand A, Mahmoudvand H, Baharvand P, Jabbarnia S, Ghoghghi A, et al. Evaluation of the antifungal activities of various extracts from *Pistacia atlantica* Desf. *Curr Med Mycol.* 2015;1(3):25-32.
13. Zibaei M, Rostamipour R, Nayebezhadeh H. Effect of *Pistacia atlantica* Fruit and Leaf Extracts on Hydatid Cyst *Protoscolices*. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2016;11(1):53-8.
14. Rezaie M, Farhoosh R, Sharif A, Asili J, Iranshahi M. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Bene* (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull essential oil. *J Food Sci Technol.* 2015;52(10):6784-90.
15. Toul F, Belyagoubi-Benhammou N, Zitouni A, Atik-Bekkara F. Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Nat Prod Res.* 2017;31(6):718-723.
16. Rigane G, Ghazghazi H, Aouadhi C, Ben Salem R, Nasr Z. Phenolic content, antioxidant capacity and antimicrobial activity of leaf extracts from *Pistacia atlantica*. *Nat Prod Res.* 2017;31(6):696-699.
17. Gholami M, Ghasemi-Niri SF, Maqbool F, Baeri M, Memariani Z, Pousti I, Abdollahi M. Experimental and Pathological study of *Pistacia atlantica*, butyrate, *Lactobacillus casei* and their combination on rat ulcerative colitis model. *Pathol Res Pract.* 2016;212(6):500-8.
18. Heidarian E, Jafari-Dehkordi E, Valipour P, Ghatreh-Samani K, Ashrafi-Eshkaftaki L. Nephroprotective and Anti-Inflammatory Effects of *Pistacia atlantica* Leaf Hydroethanolic Extract Against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *J Diet Suppl.* 2017;14(5):489-502.
19. Toloeei M, Mirzaei A. Effects of *Pistacia Atlantica* Extract on Erythrocyte Membrane Rigidity, Oxidative Stress, and Hepatotoxicity Induced by CCl₄ in Rats. *Glob J Health Sci.* 2015;7(7 Spec No):32-8.

20. Mahjoub F, Akhavan Rezayat K, Yousefi M, Mohebbi M, Salari R. *Pistacia atlantica* Desf. A review of its traditional uses, phytochemicals and pharmacology. *J Med Life*. 2018;11(3):180-86.
21. Norasteh H, Mohammadi Sh, Nikravesht MR, Boroumand-Noughabi S, Beheshti F. Effects of Bene (*Pistacia atlantica*) on Histopathology of Testis, Sperm Chromatin Quality and Stress Oxidative in Busulfan-Induced Infertile Mice. *Pharm Sci*. 2019;25(1):24-30
22. Bagheri S, Sarabi MM, Khosravi P, Khorramabadi RM, Veiskarami S, Ahmadvand H, et al. Effects of *Pistacia atlantica* on Oxidative Stress Markers and Antioxidant Enzymes Expression in Diabetic Rats. *J Am Coll Nutr*. 2019;38(3):267-274.
23. Shakarami Z, Esmaeili Gouvrchin Ghaleh H, Mansouri Motlagh B, Sheikhian A, Jalali Kondori B. Evaluation of the protective and therapeutic effects of *Pistacia atlantica* gum aqueous extract on cellular and pathological aspects of experimental asthma in Balb/c mice. *Avicenna J Phytomed*. 2019;9(3):248-259
24. Attari SS, Mohammadi S, Ebrahimzadeh A, Hosseinzadeh H, Soukhtanloo M, Rajabzadeh A. Effects of thymoquinone on sperm parameters, apoptosis, testosterone level, and oxidative stress in a mouse model of D-galactose-induced aging. *Pharm Sci*. 2018;24(3):180-6
25. Omid Ha, Omid He, NaghdiBadi H. The effect of *pistacia atlantica* nut powder on liver phosphatidate phosphohydrolase and serum lipid profile in rat. *J Med Plants*. 2008;2(26):70-8. [In Persian]
26. Mohammadi Sh, Khakbaz M, Shoraka M, Vakil S, Moghimian M, mohammadzadeh F, et al. Effects of different doses of manganese on lead poisoning in the kidney of adult male mice. *koomesh*. 2016;18(1):203-10. [In Persian]
27. Mohammadi Sh, Safari F, Seyedi Z, Seyed Hosseini E, Karimi F, Mohammadi M, et al. The Effect of Different Doses of N-acetyl Cysteine on Biochemical and Histopathological Parameters in Kidney of Formalin-treated Mice. *J Kerman Univ Med Sci*. 2016;23(5): 607-17. [In Persian]
28. Mohammadi Sh, Pakrouh Z, Teimouri M, Hajipour S, Karimi M, Mohammadi M, et al. Effects of drug substance crystal (methamphetamine) on histopathology and biochemical parameters of kidney in adult male mice. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci*. 2015;20(4):83-90. [In Persian]
29. Mohammadi Sh, Golamin M, Mohammadi M, Mansouri A, Mahmoodian R, Attari S, et al. Down-regulation of CatSper 1 and CatSper 2 genes by lead and mercury. *Environ Toxicol Phar*. 2018;59:82-6.
30. Ishak K, Babtisa A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995;22(6):696-9.
31. Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S. Effects of a fixed-intensity of endurance training and *pistacia atlantica* supplementation on ATP-binding cassette G4 expression. *Chin Med*. 2013;8:23.