"Research article: 1314"

Protective effect of selenium nanoparticles on renal ischemia-reperfusion injury in male rats

Sadeghmanesh, F.[1], Eidi, A.[2*], Mortazavi, P. [3], Oryan, Sh.[4]

1- PhD Graduate, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3- Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4- Professor, Department of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran.
*Corresponding author's email: eidi@srbiau.ac.ir
(Received: 2023/8/20 Accepted: 2024/1/20)

Abstract

Selenium is an important element in nutrition and an essential part of several proteins with catalytic and structural properties. Selenium nanoparticles have a higher effect and less toxicity than conventional selenium. The aim of this study was to demonstrate the strong role of nano-selenium in protecting against renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in a male rat model. For this purpose, I/R injury was caused by occlusion of the left renal artery for 20 minutes. A total of 54 male Wistar rats were randomly divided into healthy and sham control groups, three healthy experimental groups receiving selenium nanoparticles at doses of 0.25, 0.5 and 1 mg/kg, I/R control group and three groups of I/R receiving selenium nanoparticles at previously mentioned doses (n=6). Thirty days after administration, the animals were euthanized for biochemical and histopathological evaluation and the data were statistically analyzed ($p<0.05$). Selenium nanoparticles in I/R groups significantly decreased serum urea and creatinine levels ($p<0.001$) and significantly increased the antioxidant parameters of catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase and significantly decreased the level of malondialdehyde ($p<0.001$) and improved renal tissue damage ($p<0.001$) in comparison to other groups. This study showed that selenium nanoparticles have protective effects against damage caused by renal ischemic reperfusion, and this protective effect can be due to their antioxidant properties in improving injuries caused by free radicals in the ischemic reperfusion process, thereby reducing oxidative stress and improving renal tissue structure.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Ischemia/Reperfusion, Kidney, Rat, Selenium nanoparticle.

"مقاله پژوهشی:۱۳۱۴"

اثر محافظتی نانوذرات سلنیوم بر آسیب ناشی از ایسکمی-بازخونرسانی کلیه در موش صحرایی نر

فرزانه صادق‌منش[۱]، اکرم عیدی[۲*]، پژمان مرتضوی[۳]، شهربانو عریان[۴]

۱- دانش‌آموخته دکترای تخصصی گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- استاد گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳- دانشیار گروه آسیب‌شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴- استاد دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: eidi@srbiau.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰)

چکیده

سلنیوم عنصری مهم در تغذیه و بخش ضروری چندین پروتئین با ویژگی‌های کاتالیزوری و ساختاری می‌باشد. نانوذرات سلنیوم اثر بالاتر و سمیت کمتری نسبت به عنصر سلنیوم دارند. مطالعه حاضر با هدف نشان دادن نقش قوی نانوذرات سلنیوم در حفاظت از آسیب ناشی از ایسکمی/ بازخونرسانی (Ischemia/Reperfusion; I/R) کلیه، در مدل موش صحرایی نر انجام شده‌است. بدین منظور با بستن شریان کلیوی چپ به مدت ۲۰ دقیقه، آسیب I/R ایجاد گردید. تعداد ۵۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به گروه‌های کنترل سالم، شاهد جراحی، ۳ گروه تجربی سالم دریافت‌کننده فقط نانوذرات سلنیوم با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن، کنترل I/R و ۳ گروه موش‌های I/R دریافت‌کننده نانوذرات با دوزهای فوق، تقسیم شدند (n=۶). ۳۰ روز پس از انجام تیمارها، حیوانات آسان‌کشی شدند و سرم آن‌ها از نظر بیوشیمیایی و بافت کلیه از دیدگاه هیستوپاتولوژی، مورد ارزیابی قرار گرفت. نانوذرات سلنیوم در گروه‌های I/R به طور معنی‌داری باعث کاهش سطوح اوره و کراتینین سرم ($p<۰/۰۰۱$) و افزایش معنی‌دار میزان پارامترهای آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز و کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل I/R و گروه‌های تجربی I/R و بهبود آسیب بافت کلیه شد ($p<۰/۰۰۱$). یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که نانوذرات سلنیوم دارای اثرات محافظت‌کنندگی در برابر آسیب ناشی از ایسکمی/ بازخونرسانی کلیوی است و این اثر محافظتی می‌تواند به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن در بهبود آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد در جریان فرآیند مذکور در کلیه باشد و از این طریق باعث کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود ساختار بافت کلیه می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: ایسکمی/ بازخونرسانی، کلیه، موش صحرایی، نانوذره سلنیوم.

مقدمه

آسیب ایسکمی/ بازخونرسانی کلیه (Ischemia/Reperfusion; I/R)، اغلب در چندین حالت بالینی مانند هیپوولمی بدنبال پیوند کلیه رخ می‌دهد (Salvadori *et al.*, 2015). طی I/R، بازخونرسانی علاوه بر ایسکمی، سبب آسیب کلیوی هم می‌شود (Grekas *et al.*, 1996). کاهش یا توقف خونرسانی به کلیه باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive oxygen species; ROS) در کلیه می شود. ROS اثر مخربی روی DNA دارد، همچنین باعث اختلال در عملکرد پروتئین‌ها و پراکسیداسیون چربی‌های غشاء می‌شود (Etensel *et al.*, 2017). مرگ سلولی به دنبال آسیب ایسکمی-بازخونرسانی در ارتباط نزدیک با تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی ناشی از آن می‌باشد (Paller, 1984). آسیب بافتی از همان فاز ایسکمیک آغاز می‌شود. گرچه درمان قطعی برای جلوگیری از آسیب ایسکمی بازخونرسانی پیدا نشده، ولی اخیرا پاره‌ای مداخلات جهت کاهش آسیب پیشنهاد شده است که شامل مواردی مثل بلوکه‌کردن مسیرهای تولید رادیکال‌های آزاد، استفاده از داروهای ضدالتهاب، استفاده از مهارکننده‌های آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین و موادی مانند آدنوزین، مورفین و استاتین‌ها می‌باشد (Oldenburg *et al.*, 2004). مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبات آنتی‌اکسیدان و جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد بر آسیب ناشی از فرآیند ایسکمی-بازخونرسانی دارای اثرات محافظتی هستند (Unal *et al.*, 2002). مسیرهای پاتولوژیک مختلفی برای آسیب بافت‌های بدن در روند ایسکمی-بازخونرسانی، معرفی شده‌است. در اکثر بافت‌ها آسیب ناشی از I/R، عمدتاً توسط رادیکال‌های آزاد اتفاق می‌افتد. با تولید رادیکال‌های آزاد بسیار فعال اکسیژن، یعنی سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل طی روند I/R، بافت‌ها متحمل آسیب‌های ساختاری و عملکردی متعددی می‌گردند به طوری که آسیب‌های پاتولوژیک شدیدتر در فاز باز خونرسانی اتفاق می‌افتد (McCord *et al.*, 1985).

سلنیوم یک عنصر کمیاب آنتی‌اکسیدانی و جزء کلیدی تعدادی از سلنوپروتئین‌های کاربردی است و در عملکردهای طبیعی بدن دخالت دارد (Rayman, 2000). مهم‌ترین کاربرد شناخته شده‌ٔ این عنصر، نقش آن در ساختمان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل گلوتاتیون‌پراکسیداز (glutathione peroxidase; GPx) است که عملکرد آن‌ها حذف رادیکال‌های‌آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد (Behne *et al.*, 1982; Amouoghli-Tabrizi *et al.*, 2008). امروزه نانوذرات سلنیوم به دلیل قابلیت دسترسی بالا و کاهش اثرات سمی، توجه گسترده‌ای را به خود جلب نموده است. نتایج نشان می‌دهند که نانوذرات سلنیوم می‌توانند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با کاهش خطر سمیت، عمل کنند (Zhang *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2004). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی وابسته به سلنیوم، آسیب‌های ناشی از مشتقات واکنشی اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن را کاهش می‌دهد (Marra *et al.*, 2002).

با توجه به اینکه در اکثر روش‌های جراحی، پدیده ایسکمی-بازخونرسانی شکل می‌گیرد، به منظور کاهش اثرات بالینی این گونه صدمات، از داروهای آنتی‌اکسیدان و یا ضدرادیکال آزاد استفاده می‌نمایند. به

نظر می‌رسد نانوسلنیوم با دارا بودن خاصیت ضدرادیکال آزادی، در کاهش آسیب‌های ایسکمی بازخونرسانی مؤثر بوده و بتواند ارگانی چون کلیه را از آسیب‌های رادیکال آزاد محافظت نماید. تاکنون هیچ پژوهشی مبنی بر اثر نانوسلنیوم روی آسیب ایسکمی-بازخونرسانی کلیه انجام نشده، لذا مطالعه حاضر با هدف نشان دادن نقش قوی نانوذرات سلنیوم در حفاظت از آسیب ناشی از ایسکمی-بازخونرسانی کلیه، در مدل موش صحرایی نر انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی می‌باشد و در مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران در پاییز ۱۳۹۷ و با دریافت کد اخلاق به شماره IR.IAU.SRB.REC.1398.13 انجام گرفته است.

- **مواد شیمیایی مورد استفاده:** نانو ذرات سلنیوم کروی با درجه خلوص ۹۹ درصد و اندازه ۶۰-۲۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (Nanosany Company, Iran) خریداری گردید. همچنین از آب مقطر دیونیزه (سیگما شیمی) برای حل کردن نانوذرات سلنیوم استفاده شد. کیت‌های اندازه‌گیری اوره و کراتینین از شرکت پارس آزمون (تحت لیسانس کمپانی Diagnostic آلمان در ایران) و کیت‌های سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون‌پراکسیداز (glutathione peroxidase; GPx)، کاتالاز (catalase; CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase; SOD) و همچنین کیت سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde; MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی از شرکت آلمانی Zelbio (ZellBio GmbH, Deutschland) خریداری گردیدند.

- **حیوانات آزمایشگاهی استفاده‌شده و شرایط نگهداری آن‌ها: تعداد ۵۴** سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰±۲۵۰ گرم در سن ۱۲ هفتگی، از انستیتو پاستور تهران تهیه و تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۳±۲۱ سلسیوس) در قفس‌های مخصوص قرار داده شدند تا در حین دسترسی آزاد به آب و غذا با شرایط آزمایشگاه سازش پیدا کنند.

- **گروه‌های مورد مطالعه:** در تحقیق حاضر، موش‌های مورد آزمایش به صورت تصادفی به ۹ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه ۱ (کنترل سالم): حیوانات دست نخورده، همراه با گاواژ آب مقطر.

گروه ۲ (شاهد جراحی): حیوانات تحت جراحی شم، همراه با گاواژ آب مقطر.

گروه‌های ۳، ۴ و ۵ (تجربی سالم): حیوانات سالمی که به ترتیب ۳ دوز ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، از نانوذرات سلنیوم را به‌صورت گاواژ دریافت کردند (Khosravian Dehkordi, 2014; Rashad *et al*., 2018).

گروه ۶ (کنترل I/R): حیوانات تحت جراحی ایسکمی-بازخونرسانی همراه با گاواژ آب مقطر.

گروه‌های ۷، ۸ و ۹ (تجربی I/R): حیوانات تحت جراحی ایسکمی-بازخونرسانی که به ترتیب ۳ دوز ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، از نانوذرات سلنیوم را به‌صورت گاواژ دریافت کردند.

لازم به ذکر است که تیمارهای انجام‌شده در تمام گروه‌ها، طی زمان‌های یکسان انجام می‌گردید.

- **نحوه ایجاد آسیب ایسکمی-بازخونرسانی**: به منظور ایجاد آسیب ایسکمی-بازخونرسانی در کلیهٔ حیوانات مورد آزمایش، ابتدا با تزریق داخل‌صفاقی داروهای کتامین‌هیدروکلراید (Ketamine Hydrochloride 10%, Alfasan Chemical, Worden-Holland) به مقدار ۶۰ mg/kg و زایلازین (Xylazine 2%, Alfasan Chemical, Worden-Holland) به مقدار ۱۰ mg/kg بیهوشی ایجاد شد و در ادامه خط میانی شکم برش داده شد. سپس شریان کلیوی سمت چپ توسط پنس غیرضربه‌ای (non-traumatic) بسته شد. جهت مرطوب نگاه داشتن ناحیه، از تامپون خیس شده با نرمال سالین گرم (۰/۹ درصد کلرید سدیم) استفاده شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه، پنس‌ها و تامپون را برداشته و خط میانی شکم طبق روش‌های متداول (عضلات با نخ ویکریل ۰۳ و پوست با نخ نایلون ۰۳) بخیه گردید (Chien *et al*., 2001; Hajimiresmaiel *et al*., 2014).

- **آزمایشات سرولوژیک**:

پس از پایان دوره آزمایش (۳۰ روز گاواژ)، خونگیری از قلب و جمع‌آوری نمونه‌خونی انجام شد. سطح کراتینین و اوره سرم به عنوان شاخصی برای عملکرد کلیه مورد بررسی قرار گرفت (Kamianowska *et al*., 2019). این بررسی در آزمایشگاه بیوشیمی مجتمع آزمایشگاهی علوم و تحقیقات و توسط دستگاه اتوآنالایزر Turbo N / Biolis 24i premium و کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون، انجام شد.

- **سنجش پارامترهای آنتی‌اکسیدانی**: در انتهای آزمایش، نمونه‌ی کلیهٔ چپ موش‌ها سریعاً از بدن خارج گردید و نیمی از آن در سالین (۰/۹ درصد کلرید سدیم) بسیار سرد (حدوداً ۴ درجه سلسیوس) شستشو و هموژنات ۱۰ درصد وزنی در حجم (w/v) در بافر فسفات سرد ۵۰ میلی‌مولار (pH 7/4) تهیه شد. در ادامه هموژنات با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس توسط سانتریفیوژ دیجیتال (Large Capacity Centrifuge - FL 5000) سانتریفیوژ شده و محلول شناور حاصله جهت سنجش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) مورد استفاده قرار گرفت (Jamshidi *et al*., 2016). لازم به ذکر است که نمونه نهایی جهت سنجش هرکدام از آنزیم‌های مذکور، به صورت جداگانه تهیه شده و جهت بررسی میزان جذب نوری آن‌ها، به میکروپلیت‌های دستگاه BioTek Microplate–Reader, Biotek Amarica CO.) ELX800) منتقل و نتایج حاصله در طول موج‌های متفاوت (MDA 535 nm, SOD 420 nm, CAT 405 nm, GPx 412 nm)، قرائت و برای هرکدام از آنزیم‌ها، سطح مربوطه بر اساس فرمول استاندارد ارائه شده توسط شرکت سازنده، محاسبه می‌گردید.

- **آسیب‌شناسی بافتی کلیه**: بدین منظور نیمه دیگر بافت کلیه چپ در فرمالین بافری‌شده با فسفات ۱۰ درصد (Merck, Germany) منتقل شد و رنگ‌آمیزی معمول به روش هماتوکسیلین- ائوزین، انجام شد. در نهایت، تغییرات هیستوپاتولوژیک در مورد نکروز لوله‌ای، تخریب لوله‌ای و نفوذ سلول‌های التهابی با بزرگنمایی ۴۰× به‌وسیله میکروسکوپ نوری مدل نیکون (Eclipse

E200، ساخت کشور ژاپن) ارزیابی گردید (Ozbilgin *et al.*, 2016).

در نهایت هم صدمات بافتی مشاهده شده، به شرح زیر درجه‌بندی شدند:

۰= بدون هیچ آسیب بافتی، ۱= دارای ۱ تا ۲۵ درصد آسیب بافتی، ۲= دارای ۲۶ تا ۴۵ درصد آسیب بافتی، ۳= دارای ۴۶ تا ۷۵ درصد آسیب بافتی و ۴= دارای ۷۶ تا ۱۰۰ درصد آسیب بافتی.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** داده‌های به‌دست آمده کمی، به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و سپس‌آزمون تعقیبی توکی (Tukey) در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ توسط نرم‌افزار آماری SPSS-۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

- **اثرات نانوذرات سلنیوم بر پارامترهای بیوشیمیایی:** سطح سرمی کراتینین و اوره افزایش معنی‌داری در حیوانات کنترل I/R نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). همچنین تیمار با نانوذرات سلنیوم با دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) و بصورت وابسته به دوز باعث کاهش سطح پارامترهای فوق در سرم موش‌های صحرایی I/R گردید. با این حال، در موش‌های تجربی سالم که فقط با نانوذرات سلنیوم تحت درمان قرار گرفتند، پارامترهای مذکور، هیچ تغییر معنی‌داری را نشان ندادند (جدول ۱).

جدول ۱- اثر نانوذرات سلنیوم بر سطوح پارامترهای سرمی در موش‌های صحرایی مورد مطالعه
(مقادیر به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده است)

فاکتورهای سرمی سنجیده شده / گروه‌های مورد مطالعه	اوره (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۱) کنترل سالم	۵۵/۱۷ ± ۱/۳۳	۰/۵۶ ± ۰/۰۱۶
۲) شاهد جراحی	۵۰/۵۰ ± ۰/۸۹	۰/۵۶ ± ۰/۰۱۹
۳) تجربی سالم + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۵۱/۸۳ ± ۱/۶۴	۰/۵۷ ± ۰/۰۱۹
۴) تجربی سالم + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۵۱/۶۷ ± ۱/۸۲	۰/۵۴ ± ۰/۰۰۸
۵) تجربی سالم + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۵۰/۳۳ ± ۰/۸۴	۰/۵۶ ± ۰/۰۱۲
۶) کنترل I/R	۷۳/۳۳ ± ۲/۱۷***	۰/۸۴ ± ۰/۰۱۵***
۷) تجربی I/R + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۶۸/۱۷ ± ۱/۷۸***	۰/۷۸ ± ۰/۰۱۱***
۸) تجربی I/R + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۶۲/۸۳ ± ۱/۶۸*+++	۰/۶۸ ± ۰/۰۱۵***+++
۹) تجربی I/R + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۵۹/۳۳ ± ۲/۰۶+++	۰/۶۴ ± ۰/۰۱۴*+++

*) $p<۰/۰۵$، ***) $p<۰/۰۰۱$ اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل سالم. +++) $p<۰/۰۰۱$ اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل I/R.

- **اثرات نانوذرات سلنیوم بر پارامترهای اکسیداتیو:** ایسکمی-بازخونرسانی موجب افزایش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدئید کلیه شد ($p<۰/۰۰۱$). گاواژ سطح ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات سلنیوم (گروه ۷) اثر معنی‌داری بر مقادیر مالون‌دی‌آلدئید بافت کلیه نداشت، اما تجویز دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم

نانوذرات سلنیوم (گروه‌های ۸ و ۹) موجب کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید بافت کلیه نسبت به گروه کنترل ایسکمی-بازخونرسانی شد ($p<۰/۰۰۱$). همچنین، کاهش معنی‌داری در مقادیر کاتالاز، گلوتاتیون‌پراکسیدار و سوپراکسیددیسموتاز بافت کلیه متعاقب ایسکمی-بازخونرسانی مشاهده‌شد ($p<۰/۰۰۱$). دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم نانوذرات سلنیوم اثر معنی‌داری بر مقدار آنزیم‌های مذکور در بافت کلیه نداشت. اما دوزهای ۰/۵ و۱ میلی‌گرم برکیلوگرم نانوذرات سلنیوم موجب افزایش معنی‌داری در مقادیر آنزیم‌های فوق در موش‌های گروه‌های تجربی I/R نسبت به مقادیر به‌دست‌آمده در موش‌های صحرایی گروه کنترل ایسکمی شدند ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۲).

جدول ۲- اثر نانوذرات سلنیوم بر فعالیت پارامترهای آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه موش‌های صحرایی مورد مطالعه
(مقادیر به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده‌است)

گروه‌ها	پارامترهای اکسیداتیو (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر گرم بافت)
۱	۱۳/۰۳ ± ۰/۲۸	۱۸/۳۷ ± ۰/۳۲	۴۲/۳۳ ± ۱/۰۵	۰/۳۴ ± ۰/۰۱۳
۲	۱۳/۱۷ ± ۰/۴۷	۱۸/۵۳ ± ۰/۴۱	۴۲/۵۰ ± ۰/۷۶	۰/۳۶ ± ۰/۰۱۶
۳	۱۴/۰۲ ± ۰/۲۹	۱۹/۰۰ ± ۰/۱۸	۴۳/۱۷ ± ۰/۹۵	۰/۳۴ ± ۰/۰۱۶
۴	۱۴/۳۸ ± ۰/۲۲	۱۸/۸۷ ± ۰/۲۶	۴۴/۸۳ ± ۰/۵۴	۰/۳۲ ± ۰/۰۰۷
۵	۱۴/۵۲ ± ۰/۲۴	۱۸/۵۷ ± ۰/۳۹	۴۵/۰۰۳۳ ± ۱/۲۳	۰/۳۲ ± ۰/۰۱۱
۶	۷/۶۳ ± ۰/۲۳***	۹/۸۰ ± ۰/۲۹***	۲۳/۱۷ ± ۱/۰۷***	۰/۶۴ ± ۰/۰۱۳***
۷	۸/۴۳ ± ۰/۳۴***	۱۰/۹۷ ± ۰/۲۳***	۲۴/۵۰ ± ۰/۷۶***	۰/۶۰ ± ۰/۰۲۷***
۸	۱۰/۲۵ ± ۰/۲۱***+++	۱۲/۶۸ ± ۰/۳۲***+++	۲۸/۸۳ ± ۱/۶۰***+	۰/۵۵ ± ۰/۰۱۵***++
۹	۱۰/۶۳ ± ۰/۲۲***+++	۱۲/۵۶ ± ۰/۲۷***+++	۳۲/۸۳ ± ۱/۱۹***+++	۰/۵۰ ± ۰/۰۱۱***+++

۱) کنترل سالم، ۲) شاهد جراحی، ۳) تجربی سالم+ دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۴) تجربی سالم+ دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم)، ۵) تجربی سالم + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۶) کنترل I/R، ۷) تجربیI/R + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۸) تجربیI/R + دریافت-کننده نانوذرات‌سلنیوم (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۹) تجربیI/R + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

*** $p<۰/۰۰۱$ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل سالم دارد. + $p<۰/۰۵$، ++ $p<۰/۰۱$، +++ $p<۰/۰۰۱$ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل I/R دارد.

- اثرات نانوذرات سلنیوم بر شاخص‌های هیستوپاتولوژی: مشاهدات ریزبینی نشان داد که هیچ‌گونه تغییر دررابطه با دژنراسیون لوله‌ای، نکروز یا التهاب در موش‌های صحرایی کنترل سالم، گروه شاهد جراحی و دیگر حیواناتی که به تنهایی نانوذرات سلنیوم دریافت کرده-بودند، وجود نداشت. اما نکروز شدید لوله‌های کلیوی و نفوذ سلول‌های التهابی در موش‌های کنترل I/R مشاهده شد. درمان با نانوذرات‌سلنیوم با دوزهای۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، منجر به کاهش معنی‌داری در نکروز و التهاب لوله‌ای در موش‌های صحرایی I/R می‌شود (شکل ۱ و جدول ۳).

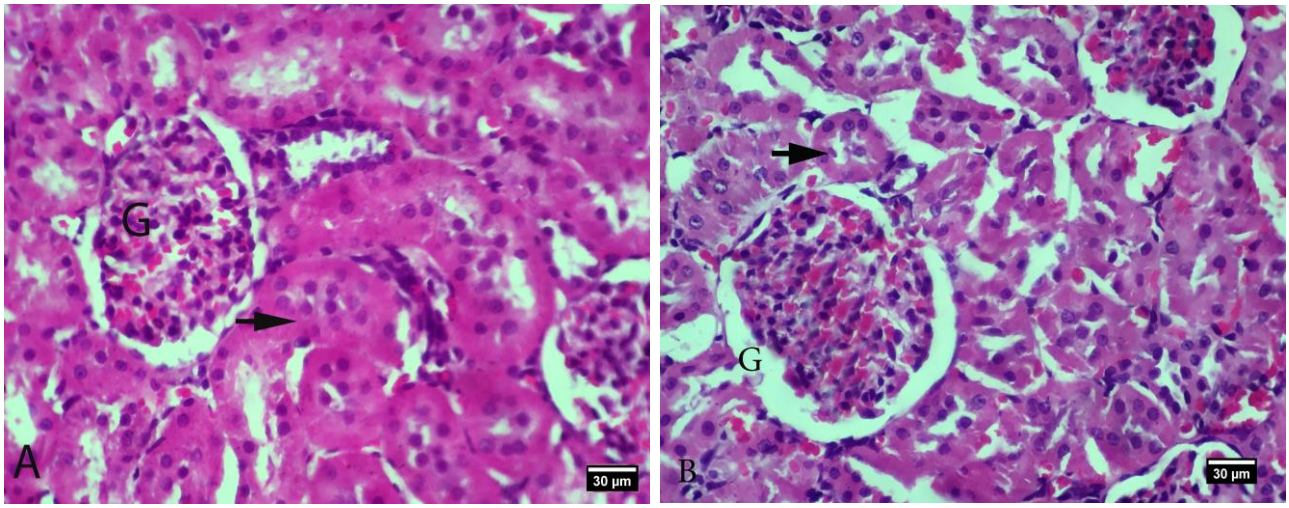
جدول ۳- تأثیر نانوذرات سلنیوم بر شاخص‌های هیستوپاتولوژی در بافت کلیه موش‌های صحرایی مورد مطالعه

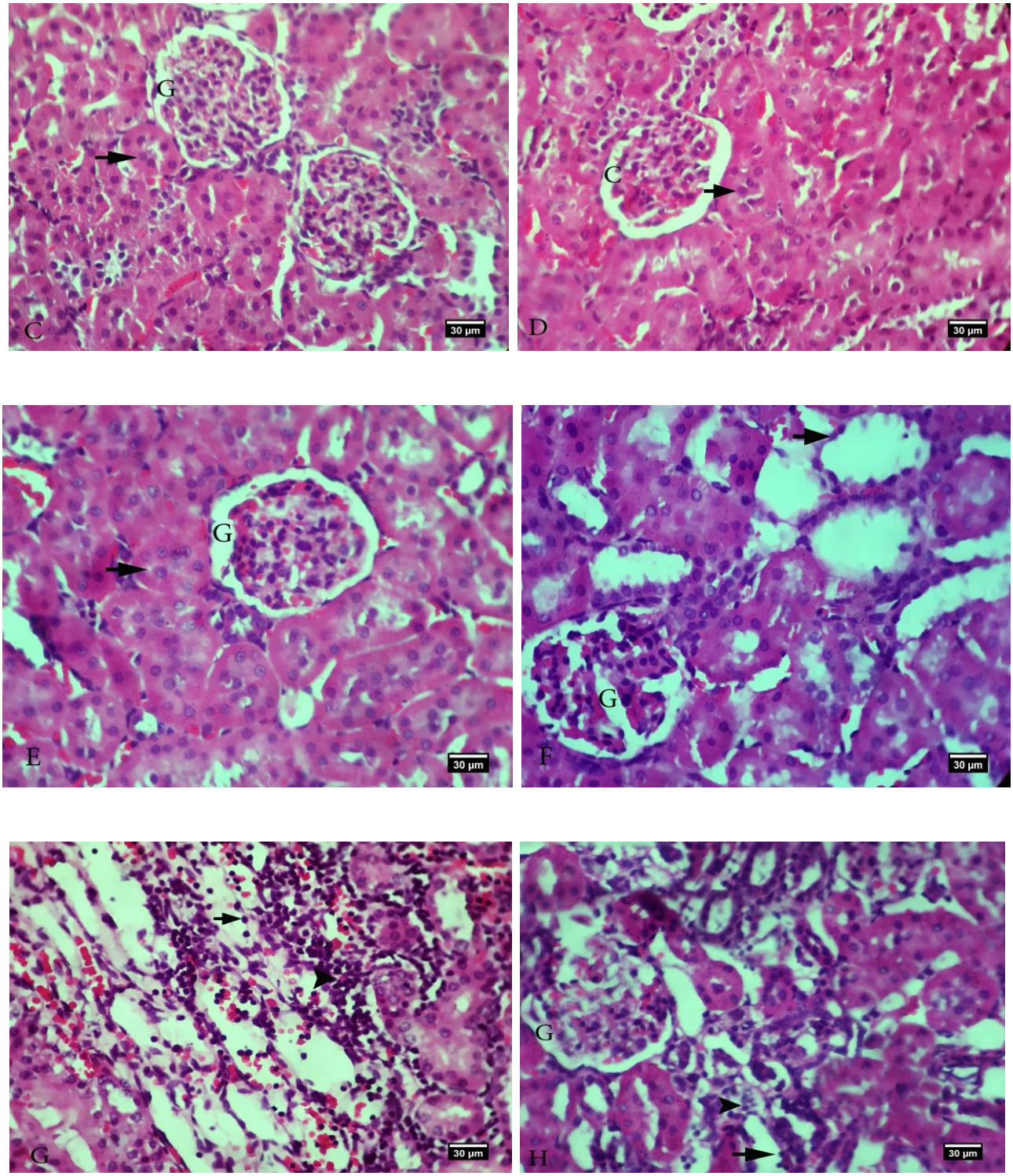
(مقادیر به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده‌است)

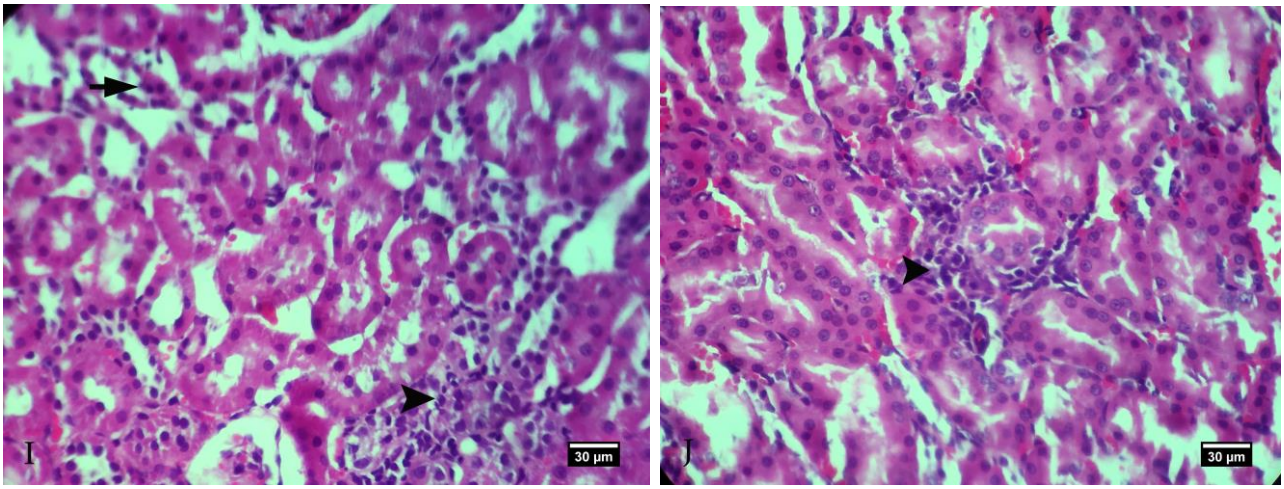
گروه‌ها	شاخص‌های هیستوپاتولوژی	نکروز توبولی	دژنراسیون توبولی	نفوذپذیری التهابی
۱		۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰
۲		۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰
۳		۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰
۴		۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰
۵		۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰
۶		۲/۱۷±۰/۱۷$^{***+++}$	۳/۳۳±۰/۲۱***	۱/۵۰±۰/۲۲***
۷		۱/۳۳±۰/۲۱$^{***+++}$	۲/۸۳±۰/۱۷***	۱/۳۳±۰/۲۱***
۸		۱/۱۷±۰/۱۷$^{***+++}$	۱/۳۳±۰/۲۱$^{***+++}$	۱/۱۷±۰/۱۷***
۹		۰/۱۷±۰/۱۶$^{+++}$	۰/۹۶±۰/۱۸$^{***+++}$	۰/۶۷±۰/۲۱$^{*++}$

۱) کنترل سالم، ۲) شاهد جراحی، ۳) تجربی سالم+ دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۴) تجربی سالم+ دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم)، ۵) تجربی سالم + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۶) کنترل I/R، ۷) تجربیI/R + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۸) تجربیI/R + دریافت-کننده نانوذراتسلنیوم (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۹) تجربیI/R + دریافت کننده نانوذرات سلنیوم (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

*** $p<۰/۰۰۱$ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل سالم دارد. ++ $p<۰/۰۱$، +++ $p<۰/۰۰۱$ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل I/R دارد.




G
C
30 µm
C
D
30 µm
G
E
30 µm
G
F
30 µm
G
30 µm
G
H
30 µm



شکل ۱- یافته‌های آسیب‌شناسی بافتی در کلیهٔ موش‌های گروه‌های مورد آزمایش: A) گروه کنترل سالم، B)گروه شاهد جراحی، C تا E) گروه‌های تجربی سالم دریافت کننده نانوذرات سلنیوم در ۳ دوز ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن با ساختار طبیعی کلیه و گلومرول طبیعی (G) و لوله‌های کلیوی طبیعی (پیکان)، F و G) گروه کنترل ایسکمی/ بازخونرسانی (I/R) با نکروز شدید لوله‌های کلیوی (پیکان) و نفود سلول‌های التهابی (نوک پیکان)، H تا J) گروه‌های تجربی I/R دریافت کننده نانوذرات سلنیوم در ۳ دوز ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن با نکروز لوله‌ها، متوسط به خفیف (پیکان) و التهاب (نوک پیکان) (رنگ‌آمیزی H&E با بزرگ‌نمایی ۴۰۰).

بحث و نتیجه‌گیری

گزارش شده که یکی از دلایل آسیب ایسکمی/ بازخونرسانی، اختلال در مکانیسم‌های محافظتی آنتی‌اکسیدان‌ها در زمان خونرسانی مجدد می‌باشد (Ozlem *et al*. 2013). تیمار موش‌های صحرایی با نانوذرات سلنیوم به مدت ۳۰ روز از راه خوراکی می‌تواند فعالیت کلیوی را بهبود بخشد و باعث افزایش فعالیت پارامترهای آنتی‌اکسیدان بافت کلیه گردد (Rafighdost *et al*. 2013). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که ۲۰ دقیقه ایسکمی و به دنبال آن، بازخونرسانی موجب اختلال در عملکرد کلیوی می‌شود. بر این اساس در مطالعه حاضر، نانوذرات سلنیوم به طور معنی‌داری سطح مالون‌دی‌آلدئید را در بافت کلیه کاهش داد، به‌طوری‌که کاهش معنی‌دار در نمونه‌های مربوط به موش‌های دریافت‌کننده دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($p<۰/۰۱$) و دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به نمونه‌های مربوط به موش‌های گروه کنترل ایسکمی وجود داشت (جدول ۲). این آنزیم فرآورده نهایی تشکیل رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی و نیز شاخصی از آسیب ناشی از اکسیژن واکنشی می‌باشد (Somi *et al*. 2009). تولید مالون‌دی‌آلدئید حاصل عدم تعادل بین سیستم‌های تولید و پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد است که به آسیب غشا سلول یا DNA منجر می‌شود (Maccord. 2000). اکسیژن واکنشی پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها را تغییر می‌دهد و انتقال دهنده‌ها و آنزیم‌ها را غیرفعال نموده و به سیستم نسخه‌برداری DNA آسیب می‌زند. همچنین زنجیره‌ای از واکنش‌ها را آغاز می‌کند که موجب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع در فسفولیپیدهای غشا می‌شود (Somi *et al*. 2009). نتایج

تحقیق حاضر نشان می دهد که تجویز نانوذرات سلنیوم می‌تواند بافت کلیه موش‌های صحرایی را که دچار ایسکمی/ بازخونرسانی می‌شوند، در برابر پراکسیداسیون لیپیدی محافظت نماید. آسیب I/R در تحریک تولید گونه‌های داخل‌سلولی فعال اکسیژن همانند آنیون سوپراکسید و هیدروژن‌پراکسید نقش دارد. این گونه‌ها باعث آسیب کلیوی می‌شوند. استرس‌های اکسیداتیو می‌توانند منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و یا کاهش توانایی در مهار این گونه‌ها گردند. بنابراین، در غشاء لیپیدی، گونه‌های فعال اکسیژن به اسیدهای چرب غیراشباع متصل شده و باعث تغییرات ساختاری و عملکردی سلول می‌شوند. به دنبال خونرسانی مجدد، عدم تعادل ایجاد شده در اکسیژن‌رسانی و عملکرد تنفسی موجب تولید مقادیر فراوان آنیون‌سوپراکسید در میتوکندری می‌گردد (Tavafi *et al.*, 2010). این ترکیبات موجب آسیب در سلول‌های اپیتلیال توبول‌های کلیوی و القاء آپوپتوز در آن‌ها می‌شوند. علاوه براین، مطالعات نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند رادیکال‌های آزاد را پاک نمایند و لذا، قادرند در آسیب ناشی از ایسکمی بازخونرسانی اثرات محافظتی داشته باشند (Seth *et al.*, 2000; Sadeghian *et al.*, 2005).

همچنین یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که میزان آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در بافت کلیه موش‌های گروه‌های ۸ و ۹ (دریافت‌کننده دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوسلنیوم)، کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به کنترل ایسکمی نشان می‌دهند. درحالی‌که مقدار پارامترهای مذکور، اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های مربوط به موش‌های گروه‌های کنترل ایسکمی و دریافت‌کننده دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نداشت (جدول ۲). همچنین، از نظر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، در گروه ۸ (دریافت‌کننده دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نانوذرات سلنیوم)، افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و در گروه ۹ (دریافت‌کننده دوز۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نانوذرات مذکور)، افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل ایسکمی مشاهده گردید (جدول ۲). باتوجه به اینکه میزان آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز در نمونه‌های مربوط به موش‌های گروه کنترل ایسکمی نسبت به گروه کنترل سالم، کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$) ایجاد کرده‌است (جدول ۲)، به‌عبارتی ایسکمی/ بازخونرسانی توانسته است، سطح فعالیت آنزیم مورد نظر را در مقایسه با حیوانات سالم کاهش دهد و با تجویز نانوذرات سلنیوم به شیوه خوراکی، میزان فعالیت این آنزیم بهبود یافته‌است. سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهمی هستند که در پاک‌سازی یون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن شرکت می‌کنند و بدین ترتیب در حفظ ساختار و فعالیت بیولوژیکی غشاها مؤثرند (Mccord, 2000). فعالیت پایین سوپراکسیددیسموتاز در موش‌های صحرایی ممکن است ناشی از تولید بیش از حد گونه اکسیژن واکنشی باشد (Huang *et al.*, 2005). این نتایج در توافق با مطالعات مشابهی، اثرات محافظت‌کنندگی مواد آنتی‌اکسیدان را در آسیب ایسکمی-بازخونرسانی گزارش می‌کنند (Walker *et al.*, 2001; Korkmaz and Kolinsky, 2009).

از طرف دیگر، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) در میانگین غلظت اوره و کراتینین سرم موش‌های مورد آزمایش در گروه کنترل

I/R نسبت به گروه کنترل سالم وجود دارد (جدول ۱) که این امر، نشان‌دهنده نوعی آسیب به کلیه و تغییر فیزیولوژی کلیه است. اوره آخرین محصول ایجادشده از متابولیسم اسیدهای آمینه و کاهش پروتئین‌ها است و گزارش شده که افزایش مقدار کراتینین در پلاسما، گویای کاهش تصفیه گلومرولی و اختلال در عملکرد کلیه است (Tietz, 1995). از نشانه‌های نارسایی حاد کلیوی و آسیب به توبول‌های کلیه، می‌توان به مواردی چون افزایش کراتینین، اوره سرم و افزایش درجهٔ آسیب بافتی در مطالعه پاتولوژی اشاره کرد. لازم به ذکر است که تمامی موارد ذکر شده بر یکدیگر تأثیر می‌گذارند، به این‌صورت که آسیب به بافت کلیه، سبب تغییر در غلظت فاکتورهای بیوشیمیایی کلیه می‌شود (Palant *et al*. 2017). همچنین مشخص شده که ایجاد ایسکمی، سبب نارسایی شدید در کلیه و در نهایت مرگ حیوان می‌شود (Korkmaz and Kolankaya, 2010). با این‌که مکانیسم‌های دقیق این آسیب معلوم نشده، ولی یکی از دلایل ایجاد آن، پرفیوژن مجدد خون در اندام مورد نظر است، به‌طوری که مشخص‌شده، در برخی مواقع، فرآیند ایسکمی-بازخونرسانی سبب تشدید جذب موضعی سلول‌ها یا التهاب می‌شود و این سلول‌ها هم مقادیر زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن را آزاد کرده و سبب پیش‌برد روند تخریب غشاء و نفوذپذیری میتوکندریایی می‌شوند. افزایش نفوذپذیری میتوکندری‌ها و تشکیل سوراخ‌هایی در غشاء میتوکندری، سبب کاهش پتانسیل غشا و همچنین کاهش آدنوزین‌تری‌فسفات و تورم میتوکندری می‌شود (Hashemi, 2014). افزایش نفوذپذیری غشاهای خارجی میتوکندری سبب آزاد شدن محرک شروع‌کننده آپوپتوز، یعنی سیتوکروم c به داخل سیتوزول می‌شود. این روند رویدادهای پروتئولیتیکی را به حرکت درآورده و باعث القاء آپوپتوز می‌شود (Zimmerman and Granger, 1994). بر این اساس، در پژوهش حاضر نیز در گروه‌های I/R، با آسیب به بافت کلیه، افزایش فاکتورهای بیوشیمیایی کلیه مانند کراتینین و اوره خون مشاهده شد (جدول ۱). از طرفی هم مطالعات گذشته نشان داده‌اند که در فاز ایسکمیک، میانجی‌های آماسی متعددی در بافت آسیب‌دیده آزاد می‌شوند که مهم‌ترین آن‌ها فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF-α)، اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۶ می‌باشد. این میانجی‌ها سبب ایجاد و گسترش التهاب در فاز خونرسانی مجدد می‌شوند و با افزایش مولکول‌های اتصالی در سطح سلول‌های آندوتلیال، سبب کشیده‌شدن سلول‌های چندهسته‌ای به داخل بافت ایسکمیک می‌شوند (Goligorsky, 2005). ورود سلول‌های التهابی چند هسته‌ای به بافت با تولید آنزیم میلوپراکسیداز همراه است و سپس ترکیب نیتریک‌اکساید با رادیکال‌های سوپراکسید و تولید پراکسی‌نیتریت می‌گردد که خود سبب اضافه شدن فرآیند استرس اکسیداتیو به فرآیند التهاب می‌شود و آن‌هم به دامنه آسیب ایسکمیک می‌افزاید (Friedewaldand Rabb, 2004; Goligorsky, 2005). همان‌طور که مشخص است، استرس‌اکسیداتیو سبب آسیب گلومرولی می‌شود و افزایش اوره و کراتینین سرم به دنبال القای I/R، نشان‌دهنده ایجاد آسیب گلومرولی است که توسط تحقیقات مختلفی تأیید شده است (Koeppen *et al*., 2010; Choi *et al*., 2017). همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در گروه‌های I/R تحت تیمار با

نانوذرات سلنیوم، میزان غلظت اوره و کراتینین در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل ایسکمی، کاهش معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۰۱$)، در صورتی‌که گروه تجربی I/R دریافت‌کننده دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نانوذرات سلنیوم، از این نظر با گروه کنترل ایسکمی اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. در این ارتباط، در پژوهش‌های مهاجری و همکاران در سال ۱۳۹۱، حیواناتی که دچار آسیب ایسکمی بازخونرسانی شده بودند، آسیب‌های کلیوی و کاهش عملکرد کلیه را با افزایش معنی‌دار سطح اوره و کراتینین سرم نسبت به گروه شاهد و آسیب‌های گسترده هیستوپاتولوژیکی نظیر واکوئله شدن سلول‌ها، ادم بینابینی، نکروز توبولی و تغییرات گلومرولی، مشاهده شده‌است (Mohajeri *et al.*, 2012a; Mohajeri *et al.*, 2012b). مطالعه کوجوری و شریف در سال ۲۰۱۳ بر روی سایر گونه‌ها نیز نشان داد که نانوذرات سلنیوم باعث کاهش غلظت اورهٔ خون در مقایسه با سایر منابع سلنیوم می‌شوند (Kojouri and Sharif, 2013). یکی از مکانیسم‌های احتمالی افزایش آسیب کلیوی و در نتیجه تغییر در فاکتورهای خونی مربوط به کلیه، ممکن است در اثر آسیب مخرب گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین استرس‌اکسیداتیو باشد. بنابراین، کاهش استرس‌اکسیداتیو با روش‌های فارماکولوژیک یا تغذیه‌ای، هدف مطلوبی برای درمان و کندشدن آسیب ایسکمی/ بازخونرسانی است (Acker *et al.*, 2000). در مطالعه حاضر هم به‌نظر می‌رسد که نانوذرات سلنیوم با افزایش قدرت دفاع آنتی‌اکسیدانی توانسته که از بدن در مقابل رادیکال‌های آزاد محافظت کند. بنابراین شاید یکی دیگر از مکانیسم‌های محافظتی نانوذرات سلنیوم، به دلیل دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی آن باشد. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که فاکتور نکروزدهنده توموری آلفا، حین واکنش‌های فاز ایسکمیک سبب افزایش التهاب و در نتیجه تغییر در عملکرد کلیه حین آسیب می‌شود (Morais *et al.* 2010) و مهار تولید فاکتور نکروزدهنده تومور ممکن است باعث بهبودی در جریان خون کلیه شود (Malaguarnera *et al.* 2010). هرچند مطالعه حاضر به دلیل محدودیت‌ها، قادر به اندازه‌گیری مقادیر سیتوکین‌ها و TNF-α متعاقب تجویز نانوذرات سلنیوم نبوده‌است، اما آسیب‌های بافتی در گروه‌های تحت I/R، مؤید موارد فوق می‌باشند (شکل ۱). بنابراین، نانوذرات سلنیوم ممکن است با مکانیسمی مشابه، سبب بهبود جریان خون کلیه شده و در نتیجه در کاهش آسیب کلیوی ناشی‌از ایسکمی / بازخونرسانی نقش داشته باشد.

از طرف دیگر، در تحقیق حاضر، بررسی هیستوپاتولوژی کورتکس کلیه تحت ایسکمی-بازخونرسانی نشان داد که مجموع آسیب‌های بافتی شامل نکروز توبولی گسترده، دژنراسیون توبولی و نفوذ سلول‌های التهابی می‌باشد که در گروه کنترل ایسکمی (گروه ۶) و سه گروه تجربی ایسکمی (گروه‌های ۷، ۸ و ۹) افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل سالم، نشان دادند (شکل ۱ و جدول ۳). همچنین هر سه گروه تجربی ایسکمی، نکروز توبولی کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل ایسکمی نشان دادند . درحالی‌که دژنراسیون توبولی در گروه‌های تجربی ایسکمی دریافت‌کننده دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به کنترل

ایسکمی افزایش یافت (شکل۱ و جدول ۳) و نفوذپذیری التهابی فقط در گروه تجربی ایسکمی دریافت‌کننده دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) نسبت به کنترل ایسکمی نشان داد (شکل۱ و جدول ۳). هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر، پژوهش صداقت و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز نشان داد که آسیب‌های بافتی شامل نکروز توبولی گسترده، انسداد تعداد زیادی از توبول‌ها در هر زمینهٔ میکروسکوپی، گشاد شدن توبول‌ها و دژنراسیون توبولی، بیشترین موارد آسیب حاصله در اثر ایسکمی/ بازخونرسانی کلیوی بوده‌است (Sedaghat *et al.*, 2019). در این ارتباط گزارش شده که آسیب I/R کلیوی بر واسطه‌های مختلفی مانند التهاب، استرس‌اکسیداتیو و فعال‌سازی مولکول‌های چسبنده تأثیر می‌گذارد که این امر منجر به التهاب، آسیب لوله‌های کلیوی، اختلال عملکرد اندوتلیال و آپوپتوزیس می‌شود و عوامل استرس ضدآپوپتوتیک و ضداکسیداتیو می‌توانند کاهش عملکرد کلیه و آسیب لوله‌ای را مهار کنند (Malek and Nematbakhsh, 2015; Yano *et al.*, 2015).

نتیجه نهائی این‌که، یافته‌های مطالعه حاضر آسیب کلیوی را در موش‌های تحت ایسکمی/ بازخونرسانی تأیید کرد و همچنین نتایج حاصله، به خوبی اثربخشی نانوذرات سلنیوم در دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها را در کاهش آسیب کلیوی و بهبود پارامترهای آنتی‌اکسیدانی در حیوانات مورد آزمایش نشان داد. لذا به‌نظر می‌رسد که احتمالاً بتوان از نانوذرات سلنیوم بواسطهٔ خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، جهت بهبود عوارض ناشی از ایسکمی/ بازخونرسانی کلیوی استفاده کرد. با این حال، تحقیقات در رابطه با استفاده از نانوذرات مواد معدنی هنوز در مراحل ابتدایی است و قابلیت‌های این نانوذرات به منظور سرعت بخشیدن به بهبود آسیب‌هایی نظیر ایسکمی- بازخونرسانی کلیوی در حال بررسی است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری تخصصی است. نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات به خاطر تأمین امکانات آزمایشگاهی این تحقیق، قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافع ندارند.

منابع

• Acker, C.G., Singh, A.R., Flick, R.P., Bernardini, J., Greenberg, A. and Johnson, J.P. (2000). A trial of thyroxine in acute renal failure. Kidney International, 57(1): 293-98.

- Amouoghli-Tabrizi, B., Hassanpour, A., Khakpour, M. and Mohammadpour-Tanha Y. (2008). The effect of vitamin E and selenium on serum injection on serumic levels of T3 and T4 hormones in the Arabian horse. Veterinary Clinical Pathology, 2(6): 165-70. [In Persian]
- Behne, D., Hofer, T., Von Berswardt-Wallrabe, R. and Elger, W. (1982). Selenium in the testis of the rat; studies on its regulation and its importance for the organism. Journal of Nutrition, 102(11): 1682-1687.
- Chien, C.H., Lee, P., Chen, C.H., Ma, M., Lai, M. and Hsu, S. (2001). De Novo Demonstration and Co-localization of Free-Radical Production and Apoptosis Formation in Rat Kidney Subjected to Ischemia/Reperfusion. American Society of Nephrology, 12(5): 973-982.
- Choi, E.K., Jung, H., Kwak, K.H., Yi, S.J., Lim, J.A., Park, S.H. and et al. (2017). Inhibition of Oxidative Stress in Renal Ischemia- Reperfusion Injury. Anesthesia & Analgesia, 124(1): 204-213.
- Etensel, B., Ozkisacik, S., Ozkara, E., Karul, A., Onur Oztan, M., Yazici, M., et al. (2017). Dexpanthenol attenuateslipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury. Pediatric surgery international, 23(2): 177-181
- Friedewald, J.J. and Rabb, H. (2004). Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. Kidney International, 66(2): 486-490.
- Goligorsky, M.S. (2005). Whispers and shouts in the pathogenesis of acute renal ischemia. Nephrology Dialysis Transplantation, 20(2): 261-266.
- Grekas, D., Dioudis, C., Papageorgiou, G., Iliadis, S., Zilidis, C., Alivanis, P., et al. (1996). Lipid peroxidation after acute renal ischemia and reperfusion in rats: the effect of trimetazidine. Renal Failure Journal, 18(4): 545-552.
- Hajimiresmaiel, J., Davoodi, H., Namazi, N., Javedan, G.H., Pazoki-Toroudi, H. and Ajami M. (2014). Effect of omega 3 fatty acids on oxidative stress in acute renal failure induced by ischemia reperfusion. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 8(4): 155-162.
- Hashemi, M. (2014). The Study of Pentoxifylline Drug Effects on Renal Apoptosis and BCL-2 Gene Expression Changes Following Ischemic Reperfusion Injury in Rat. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 13(1): 181-189.
- Huang, S.Z., Luo, Y.J., Wang, L., et al. (2005). Effect of ginkgo biloba extract on livers in aged rats. World Journal of Gastroenterology, 11(1): 132-135.
- Jamshidi, N., Asghari, A., Neshat, M. and Mortazavi, P. (2016). Effects of magnesium sulfate administration on ischemia-reperfusion kidney in rat. Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 115(1): 63-75. [In Persian]
- Kamianowska, M., Szczepański, M. and Wasilewska, A. (2019). Tubular and Glomerular Biomarkers of Acute Kidney Injury in Newborns. Current Drug Metabolism, 20(1): 332-349.
- Khosravian Dehkordi, K.K. (2014). Effect of Selenium Nano-Particle on the Hepatic Changes in Rat. World Journal of Zoology, 9(1): 01-03.
- Kojouri, G.A. and Sharif, S. (2013). Preventing effects of nano-selenium particles on serum concentration of blood urea nitrogen, creatinine, and total protein during intense exercise in donkey. Journal of Equine Veterinary Science, 33(8): 597-600.
- Korkmaz, A. and Kolinsky, D. (2009). The protective effects of ascorbic acid against renal ischemiareperfusion injury in male rats. Renal Failure, 31(1): 36-43.
- Korkmaz, A. and Kolankaya, D. (2010). Protective effect of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. Journal of Surgical Research, 164(2): 309-315.
- Malaguarnera, M., Gargante, M.P., Russo, C., Antic, T., Vacante, M., Malaguarnera, M. and et al. (2010). L-carnitine supplementation to diet: a new tool in treatment of nonalcoholic steatohepatitis a randomized andcontrolled clinical trial. American Journal of Gastroenterology, 105(6): 1338-1345.
- Malek, M. and Nematbakhsh, M. (2015). Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. Journal of Renal Injury Prevention, 4(2): 20-27.

- Marra, G., Gotreneo, P., Pitocco, D., Manto, A. and Di Leo, M. (2002). Ruotolo V. Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes: a case for gender differences. Diabetes Care, 25(2): 370-375.
- McCord, J.M. (1985) Mechanisms of disease: oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New England Journal Medical, 312(1): 159-163.
- McCord, J.M. (2000).The evolution of free radicals and oxidative Stress. American Journal of Medicine, 108(8): 652-659.
- Mohajere, D., Mousavi, G.H. and Mansouri M.B. (2012a). Histopathological study on the effects of turmeric (Curcuma longa linn.) powdwer on renal ischemia-reperfusion injuryin rats. Veterinary Clinical Pathology, 6(1): 1493-1503. [In Persian]
- Mohajere, D., Mousavi, G.H. and Mansouri M.B. (2012b). Histopathological study on the effects of turnip root ethanolic extract on renal ischemia-reperfusion injury in rats. Veterinary Clinical Pathology, 6(2)22: 1549-1503. [In Persian]
- Morais, M.C., Luqman, S., Kondratyuk, T.P., Petronio, M.S., Regasini, L.O., Silva, D.H., et al. (2010). Suppression of TNF-α induced NFκB activity by Gallic acid and its semisynthetic esters: possible role in cancer chemoprevention. Natural Product Research, 24(18): 1758-1765.
- Oldenburg, O., Qin, Q., Krieg, T., Yang, X.M., Philipp, S., Critz, S.D., et al. (2004). Bradykinin induces mitochondrial ROS generation via NO. cGMP, PKG, and mitoKATP channel opening and leads to cardioprotection. American Journal of Physiology-heart and Circulatory Physiology, 286(1): 468-476.
- Ozbilgin, S., Ozkardesler, S., Akan, M., Boztas, N., Ozbilgin, M., Ergur, B.U., et al. (2016). Renal ischemia/reperfusion injury in diabetic rats: The role of local ischemic preconditioning. BioMed Research International, 8580475.
- Palant, C.E., Amdur, R.L. and Chawla, L.S. (2017). Long-term consequences of acute kidney injury in the perioperative setting. Current Opinion in Anesthesiology, 30(1): v100-104.
- Paller, M.S., Hoidal, J. and Ferris, T.F. (1984). Oxygen free radicals in Ischemic acute renal failure in the rat. Journal of Clinical Investigation, 74(4): 1156.
- Rayman, M.P. (2000). The importance of selenium to human health. Lancet, 356(15): 233-241.
- Sadeghnia, H.R., Boroushaki, M.T. and Mofidpour, H. (2005). Effect of safranal on lipid peroxidation level during renal ischemia-reperfusion injury in rat. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences, 8(1): 179-185.
- Salvadori, M., Rosso, G. and Bertoni, E. (2015). Update on ischemia reperfusion injury in kidney transplantation: pathogenesis and treatment. World Journal Transplant, 5(2): 52-67.
- Sedaghat, Z., Fatemikia, H., Tanha, K., Assadi, M., Zahiri, M., Seifi, B., et al. (2019). Evaluating the Recovery Process of Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats Using Small-Animal SPECT . Iranian South Medical Journal, 22(2): 77-89. [In Persian]
- Seth, P., Kumari, R., Madhavan, S. and Singh, A. (2000). Prevention of renal ischemia-reperfusion induced injury in rats by picroliv. Biochemical Pharmacology, 59(10): 1315-1322.
- Somi, M.H., Hajipour, B., Asl, N.A., Estakhri, R., Azar, A.N., Zade, M.N., et al. (2009). Pioglitazone Attenuates Ischemia/Reperfusion–Induced Liver Injury in Rats. Transplantation Proceedings, 41(1): 4105- 4109.
- Tavafi, M., Ahmadvand, H. and Toolabi, P. (2010). Inhibitory effect of olive leaf extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. Iranian Journal Kidney Disease, 6(1): 25-32.
- Tietz, N.W. (1995). Clinical Guide to Laboratory Tests (ELISA). 3rd Edition, W.B. Saunders, Co., Philadelphia, 35(11): 268-273.
- Unal, D., Yeni, E., Erel, O., Bitiren, M. and Vural, H. (2002). Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia – reperfusion injury. Urological Research, 30(3): 190-194.

- Walker, L.M., Lyndal, Y.J., Syed, Z.I., Syed, F.A., Kenneth L.M. and Mayeux, P.R. (2001). Oxidative Stress and Reactive Nitrogen Species Generation during Renal Ischemia. Toxicological Sciences, 63(1): 143-148.
- Yano, T., Nozaki, Y., Kinoshita, K., Hino, S., Hirooka, Y., Niki, K., et al. (2015). The pathological role of IL-18Ralpha in renal ischemia/reperfusion injury. Laboratory Investigation, 95(1): 78-91.
- Zhang, J., Gao, X., Zhang, L.D. and Bao, Y.P. (2001). Biological effects of a nano red elemental selenium. BioFactors, 15(1): 27-38.
- Zhang, J.S., Wang, H., Yan, X. and Zhang, L.D. (2004). Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and Selenite in mice. Life Science Journal, 75(2): 447-459.
- Zimmerman, B.J. and Granger, D.N. (1994). Mechanisms of reperfusion injury. The American Journal of the Medical Sciences, 307(4):284-92.