

# برهمکنش تیامین و نانوذره‌های اکسید روی بر تغییرات ساختار پارانشیم کلیوی

رحمت الله فتاحیان\*<sup>۱</sup>، بهناز کریمی<sup>۱</sup>، جهانگیر کبوتری<sup>۱</sup> و سید رضا حسینی<sup>۲</sup>، کیانوش فروهر مجد<sup>۲</sup>

## چکیده

نانوذرات اکسید روی به دلیل خواص متمایزشان و به دلیل کاربرد در چندین حوزه صنعتی از جمله داروسازی، مواد غذایی، فوتوکاتالیست، لوازم آرایشی و کشاورزی شناخته شده‌اند. همانطور که قبلاً ذکر شد، نسبت بزرگ سطح به حجم نانوذرات اکسید روی آنها را نسبت به هم‌تایان خود، یعنی اکسید روی و برای کاربردهایشان کارآمدتر می‌کند (۲-۴).

نانوذرات اکسید روی یکی از نانوذرات رایج مورد استفاده در نظر گرفته می‌شود. آنها در بسیاری از صنایع و زیست پزشکی مانند محصولات بهداشت شخصی، منسوجات، الکترونیک و لوازم آرایشی وارد می‌شوند (۵). علاوه بر این، آنها جزء مهم کرم‌های ضد آفتاب و مرطوب‌کننده‌ها، صنایع غذایی و بسته‌بندی هستند (۶، ۷). علاوه بر این، اثر ضد سرطانی آنها ثبت شده است (۸). نانوذرات اکسید روی می‌توانند از طریق کاربرد موضعی پوست، استنشاق ریه، مصرف غذا و تزریق داخل وریدی نیز به بدن دسترسی داشته باشند (۹). گزارش شده است که مسیر اصلی ورود نانوذرات اکسید روی بیشتر سیستم تنفسی است (۱۰). در مطالعات پیشین، مشخص گردید که قرار گرفتن سلول‌های مشتق از کارسینوم برونکوالئولار انسانی (A549) با نانوذرات اکسید روی، روابط سلولی وابسته به دوز بسیار شدیدتری را نسبت به سایر اکسیدهای فلزی نشان می‌دهد (۱۱). مطالعات متعددی نشان می‌دهد که سمیت به دلیل استرس اکسیداتیو بالا و آسیب اکسیداتیو DNA است. در

به همراه گسترش سریع فناوری‌های نانومواد، نانوذرات اکسید روی به وفور در جنبه‌های مختلف زندگی انسانها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه تغییرات بافت‌شناختی ساختار کلیه در مواجهه با تیامین در مقابله با تجویز نانوذرات اکسید روی در موش مورد ارزیابی قرار گرفت. ۲۰ سر رت نر نژاد ویستار بالغ انتخاب شده و به طور تصادفی در ۴ گروه ۸ تایی تقسیم بندی شدند. گروه اول، گروه کنترل؛ گروه دوم، گروه تیامین (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)؛ گروه سوم، گروه نانوذرات اکسید روی (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و گروه چهارم، گروه نانوذرات اکسید روی همراه با تیامین در نظر گرفته شدند. تمامی تزریقات به شکل داخل صفاقی صورت گرفت و تمام شرایط حفظ حقوق حیوانات رعایت گردید. در انتهای آزمایش، خون حیوانات جهت استفاده از سرم برای انجام تستهای بیوشیمیایی اخذ و نمونه‌های بافت کلیه جهت ادامه مراحل تهیه اسلاید گرفته شد. نتایج نشان داد که تغییرات بافت شناسی مشهودی در گروه نانوذرات قابل مشاهده است. گلوکز خون و HDL کاهش معنی داری را در گروه نانوذرات نسبت به گروه کنترل نشان داد. از سویی، کلسترول، LDL، BUN و کراتینین افزایش معنی داری را در گروه نانوذرات نسبت به گروه کنترل نشان داد. تزریق همزمان نانوذرات همراه با تیامین تغییرات بافتی و بیوشیمیایی ایجاد شده را تا حد زیادی تقلیل داده بود. تیامین می‌تواند اثرات مخرب دوز بالای نانوذرات اکسید روی را بر کلیه موش‌های صحرایی کنترل کند.

واژگان کلیدی: موش، تیامین، نانوذرات اکسید روی، بافت شناسی

فاکتورهای بیوشیمیایی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۱۴

## مقدمه

نانوذرات، ذرات کوچکی هستند که از ۱ تا ۱۰۰ نانومتر (nm) اندازه داشته و در طیف گسترده‌ای از کاربردهای گوناگون پزشکی و غیرپزشکی استفاده می‌شوند (۱). اخیراً،

۱. گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران fatahian\_1349@yahoo.com  
۲. دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران

صحرائی به دنبال تجویز نانوذرات اکسید روی به مدت ۱۵ روز بود.

### مواد و روش کار

مواد شیمیایی

نانوذرات اکسید روی

همه معرف ها و مواد شیمیایی از کیفیت تحلیلی یا خلوص بالاتر برخوردار بودند. نانوذرات اکسید روی از شرکت فاین نانو تهران تهیه گردید. مشخصات این نانوذرات در جدول زیر نمایش داده شده است.

تیامین

تیامین هیدروکلراید (ویتامین B1) به شکل پودر سفید بلوری یا کریستال های بی رنگی است که به عنوان کوآنزیم در واکنش های مختلف برای متابولیسم کربوهیدرات ها عمل می کند. این ویتامین محلول در آب است. تیامین با مشخصات اختصاصی در جدول ۱-۲ طبق پروتکل شرکت نشان داده شده است.

جدول ۱-۱: مشخصات کارخانه ای نانوذرات اکسید روی بر اساس استاندارد عرضه شده

| ردیف | نوع نانوذره | اکسید روی                |
|------|-------------|--------------------------|
| ۱    | شکل ظاهری   | پودر                     |
| ۲    | رنگ         | سفید                     |
| ۳    | چگالی       | ۵/۶۰۶ gr/cm <sup>3</sup> |
| ۴    | جرم مولکولی | ۸۱/۳۸ gr/mol             |
| ۵    | درصد خلوص   | بالای ۹۹٪                |
| ۶    | اندازه ذرات | ۱۰-۳۰ نانومتر            |

یک مطالعه وابسته به دوز و زمان توسط شیا و همکاران (۲۰۰۸)، اکسید روی (در حد ۱۳ نانومتر) باعث ایجاد سمیت در رده های سلولی BEAS-2B شد که منجر به تولید گونه های فعال اکسیژن، تحریک التهاب و مرگ سلولی گردید (۱۲).

ویتامین ها ساختار بیوشیمیایی پیچیده ای دارند و برای تغذیه و سلامت انسان ضروری هستند؛ از این میان، تیامین اولین ویتامین B شناسایی شده شناخته شد و بنابراین به عنوان ویتامین B1 نامگذاری گردید. تیامین (تیامین) یا ویتامین B1 یک ویتامین محلول در آب است که به طور طبیعی در برخی غذاها یافت می شود، به غذاها اضافه می شود و به عنوان مکمل فروخته می شود. تیامین نقش حیاتی در رشد و عملکرد سلول های مختلف دارد. فقط مقادیر کمی در کبد ذخیره می شود، بنابراین مصرف روزانه غذاهای غنی از تیامین مورد نیاز است (۱۳، ۱۴). تیامین به عنوان یک کوآنزیم برای سوخت و ساز انرژی، چربی و نوکلئوتید، سنتز آنزیم ها و به ویژه تولید سلول های مغز ضروری است. این ویتامین عملکرد سلول های عضلانی اندوتلیال را در شرایط آزمایشگاهی بهبود می بخشد (۱۴، ۱۵). مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که تیامین می تواند به طور مستقیم به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کند. رابطه بین آنزیم های وابسته به تیامین و استرس اکسیداتیو نیز نشان دهنده نقش تیامین به عنوان یک کوفاکتور حیاتی در شرایط استرس زا است (۱۶). ویتامین B1 برای محافظت در برابر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سرب در کبد و کلیه موش استفاده شده است. این ویتامین یک پاک کننده مستقیم برای سوپراکسید و آنیون HO<sup>-</sup> است. بنابراین، بر پاسخ های سلولی به استرس اکسیداتیو تأثیر می گذارد (۱۷).

هدف اصلی این مطالعه تعیین اثرات تیامین بر ساختار هیستولوژیک کلیه و فعالیت ALT و AST در موش

گروه تیامین (II): به میزان ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تیامین روزانه به صورت داخل صفاقی تجویز شد (Amiri, 2018).

گروه نانوذره اکسید روی (III): به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوذره اکسید روی روزانه به صورت داخل صفاقی تجویز شد (۱۸).

گروه نانوذره اکسید روی و تیامین (IV): نانوذره اکسید روی همراه با تیامین با دوز مشخص شده روزانه به صورت داخل صفاقی تجویز شد.

برای انتخاب حجم تزریق، ۵ ml در هر کیلوگرم وزن بدن طبق استاندارد OECD (۲۰۰۰)، برای هر حیوان مورد استفاده قرار گرفت. غلظت ۵٪ برای مقدار تجویز تعیین شد.

پس از گذشت ۱۵ روز به وسیله داروی بیهوش کننده اتر، موش‌ها را بیهوش کرده و از قلب هر کدام از آنها مقدار ۳ سی سی خون گرفته شد و در لوله های آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد جمع آوری گردید. پس از خون گیری هر نمونه خونی با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد تا سرم از لخته جدا شده و با استفاده از سمپلر (sampler)، سرم جمع آوری گردید. نمونه های سرمی تا زمان اندازه گیری غلظت آنزیم های مورد نظر در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگه داری شدند. جهت اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی مورد نظر، از کیت های پارس آزمون و به کمک دستگاه اتوآنالایزر به روش اسپکتروفوتومتری استفاده گردید. در انتها حفره شکمی تشریح و کلیه ها در معرض دید قرار گرفت. کلیه از بافت های اطراف تشریح شد و خارج گردید و پس از شست و شو به قطعات کوچک تقسیم شده و در فرمالین مرک بافر ۱۰ درصد به منظور ثبوت به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند. آب گیری، پارافین دهی و شفاف سازی

جدول ۱-۲: مشخصات تیامین استفاده شده در طرح پژوهشی بر اساس استاندارد ارایه شده توسط شرکت

| نام                  | Thiamine hydrochloride (Vitamin B1 hydrochloride) |
|----------------------|---------------------------------------------------|
| تولید کننده          | مولکولا – Molekula                                |
| کشور تولید کننده     | انگلستان                                          |
| شماره کاتالوگ – Cat# | 46264200-100g                                     |

تحقیق کنونی از نوع تجربی بوده که به روش درون آزمایشگاهی انجام شد. برای انجام مطالعه حاضر از بین موشهای صحرایی موجود در خانه حیوانات دانشگاه آزاد شهرکرد، ۲۰ سر رت نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای (تمامی سن مساوی داشتند) در محدوده وزنی  $22.0 \pm 0.5$  گرم خریداری گردید. در ادامه جهت آشنایی و سازگاری با محیط، موشها به مدت یک هفته با رطوبت ۶۵ درصد در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی گراد با سیکل نوری روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد نگه داری شدند. حیوانات در قفس های تیپ ۲ کوچک مخصوص موش و محافظ های سیم توری نگهداری شده و آب و غذای موش ها آزادانه در اختیار آنها قرار گرفت. این تحقیق با کد M34GRD1903 مورد تایید قرار گرفت و در تمام مراحل تحقیق بر اساس قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی کمیته ملی اخلاق در پژوهشهای دانشگاه شهرکرد با آنها رفتار گردید.

گروه بندی

بعد از یک هفته سازگاری با محیط مذکور، در ۴ گروه ۵ تایی تقسیم بندی شدند.

گروه کنترل (I): گروه سالم و دست نخورده بوده که فقط مواد غذایی معمول و آب دریافت می کردند.

سنجش کراتینین با استفاده از کیت تجاری شرکت پارس آزمون و براساس روش کالریتری بدون حذف پروتئین ها و روش ژافه انجام شد. در نهایت مقدار کراتینین براساس واحد میلی گرم بر دسی لیتر (mg/dl) گزارش شد.

### ارزیابی شاخص های لیپیدی

اندازه گیری کلسترول، LDL و HDL به روش اسپکتروفتومتری با کینه‌های شرکت پارس آزمون انجام شد. جهت سنجش کلسترول در این آزمایش پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترول، به همراه فنول و ۴- آمینو آنتی پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده که به صورت فتومتریک قابل اندازه گیری است با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد. جهت سنجش LDL کلیه لیپوپروتئین های غیر از LDL، شامل HDL، VLDL، و شیلومیکرون ها حذف می شوند و فقط غلظت LDL - کلسترول به صورت اختصاصی، با استفاده از یک واکنش آنزیماتیک رنگزا محاسبه می گردد. اندازه گیری غلظت HDL- کلسترول به صورت اختصاصی، از طریق اندازه گیری آنزیماتیک کلسترول محاسبه می شود. در نهایت این مقادیر براساس واحد میلی گرم بر دسی لیتر (mg/dl) گزارش شد.

### تحلیل آماری

مقادیر به صورت میانگین (SEM) بیان شد. نتایج آماری آنالیز آنالیز واریانس دوطرفه و آنالیز آنالیز واریانس یکطرفه با استفاده از آزمون تعقیبی LSD با استفاده از IBM SPSS نسخه ۲۴ (SPSS, Cary, NC, USA) به دست آمد. مقادیر به عنوان معیاری برای تفاوت معنی دار آماری در نظر گرفته شد. که در آن مقدار  $f$  با  $P < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

نمونه‌ها با دستگاه اتونکنیکون صورت پذیرفت. نمونه‌ها در داخل پارافین مذاب قالب‌گیری شدند و با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید (جهت بررسی استریولوژی با روش سریال سکشن نمونه‌ها برش‌گیری شدند). برش‌های بافتی روی لام قرار گرفتند و با استفاده از هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و به وسیله لام‌ل روی لام فیکس شدند. سپس با میکروسکوپ نوری (Nikon) به بررسی بافت و تغییرات صورت پذیرفته در گروه‌های درمان و کنترل پرداخته شد.

### مراحل اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون

#### گلوکز

سنجش گلوکز در نمونه‌های سرم به کمک کیت شرکت پارس آزمون و به کمک روش کالری متری و با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک اتوانالیزر (BT1500) انجام شد. در این آزمایش آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز، با فنول و ۴- آمینو آنتی پیرین، در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده به صورت مستقیم با مقدار گلوکز رابطه دارد. در نهایت مقدار گلوکز براساس واحد میلی گرم بر دسی لیتر (mg/dl) گزارش شد.

#### اوره

سنجش اوره با استفاده از کیت تجاری شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک اتوانالیزر (BT1500) انجام شد این سنجش براساس روش فتومتریک و واکنش دو مرحله ای Urease - GLDH انجام گرفت. در نهایت مقدار اوره براساس واحد میلی گرم بر دسی لیتر (mg/dl) گزارش شد.

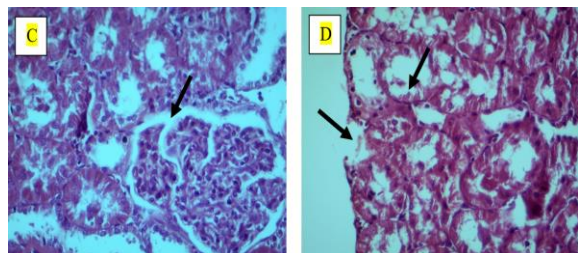
#### کراتینین

## نتایج

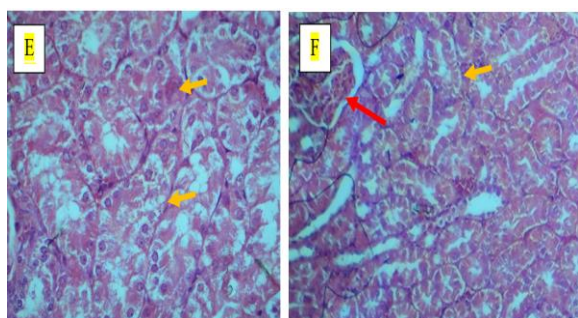
### نتایج بافت شناسی

از لحاظ ظاهری و گراس (gross)، هیچ یک از کلیه‌های مورد نظر در تمامی گروه‌های مطالعاتی تحت درمان و کنترل نمای ناهنجار (غیرمعمول) نداشتند. در مقاطع عرضی آماده شده از بافت کلیه، در گروه کنترل و گروه تیامین ساختار لوله‌ای کلیوی و گلومرولها در بخش قشری و مرکزی به صورت طبیعی مشاهده شد. گلومرول‌ها دارای فضای ادراری طبیعی بوده و از نظم خاصی در داخل بافت کلیه و در ناحیه قشری برخوردار بودند (تصاویر ۱ و ۲).

در گروه نانوذره کپسول بومن همراه با دیواره عروقی متعلق به آن به وضوح مشاهده گردید ولی مقدار اتساع در فضای بومن قابل تأمل بود (تصویر ۳). گسیختگی کپسول بافت کلیه مشاهده گردید و ساختار بافتی نظم خود را از دست داده بود. علائمی از اتساع عروقی و نفوذ سلول‌های خونی به داخل عروق متسع شده و مابین لوله‌های ادراری، مشاهده شد.



تصویر ۲: ساختار بافتی کلیه موش در گروه نانوذره اکسید روی به نمایش گذاشته شده است. تغییرات مشهودی شامل اتساع فضای بومن و تخریب دیواره لوله ای (فلش تیره) در این گروه مشاهده گردید؛ (بزرگنمایی ۴۰۰، رنگ آمیزی H&E).



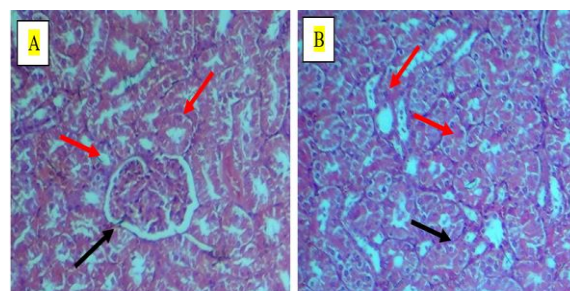
تصویر ۳: ساختار بافتی کلیه موش در گروه نانوذره اکسید روی همراه با تیامین به نمایش گذاشته شده است. درمان تیامین اثرات مثبتی را بر بافت کلیه شامل گلومرول (فلش قرمز) و لوله‌های کلیوی (فلش زرد) گذاشته است؛ (بزرگنمایی ۴۰۰، رنگ آمیزی H&E).

در این پژوهش تغییرات بافتی ناشی از نانوذره مشاهده گردید ولی تزریق تیامین همراه با نانوذره در گروه ۴، تغییرات بافتی ناشی از نانوذره را تا حدود زیادی بهبود بخشید؛ همچنانکه تغییرات لوله‌ای و گلومرولی کمتر مشاهده گردید و ساختار بافتی کلیه حفظ شده بود (تصویر ۴).

### نتایج سرولوژی

#### غلظت گلوکز خون

چنانچه در جدول ۴-۱ مشخص شده است مقدار غلظت گلوکز خون در روز صفر در هیچ یک از گروه‌های شاهد و مطالعاتی تغییرات معنی‌داری نشان نمی‌دهد. در روز ۱۵، مقدار گلوکز خون در گروه نانوذره اکسید روی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $p > 0.05$ ).



تصویر ۴: ساختار بافتی کلیه در گروه‌های کنترل (A) و تیامین (B) مشخص شده است. چنانچه مشهود است بافت لوله‌ای و جسمک‌ها از ساختار نرمال (طبیعی) تبعیت کرده و ویژگی‌های ساختار بافتی-سلولی لوله‌ها (فلش قرمز) و گلومرول‌های (فلش تیره) کلیوی در هر دو گروه (A و B) به خوبی حفظ شده است؛ (بزرگنمایی ۴۰۰، رنگ آمیزی H&E).

جدول ۱: تغییرات مقدار گلوکز خون در هر یک از گروه های مطالعاتی (میانگین (±SD))

| گروه ها        |                 |                 |                 |                 |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| روزها          | گروه ۱          | گروه ۲          | گروه ۳          | گروه ۴          |
| ۰              | ۹۸/۷±۳۴/۶۴      | ۹۶/۶±۲۹/۳۱      | ۸۹/۵±۴۵/۹۲      | ۹۴/۸±۴۳/۰۴      |
| ۱۴             | ۱۰۱/۸±۷۲/۲۷     | ۹۷/۷±۶۳/۲۴      | ۶۴/۶±۱۷/۳۹      | ۸۴/۷±۵۸/۹۵      |
| <i>P</i> value | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ |

به طور معنادار در نظر گرفته شد  $P < ۰/۰۵$

جدول ۲: تغییرات مقدار کلسترول در هر یک از گروه های مطالعاتی (میانگین (±SD))

| گروه ها        |                 |                 |                 |                 |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| روزها          | گروه ۱          | گروه ۲          | گروه ۳          | گروه ۴          |
| ۰              | ۷۹/۴±۱۵/۲۸      | ۸۳/۳±۴۲/۹۷      | ۷۹/۴±۶۳/۴۹      | ۸۷/۵±۵۷/۳۲      |
| ۱۴             | ۷۶/۳±۵۱/۸۴      | ۸۰/۴±۰۷/۳۱      | ۱۰۲/۵±۱۶/۷۶     | ۹۲/۳±۴۵/۸۴      |
| <i>P</i> value | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> < ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ |

به طور معنادار در نظر گرفته شد  $P < ۰/۰۵$

### فاکتورهای لیپیدی

نتایج حاصل از تحلیل داده های این مطالعه نشان داد که سطح سرمی کلسترول، LDL و HDL در شروع آزمایش هیچ گونه اختلاف معنی داری در بین گروه های مطالعاتی ندارند ( $p < ۰/۰۵$ ). در روز ۱۵، بین گروه های کنترل و تیمین اختلاف معنی داری در مقادیر کلسترول، LDL و HDL مشاهده نگردید ( $p < ۰/۰۵$ ). همچنین، مقایسه نتایج نشان داد که میزان کلسترول و LDL در گروه نانوذره نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری یافته است ( $p > ۰/۰۵$ ). در گروه نانوذره اکسید روی همراه با تیمین مقادیر کلسترول و LDL و کاهش محسوسی نشان داده بودند و این کاهش نسبت به گروه نانوذره اکسید روی به تنهایی معنی دار بود ( $p > ۰/۰۵$ ).

مقدار HDL در گروه نانوذره اکسید روی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ( $p > ۰/۰۵$ )؛ در حالی که در گروه نانوذره همراه با تیمین مقدار افزایش یافته ای از مقدار HDL در مقایسه با گروه نانوذره اکسید روی به تنهایی مشاهده گردید، اگرچه این افزایش معنی دار نبود ( $p < ۰/۰۵$ ).

جدول ۳: تغییرات مقدار LDL در هر یک از گروه های مطالعاتی (میانگین (±SD))

| گروه ها        |                 |                 |                 |                 |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| روزها          | گروه ۱          | گروه ۲          | گروه ۳          | گروه ۴          |
| ۰              | ۲۳/۳±۴۲/۶۱      | ۲۰/۲±۲۷/۹۳      | ۲۲/۳±۷۴/۸۶      | ۲۰/۴±۹۴/۲۷      |
| ۱۴             | ۲۲/۴±۳۷/۰۹      | ۲۱/۳±۶۷/۲۸      | ۳۲/۲±۳۵/۷۹      | ۱۸/۳±۰۲/۱۶      |
| <i>P</i> value | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> < ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ |

به طور معنادار در نظر گرفته شد  $P < ۰/۰۵$

جدول ۴: تغییرات مقدار HDL در هر یک از گروه های مطالعاتی (میانگین (±SD))

| گروه ها        |                 |                 |                 |                 |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| روزها          | گروه ۱          | گروه ۲          | گروه ۳          | گروه ۴          |
| ۰              | ۱۵/۲±۲۴/۶۱      | ۱۶/۳±۷۲/۳۹      | ۱۵/۲±۴۷/۲۱      | ۱۵/۲±۴۹/۱۳      |
| ۱۴             | ۱۶/۲±۷۳/۰۹      | ۱۵/۳±۶۷/۸۲      | ۱۱/۱±۴۷/۹۸      | ۱۲/۲±۴۳/۰۶      |
| <i>P</i> value | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ | <i>P</i> < ۰/۰۵ | <i>P</i> > ۰/۰۵ |

به طور معنادار در نظر گرفته شد  $P < ۰/۰۵$

( $p < 0/05$ ). چنانچه در این جداول مشخص است، مقادیر کراتینین و BUN در روز ۱۵ پس از تحقیق در گروه نانوذره اکسید روی به تنهایی (گروه ۳) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافته است ( $p > 0/05$ ). با توجه به تحلیل داده‌ها، مشخص گردید که مقادیر کراتینین و BUN در گروه نانوذره همراه با تیامین (گروه ۴) نسبت به گروه نانوذره به تنهایی کاهش معنی‌داری یافته است ( $p > 0/05$ ).

### بحث

در این مطالعه پژوهشی- تجربی برای مشاهده خواص سمی نانوذرات اکسید روی و اثرات آنتی اکسیدانی تیامین بر بافت کلیه موش صحرایی، به روش داخل صفاقی، تزریق نانوذرات صورت پذیرفت. بیشتر اثرات سمی نانوذرات اکسید روی بر تخریب غشای پایدار سلولی، نفوذ سلولهای التهابی، آپوپتوزیس و آسیب به DNA سلولی را آشکار کرده است (۱۹, ۲۰). مطالعه حاضر نیز مطابق با یافته‌های سایر محققان در رابطه با اکسید روی بوده است. در این رابطه، در یک مطالعه مشخص گردید که تزریق داخل صفاقی نانوذرات اکسید روی در یک دوز ۲/۵ گرم بر کیلوگرم تجمع داخل بافت کلیوی، کبدی و قلبی را به همراه دارد (۲۱). چنین استنتاج شده که یون‌های روی از ترکیب اکسید روی در محلول‌های آبی جدا می‌شود؛ در نتیجه آزادسازی روی، اکثر بافت‌های بدن را درگیر آسیب و صدمات خواهد کرد (۲۲). نانوذرات اکسید روی با تزریق داخل صفاقی مسیر خود را به داخل جریان خون باز کرده و سپس جذب می‌گردد. افزایش سطح سرمی روی در خون رخ داده و به میزان بالایی در خون می‌رسد. در نهایت پاکسازی روی در بدن رخ داده و این ماده از مسیر مدفوع از بدن تخلیه شده و حذف می‌گردد (۲۳). نانوذرات تزریق شده داخل صفاقی به وضوح در ارگانهایی همانند ششها، بیضه‌ها، قلب؛ کلیه و غیره ... گسترش یافته و توزیع می‌گردند. این گستردگی در توزیع سبب اختلالات عمده در

جدول ۵: تغییرات مقدار بیوشیمیایی کراتینین در هر یک از گروه‌های مطالعاتی (میانگین  $(\pm SD)$ )

| روزها   | گروه ۱          | گروه ۲          | گروه ۳          | گروه ۴          |  |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|
| ۰       | $0/0 \pm 41/07$ | $0/0 \pm 39/06$ | $0/0 \pm 41/08$ | $0/0 \pm 41/06$ |  |
| ۱۴      | $0/0 \pm 41/07$ | $0/0 \pm 40/06$ | $1/0 \pm 85/37$ | $0/0 \pm 92/18$ |  |
| P value | $P > 0/05$      | $P > 0/05$      | $P < 0/05$      | $P > 0/05$      |  |

$P < 0/05$  به طور معنادار در نظر گرفته شد

جدول ۶: تغییرات مقدار بیوشیمیایی نیتروژن اوره خون در هر یک از گروه‌های مطالعاتی (میانگین  $(\pm SD)$ )

| روزها   | گروه ۱           | گروه ۲           | گروه ۳           | گروه ۴           |  |
|---------|------------------|------------------|------------------|------------------|--|
| ۰       | $21/1 \pm 42/56$ | $20/1 \pm 34/24$ | $23/2 \pm 04/05$ | $22/1 \pm 69/12$ |  |
| ۱۴      | $19/0 \pm 87/98$ | $20/1 \pm 47/77$ | $43/2 \pm 76/46$ | $37/2 \pm 52/11$ |  |
| P value | $P > 0/05$       | $P > 0/05$       | $P < 0/05$       | $P > 0/05$       |  |

$P < 0/05$  به طور معنادار در نظر گرفته شد

همزمان با تزریق تیامین در گروه نانوذره+تیامین (گروه ۴) مقدار گلوکز خون به حالت نرمال خود نزدیک شده بود ولی این اختلاف نسبت به گروه نانوذره به تنهایی (گروه ۳) معنی‌دار نبود ( $p < 0/05$ ).

### مقادیر کراتینین و BUN

یافته‌های مربوط به مقادیر کراتینین و BUN در گروه‌های مورد مطالعه در جداول ۴-۳ و ۴-۴ آورده شده است. بر اساس یافته‌های حاصل از این پژوهش، مقادیر کراتینین و BUN خون در تمام گروه‌های مطالعاتی در روز شروع آزمایش (روز صفر) تغییرات معنی‌داری را نشان نداد

سطح پارامتر لیپیدی پلاسمای خون را می توان به عملکرد روی در فعالیت آنزیمی نسبت داد. این به این معناست که روی بخشی از متالوآنزیم ها را سازماندهی می کند که به هضم و جذب چربی کمک می کند (۲۷).

کراتینین و BUN را می توان جزو شاخص های ارزیابی کننده مهمی برای عملکرد و فعالیت طبیعی کلیه در نظر گرفت. در صورت صدمه به کلیه، ترشح سلولی BUN و کراتینین افزایش یافته و به جریان خون سیستمیک ورود پیدا می کند. مطالعات نشان می دهد که پودر روی در مقیاس نانو سمیت حاد درون سلولی را در موش بالغ از مسیر دهانی ایجاد کرده و بالطبع آن نقش افزایشی BUN و کراتینین توسط کیت های آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۲۸). تأثیر تیامین بر تغییرات نامطلوب شاخصه های گلوکز، کلسترول، HDL، LDL، کراتینین و BUN چشم گیر بود؛ همچنانکه در تحقیق حاضر اثرات بهبودی بر این شاخصه ها و همچنین ارزیابی بافت شناختی بافت کلیه به وضوح مشخص گردید. در مطالعه ای که یان و همکاران (۲۰۱۲) بر موش صحرایی دریافت کننده به روش معده ای نانوذرات اکسید روی انجام دادند مشخص گردید که ترکیب بیوشیمیایی ادرار تغییر کرده و مقادیر کلیوی BUN و کراتینین همانند مطالعه حاضر افزایش یافته است (۲۹). بنابراین چنان می توان انتظار داشت که به دلیل سمیت کلیوی ناشی از نانوذرات افزایش مقادیر کلیوی BUN و کراتینین دور از انتظار نباشد و این نتایج با نتایج مطالعات دیگر هم خوانی دارد (۲۹).

#### نتیجه گیری

براساس نتایج این مطالعه مشخص شد که نانوذرات اکسید روی با دوز مربوطه موجبات آسیب بافت کلیه و تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون را فراهم می آورد. در حالی که تیامین به عنوان یک آنتی اکسیدانت بالقوه قادر به بهبود آسیب های کلیه ناشی از نانوذرات در موش می باشد.

ارگان هدف (به ویژه کلیه که در مطالعه حاضر مورد ارزیابی قرار گرفت) می گردد. به همین دلیل با تزریق نانوذرات اکسید روی به موش آزمایشگاهی می توان تغییرات بافتی کلیوی را تحت تأثیر این ماده انتظار داشت.

مطالعات نشان داده اند که حضور نانوذرات در سیستم پیچیده گردش خون می تواند منجر به شوک های آنافیلاکسی و بروز حساسیتهای تشدید شده، بشود (۲۴). به محض ورود نانوذرات به داخل سلول، برخی تغییرات را سبب شده و به راحتی جایگزین لیزوزوم، میتوکندری و اندوزوم سلولی می شوند. به همراه تغییرات داخل سلولی، تخریب سلولی رخ داده و شرایط اکسیداتیو مختل شده و استرس اکسیداتیو غالب می شود. در نهایت در بدن موجود استرس آشکار شده به موتاسیون و یا آسیب های ژنتیکی (از نظر متابولیکی) منتهی خواهد شد. چنانچه مطالعات مشخص کرده اند غلظت سمی نانوذرات اکسید روی در بخش سلولی را می توان ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر در نظر گرفت (۲۱).

مطالعه فعلی نشان داد که تجویز داخل صفاقی نانوذرات اکسید روی به تنهایی و در ترکیب با تیامین تا حدودی سطوح بیوشیمیایی سرمی گلوکز خون، تری گلیسیرید، HDL، LDL، کلسترول، کراتینین و BUN را در کلیه موش ها بهبود می بخشد. اصول زیست فعال نانوذرات اکسید روی به طور تجربی برای نشان دادن کنترل قند خون از طریق مکانیسم های متنوعی مانند تنظیم فعالیت یا بیان ژن عوامل مرتبط با هموستاز گلوکز توصیف شده است (۱۴، ۲۵، ۲۶).

به هر حال، نانوذرات اکسید روی که در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همراه با تیامین در این مطالعه استفاده شدند، اثرات هیپوکلسترولمی و هیپوتری گلیسیریدیک را نشان دادند، در حالی که در همان زمان، افزایش سطح HDL در موش های تحت درمان مشاهده شد. تغییرات در



- applications. *Nanomaterials and plant potential*. 2019;193-219.
8. Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert opinion on drug delivery*. 2010;7(9):1063-77.
  9. Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental pollution*. 2007;150(2):243-50.
  10. Choi S-J, Choy J-H. Biokinetics of zinc oxide nanoparticles: toxicokinetics, biological fates, and protein interaction. *International journal of nanomedicine*. 2014;9(sup2):261-9.
  11. Lin W, Xu Y, Huang C-C, Ma Y, Shannon KB, Chen D-R, et al. Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells. *Journal of Nanoparticle Research*. 2009;11:25-39.
  12. Xia T, Kovochich M, Liang M, Madler L, Gilbert B, Shi H, et al. Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS nano*. 2008;2(10):2121-34.
  13. Carpenter KJ. The discovery of thiamin. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2012;61(3):219-23.
  14. Amiri A, Dehkordi RAF, Heidarnejad MS, Dehkordi MJ. Effect of the zinc oxide nanoparticles and thiamine for the management of diabetes in alloxan-induced mice: a stereological and biochemical study. *Biological trace element research*. 2018;181:258-64.
  15. Fatahian-Dehkordi R-A, Reaisi M, Heidarnejad M-S, Mohebbi A. Serum biochemical status and morphological changes in mice ovary associated with copper oxide nanoparticles after thiamine therapy. *Journal of herbmed pharmacology*. 2016;6(1):21-6.

16.

۴۳۴۷

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقای مهندس حاتم‌پور کارشناس آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی و تمام کسانی که در انجام این مطالعه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

### فهرست منابع

1. Khan I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*. 2019;12(7):908-31.
2. Jain D, Shivani, Bhojiya AA, Singh H, Daima HK, Singh M, et al. Microbial fabrication of zinc oxide nanoparticles and evaluation of their antimicrobial and photocatalytic properties. *Frontiers in chemistry*. 2020;8:778.
3. Murali M, Kalegowda N, Gowtham HG, Ansari MA, Alomary MN, Alghamdi S, et al. Plant-mediated zinc oxide nanoparticles: Advances in the new millennium towards understanding their therapeutic role in biomedical applications. *Pharmaceutics*. 2021;13(10):1662.
4. Akhtar N, Ilyas N, Meraj TA, Pour-Aboughadareh A, Sayyed R, Mashwani Z-u-R, et al. Improvement of plant responses by nanobiofertilizer: a step towards sustainable agriculture. *Nanomaterials*. 2022;12(6):965.
5. Kumari L, Li W. Synthesis, structure and optical properties of zinc oxide hexagonal microprisms. *Crystal Research and Technology: Journal of Experimental and Industrial Crystallography*. 2010;45(3):311-5.
6. Zare M, Namratha K, Byrappa K, Surendra D, Yallappa S, Hungund B. Surfactant assisted solvothermal synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antimicrobial and antioxidant properties. *Journal of materials science & technology*. 2018;34(6):1035-43.
7. Husen A. Natural product-based fabrication of zinc-oxide nanoparticles and their

- Rapala-Kozik M, Wolak N, Kujda M, Banas AK. The upregulation of thiamine (vitamin B 1) biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* seedlings under salt and osmotic stress conditions is mediated by abscisic acid at the early stages of this stress response. *BMC plant biology*. 2012;12:1-14.
17. Gliszczynska-Swiglo A, Ciska E, Pawlak-Lemańska K, Chmielewski J, Borkowski T, Tyrakowska B. Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Additives and Contaminants*. 2006;23(11):1088-98.
  18. Abouzeinab NS, Kahil N, Fakhrudin N, Awad R, Khalil MI. Intraperitoneal hepatorenal toxicity of zinc oxide and nickel oxide nanoparticles in male rats: biochemical, hematological and histopathological studies. *EXCLI journal*. 2023;22:619.
  19. Sharma V, Singh P, Pandey AK, Dhawan A. Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2012;745(1-2):84-91.
  20. Wang B, Feng W-Y, Wang T-C, Jia G, Wang M, Shi J-W, et al. Acute toxicity of nano-and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicology letters*. 2006;161(2):115-23.
  21. Li J, Guo D, Wang X, Wang H, Jiang H, Chen B. The photodynamic effect of different size ZnO nanoparticles on cancer cell proliferation in vitro. *Nanoscale research letters*. 2010;5:1063-71.
  22. Landsiedel R, Ma-Hock L, Kroll A, Hahn D, Schnekenburger J, Wiench K, et al. Testing metal-oxide nanomaterials for human safety. *Advanced Materials*. 2010;22(24):2601-27.
  23. Li C-H, Shen C-C, Cheng Y-W, Huang S-H, Wu C-C, Kao C-C, et al. Organobiodistribution, clearance, and genotoxicity of orally administered zinc oxide nanoparticles in mice. *Nanotoxicology*. 2012;6(7):746-56.
  24. Szebeni J. Hypersensitivity reactions to radiocontrast media: the role of complement activation. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2004;4(1):25-30.
  25. Umrani RD, Paknikar KM. Zinc oxide nanoparticles show antidiabetic activity in streptozotocin-induced Type 1 and 2 diabetic rats. *Nanomedicine*. 2014;9(1):89-104.
  26. Nakayama A, Hiromura M, Adachi Y, Sakurai H. Molecular mechanism of antidiabetic zinc-allixin complexes: regulations of glucose utilization and lipid metabolism. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2008;13:675-84.
  27. Al-Daraji HJ, Amen M. Effect of dietary zinc on certain blood traits of broiler breeder chickens. *Int J Poult Sci*. 2011;10(10):807-13.
  28. Wang B, Feng W, Wang M, Wang T, Gu Y, Zhu M, et al. Acute toxicological impact of nano-and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *Journal of Nanoparticle Research*. 2008;10:263-76.
  29. Yan G, Huang Y, Bu Q, Lv L, Deng P, Zhou J, et al. Zinc oxide nanoparticles cause nephrotoxicity and kidney metabolism alterations in rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2012;47(4):577-88.