

اثر محافظتی نانو اکسید منیزیم در آسیب ایسکمی / رپرفیوژن کلیه بر فاکتورهای خونی در موش صحرایی نر

مرضیه مینایی^۱، اکرم عیدی^۲، پژمان مرتضوی^۳، احمد اصغری^۴

- ۱- استادیار گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۲- استاد گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. نویسنده مسئول: eyidi@srbiau.ac.ir
- ۳- استاد گروه آسیب شناسی، دانشکده علوم دامپزشکی تخصصی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۴- استاد گروه علوم بالینی، دانشکده علوم دامپزشکی تخصصی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر فناوری نانو اشکال جدیدی از مواد را تولید کرده است که مؤثرتر از پیشینیان خود هستند. منیزیم نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات نانو اکسید منیزیم در ایسکمی رپرفیوژن (I/R) کلیوی بعنوان مشکل شایع جراحی‌های عروق کلیه یا پیوند کلیه، در مدل موش صحرایی نر انجام گرفته است. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه القای آسیب I/R از طریق بستن پدیکل کلیوی چپ به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. حیوانات با استفاده از نانو اکسید منیزیم (دوزهای ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۳۰ روز با استفاده از گاوژ تجویز گردید و سپس نمونه خونی جمع‌آوری شد و تغییرات آلبومین، توتال پروتئین، اوره و کراتینین سرم بررسی گردید و داده‌های حاصل مورد آنالیز آماری قرار گرفت ($p < 0.05$).

نتایج: یافته‌های تحقیق نشان داد که تیمار نانو اکسید منیزیم به موش‌های صحرایی آسیب دیده‌ی ایسکمی رپرفیوژن کلیه به طور معنی داری سطح اوره و کراتینین سرم را کاهش و میزان آلبومین و توتال پروتئین سرم را افزایش می‌دهد. **نتیجه‌گیری:** تیمار نانو اکسید منیزیم عملکرد کلیه را حفظ کرده و احتمالاً توانسته بعنوان یک وازودیلاتور قوی، آسیب‌های وارده به کلیه متعاقب القا ایسکمی رپرفیوژن را کاهش دهد. از آسیب بافتی پس از آسیب I/R در موش جلوگیری می‌کند.

واژگان کلیدی: ایسکمی رپرفیوژن، کلیه، موش صحرایی، نانو اکسید منیزیم

مقدمه

آسیب ایسکمی / رپرفیوژن (Ischemia / Reperfusion, I/R) با کاهش مجدد خونرسانی به اندام و به دنبال آن بازگشت جریان خون و اکسیژن رسانی مجدد تعریف می شود. صدمات اجتناب ناپذیری ممکن است پس از انفارکتوس، سپسیس و پیوند عضو رخ دهد و این پدیده آسیب بافتی را با شروع آبشار التهابی از جمله گونه های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species, ROS) و سایر واسطه های التهابی از جمله مولکول های چسبنده و انواع سیتوکین ها، کموکین ها و فعال سازی لوکوسیت ها، تشدید می کند (۱،۲). در کلیه، I/R به شرایط پاتولوژیک بیماری به نام آسیب حاد کلیه (Acute Kidney Injury, AKI) کمک می کند که این یک سندرم بالینی با اختلال عملکرد سریع کلیه و میزان مرگ و میر بالا است (۳،۴). نارسایی حاد کلیه (Acute Renal Failure, ARF) نیز اختلال شایعی است که با کاهش ناگهانی در عملکرد کلیه مشخص می شود. ممکن است به علت کاهش خونرسانی به کلیه متعاقب کاهش برونده قلب، انسداد شریان کلیه ایجاد شود (۵). نارسایی حاد ایسکمیک کلیوی (Acute Ischemic Renal Failure, IARF) شایع و اغلب کشنده می باشد (۶). کاهش خونرسانی کلیه و نکرور حاد توبولی تقریباً ۷۰ درصد علل آن را تشکیل می دهند (۵). پاتوفیزیولوژی I/R در کلیه بسیار پیچیده است اما برخی مسیرهای آسیب شناسی ناشی از رپرفیوژن شامل آسیب عروق کوچک، اختلال آندوتلیوم، فعال شدن مسیرهای مرگ سلولی اعم از نکرور و آپوپتوزیس، فعال شدن گرانولوسیت ها و ایجاد فرآیندهای التهابی، کاهش ذخایر نوکلئوتیدی سلول (ATP، ADP)، آزادسازی مجدد گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن در اثر فعال شدن نوتروفیل ها و به دنبال آن

پراکسیداسیون غشاهای لیپیدی و هیدرولیز پروتئین ها در اثر این گونه های فعال می باشد (۷). منیزیم در مقادیر زیادی در فضاهای داخل سلولی و خارج سلولی بدن دیده می شود. این امر برای وقایع فیزیولوژیکی متعددی اهمیت دارد و به عنوان یک عامل درمانی در بسیاری از زمینه های پزشکی مانند مغز و اعصاب، قلب و عروق، گوارش و مامایی استفاده می شود. منیزیم یک آنتی اکسیدان قوی و یک عامل ضد التهابی قوی است، مانع افزایش مقدار مولکولی التهابی وابسته به آندوتوکسین می شود (۸). با کاهش اندازه ذرات در حد نانومتر، فعالیت سطحی مواد افزایش چشمگیری می یابد و نسبت واکنش مواد با محیط اطراف به دلیل ازدیاد سایت های فعال سطحی بیشتر می شود (۹). براساس تحقیقات مختلف ترکیبات غیرآلی از جمله اکسیدهای فلزی مانند اکسید منیزیم با اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر فعالیت ضد میکروبی خوبی نشان داده اند. اکسید منیزیم به دلیل خواص گسترده آن از نقطه نظر تغذیه ای و سلامتی مورد توجه قرار گرفته است. منیزیم جزو مواد معدنی ضروری برای سلامت انسان می باشد (۱۰). اکسید منیزیم یکی از ترکیبات شش گانه منیزیم می باشد که در موارد بیولوژیکی مانند تسکین سوزش سردل و بازسازی استخوان مصرف می شود. اخیراً مطالعات سیتوتوکسیسیستی در نانوپزشکی توانایی نانو اکسید منیزیم (Nano-MgO) را در درمان سرطان نیز ثابت کرده اند (۱۱). نانو اکسید منیزیم توسط وزارت غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration, FDA) به عنوان یک ماده ایمن برای سلامت انسان شناخته شده است (۱۲). نانوذرات دارای ویژگی های فیزیوشیمیایی منحصر به فردی هستند که با نوع معمولی خود متفاوت می باشند، بررسی دقیق اثرات مفید و مضر آنها بر اندام های بدن، ضروری می نماید (۱۳).

دقیقه آزاد گردید. جهت مرطوب نگاه داشتن ناحیه، از تامپون خیس شده با نرمال سالین گرم استفاده شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه، آن‌ها را برداشته و خط میانی شکم طبق روش‌های متداول (عضلات با نخ و ویکریل ۰۳ و پوست با نخ نایلون ۰۳) بخیه گردید.

گروه‌های مورد مطالعه

مطالعات انجام شده در تمام گروه‌ها طی زمان‌های یکسان به عمل آمد. موش‌ها به صورت تصادفی به ۹ گروه ۶ تایی تقسیم شدند:

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

گروه ۲ (شاهد): حیوانات تحت جراحی sham، همراه با گاوژ آب مقطر

گروه‌های ۳، ۴ و ۵ (تجربی سالم): حیوانات سالم با تیمار نانوآکسیدمنیزیم ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بصورت گاوژ روزانه

گروه ۶ (کنترل I/R): حیوانات تحت جراحی ایسکمی / رپرفیوژن همراه با گاوژ آب مقطر

گروه‌های ۷، ۸ و ۹ (تجربی I/R): حیوانات تحت جراحی ایسکمی / رپرفیوژن با تیمار نانوآکسیدمنیزیم ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بصورت گاوژ روزانه

آزمایشات سرولوژیک

۳۰ روز پس از گاوژ، نمونه خونی جمع‌آوری شده و مقادیر آلبومین، توتال پروتئین، کراتینین سرم و اوره مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری

جهت انجام مطالعات آماری از برنامه SPSS-۲۱ استفاده شد و نتایج آماری و تعیین اختلاف معنی داری بین گروه‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام گرفت. اختلافات در سطح $p < 0.05$ معنی دار تلقی شدند.

بنابراین، در این پژوهش تأثیر نانوآکسیدمنیزیم بر بهبود شاخص‌های سرمی ناشی از ایسکمی رپرفیوژن کلیه موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

نانوذرات اکسیدمنیزیم کروی با درجه خلوص ۹۹ درصد و اندازه ۶۰-۲۰ نانومتر از شرکت پیشگامان خریداری گردید و از آب مقطر برای حل شدن نانوذرات MgO استفاده شد. کیت اندازه‌گیری اوره، کراتینین، توتال پروتئین و آلبومین سرم نیز از شرکت پارس آزمون (ایران) تهیه گردید.

حیوانات آزمایشگاهی و نگهداری آنها

۴۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی 25.0 ± 2.0 گرم در سن ۱۲ هفتگی، از انستیتو پاستور تهران تهیه و تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت 21 ± 3 سانتی‌گراد) در قفس‌های مخصوص قرار داده شدند به گونه‌ای که در عین دسترسی آزاد به آب و غذا با شرایط آزمایشگاه سازش پیدا کنند. تمام مراحل نگهداری، فرآیندهای جراحی و بیهوشی حیوانات مطابق اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته‌های بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انجام گردید.

روش جراحی

به منظور ایجاد ایسکمی رپرفیوژن، حیوانات توسط داروهای کتامین هیدروکلراید (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با تزریق داخل صفاقی بیهوش شده و جهت ایجاد ایسکمی رپرفیوژن، خط میانی شکم برش داده شد، سپس عروق کلیوی توسط پنس غیر ضربه‌ای (Non-traumatic) بسته شده و بعد از ۲۰

یافته ها

اثر نانو اکسید منیزیم بر پارامترهای بیوشیمیایی

سرم در موش های صحرایی سالم و I/R:

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح کراتینین و اوره سرم افزایش معنی داری ($p < 0.001$) در موش های کنترل I/R در مقایسه با کنترل سالم نشان داد. تیمار نانو اکسید منیزیم در دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی دار ($p < 0.001$) در غلظت های کراتینین و اوره در موش های I/R نسبت به موش های کنترل I/R شد. تیمار نانو اکسید منیزیم (۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر

کیلوگرم) تغییری در غلظت کراتینین و اوره سرم در موش های سالم ایجاد نکرد (جدول ۱).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح آلومین و توتال پروتئین سرم افزایش معنی داری ($p < 0.001$) در موش های کنترل I/R در مقایسه با کنترل سالم نشان داد. تیمار نانو اکسید منیزیم در دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی دار ($p < 0.001$) در میزان آلومین و توتال پروتئین سرم در موش های I/R نسبت به موش های کنترل I/R شد. تیمار نانو اکسید منیزیم (۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) تغییری در غلظت آلومین و توتال پروتئین سرم در موش های سالم ایجاد نکرد (جدول ۲).

جدول ۱. اثر نانو اکسید منیزیم بر سطوح اوره و کراتینین سرمی در موش های سالم و I/R

گروه ها	اوره (mg/dL)	کراتینین (mg/dL)
کنترل سالم	۱۴/۸۳ ± ۰/۴۸	۰/۶۷ ± ۰/۱۷
شاهد جراحی	۱۴/۴۸ ± ۰/۵۲	۰/۶۸ ± ۰/۰۲
تجربی سالم + نانو MgO (میلی گرم بر کیلوگرم)		
۱/۲۵	۱۴/۵۰ ± ۰/۴۳	۰/۶۸ ± ۰/۰۱
۲/۵	۱۴/۵۰ ± ۰/۵۶	۰/۶۹ ± ۰/۰۱
۵	۱۵/۳۳ ± ۰/۴۲	۰/۷۰ ± ۰/۰۱
I/R کنترل	۷۰/۸۳ ± ۲/۳۳***	۲/۹۱ ± ۰/۰۵***
تجربی I/R + نانو MgO (میلی گرم بر کیلوگرم)		
۱/۲۵	۶۸/۰۱ ± ۱/۲۹***	۲/۶۸ ± ۰/۹۱***
۲/۵	۶۲/۳۳ ± ۱/۵۴****	۲/۵۲ ± ۰/۹۱****
۵	۴۶/۵۰ ± ۱/۱۸****	۱/۸۳ ± ۰/۶۳****

مقادیر بعنوان میانگین ± انحراف معیار برای شش موش بیان می شوند
 *** $p < 0.001$ اختلاف معنی دار از گروه کنترل سالم
 +++ $p < 0.001$ اختلاف معنی دار از گروه کنترل I/R

بحث

منیزیم چهارمین کاتیون فراوان در بدن است. عنصری با کاربردهای بالینی متعدد می باشد (۱۴). درگیر حفظ تعادل

سلولی یونی، فعالیت آنزیم و مدولاسیون کانال یونی و همچنین برای عملکرد غدد درون ریز و سنتز پروتئین مورد نیاز می باشد (۱۵).

جدول ۲. اثر نانو اکسید منیزیم بر سطوح آلومین و توتال پروتئین سرمی در موش های سالم و I/R

گروه ها	آلومین (mg/dL)	توتال پروتئین (mg/dL)
کنترل سالم	۳/۶۰ ± ۰/۱۱۵	۷/۰۳ ± ۰/۴۰
شاهد جراحی	۳/۵۸۳ ± ۰/۰۰۰	۶/۹۸ ± ۰/۰۹
تجربی سالم + نانو MgO (میلی گرم بر کیلوگرم)	۳/۶۷ ± ۰/۱۰۰	۶/۸۷ ± ۰/۰۹
	۳/۲۵ ± ۰/۰۷۵	۶/۸۱ ± ۰/۲۱
	۳/۱۹۵ ± ۰/۰۸۷	۷/۱۱ ± ۰/۱۹
I/R کنترل	۲/۶۲۹ ± ۰/۱۲۴***	۵/۲۸ ± ۰/۱۰***
تجربی I/R + نانو MgO (میلی گرم بر کیلوگرم)	۲/۶۷۹ ± ۰/۱۱۳***	۵/۷۰ ± ۰/۱۲***
	۳/۳۳۶ ± ۰/۱۰۴***	۶/۳۳ ± ۰/۱۲++
	۳/۳۲۷ ± ۰/۰۸۴***	۶/۶۵ ± ۰/۱۱+++

مقادیر بعنوان میانگین ± انحراف معیار برای شش موش بیان می شوند
 *** p < ۰/۰۰۱ اختلاف معنی دار از گروه کنترل سالم
 +++ p < ۰/۰۰۱ اختلاف معنی دار از گروه کنترل I/R

فقط ۴۳ درصد آن در ترشح حداکثر اسید شبیه سازی شده، محلول بوده است و گزارش شده است که فراهمی زیستی آن نسبتاً ضعیف است (۱۹). دستکاری مشخصه های فیزیکوشیمیایی ذرات MgO به فرم نانو می تواند فراهمی زیستی آن را افزایش دهد. در ارزیابی اثر ضد تشنج در موش گزارش شده است که نانوذرات اکسید منیزیم مؤثرتر از شکل معمول آن بوده است که مربوط به خصوصیات فیزیکوشیمیایی nano-MgO می باشد (۲۰). نتیجه گیری شد که فرم نانو MgO فراهمی زیستی بیشتری نسبت به فرم معمول آن دارد. نانوذرات دارای خصوصیات ویژه ای فعالیت بیشتر خود هستند که مربوط به اندازه کوچک و سطح وسیع تر آنها می باشد (۲۱). نانوذرات MgO دارای مزایای زیست پزشکی و اقتصادی ویژه ای نظیر تهیه شده از مواد اولیه مقرون به صرفه ای موجود و همچنین مزیت غیرسمی بودن در مقایسه با TiO₂ می باشد، نقره و انواع

در این مطالعه، نانوذرات اکسید منیزیم (MgO) برای مقابله با اثرات سوء ایسکمی رپر فیوژن کلیوی انتخاب شدند. عموماً پیدایش شکل طبیعی اکسید منیزیم در طبیعت نادر است. MgO معمول، به طور کلی یا توسط کلسیون هیدروکسید منیزیم و یا کربنات منیزیم تولید می شود (۱۶). MgO توسط FDA بیخطر تلقی شده است. منیزیم یک عنصر مهم برای حفظ عملکرد طبیعی تقریباً سیصد آنزیم سلولی بدن می باشد. یک مکمل مهم برای بیماران مبتلا به سیروز کبدی و بیماران سرطانی برای جلوگیری از هیپومنیزیمی می باشد (۱۷). نمک های منیزیم حاوی MgO به عنوان مکمل منیزیم درمانی با اثرات مفیدی بر روی کبد، مورد استفاده قرار می گیرند. دریافتند که مکمل منیزیم می تواند باعث افزایش غلظت منیزیم کبدی، افزایش بیان mRNA ی کاتالاز و در نتیجه افزایش فعالیت کاتالاز گردد (۱۸). اکسید منیزیم عملاً در آب محلول نیست و حتی

آسیب‌های ایسکمیک بلکه آسیب‌های خونرسانی مجدد مهم شدند. در آزمایشات ما حیواناتی که دچار آسیب ایسکمی بازخونرسانی شده بودند آسیب‌های کلیوی را نشان دادند که شامل کاهش عملکرد کلیه به صورت افزایش سطح اوره و کراتینین سرم بود. لازم به ذکر است که مقدار سرمی کراتینین و اوره نشان دهنده میزان فیلتراسیون گلومرولی هستند. بنابراین به منظور بررسی عملکرد سیستم کلیوی تغییرات پارامترهای موجود در سرم این حیوانات مورد آزمایش قرار گرفت.

با استفاده از نانوذرات اکسیدمنیزیم در حیواناتی که دچار آسیب ایسکمی رپرفیوژن شدند تغییرات و آسیب‌های بیوشیمیایی کاهش چشمگیری پیدا کردند. به طوری که در این مطالعه میزان سرمی کراتینین و اوره در گروه ایسکمی رپرفیوژن به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بودند. نتایج حاصل از آزمایشات ما نشان می‌دهد که درمان با نانوذرات اکسیدمنیزیم افزایش اوره و کراتینین سرم را که حاصل آسیب I/R است را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد.

آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن به عنوان عاملی که باعث بدتر شدن نتیجه پیوند می‌شود، شناخته شده است. مطالعات بالینی و آزمایشگاهی نشان می‌دهند که پیشگیری یا کاهش آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن می‌تواند به بهبود نتایج حاصل از پیوند کلیه منجر شود (۲۹).

غلظت کراتینین و اوره سرم در موش‌های کنترل I/R به طور معنی‌دار افزایش یافته است. همانطور که گفته شد، سطح کراتینین و اوره در سرم شاخص‌های شناخته شده ای برای نظارت بر عملکرد کلیه است (۳۰). آنها نمایانگر مویرگ‌های گلومرولی و آسیب‌های کپسول بومن هستند (۳۱). کلیه، مواد زائد متابولیکی مانند اوره و کراتینین را دفع می‌کند. تحت شرایط پاتولوژیک، بافت کلیه نمی‌تواند

مختلف باکتری کش‌های جامد می‌باشد (۲۲). نانوذرات MgO رشد باکتری ویبریولرا را مهار می‌کنند که یک بیماری روده‌ای همه‌گیر است (۲۳). آن‌ها در مبارزه با بیماری‌های منتقله از طریق غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۱). اثرات تسکین‌دهنده و ضدالتهای نانوذرات MgO اثبات شده است (۲۰). اثر ضدباکتری MgO NPs در برابر *S. aureus* و *E. coli* نیز نشان داده شده است (۲۴).

چند مطالعه گزارش کرده‌اند که نانوذرات MgO اثرات مفیدی در سلول‌ها دارند (۲۷-۲۵). اثبات شده است که غلظت پایین نانوذرات MgO هیچ سمیت سلولی را نشان نمی‌دهد (۲۸). علاوه بر این، گزارش شده است که آن‌ها شاخص‌های استرس اکسیداتیو نظیر گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر را کاهش داده و باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها نیز می‌شوند. MgO همچنین قادر به ایجاد اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدسمی و ضددیابتی در غلظت‌های پایین بودند (۲۷). اثر بالقوه MgO NPs در نانوپزشکی برای سرطان درمانی به عنوان یک جایگزین جدید برای شیمی درمانی به دلیل سمی بودن آنها علیه سلول‌های سرطانی، مورد استفاده قرار گرفتند (۲۵).

از همه مهم‌تر، نانوذرات اکسیدمنیزیم دارای اثر مهاری بر روی رده‌های سلول سرطانی انسان (سلول‌های اپیتلیال سرطان کبد) هستند. علاوه بر این، آن‌ها سمیت ژنی قابل توجهی نشان ندادند که کاربردهای بالقوه آن‌ها را در داروهای نانو به عنوان یک ابزار تشخیصی و درمانی نشان می‌دهد (۲۶). بیخطر بودن نانوذرات MgO بر روی رده‌های سلولی سالم و همچنین انواع مختلف رده‌های سلولی سرطانی آزمایش شده است. نانوذرات MgO توانایی ممتازی در از بین بردن سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های طبیعی نشان می‌دهند (۲۵).

از طریق پیشرفت‌های انجام شده در جراحی‌های حفظ اعضای بدن در بسیاری از زمینه‌های پزشکی، نه تنها

بر عملکرد کلیه متعاقب القا ایسکمی رپرفیوژن در موش صحرایی نشان داد که سولفات منیزیم بدلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی توانسته موجب کاهش آسیب کلیوی گردد (۴۲). حاجی میر اسماعیل و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۴ با بررسی اثر درمان با اسیدهای چرب امگا ۳ بر آسیب ناشی از ایسکمی رپرفیوژن کلیه موش صحرایی دریافتند که دو هفته مصرف امگا ۳ قبل از ایسکمی، عملکرد کلیوی را با کاهش کلیرانس کراتینین بهبود داده و سبب کاهش استرس اکسیداتیو گردیده است (۴۳). همانگونه که در پژوهش نجفی در سال ۱۳۹۸، I/R منجر به بالا رفتن غلظت‌های پلاسمایی کراتینین و اوره نسبت به گروه شاهد گردیده بود (۴۴).

در مطالعه ای که توسط مارتین و همکارانش در سال ۱۹۸۵ انجام گرفته است، غلظت‌های منیزیم و پروتئین سرمی (توتال پروتئین، آلبومین و گلوبولین) در بیش از ۷۴۰۰۰ نمونه سرمی از بیماران تعیین شده است و یک رابطه مستقیم بین غلظت منیزیم در سرم و غلظت‌های توتال پروتئین، آلبومین و گلوبولین در سرم مشخص شده است. غلظت‌های آلبومین و منیزیم به صورت خطی در غلظت‌های سطح بالا و پایین آلبومین، با یک فاصله‌ی قابل ارجاع، مرتبط هستند. با این حال، غلظت منیزیم مستقل از غلظت آلبومین می‌باشد. آنالیز رگرسیون خطی نشان می‌دهد که ۲۵ درصد از کل منیزیم سرم به آلبومین و ۸ درصد به گلوبولین‌ها متصل است (۴۵). بنابراین بررسی آلبومین و توتال پروتئین نیز خالی از لطف نبوده است.

آلبومین نیز به عنوان یک شاخص پروتئینی مهم در سلامت و بیماری محسوب می‌شود و هر گونه تغییر در ساختار فضائی آن موجب اختلال در فعالیت بیولوژیک پلاسما می‌گردد زیرا آلبومین مهمترین و عمده‌ترین جزء پروتئینی در پلاسما است که نقش اصلی در تنظیم فشار انکوتیک، انتقال ترکیبات غیر قطبی، ذخیره آمینواسیدها و

چنین فرآورده‌هایی را از طریق مجرای ادرار وارد کند (۳۱،۳۲). بنابراین، تغییر در دفع کراتینین و اوره مربوط به I/R، شاخص نارسایی کلیه است (۳۳). با این حال، دریافتیم که نانو MgO به طور معنی‌داری سطح کراتینین و اوره را در موش‌های I/R نسبت به موش‌های کنترل I/R کاهش می‌دهد، احتمالاً به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و تعدیل سیستم ایمنی است (۳۴، ۳۵). تجویز سیس پلاتین منجر به هیپومنیزمی در بیماران می‌شود (۳۶)، مکانیسم زیربنای اثرات نفروتوکسیک سیس پلاتین طبق تحقیقات *in vivo*، نشانگرهای حاد آسیب کلیوی (نیتروزن اوره خون، علائم آسیب کراتینین و توبول) پس از جایگزینی منیزیم پس از تجویز همزمان، بهبودی را نشان دادند. به طور شگفت‌آوری منیزیم احتمالاً هیچ تاثیری بر اثر ضدتوموری سیس پلاتین ندارد (۳۷، ۳۸). سایتو و همکاران همچنین اثر محافظت مجدد منیزیم را در بیماران سرطانی تحت درمان با سیس پلاتین گزارش کردند. پیش‌درمانی با استفاده از منیزیم با کاهش سمیت کلیوی در ارتباط بود و باعث ایجاد برخی تغییرات در کراتینین و کلیرانس کراتینین سرم می‌شود (۳۹). در مدل حیوانی دیابت ناشی از چندین غلظت کم استرپتوزوسین به موش‌های صحرایی سالم، عوامل آسیب کلیوی (افزایش نیتروزن اوره خون و نشانگرهای استرس اکسیداتیو) پس از دریافت منیزیم معکوس شدند (۴۰).

با مطالعه ای که بر پایه درمان با منیزیم بر روی موش‌های دچار آسیب ایسکمی رپرفیوژن در مدل پیچشی تخمدان موش صحرایی، توسط سلیک کاواک و همکارانش در سال ۲۰۱۸ صورت گرفت، اثر حفاظتی سولفات منیزیم ($MgSO_4$) بر آسیب تخریبی ناشی از ایسکمی رپرفیوژن بواسطه تجزیه و تحلیل هیستوپاتولوژیک و بیوشیمیایی نشان داده شد (۴۱). مطالعه‌ی اصغری و همکارانش در سال ۲۰۱۶ نیز با بررسی سرولوژیکی تأثیر تجویز سولفات منیزیم

اوره و کراتینین سرم که معمولاً از مارکرهای بیوشیمیایی برای ارزیابی عملکرد کلیه هستند، نشانه‌های دیررس (کند یا با تأخیر) از اختلال عملکرد کلیه هستند و افزایش‌های قابل توجه فقط زمانی که GFR تا ۵۰ الی ۷۰ درصد کاهش یافته، رخ می‌دهد. علاوه بر این، کلیترانس کراتینین می‌تواند در چاقی و همراه با ادم زیاد، بالا باشد و ممکن است در بیماران باردار مبتلا به پاراپلژیک با توده‌های مایع شکمی، مبتلا به سوء هاضمه و ضعف یا توده‌های عضلانی، بصورت کاذب اندازه‌گیری شود (۵۲). از این رو اندازه‌گیری آلبومین پلاسما می‌تواند معیار مهمی در بررسی‌های ایسکمی رپرفیوژن کلیه به حساب آید

تست بررسی پروتئین تام پلاسما همچنین جهت بررسی نسبت آلبومین به گلوبولین کاربرد دارد. پروتئین‌ها از اجزای مهم خون در بدن بوده که برای تمام بافت‌ها و سلول‌های بدن، یک ماده مهم و حیاتی محسوب می‌شوند. پروتئین‌های خون به دو دسته کلی آلبومین و گلوبولین تقسیم می‌شوند. آلبومین ناقل بسیاری از مولکول‌های کوچک در بدن است اما مهم‌ترین وظیفه آن حفظ فشار اسمزی بدن می‌باشد. این تست در موارد کاهش وزن زیاد و بی سابقه، علائمی مبنی بر بیماری کلیوی و کبدی و شرایطی نظیر ادم درخواست می‌گردد (۴۶).

در مطالعه حاضر میزان آلبومین و توتال پروتئین در حیوانات کنترل ایسکمی نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی داری نشان داده و تیمار نانو اکسید منیزیم باعث افزایش معنی دار در سطح آلبومین و توتال پروتئین سرم گردید. بنابراین به این نتیجه رسیدیم که اثر درمانی نانوذرات اکسید منیزیم در جلوگیری از اختلال عملکردی حاصل از ایسکمی رپرفیوژن، مفید بود و وابسته به دوز مصرفی نانو ذره MgO می‌باشد.

نتیجه‌گیری

انتقال متابولیت‌های هورمون‌ها را برعهده دارد، بنابر این لازم است که در استرس اکسیداتیو مورد توجه قرار گیرد (۴۶).

سینها در سال ۲۰۰۴ برای اولین بار کشف کرد که اندازه‌گیری انواع آلبومین که با تغییرات در ظرفیت اتصال آلبومین به فلز رخ می‌دهد، در موارد ایسکمیک می‌تواند در تشخیص بسیاری بیماری‌های ایسکمیک مورد استفاده قرار گیرد (۴۷).

رادیکال‌های اکسیژن واکنشی و اسیدوز در مورد ایسکمی رپرفیوژن باعث برخی تغییرات ساختاری در آلبومین می‌شود. در نتیجه‌ی این تغییرات، اتصال آلبومین به یون‌های فلزی خاصی مانند مس و نیکل، منیزیم و بویژه کبالت کاهش یافته و این شکل جدید، آلبومین اصلاح شده‌ی ایسکمی (Ischemia Modified Albumin, IMA) نامیده می‌شود (۴۸-۵۰). IMA بعنوان یک نشانگر بیوشیمیایی غیراختصاصی در بافت‌های ایسکمیک در نظر گرفته می‌شود (۴۹).

هیچ نشانگر بیوشیمیایی خاصی برای مراحل اولیه‌ی آسیب I/R از نظر بالینی در بیماری‌های کلیوی در دسترس نیست. گفته شد که آسیب I/R کلیه در موارد پیوند کلیه، نفرکتومی جزئی، جراحی بای پس قلبی ریوی، سپسیس و شوک دیده می‌شود. آسیب I/R در کلیه نه تنها در جراحی کلیه (نفرکتومی نسبی و غیره) دیده می‌شود بلکه در شرایط مشابه جایی که رپرفیوژن کاهش یافته مشاهده می‌شود. توانایی در معکوس کردن آسیب کلیوی ایسکمیک بستگی به توانایی سلول‌های توبولار کلیه برای جایگزینی و بازسازی سلول‌های اپیتلیال آسیب دیده، دارد. شناخته شده است که توانایی این سلول‌ها برای بازسازی، با زمان ایسکمی نسبت عکس دارد (۵۱).

نیاز عینی به یک نشانگر برای دوره غیر قابل برگشت آسیب ناشی از I/R کلیه وجود دارد. مقادیر افزایش یافته‌ی

کاهش عملکرد کلیه در گروه I/R است و یک دوره ۳۰ روزه ی گاواژ نانوآکسیدمنیزیم سبب اثرات حفاظتی به صورت کاهش میزان غلظت کراتینین و اوره ی سرم و افزایش آلبومین و توتال پروتیین سرم گروه‌های تجربی ایسکمی در مقایسه با گروه کنترل I/R می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تعارض در منافع ندارند.

فهرست منابع

1. Abdolazadeh Dashty M. Kesmati M. Khaje Por L. Najafzadeh Varzi H. (2014) The preventative role of MgO nanoparticles in amnesia induced by morphine in mouse. *Iranian Veterinary J* 10(3): 55-64.
2. Ansarihadipour H. Alhoseini M. Rostami S. Farahani N. Hashemi M. (2012). Antioxidant and prooxidant effects of ascorbate during iron-induced carbonyl formation in serum albumin. *Arak Medical University Journal (AMUJ)* 15(61): 17-26.
3. Asghari A. Jamshidi N. Neshat M. (2016). Serologic evaluation of the effect of administration of magnesium sulfate on the subsequent renal function Induction of reperfusion ischemia in rats. *Comparative Pathobiology. Scientific Research j* 13(1): 1805-1812.
4. Bonventre J.V. (1993) Mechanisms of ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 43(5): 1160-78.
5. Chatterjee P.K. Patel N.S. Sivarajah A. Kvale E.O. Dugo L. Cuzzocrea S. *et al.* (2003). A potent and highly selective inhibitor of iNOS, reduces experimental renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 63(3): 853-65.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که آسیب حاد کلیوی القا شده بر اثر ایسکمی پرفیوژن مجدد کلیه چپ، موجب افزایش میزان کراتینین و اوره و کاهش آلبومین و توتال پروتیین سرم می‌شود. این امر به دلیل اینکه نیترژن اوره خون و کراتینین پلاسما به عنوان شاخص‌های عملکرد کلیوی در نظر گرفته می‌شوند و افزایش غلظت آن‌ها نشان دهنده آسیب عملکردی کلیوی است، می‌باشد. نشان‌دهنده

6. Celik Kavak E. Gulcu Bulmus F. Bulmus O. Burcin Kavak S. Kocaman N.(2018). Magnesium: does it reduce ischemia/reperfusion injury in an adnexal torsion rat model? *Drug Des Devel Ther* 12:409-415.
7. Cai J.X. Yu B. Zhang H. Zhang Y. Fang S. Liu T. *et al.* (2014). Atorvastatin improves survival of implanted stem cells in a rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Nephrol* 39(6): 466-475.
8. Chen T.H. Yang Y.C. Wang J.C. Wang J.J. (2013). Curcumin treatment protects against renal ischemia and reperfusion injury-induced cardiac dysfunction and myocardial injury *Transplant. Proc* 45(10): 3546-3549.
9. Dragun D. Hoff U. Park J.K. Qun Y. Schneider W. Luft F.C. *et al.* (2000) Ischemia-reperfusion injury in renal transplantation is independent of the immunologic background. *Kidney Int* 58(5): 2166-77.
10. De Francisco A.L.M. Rodríguez M. (2013). *Nefrologia* 33(3):389-99.
11. Emamifar A. Kadivar M. Shahedi M. SoleimaniZad S. (2011). Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus*

plantarum in orange juice. Food Control 22:408-13.

12. Elmotasem H. Farag H.K. Salama A.A. (2018). In vitro and in vivo evaluation of an oral sustained release hepatoprotective caffeine loaded w/o Pickering emulsion formula – Containing wheat germ oil and stabilized by magnesium oxide nanoparticles. *Int J Pharmaceutics* 547(1-2): 83-96.

13. Ferreyra C.F. Vargas I. Rodriguez-Gomez R. Perez-Abud F. O'Valle Osuna A. (2013). Preconditioning with triiodothyronine improves the clinical signs and acute tubular necrosis induced by ischemia/reperfusion in rats. *PLoS* 8: 74960.

14. Ge S. Wang G. Shen Y. Zhang Q. Jia D. Wang H. Dong Q. Yin T. (2011). Cytotoxic effects of MgO nanoparticles on human umbilical vein endothelial cells in vitro. *IET Nanobiotechnol* 5(2): 36-40.

15. Hoste E.A. Clermont G. Kersten A. Venkataraman R. Angus D.C. De Bacquer D. *et al.* (2006). RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care* 10:R73.

16. Huang L. Li D.Q. Lin Y.J. Wei M. Evans D.G. Duan X. (2005). Controllable preparation of Nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. *J Inorg Biochem* 99 (5): 986-993.

17. Hajimiresmaiel J. Davoodi H. Namazi N. *et al.* (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.

18. Jang H.R. Rabb H. (2009). The innate immune response in ischemic acute kidney injury. *Clin Immunol* 130(1):41-50.

19. Jahangiri, L. Kesmati M. Najafzadeh H. (2013). Evaluation of analgesic and antiinflammatory effect of nanoparticles of magnesium oxide in mice with and without ketamine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 17(20): 2706-2710.

20. Jin T. He Y. (2011). Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *J Nanopart Res* 13(12): 6877-6885.

21. Kellum J.A. Unruh M.L. Murugan R. (2011). Acute kidney injury. *BMJ Clin Evid* Published online 2011 Mar 28.

22. Kao M.C. Jan W.C. Tsai P.S. Wang T.Y. Huang C.J. (2011). Magnesium sulfate mitigates lung injury induced by bilateral lower limb ischemia-reperfusion in rats. *J Surg Res* 171(1):e97–e106.

23. Krishnamoorthy K. Moon J.Y. Hyun H.B. Cho S.K. Kim S.J. (2012). Mechanistic investigation on the toxicity of MgO nanoparticles toward cancer cells. *J Mater Chem.* 22:24610–7

24. Krishnamoorthy K. Moon J.Y. Hyun H.B. Cho S.K. Kim S.J. (2012). Mechanistic investigation on the toxicity of MgO nanoparticles toward cancer cells. *J Mater Chem.* 22 (12): 24610-24617.

25. Kumaran R.S. Choi Y.K. Singh V. Song H.J. Song K.G. Kim K.J. Kim H.J. (2015). In vitro cytotoxic evaluation of MgO nanoparticles and their effect on the expression of ROS genes. *Int. J Mol Sci* 16(4): 7551-7564.

26. Kosieradzki M. Rowinski W. (2008). Ischemia/reperfusion injury in kidney

transplantation: mechanisms and prevention. *Transplant Proc* 40(10):3279-88.

27. Kumar G. Solanki M.H. Xue X. Mintz R. Madankumar S. Chatterjee P.K. *et al.* (2017). Magnesium improves cisplatin-mediated tumor killing while protecting against cisplatin-induced nephrotoxicity. *Am J Physiol Ren Physiol* 313(2): 339–350.

28. Lindberg J.S. Zobitz M.M. Poindexter J.R. Pak C.Y. (1990). Magnesium bioavailability from magnesium citrate and magnesium oxide. *J Am Coll Nutr* 9(1):48- 55.

29. Liu Y. Guo Y. Wang Z. Nie W. (2007). Effects of source and level of magnesium on catalase activity and its gene expression in livers of broiler chickens. *Arch Anim Nutr* 61(4): 292-300.

30. Lajer H. Daugaard G. Cisplatin and hypomagnesemia (1999). *Cancer Treat Rev.* 25(1): 47–58.

31. Lippi G. Montagnana M. Guidi G.C. (2006). Albumin cobalt binding and ischemia modified albumin generation: an endogenous response to ischemia? *Int J Cardiol* 108(3):410– 1.

32. Malek M. Nematbakhsh M. (2015). Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. *J Renal Inj Prev* 4(2): 20-27.

33. Matovic V. Bulat Z.P. Dukic-cosic D. Soldatovic D. (2010). Zinc, copper, or magnesium supplementation against cadmium toxicity. New York: In, Inc NSP.

34. Moeini-Nodeh S. Rahimifard M. Baeri M. Abdollahi, M. (2017). Functional Improvement in Rats' Pancreatic Islets Using Magnesium Oxide Nanoparticles Through Antiapoptotic and Antioxidant

Pathways. *Biol Trace Elem Res* 175(1): 146-155.

35. Moeini-Nodeh S. Rahimifard M. Baeri M. Abdollahi M. (2017). Functional Improvement in Rats' Pancreatic Islets Using Magnesium Oxide Nanoparticles Through Antiapoptotic and Antioxidant Pathways. *Biol Trace Elem Res* 175(1): 146-155.

36. Martin H. Kroll and Ronald J. Ellin. (1985). Relationships between Magnesium and Protein Concentrations in Serum. *Clin Chem* 31(2):244-246.

37. Mouton R. Holder K. (2006). Laboratory tests of renal function. *Anaesth Intensive Care Med* 7(7):240–3.

38. Najafi H. Shid-Moosavi S.M. (2010). Contribution of A1-adenosine receptor in the development of renal functional disturbances during the early hours of reperfusion following ischemia in anaesthetized rats. *Arak Medical University Journal (AMUJ)* 13(2): 141-154.

39. Nath K.A. Norby S.M. (2000). Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 109(8):665–78.

40. Patel M. Md, Z. Rizvi M. Alam M. Agrawal V. Ansari Z. Malhotra B. (2013). Antibacterial and cytotoxic effect of magnesium oxide nanoparticles on bacterial and human cells. *J Nanoeng Nanomanuf* 3(2): 162-166.

41. Parvizi M.R. Parviz M. Tavangar S.M. Soltani N. Kadkhodae M. Seifi B. Keshavarz M. (2014). Protective effect of magnesium on renal function in STZ-induced diabetic rats. *J Diabetes Metab Disord* 13(1): 84.

42. Shand M.A. (2006). Physical and Chemical Properties of Magnesium Oxide, in: Shand (Ed.), The Chemistry and Technology of Magnesia. John Wiley & Sons, Inc p.121-132.
43. Sharfuddin A.A. Molitoris B.A. (2011). Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 7(4):189-200.
44. Shi L. Xing L. Hou B. Ge H. Guo X. Tang Z.H. (2010). Inorganic nano metal oxides used as antimicroorganism agents for pathogen control. *Current Research Technol and Edu Topics in Applied Microb and Microb Biotechnol* 361-8.
45. Solanki M.H. Chatterjee P.K. Xue X. Gupta M. Rosales I. Yeboah M.M. *et al.* (2015). Magnesium protects against cisplatin-induced acute kidney injury without compromising cisplatin-mediated killing of an ovarian tumor xenograft in mice. *Am J Physiol Ren Physiol* 309(1): 35–47.
46. Saito Y. Kobayashi M. Yamada T. Kasashi K. Honma R. Takeushi S. *et al.* (2017). Premedication with intravenous magnesium has a protective effect against cisplatin-induced nephrotoxicity. *Support Cancer Care* 25(2): 481–487.
47. Sinha, M.K. (2004). Role of 'Ischemia-modified albumin', a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Emergency Medicine J* 21(1): 29–34.
48. Talwalkar S.S. Bon Homme M. Miller J.J. Elin R.J. (2008). Ischemia modified albumin, a marker of acute ischemic events: a pilot study. *Ann Clin Lab Sci* 38(2):132–7.
49. Tang Z.H. Lv B.F. (2014). MgO nanoparticles as antibacterial agent: preparation and activity. *Brazilian J Chem Eng* 31(30):591-601.
50. Tang Z.X. Fang X.J. Zhang Z.L. Zhou T. Zhang X.Y. Shi L.E. (2012). Nanosize MgO as antibacterial agent: preparation and characteristics. *Brazilian J Chem Eng* 29: 775-781.
51. Turedi S. Gunduz A. Mentese A. Karahan S.C. Yilmaz S.E. Eroglu O. *et al.* (2007). Value of ischemia modified albumin in the diagnosis of pulmonary embolism. *Am J Emerg Med* 25(7):770–3.
52. Wei C.C. Wu K., Gao Y. Zhang L.H. Li D.D. Luo Z. (2017). Magnesium Reduces Hepatic Lipid Accumulation in Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and Modulates Lipogenesis and Lipolysis via PPARA, JAK-STAT, and AMPK Pathways in Hepatocytes. *J Nutr* 147(6): 1070-1078.



Protective effect of nano magnesium oxide on renal ischemia/reperfusion injury on blood factors in male Wistar rats

Marzieh Minaei¹, **Akram Eidi**², Pejman Mortazavi³, Ahmad Asghari⁴

1- Assistant Professor, Department of Biology, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Professor of Biology Department, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Corresponding Author: eidi@srbiau.ac.ir , akram_eidi@yahoo.com

3- Professor, Department of Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received:2021.07. 25

Accepted: 2023.08.21

Abstract

Background & Aim: In recent years, nanotechnology has produced new forms of materials that are more effective than their predecessors. Magnesium plays a key role in many biological processes. The aim of this study was to investigate the effects of nano magnesium oxide (Nano-MgO) on renal ischemia/reperfusion (I/R) as a common complication of renal vascular surgery or renal transplantation in a male rat model.

Materials & Methods: In this study, Induction of I/R injury was done through clamping left renal pedicle for 20 min. Animals were administrated with Nano-MgO (1.25, 2.5 and 5 mg/kg) for 30 days by gavage and then blood samples were collected and changes in serum albumin, total protein, urea and creatinine were examined and the data were statistically analyzed ($p < 0.05$).

Results: Our findings showed that Nano-MgO administration to renal I/R injury rats significantly attenuates serum creatinine and urea levels. Also, administration of Nano-MgO increased serum albumin and total protein levels.

Conclusion: The Nano-MgO administration preserves renal function and As a potent vasodilator, Nano-MgO may have been able to reduce kidney damage following ischemia-reperfusion induction.

Keywords: Ischemia/reperfusion, Kidney, Nano magnesium oxide, Rat