Arak Medical University Journal (AMUJ)
2017; 20(122): 103-118

Original Article

Evaluation of Serum Biochemical and Histopathological Changes in Mice-Diabetic Kidney Followed by Simultaneous Injection of Nanoparticles of Zinc oxide and Thiamine

Ahmad Khaje Gandomani[1], Rahmat Allah Fatahian Dehkordi[2*], Mohamad Saeed Heidarnejad[3], Mohsen Jafarian Dehkordi[4]

1. MSc of Animal Physiology, Faculty of Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
2. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
3. Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
4. Associate Professor, Department of Clinical pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Azad University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

Received: 9 May 2017, Accepted: 22 Jul 2017

Abstract

Background: In this study, the effects of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) and thiamine on the blood biochemical markers and kidney histopathological changes after experimental diabetes in mice was investigated.

Materials and Methods: For this purpose, 56 mice were randomly divided into 8 groups of 7 each. Two groups of animals as controls (A) and thiamine (G) were considered. Other groups were diabetic by alloxan at a dose of 180 mg/kg. Group B mice were considered as diabetic group. To diabetic mice into Group C and D , ZnO NPs in concentrations of 0.1 and 0.5 mg/kg were intraperitoneally injected. Groups E and F; to these groups of diabetic mice, ZnO NPs in concentration of 0.1 and 0.5 mg/kg along with thiamin (30 mg/l) was injected. ZnO NPs in concentration of 0.1 was injected to group H mice. Changes in renal tissue along with some biochemical parameters were measured.

Results: The results showed that diabetes induced changes in some of the serum biochemical factors (GGT, BUN and creatinine) in rats ($p<0.05$). However, the administration of nanoparticles and thiamine reduced these negative effects. Exposure to diabetes causes changes in the kidney tissue of the mouse, in the disturbance of scaffolds for tissue integrity clutter, fragmentation of some convoluted tubules and congestion within the connective tissue.

Conclusion: Treatment of the diabetes mice by ZnO NPs and thiamine improves renal histopathologic structure and blood biochemistry levels.

Keywords: Diabetes, Kidney, Mouse, Thiamine, Zinc oxide nanoparticles

*Corresponding Author:
Address: Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
Email: fatahian_1349@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۰، شماره ۵ (شماره پیاپی ۱۲۲)، مرداد ۱۳۹۵، ۱۱۸-۱۰۳

بررسی تغییرات بیوشیمیایی سرم و هیستوپاتولوژیک کلیه در موش‌های دیابتی شده به دنبال تزریق همزمان نانوذرات اکسید روی و تیامین

احمد خواجه گندمانی[۱]، رحمت الله فتاحیان دهکردی[۲]*، محمدسعید حیدرنژاد[۳]، محسن جعفریان دهکردی[۴]

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴. دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: در این پژوهش، اثر نانوذره‌ی اکسید روی (ZnO NPs) و تیامین بر عملکرد بیوشیمیایی سرم و هیستوپاتولوژی کلیه به دنبال دیابت تجربی در موش بررسی شد.

مواد و روش‌ها: برای این منظور، ۵۶ سر موش به طور تصادفی در ۸ گروه ۷ تایی قرار گرفتند. دو گروه از حیوانات به عنوان گروه کنترل (A) و گروه تیامین (G) در نظر گرفته شدند. سایر گروه‌ها از طریق آلوکسان با دوز ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیابتی شدند. موش‌های گروه B به عنوان گروه دیابتی تنها در نظر گرفته شدند. غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانوذره‌ی اکسید روی به صورت درون صفاقی به گروه های C و D تزریق گردید. غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانوذره‌ی اکسید روی همراه با تیامین (۳۰ میلی گرم بر لیتر) به گروه های E و F تزریق شد. به موش‌های گروه H فقط نانوذره با غلظت ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق گردید. تغییرات ایجاد شده در بافت کلیه همراه با برخی فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج حاصله نشان داد که دیابت سبب تغییر میزان برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون (آنزیم GGT، BUN و کراتینین) موش گردید ($p<۰/۰۵$). اما تجویز نانوذرات و تیامین کاهش این اثرات منفی را به همراه داشت. ابتلا به دیابت سبب تغییر بافت کلیه موش ها به صورت آشفتگی انسجام بافت داربست، از هم گسیختگی برخی از لوله‌های پیچ‌خورده و پرخونی در داخل بافت هم‌بندِ داربست شد.

نتیجه‌گیری: درمان موش های دیابتی با نانوذره ZnO NPs و تیامین موجب بهبودی نسبی در ساختار هیستوپاتولوژی کلیه و سطوح بیوشیمیایی خون گردید.

واژگان کلیدی: نانوذره‌ی اکسید روی، تیامین، کلیه، دیابت، موش

***نویسنده مسئول:** ایران، شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

Email: fatahian_1349@yahoo.com

مقدمه

فناوری نانو به‌عنوان یکی از جدیدترین و مؤثرترین زمینه‌های علمی، باعث ایجاد تغییرات شگرفی در روند علوم گردیده و یقیناً در آینده، تمامی زوایای زندگی انسان را تحت تأثیر قرار می‌دهد(۱). روی، عنصری ضروری برای انسان و دیگر حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها است. وانگ و همکاران(۲۰۰۶) نشان دادند که در دوزهای بالای پودر روی و در مقیاس نانو، این عنصر می‌تواند اثرات مخربی به همراه داشته باشد. هم‌چنان که سبب تغییرات چشم‌گیری بر برخی آنزیم‌های کبدی داشته و در مقایسه با گروه کنترل نقش مخرب آن مشخص گردیده است. اگرچه روی به عنوان یون‌های ساختاری در عوامل رونویسی ژن‌ها به کار می‌رود و در متالوتیونین‌ها ذخیره شده و انتقال می‌یابد ولی این محققان نشان دادند که این عنصر در دوز بسیار بالای خود چه به صورت پودر و چه در حد نانو، آسیب‌های جدی بر ساختار کبد وارد می‌کند (۲).

نانوذرات اکسید روی، به طور گسترده‌ای در محصولات مصرفی و صنعتی به خصوص در لوازم آرایشی، افزودنی‌های غذایی، فوتوالکتریک و صنایع لاستیک‌سازی به کار می‌روند؛ نانوذرات اکسید روی، اخیرا به عنوان زیست حسگرهای کلسترول، تنظیم کننده‌های رژیمی برای فعالیت هیدرولازیِ مرتبط با کنترل دیابت و افزایش قند خون شناخته شده‌اند(۳)

برخی از ویتامین‌های گروه B شامل تیامین (ویتامین B_1)، ریبوفلاوین (ویتامین B_2)، اسیدنیکوتونیک (ویتامین B_3)، اسیدپاناتوتنیک (ویتامین B_5)، پیریدوکسین (ویتامین B_6)، اسید فولیک (ویتامین (B_9) و سیانوکابالامین (ویتامین B_{12})، می‌باشند و در بدن به عنوان حاملی فعال از قطعات مولکول‌ها و یا الکترون‌ها و یا به عنوان کوفاکتور آنزیمی عمل می‌کنند(۴). تیامین می‌تواند با رادیکال‌های آزاد و هیدرو پراکسیدها وارد واکنش شده و باعث خنثی کردن اثرات رادیکال هیدروکسیل و انواع دیگر گونه‌های Reactive oxygen species (ROS) شود. هم‌چنین تیامین، سبب کاهش اکسیداسیون پروتئین‌ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در سلول‌های کبد می‌شود (۵).

کلیه‌ها از واحدهایی به نام نفرون ساخته شده‌اند و مواد زاید خون را دفع می‌کنند. گاماگلوتامیل ترانسفراز یا GGT، آنزیمی از خانواده‌ی ترانسفراز است که انتقال گروه‌های عملکردی گاماگلوتامیل را از مولکول‌هایی مانند گلوتاتیون به یک پذیرنده که می‌تواند یک آمینو اسید، یک پپتید یا مولکول آب باشد، انتقال دهد. این آنزیم در غشای سلولی بافت کلیه‌ها، مجرای صفراوی، پانکراس، کیسه‌ی صفرا و طحال یافت می‌شود و در انتقال آمینواسیدها در عرض غشای سلول و متابولیسم لوکوترین‌ها دخالت دارد. GGT، غالبا به عنوان نشان‌گری تشخیصی برای بیماری‌های کبدی استفاده می‌شود. فعالیت سرمی افزایش یافته‌ی این آنزیم می‌تواند در بیماری‌های کبد و سیستم صفراوی مشاهده شود. همچنین اخیراً مشاهده شده که بین افزایش سرمی آن و بیماری‌های قلبی عروقی ارتباط وجود دارد(۶).

نیتروژن به تصویر اوره‌ی خون یا BUN، محصول نهایی و اصلی متابولیسم پروتئین در کبد است که از آمونیاک ساخته شده و از طریق کلیه دفع می‌گردد. سطح BUN در خون بیان‌گر مواد زاید نیتروژن‌دار است که نشان دهنده‌ی جذب پروتئین و میزان عملکرد دفع کلیوی می‌باشد. سطح BUN اغلب در بیماری‌های کلیوی افزایش می یابد. هم‌چنین مصرف بیش از حد پروتئین در رژیم غذایی، افزایش کاتابولیسم پروتئین در سوختگی‌ها نیز میزان BUN را افزایش می‌دهند. اختلالات شدید در عملکرد کبدی، افزایش آب بدن و سوء تغذیه باعث کاهش سطح BUN خون می‌شود(۷). کراتینین، یکی از محصولات شکستن کراتین فسفات در ماهیچه‌ها می‌باشد و معمولا بسته به جرم ماهیچه به میزان ثابتی در بدن تولید می‌شود (۸). لوبیت و همکاران (۱۹۸۸) نشان دادند که اوره خون پس از مصرف دوز بالای استات روی افزایش یافته ولی با مصرف روی در حد نانو بهبودی نسبی در افزایش اوره رخ داده است (۹).

دیابت گروهی از بیماری‌های متابولیک است که در آن میزان قند خون در یک دوره‌ی طولانی، افزایش میابد.

دیابت به علت عدم تولید کافی انسولین توسط سلول‌های بتای پانکراس یا به علت این که سلول‌های بدن نمی‌توانند به صورت مناسب به انسولین موجود در خون پاسخ دهند، ایجاد می‌شود. برخی از عوارض دیابت شامل کتو اسیدوز دیابتی، نارسایی مزمن کلیه، زخم پای دیابتی و نفروپاتی دیابتی و حتی کوری می‌باشد (۱۰). در این مطالعه اثر ناوذرات اکسید روی به تنهایی و همراه با تیامین بر تغییرات بافتی و مارکرهای بیوشیمیایی کلیه در موشهای دیابتی شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بود که تعداد ۵۶ سر موش سفید آزمایشگاهی ماده‌ی ۶ هفته‌ای در محدوده‌ی وزنی ۲۵ گرم از خانه حیوانات دانته خریداری گردید و برای آن که با محیط آزمایشگاه سازگار شوند به مدت یک هفته با رطوبت ۲۴ درصد در دمای ۱±۲۰ با سیکل روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته در دانشکده علوم پایه دانشگاه شهرکرد نگه‌داری شدند. کف قفس‌ها به وسیله‌ی خاک اره پوشیده شد تا محیطی مناسب برای موش‌ها آماده گردد و برای حفظ بهداشت قفس‌ها هر سه روز یک بار تمیز شدند. پلیت‌های محتوی مواد غذایی و ویتامین‌های ضروری برای بدن جهت تغذیه موش‌ها به‌کار برده شد و آب به مقدار کافی و روزانه در اختیار حیوانات قرار داده شد.

بعد از یک هفته سازگاری با محیط مذکور، در ۸ گروه ۷ تایی تقسیم‌بندی شدند. ابتدا موش‌ها به ۳ گروه دسته بندی شدند؛ گروه کنترل، گروه دیابتی و گروه تیامین. جهت القای دیابت در گروه موشهای دیابتی، آلوکسان با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم به صورت درون صفاقی (I.P.) تزریق شد و پس از ۷۲ ساعت به صورت تصادفی از موش‌های گروه دیابتی شده چند موش انتخاب شده و قند خون آن‌ها به صورت ناشتا اندازه‌گیری شد موش‌های با قند خون بالاتر از ۱۲۰ را دیابتی در نظر گرفته شد. سپس یک گروه به عنوان گروه دیابتی جدا گردید و به بقیه موش‌های دیابتی شده نانوذره‌ی اکسید روی به تنهایی با دو دوز ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم در هر کیلوگرم و همراه با تیامین با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر تزریق گردید. در نهایت جمع‌بندی گروه‌های کنترل و تیمار به صورت زیر قابل بیان است.

گروه A؛ به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد از آب مقطر به عنوان حلال مواد استفاده گردید.

گروهB؛ به عنوان گروه دیابتی (گروهی که توسط آلوکسان با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم دیابتی شدند) انتخاب شد.

گروه C؛ به این گروهِ دیابتی شده، غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم نانوذره‌ی اکسید روی به‌صورت درون صفاقی تزریق گردید.

گروهD؛ به این گروه از موش‌های دیابتی شده، غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلو گرم نانوذره‌ی اکسید روی تزریق گردید.

گروهE؛ به این گروه از موش‌های دیابتی شده غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم نانوذره‌ی همراه با تیامین (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) تزریق شد.

گروهF؛ به این گروه از موش‌های دیابتی شده، غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلو گرم نانوذره‌ی همراه با تیامین تزریق گردید.

گروهG؛ به این گروه تنها تیامین (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) تزریق شد.

گروه H: به این گروه تنها نانوذه (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم) تزریق گردید (۱۱).

پس از گذشت ۲۰ روز با استفاده از داروی بی‌هوشی اتر، موش‌ها را بی‌هوش کرده سپس از قلب هر کدام از آن‌ها مقدار ۴CC خون گرفته شد و در لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد جمع آوری گردید. پس از خون‌گیری هر نمونه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید تا سرم از لخته جدا شود و با استفاده از سمپلر (sampler)، سرم جمع آوری شد. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری غلظت آنزیم‌های مورد آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. به منظور آنالیز فاکتورهای بیوشیمیایی (CRE،BUN، GGT)، از کیت‌های سنجش تجاری پارس آزمون و به کمک دستگاه اتوآنالایزر B.T3000 ساخت کشور آلمان به روش اسپکتروفتومتری

استفاده شد. هم‌چنین در انتها، موش‌ها تشریح شده و کلیه‌ی موش‌ها برای تهیه‌ی اسلایدهای بافتی خارج گردید.
نانو ذرات اکسید روی از شرکت بنیاد علمی مهرگان تهران خریداری شد که مشخصات این نانو پودر در جدول زیر نمایش داده شده است.

جدول ۱. مشخصات نانو ذرات اکسید روی

نوع نانوذره‌ی	اکسید روی (Zinc Oxide)
درصد خلوص	+۹۹
اندازه نانوذره‌ی	nm۱۰-۳۰
سطح ویژه	m^2/g۶۰-۲۰۰
رنگ	سفید شیری
فاز کریستالی	Single
تصویر کریستالی	نزدیک به کروی
چگالی واقعی	$g/cm^3$۵/۶۰۶

سنجش فعالیت آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز

۱۰۰ میکرولیتر از نمونه سرم را با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول معرف ۱ (شامل ۱۰۰ میلی‌مول بر لیتر بافر تریس و ۵۰۰ میلی‌مول بر لیتر ال _ آلانین و ۱۲۰۰ LDH) و معرف ۲ (شامل ۱۸/. میلی‌مول بر لیتر NADH2 و ۱۵ میلی‌مول بر لیتر ۲-اگزوگلوتارات) مخلوط گردید،پس از آن به مدت ۱ دقیقه انکوبه کرده، سپس جذب قرائت می‌شود. دقیقاً بعد از ۱، ۲ و ۳ دقیقه جذب‌های نوری قرائت شد.

سنجش فعالیت کراتینین و BUN

۲۰ میکرولیتر از نمونه سرم را با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول معرف مخلوط شده ۱ و ۲ مخلوط گردید. پس از مخلوط نمودن، مقدار جذب نوری را بعد از ۱ دقیقه قرائت می‌شود. دقیقاً پس از ۱، ۲ و ۳ دقیقه اختلاف جذب نوری محاسبه می‌گردد. جذب نوری محلول زردرنگ حاصله در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت گردیده و با بلانک مقایسه شد.

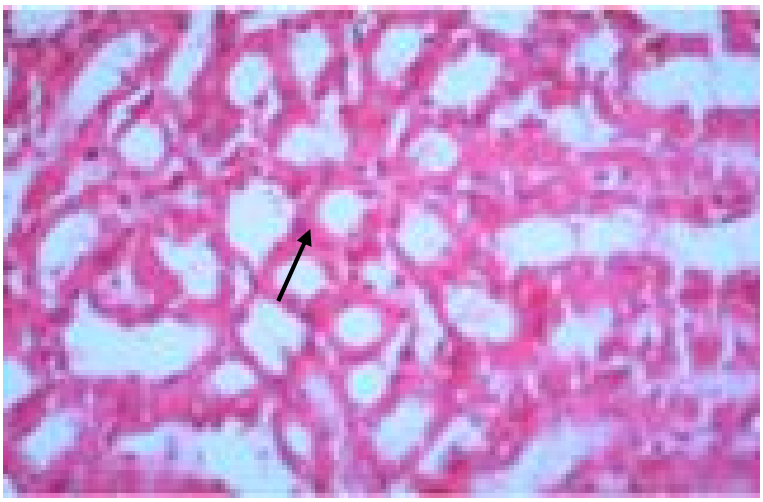
پس از تشریح، نمونه‌های بافت مورد نظر (کلیه) را داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت برای نفوذ بهتر به داخل بافت، فرمالین تعویض شد و با استفاده از الکل اتانول آب‌گیری و با استفاده از ماده شفاف کننده تولوئن، شفاف سازی انجام شد. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و اسلایدهای بافتی در اندازه‌ی حدود ۵ میکرون مقطع‌گیری شدند. سرانجام مقاطع بافتی تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری Olympus مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای مقایسه‌ی داده‌ها بین گروه‌های تیمار و شاهد از نرم افزار SPSS استفاده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از روش واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون LSD برای مقایسه‌ی میانگین‌های مربوط به گروه کنترل با هر یک از گروه‌های تیمار انجام شد و نتایج به صورت means ± SEM نمایش داده شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح احتمال $p<۰/۰۵$ بررسی شد.

یافته‌ها

نتایج بافت شناسی

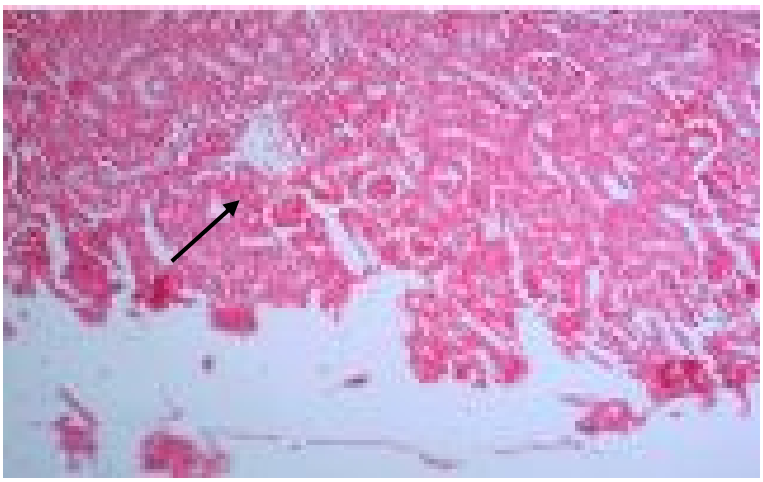
در این تحقیق تأثیر نانوذره‌ی اکسید روی در دو دوز ۰/۱ و ۰/۵ و اثرات مثبت تیامین بر بافت کلیه مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین اثر هم‌زمان دیابت، نانوذره‌ی اکسید روی و تیامین نیز بررسی شد.

در گروه A یا کنترل، بافت کلیه دارای ساختار طبیعی بود. لوله‌های ادراری از نظم خاصی برخوردار بوده و سلول‌های مکعبی با هسته‌ی تیره در مرکزِ سیتوپلاسم ائوزینوفیل قابل مشاهده بود (تصویر۱).



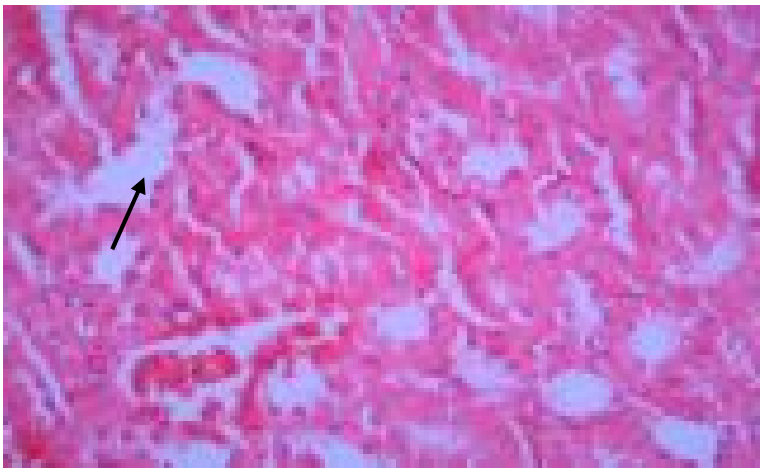
تصویر ۱.گروه A: ساختار بافت کلیه در گروه کنترل. به نظم لوله‌های ادراری (فلش) و سلول‌های مکعبی با هسته تیره در مرکزِ سیتوپلاسم ائوزینوفیل دقت شود (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×).

در گروه B که دیابت به تنهایی اعمال شده بود، کپسول بافت از هم گسیخته بوده و نفوذ سلول‌های خونی در داخلِ داربست، در اکثر قسمت‌های بافت، قابل مشاهده بود و داربست تصویر طبیعی خود را از دست داده بود (تصویر ۲). در داخل برخی از لوله‌های پیچیده نزدیک و دور مایع کلوئیدی که نشان دهنده کستهای پروتئینی است و یک آسیب بافتی را در معرض قرار می‌دهد قابل مشاهده بود. آشفتگی مشهودی در داخل بافت کلیه به چشم می‌خورد، چنانچه لوله‌های ادرای نظم خود را از دست داده و سلول‌های تشکیل دهنده لوله‌ها در حال لیز شدن بودند.

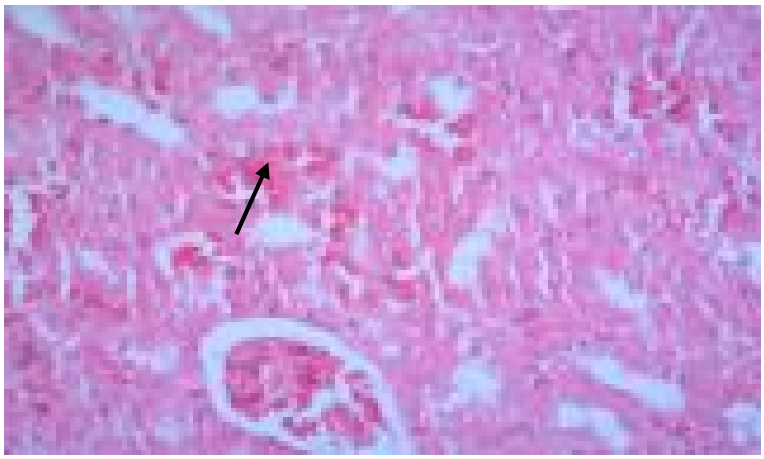


تصویر۲. گروه B: ساختار بافت کلیه گروه تیمار شده با دیابت. از هم گسیختگی کپسول بافت و نفوذ سلول‌های خونی در داخلِ داربست (فلش)، مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۲۰×).

در گروه‌های C و D که به موش‌های دیابتی شده نانوذرات اکسید روی با دوزهای مختلف ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم تزریق شده بود، در برخی از قسمت‌های بافت کلیه، انسجام مستحکمِ بافت داربست هم‌بند به هم ریخته بود، برخی از لوله‌های پیچ‌خورده (نزدیک و دور)، نظم خود را از دست داده و از هم گسیخته شده بودند و در برخی از سلول‌های مکعبیِ لوله‌های پیچ خورده، غشای سلولی از بین رفته و سیتوپلاسم به داخل لوله نفوذ کرده بود. نشانه‌هایی از پرخونی در داخل بافت هم‌بندِ داربست قابل مشاهده بود، با اینحال آسیب های بافتی کمتر از گروه دیابتی شده (گروه B) بود (تصاویر ۳ و ۴).

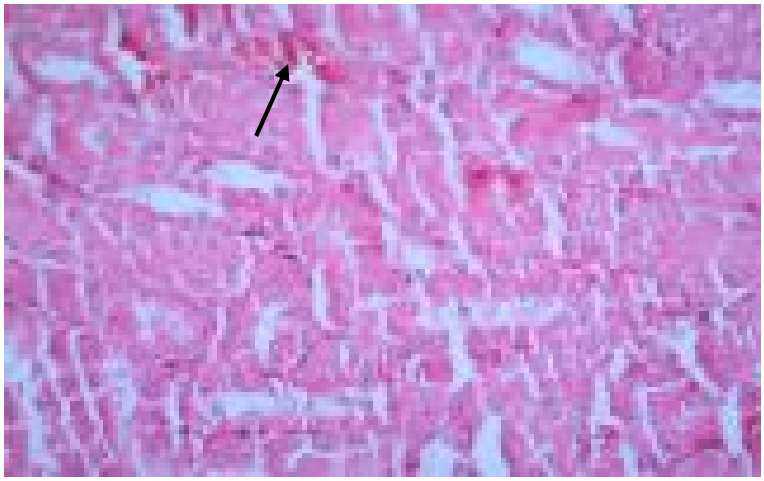


تصویر۳. گروه C: گروه دیابتی تیمار شده با نانوذرات اکسید روی با دوز mg/kg ۰/۱، به از هم گسیختگی برخی از لوله‌های پیچ‌خورده (فلش) و پرخونی در داخل بافت هم‌بندِ داربست دقت شود (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×).

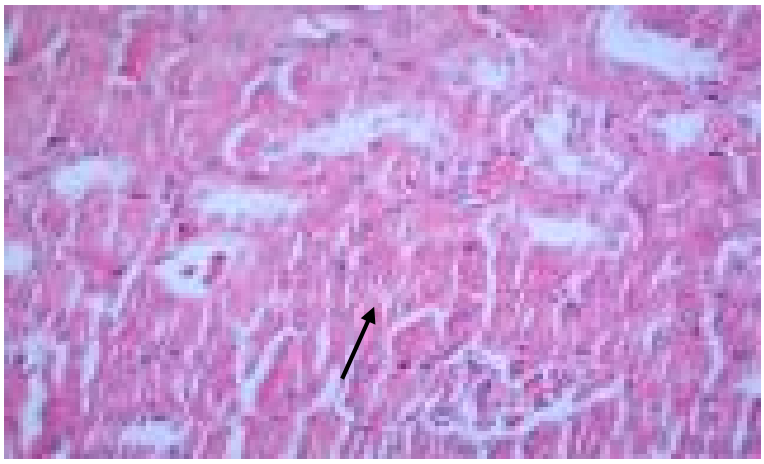


تصویر۴: گروه D: گروه دیابتی تیمار شده با نانوذرات اکسید روی با دوز mg/kg ۰/۵، نفوذ سلول‌های خونی به طور جزیی به داخل بافت هم‌بندِ داربست (فلش) و بی نظمی لوله‌های پیچ‌خورده مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×).

در گروه‌های E و F که به موش‌های دیابتی شده نانوذرات اکسید روی با دوزهای مختلف ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم به همراه تیامین (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) تزریق شده بود، لوله‌های ادراری قابل مشاهده بوده و تاحدودی نظم خود را حفظ کرده بودند با اینحال آسیب بافتی در لوله‌های ادراری قابل مشاهده بود. بافت داربست در برخی قسمت‌ها منسجم و یکپارچه نبود و از نظم مشخصی برخوردار نبود و در برخی از نقاطِ داربست، نفوذ سلول‌های خونی قابل مشاهده بود (تصاویر ۵ و ۶).

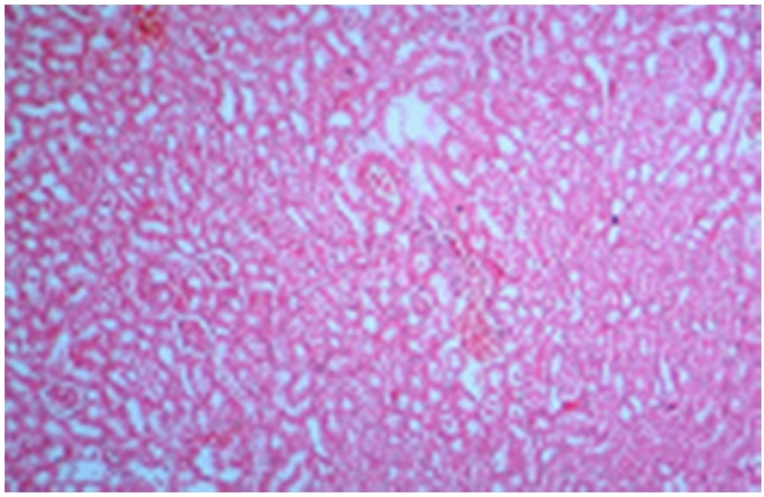


تصویر ۵. گروه E: ساختار بافت کلیه گروه دیابتی تیمار شده با نانوذرات اکسید روی (۰/۱) همراه با تیامین، نفوذ سلول‌های خونی در برخی از نقاطِ داربست (فلش)، قابل مشاهده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×).



تصویر۶. گروه F: ساختار بافت کلیه گروه دیابتی تیمار شده با نانوذرات اکسید روی (۰/۱) همراه با تیامین، نظم لوله‌های ادراری (فلش) و حالت بهبودی کمی قابل مشاهده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×).

در گروه G با تیامین تنها، همانند گروه کنترل، در این گروه، در زیر کپسول کلیه، ساختار طبیعی بافت کلیه قابل مشاهده بود و در کنار گلومرول‌های کلیوی، لوله‌های پیچ‌خورده‌ی نزدیک و لوله‌های پیچ‌خورده‌ی دور، در برش‌های عرضی و مورب، قابل مشاهده بود (تصویر ۷).



تصویر ۷. گروه G: ساختار بافت کلیه گروه تیامین. ساختار طبیعی بافت کلیه، گلومرول‌ها و لوله‌های پیچ‌خورده‌ی نزدیک و دور قابل مشاهده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×).

در گروه H که فقط نانوذرات اکسید روی با غلظت ۰/۱ اعمال شده بود. ساختار بافتی کلیه حالت طبیعی خود را حفظ کرده و تنها در برخی از نقاط، پرخونی و نفوذ سلول‌های خونی در داخل بافت هم‌بندِ داربست مشاهده شد (تصویر۸).

تصویر ۸.گروه H: ساختار بافت کلیه گروه تیمارشده با نانوذرات اکسید روی (۰/۱). حالت طبیعی بافت و در بعضی نقاط، نفوذ سلول‌های خونی قابل مشاهده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۲۰×).

نتایج بیوشیمیایی

بعد از جداسازی سرم خون مربوط به گروه‌های تیمار و کنترل و سنجش میزان گلوکز خون، تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از آنالیز سرم خون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار دیابتی شده نسبت به گروه کنترل (۸۲/۳۳ ±۴/۱۰) در سطح $p<۰/۰۵$ وجود داشت. اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی اکسید روی ۰/۱ و گروه کنترل در سطح $p<۰/۰۵$ وجود نداشت. اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی اکسید روی ۰/۱ و تیامین با گروه کنترل در سطح

p<۰/۰۵ وجود نداشت. اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ با گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ وجود نداشت. اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ و تیامین با گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ وجود داشت. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار شده با تیامین با کنترل در سطح p<۰/۰۵ وجود نداشت. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۱ با کنترل در سطح p<۰/۰۵ وجود دارد (جدول ۲).

جدول ۲. اثر دیابت. نانوذره‌ی اکسید روی و تیامین بر گلوکز

گروه	تعداد نمونه	SE ±means	*P*	سطح معنی‌داری
A(کنترل)	۶	۸۲/۳۳ ±۴/۱۰	–	–
B(دیابت)	۶	۱۵۳/۳۳ ±۴/۱۷	P<۰/۰۵	۰/۰۰
C(۰/۱ نانوذره‌ی ،دیابت)	۸	۸۶/۸۷+۵/۵۱	P>۰/۰۵	./۵۵۶
D(۰/۵ نانوذره‌ی ،دیابت)	۶	۶۹/۶۶ ±۳/۶۷	P>۰/۰۵	./۱۲۹
E(۰/۱ نانوذره‌ی ،تیامین ،دیابت)	۶	۸۱/۱۶ ±۷/۳۸	P>۰/۰۵	./۸۸۷
F(۰/۵ نانوذره‌ی ،تیامین ،دیابت)	۷	۱۲۳/۲۸ ±۴/۶۳	P<۰/۰۵	۰/۰۰
G(تیامین)	۵	۸۰/۸۰۰ ±۳/۶۱	–	–
H(۰/۱ نانوذره‌ی)	۵	۱۰۰/۲۰۰ ±۱۰/۶۸	P<۰/۰۵	./۰۴۳

بعد از جداسازی سرم خون مربوط به گروه‌های تیمار و کنترل و سنجش میزان فعالیت آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز، تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از آنالیز سرم خون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار دیابتی شده نسبت به گروه کنترل (۶/۳۱±۳/۰۵) در سطح p<۰/۰۵ وجود داشت. اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ در بین گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۱ نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری در گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۱ و تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری در گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ و تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمارشده با نانوذره‌ی ۰/۱ نسبت به گروه کنترل (۶/۳۱±۳/۰۵)، در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳. اثر نانوذرات اکسید روی و تیامین و دیابت بر آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز

گروه	تعداد نمونه	SE ±means	*P*	سطح معنی‌داری
A (کنترل)	۶	۶/۳۱±۳/۰۵	–	–
B(دیابت)	۶	۲/۱۵±۰/۵۶	P<۰/۰۵	۰/۰۹۸
C(۰/۱ نانوذره‌ی ،دیابت)	۸	۳/۹۱±۰/۷۹	P>۰/۰۵	۰/۱۱۸
D(۰/۵ نانوذره‌ی ،دیابت)	۶	۳/۲۹±۱/۵۱	P>۰/۰۵	۰/۱۷۶
E(۰/۱ نانوذره‌ی ،تیامین ،دیابت)	۶	۳/۰۶±۰/۸۴	P>۰/۰۵	۰/۱۶۱
F(۰/۵ نانوذره‌ی ،تیامین ،دیابت)	۷	۲/۱۷±۰/۵۶	P<۰/۰۵	۰/۰۳۰
G(تیامین)	۵	۶/۴۱±۲/۹۷	–	–
H(۰/۱ نانوذره‌ی)	۵	۴/۵۸±۱/۰۵	P>۰/۰۵	۰/۴۷۴

بعد از جداسازی سرم خون مربوط به گروه‌های تیمار و کنترل و سنجش میزان میزان کراتینین، تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از آنالیز سرم خون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی شده نسبت به گروه کنترل (۰/۲۳±۰/۰۲) در سطح p<۰/۰۵ به دست آمد. اختلاف معنی‌داری در سطح p<۰/۰۵ در بین گروه دیابتی تیمارشده با نانوذره‌ی ۰/۱ نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تیمارشده با نانوذره‌ی ۰/۱ همراه با تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ به دست نیامد. اختلاف معنی‌داری در گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری در گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ همراه با تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار شده با تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ به دست نیامد. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمارشده با نانوذره‌ی ۰/۱ نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول۴.اثر نانوذرات اکسید روی و تیامین و دیابت بر کراتینین

گروه	تعداد نمونه	SE ±means	*P*	سطح معنی‌داری
A(کنترل)	۶	۰/۲۳±۰/۰۲	–	–
B(دیابت)	۶	۱/۲۶±۰/۱۲	P<۰/۰۵	۰/۰۴۵
C(دیابت. نانوذره‌ی ۰/۱)	۸	۰/۲۲±۰/۰۱	P>۰/۰۵	۰/۸۰۰
D(دیابت. نانوذره‌ی ۰/۵)	۶	۰/۲۱±۰/۰۳	P>۰/۰۵	۰/۶۳۹
E(دیابت. تیامین. نانوذره‌ی ۰/۱)	۶	۰/۲۰±۰/۰۰	P>۰/۰۵	۰/۳۴۵
F(دیابت. تیامین. نانوذره‌ی ۰/۵)	۷	۰/۲۰±۰/۰۳	P>۰/۰۵	۰/۳۲۸
G(تیامین)	۵	۰/۲۲±۰/۰۲	–	–
H(نانوذره‌ی ۰/۱)	۵	۰/۲۶±۰/۰۲	P>۰/۰۵	۰/۴۷۱

بعد از جداسازی سرم خون مربوط به گروه‌های تیمار و کنترل و سنجش میزان اوره، تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از آنالیز سرم خون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی شده نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ به دست نیامد. اختلاف معنی‌داری در سطح p<۰/۰۵ در بین گروه دیابتی تیمارشده با نانوذره‌ی ۰/۱ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تیمارشده با نانوذره‌ی ۰/۱ همراه با تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ به دست نیامد. اختلاف معنی‌داری در گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری در گروه دیابتی تیمار شده با نانوذره‌ی ۰/۵ همراه با تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار شده با تیامین نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ به دست نیامد. اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمارشده با نانوذره‌ی ۰/۱ نسبت به گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۵. اثر نانوذرات اکسید روی و تیامین و دیابت بر BUN

گروه	تعداد نمونه	SE ±means	*P*	سطح معنی‌داری
A(کنترل)	۶	۴۳/۸۳±۲/۸۹	–	–
B(دیابت)	۶	۴۷/۵۰±۳/۱۰	p>۰/۰۵	۰/۴۳۸
C(۰/۱ نانوذره‌ی، دیابت)	۸	۵۳/۶۲±۳/۸۲	p<۰/۰۵	۰/۰۳۱
D(۰/۵ نانوذره‌ی، دیابت)	۶	۴۸/۵۰±۳/۹۳	p>۰/۰۵	۰/۳۲۵
E(۰/۱ تیامین، نانوذره‌ی، دیابت)	۶	۴۲/۳۳±۲/۳۶	p>۰/۰۵	۰/۷۵۱
F(۰/۵ تیامین، نانوذره‌ی، دیابت)	۷	۳۹/۴۲±۱/۳۴	p>۰/۰۵	۰/۳۳۵
G(تیامین)	۵	۴۵/۴۰±۳/۴۷	–	–
H(۰/۱ نانوذره‌ی)	۵	۵۶/۲۰±۴/۴۳	p<۰/۰۵	۰/۰۱۶

بحث

هدف مطالعه حاضر بررسی برخی از سطوح بیوشیمیایی خون در برابر دیابت تجربی (تجویز آلوکسان با دوز ۱۸۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن) ایجاد شده و به دنبال آن تجویز نانوذرات اکسید روی با دوزهای ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم به تنهایی و همراه با تیامین بود؛ همچنین تغییرات بافتی کلیه ناشی از تجویز این داروها در موش سوری مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته های مطالعه حاضر حاکی از آن بود که دیابت تجربی ایجاد شده تغییرات قابل ملاحظه و معناداری را در مقایسه با گروه کنترل اعمال کرده بود. این تغییرات در سطح بیوشیمیایی برخی از فاکتورهای خونی و همچنین بررسی بافت شناسی کلیه قابل تآمل بود. تزریق دوزهای مشخصی از نانوذره اکسید روی (۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم) به تنهایی و یا همراه با تیامین تا حد کمی از تغییرات مخرب دیابت بر این ساختار بافتی ممانعت کرده بود؛ البته لازم به ذکر است در چند مورد معدود نانوذره مذکور نتوانسته بود ممانعتی در برابر دیابت تجربی ایجاد شده به عمل آورد. از اینجا می‌توان چنین استنباط کرد آسیب سلولی ایجاد شده توسط دیابت به حدی بوده که نانوذرات اکسید روی با غلظت‌های مشخص اثرات کارای خود را در حد مورد انتظار نتوانسته بود اعمال کند. مطالعات نشان داده‌اند که روی ممکن است نقشی شبیه انسولین را بازی کرده و باعث تحریک فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B شده و سبب فعال سازی متابولیسم گلوکز شود. از سوی دیگر مشخص گردیده که پروتئین کیناز B اثرات محافظتی در برابر آسیب هایی بافتی کلیه دارد (۱۲).

تیامین به عنوان ماده‌ی آنتی اکسیدانی، نقش مهمی در کاهش استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط داروی آلوکسان به عهد داشت؛ همچنانکه وقتی همراه با نانوذره اکسید روی تجویز شده بود توانسته بود تا حد کمی از اثرات مخرب دیابت چه بر سطوح بیوشیمیایی خونی و چه بر بافت کلیه ممانعت کند (۱۳).

بررسی اسلایدهای بافتی تهیه شده از نمونه‌های کلیه با میکروسکوپ نوری در گروه موشهای تیمار شده با نانوذرات اکسید روی آسیبهای بافتی مشخصی را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. دیابت باعث تخریب و آسیبهای بافتی مشخصی به ساختار بافتی کلیه گردیده بود. از طرفی درمان با ناوذرات اکسید روی و همراه با آن تیامین تا حد کمی از اثرات مخرب آلوکسان جلوگیری کرده بود.

این یافته‌ها نشان دهنده‌ی عبور نانوذرات از غشاهای سلولی مختلف و ورود آن‌ها به جریان خون و در نهایت بافت کلیه و اعمال اثرات خود می‌باشند. در گروه دیابتی به این صورت بود که نظم لوله‌های پیچ‌خورده از دست رفته و از هم گسیخته شده و سیتوپلاسم بعضی از سلول‌های مکعبیِ لوله‌های پیچ خورده به داخل لوله نفوذ کرده بود. از جمله تغییرات دیگری که می‌توان به آن اشاره کرد پرخونی و نفوذ سلولهای خونی در بعضی نواحی بافت هم‌بند داربست بود.

باتوجه به اینکه در مطالعه حاضر آسیب‌های بافتی مشخصی در کلیه به دنبال دیابت تجربی مشاهده شد، می‌توان نتیجه گرفت که کاهش این آسیب‌ها در طی دوره ۲۰ روزه اِعمال نانوذرات صورت گرفته است و از سوی دیگر استفاده از تیامین تا حدودی به همراه با نانوذرات اکسید روی در بهبود این آسیب‌ها نقش موثری داشته است به این صورت که لوله‌های ادراری تاحدودی نظم خود را حفظ کرده بودند.

نانوذرات اکسید فلزی به دلیل داشتن خواص قابل توجه، کاربردهای فراوانی در زمینه‌های علمی و مهندسی دارند. نانوذرات ZnO، یکی از سمی‌ترین نانوذرات در بین نانوذرات اکسید فلزی مهندسی شده شناخته می‌شود. این نانوذرات پس از استنشاق یا تزریق وارد سیستم گردش خون می‌شوند. پس از آن در اندام‌های مختلفی از جمله کلیه‌ها، کبد، طحال، مغز و قلب منتشر می‌گردند و باعث اختلال در هومئوستازی روی سلول و در نتیجه آسیب میتوکندریایی و مرگ سلولی می‌شوند. تشکیل ROS در داخل سلول‌های در معرض نانوذرات، به عنوان عامل بزرگ اثرات توکسیکولوژیکی که منجر به آسیب سلولی می‌شود، در نظر گرفته می‌شود. کلیه نقش مهمی در حذف مواد خارجی از بدن ایفا می‌کند، بنابر این نانو ذرات جذب شده در سیستم گردش خون توسط کلیرنس کلیوی خارج می‌شوند. جا بجایی نانوذرات به خواص فیزیکوشیمیایی آن‌ها بستگی دارد. ژیائو لو و همکارانش در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که قرار گرفتن پودوسیت‌های موش‌ها در معرض نانوذرات اکسید روی با غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم اثرات سمی را بر این سلول‌ها نشان داده و قابلیت زنده ماندن سلول‌ها را با گذشت زمان کاهش می‌دهد و سبب کاهش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌شود که با استرس اکسیداتیو مرتبط است (۱۴).

ویوم شارما و همکاران، نشان دادند که بعد از ۱۴ روز استفاده خوراکی نانوذرات اکسید روی ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم، در موش‌ها اتساع کیستی توبول‌ها به همراه توبول‌های هایپرتروفه در بافت کلیه مشاهده شد. هم‌چنین این نانوذرات سبب القای استرسِ اکسیداتیو شدند که با افزایش پراکسیداسیونِ لیپیدها مشخص شد (۱۵).

محمد اسماعیل لو و همکارانش در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که استفاده از نانوذرات ZnO با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۵ روز، سبب افزایش قابل توجهی در میزان فعالیت آلانین آمینوترنسفراز و آسپارتات آمینوترنسفراز در موش‌ها شد و باعث آسیب و نکروز کبدی شدند.

همچنین قطعه قطعه شدن گلومرول‌ها، از بین رفتن و نکروز سلول‌های اپیتلیال توبول‌ها و تورم سلول‌های اپیتلیال لوله‌های پروکسیمال در تمامی بافت کلیه مشاهده شد (۱۶).

در این پژوهش به علت اثرات تخریبی دیابت تجربی ایجاد شده توسط آلوکسان بر روی سلولهای کلیوی، تغییرات قابل ملاحظه‌ای در سطح آنزیم GGT و اوره و کراتینین نسبت به گروههای تیمار با نانوذرات اکسید روی به تنهایی و همراه با تیامین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید، هر چند که در برخی از گروه‌ها معنادار نبودند. بنابراین از نتایج حاضر چنین استنباط شد که نانوذرات اکسید روی و همراه با تیامین کاهنده اثرات تخریبی دیابت تجربی بوده و از تخریب و آسیب بافتی کلیه و همچنین تغییرات منفی فاکتورهای بیوشمیایی سرم خون تا حد کمی ممانعت کرده بودند.

سطح BUN و CRE و GGT سرم خون شاخص‌های خوبی برای آسیب‌های کلیوی هستند. اگر عملکرد کلیوی کاهش پیدا کند، میزان BUN و CRE و GGT سرم افزایش خواهد یافت. سطح کراتینین مستقیما با سرعت فیلتراسیون گلومرولی (GFR) مرتبط می‌باشد و شاخص بسیار خاص اختلال عملکرد کلیوی می‌باشد (۸). اگرچه سطوح بالای BUN اغلب مربوط به بیماری کلیه می‌باشد اما از طریق کاهش خون رسانی کلیوی و کم آبی بدن نیز افزایش می‌یابد. عوامل خارج کلیوی مانند مصرف بیش از حد پروتئین نیز میزان BUN را افزایش می دهد. از آنجا که هر یک از این عوامل می تواند سطح اوره خون را تغییر دهد، BUN کمتر از کراتین برای ارزیابی وضعیت کلیه اختصاصی می‌باشد (۱۷). آنزیم GGT در غشای سلول‌های حاشیه‌های مسواکی لوله‌های پروکسیمال کلیه وجود دارد. در

اثر تخریب سلول‌های کلیه این آنزیم در خون آزاد می‌شود. بنابراین بالا رفتن غلظت این آنزیم نشان دهنده تخریب سلول‌های کلیه می‌باشد.

پوجالته و همکاران در سال ۲۰۱۱ سمیت نانوذرات ZnO را در خطوط سلولی IP15 (مزانشیال گلومرولی) و HK-2 (اپی تلیال پروکسیمال) بررسی کردند و پی بردند که نانوذرات ZnO به طور قابل توجهی مرگ سلولی را درحالت وابسته به دوز افزایش دادند. آنالیز ROS و سطح گلوتاتیون نشان داد که این اجزا با توجه به ترکیب، سایز و حلالیتشان باعث القاء استرس شدند. تولید ROS و القای استرس اکسیداتیو به وضوح اثرات نفروتوکسیک آنها را نشان داد (۱۸).

گوانگیان یان و همکارانش در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که اِعمال نانوذرات اکسید روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم در موش‌ها، سبب افزایش چشم‌گیر کراتینین و BUN خون و کاهش هموگلوبین خون شده و همچنین نکروز سلول‌های اپی‌تلیال توبولی آشکار در کلیه گردید(۱۹).

تانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که نانوذرات ZnO در دوزهای متوسط و بالا سبب افزایش چشم‌گیر آنزیم‌های ALP و GGT در موش‌ها شد که احتمالا ناشی از آسیب سلول‌های کبد بود(۲۰).

فاکتورهای بیوشیمیایی کلیوی (GGT، BUN وCRE) بررسی شده در این تحقیق به صورت کمی در برخی از گروه‌های تیمار شده با آلوکسان و نانوذرات و هم‌چنین در مقابل آن تیمار شده با تیامین دستخوش تغییراتی شده بود. این تغییرات ناشی از اثر آلوکسان و مواد تجویزی بوده که در پی واکنش‌های سلولی و نفوذ این فاکتورها به داخل خون می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بعد از تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم وزن بدن در موش‌های تحت مطالعه باعث القای دیابت و افزایش قند خون شد که تا پایان دوره مطالعه این افزایش قند خون وجود داشت. به دنبال تغییراتی که در سطوح کمّی مقادیر قند خون مشاهده گردید، تغییراتی نیز در ساختار بافتی کلیه با ایجاد دیابت تجربی پس از تزریق داخل صفاقی آلوکسان قابل تشخیص بود. این تغییرات سبب به هم ریختگی انسجام بافت داربست کلیه، از هم گسیختگی برخی از لوله‌های پیچ‌خورده نزدیک و دور و پرخونی در داخل بافت هم‌بندِ داربست بود.

همان‌طور که در بالا گفته شد اثر نانوذرات اکسید روی بر روی دیابت مثبت ارزیابی شد. در این مطالعه در هر دو گروهی که نانوذرات اکسید روی با دوز (۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به همراه دیابت اعمال شده بود، به هم ریختگی انسجام بافت داربست در برخی از قسمت‌ها، بی نظمی و از هم گسیختگی برخی از لوله‌های پیچ‌خورده و از بین رفتن غشای سلولی در بعضی از سلول‌های مکعبیِ لوله‌های پیچ خورده و نفوذ سیتوپلاسم به داخل لوله و نشانه‌هایی از پرخونی در داخل بافت هم‌بندِ داربست مشاهده شد؛ اما نسبت به گروه دیابتی شده تا حدی کمتر شده بود. این مطلب را می‌توان این گونه توجیه نمود که شاید به خاطر استفاده از دوز پایین این نانوذره‌ی در این مطالعه بوده است. تیامین برای عمل‌کرد مناسب همه‌ی ارگانیسم‌های زنده ضروری است و با خنثی کردن گونه‌های ROS، اکسیداسیون پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد و نقش‌های مهمی در بدن ایفا می‌کند. در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد که تیامین باعث کاهش اثرات دیابت و اثرات تخریبی ناشی از آن در بافت کلیه می‌گردد.

دیابت شیرین بیماری مزمن متابولیکی است که با افزایش میزان گلوکز خون و اختلالاتی در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین مشخص می‌شود که این افزایش گلوکز در اثر فقدان انسولین در خون یا نقص در گیرنده‌های انسولین در سلول‌های جذب کننده گلوکز مانند کبد، بوجود می‌آید. رویا بابایی و همکارانش در سال ۲۰۰۴ گزارش دادند، که استفاده از تیامین و مشتق محلول در چربی آن بنفوتیامین با دوز بالا، از پیشرفت نفروپاتی اولیه در مدل موش‌های دیابتی جلوگیری می‌کند (۲۱).

Umrani و همکارانش در سال ۲۰۱۴ بر روی اثرات ضد دیابتی و سمیت سلولی نانوذرات اکسید روی، تحقیقی انجام دادند. در این مطالعه، از نانوذرات اکسید روی به صورت خوراکی و در غلظت های ۱، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ و۲ استفاده شد و اثرات ضد دیابتی شامل بهبود تحمل گلوکز، افزایش انسولین سرم (۷۰ درصد)، کاهش قند خون(۲۹ درصد)، کاهش اسیدهای چرب (۴۰ درصد)، و کاهش تری گلیسرید (۴۸ درصد) مشاهده شد. نانوذرات به صورت سیستمیک جذب شده و سبب افزایش سطح روی در کبد، بافت چربی و پانکراس گردید. همچنین سبب افزایش ترشح انسولین و فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دسموتاز در سلول‌های انسولینومای موش شد که این نشان‌دهنده‌ی اثرات ضد دیابتی نانوذرات اکسید روی می‌باشد (۱۱).

وانگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ و فتاحیان و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که استفاده از تیامین و آسکوربات، استرس اکسیداتیو ناشی از سرب و مس را در سلول‌های کبدی، کاهش می دهد (۳، ۲۲).

نتیجه گیری

بررسی بافت شناسی، آسیب‌های بافتی مشخصی را در کلیه نشان داد. به این صورت که دیابت تجربی ایجاد شده توسط دوز مشخصی از آلوکسان سبب به هم ریختگی بافت داربست و بی نظمی لوله های پیچ خورده و پرخونی در برخی نقاط بافت داربست در مقایسه با گروه کنترل شدند. در این مطالعه اثرات بهبودی ناشی از نانوذرات اکسید روی در هر دو دوز، تحت تأثیر فعالیت آنتی اکسیدانی تیامین افزایش یافته بود. به این صورت که تخریب بافتی در کلیه، نسبت به گروهی که دیابت تنها بود کمتر مشاهده شد و در برخی موارد لوله های ادراری نظم خود راحفظ کرده بودند. اما میزان این تأثیرات به اندازه‌ای نبوده که بتواند از تأثیرات مخرب دیابت در بافت کلیه به طور کامل جلوگیری کند. باید خاطر نشان کرد اثرات نانوذره روی و تیامین بررسی شد و اثرات بهبودی با توجه به دوزهای پائین در نظر گرفته شده مشخص گردید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه مصوب کمیته دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد است. نویسندگان این مقاله بدین‌وسیله تشکر و سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشکده و دانشگاه به خاطر حمایت‌های مالی اعلام می دارند.

منابع

1.Jeng, H.A., et al., Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. Journal of Environmental Science and Health Part A, 2006. 41(12): p. 2699-2711.
2.Wang, B., et al., Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice .Toxicology letters, 2006. 161(2): p. 115-123.
3.Wang, C., et al., Effect of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in liver. Annals of Occupational Hygiene, 2007. 51(6): p. 563-569.
4.House, A.A., et al ,.Effect of B-vitamin therapy on progression of diabetic nephropathy: a randomized controlled trial. Jama, 2010. 303(16): p. 1603-1609.
5. Gray, A., et al., The relationship between plasma and red cell concentrations of vitamins thiamine diphosphate, flavin adenine dinucleotide and pyridoxal 5-phosphate following elective knee arthroplasty. Clinical Nutrition, 2004. 23(5): p. 1080-1083.
6.Emdin, M., et al.,. Gamma-glutamyltransferase, atherosclerosis, and cardiovascular disease. Am Heart Assoc; 2005. p. 2078-2080 .
7. Abel, R.M., et al., Acute renal failure. Archives of Surgery, 1971. 103(4): p. 513-514.
8.Lumeij, J. The diagnostic value of plasma proteins and non-protein nitrogen substances in birds. Veterinary Quarterly, 1987. 9(3): p. 262-268.
9.Llobet, J., et al., Subchronic oral toxicity of zinc in rats. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 1988. 41(1): p. 36-43.

10.Mantzoros, C.S. Obesity and Diabetes. Second Edition - Wiley Online Library, 2006. p.4848.
11. Umrani, R.D., et al., Zinc oxide nanoparticles show antidiabetic activity in streptozotocin-induced Type 1 and 2 diabetic rats. Nanomedicine, 2014. 9(1): p. 89-104.
12.Bosco, M.D., et al., Zinc and zinc transporter regulation in pancreatic islets and the potential role of zinc in islet transplantation. The review of diabetic studies: RDS, 2010. 7(4): p. 263.
13.Butterworth, R.F. Effects of thiamine deficiency on brain metabolism: implications for the pathogenesis of the Wernicke-Korsakoff syndrome. Alcohol and Alcoholism, 1989 .24 :p. 271-279.
14.Xiao, L., et al., Zinc oxide nanoparticles induce renal toxicity through reactive oxygen species. Food and Chemical Toxicology, 2016. 90: p. 76-83.
15. Sharma, S., et al., Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of Eugenia jambolana in alloxan-induced diabetic rabbits. Journal of Ethnopharmacology, 2003. 85(2): p. 201-206.
16. Esmaeillou, M., et al., Toxicity of ZnO nanoparticles in healthy adult mice. Environmental toxicology and pharmacology, 2013. 3 :(۱)۵p. 67-71.
17. Molitoris, B. Acute renal failure. Drugs of today, 1999. 35(9): p. 659-666.
18. Pujalté, I., et al., Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. Particle and Fibre Toxicology, 2011. 20 .p. 1.
19. Yan, G., et al., Zinc oxide nanoparticles cause nephrotoxicity and kidney metabolism alterations in rats. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2012. 47(4): p. 577-588.
20.Tang, J., et al., [Status of biological evaluation on silver nanoparticles]. Sheng wu yi xue gong cheng xue za zhi= Journal of biomedical engineering= Shengwu yixue gongchengxue zazhi, 2008. 25(4): p. 958-961.
21.Babaei-Jadidi, R., et al., Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. Diabetes, 2003. 52(8): p. 2110-2120.
22.Fatahian Dehkordi, R.A., et al., The Histopathological and Biochemical Effects of Thiamine Administration on Mice Liver Exposure by the Copper Oxide and Copper Oxide Nanoparticles. Journal of Animal researches, 2017. 9: p. in press.