



Research Article

An Investigation into the Histological Impacts of Thiamine on Renal Architecture in the Presence of Copper Oxide Nanoparticles

Rahmat allah Fatahian^{*1} , Behnaz Karimi¹ , Seyed Reza Hosseini² , Kianoosh Forohar Majed² ,
Ayatallah Hatempour³

¹ Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

² PhD Student in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

³ MSc of Basic Sciences Department of the Physiopharmacology Laboratory, Shahrekord, Iran

* **Corresponding author:** Rahmat allah Fatahian, Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. Email: fatahian_1349@yahoo.com

DOI: [10.61186/jams.28.3.211](https://doi.org/10.61186/jams.28.3.211)

How to Cite this Article:

Fatahian R, Karimi B, Hosseini SR, Forohar Majed K, Hatempour A. An Investigation into the Histological Impacts of Thiamine on Renal Architecture in the Presence of Copper Oxide Nanoparticles. *J Arak Uni Med Sci.* 2025;**28**(3): 211-18. DOI: 10.61186/jams.28.3.211

Received: 03.07.2024

Accepted: 13.07.2025

Keywords:

Rat;
Copper oxide Nanoparticles;
Thiamine;
Kidney;
Histology

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: The study discusses the impact of thiamine on the kidney tissue of rats that have been exposed to copper oxide nanoparticles. The research examined how thiamine correlates with the level of kidney damage caused by the intrusion of nanoparticles.

Methods: In this experimental study, forty male Wistar rats were randomly divided into four groups (10 rats per group). Two groups of rats were used as the control group (I) and the thiamine group (II). Rats of group III were administered an intraperitoneal injection of 25 mg/kg body weight of copper oxide nanoparticles for 14 days. Rats in group IV received the same dose of copper oxide nanoparticles along with thiamine (30 mg/kg body weight).

Results: The histopathological findings showed disruption of the arrangement of convoluted tubules and their disintegration and widening of the tubular lumen, cell separation and tubular necrosis in the majority of the renal tubules in-group III. In the group treated with copper oxide nanoparticles along with thiamine (IV), the pathological changes were slight and the majority of the tubules had retained normal structure. Statistically significant differences in the levels of some serum biochemical parameters (catalase, superoxide dismutase, TBARS, and TAC) were observed in groups III and IV on day 14 when compared to the control group.

Conclusions: This study demonstrated that thiamine can be utilized as an effective compound to reduce the damage caused by nanoparticles to kidney tissue and may lead to significant improvement in the health of kidney tissue in individuals suffering from damage caused by these nanoparticles.

بررسی اثرات هیستولوژیک تیامین بر ساختار کلیوی در حضور نانوذرات اکسید مس

رحمت الله فتاحیان^{۱*}، بهناز کریمی^۱، سیدرضا حسینی^۲، کیانوش فروهر مجد^۲، آیتاله حاتم‌پور^۳^۱ دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران^۲ دانشجوی دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران^۳ کارشناس بخش علوم پایه، آزمایشگاه فیزیوفارماکولوژی، شهرکرد، ایران

* نویسنده مسئول: رحمت الله فتاحیان، دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

ایمیل: fatahian_1349@yahoo.com

DOI: 10.61186/jams.28.3.211

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۳
مقدمه: این پژوهش، به بررسی اثر تیامین بر بافت کلیه موش‌هایی که با نانوذرات اکسید مس مواجه شده‌اند، می‌پردازد. این مطالعه ارتباط بین تیامین و میزان آسیب دیدگی کلیه‌ها در اثر ورود نانوذرات بررسی شد.	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۲
روش کار: در این مطالعه تجربی، ۴۰ موش صحرایی نر بالغ و بیستار به طور تصادفی در چهار گروه (در هر گروه ۱۰ موش) قرار گرفتند. ۲ گروه از موش‌ها به عنوان گروه شاهد (I) و گروه تیامین (II) در نظر گرفته شدند. به موش‌های گروه III مقدار ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از نانوذرات اکسیدمس را به مدت ۱۴ روز به شکل داخل صفاقی تزریق شد. موش‌های گروه IV همین میزان از نانوذرات اکسیدمس همراه با تیامین (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) دریافت کردند.	واژگان کلیدی: موش؛ نانوذرات اکسید مس؛ تیامین؛ کلیه؛ بافت‌شناسی
یافته‌ها: نتایج بافت‌شناسی نشان‌دهنده، بر هم خوردن نظم لوله‌های پیچ خورده و از هم گسیخته شدن آن‌ها و گشاد شدن لومن لوله‌ای، جدا شدن سلولی و نکروز توبولی در اکثر توبول‌های کلیوی در گروه III بود. در گروه دریافت‌کننده نانوذرات اکسید مس به همراه تیامین (IV)، تغییرات پاتولوژیک اندک بود و اکثر لوله‌ها ساختار طبیعی خود را حفظ کرده بودند. اختلافات آماری معنی‌داری در مقادیر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم (کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، TBARS و TAC) در گروه‌های III و IV در روز ۱۴ نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که تیامین می‌تواند به عنوان یک ترکیب مؤثر در کاهش آسیب‌های ناشی از نانوذرات بر بافت کلیه عمل کند و باعث بهبود قابل توجهی بر سلامت بافت کلیه در افراد مبتلا به آسیب‌های ناشی از این نانوذرات شود.	تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
ارجاع: فتاحیان رحمت الله، کریمی بهناز، حسینی سیدرضا، فروهر مجد کیانوش، حاتم‌پور آیتاله. بررسی اثرات هیستولوژیک تیامین بر ساختار کلیوی در حضور نانوذرات اکسید مس. مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک ۱۴۰۴؛ ۲۸ (۳): ۲۱۱-۲۱۸.	

مقدمه

(خوراکی، استنشاقی، زیر جلدی، تزریقی و غیره) نانوذرات نیز به عنوان اثرات قابل توجهی بر سمیت آن‌ها در پستانداران شناخته شده است (۶). نانوذرات اکسید مس (CuO NPs) تمام توجهات را به خود جلب کرده و در زمینه‌های صنعتی، تجاری مانند پزشکی، مهندسی به دلیل خواص فتوولتائیک و رسانای نوری خود مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اکسید مس یک فلز نیمه رسانا با خواص نوری، الکتریکی و مغناطیسی منحصر به فرد است و برای کاربردهای مختلفی مانند ساخت ابرخازن‌ها، فیلترهای نزدیک به مادون قرمز، در رسانه‌های ذخیره‌سازی مغناطیسی، حسگرها، کاتالیزور، نیمه‌رساناها و غیره استفاده شده است (۷). به ویژه نانوذرات CuO در صنعت داروسازی به ویژه در تولید درمان‌های پارچه ضد میکروبی یا پیشگیری از عفونت‌های ناشی از E. coli و S. aureus مقاوم به متی سیلین مفید هستند (۸). برخی از محققان تصریح کردند که نانوذرات CuO در مقایسه با سایر نانوذرات اکسید فلز بسیار خطرناک و سمی

نانوذرات با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر، به طور گسترده در فناوری نانو مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱، ۲). نانوذرات متالاکسید حاوی یون‌های فلزات سنگین و سایر گروه‌های آلی و معدنی هستند که آن‌ها را در گروه‌های عملکردی، خواص الکترونیکی، شکل، ساختار سطحی و رفتار تجمعی، منحصربه‌فرد می‌سازد. به دلیل این ویژگی‌های خاص، نانوذرات را برای کاربردهای مختلف در صنایع مدرن مناسب می‌کند (۳). با این حال، استفاده گسترده از نانومواد ممکن است منجر به آلودگی محیطی و قرار گرفتن در معرض انسان از طریق راه‌های تنفسی، پوستی و دهانی شود و نگرانی‌هایی را در مورد سمیت بالقوه آن‌ها ایجاد کند (۴). استفاده افراطی از این نانوذرات چالش‌هایی را برای محیط زیست و انسان به همراه دارد. با اندازه‌های کوچکتر از لندامک‌های سلولی، نانوذرات به راحتی می‌توانند از طریق ساختارهای بیولوژیکی اساسی نفوذ کنند (۵). راه‌های تجویز

هستند و می توانند در بافت‌های بدن تجمع کنند.

اخیراً استفاده از نانوذرات در فعالیت‌های انسانی افزایش یافته و به طور گسترده توزیع شده است. بنابراین، روشن شدن اثرات بیولوژیکی نانوذرات و نانومواد مختلف بر روی لندام‌های حیوانی و انسان، نیازمند توجه متمایز است. نگرانی اصلی سمیت نانوذرات و خطرات احتمالی نانوذرات و محصولات مرتبط با آن‌ها بر سلامت انسان است. نانو ذرات CuO به طور گسترده در کاربردهای مختلفی از جمله کاتالیزورهای فلزی، نیمه هادی‌ها، سیالات انتقال حرارت در ماشین ابزار و حتی در داروهای ضد باکتری استفاده می‌شود (۹، ۱۰).

از مکانیسم‌های مورد بحث، علاوه بر اثرات سلامتی ناشی از نانوذرات اکسید فلز، توانایی آن‌ها در ایجاد استرس اکسیداتیو است (۱۱، ۱۲). محققان بر این باورند که این عملکرد مهم‌ترین مکانیسم سمیت ناشی از نانوذرات است. اخیراً گزارش شده است که نانوذرات مس، در مقایسه با سایر نانوذرات اکسید فلز، در شرایط آزمایشگاهی بسیار سمی هستند (۷). هدف از کار ما، روشن‌سازی و ارزیابی تغییرات بافت‌شناسی احتمالی در نتیجه اثرات سم‌شناسی نانوذرات اکسید مس (CuO NPs) بر روی کلیه موش‌های صحرایی ویستار بود.

روش کار

حیوانات و سازگاری

مطالعه حاضر روی ۴۰ موش صحرایی نر بالغ ظاهراً سالم ویستار که از واحد حیوانات آزمایشگاهی، دانشکده داروسازی، دانشگاه اصفهان تهیه شده بودند، انجام شد. وزن حیوان 20 ± 150 گرم و با میانگین سنی ۳ ماه بود. موش‌ها در یک محیط کنترل‌شده با شرایط ایده‌آل مانند دمای ثابت ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و چرخه تاریکی روشن (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی در طول آزمایش) قرار گرفتند. تحت شرایط بهداشتی، موش‌ها در قفس‌های پلی پروپیلن شفاف، ۱۰ موش در قفس، با دسترسی آزاد به آب و خوراک موش نگهداری شدند. موش‌ها قبل از شروع آزمایش برای اسکان به مدت یک هفته اجازه داده شدند تا خود را سازگار کنند.

مکمل‌ها (نانوذرات)

نانوذرات اکسید مس (نانوپودر با اندازه متوسط کمتر از ۵۰ نانومتر) در ۵۰ درصد وزنی در آب مقطر (Sigma, Aldrich) در مطالعه حاضر استفاده شد. خلوص نانوذرات با 0.1 ± 5 ، pH = ۵ غلظت ۵۰ درصد وزنی در H₂O، و چگالی 1.7 ± 0.1 g/ml مشخص شد و همچنین شکل بلوری با طول کمتر از ۵۰ نانومتر، قطر کمتر از ۵۰ نانومتر و مساحت ۲۰ متر مربع در گرم داشتند. تیمین از آوا شیمی صبا خریداری گردید.

پروتکل آزمایش

تعداد ۴۰ موش صحرایی نر بالغ ویستار به طور تصادفی در چهار گروه (۱۰ موش/گروه) قرار گرفتند. آنها به مدت ۱۴ روز تحت یکی از درمان‌های زیر قرار گرفتند:

گروه I: موش‌ها به‌عنوان شاهد نگهداری شدند و با جیره پایه بدون تزریق CuO NP به مدت ۱۴ روز تغذیه شدند.

گروه II: به موش‌ها تیمین به میزان ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز (به صورت داخل صفاقی) به مدت ۱۴ روز تزریق شد.

گروه III: به موش‌ها نانوذرات CuO به میزان ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز (به صورت داخل صفاقی) به مدت ۱۴ روز تزریق شد.

گروه IV: به موش‌ها نانوذرات CuO به میزان ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همراه با تیمین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در روز (به صورت داخل صفاقی) به مدت ۱۴ روز تزریق شد.

جدول ۱: مشخصات نانو ذرات اکسید مس

نوع نانو ذره	اکسید مس
درصد خلوص	+۹۹
اندازه نانو ذره	۵۰ nm
سطح ویژه	۲۰ m ² /g
رنگ نانو ذره	سیاه
شکل کریستالی	نزدیک به کروی
چگالی واقعی	۶/۴ g/cm ³

روش تشریح

در انتهای آزمایش موش‌ها با کتامین زایلازین (۴۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی) ۱۰ بیهوش شدند. سپس حفره شکمی با یک برش، باز شد تا به کلیه‌ها برسد و سپس کلیه‌های آن‌ها خارج شد.

مطالعه استریولوژیک

چربی اطراف کلیه و بلطف همبندیه طور کامل از کلیه‌ها برداشته شد. سپس لگنچه کلیه جدا شد، کلیه وزن شد و حجم اولیه "Vprimary" با استفاده از روش غوطه‌وری اندازه‌گیری شد. مقاطع استریولوژیکی با روش (orientator) به‌دست آمد، کلیه با یک تیغه به قطعاتی برش داده شد و در جهت برش تصادفی یکنواخت همسانگرد با فاصله ۰/۵ میلی‌متر قرار گرفت (۱۰) تا ۱۲ مقطع. قطعات کوچک ابتدا در محلول بوئین ثابت شد و سپس به مدت ۴۸ ساعت به فرمالین بافر خنثی ۱۰ درصد منتقل شد. نمونه‌ها سپس در یک سری از گریدهای صعودی اتانول، آب‌گیری شدند، پس از آن توسط زایلین پاک‌سازی و در پارافین ذوب شده نرم در یک کوره هوای گرم و در موم پارافین سخت قرار گرفتند. بلوک‌های پارافینی با استفاده از میکروتوم چرخشی به ضخامت مورد نظر ۵ میکرومتر برش عرضی داده شدند و برش‌ها بر روی یک لام شیشه‌ای سوار شدند. مقاطع به‌دست‌آمده با هماتوکسیلین و ائوزین هریس (H&E) برای مطالعات بافت‌شناسی معمول، رنگ‌آمیزی شدند.

آزمایشات بیوشیمیایی

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از کیت (نوند سلامت، ارومیه، ایران) و براساس روش رنگ سنجی تعیین شد. جهت سنجش فعالیت کاتالاز، در ابتدا با افزودن ۱/۰ گرم از نمونه بافتی کلیه به بافر فسفات (۱/۰ مولار، pH = ۷/۴)، هموژنات بافتی ۱۰ درصد تهیه شد. سپس هموژنات‌های بافتی، در ۱۰۰۰۰ rpm برای ۵ دقیقه در ۴°C و برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدن و محلول رویی مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه، سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان مصرف پراکسید هیدروژن در محلول حاوی ۱/۰ mL هموژنات بافتی و ۹/۲ mL پراکسید هیدروژن در بافر فسفات (pH = ۷/۰، ۳۰ mM) صورت گرفت. سپس میزان جذب

نمونه‌های رویی در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد. در لوله بلانک به جای نمونه از بافر فسفات به کار رفته در تهیه هموژنات استفاده شد. در نهایت غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از ضریب جذب مولی آن در بافر فسفات ($1/56 \times 10^5$) محاسبه شد و میزان آن بر حسب میکرومولار گزارش شد (۱۳).

تحلیل آماری

داده‌های تجربی با استفاده از روش تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) با آزمون Tukey با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ (version 26, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همه داده‌ها در سطح معنی‌داری در $P < 0/05$ مدنظر قرار گرفت. مقادیر هر پارامتر به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شد.

یافته‌ها

ریخت‌شناختی

رنگ‌آمیزی بافت‌شناسی H&E بافت کلیوی موش‌های گروه کنترل و تیامین (I و II)، ساختار کلیوی طبیعی را با سلول‌های Malpighian نشان داد که از یک دسته مویرگ‌ها (گلومرول) احاطه شده توسط کپسول Bowman تشکیل شده بود. لوله‌های پیچ خورده proximal با سلول‌های اپیتلیال هرمی با سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک و هسته‌های گرد مرکزی پوشانده شدند، و لوله‌های پیچیده distal با تعداد نسبتاً زیادی سلول‌های اپیتلیال مکعبی پوشانده شدند. لومن لوله‌های distal گسترده‌تر از لوله‌های proximal بود. سیتوپلاسم آن‌ها اسیدوفیل کمتری داشت و هسته‌ها گرد بودند (تصویر ۴-۱، A). مقاطع رنگ‌آمیزی شده با PAS یک واکنش PAS مثبت (رنگ قرمز سرخابی) را در مرزهای برس لوله‌های کلیوی proximal (تصویر ۴-۱، B) و غشای پایه لوله‌های پیچیده proximal و distal نشان دادند.

رنگ‌آمیزی بافت‌شناختی H&E گروه III نشان‌دهنده گشاد شدن لومن لوله‌ای، جدا شدن سلولی و عدم وجود هسته‌هایی بود که ممکن است نشان‌دهنده تخریب توبولی در اکثر توبول‌های کلیوی باشد. سایر تغییرات

نوری توسط دستگاه الایزا ریدر (BIOTEK) (ELX800TS) در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت منحنی استاندارد کاتالاز ترسیم و فعالیت آنزیم براساس واحد (units/mg of tissue) گزارش شد.

ارزیابی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

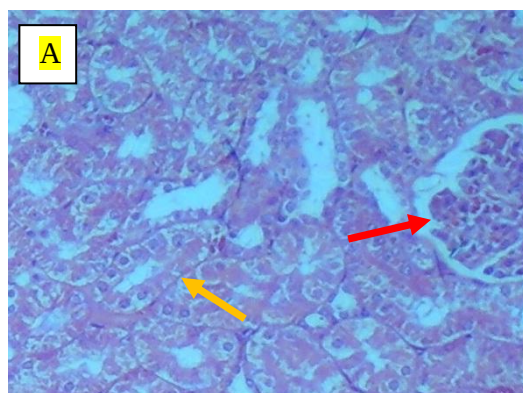
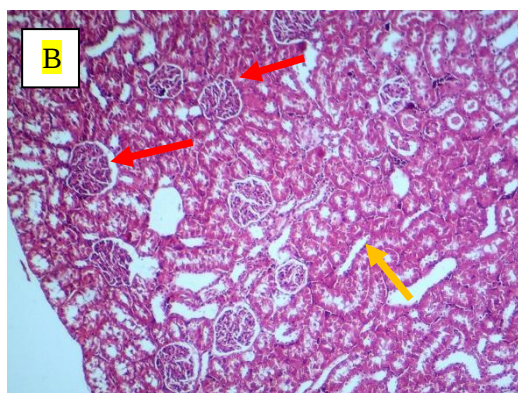
میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با استفاده از کیت (نوند سلامت، ارومیه، ایران) و براساس روش رنگ‌سنجی تعیین شد. به طور خلاصه ارزیابی فعالیت SOD بر اساس مهار واکنش اتواکسیداسیون پیروگالول می‌باشد. در این واکنش با اضافه کردن نمونه حاوی SOD غلظت نامشخص، مقدار مهار واکنش اتواکسیداسیون پیروگالول در زمان مشخص سنجیده شده و در مقایسه با کنترل میزان فعالیت آنزیم SOD در نمونه مشخص شد. در نهایت میزان فعالیت براساس واحد و فعالیت آنزیم بر اساس واحد (units/mg of tissue) گزارش شد.

ارزیابی میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

سنجش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) با استفاده از کیت تجاری شرکت نوند سلامت ایران اندازه‌گیری شد. ارزیابی TAC نیز بر اساس توانایی احیای آهن فریک به آهن فرو و به وسیله قدرت کاهندگی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نمونه عمل می‌کند. تغییر رنگ حاصل از واکنش در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شده و برای به‌دست آوردن مقدار کمی TAC از استاندارد و نمودار حاصل از آن استفاده شد. در نهایت مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تامف بر اساس واحد میلی‌مولار گزارش شد.

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی

سنجش میزان مالون دی‌آلدئید MDA بر اساس روش پیری و همکاران انجام شد. برای تهیه معرف تیوباربیتوریک اسید TBA، ۱۵ درصد حجمی وزنی از تری کلرواستیک اسید TCA، ۰/۳۷۵ درصد حجمی وزنی از TBA و ۲/۰۸ میلی‌لیتر از اسید کلریدریک ۳۷/۷ درصد باهم مخلوط شدند. سپس یک میلی‌لیتر از سرم در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۲ میلی‌لیتر معرف TBA به آن افزوده شد و روی ورتکس قرار گرفت. سپس درب لوله‌ها بسته شد و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفتند. پس از خنک شدن به مدت ۱۰ دقیقه با شرایط ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس جذب



تصویر ۴-۱: A؛ نمایی از ساختار بافتی کلیه در گروه کنترل (بزرگنمایی ۱۰۰×، رنگ‌آمیزی H&E). B؛ نمایی از ساختار بافتی کلیه در گروه تیامین (بزرگنمایی ۴۰۰×، رنگ‌آمیزی H&E). ساختارهای گلومرولی (فلش قرمز) و لوله ای (فلش زرد) به شکل نرمال خود نمایان است.

($P < 0/05$)، در حالیکه تجویز تیامین به گروه نانوذره مس در گروه ۴ سبب افزایش فعالیت کاتالاز نسبت به گروه ۳ شد ($P < 0/05$).

سوپراکسید دیسموتاز

نتایج حاصل از آزمایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که تجویز نانوذره مس با دوز ۲۵ mg/kg در گروه‌های کنترل و تیامین با وجود تغییرات محسوس، هیچ گونه اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$)، در مقایسه میانگین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بین گروه‌های کنترل، نانوذره اکسید مس و نانوذره دریافت‌کننده تیامین که مدت ۱۴ روز تیامین دریافت کردند، مشاهده گردید که آنزیم سوپراکسید در گروه نانوذره (گروه ۳) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P < 0/05$). در صورتی که گروه نانوذره دریافت‌کننده تیامین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه اخیر داشته است ($P < 0/05$).

TBARS

آنالیز آماری مربوط به میانگین میزان TBARS در سرم خون گروه تیامین تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از خود نشان نداد ($P > 0/05$). آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه سطح TBARS در سرم خون گروه‌های مختلف نشان داد که مقادیر TBARS در گروه نانوذره اکسید مس (گروه ۳) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (گروه ۱) از خود نشان داده است ($P < 0/05$). در حالی که در گروه نانوذره تحت تجویز تیامین (گروه ۴)، میزان فعالیت سطح سرمی TBARS نسبت به گروه نانوذره به تنهایی کاهش نشان داد. اگرچه این کاهش معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).

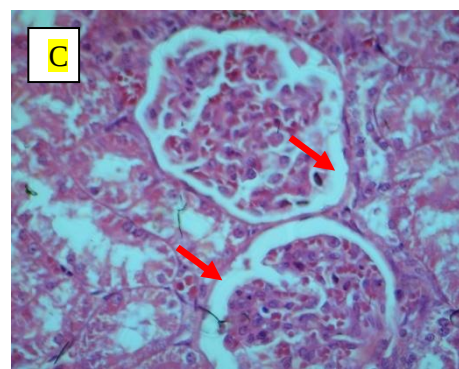
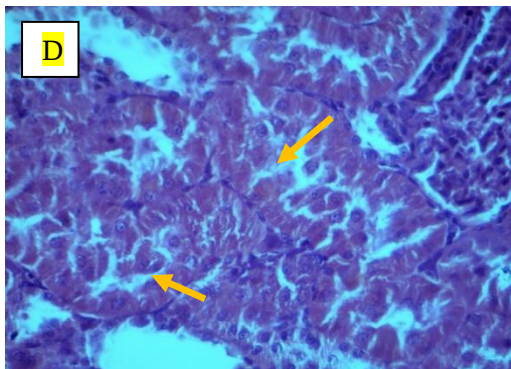
بافتی مانند تورم سلول‌های لوله‌ای، وجود گلبول‌های قرمز لوله‌ای، و هسته‌های مختلف شکل در برخی از لوله‌ها نیز مشاهده شد. مقاطع رنگ‌آمیزی شده با PAS نشان داد که مرزهای مسواکی اکثر لوله‌های proximal کاملاً از بین رفته است و غشای پایه آن‌ها به طور ضعیف رنگ‌آمیزی شده است (تصویر ۴-۲، C, D).

رنگ‌آمیزی بافت‌شناختی H&E در گروه IV، مناطقی از آشفستگی سلولی در ساختار لوله‌ای شکل بافت کلیه و جدا شدن اپی‌تلیوم لوله‌ای کلیه را نشان داد، اما اکثر لوله‌ها ساختار طبیعی خود را حفظ کرده بودند. مقاطع رنگ‌آمیزی شده با PAS نشان داد که مرزهای مسواکی و غشاهای پایه در برخی از لوله‌ها حفظ شده‌اند. نیز ساختار لوله‌های تا حدی ویژگی ساختار طبیعی کلیوی را نشان داد (تصویر ۴-۳، E, F).

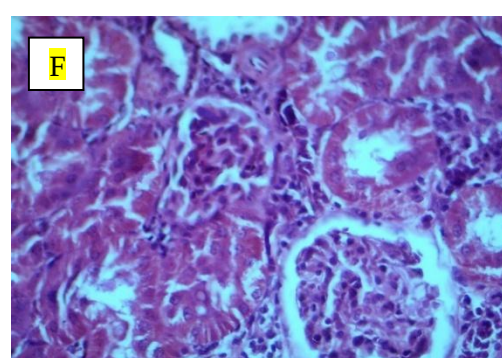
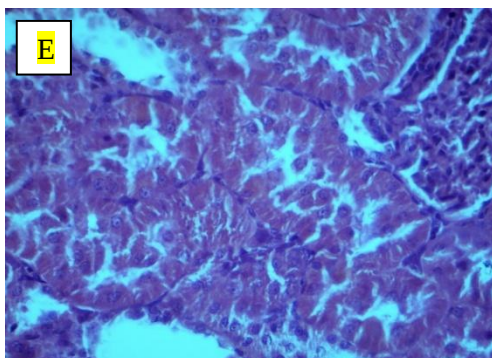
نتایج سنجش بیوشیمیایی بیومارکرهای سرم خون

کاتالاز

با مقایسه گروه‌های آزمایشی، مشخص گردید که سطح سرمی آنزیم کاتالاز در دو گروه کنترل و تیامین هیچ گونه اختلاف معناداری را در روزهای ابتدایی و روز ۱۴ نشان نمی‌داد ($P > 0/05$)، اگرچه تغییرات جزئی بین مقادیر کمی سطوح سرمی کاتالاز بین این دو گروه مشاهده گردید. لازم به ذکر است که تفاوت معنی‌داری در مقادیر کاتالاز در بین ۴ گروه مطالعاتی، در ابتدای آزمایش (روز صفر) مشاهده نگردید. مقدار کاتالاز از $173/72 \pm 6/49$ در گروه ۳ (نانوذره مس، ۲۵ mg/kg) در روز صفر به طور معناداری به مقدار $147/32 \pm 5/93$ (واحد) در روز ۱۴ کاهش یافت



تصویر ۴-۲: C و D؛ نمایی از ساختار بافتی کلیه در گروه نانوذره اکسید مس. لوله‌های کلیوی دیواره سلولی خود را از دست داده‌اند (فلش زرد)؛ در داخل گلوMERول‌ها، فضای ادراری توسعه یافته است (فلش قرمز)؛ (بزرگنمایی ۴۰۰×، رنگ‌آمیزی H&E).



تصویر ۴-۳: E و F؛ نمایی از ساختار بافتی کلیه در گروه نانوذره اکسید مس همراه با تیامین. تا حد زیادی اثرات بهبودی در سطحی سلولی در دیواره لوله‌های کلیوی (فلش زرد) دیده می‌شود. ساختار گلوMERوی نیز تا حد زیادی فضای ادراری را حفظ کرده است (فلش قرمز)؛ (بزرگنمایی ۴۰۰×، رنگ‌آمیزی H&E).

TAC

بررسی آماری داده‌های به دست آمده نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو گروه کنترل و تیمامین در خصوص سطح سرمی TAC وجود ندارد ($P > 0.05$). در موش‌های تجویز شده با نانوذره اکسید مس (گروه ۳) سطح سرمی TAC در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافته بود ($P < 0.05$). تیمار با تیمامین (گروه ۴)، سطح سرمی TAC را که در اثر تجویز نانوذره کاهش یافته بود، به طور محسوسه افزایش داده بود؛ هرچند که این افزایش معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

بحث

در این پژوهش، تأثیر سمیت نانوذرات اکسید مس و همچنین نقش محافظتی تیمامین در کاهش آسیب‌های ناشی از نانوذرات اکسیدمس بر بافت کلیه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش حاکی از آن بود، در گروه موش‌هایی که فقط نانوذرات اکسیدمس دریافت کرده بودند تغییرات معنی‌داری را در مقایسه با سایر گروه‌ها قابل مشاهده بود. همچنین این مطالعات نشان دادند که تیمامین باعث کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش التهاب و حفظ عملکرد کلیه در موش‌های در معرض نانوذرات می‌شود. امروزه، استفاده از نانوذرات اکسید مس در چندین هدف مانند زیست‌پزشکی، حسگرهای گاز، کاتالیزور صنعتی، مواد الکترونیکی و اصلاح محیطی به دلیل ویژگی‌های انعطاف‌پذیرشان، مانند نسبت سطح به حجم زیاد، افزایش یافته است. این کاربردهای گسترده، در معرض قرار گرفتن انسان و در نتیجه قدرت خطر را با توجه به سمیت بلندمدت و کوتاه‌مدت آنها را افزایش داده است. انتشار این NP ها به محیط زیست توجهات زیادی را به خود جلب کرده است که به یک منطقه برجسته تحقیق و توسعه تبدیل شده است (۱۴).

از نظر بافت‌شناسی، بررسی نمونه‌های بافتی کلیه گروه شاهد و تیمامین (گروه‌های I و II)، پارانشیم کلیوی طبیعی، دست نخورده و بدون هیچ گونه ناهنجاری مشخص کرد. لوله‌های اداری از نظم خاصی برخوردار بوده است و سلول‌های مکعبی با هسته تیره در مرکز سیتوپلاسم انوزینوفیل قابل مشاهده بود. از سوی دیگر، بررسی بافت‌شناسی کلیه در گروه III که به موش‌ها فقط نانوذرات اکسید مس (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز) تزریق شده بود، تخریب و آسیب‌های بافتی مشخصی به ساختار کلیه را نشان داد. نتایج ما نشان داد که تغییر نکرده و دژنراتیو آشکار سلول‌های اپیتلیال پوشاننده لوله‌های کلیوی، آسیب جزئی مرز قلم مو، دلنه‌های کوچک رنگدانه در لوله‌های کلیوی پوشاننده سلول‌های اپیتلیال و لومن لوله‌ای مشاهده شد که با یافته‌های فتاحیان و همکاران (۱۵) و نیز Privalova و همکاران (۱۶) هم‌خوانی داشت. علاوه بر این، Yaqub و همکاران در موش‌های آلبینو (*Mus musculus*) تشخیص داد که دوزهای زیر کشنده نانوذرات CuO نشان‌دهنده از دست دادن فضای ادراری، آسیب به کپسول کلیه، دژنراسیون پودوسیست، تورم گلومرول و اوکونولیزاسیون سیتوپلاسمی است (۱۷).

Andjelkovic و همکاران مطالعه‌ای را برای بررسی اثر سمی مواجهه حاد کادمیوم و سرب در خون، کبد و کلیه موش انجام دادند. یافته‌های این مطالعه حاکی از تأثیر مخرب قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین بر

بافت‌های موش صحرایی است. این مطالعه بینش‌های ارزشمندی را در مورد اثرات بالقوه نانوذرات فلزی بر سلامت بافت ارثه می‌کند و مبنایی برای کاوش بیشتر در مورد تعاملات بین نانوذرات اکسید مس و بافت موش صحرایی ایجاد می‌کند (۱۸).

این نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات با عبور از غشاهای سلولی مختلف، وارد جریان خون و در نهایت بافت کلیه می‌شوند. اثرات خود اعمال می‌کنند. در گروه III به این صورت بود که نظم لوله‌های پیچ خورده از دست رفته و از هم گسیخته شده و گشاد شدن لومن لوله‌ای، جدا شدن سلولی و عدم وجود هسته‌هایی بود که ممکن است نشان‌دهنده نکرز توپولی در اکثر توپول‌های کلیوی باشد. از جمله تغییرات دیگری که می‌توان به آن اشاره کرد، تورم سلول‌های لوله ای، پرخونی و نفوذ سلول‌های خونی در بعضی نواحی بافت همبند و هسته‌های مختلف شکل در برخی از لوله ها نیز مشاهده شد.

این یافته‌ها توسط Elkhateeb و همکاران پشتیبانی شد. در موش‌هایی که تورم لوله‌های کلیوی، اسکروز گلومرولی، هیپرپلازی اپیتلیال لوله‌ای همراه با کاربومگالی و دو هسته‌ای، احتقان رگ‌های خونی بینابینی و اسکروز گلومرولی را نشان دادند (۱۹). علاوه بر این، Elhussainy و El-Sourbagy در موش‌ها اشاره کردند که گروه ۳ تحت درمان با نانوذرات CuO (گروه سمی) آتروفی متوسط برخی از گلومرول‌ها و واکوئل شدن (دژنراسیون آبی برخی از لوله‌های کلیوی و احتقان مشخص عروق خونی) را نشان دادند (۲۰).

همچنین، El Bialy و همکاران توضیح دادند که بافت‌های کلیوی موش‌هایی که از نانوذرات CuO سنتز شده بیولوژیکی استفاده کردند، نکرز انعقادی شدید، هیپرسلولی بودن گلومرولی، اپیتلیوم لوله‌ای جدا شده، از دست دادن مرز برس و قالب‌های هیالین داخل مجرای قشر و مدولا را نشان دادند. علاوه بر این، بافت‌های کلیوی موش‌هایی که نانوذرات CuO سنتز شده شیمیایی دریافت کردند، هیپرسلولی گلومرولی، تورم کدر، باریک شدن لومن لوله‌ای، خونریزی بین لوله‌ای، هسته‌های پیکنوتیک و نکرز سلولی لوله‌ای را نشان دادند (۲۱).

از طرفی در گروه دریافت کننده نانوذرات اکسید مس با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همراه با تیمامین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن) در روز (گروه IV)، نشان داد که تیمامین تاحدی از اثرات مخرب این نانوذرات جلوگیری می‌کند.

مطالعه Karachalias و همکاران افزایش آسیب پروتئین در گلومرول‌های کلیوی، شبکه، عصب، پلاسم و ادرار را در مدل موش دیابتی را مورد بررسی قرار دادند. آنها اثرات پیشگیرانه درمان با تیمامین و بنفوتیمین را بررسی کرده و نقش محافظتی بالقوه تیمامین را در کاهش آسیب بافتی برجسته کردند. این مطالعه بینش‌های ارزشمندی را در مورد اثرات محافظتی تیمامین بر سلامت بافت ارثه می‌دهد که می‌تواند برای درک اثرات کاهنده بالقوه آن بر سمیت نانوذرات اکسید مس مرتبط باشد (۲۲).

در مطالعه دیگری، اثرات درمان با تیمامین را با دوز ۲۵ یا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و اتیل ترا استات کلسیم در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) یا ترکیب آن‌ها به مدت ۸ هفته در موش‌های تحت درمان با سرب ۱۰۰ ppm نشان داد که تیمار سرب و تیمامین به تنهایی یا همراه با

وجود ندارد ($P > 0.05$). در موش‌های تجویز شده با نانوذره اکسید مس (گروه ۳) سطح سرمی TAC در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافته بود ($P < 0.05$). تیمار با تیامین (گروه ۴)، سطح سرمی TAC را که در اثر تجویز نانوذره کاهش یافته بود، به طور محسوسی افزایش داده بود؛ هرچند که این افزایش معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

به نظر می‌رسد که سمیت نانوذرات به آسیب اکسیداتیو به DNA بستگی دارد، با این حال مکانیسم‌های دیگری نیز باید در نظر گرفته شود، به عنوان مثال آسیب میتوکندری که ممکن است نتیجه برهم‌کنش مستقیم با ذرات پس از جذب ویا پراکسیداسیون لیپیدی مشتق از ROS باشد که منجر به اختلال در یکپارچگی غشاء و آزاد شدن آنزیم‌های آپوپتوز می‌شود (۲۳).

تیامین می‌تواند با رادیکال‌های آزاد و هیدروپراکسیدها واکنش دهد و منجر به خنثی کردن اثرات رادیکال هیدروکسیل سایر گونه‌های ROS (Reactive oxygen species) خواهد شد (۲۵). همچنین تیامین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، نقش مهمی در کاهش استرس اکسیداتیو دارد. اگر همراه با نانوذره اکسید مس تجویز شود، می‌تواند تا حدی از اثرات مخرب نانوذرات اکسیدمس بر سطوح بیوشیمیایی خون و بر بافت کلیه ممانعت کند (۲۶).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش نشان داده شد که نانوذرات اکسید مس باعث آسیب‌های قابل توجهی در بافت کلیه موش‌ها می‌شوند، از جمله نکروز توبولی و گشاد شدن لومن لوله‌ها. درمان با تیامین توانست به طور معنی‌داری این آسیب‌ها را کاهش دهد، ساختار کلیه را بهبود بخشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد. بنابراین، تیامین می‌تواند به عنوان یک ترکیب مؤثر و محافظت‌کننده برای کاهش سمیت ناشی از نانوذرات اکسید مس در بافت کلیه کاربرد داشته باشد و پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده از این ماده برای مقابله با آسیب‌های ناشی از نانوذرات استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حمایت‌های علمی و مالی دانشگاه شهرکرد و همکاران بخش دامپزشکی و آزمایشگاه فیزیوفارماکولوژی تشکر و قدردانی می‌کنند. همچنین قدردانی ویژه‌ای از تمامی کسانی که در جمع‌آوری داده‌ها و انجام آزمایش‌ها همکاری داشتند به عمل می‌آید.

سهم نویسندگان

تمام نویسندگان این مقاله در کلیه مراحل پژوهش، از طراحی مطالعه، جمع‌آوری داده‌ها، انجام آزمایش‌های آزمایشگاهی، تجزیه و تحلیل داده‌ها، تا نگارش و بازبینی نهایی مقاله مشارکت داشته و مسئولیت مساوی در تولید این اثر بر عهده داشته‌اند.

تضاد منافع

نویسندگان تصدیق می‌کنند که هیچ تضاد منافعی وجود ندارد.

کلسیم اتیل استات تترا استات باعث کاهش میزان سرب در خون و بافت‌های مختلف از جمله کلیه و کبد می‌شود. به نظر می‌رسد که تیامین از رسوب و احتباس سرب در کلیه‌ها و کبد جلوگیری می‌کند و اگرچه مکانیسم تعامل بین سرب و تیامین نامشخص است، تیامین ممکن است دفع سرب را افزایش داده و در فرایند جذب اختلال ایجاد کند (۲۳).

همان طور که در نتایج مشخص شد به منظور بررسی چگونگی اثرات حفاظتی تیامین بر تغییرات بافتی کلیه حاصل از تجویز نانوذرات اکسید مس به سنجش فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، TBARS و TAC به عنوان مارکرهای تشخیصی پرداختیم. مطالعات مربوط به فعالیت‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، TBARS و TAC برای فهم بهتر فرایند تغییرات ناشی از نانوذرات اکسید مس بر بافت کلیه اهمیت دارد. این آنزیم‌ها به طور گسترده‌ای در تغییرات کلیوی بررسی شده است (۲۴)، زیرا تغییر آن به عنوان یکی از ویژگی‌های مختص بافت‌های آسیب دیده مطرح می‌شود.

نتایج آنالیز در این مطالعه مشخص گردید که سطح سرمی آنزیم کاتالاز در دو گروه کنترل و تیامین هیچ گونه اختلاف معنی‌داری را در روزهای ابتدایی و روز ۱۴ نشان نمی‌داد ($P > 0.05$), اگرچه تغییرات جزئی بین مقادیر کمی سطوح سرمی کاتالاز بین این دو گروه مشاهده گردید. لازم به ذکر است که تفاوت معنی‌داری در مقادیر کاتالاز در بین ۴ گروه مطالعاتی، در ابتدای آزمایش (روز صفر) مشاهده نگردید. مقدار کاتالاز در گروه ۳ (نانوذره مس، ۲۵ mg/kg) به طور معنی‌داری در روز ۱۴ کاهش یافت ($P < 0.05$). در حالیکه تجویز تیامین به گروه نانوذره مس در گروه ۴ سبب افزایش فعالیت کاتالاز نسبت به گروه ۳ شد ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از آزمایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که تجویز نانوذره مس با دوز ۲۵ mg/kg در گروه‌های کنترل و تیامین با وجود تغییرات محسوس، هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$). در مقایسه میانگین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بین گروه‌های کنترل، نانوذره اکسید مس و نانوذره دریافت‌کننده تیامین که مدت ۱۴ روز تیامین دریافت کردند، مشاهده گردید که آنزیم سوپراکسید در گروه نانوذره (گروه ۳) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P < 0.05$). در صورتی که گروه نانوذره دریافت‌کننده تیامین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه اخیر داشته است ($P < 0.05$). به طوری که این مقدار از 41.52 ± 5.37 (واحد) به 29.71 ± 4.28 (واحد) کاهش یافته است.

آنالیز آماری مربوط به میانگین میزان TBARS در سرم خون گروه تیامین تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از خود نشان نداد ($P > 0.05$). آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه سطح TBARS در سرم خون گروه‌های مختلف نشان داد که مقادیر TBARS در گروه نانوذره اکسید مس (گروه ۳) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (گروه ۱) از خود نشان داده است ($P < 0.05$). در حالی که در گروه نانوذره تحت تجویز تیامین (گروه ۴)، میزان فعالیت سطح سرمی TBARS نسبت به گروه نانوذره به تنهایی کاهش نشان داد. اگرچه این کاهش معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

بررسی آماری داده‌های به دست آمده نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو گروه کنترل و تیامین در خصوص سطح سرمی TAC

References

- Duan X, Li Y. Physicochemical characteristics of nanoparticles affect circulation, biodistribution, cellular internalization, and trafficking. *Small*. 2013;9(9-10):1521-32. [pmid: 23019091](#) [doi: 10.1002/sml.201201390](#)
- Linic S, Aslam U, Boerigter C, Morabito M. Photochemical transformations on plasmonic metal nanoparticles. *Nat Mater*. 2015;14(6):567-76. [pmid: 25990912](#) [doi: 10.1038/nmat4281](#)
- Uclés A, López SH, Hernando MD, Rosal R, Ferrer C, Fernández-Alba AR. Application of zirconium dioxide nanoparticle sorbent for the clean-up step in post-harvest pesticide residue analysis. *Talanta*. 2015;144:51-61. [pmid: 26452791](#) [doi: 10.1016/j.talanta.2015.05.055](#)
- Yang L, Yang L, Ding L, Deng F, Luo XB, Luo SL. Principles for the application of nanomaterials in environmental pollution control and resource reutilization. In: *Nanomaterials for the Removal of Pollutants and Resource Reutilization*. Elsevier; 2019. p. 1-23. [doi: 10.1016/B978-0-12-814837-2.00001-9](#)
- Lei R, Yang B, Wu C, Liao M, Ding R, Wang Q. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in the liver and kidney of rats following exposure to copper nanoparticles for five consecutive days. *Toxicol Res*. 2015;4:351-64. [doi: 10.1039/c4tx00156g](#)
- Shrivastava R, Raza S, Yadav A, Kushwaha P, Flora SJ. Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. *Drug Chem Toxicol*. 2014;37(3):336-47. [pmid: 24344737](#) [doi: 10.3109/01480545.2013.866134](#)
- Karlsson HL, Gustafsson J, Cronholm P, Möller L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles—a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol Lett*. 2009;188(2):112-8. [pmid: 19446243](#) [doi: 10.1016/j.toxlet.2009.03.014](#)
- Assadian E, Zarei MH, Gilani AG, Farshin M, Degampanah H, Pourahmad J. Toxicity of copper oxide (CuO) nanoparticles on human blood lymphocytes. *Biol Trace Elem Res*. 2018;184(2):350-7. [pmid: 29064010](#) [doi: 10.1007/s12011-017-1170-4](#)
- Aruoja V, Dubourguier HC, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Sci Total Environ*. 2009;407(4):1461-8. [pmid: 19038417](#) [doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.10.053](#)
- Wang H, Huang Y, Tan Z, Hu X. Fabrication and characterization of copper nanoparticle thin-films and the electrocatalytic behavior. *Anal Chim Acta*. 2004;526(1):13-7. [doi: 10.1016/j.aca.2004.08.060](#)
- Landsiedel R, Kapp MD, Schulz M, Wiench K, Oesch F. Genotoxicity investigations on nanomaterials: methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations—many questions, some answers. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2009;681(2-3):241-58. [pmid: 19041420](#) [doi: 10.1016/j.mrrev.2008.10.002](#)
- Møller P, Jacobsen NR, Folkmann JK, Danielsen PH, Mikkelsen L, Hemmingsen JG, et al. Role of oxidative damage in toxicity of particulates. *Free Radic Res*. 2010;44(1):1-46. [pmid: 19886744](#) [doi: 10.3109/10715760903300691](#)
- Peeri M, Haghigh MM, Azarbayjani MA, Atashak S, Behrouzi G. Effect of aqueous extract of saffron and aerobic training on hepatic non enzymatic antioxidant levels in streptozotocin-diabetic rats [in Persian]. *Journal of Sports Biosciences*. 2012;2(7):5-16.
- Naz S, Gul A, Zia M. Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET Nanobiotechnol*. 2020;14(1):1-13. [pmid: 31935671](#) [doi: 10.1049/iet-nbt.2019.0176](#)
- Fatahian Dehkordi RA, Heidarnejad MS, Mohebbi A, Mosayebi M. The histopathological and biochemical effects of thiamine on mice liver exposure by the copper oxide and copper oxide nanoparticles [in Persian]. *J Anim Res (Iran J Biol)*. 2017;30(2):214-24.
- Privalova LI, Katsnelson BA, Loginova NV, Gurvich VB, Shur VY, Kireyeva EP, et al. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors. *Int J Mol Sci*. 2014;15(7):12379-406. [pmid: 25026171](#) [doi: 10.3390/ijms150712379](#)
- Yaqub A, Anjum KM, Munir A, Mukhtar H, Khan WA. Evaluation of acute toxicity and effects of sub-acute concentrations of copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) on hematology, selected enzymes and histopathology of liver and kidney in *Mus musculus*. *Indian J Anim Res*. 2018;52(1):92-8. [doi: 10.18805/ijar.v010f.8489](#)
- Andjelkovic M, Buha Djordjevic A, Antonijevic E, Antonijevic B, Boric N, Wallace D. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver, and kidney. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(2):274. [pmid: 30669347](#) [doi: 10.3390/ijerph16020274](#)
- Elkhateeb SA, Ibrahim TR, El-Shal AS, Abdel Hamid OL. Ameliorative role of curcumin on copper oxide nanoparticles-mediated renal toxicity in rats: An investigation of molecular mechanisms. *J Biochem Mol Toxicol*. 2020;34(4):e22593. [doi: 10.1002/jbt.22593](#)
- Elhussainy E, El-Shourbagy S. Protective effect of multivitamin complex on copper oxide nanoparticles (nanoCuO) induced toxicity in rats. *Bull Egypt Soc Physiol Sci*. 2014;34(2):404-18. [doi: 10.21608/besps.2014.34831](#)
- El Bialy BE, Hamouda RA, Abd Eldaim MA, El Ballal SS, Heikal HS, Khalifa HK, Hozzein WN. Comparative toxicological effects of biologically and chemically synthesized copper oxide nanoparticles on mice. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:3827-42. [pmid: 32581533](#) [doi: 10.2147/IJN.S241922](#)
- Karachalias N, Babaei-Jadidi R, Rabbani N, Thornalley PJ. Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diabetes. *Diabetologia*. 2010;53(8):1506-16. [pmid: 20369223](#) [doi: 10.1007/s00125-010-1722-z](#)
- Onishchenko GG, Tutel'ian VA. The concept of toxicological studies, estimated risk methodology, methods of identification and quantification of nanomaterials [in Russian]. *Vopr Pitan*. 2007;76(6):4-8. [pmid: 18219933](#)
- Tohamy HG, El Okle OS, Goma AA, Abdel-Daim MM, Shukry M. Hepatorenal protective effect of nano-curcumin against nano-copper oxide-mediated toxicity in rats: Behavioral performance, antioxidant, anti-inflammatory, apoptosis, and histopathology. *Life Sci*. 2022;292:120296. [pmid: 35045342](#) [doi: 10.1016/j.lfs.2021.120296](#)
- Gray A, McMillan D, Wilson C, Williamson C, O'Reilly DSJ, Talwar D. The relationship between plasma and red cell concentrations of vitamins thiamine diphosphate, flavin adenine dinucleotide and pyridoxal 5-phosphate following elective knee arthroplasty. *Clin Nutr*. 2004;23(5):1080-3. [pmid: 15380899](#) [doi: 10.1016/j.clnu.2004.01.013](#)
- Butterworth RF. Effects of thiamine deficiency on brain metabolism: implications for the pathogenesis of the Wernicke-Korsakoff syndrome. *Alcohol Alcohol*. 1989;24(3):271-9. [pmid: 2675860](#) [doi: 10.1093/oxfordjournals.alcal.a044913](#)