



Original Paper

Effect of Silver Nanoparticles on the Kidney Tissues of Quercetin-Treated NMRI Rats: A Stereological Study

Seyed Mohammad Ali Shariatzadeh (Ph.D)^{*1}   , Zahra Soori (M.Sc)², Parisa Maleki (M.Sc)³  

¹ Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran. ² M.Sc in Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran. ³ M.Sc in Biology, Academic Instructor, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran.

Abstract

Background and Objective: Considering the increasing use of silver nanoparticles in various products, including industrial and medical products, serious worries have been created regarding the potential dangers of silver nanoparticles. This study was conducted to determine the effect of silver nanoparticles on the kidney tissues of quercetin-treated NMRI rats.

Methods: In this experimental study, 24 adult male NMRI rats were randomly divided into 4 groups of 6. The groups included the control group, the silver nanoparticles group (500 mg/kg/bw), the quercetin group (50 mg/kg/bw), and the silver nanoparticles (500 mg/kg/bw) + quercetin (50 mg/kg/bw) group. Silver nanoparticles were fed orally on a daily basis for 35 days. Quercetin was injected intraperitoneally on a daily basis for 42 days. At the end of the study, after taking blood from the rats, the dissection, tissue passaging, and Heidenhain's Azan staining stages were carried out. The total volumes of the kidney, cortex and medulla, renal corpuscle, and glomerulus were evaluated by a stereological method. A qualitative assessment of apoptotic cells was performed using the tunnel method. The amount of malondialdehyde (MDA) in blood serum was specified as an indicator of lipid peroxidation by the Buege and Aust method.

Results: Comparing the body weight and kidneys, and the total kidney, cortex, and medulla volumes showed no statistically significant difference between the silver nanoparticles group and the control group. The silver nanoparticles group showed a significant increase in the total mean renal corpuscle volume, glomerular volume, tuft volume, Bowman's capsule membrane volume, and the amount of MDA compared to the control group ($P < 0.05$). Also, a statistically significant reduction was observed in the silver nanoparticles group in the total mean volume of Bowman's capsule and capillary spaces compared to the control group ($P < 0.05$). Quercetin could reduce the detrimental effects of silver nanoparticles on kidney cells as much as the control group; however, apoptosis was not shown in kidney cells in the group treated with quercetin. Assessing the cells in the silver nanoparticles group indicated the creation of apoptosis. The amount of serum MDA in the silver nanoparticles group showed a statistically significant increase compared to other groups ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of this study demonstrated that quercetin could reduce the detrimental effects of silver nanoparticles on kidney cells as much as the control group.

Keywords: Nanoparticles, Silver, Quercetin, Kidney, Mice

*Corresponding Author: Seyed Mohammad Ali Shariatzadeh (Ph.D), E-mail: s-shariatzadeh@araku.ac.ir



Received 19 Jul 2022

Final Revised 22 Jul 2023

Accepted 22 Jul 2023

Published Online 30 Dec 2023

Cite this article as: Shariatzadeh SMA, Soori Z, Maleki P. [Effect of Silver Nanoparticles on the Kidney Tissues of Quercetin-Treated NMRI Rats: A Stereological Study]. J Gorgan Univ Med Sci. 2023; 25(4): 28-37. [Article in Persian]





Extended Abstract

Introduction

Silver nanoparticles are 1-100 nm in diameter. This size causes certain features or behaviors in these substances. Serious concerns have been raised about the potential risks of nanoparticles. Considering their small size and surface-to-volume ratio, nanoparticles can react with biological molecules, penetrate cell membranes and the nucleus, give rise to indirect oxidative damage to DNA, inflammatory responses, and oxidative stress, and increase lipid peroxidation. Intracellular absorption and distribution of silver nanoparticles in cells underlie toxic and biological effects. For nanophagocytic eukaryotic cells, silver nanoparticles can have cytotoxic and immunotoxic effects and lead to apoptosis, necrosis, and reduced cell proliferation, depending on the concentration and time. Therefore, there are potential risks in using them.

Quercetin, as a key member of the polyphenol family, is mostly found in various vegetables and fruits. The anticancer properties of quercetin are due to various cell signaling mechanisms and its ability to inhibit enzymes responsible for cancer activation. Research demonstrates the protective effects of quercetin on the liver, heart, kidneys, neurons, and DNA against damaging factors. Quercetin has antioxidant and anti-inflammatory features so that it leads to maintaining the glutathione serum levels and reducing the malondialdehyde serum levels, nitric oxide metabolism, superoxide formation, and release of oxidant and inflammatory mediators. The current study was conducted to determine the effect of silver nanoparticles on the kidney tissues of quercetin-treated NMRI rats.

Methods

In this experimental study, 24 adult male NMRI rats with an approximate weight of 32 ± 2 g were randomly divided into 4 groups of 6. The groups included the control group, the silver nanoparticles group (500 mg/kg/bw, the first experimental group), the quercetin group (50 mg/kg/bw, the second experimental group), and the silver nanoparticles (500 mg/kg/bw) + quercetin group (50 mg/kg/bw) (the third experimental group). Silver nanoparticles were fed orally on a daily basis for 35 days, and quercetin was injected intraperitoneally on a daily basis for 42 days.

Silver nanoparticles with a diameter of 20 nm and a purity of 99.99% were purchased from the Iranian Nanomaterials Pioneers Company. Quercetin used in this study was purchased from the SIGMA-ALDRICH Company with a purity of 98% with a formula C₁₅H₁₀O₇.

After the treatment period, the rats were anesthetized, blood samples were taken from the rats' hearts to assess the biochemical parameters, and the left kidneys were removed. After separating the capsule, the submerged weight of the kidney was measured. The immersion method was used to calculate kidney volume. Then, after being washed in normal saline, the kidneys of each group of rats were coded separately and placed in Bouin's fixative for 24 hours for tissue confirmation. Afterward, the isotropic uniform random (IUR) cutting was taken from them.

After calculating tissue shrinkage, prepared slides were prepared using Heidenhain's Azan staining.

The actual kidney volume, the cortex volume, the medulla volume, the renal corpuscle volume, and the glomerular volume were calculated and determined.

The apoptosis rate was measured using a tunnel technique and tunnel kit (Roch in situ cell death detection kit). The slides were assessed by an Olympus microscope (BX41TE), and their apoptotic cells were observed and calculated. Moreover, the Buege and Aust method was used to measure malondialdehyde.

Results

No statistically significant difference was observed in kidney volume between the silver nanoparticles group compared to the control group and the silver nanoparticles + quercetin group, while a statistically significant reduction was observed compared to the quercetin group ($P < 0.04$).

The renal corpuscle volume in the silver nanoparticles group indicated a statistically significant increase compared to other groups ($P < 0.002$). The total mean glomerular volume in the silver nanoparticles group showed a statistically significant increase compared to the control group and the quercetin group ($P < 0.02$) but no statistically significant difference compared to the silver nanoparticles + quercetin group. The comparison of the tuft volume in different groups showed a statistically significant increase in the silver nanoparticles group compared to other groups ($P < 0.001$). The capillary volume in the silver nanoparticles group was statistically significantly decreased compared to other groups ($P < 0.001$). The mean volume of Bowman's capsule membrane revealed a statistically significant increase in the silver nanoparticles group on the surface compared to other groups ($P < 0.001$). The mean volume of Bowman's capsule space in the silver nanoparticles group indicated a statistically significant reduction compared to other groups ($P < 0.001$).

Assessing the serum malondialdehyde rate among different groups of rats showed a statistically significant increase in the silver nanoparticles group compared to other groups ($P < 0.001$).

Kidney cells under treatment with silver nanoparticles were severely apoptotic and turned brown. For example, the glomerulus and its components got shriveled and wrinkled, and the brown color was evident in them. In the antioxidant quercetin-treated group, this antioxidant could prevent apoptosis in kidney cells, inhibit glomerulus shrinkage, and reduce shrinkage in renal tubules.

Conclusion

The glomerular, renal corpuscle, tuft, and Bowman's membrane volumes significantly increased in the silver nanoparticles group compared to other groups; however, the Bowman's space and capillary volume decreased compared to other groups. The proximal tubular volume was reduced in the silver nanoparticles group compared to other groups; however, it was not significant. Examination of serum malondialdehyde among different groups of rats indicated a significant reduction in the silver nanoparticles group compared to other groups, and a significant reduction was also observed in the silver nanoparticles + quercetin group compared to the silver nanoparticles group.

Silver nanoparticles can induce excessive reactive oxygen species (ROS) production, which can finally culminate in cell death through various mechanisms, including lipid peroxidation and increased membrane permeability, signaling cascade activation involved in the mitochondrial pathway, disturbances in autophagy changes and DNA damage, and cell growth prevention.

The cytotoxicity mechanisms of nanoparticles are dependent on various characteristics, such as concentration, temperature, the type of culture medium used, and nanoparticle size. Silver nanoparticles interact with cell membrane proteins and give rise to the production of toxic oxygen radicals, destruction of nucleic acids and proteins, and finally, cell death.

Ethical Statement

The present study was approved by the Research Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences (IR.ARAKMU.REC.1395.123), and the ethical protocol for experimental animals was observed.

Funding

This article was extracted from Zahra Soori's master's thesis in the field of Cellular Biology of Animal Sciences, Cellular-Developmental major, the Faculty of Basic Sciences, Arak University.

Conflicts of Interest

No conflict of interest.

Acknowledgment

We would like to thank Ms. Samira Naderi and Mr. Mehdi Nodeh Farahani for their sincere efforts.

Silver nanoparticles lead to inflammation, necrosis, and apoptosis in the cortex and medulla, reduced capillary volume, glomerular inflammation, and swelling, reduced Bowman's space, and increased malondialdehyde. Quercetin prevents kidney tissue injuries caused by the treatment with silver nanoparticles.



تحقیقی

اثر نانوذرات نقره بر بافت کلیه موش های نژاد NMRI تیمار شده با کوئرستین: یک مطالعه استریولوژیک

دکتر سیدمحمدعلی شریعت زاده*^۱، زهرا سوری^۲، پریسا مالکی^۳

۱ استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران. ۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست سلولی علوم جانوری سلولی - تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران. ۳ کارشناس ارشد علوم جانوری سلولی - تکوینی، مربی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به افزایش استفاده از نانوذرات نقره در محصولات مختلف از جمله محصولات صنعتی و پزشکی، نگرانی های جدی در مورد خطرات بالقوه نانوذرات نقره ایجاد شده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر نانوذرات نقره بر بافت کلیه موش های نژاد NMRI تیمار شده با کوئرستین انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش نر بالغ نژاد NMRI به صورت تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه ها شامل کنترل، نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw)، کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw) و گروه نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw) + کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw) بودند. نانوذرات نقره روزانه به مدت ۳۵ روز با روش دهانی خورانده شد. کوئرستین روزانه به مدت ۴۲ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در پایان مطالعه، پس از خونگیری از موش ها، مراحل تشریح، پاساژ بافتی، رنگ آمیزی هایدن هان - آزان انجام شد. حجم کل کلیه، کورتکس و مدولا، جسمک کلیوی و گلو مرونل به روش استریولوژی ارزیابی شد. بررسی کیفی سلول های آپوپتوتیک به روش تانل انجام شد. میزان مالون دی آلدنید (MDA) سرم خون به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی با روش Aust و Buege تعیین شد.

یافته ها: از مقایسه وزن بدن و کلیه، حجم کل کلیه، کورتکس و مدولا در گروه نانوذرات نقره با گروه کنترل اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد. گروه نانوذرات نقره افزایش معنی داری در میانگین حجم کل جسمک کلیوی، گلو مرونل، تافت، غشای کپسول بومن و میزان MDA نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$). همچنین کاهش آماری معنی داری در گروه نانوذرات نقره در میانگین حجم کل فضای کپسول بومن و کاپیلاری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0/05$). کوئرستین توانست اثرات مخرب نانوذرات نقره بر روی سلول های کلیوی را تا حد گروه کنترل کاهش دهد؛ ولی آپوپتوز در سلول های کلیوی در گروه تیمار با کوئرستین نشان داده نشد. بررسی سلول ها در گروه نانوذرات نقره نشان دهنده ایجاد آپوپتوز بود. میزان MDA سرم گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه ها افزایش آماری معنی داری نشان داد ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که کوئرستین می تواند اثرات مخرب نانوذرات نقره بر روی سلول های کلیوی را تا حد گروه کنترل کاهش دهد.

واژه های کلیدی: نانوذرات، نقره، کوئرستین، کلیه، موش

* نویسنده مسؤول: دکتر سیدمحمدعلی شریعت زاده، پست الکترونیکی: s-shariatzadeh@araku.ac.ir

نشانی: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، ۰۸۶-۳۴۱۷۳۴۰۹

وصول ۱۴۰۱/۴/۲۸ اصلاح نهایی ۱۴۰۲/۴/۳۱ پذیرش ۱۴۰۲/۴/۳۱ انتشار ۱۴۰۲/۱۰/۹

مقدمه

نانوذرات نقره (Nano Silver: NPs) بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر قطر دارند. این اندازه موجب ایجاد ویژگی ها یا رفتارهای خاصی در این مواد می شود. نگرانی های جدی در مورد خطرات بالقوه نانوذرات ابراز شده است. با توجه به اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم آنها، نانوذرات می توانند با مولکول های زیستی واکنش داده؛ به غشاهای سلولی و هسته نفوذ کرده و باعث آسیب اکسیداتیو غیرمستقیم به DNA، ایجاد پاسخ های التهابی و استرس اکسیداتیو و

افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شوند^۱. جذب و توزیع درون سلولی نانوذرات نقره در سلول ها اساس اثرات سمی و بیولوژیکی را شکل می دهد. به منظور نانوفاگوسیتیک سلول های یوکاریوتی، نانوذرات نقره می تواند از مسیرهای مختلفی از طریق اندوسیتوز وارد سلول شود. از جمله این مسیرها اندوسیتوز وابسته به کلاترین؛ اندوسیتوز به واسطه کاونولین؛ اندوسیتوز مستقل از کاونولین و کلاترین و ماکروپینوسیتوز است.^۲ نانوذرات نقره دارای اثرات سیتوتوکسیک و ایمونوتوکسیک بوده و باعث آپوپتوز، نکروز و کاهش تکثیر سلولی

(۱) گروه کنترل

(۲) گروه تجربی اول: دریافت کننده نانوذرات نقره به میزان ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش گاوآژ به مدت ۳۵ روز.^{۱۰}

(۳) گروه تجربی دوم: دریافت کننده کوئرستین به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش تزریق داخل صفاقی به مدت ۴۲ روز.^{۱۱}

(۴) گروه تجربی سوم: دریافت کننده نانوذرات نقره به میزان ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش گاوآژ به مدت ۳۵ روز توام با کوئرستین به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش تزریق داخل صفاقی به مدت ۴۲ روز.

نانوذرات نقره با قطر ۲۰ نانومتر با خلوص ۹۹/۹۹ درصد از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه شد. کوئرستین مورد استفاده در این مطالعه از شرکت SIGMA-ALDRICH با درصد خلوص ۹۸ درصد با فرمول C 15H 10O7 تهیه شد.

به منظور بررسی پارامترهای بیوشیمیایی از قلب موش خونگیری به عمل آمد. سپس نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ g برای جداسازی پلاسما از سرم سانتریفیوژ شد و سرم حاصله در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

پس از پایان دوره تیمار ابتدا موش‌ها بیهوش شدند. سپس جدار قدامی - طرفی حفره شکم باز شد و کلیه چپ خارج گردید. پس از جداسازی کپسول، وزن غوطه‌ور کلیه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه حجم کلیه از روش شناورسازی (Immersion) استفاده شد.^{۱۲} سپس بعد از شستشو کلیه در نرمال سالین، کلیه هر گروه از موش‌ها به صورت جداگانه کدگذاری و برای ثبوت بافتی در فیکساتیو بوئن به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس از آنها برش IUR گرفته شد.^{۱۳} پس از ایجاد برش‌های IUR با استفاده از تروکار (Trocar) از سه برش مربوط به کلیه یک موش، به صورت تصادفی سه قطعه گرد تهیه شد. سپس با کمک کولیس ورنیه از هر قطعه دایره‌ای شکل دو قطر آن اندازه‌گیری شد. این قطعات برای محاسبه چروکیدگی بافت کلیه مورد استفاده قرار گرفتند. سپس برش‌ها و تکه‌های ایجاد شده به وسیله تروکار طوری در بسکت قرار داده شد که در نهایت از سطح دوم برش خورده بافت در میکروتوم برش با ضخامت ۵ میکرون گرفته شود. سپس همه نمونه‌ها پاساژ داده شدند. فرآیند پاساژ بافتی به وسیله دستگاه پاساژ بافتی مدل Leica طی مراحل زیر انجام گردید.

ابتدا آبگیری بافت توسط الکل با درجات صعودی صورت گرفت. سپس نمونه‌ها با حفظ جهت و نظم و ترتیب اولیه در پارافین قالبگیری شدند. برش‌گیری از بلوک‌های پارافینی حاوی نمونه توسط میکروتوم (مدل Leitz 1512) صورت گرفت. در مرحله بعد محلول‌های رنگ آمیزی مربوط به روش هایدن هاین آزان تهیه و در

بسته به غلظت و زمان می‌شوند. بنابراین خطرات بالقوه در استفاده از آنها وجود داشته و استفاده وسیع از نانوذرات نقره می‌تواند سلامت انسان و حتی جانورانی که در معرض آن قرار می‌گیرند را مورد مخاطره قرار دهد.^{۳-۵}

کوئرستین یک عضو کلیدی از خانواده پلی‌فنول‌ها است و عمدتاً در انواع سبزیجات و میوه‌ها نظیر گندم، پیاز، انواع توت و سیب یافت می‌شود. خواص ضدسرطانی کوئرستین به علت مکانیسم‌های مختلف سیگنالینگ سلولی و توانایی آن در مهار آنزیم‌های مسؤول فعالسازی سرطان است. آپیجنین (Apigenin) و لوتئولین (Luteolin) که خواص آنتی‌اکسیدان و ضدسرطانی دارند؛ در میوه‌ها و سبزیجات، برگ‌ها و دانه‌های سبز به وفور یافت می‌شوند.^۶ تحقیقات انجام گرفته حاکی از اثرات حفاظتی کوئرستین بر روی کبد، قلب، کلیه‌ها، نوروها و DNA در برابر عوامل آسیب‌زا است. کوئرستین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است. به طوری که باعث حفظ سطح سرمی گلوکوتایون و کاهش سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و کاهش متابولیسم نیتروتنیک اکسید و کاهش تشکیل سوپراکسید، کاهش آزادسازی واسطه‌های اکسیدانی و التهابی می‌گردد. کوئرستین محافظ کبدی و کلیوی قوی است. تجویز کوئرستین سبب رفع مسمومیت کبدی و کلیوی ناشی از متوترکسات و کاهش ارتشاح لنفوسیتی کبدی و کلیوی شده است.^{۷،۸} کوئرستین از طریق مسیرهای مختلف مانع رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. کوئرستین در شرایط *in vitro* موجب مهار رشد سلول‌های سرطانی ریه از طریق چرخه سلولی و القای آپوپتوز شده است.^۹ این مطالعه به منظور تعیین اثر نانوذرات نقره بر بافت کلیه موش‌های نژاد NMRI تیمار شده با کوئرستین انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۴ سر موش نر بالغ نژاد NMRI با وزن تقریبی 32 ± 2 گرم خریداری شده از مؤسسه پاستور ایران در دانشگاه اراک انجام گردید.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اراک (IR.ARAKMU.REC.1395.123) قرار گرفت و پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

موش‌ها در خانه حیوانات دانشگاه اراک در شرایط استاندارد شامل دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و نور محیطی با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. برای سازگاری با محیط، موش‌ها به مدت دو هفته با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند تا استرس احتمالی به وجود آمده در اثر تغییر مکان زندگی از بین رفته و به شرایط جدید عادت کنند.

سپس حیوانات به صورت تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی به شرح زیر قرار گرفتند.

(volume density) مربوط به مدولا به دست آمد.

$$Vv \text{ medulla} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{\text{medulla}}}{\sum_{i=1}^n P_{\text{total}}}$$

بعد از به دست آوردن دانسیته حجمی مدولا، حجم کل کلیه در آن ضرب و سپس حجم کل مدولا ($V_{\text{medulla}} = V_{\text{medulla}} \times V_{\text{total}}$) محاسبه شد.

محاسبه حجم گلومرولوس و اجزای آن: به منظور محاسبه حجم جسمک کلیوی و گلومرول‌ها پروب نقطه‌ای به طور تصادفی بر روی تصویر با بزرگ‌نمایی ۴۰ انداخته شد. بعد از شمارش نقاط برخورد کرده با جسمک کلیوی و گلومرول‌ها، آنها را بر کل نقاط برخورد کرده با کورتکس تقسیم کردیم.

$$Vv \text{ glomerulus} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{\text{glomerulus}}}{\sum_{i=1}^n P_{\text{cortex}}}$$

در نهایت مقادیر به دست آمده را در حجم کورتکس ضرب و به این ترتیب حجم گلومرول محاسبه گردید.

$V_{\text{glomerulus}} = V_{\text{cortex}} \times Vv_{\text{glomerulus}}$
روش انجام تکنیک تانل برای بررسی میزان آپوپتوز: به منظور انجام تکنیک تانل، کیت تانل (Roch In situ cell death detection kit) مورد استفاده قرار گرفت.

اساس تشخیص تست تانل، تشخیص شکستگی در DNA توسط آنزیم TDT (terminal deoxynucleotidyl transferase) و مارکر dUTP است که در بخش انتهایی نوکلئیک اسیدها، 'OH-3 آزاد را نشان‌دار می‌کند. تانل توانایی تشخیص دو دسته سلول آپوپتوتیک با DNA آسیب دیده (تانل مثبت) و سلول‌های غیرآپوپتوتیک با DNA سالم (تانل منفی) را دارد. در نهایت لام‌ها توسط میکروسکوپ Olympus (BX41TE) بررسی و سلول‌های آپوپتوزی آنها رویت شدند. سلول‌های دچار آپوپتوز به رنگ قهوه‌ای تیره و یکنواخت به عنوان تانل مثبت در نظر گرفته شدند. سلول‌هایی که به رنگ قهوه‌ای روشن یا زرد بودند؛ به عنوان سلول‌های آپوپتوزی در نظر گرفته نشدند.

روش سنجش مالون‌دی‌آلدهید: برای اندازه‌گیری MDA از روش Buege و Aust استفاده شد. در این روش MDA با تیوباریوتوریک اسید واکنش داده و ترکیبی با رنگ نارنجی تولید می‌کند که پرتوهای با طول موج ۵۳۵-۵۳۲ را جذب می‌کند.^{۱۵}

آنالیز آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و آزمون آماری Tukey در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

ظروف مخصوص رنگ‌آمیزی ریخته شد. بعد از انجام این مراحل به منظور مطالعه و بررسی لام‌ها به وسیله میکروسکوپ، لام‌ها تمیز شدند.

محاسبه چروکیدگی: با تروکار به طور میانگین دو یا سه قطعه گرد از برش‌های IUR تهیه و دو قطر عمود بر هم از هر کدام اندازه‌گیری و میانگین شعاع آنها محاسبه و به صورت r_{before} نشان داده شد. بعد از مراحل پاساژ بافتی، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی، مجدداً دو قطر عمود بر هم هر کدام از اسلایدهای مربوط به چروکیدگی اندازه‌گیری و میانگین شعاع آنها به صورت r_{after} به دست آمد. سپس با استفاده از فرمول زیر میزان چروکیدگی مربوط به کلیه هر

$$\text{Shrinkage} = 1 - \left(\frac{r_{\text{after}}^2}{r_{\text{before}}^2} \right)^{\frac{3}{2}} \quad ۱۴$$

با استفاده از فرمول 1-Shrinkage حجم نهایی نسبت به حجم اولیه محاسبه گردید و سپس با ضرب آن در حجمی که به روش Immersion به دست آمده بود؛ حجم واقعی کلیه به دست آمد.

محاسبه حجم کورتکس: برای اندازه‌گیری حجم کورتکس ابتدا از اسلایدهای ۵ میکرونی بافت کلیه با بزرگ‌نمایی ۱۰ و با استفاده از روش تصادفی منظم (Systematic Random sampling) به صورت تصادفی به طور میانگین تعداد ۱۱ میدان دید انتخاب و از یک ترانس پرنسی (Transparency) متشکل از شبکه نقاط منظم که قبلاً طراحی شده بود؛ استفاده شد. این صفحه از ۳۰ نقطه تشکیل شده بود که به طور تصادفی بر روی تصویر کلیه پرتاب شد. به عبارتی کل نقاط برخورد کرده از پروب با کل میدان دید انتخابی شمارش شد. به همین ترتیب نقاط برخورد کرده با کورتکس نیز شمارش گردید. سپس اعداد حاصل از شمارش نقاط برخورد کرده با کورتکس در ۱۱ میدان دید مربوط به هر اسلاید جمع شد و بصورت ΣP بیان شد. با تقسیم مجموع نقاط به دست آمده از کورتکس بر مجموع کل نقاط برخورد کرده با تصویر کلیه دانسیته حجمی (volume density) مربوط به کورتکس به دست آمد.

$$Vv \text{ cortex} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{\text{cortex}}}{\sum_{i=1}^n P_{\text{total}}}$$

سپس حجم کل کورتکس از طریق ضرب کردن دانسیته حجمی در حجم کل کلیه در هر موش ($V_{\text{cortex}} = V_{\text{cortex}} \times V_{\text{total}}$) محاسبه شد.

محاسبه حجم مدولا: برای محاسبه حجم مدولا، مانند محاسبه حجم کورتکس، ابتدا پروب نقطه‌ای به طور تصادفی بر روی تصویر انداخته شد. به این ترتیب، نقاط برخورد کرده با مدولا شمارش شد. سپس با تقسیم مجموع نقاط برخورد کرده به مدولا بر مجموع کل نقاط برخورد کرده با تصویر کلیه دانسیته حجمی

جدول ۱: مقایسه میانگین حجم کل کلیه، حجم مدولا و حجم کورتکس در موش‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	حجم کلیه (mm ³)	حجم کورتکس (mm ³)	میانگین و انحراف معیار حجم مدولا (mm ³)
کنترل	۱۴۷/۶۵±۱۱/۶۲ a	۱۱۹/۰۱±۹/۲۷ a	۲۷/۰۸±۷/۰۱ a
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw)	۱۳۴/۳۰±۴/۲۴ a	۱۱۰/۸۰±۳/۹۶ a	۲۳/۸۰±۳/۸۳ a
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw) + کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۱۴۳/۱۳±۸/۵۷ ab	۱۱۵/۹۷±۷/۸۳ a	۲۷/۳۰±۱/۹۳ a
کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۱۵۰/۸۰±۱۲ b	۱۲۲/۶۳±۱۱/۲۳ a	۲۸/۹۶±۵/۵۸ a

میانگین‌های با کد حروف مختلف، دارای تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به یکدیگرند.

جدول ۲: مقایسه میانگین حجم گلوومرولوس، حجم تافت، حجم کاپیلاری، حجم غشای کپسول بومن، حجم فضای کپسول بومن و حجم جسمک کلیوی در موش‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	حجم گلوومرول (mm ³)	حجم تافت (mm ³)	حجم کاپیلاری (mm ³)	حجم غشای کپسول بومن (mm ³)	حجم فضای کپسول بومن (mm ³)	حجم جسمک کلیوی (mm ³)
کنترل	۳/۳۴±۰/۶۵ a	۱/۹۰±۰/۳۳ a	۱/۴۳±۰/۳۷ a	۰/۷۸±۰/۱۹ a	۱/۲۳±۰/۱۸ a	۵/۱۲±۰/۴۷ a
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw)	۴/۳۴±۰/۴۹ b	۳/۴۲±۰/۴۸ b	۰/۹۲±۰/۰۸ b	۱/۳۰±۰/۱۶ b	۰/۸۹±۰/۱۳ b	۶/۱۹±۰/۴۹ b
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw) + کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۳/۶۲±۰/۳۸ ab	۱/۹۹±۰/۳۴ a	۱/۶۳±۰/۱۶ a	۰/۸۳±۰/۰۵ a	۱/۱۳±۰/۱۳ ab	۵/۲۶±۰/۳۵ a
کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۳/۳۵±۰/۵۶ a	۱/۷۴±۰/۲۰ a	۱/۶۱±۰/۴ a	۰/۷۴±۰/۱۱ a	۱/۳۳±۰/۱۴ a	۵/۲۴±۰/۵۳ a

میانگین‌های با کد حروف مختلف، دارای تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به یکدیگرند.

وزن موش و کلیه: میانگین وزن موش‌ها قبل از شروع تیمار در بین گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند. از مقایسه وزن موش‌ها پس از اتمام دوره تیمار در بین گروه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. از مقایسه میانگین وزن کلیه پس از اتمام دوره تیمار بین گروه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

یافته‌ها

حجم کل کلیه، حجم کورتکس و حجم مدولا: از مقایسه حجم کلیه پس از اتمام دوره تیمار تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه نانوذرات نقره نسبت به گروه کنترل و نانوذرات نقره + کوئرستین مشاهده نشد. در حالی که نسبت به گروه کوئرستین کاهش آماری معنی‌داری داشت (P<۰/۰۴). از مقایسه حجم کورتکس و مدولا در گروه‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول یک).

جدول ۳: مقایسه میانگین میزان مالون دی آلدئید در موش‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار مالون دی آلدئید (nmol/ml)
کنترل	۲/۷۳±۰/۱۴ a
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw)	۳/۰۹±۰/۰۵ b
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw) + کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۲/۹۲±۰/۰۸ c
کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۲/۴۳±۰/۰۱ a

میانگین‌های با کد حروف مختلف، دارای تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به یکدیگرند.

حجم جسمک کلیوی، گلوومرول و اجزای آن: حجم جسمک کلیوی در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها افزایش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۲). میانگین حجم کل گلوومرولوس در گروه نانوذرات نقره نسبت به گروه کنترل و کوئرستین افزایش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۲)؛ اما نسبت به گروه نانوذرات نقره + کوئرستین تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. از مقایسه حجم تافت در گروه‌های مختلف، افزایش آماری معنی‌داری در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). حجم کاپیلاری در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها کاهش آماری معنی‌داری یافت (P<۰/۰۰۱). میانگین حجم غشای کپسول بومن افزایش آماری معنی‌داری را در گروه نانوذرات نقره در سطح نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد (P<۰/۰۰۱). میانگین حجم فضای کپسول بومن در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۱). (جدول ۲).

ارزیابی سلول‌های آپوپتوتیک کلیوی: سلول‌های کلیوی تحت تیمار با نانوذرات نقره به شدت دچار آپوپتوز شدند و به رنگ قهوه‌ای در آمدند. به عنوان مثال گلوومرولوس و اجزای آن دچار جمع‌شدگی و چروکیدگی شده و رنگ قهوه‌ای در آنها بسیار مشهود بود. در گروه تیمار با آنتی‌اکسیدان کوئرستین، این آنتی‌اکسیدان توانست موجب جلوگیری از آپوپتوز در سلول‌های کلیوی، جلوگیری از جمع‌شدگی گلوومرولوس و کاهش چروکیدگی در توبول‌های کلیوی شود (شکل یک).

بحث

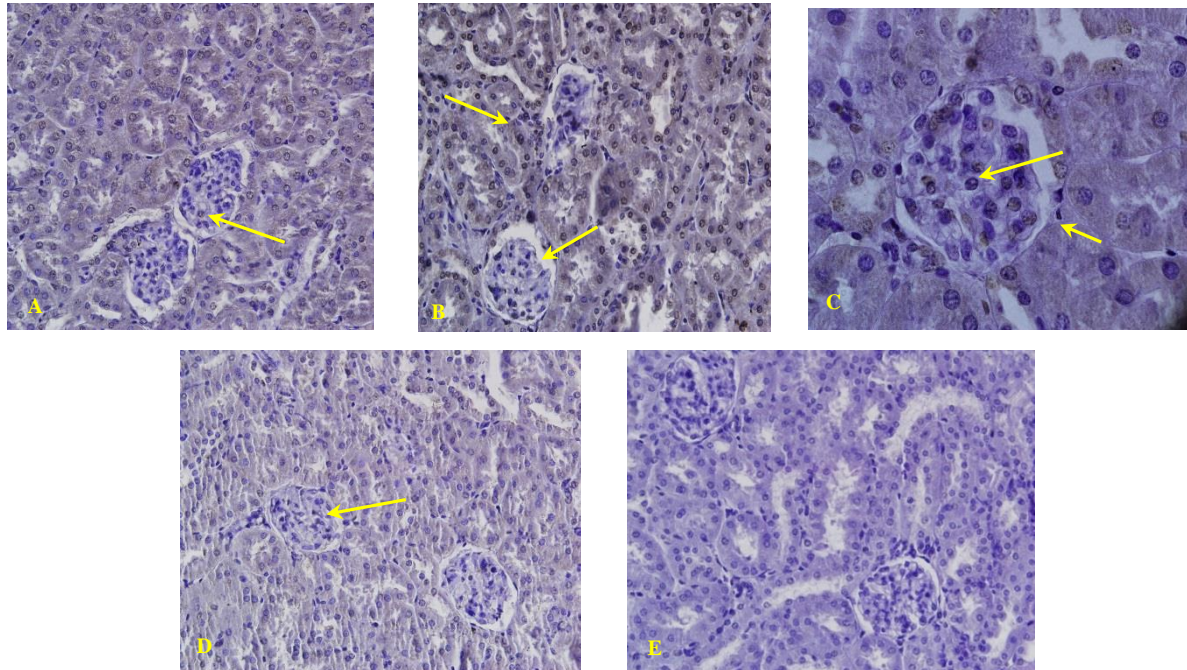
با توجه به نتایج این مطالعه، نانوذرات نقره باعث کاهش حجم کلیه در گروه تیمار با نانوذرات نقره نسبت به گروه کنترل شد؛ اما این تفاوت در حد معنی‌داری نبود. همچنین حجم کورتکس و مدولا

میزان MDA سرم خون: بررسی میزان مالون دی آلدئید سرم در بین گروه‌های مختلف موش افزایش آماری معنی‌داری را در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد (P<۰/۰۰۱) (جدول ۳).

جدول ۴: مقایسه میانگین وزن موش‌ها و وزن کلیه در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	وزن موش قبل از دوره تیمار	میانگین و انحراف معیار وزن موش در پایان دوره تیمار	وزن کلیه
کنترل	۳۱/۸±۰/۰۷ a	۳۱/۱±۱/۱ a	۰/۲۲±۰/۰۰۵ a
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw)	۳۳±۰/۸ a	۳۰/۶±۰/۸ a	۰/۲۲±۰/۰۰۸ a
نانوذرات نقره (۵۰۰ mg/kg/bw) + کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۳۲±۰/۵۹ a	۳۳±۱/۰۴ a	۰/۲۱±۰/۰۲۶ a
کوئرستین (۵۰ mg/kg/bw)	۳۲±۱/۱ a	۳۱±۱/۴ a	۰/۲۰±۰/۰۲۶ a

میانگین‌های با کد حروف مختلف، دارای تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به یکدیگرند.



شکل ۱: ارزیابی سلول‌های آپوپتوتیک با استفاده از روش تانل (فلش‌ها نشان‌دهنده سلول‌های آپوپتوزی با رنگ قهوه‌ای).
 (A) گروه کنترل: سلول‌های کلیوی طبیعی (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)؛ (B) گروه نانوذرات نقره: سلول‌های کلیوی دژنره و دچار آپوپتوز (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)؛ (C) گروه نانوذرات نقره: سلول‌های کلیوی دچار آپوپتوز (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰×)؛ (D) گروه نانوذرات نقره + کوئرستین: کاهش اثر مخرب نانوذرات نقره بر روی سلول‌های کلیوی تا حد گروه کنترل (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)؛ (E) گروه کوئرستین: عدم آپوپتوز در سلول‌های کلیوی (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×).

تمام مناطق کلیه از جمله مدولای داخلی، قشر و مدولای بیرونی مشاهده شد.^{۱۶}

در مطالعه‌ای تیمار دهانی موش‌های نر و ماده ICR ۶ هفته‌ای با نانوذرات نقره به اندازه ۲۲، ۴۲، ۷۱ و ۳۲۳ نانومتر و دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای ۱۴ روز متوالی انجام شد. نتایج نشان داد نقره در گروه کنترل و در گروه تیمار با نانوذرات بزرگ ۳۲۳ نانومتر تشخیص داده نشد. با این حال در گروه تحت درمان با نانوذرات کوچک ۲۲، ۴۲ و ۷۱ نانومتر به طور قابل توجهی انباشته شد. نتیجه‌گیری شد که به نظر می‌رسد نانوذرات کوچک نقره می‌توانند به آسانی در دستگاه گوارش جذب شده در اندام‌ها جابجا شوند. تغییرات هیستوپاتولوژیک در همه گروه‌های تحت تیمار با دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای ۱۴ روز مشاهده نشد. وقتی که تیمار دهانی موش‌های نر و ماده ICR ۶ هفته‌ای با نانوذرات نقره به اندازه ۴۲ نانومتر و دوز ۰/۲۵، ۰/۵ و یک میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۸ روز متوالی انجام شد؛ باعث ترشح (infiltration) اندکی در قشر کلیه گردید.^{۱۷}

تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های مختلف نشان نداد. حجم گلومرول، جسمک کلیوی، تافت و غشای بومن در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری داشت؛ ولی حجم فضای بومن و کاپیلاری نسبت به گروه‌های دیگر کاهش داشت. از مقایسه میانگین حجم کل توبول پروکسیمال در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. حجم توبول پروکسیمال در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها کاهش پیدا کرد؛ ولی در حد معنی‌داری نبود. از مقایسه حجم توبول دیستال در بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بررسی MDA سرم در بین گروه‌های مختلف موش افزایش معنی‌داری را در گروه نانوذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد و همچنین کاهش معنی‌داری در گروه نانوذرات نقره + کوئرستین نسبت به گروه نانوذرات نقره مشاهده شد.

در مطالعه انجام شده روی موش‌های صحرائی نژاد ویستار نانوذرات نقره ۲۰ و ۲۰۰ نانومتر با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل وریدی تجویز شد و نانوذرات نقره انفرادی در

آپوپتوز بدن، تاول زدن غشاء و فشرده شدن کروماتین در کلیه بچه همستر (Hamster) و آدنوکارسینوم رده سلولی کولون انسان پس از درمان با ۱۱ mg/ml نانوذرات نقره (۱۵-۱۰ نانومتر) رخ داده است. علاوه بر این، بیان ژن کاسپاز در سلول‌های تیمار شده با نانوذرات نقره افزایش یافته است. سلول‌ها در نتیجه درمان با غلظت‌های بالای نانوذرات (بیش از ۴۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نکروتیک می‌شوند.^{۳۳}

در مطالعه‌ای تیمار موش‌های نر آلبینو (۶ هفته‌ی، با وزن 260 ± 5) به صورت داخل صفاقی با ۰/۵ml آب مقطر حاوی ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوذرات نقره با دومین تزریق بعد از ۴۸ ساعت انجام شد. موش‌ها ۳ روز بعد از تزریق دوم معدوم شدند. قشر کلیه گروه تحت تیمار اپیتلیوم متورم و سیتوپلاسم حاوی واکنش‌های غشایی متعدد با برخی از هسته‌ها نشان‌دهنده هستک هیپرتروفی است.^{۳۴}

در یک مطالعه تیمار موش‌های نر بالغ ۸ هفته‌ای نژاد ویستار از طریق گاوژ برای مدت زمان ۳۰ روز با نانوذرات نقره به قطر ۷۰ نانومتر و با دوزهای مختلف ۰/۲۵، ۰/۵، و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث نکروز و آپوپتوز سلول‌های گلومرولی و کپسول بومن در دوزهای بالا شد. بیماری‌های گلومرولی به علت آسیب ایمنی است؛ اما آسیب توبولی عمدتاً ناشی از عوامل عفونی و سموم است. از طرف دیگر آناتومیگ مربوط به این ساختارها باعث می‌شود که آسیب در یک بخش منجر به اختلال در بخش‌های دیگر شود. همچنین حجم فضای بومن در گروه نانوذرات نقره کاهش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها داشت که این کاهش در حجم فضای بومن می‌تواند ناشی از تورم در سلول‌های موجود در کپسول بومن و افزایش حجم تافت باشد.^{۳۵}

در مطالعه‌ای اثر کوئرستین به عنوان آنتی‌اکسیدان با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۱۵ روز به صورت تزریق درون صفاقی در برابر اثرات زیان بار پاراستامول با دوز ۶۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۱۵ روز به صورت گاوژ بر بافت کلیه موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار بررسی شد. کوئرستین توانست اثرات زیانبار پاراستامول را بر جمع‌شدگی گلومرول و نکروز شدن توبول‌های کلیوی بهبود بخشد.^{۳۶}

در مطالعه‌ای اثر کوئرستین به عنوان آنتی‌اکسیدان با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۳۰ روز در برابر سمیت ناشی از سیس‌پلاتین با دوز ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۱۲ روز بر بافت کلیه موش نر بالغ آلبینو بررسی شد. نتایج حاکی از کاهش رادیکال آزاد و استرس اکسیداتیو در گروه دریافت‌کننده کوئرستین بود. علاوه بر آن کوئرستین موجب بهبود اثر مخرب سیس‌پلاتین گردید و در نتیجه باعث کاهش جمع‌شدگی گلومرول، بهبود نفرون‌ها و کاهش ترشح سلول‌های التهابی در بافت بینابینی کلیه موش گردید.^{۳۷}

در مطالعه‌ای تیمار دهانی موش‌های نر و ماده نژاد F344 با نانوذرات با قطر ۶۰ نانومتر و دوزهای ۳۰، ۱۲۵ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۹۰ روز نشان داد که تجمع نانوذرات نقره در موش ماده در مقایسه با موش نر دو برابر است که شامل تجمع نانوذرات در کورتکس، مدولای بیرونی و مدولای داخلی بود. نوار بیرونی مدولای بیرونی، همراه با مدولای داخلی از جمله قسمت وسط مدولای داخلی و بخش انتهایی مدولای داخلی نیز تجمع متفاوت نانوذرات نقره را نشان دادند.^{۳۸}

نانوذرات نقره می‌تواند تولید ROS بیش از حدی را القا کند که در نهایت از طریق انواع مکانیسم‌ها شامل پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش نفوذپذیری غشاء، فعال‌سازی آبشاری سیگنالینگ درگیر در مسیر میتوکندریایی، اختلالات در تغییرات اتوفازی و آسیب DNA و جلوگیری از رشد سلول می‌تواند منجر به مرگ سلول شود.^{۳۹}

در مطالعه‌ای با افزایش غلظت نانوذره میزان سمیت سلولی افزایش یافت و نانوذرات نقره سبب افزایش بیان ژن‌های آپوپتوزی مانند کاسپاز ۳ شدند. مکانیسم‌های سمیت سلولی نانوذرات به ویژگی‌های مختلفی مانند غلظت، دما، نوع محیط کشت مورد استفاده و اندازه نانوذره وابسته است. نانوذرات نقره با پروتئین‌های غشای سلولی برهمکنش انجام داده و باعث تولید رادیکال‌های سمی اکسیژن شده و منجر به تخریب پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند.^{۴۰}

در مطالعه Aydin که اثر محافظت کبدی کوئرستین در برابر سمیت کبدی متوترکسات بررسی شد؛ مشخص گردید که کوئرستین با کاهش استرس‌های اکسیداتیو از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی میکروزومی، افزایش محتوی گلوکوتایون سلولی و حفظ سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقادیر طبیعی نقش حفاظتی خود را در برابر متوترکسات اعمال می‌دارد.^{۴۱}

در مطالعه Edremitlioğlu و همکاران که روی اثر کوئرستین در برابر آسیب بافت‌های کبد، کلیه، مغز، قلب و آنورت در بیماری دیابت انجام شده؛ مشخص گردید که کوئرستین از طریق کاهش استرس‌های اکسیداتیو با کاهش میزان MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکوتایون پراکسیداز نقش حفاظتی خود را در بیماری دیابت اعمال می‌دارد.^{۴۲} در مطالعه Yousef و همکاران اثر محافظتی کوئرستین در برابر استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی ناشی از پاراستامول مورد بررسی قرار گرفت. کوئرستین بافت‌های کبد، کلیه، ریه‌ها، مغز، قلب و بیضه موش‌های صحرایی را با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکوتایون پراکسیداز، گلوکوتایون-اس-ترانسفراز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و محتوی گلوکوتایون بافتی در برابر سمیت پاراستامول محافظت می‌کند.^{۴۳}

صورت خوراکی باعث آسیب بافت کبد و کلیه موش‌ها می‌شود. همچنین درمان خوراکی نانوذرات نقره باعث تغییرات قابل توجهی بر تعداد گلبول‌های سفید خون گردید.^{۲۶} به منظور جلوگیری از آسیب نانوذرات نقره در بدن، پیشنهاد می‌شود از مواد حاوی آنتی‌اکسیدان کوئرستین مانند سبزیجات و میوه‌جات استفاده شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره باعث التهاب، نکروز و آپوپتوز در کورتکس و مدولا و نیز کاهش حجم کاپیلاری، اشکال در فیلتراسیون گلومرولی، التهاب و تورم گلومرول، کاهش فضای بومن و افزایش مالون دی‌آلدئید می‌گردد. کوئرستین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی توانست از آسیب‌های وارد شده به بافت کلیه در اثر تیمار با نانوذرات نقره جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم زهرا سوری برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست سلولی علوم جانوری گرایش سلولی - تکوینی از دانشکده علوم پایه دانشگاه اراک بود. بدین‌وسیله از زحمات بی‌شائبه سرکار خانم سمیرا نادری و جناب آقای مهدی نوده فراهانی تشکر می‌گردد. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

- Asare N, Instanes C, Sandberg WJ, Refsnes M, Schwarze P, Kruszewski M, et al. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. *Toxicology*. 2012 Jan; 291(1-3): 65-72. doi: 10.1016/j.tox.2011.10.022.
- Martirosyan A, Bazes A, Schneider YJ. In vitro toxicity assessment of silver nanoparticles in the presence of phenolic compounds--preventive agents against the harmful effect? *Nanotoxicology*. 2014 Aug; 8(5): 573-82. doi: 10.3109/17435390.2013.812258.
- Adeyemi OS, Faniyan TO. Antioxidant status of rats administered silver nanoparticles orally. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 2014 Sep; 9(3): 182-86. doi: 10.1016/j.jtumed.2014.03.002.
- Nabinejad A, Noaman V, Khayyam Nekouiee M. Evaluation of silver residues accumulation in tissues of Broilers treated with nanosilver using MNSR (A Clinical Trial). *Archives of Razi Institute*. 2016; 71(1): 51-55. doi: 10.22034/ari.2016.105998.
- Völker C, Oetken M, Oehlmann J. The biological effects and possible modes of action of nanosilver. *Rev Environ Contam Toxicol*. 2013; 223: 81-106. doi: 10.1007/978-1-4614-5577-6_4.
- Basile P, Greengard E, Weigel B, Spector L. Prognostic Factors for Development of Subsequent Metastases in Localized Osteosarcoma: A Systematic Review and Identification of Literature Gaps. *Sarcoma*. 2020 Mar; 2020: 7431549. doi: 10.1155/2020/7431549.
- García-Saura MF, Galisteo M, Villar IC, Bermejo A, Zarzuelo A, Vargas F, et al. Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. *Mol Cell Biochem*. 2005 Feb; 270(1-2): 147-55. doi: 10.1007/s11010-005-4503-0.
- Abdel-Raheem IT, Abdel-Ghany AA, Mohamed GA. Protective effect of quercetin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Biol Pharm Bull*. 2009 Jan; 32(1): 61-67. doi: 10.1248/bpb.32.61.
- Biazzo A, De Paolis M. Multidisciplinary approach to osteosarcoma. *Acta Orthop Belg*. 2016 Dec; 82(4): 690-98.
- Sarhan OM, Hussein RM. Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological structures and blood parameters in the albino rat. *Int J Nanomedicine*. 2014 Mar; 9: 1505-17. doi: 10.2147/IJN.S56729.
- Behling EB, Sendão MC, Francescato HD, Antunes LM, Costa RS, Bianchi Mde L. Comparative study of multiple dosage of quercetin against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat kidneys. *Pharmacol Rep*. 2006 Jul-Aug; 58(4): 526-32.
- Murmu S, Shrivastava VK. Protective Action of an Antioxidant (Vitamin-C) Against Bisphenol-toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2011; 11: 5-29. doi: 10.4194/trjfas.2011.0104.
- Rahman MF, Wang J, Patterson TA, Saini UT, Robinson BL, Newport GD, et al. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles. *Toxicol Lett*. 2009 May; 187(1): 15-21. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.01.020.
- Hoseini L, Roozbeh J, Sagheb M, Karbalay-Doust S, Noorafshan A. Nandrolone decanoate increases the volume but not the length of the proximal and distal convoluted tubules of the mouse kidney. *Micron*. 2009 Feb; 40(2): 226-30. doi: 10.1016/j.micron.2008.08.004.

15. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52: 302-10. doi: 10.1016/s0076-6879(78)52032-6.
16. Dziendzikowska K, Gromadzka-Ostrowska J, Lankoff A, Oczkowski M, Krawczyńska A, Chwastowska J, et al. Time-dependent biodistribution and excretion of silver nanoparticles in male Wistar rats. *J Appl Toxicol.* 2012 Nov; 32(11): 920-28. doi: 10.1002/jat.2758.
17. Rahnama S, Heydarnejad MS, Mobini-Dehkordi M, Shadkhist M, Yarmohammadi-Samani P, Najafi M. A macro- and microscopic local effect of silver nanoparticles on skin wound healing and some biochemical parameters of blood in mice. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2014; 16(2): 80-89. [Article in Persian]
18. Aydin B. Quercetin Prevents Methotrexate-induced Hepatotoxicity without Interfering Methotrexate Metabolizing Enzymes in Liver of Mice. *Journal of Applied Biological Sciences.* 2019; 5(2): 75-80.
19. Wang Z, Xia T, Liu S. Mechanisms of nanosilver-induced toxicological effects: more attention should be paid to its sublethal effects. *Nanoscale.* 2015 May; 7(17): 7470-81. doi: 10.1039/c5nr01133g.
20. Mazur P, Skiba-Kurek I, Mrowiec P, Karczewska E, Drożdż R. Synergistic ROS-Associated Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles and Gentamicin Against *Staphylococcus epidermidis*. *Int J Nanomedicine.* 2020 May; 15: 3551-62. doi: 10.2147/IJN.S246484.
21. Edremitlioğlu M, Andıç MF, Korkut O. Quercetin, a powerful antioxidant bioflavonoid, prevents oxidative damage in different tissues of long-term diabetic rats. *Balkan Med J.* 2012; 29(1): 49-55. doi: 10.5152/balkanmedj.2011.002.
22. Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food Chem Toxicol.* 2010 Nov; 48(11): 3246-61. doi: 10.1016/j.fct.2010.08.034.
23. Gopinath P, Gogoi SK, Chattopadhyay A, Ghosh SS. Implications of silver nanoparticle induced cell apoptosis for in vitro gene therapy. *Nanotechnology.* 2008 Feb; 19(7): 075104. doi: 10.1088/0957-4484/19/7/075104.
24. Genter MB, Newman NC, Shertzer HG, Ali SF, Bolon B. Distribution and systemic effects of intranasally administered 25 nm silver nanoparticles in adult mice. *Toxicol Pathol.* 2012 Oct; 40(7): 1004-13. doi: 10.1177/0192623312444470.
25. Roshan Rezaee Ranjbar S, Rezaei Zarchi S, Talebi A, Nasri S, Imani S, Khoradmehr A, et al. Toxicological effects of silver nanoparticles in rats. *African Journal of Microbiology Research.* 2012 Jul; 6(27): 5587-93.
26. Heydarnejad MS, Rahnama S, Mobini-Dehkordi M, Yarmohammadi P, Aslnai H. Silver nanoparticles accelerate skin wound healing in mice (*Mus musculus*) through suppression of innate immune system. *Nanomedicine Journal.* 2014; 1(2): 79-87. doi: 10.7508/nmj.2014.02.003.