

## بررسی اثر تجویز طولانی مدت نانوذرات نیکل اکسید (NiO) سنتز شده به روش سبز بر هیستوپاتولوژی کبد، کلیه و بیضه‌ی موش صحرایی

محمد رضا حاجی‌نژاد<sup>۱</sup>، صدیقه بامری<sup>۲</sup>، حمید بیضایی<sup>۳</sup>، علیرضا سام‌زاده کرمانی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر تجویز نانوذرات NiO سنتز شده به روش سبز و شیمیایی بر هیستوپاتولوژی بافت‌های کبد، کلیه و بیضه‌ی موش صحرایی انجام شد.

**روش‌ها:** در این پژوهش که از نوع تجربی بود، ۴۰ سر موش صحرایی به پنج گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. گروه اول (گروه شاهد سالم)، روزانه سرم فیزیولوژی را به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه‌های دوم و سوم، نانوذرات سنتز شده به روش شیمیایی را به ترتیب با دزهای ۵ و ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند. نانوذرات سنتز شده به روش سبز نیز به گروه‌های چهارم و پنجم با دزهای به ترتیب ۵ و ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به مدت هشت هفته خوراندند. در پایان، خون‌گیری از قلب موش‌ها صورت پذیرفت و سطح سرمی Aspartate aminotransferase (AST)، Alanine aminotransferase (ALT)، Blood urea nitrogen (BUN) و کراتینین سرم سنجش شد. نمونه‌های کبد، کلیه و بیضه پس از آسان‌کشی و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

**یافته‌ها:** در موش‌های تیمار شده با دز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، ALT و AST سرم از گروه شاهد بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). سطح BUN و کراتینین سرم موش‌های تیمار شده با دز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نیز بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). در بررسی هیستوپاتولوژی، نکروز و تجمع چربی در کبد گروه تیمار شده با دز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مشاهده شد. در کلیه، تورم توبول پروکسیمال و در بیضه، نکروز سلولی مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** تجویز طولانی مدت نانوذرات NiO اثر سمی بر کبد، کلیه و بیضه‌ی موش صحرایی دارد.

**واژگان کلیدی:** موش صحرایی، نانوذرات نیکل اکسید، کلیه، کبد

**ارجاع:** حاجی‌نژاد محمد رضا، بامری صدیقه، بیضایی حمید، سام‌زاده کرمانی علیرضا. بررسی اثر تجویز طولانی مدت نانوذرات نیکل اکسید (NiO) سنتز شده به روش سبز بر هیستوپاتولوژی کبد، کلیه و بیضه‌ی موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۵۰): ۱۲۳۲-۱۲۲۶

نانوذرات با ترکیبات گیاهی می‌تواند موجب افزایش حلالیت و کارایی، بهبود زیست‌فراهمی و کاهش سمیتشان گردد (۶-۷). در سال‌های اخیر، طیف گسترده‌ای از نانوذرات فلزی مانند نانوذرات آهن، سلنیوم، مس و نیکل به روش سبز و با استفاده از گیاهان دارویی مختلف سنتز شده‌اند (۸-۹). در این مطالعه، برای سنتز نانوذرات به روش سبز از عصاره‌ی برگ گیاه پنیر باد استفاده شد. پنیر باد، با نام علمی *Withania coagulans* یک گیاه دارویی بومی منطقه‌ی بلوچستان است که در صنایع دارویی کاربرد دارد (۱۰). در مطالعات پیشین، تجویز کوتاه مدت نانوذرات NiO به روش خوراکی، سطح

### مقدمه

نانوذرات NiO از ذرات پرکاربرد در صنایع الکتریکی و مهندسی پزشکی محسوب می‌شوند (۱). کاربرد روزافزون این ذرات، نگرانی‌هایی را از حیث اثرات مخربشان بر محیط زیست و انسان به دنبال داشته است (۲). در چندین مطالعه، به سمیت آن‌ها بر گیاهان، باکتری‌ها و قارچ‌ها اشاره شده است (۳). در سنجش سمیت این ترکیب بر رده‌های مختلف سلولی مشخص گردیده است که میزان اثر وابسته به دز است (۴). به نظر می‌رسد که اثر سمیت سلولی نانوذرات NiO از طریق فعال کردن مسیر bax/bcl-2 اعمال می‌شود (۵). سنتز

۱- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۲- گروه شیمی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۳- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: علیرضا سام‌زاده کرمانی

**سنتر نانوذرات NiO**

(۱) **روش رسوب‌دهی:** نیکل نیترات شش آبه در آب مقطر حل شد. سپس محلول ۱۵ درصد سدیم هیدروکسید قطره قطره (همراه با هم‌زدن شدید) به آن اضافه گردید. محلول سبز رنگ ایجاد شده به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. سپس، مخلوط سانتی‌فیوژ و رسوب سبز سه مرحله توسط آب مقطر شستشو داده شد. رسوب خشک شده در دمای ۴۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت در کوره گذاشته شد. در نهایت، نانوذرات NiO سیاه رنگ تولید شدند.

(۲) **روش سبز:** عصاره‌ی برگ گیاه پنیر باد در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌لیتر به محلول نیکل نیترات شش آبه در آب مقطر افزوده شد. سپس، محلول ۱۵ درصد سدیم هیدروکسید به آن اضافه گردید و مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. محتویات سانتی‌فیوژ و رسوب با آب مقطر شستشو داده شد. رسوب خشک شده در دمای ۴۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت در کوره قرار داده شد تا نانوذرات NiO تولید گردند.

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها**

داده‌های حاصل به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش و با استفاده از آزمون One-way ANOVA و آزمون Tukey و اکاوی شدند.  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری برای گروه‌های مورد مطالعه در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها**

اختلاف شاخصی در سطح سرمی آنزیم‌های کبدی AST و ALT در گروه تیمار شده با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم از نانوذرات سنتز شده به روش سبز و گروه شاهد دیده نشد ( $P > 0/05$ ). همچنین، سطوح ALT، AST، BUN و کراتینین سرم در گروه تیمار شده با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم از نانوذرات سنتز شده به روش شیمیایی تفاوت قابل‌قبولی با گروه شاهد نداشتند (جدول ۱). تجویز نانوذرات سنتز شده به روش شیمیایی با دز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، سطح سرمی آنزیم ALT را افزایش داد (جدول ۱) ( $P < 0/05$ ). همچنین، سطح سرمی آنزیم کبدی AST در گروه دریافت‌کننده‌ی دز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از ذرات سنتز شده به روش شیمیایی، از گروه شاهد بیشتر بود ( $P < 0/01$ ) (جدول ۱). تجویز نانوذرات سنتز شده به روش سبز با دز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، موجب افزایش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی شد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۱). سطح سرمی BUN و کراتینین پس از هشت هفته تجویز خوراکی نانوذرات سنتز شده به روش شیمیایی در همین دز، به میزان قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (جدول ۱) ( $P < 0/05$ ).

آنزیم‌های کبدی را در موش‌های صحرایی افزایش داده است (۱۱). آن‌ها سبب القای آپوپتوز می‌شوند (۱۲). این نانوذرات از راه استنشاقی جذب بالایی دارند و موجب التهاب ریه می‌گردند (۱۳). در مطالعات گذشته، اثر نانوذرات NiO سنتز شده به روش شیمیایی بررسی شده است، اما اطلاعات کمی در مورد اثرات بیولوژیک نانوذرات سنتز شده به روش سبز وجود دارد. بسیاری از محققان، معتقدند که سنتز نانوذرات با استفاده از عصاره‌های گیاهی، سبب کاهش سمیتشان می‌شود (۱۴). در مطالعه‌ی حاضر، اثرات بیولوژیک نانوذرات NiO سنتز شده به دو روش سبز (گیاه پنیر باد) و شیمیایی در یک بازه‌ی طولانی مدت بر موش صحرایی برای نخستین بار بررسی شد.

**روش‌ها**

پژوهش حاضر به صورت توصیفی-تحلیلی در محل دانشگاه زابل انجام شد. شیوه‌نامه‌ی این پژوهش بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و اجرا شد (USDA 1985; US Code, 42). تعداد ۴۰ سر موش صحرایی بالغ نژاد Wistar با میانگین وزن ۲۱۵ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دام‌پزشکی خریداری شد. موش‌های صحرایی در قفس‌های پلی‌کربنات استریل نگهداری شدند. آن‌ها در طول دوره به پلت مخصوص موش صحرایی و آب آشامیدنی شهری دسترسی داشتند. سنتز نانوذرات NiO در آزمایشگاه گروه شیمی دانشکده‌ی علوم دانشگاه زابل انجام شد.

موش‌ها به پنج گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول (گروه شاهد سالم)، روزانه سرم فیزیولوژی را به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه‌های دوم و سوم، نانوذرات سنتز شده به روش شیمیایی را با دزهای به ترتیب ۵ و ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند. نانوذرات سنتز شده به روش سبز نیز با دزهای به ترتیب ۵ و ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به گروه‌های چهارم و پنجم خوراندند (۱۵). خوراک‌دهی برای مدت هشت هفته ادامه یافت. در نهایت، نمونه‌های خون از قلب موش‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با شتاب ۳۰۰۰ دور در دقیقه جهت جداسازی سرم، سانتی‌فیوژ شد. سطح سرمی Alanine aminotransferase (ALT)، Aspartate aminotransferase (AST)، Blood urea nitrogen (BUN) و کراتینین با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Selectra pro M) و کیت‌های آزمایشگاهی پارس آزمون سنجش شد. نمونه‌های کبد، کلیه و بیضه در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و پس از دو روز محلول فرمالین تعویض شد. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین، توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, Tokyo, Japan) با بزرگ‌نمایی  $\times 40$  بررسی شدند.

جدول ۱. سطح سرمی (AST) Aspartate aminotransferase، (ALT) Alanine aminotransferase، (BUN) Blood urea nitrogen

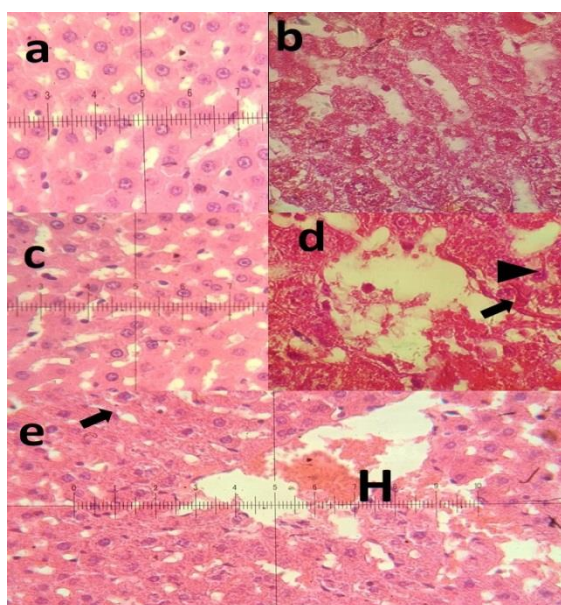
و کراتینین در گروه‌های تحت تیمار و گروه شاهد سالم

گروه	متغیر		
	کراتینین (میلی‌گرم/کیلوگرم)	BUN (میلی‌گرم/کیلوگرم)	متغیر
	ALT (واحد/لیتر)	AST (واحد/لیتر)	
گروه شاهد سالم	۱/۹ ± ۰/۲	۴۶/۳ ± ۶/۱	۶۲/۴ ± ۶/۴
نانوذره‌ی NiO (سنتر سبز) ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم	۲/۱ ± ۰/۴	۵۰/۱ ± ۷/۷	۶۹/۴ ± ۸/۳
نانوذره‌ی NiO (سنتر سبز) ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	*۲/۷ ± ۰/۴	*۶۵/۷ ± ۹/۴	*۷۸/۶ ± ۷/۳
نانوذره‌ی NiO (سنتر شیمیایی) ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم	۲/۳ ± ۰/۳	۵۵/۴ ± ۶/۵	۷۰/۲ ± ۶/۶
نانوذره‌ی NiO (سنتر شیمیایی) ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	*۲/۸ ± ۰/۵	*۶۶/۰ ± ۷/۱	**۸۱/۴ ± ۷/۰

\* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد سالم ( $P < ۰/۰۵$ ); \*\* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد سالم ( $P < ۰/۰۱$ )

AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; BUN: Blood urea nitrogen

گروه‌های سوم و پنجم نسبت به گروه شاهد دیده شد (جدول ۲).



شکل ۱. a- مقطع بافت کبد گروه شاهد؛ b- گروه دریافت‌کننده‌ی نانوذرات نیکل اکسید سنتر شده به روش شیمیایی ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ c- رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین،  $\times ۱۰۰$ ، گروه دریافت‌کننده‌ی نانوذرات نیکل اکسید سنتر شده به روش سبز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ d- گروه دریافت‌کننده‌ی نانوذرات نیکل اکسید سنتر شده به روش سبز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین،  $\times ۱۰۰$ ، تجمع چربی (فلش) و نکروز (نوکلش). گروه دریافت‌کننده‌ی نانوذرات اکسید نیکل سنتر شده به روش شیمیایی ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (d)، تجمع چربی (فلش) و پرخونی (H). رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین،  $\times ۴۰$ .

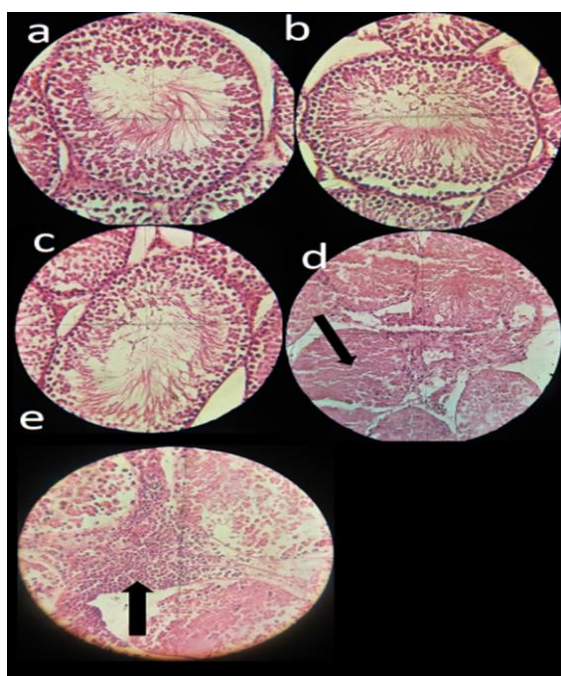
سطح BUN و کراتینین سرم در موش‌های دریافت‌کننده‌ی نانوذرات سنتر شده به روش سبز با دز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نیز به طور معنی‌داری از گروه شاهد بیشتر بود ( $P < ۰/۰۵$ ).

در بررسی هیستوپاتولوژی مقاطع بافت کبد، تفاوتی بین گروه‌های تحت تیمار با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و گروه شاهد وجود نداشت (شکل ۱-a). همچنین، در بررسی مقاطع بافتی گروه دوم، هیچ‌گونه ضایعه‌ی هیستوپاتولوژیک مشاهده نگردید (شکل ۱-b). ساختار سلول‌های کبدی موش‌های گروه چهارم نیز طبیعی بود و سینوزوئیدهای کبدی بسیار منظم بودند (شکل ۱-c). بررسی ریخت‌شناسی بافت کبد، کاهش قطر هپاتوسیت‌ها و هسته‌های آن‌ها را نشان داد (جدول ۲). این نتایج، منطبق بر متغیرهای بیوشیمیایی بود، اما در گروه‌های سوم و پنجم، علائم آسیب کبدی مانند نکروز، تجمع چربی در سیتوپلاسم و پرخونی مشاهده شد (شکل‌های ۱-d و ۱-e).

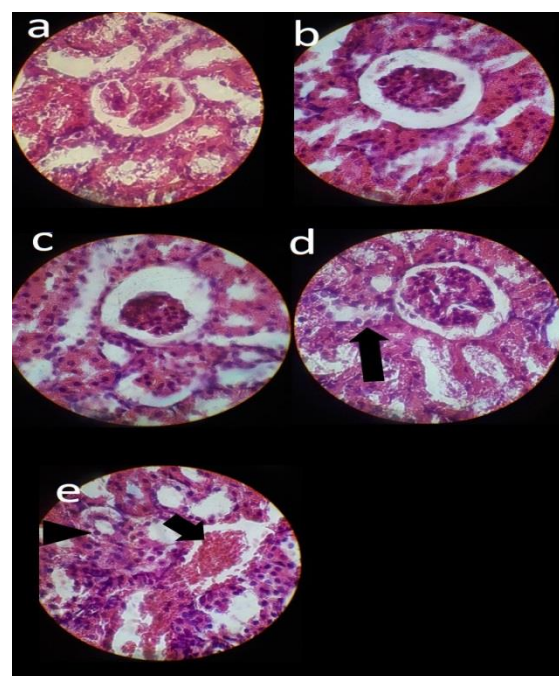
به بافت کلیه در گروه‌های دوم و چهارم آسیبی وارد نشده بود و گلومرول‌ها ساختار طبیعی داشتند (شکل‌های ۱-b-۲ و ۱-c-۲)، اما در گروه‌های سوم و پنجم، علائم آسیب کلیوی مانند تجمع واکونل‌های چربی در سلول‌های پوششی توپول پروکسیمال مشاهده شد (شکل‌های ۱-d-۲ و ۱-e-۲). در بررسی ریخت‌سنجی بافت کلیه، کاهش قطر توپول پروکسیمال و توپول دیستال مشاهده گردید (جدول ۲). در بررسی هیستوپاتولوژیک بافت بیضه در گروه پنجم، نکروز سلول‌های پوششی توپول سمی نیفر بیضه مشاهده شد (شکل ۱-d-۳)؛ هر چند که آسیب بافت بیضه در گروه سوم شدت بیشتری داشت و علاوه بر نکروز سلولی، نفوذ سلول‌های آماسی را نیز شامل می‌شد (شکل ۱-e-۳). کاهش قطر لایه‌ی زایای توپول‌های سمی نیفر در بررسی ریخت‌سنجی بیضه‌ی

جدول ۲. بررسی تغییرات بافت- ریخت‌سنجی بافت‌های کبد، کلیه و بیضه در گروه‌های تحت تیمار و گروه شاهد سالم

گروه	متغیر				
	قطر لوله‌ی پروکسیمال (میکرومتر)	قطر لوله‌ی دیستال (میکرومتر)	قطر هپاتوسیت (میکرومتر)	قطر هسته‌ی هپاتوسیت (میکرومتر)	قطر لایه‌ی ژرینال (میکرومتر)
گروه شاهد سالم	۱۴/۰ ± ۰/۳	۱۲/۴ ± ۰/۶	۱۶/۱ ± ۰/۹	۶/۰ ± ۰/۰	۸۰/۲ ± ۷/۵
نانوذره‌ی NiO (سنتز سبز) (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم)	۱۳/۱ ± ۰/۵	۱۱/۲ ± ۰/۴	۱۷/۱ ± ۱/۰	۷/۱ ± ۰/۹	۷۰/۷ ± ۹/۱
نانوذره‌ی NiO (سنتز سبز) (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)	۸/۲ ± ۰/۶	۷/۳ ± ۰/۸	۱۰/۱ ± ۱/۲	۵/۱ ± ۱/۰	۶۰/۰ ± ۱۱/۰
نانوذره‌ی NiO (سنتز شیمیایی) (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم)	۱۲/۵ ± ۰/۴	۱۴/۲ ± ۰/۸	۱۳/۳ ± ۲/۰	۶/۲ ± ۰/۹	۷۴/۲ ± ۱۲/۰
نانوذره‌ی NiO (سنتز شیمیایی) (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)	۷/۲ ± ۰/۳	۹/۳ ± ۰/۴	۱۰/۲ ± ۱/۳	۴/۱ ± ۰/۷	۵۹/۰ ± ۱۴/۰



شکل ۳. مقطع بافت کلیه گروه شاهد (a)، گروه دریافت کننده‌ی نانوذرات نیکل اکسید سنتز شده به روش شیمیایی ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم (b)، گروه دریافت کننده‌ی نانوذرات نیکل اکسید سنتز شده به روش سبز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم (c)، گروه دریافت کننده‌ی نانوذرات نیکل اکسید سنتز شده به روش سبز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (d)، واکولاسیون سلول‌های پوششی توبول پروکسیمال (فلش). گروه دریافت کننده‌ی نانوذرات اکسید نیکل سنتز شده به روش شیمیایی (e) ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، واکولاسیون توبول پروکسیمال (نوک فلش)، پرخونی (فلش)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین،  $\times 100$ .



شکل ۲. مقطع بافت کلیه گروه شاهد (a)، گروه دوم (b)، گروه چهارم (c)، گروه پنجم (d)، واکولاسیون سلول‌های پوششی توبول پروکسیمال (فلش). گروه سوم (e)، واکولاسیون توبول پروکسیمال (نوک فلش)، پرخونی (فلش)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین،  $\times 100$ .

### بحث

با وجود کاربرد روزافزون نانوذرات NiO در پزشکی و صنعت، دانش ما در مورد اثرات زیستی آن‌ها محدود است. از سوی دیگر، هر روزه طیف گسترده‌ای از نانوذرات فلزی با استفاده از عصاره‌ی گیاهان مختلف به روش سبز سنتز می‌شوند. برخی از محققین اعتقاد دارند که نانوذرات سنتز شده به روش سبز، اثرات سمیت کمتر و زیست‌فراهمی بیشتری دارند (۱۶-۱۷).

با این حال، مطالعات کمی در مورد اثرات این ترکیبات در حیوانات آزمایشگاهی وجود دارد. در بررسی حاضر، تجویز دز بالای



کلیه نیز ضایعات هیستوپاتولوژیک در هر دو گروه دریافت کننده‌ی دز بالای ذرات مشاهده شد. نتایج بافت‌شناسی مطالعه‌ی حاضر، با نتایج مطالعه‌ی اژدری و ضیایی قهنویه که حاکی از تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت‌های کبد و کلیه پس از تجویز نانوذرات NiO است، مطابقت دارد (۲۲). بررسی بافت بیضه نیز نشان داد که تجویز نانوذرات در دز بالا، سبب ایجاد نکروز و آسیب بافتی می‌شود. در مطالعات قبلی، تجویز نانوذرات فلزی مانند نانوذرات نقره و نانوذرات منگنز، سبب القای نکروز و آپوپتوز در بافت بیضه شد (۲۴-۲۳). نانوذرات نقره و نانوذرات طلا در درازمدت سبب ایجاد تغییرات ریخت‌شناسی در بافت بیضه و بافت غده‌ی پروستات می‌شوند (۲۵). همه‌ی نانوذرات فلزی اثر سمی بر بافت بیضه ندارند. یک بررسی جدید نشان داده است که نانوذرات سدیم اکسید، از آسیب اکسیداتیو در بافت بیضه جلوگیری می‌کنند (۲۶).

در پژوهش حاضر، اثر تجویز خوراکی NiO ارزیابی شد. روش تجویز خوراکی، زیست‌فراهمی مناسبی دارد و برای مطالعه‌ی اثر سمیت مزمن نانوذرات مناسب است. توصیه می‌شود در مطالعات آینده اثر این ذرات بر سایر بافت‌ها نیز بررسی شود. در پایان، این مطالعه، سمیت نانوذرات NiO سنتز شده به روش‌های سبز و شیمیایی بر بافت‌های کبد، کلیه و بیضه‌ی موش صحرایی را نشان داد.

### تشریح و قدردانی

این مطالعه توسط دانشگاه زابل تحت شماره پژوهانه‌ی ۱۵-۱۹۶۱۸-UOZ-GR حمایت گردیده است.

نانوذرات NiO سنتز شده به روش شیمیایی، سطح سرمی آنزیم‌های کبدی AST و ALT را افزایش داد که منطبق بر نتایج مطالعات گذشته بود (۱۸). همچنین، سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در موش‌های تحت تیمار با نانوذرات سنتز شده به روش سبز افزایش یافت که نشان از سمیت آن‌ها دارد.

بررسی‌های پیشین نشان داده است که نانوذرات سنتز شده به روش سبز همانند هم‌ارزهای شیمیایی‌شان، دارای اثر سمیت کبدی هستند (۱۷). نانوذرات NiO از طریق افزایش فعالیت آنزیم Caspase-3 سبب آسیب DNA و القای آپوپتوز در سلول‌های کبدی می‌شوند (۱۸). تحقیقات گذشته نشان داده است که نانوذرات فلزی بر بافت کلیه‌ی اثر سمی دارند و سطح BUN و کراتینین را افزایش می‌دهند که همسو با نتایج مطالعات فعلی است (۱۹). بافت کلیه، یکی از اولین بافت‌هایی است که تحت تأثیر اثرات سمی نانوذرات قرار دارد. مکانیسم اصلی سمیت کلیوی نانوذرات فلزی هنوز به خوبی شناخته نشده است، اما به نظر می‌رسد که به طور مستقیم با اثر بر گروه‌های فعال آنزیم‌ها و پروتئین‌ها و یا به صورت غیر مستقیم با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت کلیه می‌شوند (۲۰). نانوذرات فلزی، به دلیل اندازه‌ی کوچک از اندوتلیوم مویرگ‌های خونی عبور می‌نند و جذب گردش خون سیاهرگی شوند. این ترکیبات، پس از بلعیده شدن به وسیله‌ی ماکروفاژهای رتیکولو اندوتلیال وارد کبد می‌شوند (۲۱).



در مطالعه‌ی حاضر، نانوذرات NiO در دز کم اثر سمی بر بافت کلیه نداشتند. اثرات سمی از آن‌ها در دزهای بالاتر مشاهده گردید. در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نیز با افزایش دز نانوذرات، تجمع چربی و نکروز هیپاتوسیت‌ها در کبد موش افزایش یافت. در بررسی بافت

### References

- Kate RS, Khalate SA, Deokate RJ. Overview of nanostructured metal oxides and pure nickel oxide (NiO) electrodes for supercapacitors: A review. *J Alloys Compd* 2018; 734: 89-111.
- Srivastava V, Gusain D, Sharma YC. Critical review on the toxicity of some widely used engineered nanoparticles. *Ind Eng Chem Res* 2015; 54(24): 6209-33.
- Rastogi A, Zivcak M, Sytar O, Kalaji HM, He X, Mbarki S, et al. Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: A critical review. *Front Chem* 2017; 5: 78.
- Ada K, Turk M, Oguztuzun S, Kilic M, Demirel M, Tandogan N, et al. Cytotoxicity and apoptotic effects of nickel oxide nanoparticles in cultured HeLa cells. *Folia Histochem Cytobiol* 2010; 48(4): 524-9.
- Ahmad J, Alhadlaq HA, Siddiqui MA, Saquib Q, Al-Khedhairy AA, Musarrat J, et al. Concentration-dependent induction of reactive oxygen species, cell cycle arrest and apoptosis in human liver cells after nickel nanoparticles exposure. *Environ Toxicol* 2015; 30(2): 137-48.
- Hajinezhad M, Samzadeh-Kermani A. Histopathological investigation of the intraperitoneal injection of starch-graft-polyaniline/magnesium oxide (Chitosan/MgO) nanocomposites on liver and kidney of rats. *J Isfahan Med Sch* 2019; 37(517): 138-44. [In Persian].
- Duan H, Wang D, Li Y. Green chemistry for nanoparticle synthesis. *Chem Soc Rev* 2015; 44(16): 5778-92.
- Taghavi Fardood S, Ramazani A, Moradi S. A novel green synthesis of nickel oxide nanoparticles using Arabic gum. *Chemistry Journal of Moldova* 2017; 12(1): 115-8.
- Thema FT, Manikandan E, Gurib-Fakim A, Maaza M. Single phase Bunsenite NiO nanoparticles green synthesis by *Agathosma betulina* natural extract.

- J Alloys Compd 2016; 657: 655-61.
10. Hajinezhad M, Esmaeel Zadeh Bahabadi S, Miri H, Davari I, Darvish Sargazi M. Effect of hydroalcoholic extract of *Prosopis farcta* pod on liver histopathology and malondialdehyde level in streptozotocin diabetic rats. *Horizon Med Sci* 2015; 21(1): 31-6. [In Persian].
  11. Dumala N, Mangalampalli B, Kalyan Kamal SS, Grover P. Biochemical alterations induced by nickel oxide nanoparticles in female Wistar albino rats after acute oral exposure. *Biomarkers* 2018; 23(1): 33-43.
  12. Siddiqui MA, Ahamed M, Ahmad J, Majeed Khan MA, Musarrat J, Al-Khedhairi AA, et al. Nickel oxide nanoparticles induce cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis in cultured human cells that is abrogated by the dietary antioxidant curcumin. *Food Chem Toxicol* 2012; 50(3-4): 641-7.
  13. Morimoto Y, Izumi H, Yoshiura Y, Tomonaga T, Lee BW, Okada T, et al. Comparison of pulmonary inflammatory responses following intratracheal instillation and inhalation of nanoparticles. *Nanotoxicology* 2016; 10(5): 607-18.
  14. Nadeem M, Abbasi BH, Younas M, Ahmad W, Khan T. A review of the green syntheses and anti-microbial applications of gold nanoparticles. *Green Chem Lett Rev* 2017; 10(4): 216-27.
  15. Dumala N, Mangalampalli B, Chinde S, Kumari SI, Mahoob M, Rahman MF, et al. Genotoxicity study of nickel oxide nanoparticles in female Wistar rats after acute oral exposure. *Mutagenesis* 2017; 32(4): 417-27.
  16. Das RK, Pachapur VL, Lonappan L, Naghdi M, Pulicharla R, Maiti S, et al. Biological synthesis of metallic nanoparticles: Plants, animals and microbial aspects. *Nanotechnology for Environmental Engineering* 2017; 2(1): 18.
  17. Albrecht MA, Evans CW, Raston CL. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green Chem* 2006; 8(5): 417-32.
  18. Liu F, Chang X, Tian M, Zhu A, Zou L, Han A, et al. Nano NiO induced liver toxicity via activating the NF- $\kappa$ B signaling pathway in rats. *Toxicol Res* 2017; 6(2): 242-50.
  19. Shakibaie M, Shahverdi AR, Faramarzi MA, Hassanzadeh GR, Rahimi HR, Sabzevari O. Acute and subacute toxicity of novel biogenic selenium nanoparticles in mice. *Pharm Biol* 2013; 51(1): 58-63.
  20. Ahamed M, Ali D, Alhadlaq HA, Akhtar MJ. Nickel oxide nanoparticles exert cytotoxicity via oxidative stress and induce apoptotic response in human liver cells (HepG2). *Chemosphere* 2013; 93(10): 2514-22.
  21. Aliahmad M, Rahdar A, Sadeghfar F, Bagheri S, Hajinezhad MR. Synthesis and Biochemical effects of magnetite nanoparticle by surfactant-free electrochemical method in an aqueous system: the current density effect. *Nanomedicine Research Journal* 2016; 1(1): 39-46.
  22. Ajdari M, Ziaee Ghahnavieh M. Histopathology effects of nickel nanoparticles on lungs, liver, and spleen tissues in male mice. *Int Nano Lett* 2014; 4(3): 113.
  23. Negahdary M, Arefian Z, Dastjerdi HA, Ajdary M. Toxic effects of Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles on rat testis and sex hormone. *J Nat Sci Biol Med* 2015; 6(2): 335-9.
  24. Kong L, Tang M, Zhang T, Wang D, Hu K, Lu W, et al. Nickel nanoparticles exposure and reproductive toxicity in healthy adult rats. *Int J Mol Sci* 2014; 15(11): 21253-69.
  25. Kalynovskyi V, Pustovalov A, Grodzyuk G, Andriushyna N, Dzerzhynsky M. Effect of gold and silver nanoparticles on the morpho-functional state of the epididymis and prostate gland in rats. *Visn Dnipropetr Univ Ser Biol Med* 2016; 7(2): 106-11.
  26. Moridi H, Hosseini SA, Shateri H, Kheiripour N, Kaki A, Hatami M, et al. Protective effect of cerium oxide nanoparticle on sperm quality and oxidative damage in malathion-induced testicular toxicity in rats: An experimental study. *Int J Reprod Biomed (Yazd)* 2018; 16(4): 261-6.

## The Effects of Long-Term Administration of Green-Synthesized Nickel Oxide (NiO) Nanoparticles on Liver, Kidney, and Testis in Rats

Mohammad Reza Hajinezhad<sup>1</sup>, Seddigheh Bameri<sup>2</sup>, Hamid Beyzaee<sup>3</sup>, Alireza Samzadeh-Kermani<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** The present study aimed to investigate the effects of oral administration of green- and chemically-synthesized nickel oxide (NiO) nanoparticles on the histopathology of liver, kidney, and testis in rats.

**Methods:** This was a descriptive analytic study, forty rats were allocated into five equal groups. The first group (healthy control) received normal saline. The second and third groups received oral chemically-synthesized NiO nanoparticles (5 and 50 mg/kg, respectively). The green-synthesized NiO nanoparticles were orally fed to the fourth and fifth groups for eight weeks (5 and 50 mg/kg, respectively). Finally, blood was collected from the heart of rats and serum levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine were evaluated. After euthanasia, liver, kidney, and testis samples were stained with hematoxylin-eosin, and examined under a light microscope.

**Findings:** Both groups treated with 50 mg/kg dose showed significantly higher ALT and AST levels compared to the control group ( $P < 0.050$ ). Serum BUN and creatinine levels were significantly higher in rats received the dose of 50 mg/kg ( $P < 0.05$ ). In histopathological investigation, necrosis and fat accumulation were observed in the liver of rats treated with the 50 mg/kg dose of NiO nanoparticles. In kidney, proximal tubule swelling was observed and testis tissues showed necrosis, too.

**Conclusion:** The long-term administration of NiO nanoparticles have toxic effects on liver, kidney, and testis in rats.

**Keywords:** Liver, Nickel oxide, Nanoparticles, Kidney, Rats

**Citation:** Hajinezhad MR, Bameri S, Beyzaee H, Samzadeh-Kermani A. Investigating the Effects of Long-Term Administration of Green-Synthesized Nickel Oxide (NiO) Nanoparticles on Liver, Kidney and Testis of Rats. J Isfahan Med Sch 2020; 37(550): 1226-32.

1- Associate Professor, Department of Basic Science, School of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran

2- Department of Chemistry, School of Basic Science, University of Zabol, Zabol, Iran

3- Associate Professor, Department of Chemistry, School of Basic Science, University of Zabol, Zabol, Iran

**Corresponding Author:** Alireza Samzadeh-Kermani, Email: arsamzadeh@yahoo.com