

## سمیت کلیوی ناشی از نانوذرات سمی اکسید روی در موش سفید آزمایشگاهی نر (*Mus musculus*)

محمد سعید حیدرنژاد<sup>۱\*</sup>، عطیه مشرفی<sup>۲</sup>، محسن مبینی دهکردی<sup>۳</sup>، رحمت اله فتاحیان<sup>۴</sup>

گروه جانورشناسی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ گروه میکروبیولوژی،

دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ گروه علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۶

### چکیده:

زمینه و هدف: با توسعه های سریع در فناوری نانو، نانوذرات اکسید روی به طور فزاینده ای در جنبه های مختلف زندگی ما استفاده می شود و اثرات سمی این نانوذرات بر بدن انسان در حال تشدید است. در این مطالعه آسیب بافتی ناشی از تأثیر دو روش خوراکی و درون صفاقی نانو ذرات اکسید روی بر روی عملکرد کلیه در موش سفید آزمایشگاهی (*Mus musculus*) بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۷۵ عدد موش سفید (Balb/c) نر به طور تصادفی به سه گروه ۲۵ تایی تقسیم شدند. در گروه تیمار خوراکی به کمک آمپول گاوآژ و در گروه تیمار تزریقی به صورت درون صفاقی ۰/۰۵ گرم بر میلی لیتر نانو ذره اکسید روی به هر یک از موش ها داده شد. در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ خونگیری از قلب موش ها انجام و سرم خون جدا شد. نتایج به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و نرم افزار SPSS تحلیل و اختلاف کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. نهایتاً نمونه هایی از بافت کلیه تهیه و بررسی شد.

یافته ها: افزایش معنی داری در سطح BUN و کراتینین سرم خون در روز هفتم آزمایش در گروه تزریقی همراه با آسیب های بافتی مشخصی از جمله اتساع عروقی و نفوذ سلول های خونی به داخل عروق و ما بین لوله های ادراری، واکوئله شدن سیتوپلاسم سلول های جداری لوله های پروکسیمال (نکروز) در هر دو گروه تزریقی دیده شد. آسیب های بافتی ایجاد شده در گروه تیمار تزریقی با شدت کمتری در گروه تیمار خوراکی مشاهده شد.

نتیجه گیری: غلظت حاد نانوذرات اکسید روی سبب آسیب های جدی و فیزیولوژیک از جمله پرخونی، نکروز تعدادی از سلول ها، هیدراته شدن سلول های پروکسیمال و تورم کلیوی در گروه تزریقی می شود که این آسیب ها با شدت بسیار کمتری در گروه خوراکی قابل مشاهده بود.

واژه های کلیدی: نانوذرات اکسید روی، نیتروژن اوره خون، کراتینین، آسیب شناسی کلیه، کلیه.

### مقدمه:

بوده و به عنوان یک ماده ضد التهاب به کار می رود (۲،۳). بنابراین سال های اخیر علاقه به مطالعه ساختارهای اکسید روی شدیداً افزایش یافته است. این ماده به دلیل سطح تماس بالا و حساسیت زیاد به محیط شیمیایی کاربرد گسترده ای در انواع حسگرها دارد (۴). نانوذرات

نانوذرات اکسید روی در بسیاری از فرآورده های تجاری از جمله لوازم آرایشی، رنگ آمیزی، افزودنی های خوراکی و بهداشتی به کار می رود (۱). همچنین این ذرات به عنوان مکمل غذایی برای انسان و احشام به کار گرفته شده چون روی قادر به تحریک سیستم ایمنی بدن

\* نویسنده مسئول: شهرکرد- دانشگاه شهرکرد- گروه جانورشناسی- تلفن: ۰۹۱۷۳۰۸۳۸۱۰، E-mail: m\_heydarnejad@yahoo.com

اکسید روی به طور گسترده ای در پلیمر و مواد جاذب UV، به عنوان مواد آنتی باکتریال و ضدقارچ، منسوجات و پلاستیک ها و همچنین در کرم‌های ضد آفتاب، خمیر دندان و یا پوشش‌های بهداشتی به کار می‌روند (۵، ۶). مطالعات خطوط سلولی در محیط کشت، کاهش عملکرد میتوکندریایی و استرس اکسیداتیو پس از اعمال نانوذرات اکسید روی را در سلول های سرطانی کولون انسانی (LoVo)، سلول های اپیتلیال برونش های شش انسان (BEAS-2B)، سلول های کارسینومای کبدی (SMC-7721) و خطوط سلولی سرطان استئوبلاست انسان نشان می دهد (۱۰-۷)؛ در نتیجه نقش مهمی در درمان انواع سرطان دارد. گزارشات قبلی نشان می دهد که نانوذرات اکسید روی زیست ایمن (biosafe) و زیست سازگار (biocompatible) می باشند که می توانند در مواد زیست پزشکی به کار برده شوند. با این حال مطالعات سمیت شناسی نشان می دهد که نانوذرات اکسید روی دارای عوارض جانبی بر سلامت انسان و گونه های زنده می باشد. ایمنی زیستی نانوذرات اکسید روی هنوز یک مسئله بحث برانگیز است (۱۱). مشخص است که با کاهش اندازهی ذرات، ذرات کوچک به راحتی روی هم انباشته شده و می توانند به اعماق بدن مهاجرت کنند. در واقع نانوذرات از طریق پوست، تنفس و یا دستگاه گوارش وارد بدن می شوند و از طریق خون آثار سمی خود را به اندام های مختلف بدن می رسانند (۱۲). نانوذرات اکسید روی یکی از سمی ترین نانوذرات با پایین ترین ارزش LD50 در بین نانوذرات اکسید فلزی مهندسی شده شناخته می شود که با وجود کاربرد وسیع، اثرات عمومی و بالقوهی آن بر سلامتی توجهات زیادی را به خود معطوف داشته است (۱۳). مطالعات مختلف، سمیت نانوذرات اکسید روی را بر باکتری ها،

جلبک ها و سلول های پستانداران تأیید کرده است. برای مثال نانوذرات اکسید روی باعث مهار قابل توجه رشد در اشرشیاکلی (*E. coli*) و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) می شود (۱۴). Jeng و Swanson دریافتند که نانوذرات ۵۰ نانومتری اکسید روی در غلظت ۱۰۰ ppm باعث مرگ ۵۰٪ از سلول های نوروبلاستومای موش در محیط آزمایشگاهی و در غلظت ۱۲ ppm باعث القا آپوپتوز در سلول های بنیادی عصبی می شود (۱۵). Wang و همکاران گزارش دادند که یکبار اعمال خوراکی نانوذرات اکسید روی می تواند باعث زخم های کلیوی مشخص و آنمی شود (۱۶). مطالعات متعدد شواهد زیادی ارائه می کند که نانوذرات اکسید روی به طور گسترده در خون، شش ها، کلیه، طحال، پانکراس، استخوان و سایر اندام ها توزیع می شود (۱۷). این ذرات باعث اختلال همئوستاز زینک سلولی و در نتیجه آسیب میتوکندریایی و مرگ سلولی می شوند (۱۸). تشکیل گونه‌ی اکسیژن واکنشی (ROS) در داخل سلول های در معرض نانوذرات می تواند به عنوان عامل بزرگ اثرات توکسیکولوژیکی که منجر به آسیب سلولی می شود، در نظر گرفته شود (۱۹، ۲۰). مطالعات اخیر نشان می دهد که اعمال ذرات اکسید روی چه در دوز پایین، چه در دوز بالا به طور قابل توجهی سطح مارکرهای التهابی سرم شامل TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha)، IL-6 (interleukin-6) و CRP (C-reactive protein) را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد. همچنین در کلیه‌ی موش های بیمار شده با دوز بالای نانوذرات اکسید روی آتروفی شدید و چندپارگی تعداد زیادی از گلوبولول ها، به اضافه‌ی پوست اندازی اپیتلیومی، انحطاط، نکروز و تراکم شدید حفرات کلیوی مشاهده

شد (۲۱). خطرات بالقوه‌ی اعمال مزمن نانوذرات اکسید روی بر پستانداران و انسان به خصوص پروفایل متابولیک آن‌ها همچنان ناشناخته است.

کلیه‌ها زوج لویبایی شکلی هستند با قسمتی فرورفته که شامل ساختمان‌های کوچک، کروی و قرمز رنگی به نام جسم کلیوی می‌باشند. لوله‌های ادراری (tubules Uriniferous) شامل دو قسمت، یکی بدون انشعاب به نام نفرون و دیگری منشعب به نام لوله‌های جمع‌کننده ادرار می‌باشند. تمامی این لوله‌ها بر روی بازال لامینا و بافت همبندی ظریف قرار دارند (۲۲).

محصول نهایی و اصلی متابولیسم پروتئین در کبد اوره است که از آمونیاک ساخته شده و از طریق کلیه دفع می‌گردد. سطح BUN در خون بیانگر پسماندهای غیر پروتئینی نیتروژن دار است که نشان دهنده‌ی جذب پروتئین و میزان عملکرد دفع کلیوی می‌باشد. میزان طبیعی BUN در محدوده ۲۰-۸ میلی گرم بر دسی لیتر است (۲۳). سطح BUN اغلب در بیماری‌های کلیوی افزایش می‌یابد، اما در ناتوانی قلبی با کاهش خونرسانی و یا در موارد شوک و کم‌آبی بدن نیز افزایش آن دیده می‌شود. به طور طبیعی تمام کراتینین تولید شده توسط بدن به طور مداوم توسط کلیه فیلتر و دفع می‌شود، بنابراین سطح کراتینین مستقیماً با سرعت فیلتراسیون گلوبولین مرتبط بوده و شاخص بسیار خاص اختلال عملکرد کلیوی می‌باشد. در زنان سطح کراتینین طبیعی در محدوده ۰/۹-۰/۶ میلی گرم بر دسی لیتر می‌باشد (۲۴). جراحی‌ها و آسیب‌های وارده به اندام‌ها از طریق افزایش پارامترهای بیوشیمیایی کلیه (و یا کبد) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (۲۵). اعمال نانوذرات منجر به تغییر شکل سلولی، عدم عملکرد میتوکندریایی و باعث کاهش SOD، تخلیه‌ی GSH و

آسیب اکسیداتیو DNA می‌شوند. سلول‌هایی که با دوز پایین نانوذرات اکسید روی کشت می‌شوند، دارای ذرات قهوه‌ای رنگ بوده که با افزایش دوز سلول‌ها جمع شده و شکل نامنظمی پیدا می‌کنند. در غلظت‌های بسیار بالاتر آپوپتوز، نکروز و کاهش تعداد سلول‌ها دیده می‌شود. مطالعات میکروسکوپی ثابت می‌کنند که سلول‌ها در دوزهای بالاتر ناهنجاری‌هایی در اندازه خواهند داشت، سلول‌ها چروک می‌شوند و شکلی نامنظم به دلیل افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی کسب می‌کنند. نانوذرات اکسید روی سمیت بالاتری را در سلول‌های جنینی کلیه‌ی انسان نشان می‌دهند (۲۶). بنابراین، هدف از این مطالعه آسیب بافتی ناشی از تأثیر دو روش خوراکی و درون صفاکی نانوذرات سمی اکسید روی بر روی عملکرد کلیه، نیتروژن اوره خون (BUN) و کراتینین در موش سفید آزمایشگاهی (*Mus musculus*) نر می‌باشد.

### روش بررسی:

تعداد ۷۵ عدد موش سفید آزمایشگاهی (*Mus musculus*) نر ۶ هفته‌ای از دانشگاه علوم پزشکی تهیه و به مدت یک هفته برای سازگار شدن با محیط آزمایشگاه در دمای  $21 \pm 1$  با چرخه‌ی روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شد. موش‌ها در محفظه‌های شیشه‌ای که در کف آن‌ها خاک اره ریخته شده، قرار داده شدند و به منظور پیشگیری از هرگونه آلودگی، خاک اره و محیط زندگی آن‌ها هر سه روز یکبار تمیز شد. موش‌ها با پلیت‌های غذایی محتوی مواد غذایی و ویتامین‌های ضروری تغذیه شده و آب مورد نیاز موش‌ها روزانه در اختیار آن‌ها قرار داده شد.

نانوذرات اکسید روی از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان واقع در مشهد خریداری شد. مشخصات این نانو پودر به صورت زیر می باشد.

#### جدول شماره ۱: مشخصات نانوذرات اکسید روی

نوع نانو ذره	اکسید روی (Zinc Oxide)
درصد خلوص	+۹۹
اندازه نانو ذره	۱۰-۳۰ نانومتر
سطح ویژه	۶۰-۲۰۰ مترمربع بر گرم
رنگ	سفید شیری
فاز کریستالی	Single
شکل کریستالی	نزدیک به کروی
چگالی واقعی	۵/۶۰۶ گرم بر سانتی متر مکعب

ماده‌ی بیهوشی حاوی ۱۰ سی سی کتامین، ۱ سی سی آسپرومازین، ۰/۵ سی سی زایلازین، ۰/۵ سی سی دیاسپام از کلینیک دامپزشکی شهر کرد تهیه شد. همچنین سایر مواد مورد نیاز از قبیل فرمالین (برای جلوگیری از تخریب نمونه های بافتی پس از تشریح)، میکروتیوب (جهت نگهداری خون مربوط به هر نمونه پس از خون گیری جهت آنالیزهای بیوشیمیایی سرم خون)، ظروف پلاستیکی درب دار (جهت نگهداری نمونه های بافتی در کلروفرم)، سرنگ خون گیری، گاوآژ (برای خوراندن سوسپانسیون به موش ها)، سانتریفوژ (برای جداسازی سرم خون)، ترازو، داماسنج، لوله های محتوی هپارین (برای ممانعت از انعقاد خون)، لوازم آزمایشگاهی و وسایل تشریح تهیه شد.

موش ها به طور تصادفی به دو گروه تیمار خوراکی و تزریقی و یک گروه شاهد، هر کدام شامل ۲۵ عدد موش تقسیم شده و در ظرف هایی جداگانه قرار داده شدند. قبل از آزمایش موش ها وزن شده که متوسط وزن آن ها به طور تقریبی  $20 \pm 2$  گرم به دست آمد. یک روز قبل از تیمار موش ها در شرایط گرسنگی و تشنگی قرار داده شدند. در این مطالعه از غلظت ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانوذره ی اکسید روی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای ایجاد سمیت حاد استفاده شد. بنابراین میزان نانوی مورد نیاز برای هر موش با توجه به میانگین وزن موش ها (تقریباً ۲۰ گرم)، ۰/۰۵ گرم می باشد که این میزان پودر نانو اکسید روی را با ۱ میلی لیتر آب مقطر مخلوط نموده و به مدت ۱۵ دقیقه به هم زده تا به صورت سوسپانسیونی به رنگ سفید شیری مشاهده شود (نانوذرات اکسید روی در غلظت زیاد در آب نامحلول است). در گروه تیمار خوراکی میزان ۰/۰۵ گرم بر میلی لیتر نانوذره ی اکسید روی به کمک آمپول گاوآژ به هر یک از موش ها خورانده شد و در گروه تیمار تزریقی همین میزان نانوذره به صورت درون صفاقی به هر موش تزریق شد. پس از تیمار آب و غذا در اختیار موش ها قرار داده شد و علائم بالینی همه روزه تا پایان دوره ی تیمار یادداشت شد. در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ پس از تیمار موش ها را بیهوش کرده و خونگیری به صورت مستقیم از قلب، انجام شد. نمونه ی خون هر گروه در داخل میکروتیوب قرار داده شد و برای تهیه ی سرم به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ قرار گرفت. فاکتورهای بیوشیمیایی کلیه (BUN و Cr) نیز در سرم خون اندازه گیری شد و با گروه شاهد مقایسه گردید. موش ها تشریح شده و بافت کلیه برای تهیه ی

مقایسه‌ی میانگین‌های مربوط به گروه کنترل با هر یک از گروه‌های تیمار انجام شد و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح احتمال ۹۵٪ ( $P < 0/05$ ) بررسی شد.

### یافته‌ها:

یک روز پس از تیمار مرگ ۳ موش از گروه تیمار تزریقی و ۱ موش از گروه تیمار خوراکی مشاهده شد. علائم بی‌حالی و رخوت در هر دو گروه مشاهده شد که این حالت در گروه تیمار تزریقی مشخص‌تر بود. نشانه‌های اسهال و بی‌اشتهایی در روزهای اول مشاهده شد که به مرور بهبود یافت. دو روز پس از تیمار ۱ موش دیگر از گروه تزریقی و در روز ۴ از تزریق ۲ موش دیگر از این گروه جان دادند. اثر نانوذرات اکسید روی بر سطح فاکتورهای بیوشیمیایی کلیه در سرم موش در جدول شماره ۲ به صورت میانگین (X) نشان داده شده است.

اسلاید بافتی و بررسی آثار پاتولوژیک احتمالی آن استخراج و در ظرف‌های حاوی فرمالین نگهداری شد. اسلایدهای تهیه شده از بافت کلیه نیز با گروه شاهد مقایسه شد.

برای تهیه اسلاید از نمونه‌های بافتی پس از تشریح، نمونه‌های بافت را داخل فرمالین ۱۰٪ قرار داده و پس از ۲۴ ساعت برای تهیه‌ی اسلایدهای پاتولوژی از هر یک از نمونه‌ها مقطع تهیه کرده و برای انجام سایر مراحل از جمله آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه کردن درون دستگاه اتوتکنیکون قرار می‌دهیم. در مرحله تهیه مقطع از دستگاه میکروتوم استفاده کرده و برش‌ها روی ضخامت ۵ میکرون تنظیم می‌شود و نهایتاً نمونه‌ها رنگ آمیزی و شسته شده و در ظروف حاوی گزیرلول قرار می‌گیرند.

سرانجام برای رسم نمودار مربوط به تغییرات فاکتورهای سرمی در گروه‌های مختلف تیمار و شاهد از نرم‌افزار صفحه‌گسترده (Excel) و برای مقایسه‌ی داده‌ها بین گروه‌های تیمار و شاهد از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از روش واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و سپس آزمون LSD برای

جدول شماره ۲: سنجش بیوشیمیایی سرم (X)

پارامترها	گروه شاهد	تیمار روز ۱	تیمار روز ۷	تیمار روز ۱۴
		تزریقی	خوراکی	تزریقی
BUN (میلی گرم بر دسی لیتر)	۲۱±۲	*۲۶±۱	۲۲±۳	۵۰±۱۶*
Cr (میلی گرم بر دسی لیتر)	۰/۴±۰/۲	۰/۵۳±۰/۵	۰/۴۳±۰/۱	۰/۹۶±۰/۱*

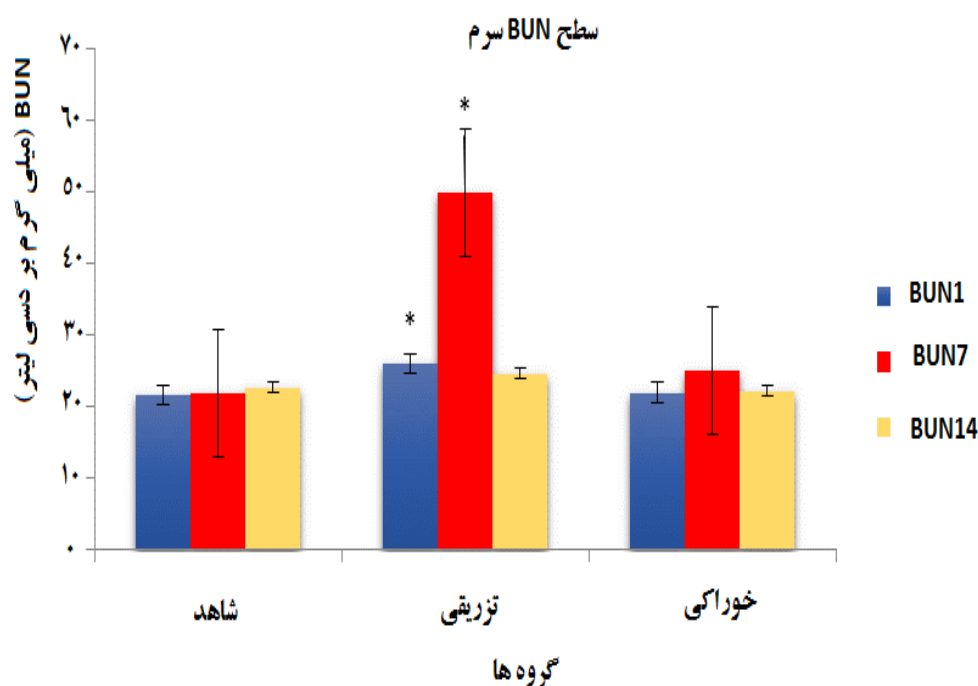
\*: تفاوت معنی‌دار بین هر یک از گروه‌های تیمار با شاهد در سطح  $P < 0/05$ .

LSD به کمک برنامه SPSS نشان داد که سطح BUN سرم در گروه تیمار تزریقی در روز ۱ و ۷ نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. نتایج نشان داد که افزایش

داده‌های حاصل از سنجش فاکتورهای سرمی به کمک دستگاه اتوانالایزر و نتایج آنالیز داده‌ها از طریق روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون

می باشد. اختلاف معنی داری بین گروه تیمار تزریقی و کنترل در روز ۱۴ و همچنین بین گروه تیمار خوراکی و کنترل در هیچ یک از روزهای آزمایش مشاهده نشد (نمودار شماره ۱).

سطح BUN سرم در این دو روز در سطح  $P < 0.05$  نسبت به گروه شاهد معنی دار می باشد. همچنین مشخص شد تفاوت افزایش سطح BUN بین دو گروه تیمار تزریقی و خوراکی در سطح  $P < 0.05$  معنی دار

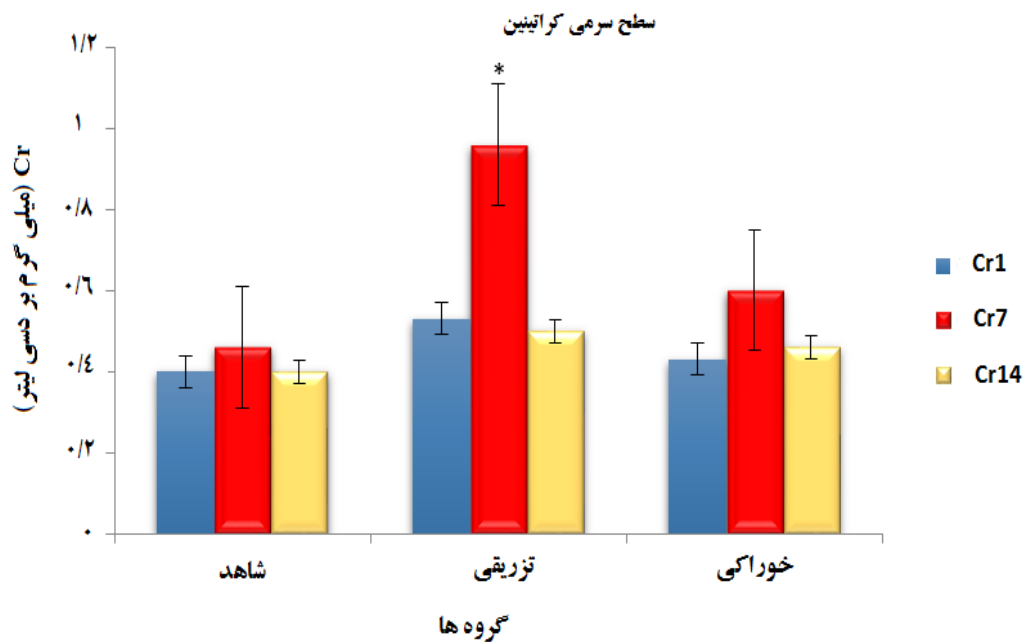


**نمودار شماره ۱:** تغییرات سطح سرمی نیتروژن اورهی خون BUN در دو تیمار مختلف با نانوذرات اکسید روی

افزایش معنی دار سطح نیتروژن اوره خون در دو روز ۱ و ۷ در گروه تیمار تزریقی مشاهده می شود.

که این افزایش در سطح  $P < 0.05$  معنی دار بود. علاوه بر آن اختلاف معنی داری بین گروه تیمار تزریقی و خوراکی روز ۷ در سطح  $P < 0.05$  مشاهده شد. اختلاف معنی داری بین گروه تیمار تزریقی و کنترل در روزهای ۱ و ۱۴ و همچنین بین گروه تیمار خوراکی و کنترل در هیچ یک از روزهای آزمایش مشاهده نشد (نمودار شماره ۲).

بعد از جداسازی سرم خون مربوط به گروه های تیمار و شاهد و سنجش میزان فاکتورهای سرمی به کمک دستگاه اتوآنالایزر، داده های حاصل از طریق روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون LSD تجزیه و تحلیل شدند و مشخص شد که سطح کراتینین سرم خون در گروه تیمار تزریقی در روز ۷ نسبت به گروه شاهد افزایش یافته



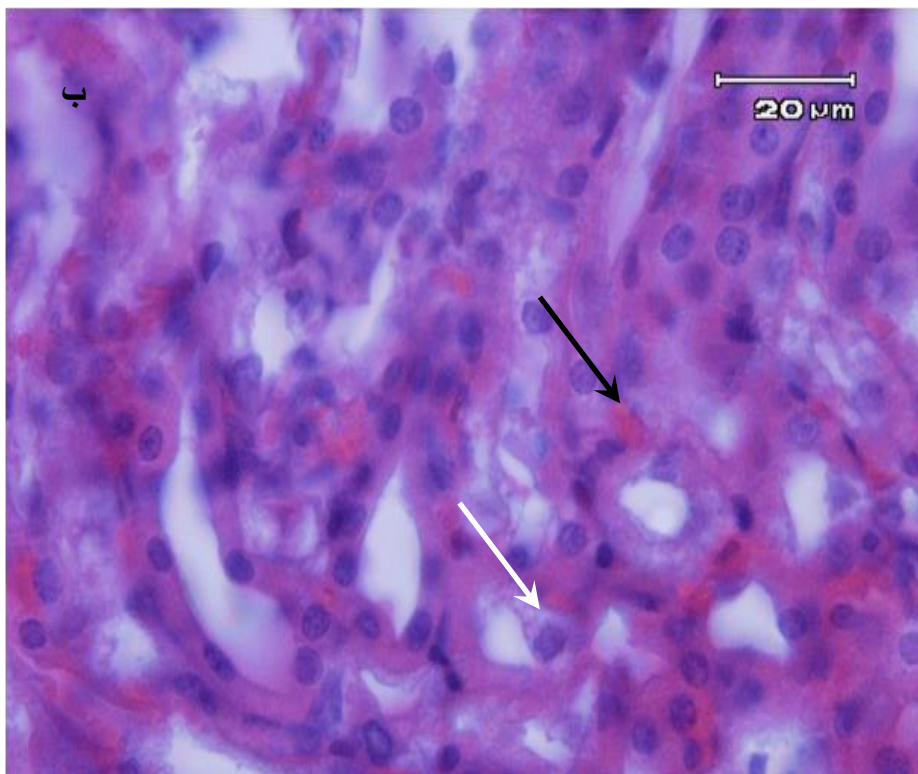
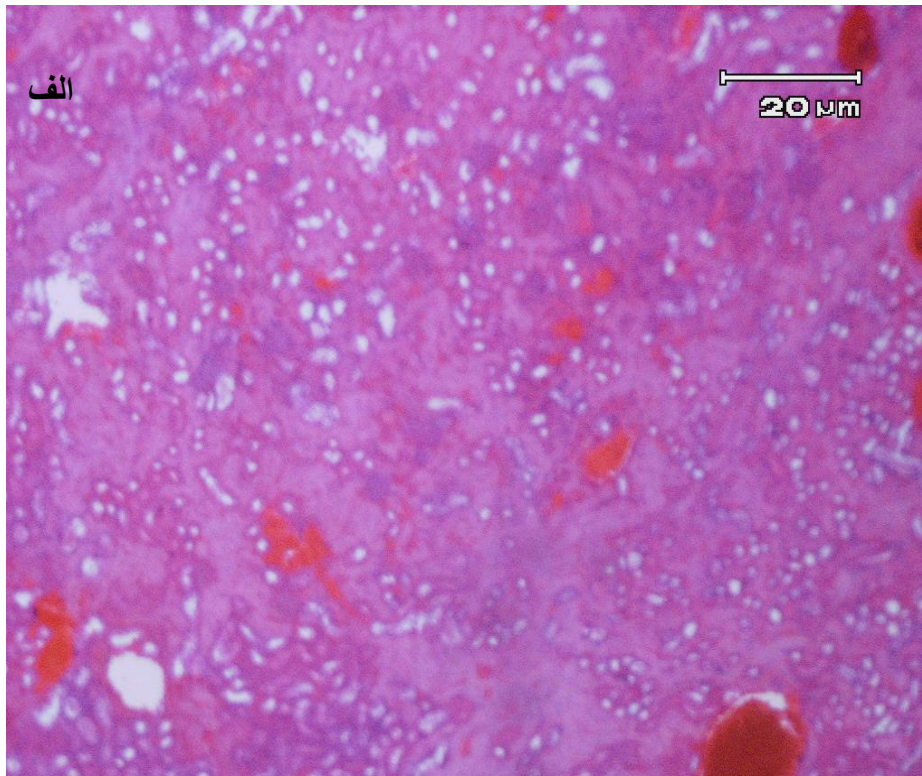
### نمودار شماره ۲: تغییرات سطح سرمی کراتینین (Cr) در دو تیمار مختلف با نانوذرات اکسید روی

افزایش معنی دار سطح کراتینین سرم در روز ۷ در گروه تیمار تزریقی مشاهده می شود.

داد. در این روز در برخی لوله ها ترشح مایع کلوئیدی در داخل لوله ها مشاهده گردید. علائم بیماری شناسی مشاهده شده به طور یکنواخت تا روز ۱۴ آزمایش ادامه داشت. در گروه تیمار خوراکی نیز علائم آسیب شامل اتساع عروقی و نفوذ سلول های خونی به داخل بافت مشاهده شد که نسبت به گروه تیمار تزریقی شدت کمتری را نشان داد. در این گروه در روز ۷ واکنش شدن سیتوپلاسم سلول های جداری لوله های پروکسیمال را در تعداد اندکی از سلول ها نسبت به گروه تزریقی نشان داد. در تعدادی از سلول ها گسستگی غشا رخ داده و سیتوپلاسم به بیرون نفوذ کرده و هسته در برخی سلول ها چند وجهی یا تکه تکه شده بود (نکروز سلول ها). علائم پرخونی مشاهده شده از روز ۱ تا ۱۴ ادامه داشته و به مرور افزایش نشان داد (تصاویر شماره ۱ و ۲).

نمونه های بافتی تهیه شده از کلیه در زیر میکروسکوپ قرار داده شد و به صورت کیفی با نمونه های شاهد مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج زیر مشاهده شد.

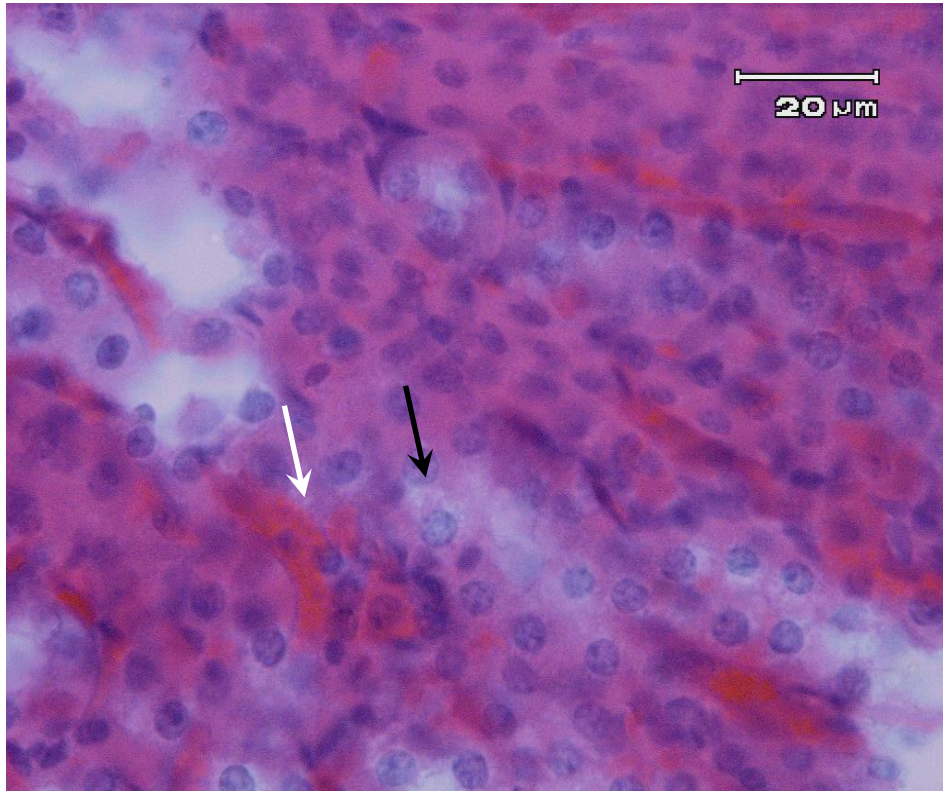
در بافت کلیه ی گروه تزریقی روز ۱ گلودرول ها به نحوی توسعه یافتند و تمام فضای ادراری را اشغال نمودند. هیمنطور علائمی از اتساع عروقی و نفوذ سلول های خونی به داخل عروق متسع شده و ما بین لوله های ادراری، مشاهده شد. سیتوپلاسم سلول های پروکسیمال حالت کدر و کف آلودی به خود گرفته و حتی در برخی نقاط واکنش شدن سیتوپلاسم سلول های جداری لوله ها مشاهده شد. در طول آزمایش و در روز ۷ کاهش حالت واکنش شدن سلول های جداری لوله ها دیده شد و سایر علائم نسبت به روز ۱ حالت مزمن تری را نشان



**تصویر شماره ۱: الف) ساختار بافت کلیه‌ی گروه شاهد؛ ب) ساختار بافت کلیه‌ی گروه تیمار تزریقی با نانوذرات اکسید روی**

به پرخونی بین لوله‌های ادراری (فلش مشکی) و همچنین واکنش شدن سلول‌ها (فلش سفید) توجه شود، (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰۰×).





**تصویر شماره ۲:** ساختار بافت کلیه‌ی گروه تیمار خوراکی با نانوذرات اکسید روی

کاهش واکوئله شدن سلول‌ها (فلش مشکی) مشهود است. در برخی نواحی پرخونی (فلش سفید) مشاهده می‌گردد، (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰۰×).

### بحث:

بافت های بدن است (۲۸،۲۹). نانوذرات اکسید روی در هر دو گروه خوراکی و تزریقی نهایتاً به داخل جریان خون جذب می شوند. در گروه تزریقی و خوراکی سطح میزان روی در سرم به سرعت در مدت ۳۰ دقیقه افزایش می یابد و پس از ۶ ساعت به حداکثر میزان اولیه خود می رسد. البته میزان روی در سرم و در گروه خوراکی پس از ۶ ساعت کاهش می یابد و پس از ۴۸ ساعت به سطح اولیه‌ی خود باز می گردد. در حالی که سطح روی سرم در گروه تزریقی به مدت ۷۲ ساعت در این حالت باقی می ماند. بهر حال سهم زیادی از نانوذرات اکسید روی خورده شده به طور مستقیم با پاکسازی سریع از طریق مدفوع حذف می گردد (۳۰). مرگ و میر نسبتاً پایین در موش های تیمار خوراکی در مطالعه اخیر به دلیل انسداد روده ای ناشی از تجمع

در این مطالعه برای مشاهده‌ی خواص سمی نانوذرات اکسید روی، مشاهده‌ی جذب آن ها به دو روش خوراکی و تزریق درون صفاقی انجام شد. قبلاً تأثیر سمی نانوذرات اکسید روی بر جراحی غشای سلولی، التهابات، آپوپتوز و صدمه به DNA نشان داده شده است (۱۶، ۲۷). این مطالعه منطبق با نتایج سایر محققین در رابطه با اکسید روی است. مثلاً مطالعه ای که توسط Li و همکاران انجام شده نانوذرات اکسید روی ۱۰۰ نانومتری با دوز ۲/۵ گرم بر کیلوگرم از طریق اعمال درون صفاقی انباشتگی زیادی در کلیه و سایر اندام ها (کبد، طحال و قلب) نشان داد (۹). در واقع در شمار زیادی از مطالعات نشان داده شده که اکسید روی قادر است یون های روی را در محلول آبی آزاد کند و یون روی عامل اصلی صدمه و آسیب به سلول ها و

بدکاری معدی- رودی ممکن است به گلوکز کاهش یافته سرم نسبت داده شود (۳۲). نقش  $Zn^{2+}$  آزاد شده از نانوذرات اکسید روی در ناهنجاری میتوکندریایی که باعث مهار تنفس میتوکندریایی می شود، مشخص شده است. انتشارات اولیه نشان می دهند که افزایش سطح  $Zn^{2+}$  داخل سلولی می تواند باعث مهار فعالیت های آنزیمی چرخه ی کربس که در میتوکندری قرار دارند به خصوص آلفا کتوگلو تارات دهیدروژناز، آنزیم مهم چرخه ی کربس شود. مهار این آنزیم ممکن است نه تنها باعث کاهش سوکسینات، سیترات و الفاکتوگلو تارات در ادرار و عصاره ی کلیه شود بلکه باعث استرس اکسیداتیو، آسیب میتوکندریایی و جراحات غشایی نیز می گردد (۳۳).

به نظر می رسد که نانوذرات پس از استنشاق، هضم یا تزریق درون رگی به سیستم گردش خون می رسند. پس از آن در اندام های مختلفی از جمله کبد، طحال، کلیه ها، مغز و قلب منتشر می گردند. کلیه نقش مهمی در حذف مواد خارجی از بدن ایفا می کند، بنابراین نانوذرات جذب شده در سیستم گردش خون توسط کلیرنس کلیوی خارج می شوند. چنین جا به جایی هایی به خواص فیزیوشیمیایی نانوذرات بستگی دارد و مهاجرت آن ها به نقاط دور با توجه به سمیت آن ها مسأله ی مهمی است (۳۴). مکانیسم اثر نانوذرات اکسید روی را می توان بر اساس گزارش Guan و همکاران به تولید رادیکال های آزاد پس از تیمار نسبت داد که اثرات مخربی بر بافت کلیه خواهد داشت (۲۶). بر این اساس تولید رادیکال های آزاد در محدوده ی متغیری از نانو مواد یافت شده است که یکی از مکانیسم های مقدماتی سمیت نانوذرات می باشد و ممکن است منجر به استرس اکسیداتیو، التهاب، آسیب متعاقب پروتئین ها، غشاء و DNA شود. در این مطالعه آسیب های کلیوی شدیدی در موش های تیمار تزریقی با نانو اکسید روی مشاهده شد و تغییرات مهمی در سطح فاکتورهای بیوشیمیایی خون ایجاد شد. افزایش محصولات چرخه ی کربس ممکن است منسوب به

نانوپار تیکل ها مشاهده شد که بر نتایج حاصل از آزمایشات Wang و همکاران منطبق بود (۱۶). ذرات تزریق شده به صفاق به طور موثرتری قادر به گسترش در قلب، شش و بیضه ها می باشند. نقاطی که ذرات تغذیه شده قادر به رسیدن به آن نبودند. همین موضوع مرگ و میر بیشتر در گروه تیمار تزریقی با نانوذرات اکسید روی را توجیه می کند. بر طبق مطالعات اخیر ورود ذرات به سیستم گردش خون ممکن است منجر به بروز حساسیت شدید و شوک آنافیلاکسی شود (۳۱). پس از ورود، نانوذرات قادر به جایگیری در میتوکندری، اندوزوم و لیزوزوم می باشند و می توانند باعث استرس اکسیداتیو شوند که نهایتاً منجر به آسیب ژنتیکی یا موتاسیون در موجودات فعال از نظر متابولیکی شوند. بر طبق گزارش Li و همکاران آستانه ی رویداد سمی شدن نانوذرات اکسید روی در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر است که این غلظت را در این مطالعه می توان در هر دو گروه خوراکی و تزریقی مشاهده کرد (۹). در گروه خوراکی با خاصیت افزایش سطح روی سرم، حدود ۲ تا ۶ ساعت زمان کافی است تا تحریک تولید سوپر اکسید آغاز شود و رخدادهای مسمومیت سلول ها در سلول های هیپاتوسیت و اندوتلیال آغاز شود. ۴۸ ساعت پس از گواژ سطح روی در سرم و کبد به حالت پایه بر می گردد که با کاهش فعالیت فاکتورهای کبدی هماهنگ است (۳۰). در این بررسی مشاهده شد حیوانات تیمار با نانوذرات اکسید روی نشانه های مسمومیت مثل اسهال را نشان می دهند که با مشاهده ی تأخیر در رشد هماهنگ می باشد. در آزمایشی که توسط Wang و همکاران نیز انجام شده بود، علائم شدیدی از تهوع، استفراغ و اسهال در موش های تیمار شده با پودر نانوذرات روی در روزهای آغازی تیمار دیده شد که با گزارش های قبلی در رابطه با تجویز زیاده از حد نمک های روی به صورت خوراکی منطبق بود. علاوه بر آن سطح  $Mg^{2+}$  و فسفر در گروه خوراکی افزایش نشان داد. بر طبق گزارش Yan و همکاران افزایش دفع گلوکز در ادرار، کاهش مصرف غذا و

نکروز سلول های اپیتلیال توبولی کلیه باشد که توانایی بازجذب محصولات چرخه ی کربس را از بین می برد (۳۲).

سطح BUN و Cr سرم خون شاخص های خوبی برای آسیب های کلیوی هستند. اگر عملکرد کلیوی کاهش پیدا کند، میزان BUN و Cr سرم افزایش خواهد یافت. سطح کراتینین مستقیماً با سرعت فیلتراسیون گلومرولی مرتبط می باشد و شاخص بسیار خاص اختلال عملکرد کلیوی می باشد (۳۵). گرچه سطوح بالای BUN اغلب مربوط به بیماری کلیه می باشد، اما از طریق کاهش خونرسانی کلیوی در ناتوانی قلبی، شوک یا کم آبی بدن نیز افزایش می یابد. عوامل خارج کلیوی مانند مصرف بیش از حد پروتئین در رژیم غذایی و افزایش کاتابولیسم پروتئین در نتیجه سوختگی ها یا خون ریزی معده نیز میزان BUN را افزایش می دهد. از آنجا که هر یک از این عوامل می تواند سطح اوره را تغییر دهد، BUN کمتر از کراتینین برای ارزیابی وضعیت کلیه اختصاصی می باشد (۳۶).

در این مطالعه افزایش قابل توجهی در سطح Cr و BUN سرم در روز ۷ در گروه تیمار تزریقی مشاهده شد که این افزایش در سطح  $P < 0/05$  معنی دار بود. علاوه بر آن یک روز پس از تیمار در گروه تیمار تزریقی سطح BUN نیز افزایش قابل توجهی نشان داد. نتایج آماری تفاوت قابل توجهی را در سطح  $P < 0/05$  در سطح Cr و BUN سرم بین گروه خوراکی و تزریقی نشان می دهد. به علاوه بیشتر موش ها نکروز آشکار سلول های اپیتلیال توبولی را نشان دادند که منطبق با مطالعه Yan و همکاران در رابطه با نکروز سلولی حاصله از نانوذرات اکسید روی در رت می باشد (۳۲). افزایش BUN و CREA سرم بر آسیب کلیوی بالقوه دلالت دارد. این نتایج با یافته های هیستوپاتولوژیکی تأیید شد که پرخونی بین بافتی مشخص، اتساع عروقی و واکنش شدن سیتوپلاسم و گسستگی غشا سلول های جداری لوله های پروکسیمال را نشان می داد. این نتایج با

گزارش قبلی که نشان می داد BUN و CREA سرم با یک دوز مجزا از نانوذرات اکسید روی به طور قابل توجهی افزایش دارد، تأیید شد. به همین ترتیب در آزمایش Wang و همکاران آسیب های بالینی کلیوی در موش ها به صورت آماس اندک گلومرولی بعد از تیمار با نانوذرات یا میکروذرات روی مشاهده شد، اما اتساع توبولار کلیوی و مواردی از پروتئیناسیوز یا مشاهده شدن پروتئین در توبول های کلیوی در موش های تیمار شده با پودر نانوذرات روی دیده شد (۱۶).

بر طبق گزارش Yan و همکاران، تغییرات قابل توجهی در متابولیت های ادراری در موش های تیمار شده با نانوذرات اکسید روی مشاهده شد؛ از جمله گلوکز، کولین، فسفوکولین، لاکتات، تائورین و محصولات چرخه ی کربس. چون این متابولیت ها در ساختار غشاء سلولی و متابولیسم انرژی درگیر می باشند، بنابراین احتمال می رود که نانوذرات اکسید روی باعث آسیب میتوکندری در کلیه و غشای آن می شوند. بر طبق گزارش Yan و همکاران، لوله ی خمیده ی پروکسیمال ممکن است هدف اصلی نانوذرات اکسید روی باشد. نتایج مطالعه اخیر با بسیاری از مطالعات مربوط به سمیت بالقوه ی نانوذرات بر هدف های توبولار و گلومرولار کلیوی قابل توضیح است. مثلاً در آزمایش فداح و همکاران مشخص شد، پس از اعمال نانوذرات، آسیب کلیوی با تغییرات مرفولوژیکی، پاتولوژیکی و سلولی منجر به بدکاری کلیه می شود (۲۱). علاوه بر آن، سطح اوره و کراتینین سرم نیز به طور قابل توجهی در موش های مسموم شده با نانوذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل افزایش می یابد. این یافته های بیوشیمیایی با آزمایشات هیستوپاتولوژیکی بافت کلیه که نشان می داد در حیواناتی که دوز بالایی از نانوذرات اکسید روی را دریافت کردند گلومرول های بسیاری دستخوش آتروفی و چند پارگی قرار گرفتند، مورد حمایت قرار گرفت. علاوه بر این، لوله های کلیوی دچار پوست

آماري هيچ گونه ارتباط معنی داری بین گروه های تیمار با کنترل در روز ۱۴ دیده نشد که می تواند به سبب بهبودی کلیه در این روز اتفاق افتاده باشد. بررسی های بافت شناسی آسیب های بافتی مشخصی را در کلیه به اثبات رساند. این تحقیق نشان می دهد که غلظت حاد نانوذرات اکسید روی سبب آسیب های جدی و فیزیولوژیک از جمله پرخونی، نکروز تعداد کمی از سلول ها، هیدراته شدن سلول های پروکسیمال و تورم کلیوی می شود.

در پایان پیشنهاد می شود سایر اندام ها به ویژه کبد و مغز با دوزهای متفاوت مورد بررسی قرار گیرد. ضمناً تغییرات سرمی ناشی از سمیت نانوذرات اکسید روی بر روی سلول های خونی مورد ارزیابی قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی:

از کلیه افرادی که بهر نحو با انجام این تحقیق ما را حمایت کردند، به ویژه پرسنل محترم آزمایشگاه فارماکولوژی دانشگاه شهرکرد تشکر و قدردانی می گردد. این تحقیق بخشی از پایان نامه ۹۱۳۱۲۱۱۵ مورخ ۹۲/۴/۱۷ در دانشگاه شهرکرد می باشد.

اندازی اپتلیومی، تغییر شکل و نکروز شدند. تعدادی از لوله های کلیوی، قطعات آهنی را در لومینایشان نشان دادند. تراکم شدیدی نیز در حفره های کلیوی مشاهده شد. این نتایج ممکن است نشان دهد که نانوذرات اکسید روی باعث القاء جراحات التهابی کلیه از طریق تولید واسطه های التهابی می شوند (۲۱).

### نتیجه گیری:

به منظور تعیین خواص سمی مضر نانوذرات اکسید روی، میزان جذب آن ها به دو روش خوراکی و تزریقی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش های سرمی عملکرد بیوشیمیایی کلیوی با استفاده از دوز ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسید روی به صورت خوراکی یا تزریق درون صفاقی نشان داد که سطح BUN و Cr سرم در گروه های تیمار با نانوذرات اکسید روی به خصوص گروه تیمار تزریقی در روز ۷ افزایش قابل ملاحظه ای داشت که نشان دهنده ی آسیب جدی کلیه می باشد. علاوه بر آن افزایش سطح BUN در روز ۱ نیز درصد قابل توجهی را نشان داد که احتمالاً ناشی از آسیب کبدی در این روز است. در بررسی های

### منابع:

1. Cho WS, Duffin R, Howie SE, Scotton CJ, Wallace WA, Macnee W, et al. Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles: The role of  $Zn^{2+}$  dissolution inside lysosomes. Part Fibre Toxicol. 2011; 8: 27.
2. Nounou H, Attia H, Shalaby M, Arafah M. Oral exposure to zinc oxide nanoparticles induced oxidative damage, inflammation and genotoxicity in rat's lung. Life Sci J. 2013; 10(1): 1969-79.
3. Chu D, Gao J, Wang Z. Neutrophil-mediated delivery of therapeutic nanoparticles across blood vessel barrier for treatment of inflammation and infection. ACS Nano. 2015; 9(12): 11800-11.
4. Chang H, Ho CC, Yang CS, Chang WH, Tsai MH, Tsai HT, et al. Involvement of MyD88 in zinc oxide nanoparticle-induced lung inflammation. Exp Toxicol Pathol. 2013; 65(6): 887-96.
5. Rzigalinski BA, Strobl JS. Cadmium-containing nanoparticles: Perspectives on pharmacology and toxicology of quantum dots. Toxicol Appl Pharmacol. 2009; 238(3): 280-8.
6. Juzenas P, Chen W, Sun YP, Coelho MA, Generalov R, Generalova N, et al. Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer. Adv Drug Deliv Rev. 2008; 60(15): 1600-14.
7. In: Goldman L, Coussens C, editors. Implications of nanotechnology for environmental health research. The national academies collection: Reports funded by national institutes of health. USA: Washington DC; 2005.

8. Huang CC, Aronstam RS, Chen DR, Huang YW. Oxidative stress, calcium homeostasis, and altered gene expression in human lung epithelial cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicology in vitro: An international journal published in association with BIBRA*. 2010; 24(1): 45-55.
9. Li J, Guo D, Wang X, Wang H, Jiang H, Chen B. The photodynamic effect of different size zno nanoparticles on cancer cell proliferation *in vitro*. *Nanoscale Res Lett*. 2010; 5(6): 1063-71.
10. Nair S, Sasidharan A, Divya Rani VV, Menon D, Nair S, Manzoor K, et al. Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *J Mater Sci Mater Med*. 2009; 20 Suppl 1: S235-41.
11. Bystrzejewska-Piotrowska G, Golimowski J, Urban PL. Nanoparticles: their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Manag*. 2009; 29(9): 2587-95.
12. Abbasalipourkabir R, Moradi H, Zarei S, Asadi S, Salehzadeh A, Ghafourikhosroshahi A, et al. Toxicity of zinc oxide nanoparticles on adult male Wistar rats. *Food Chem Toxicol*. 2015; 84: 154-60.
13. Al-Suhaibani ES, El-Morshedi NA. Histopathological and ultrastructural effect of zinc oxide nanoparticles on male wistar rats submandibular glands. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2014; 9(6): 05-09.
14. Aruoja V, Dubourguier HC, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Sci Total Environ*. 2009; 407(4): 1461-8.
15. Jeng HA, Swanson J. Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *J Environ Sci Health Part A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2006; 41(12): 2699-711.
16. Wang B, Feng WY, Wang TC, Jia G, Wang M, Shi JW, et al. Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicol Lett*. 2006; 161(2): 115-23.
17. Guan R, Kang T, Lu F, Zhang Z, Shen H, Liu M. Cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity in human hepatocyte and embryonic kidney cells exposed to ZnO nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*. 2012; 7(1): 602.
18. Xia T, Kovoichich M, Liong M, Madler L, Gilbert B, Shi H, et al. Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS Nano*. 2008; 2(10): 2121-34.
19. Pujalte I, Passagne I, Brouillaud B, Treguer M, Durand E, Ohayon-Courtes C, et al. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Part Fibre Toxicol*. 2011; 8: 10.
20. Hanley C, Layne J, Punnoose A, Reddy KM, Coombs I, Coombs A, et al. Preferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles. *Nanotechnology*. 2008; 19(29): 295-303.
21. Faddah LM, Abdel Baky NA, Al-Rasheed NM, Al-Rasheed NM, Fatani AJ, Atteya M. Role of quercetin and arginine in ameliorating nano zinc oxide-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Complement Altern Med*. 2012; 12: 60.
22. Sisson S. Sisson and Grossmans the anatomy of the domestic animals. Getty R, editor. USA: Saunders; 1975.
23. Agrawal M, Swartz R. Acute renal failure. *Am Fam Physician*. 2000; 61(7): 2077-88.
24. Wallimann T, Wyss M, Raja Iyengar M, Manjunath G, Gross J, Anavekar N. Mammalian Serum and Plasma. *Arbor assays*. 2000: 21-40.
25. Perez E, Olmo R, Teijon C, Muniz E, Montero N, Teijon JM, et al. Biocompatibility evaluation of pH and glutathione-responsive nanohydrogels after intravenous administration. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015; 136: 222-31.

26. Guan R, Kang T, Lu F, Zhang Z, Shen H, Liu M. Cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity in human hepatocyte and embryonic kidney cells exposed to ZnO nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*. 2012; 7(1): 602.
27. Sharma V, Singh P, Pandey AK, Dhawan A. Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. *Mutat Res*. 2012; 745(1-2): 84-91.
28. Landsiedel R, Ma-Hock L, Kroll A, Hahn D, Schnekenburger J, Wiench K, et al. Testing metal-oxide nanomaterials for human safety. *Adv Mater*. 2010; 22(24): 2601-27.
29. Kao YY, Chen YC, Cheng TJ, Chiung YM, Liu PS. Zinc oxide nanoparticles interfere with zinc ion homeostasis to cause cytotoxicity. *Toxicol Sci*. 2012; 125(2): 462-72.
30. Li CH, Shen CC, Cheng YW, Huang SH, Wu CC, Kao CC, et al. Organ biodistribution, clearance, and genotoxicity of orally administered zinc oxide nanoparticles in mice. *Nanotoxicology*. 2012; 6(7): 746-56.
31. Szebeni J. Hypersensitivity reactions to radiocontrast media: the role of complement activation. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2004; 4(1): 25-30.
32. Yan G, Huang Y, Bu Q, Lv L, Deng P, Zhou J, et al. Zinc oxide nanoparticles cause nephrotoxicity and kidney metabolism alterations in rats. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2012; 47(4): 577-88.
33. Brown DM, Wilson MR, MacNee W, Stone V, Donaldson K. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: A role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2001; 175(3): 191-9.
34. Pujalte I, Passagne I, Brouillaud B, Treguer M, Durand E, Ohayon-Courtes C, et al. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Part Fibre Toxicol*. 2011; 8: 10.
35. Walliman T, Wyss M, Raja M, Manjunath G, Gross J, Anavekar N. Mammalian Serum and Plasma. *Arbor AS*. 2000; 281: 21-40.
36. Guo D, Bi H, Wu Q, Wang D, Cui Y. Zinc oxide nanoparticles induce rat retinal ganglion cell damage through bcl-2, caspase-9 and caspase-12 pathways. *J Nanosci Nanotechnol*. 2013; 13(6): 3769-77.

## Renal toxicity of administrations of toxic ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) in laboratory male mice *Mus musculus*

Heydarnejad MS<sup>1\*</sup>, Mosharafi A<sup>2</sup>, Mobini- Dehkordi M<sup>3</sup>, Fatahian R<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Zoology Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran; <sup>2</sup>Animal Physiology Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran; <sup>3</sup>Microbiology Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran; <sup>4</sup>Basic Sciences Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 24/May/2016 Accepted: 6/Aug/2016

**Background and aims:** With the rapid developments in nanotechnology, ZnO-NPs are increasingly being used in various aspects of our lives and their toxicity on body is escalating. This study aimed to investigate the histo-pathological effect of orally and intraperitoneal administrations of toxic ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) on kidney function in laboratory male mice *Mus musculus*.

**Methods:** In this experimental study, a group of 75 BALB/c male mice of about 6 weeks were randomly divided into three groups (n=25). Each of mice in both orally- and intraperitoneal treated groups received the same concentration of ZnO-NPs (0.05 g/ml). On days 1, 7 and 14 of the experiment blood was taken directly from the heart to get serum. The data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS. A significant difference was considered to be P<0.05. Finally, samples of kidney tissue were prepared and analyzed.

**Results:** In both intraperitoneal and oral treatment groups of mice, a significant increase in the serum level of BUN and Cr at day 7 was found with symptoms of vascular distension and infiltration of blood cells into the vessels, interstitial renal tubules and vacuolation of parietal cells of proximal tubules (necrosis). The observed tissue damage intensity in the orally administered group was less as compared with the intraperitoneal one.

**Conclusions:** A toxic concentration of ZnO-NPs causes serious physiological and pathological damages including congestion, necrosis in some cells, hydration of proximal tubules and kidney swelling in the oral group. However, the observed damages in the intraperitoneal group were lower as compared with the oral one.

**Keywords:** ZnO-NPs, BUN, Creatinine, Histology, Kidney.

**Cite this article as:** Heydarnejad MS, Mosharafi A, Mobini- Dehkordi M, Fatahian R. Renal toxicity of administrations of toxic ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) in laboratory male mice *Mus musculus*. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(2): 133-147.

**\*Corresponding author:**

Zoology Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00989173083810,  
E-mail: m\_heydarnejad@yahoo.com