مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۲۳، مهر ۱۴۰۳، ۵۸۸-۵۷۸

اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) بر سمیت کبدی-کلیوی نانوذرات نقره در موش‌های صحرایی نر: یک مطالعه تجربی

میلاد خزائی[۱]، مهرداد پویان‌مهر[۲]، علی ملکی[۳]، صمد علی‌محمدی[۴]، لیدا حق‌نظری[۵]

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۵/۱۷ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱۴۰۳/۰۶/۲۷ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸ پذیرش مقاله:۱۴۰۳/۰۷/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات سم‌شناسی روی نانوذرات نقره (Ag-NPs) به دلیل کاربردهای زیست‌پزشکی گسترده اهمیت زیادی دارد. به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای کاکوتی کوهی، هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر محافظتی این گیاه در برابر سمیت ناشی از Ag-NPs بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۰±۲۰۰ گرم به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل، گروه دریافت‌کننده Ag-NPs با دوز ۲۰۰ppm، گروه‌های دریافت‌کننده حیوانات عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی با دوزهای ۲۰، ۶۰ و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم همراه با (۲۰۰ ppm) Ag-NPs بودند. تجویز ترکیبات به صورت خوراکی و یک‌بار در روز به‌مدت ۳۰ روز بود. در پایان مطالعه، نمونه‌های خون جمع‌آوری و فعالیت سرمی آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و غلظت سرمی اوره و کراتینین اندازه‌گیری شدند. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تجویز Ag-NPs فعالیت سرمی آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و غلظت سرمی اوره و کراتینین را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد ($P<۰/۰۵$). این تغییرات طی درمان با عصاره کاکوتی کوهی در دوزهای مختلف نسبت به گروه دریافت‌کننده Ag-NPs بهبود یافت ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر کاکوتی کوهی ممکن است در پیش‌گیری از سمیت Ag-NPs مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، کاکوتی کوهی، سمیت کبدی-کلیوی، موش صحرایی

ارجاع: خزائی م، پویان‌مهر م، ملکی ع، علی‌محمدی ص، حق‌نظری ل، اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی (Ziziphora clinopodioides) بر سمیت کبدی-کلیوی نانوذرات نقره در موش‌های صحرایی نر: یک مطالعه تجربی. *مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان*، سال ۱۴۰۳، دوره ۲۳ شماره ۷، صفحات: ۵۸۸-۵۷۸.

۱- دانش‌آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۲- استادیار، گروه علوم پایه و پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، پژوهشکده فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- (نویسنده مسئول) استادیار، گروه علوم پایه و پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
تلفن: ۰۸۳-۳۸۳۲۰۰۴۱، پست الکترونیکی: S.alimohammadi@razi.ac.ir
۵- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]

[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

مقدمه

کاربرد فناوری نانو در پزشکی اثرات مهمی بر مراقبت‌های بهداشتی دارد. نانوذرات نقره (Silver Nanoparticles; Ag-NPs) به دلیل خواص منحصر به فرد در مقیاس نانو در بسیاری از محصولات تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرند. با استفاده روزافزون از محصولات Ag-NPs؛ علی‌رغم این واقعیت که این مواد دارای مزایای بی‌شماری هستند، اما می‌توانند باعث ایجاد انواع مشکلات زیست محیطی و سلامت انسان شوند. بنابراین مطالعه روی این ترکیبات به یک موضوع مهمی تبدیل شده است (۱). مسیرهایی که بدن می‌تواند در معرض Ag-NPs قرار گیرد شامل تماس مستقیم، استنشاق، بلع، تزریق داخل صفاقی یا داخل وریدی است که متعاقباً این مواد در گروه متنوعی از اندام‌های حیاتی مانند مغز، کبد، کلیه، ریه و طحال تجمع می‌کنند. مسیر و مدت قرار گرفتن در معرض، همراه با خواص فیزیکی و شیمیایی (مانند اندازه و سطح) Ag-NPs، به‌عنوان عوامل اصلی تعیین‌کننده در توزیع زیستی و پیامدهای پاتوفیزیولوژی شناخته می‌شوند (۲). تحقیقات بسیاری برای درک سمیت Ag-NPs انجام شده است. در داخل سلول، Ag-NPs می‌توانند تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS)، اختلال در متابولیسم انرژی و رونویسی ژن، و اتصال با گروه‌های تیول آزاد آنزیم‌ها و پروتئین های سلولی را القاء کنند. این مکانیسم‌ها منجر به تشکیل سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، آسیب DNA و در نهایت مرگ سلولی در اثر آپوپتوز یا نکروز می‌شود (۳). مطالعات نشان داده‌اند که Ag-NPs پس از تجویز سیستمیک باعث ایجاد هپاتوتوکسیسیتی (۴) و نفروتوکسیسیتی (۵) می‌شوند. همچنین Ag-NPs می‌توانند از سد خونی-مغزی عبور کرده و باعث اختلال عملکرد آن، تخریب نورونی و التهاب آستروسیت در موش صحرایی شوند (۶). علاوه بر این، تعدیل پاسخ ایمنی توسط Ag-NPs در چندین مطالعه تأیید شده است. برای مثال، پارامترهای ایمونولوژیکی شامل ایمونوگلوبولین G (Immunoglobulin G; IgG)، ایمونوگلوبولین M (Immunoglobulin M; IgM)، کمپلمان C3 (Complement-3; C3)، کمپلمان C4 (Complement-4; C4) و پروتئین واکنشی C (C-Reactive Protein; CRP) در پلاسمای موش‌هایی که به مدت ۳۰ روز در معرض Ag-NPs قرار گرفته بودند به شکل معنی‌داری افزایش یافت (۷).

گیاهان دارویی و فرآورده‌های طبیعی مدت‌ها است که به عنوان درمان سنتی برای بسیاری از بیماری‌ها و نیز کاهش اثرات مسمویتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. بیشتر فعالیت‌های گیاهان دارویی در درجه اول به ترکیبات فیتوشیمیایی آنها نسبت داده می‌شود. این به دلیل اثر فارماکولوژیک و آنتی‌اکسیدانی و نقش آنها در پیشگیری از استرس اکسیداتیو مرتبط با شرایط مختلف است (۸). کاکوتی کوهی با نام علمی (*Ziziphora clinopodioides*) از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد. این گیاه در سراسر جهان به ویژه در ایران، افغانستان، عراق و ترکیه پراکنده بوده و یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی است که در نواحی غربی ایران به ویژه استان کرمانشاه رشد زیادی دارد (۹). آنالیز فیتوشیمیایی گیاه کاکوتی کوهی اجزای مختلف فعال بیولوژیکی از قبیل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داده است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان Pulegone، Carvacrol، Thymol، p-cymene و γ-terpinene را نام برد (۱۰، ۹). تا کنون مطالعات متعددی در زمینه این گیاه انجام شده است. برای مثال اثرات ضد دردی (۹)، آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی (۱۱) و ضد التهابی (۱۲) به تأیید رسیده است. علاوه بر این، تأثیر محافظتی و ترمیم‌کنندگی عصاره هیدروالکلی *Ziziphora*

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]

[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

CCBY-NC.4.0 DEED

clinopodioides بر آسیب‌های بیضه‌ای ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین (Streptozotocin; STZ) و القاء دیابت در موش‌های صحرایی نر گزارش شده است (۱۳). همچنین، مهار آپوپتوز و پیشرفت رژنراسیون نورونی به دنبال تیمار حیوانات با عصاره‌های آبی و الکلی کاکوتی کوهی پس از آسیب نخاعی مشاهده شد (۱۴). مطالعه Sedighi و همکاران نیز نشان داد که درمان با عصاره هیدروالکلی این گیاه از آسیب‌های حافظه، اختلالات عصبی مرتبط با آلزایمر و مشکلات شناختی ناشی از تزریق داخل بطن مغزی STZ در موش‌های صحرایی نر جلوگیری کرد (۱۵). بنابراین، بر اساس مطالب ذکر شده و با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی ویژه گیاه کاکوتی کوهی و اینکه در بررسی منابع در خصوص اثرات محافظتی گیاه مذکور بر سمیت ناشی از Ag-NPs موردی مشاهده نگردید، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) بر سمیت ناشی از Ag-NPs در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام تحقیق، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰±۲۰۰ گرم و سن ۸ هفته که از واحد پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی تهیه شده بودند، مورد استفاده قرار گرفت. مطالعه حاضر در گروه علوم پایه و پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی در سال ۱۳۹۶ انجام شد. حیوانات در قفس‌های جداگانه در شرایط نوری استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد نگه‌داری شدند. دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود و از غذای پلیت آماده برای تغذیه موش‌ها استفاده شد. اصول اخلاقی هنگام کار با حیوانات رعایت گردید. حیوانات پس از یک هفته سازش با محیط آزمایشگاه، به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند (جدول ۱). این مطالعه همچنین دارای کد اخلاق از دانشگاه رازی کرمانشاه به شماره ثبتی Ethic Nubmer: 396-2-039 می‌باشد.

جدول ۱- گروه‌بندی تیمارهای مختلف استفاده شده در آزمایش

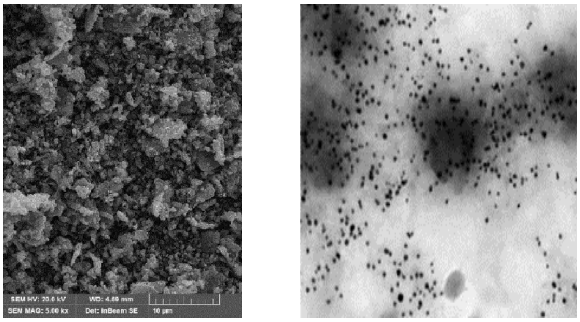
گروه ۱	کنترل؛ دریافت کننده نرمال سالین
گروه ۲	دریافت کننده Ag-NPs (۲۰۰ ppm)
گروه ۳	دریافت کننده عصاره هیدروالکلی *Z. clinopodioides* (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)+ Ag-NPs (۲۰۰ ppm)
گروه ۴	دریافت کننده عصاره هیدروالکلی *Z. clinopodioides* (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)+ Ag-NPs (۲۰۰ ppm)
گروه ۵	دریافت کننده عصاره هیدروالکلی *Z. clinopodioides* (۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)+ Ag-NPs (۲۰۰ ppm)

در تمامی گروه‌های مورد مطالعه، همه محلول‌ها به صورت تازه و به صورت خوراکی و به مدت ۳۰ روز به حیوانات تجویز شدند. در مطالعه حاضر، دوزهای مورد استفاده برای Ag-NPs بر اساس مطالعات قبلی (۷، ۱۶) و با در نظر گرفتن تحقیقات انجام شده در آزمایشگاه فیزیولوژی و فارماکولوژی انتخاب شد. Ag-NPs مورد استفاده در این تحقیق با کیفیت بالا و درجه خلوص بالای ۹۹ درصد بوده و از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (مشهد، ایران) تهیه شد. برای ارزیابی اندازه و مورفولوژی Ag-NPs از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscope; SEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (Transmission Electron Microscope; TEM) استفاده شد که توزیع یک دست نانوذرات و ساختار کروی آنها را مشخص ساخته و نشان داد ابعاد این نانوذرات ۴۰-۲۰ نانومتر می‌باشد. لازم به ذکر است که این آزمایشات توسط شرکت تهیه کننده انجام گرفت که

CCBY-NC.4.0 DEED
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]
[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

در شکل ۱ آمده است. پودر عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی از مجتمع صنایع دینه ایران (شرکت داروسازی، تهران، ایران) تهیه شد. گیاه تازه کاکوتی کوهی (تأیید شده توسط گیاه شناس: دکتر معصومی، با شماره هرباریوم ۶۸۱۶) جمع‌آوری گردید و به قطعات کوچک برش داده شد. برگ‌های کاکوتی کوهی در دمای اتاق تمیز و در زیر سایه با هوا خشک شدند و سپس با آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شدند تا فرم پودری آن به دست آید. عصاره‌گیری برای استخراج مواد مؤثر به روش خیساندن انجام گرفت. به این صورت که پودر گیاه با ۴۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در دستگاه سوکسله به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. سپس عصاره هیدروالکلی سه بار از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (Whatman, UK) عبور داده شد. در مرحله آخر با استفاده از دستگاه روتاری اواپراتور (Laborota 4000, Heidolph, Germany) با ۲۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. پس از خشک شدن کامل، در داخل شیشه‌های تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

پس از تهیه عصاره گیاه کاکوتی کوهی؛ جهت تیمار حیوانات، از عصاره خشک گیاه با دوزهای ۲۰، ۶۰ و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر اساس وزن بدن حیوانات توزین شده و در نرمال سالین تهیه شده و با حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت روزانه به موش‌های گروه‌های مورد نظر با سرنگ مخصوص به صورت گاواژ داده شد.



شکل ۱- تصاویر SEM و TEM نانوذرات نقره (Ag-NPs)

در پایان دوره آزمایش (۳۰ روز)، تمام موش‌ها وزن شده و با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس مستقیماً به کمک سرنگ ۵ میلی‌لیتری از قلب حیوانات نمونه خون گرفته شد. نمونه‌های خون با سانتریفیوژ (Hettich, EBA200S, Germany) با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند. نمونه‌های سرم به میکروتیوب استریل انتقال داده شده و تا آنالیز بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۷، ۱۷). سطوح سرمی آلکالین فسفاتاز (Alkaline Phosphatase; ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (Alanine Aminotransferase; ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate Aminotransferase; AST)، لاکتات دهیدروژناز (Lactate Dehydrogenase; LDH)، اوره و کراتینین (Creatinine) با استفاده از کیت‌های تشخیصی تجاری تهیه شده از شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) و توسط اتوانالایزر (Technicon RA-1000, Luton, UK) در آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی تعیین شدند (۱۸). فعالیت آنزیم‌های ALP، ALT، AST و LDH به صورت واحد بین‌المللی در لیتر (IU/L) و غلظت اوره و کراتینین به صورت میلی‌گرم در دسی‌لیتر (mg/dl) گزارش گردید (۱۸).

برای آنالیز داده‌های جمع‌آوری شده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده گردید. داده‌ها به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده‌اند. پس از تأیید نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ($p>۰/۰۵$) و تساوی واریانس گروه‌ها توسط آزمون Levene ($p>۰/۰۵$)، به منظور مقایسه میانگین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

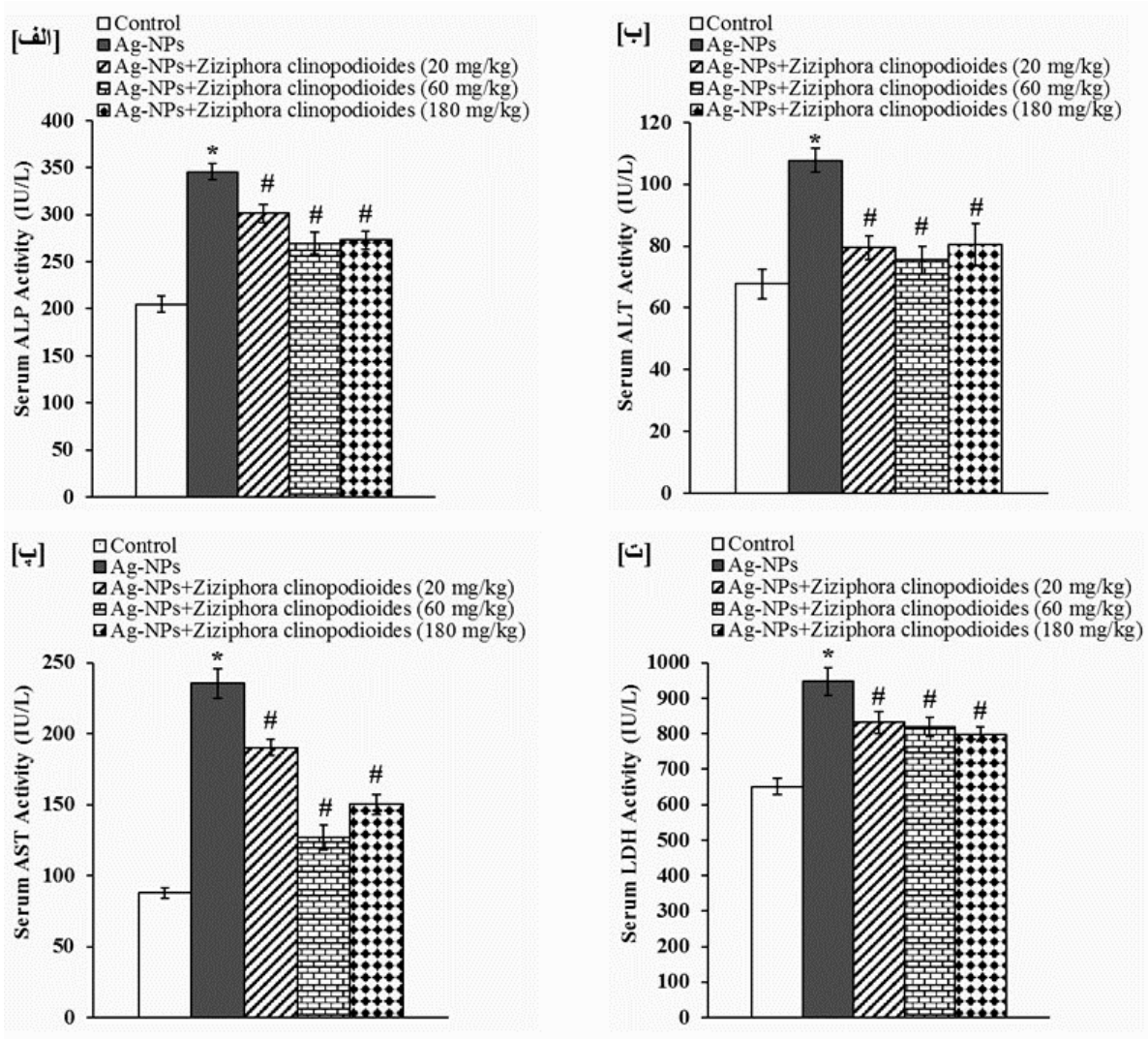
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]

[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

CCBY-NC.4.0 DEED

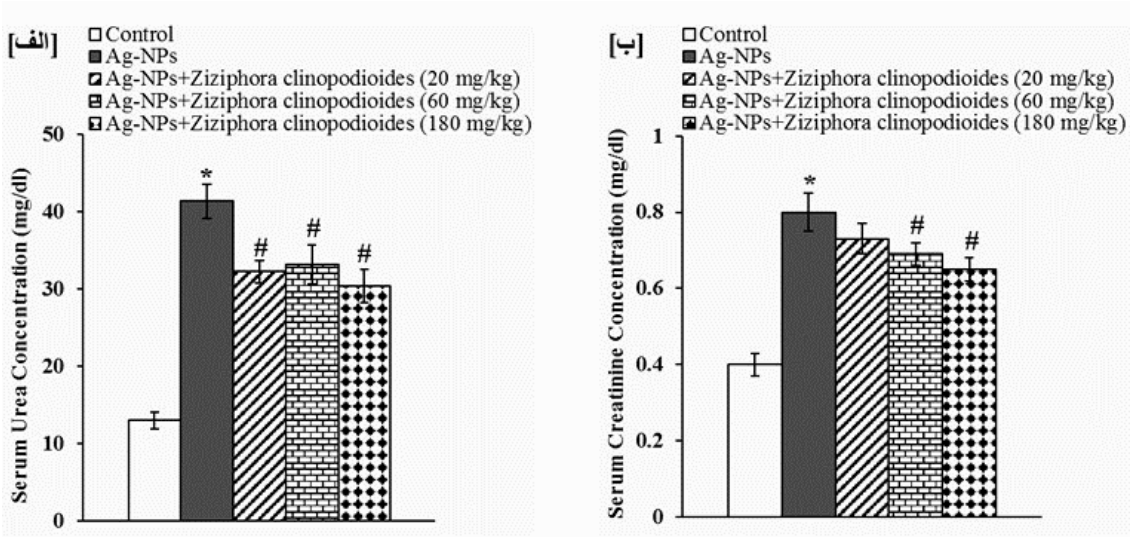
نتایج

القاء سمیت با Ag-NPs فعالیت سرمی آنزیم‌های ALP، ALT، AST و LDH را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد (p<۰/۰۵). تجویز عصاره کاکوتی کوهی در دوزهای ۲۰، ۶۰ و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سطوح بالای پارامترهای ذکر شده را کاهش داد (p<۰/۰۵) (نمودار ۱؛ الف-ت). غلظت سرمی اوره در گروه تیمار شده با Ag-NPs در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (p<۰/۰۵). تیمار با دوزهای مختلف عصاره کاکوتی کوهی سبب کاهش معنی‌دار غلظت سرمی اوره گردید (p<۰/۰۵) (نمودار ۲؛ الف). همچنین، غلظت سرمی کراتینین در گروه دریافت کننده Ag-NPs در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (p<۰/۰۵). دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره کاکوتی کوهی تأثیری بر افزایش سطح سرمی کراتینین نداشت (p□۰/۰۵) ولی عصاره کاکوتی کوهی (دوزهای ۶۰ و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) این افزایش را بهبود بخشیدند (p<۰/۰۵) (نمودار ۲؛ ب).



نمودار ۱- اثر عصاره Ziziphora clinopodioides بر فعالیت سرمی آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP) (الف)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) (ب)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) (پ) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) (ت) در سمیت ناشی از نانوذرات نقره (Ag-NPs) در موش‌های صحرایی نر. نمودار به صورت انحراف معیار±میانگین رسم شده است. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey آنالیز شدند. * اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (p<۰/۰۵) و # اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه تیمار شده با Ag-NPs (p<۰/۰۵) (n=٦).

CCBY-NC.4.0 DEED
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]
[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]



نمودار ۲- اثر عصاره Ziziphora clinopodioides بر غلظت سرمی اوره (الف) و کراتینین (ب) در سمیت ناشی از نانوذرات نقره (Ag-NPs) در موش‌های صحرایی نر. نمودار به صورت انحراف معیار±میانگین رسم شده است. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey آنالیز شدند. * اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (p<۰/۰۵) و # اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه تیمار شده با Ag-NPs (p<۰/۰۵) (n=٦).

بحث

مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر بهبود دهندگی عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) بر سمیت ناشی از نانوذرات نقره (Ag-NPs) در موش‌های صحرایی نر بالغ طراحی شد. نانوتکنولوژی به دلیل افزایش کاربردهای متنوع نانومواد در بسیاری از جنبه‌های زندگی بشر، حوزه‌ای است که در سال‌های اخیر به سرعت در حال توسعه است. نانوذرات به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد از جمله اندازه کوچک و سطح ویژه بالا، سمیت بالقوه‌ای نسبت به اندازه‌های بزرگ‌تر دارند (۱۹). یکی از نانو مواد پرکاربرد؛ Ag-NPs بوده که به دلیل اثرات ضد باکتریایی، اثرات ضد ویروسی و فعالیت ضد قارچی، یک نانو محصول برجسته با کاربردهای بالقوه در پزشکی و بهداشت محسوب می‌شوند. استفاده مکرر از Ag-NPs در محصولات مصرفی منبع مهمی برای قرار گرفتن در معرض آنها می‌باشد (۲۰). راه‌های اصلی ورود Ag-NPs عبارتند از: مصرف خوراکی، استنشاق، تماس پوستی، تزریق داخل صفاقی و داخل وریدی. Ag-NPs می‌توانند مستقیماً با عبور از غشاهای بیولوژیکی وارد گردش خون سیستمیک شوند. سپس Ag-NPs در اندام‌های مختلف توزیع شده و باعث ایجاد اثرات پاتوفیزیولوژیکی خاص اندام می‌شوند (۲۱).

بر اساس نتایج مطالعه ما، تجویز خوراکی Ag-NPs به مدت ۳۰ روز فعالیت سرمی ALP، ALT، AST و LDH را به طور معنی داری افزایش داد که می‌توان به عنوان شاخصی برای نارسایی کبد در نظر گرفت. این تغییرات طی درمان با عصاره هیدروالکلی *Z. clinopodioides* در دوزهای مختلف بهبود یافت. چندین مطالعه اثر مسمومیت کبدی Ag-NPs را از طریق مسیرها و دوزهای مختلف مورد بررسی قرار داده‌اند (۴، ۲۲، ۲۳) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. بلافاصله پس از جذب، Ag-NPs به پروتئین‌های پلاسما و سلول‌های خونی متصل شده و از طریق ورید باب به کبد منتقل می‌شوند. تجمع بیش از حد Ag-NPs در کبد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و رادیکال‌های آزاد را القاء می‌کنند، در نتیجه به اندامک‌های داخل سلولی آسیب رسانیده و مسیرهای سیگنال درون سلولی را به سمت آپوپتوز یا نکروز هدایت می‌کنند. Ag-NPs همچنین باعث ایجاد استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سایتوکاین‌های پیش

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]
[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

CCBY-NC.4.0 DEED

التهابی مانند IL-1β، IL-6 و TNF-α در بافت کبد می‌شوند (۲۴، ۲۲). آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان پاک کننده‌های قوی برای رادیکال های آزاد عمل کرده و از بروز شرایط پاتولوژیکی مرتبط با استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. کاهش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی در گروه تیمار شده با Ag-NPs در موش‌های صحرایی نر نیز گزارش شده است (۲۵). بنابراین، به نظر می رسد Ag-NPs افزایش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی را از طریق مکانیسم‌های ذکر شده تحریک می‌کنند و در نهایت منجر به تخریب هپاتوسیت ها و نشت این آنزیم‌ها از سیتوزول‌های کبدی به گردش خون می‌شوند.

گزارش شده است که Ag-NPs در صورت مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی در کلیه‌ها تجمع می‌یابند و باعث ایجاد مسمومیت کلیوی و آسیب بافت کلیه در موش صحرایی (۲۶) و موش سوری (۲۷) می‌شوند. در این راستا، از یافته‌های دیگر مطالعه حاضر این بود که القاء سمیت با Ag-NPs غلظت سرمی اوره و کراتینین را افزایش داد که به عنوان شاخصی برای نارسایی عملکرد کلیه محسوب می‌شود. مصرف عصاره هیدروالکلی *Z.clinopodioides* در دوزهای مختلف موجب کاهش سطوح افزایش یافته پارامترهای مذکور شد. این نتایج ثابت می‌کنند که عصاره کاکوتی کوهی بر روی عملکرد بافت‌های کبد و کلیه در سمیت ناشی از Ag-NPs دارای اثر محافظتی می‌باشد. علیرغم کبد، کلیه‌ها نیز به عنوان ارگان هدف اصلی به Ag-NPs حساس هستند. Ag-NPs می‌توانند آسیب اکسیداتیو را از طریق یک فرآیند با واسطه ROS القاء کنند. همچنین، Ag-NPs از طریق کاهش مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی ناشی از برهمکنش با سیستم آنتی‌اکسیدانی، موجب تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۲۸). آسیب اکسیداتیو، فرآیندهای پیش‌التهابی، القاء آپوپتوز و تغییرات ساختارهای آناتومیکی از عوامل اصلی مربوط به نفروپاتی هستند. آسیب کلیوی و اختلال ظرفیت فیلتراسیون گلومرولی کلیه، میزان اوره و کراتینین را در سرم افزایش می‌دهد (۲۹).

از جمله ترکیبات موجود در گیاهان خانواده نعناعیان می‌توان به Pulegone، Carvacrol، Thymol، p-cymene، γ-terpinene و Limonene اشاره کرد. به عنوان مثال؛ Carvacrol (۶۵/۲۲ درصد)، Thymol (۱۹/۵۱ درصد)، p-cymene (۴/۸۶ درصد) و γ-terpinene (۴/۶۳ درصد) به عنوان ترکیبات اصلی اسانس *Z. clinopodioides* گزارش گردید و نشان داده شد که دارای خاصیت ضد دردی می‌باشد (۹). مطالعه Yang و همکاران نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و مهار تولید سایتوکاین‌های التهابی توسط Pulegone را نشان داد (۳۰). علاوه بر این، Bacanli و همکاران اثر آنتی‌اکسیدانی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد توسط Limonene را مشاهده کردند (۳۱). در این مطالعه، بروز اثرات محافظتی و بهبود پارامترهای کبدی و کلیوی توسط گیاه کاکوتی کوهی در برابر سمیت القاء شده با Ag-NPs در موش‌های صحرایی نر را احتمالاً می‌توان به داشتن ترکیبات ذکر شده که اثرات بیولوژیکی آنها طبق مطالعات قبلی به تأیید رسیده است، نسبت داد. اگرچه مطالعه حاضر چندین یافته مهم داشت، اما محدودیت‌هایی نیز در این تحقیق وجود دارد؛ از جمله محدودیت‌های روش‌شناسی و فنی می‌توان به عدم دسترسی به داده‌هایی در مورد خاصیت آنتی‌اکسیدانی انواع مختلف عصاره گیاه کاکوتی کوهی (آبی، اتانولی و متانولی) در شرایط in vitro و in vivo و نیز نبود امکانات لازم جهت یافتن ماده مؤثره عصاره کاکوتی کوهی به منظور شناخت دقیق مکانیسم اثر آن اشاره کرد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود در در پژوهش‌های آینده رویکردهای تجربی و ارزیابی نشانگرهای استرس اکسیداتیو و سیستم‌های آنتی اکسیدانی جهت درک بهتر نتایج مورد توجه قرار گیرد.

CCBY-NC.4.0 DEED
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]
[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) اثر محافظتی بر آسیب کبدی و کلیوی القاء شده با نانوذرات نقره (Ag-NPs) دارد که می‌تواند ناشی از حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و اثر هم‌افزایی بین این ترکیبات باشد. با این وجود استفاده بالینی از این گیاه نیازمند تحقیقات بیشتر جهت روشن شدن مسیرهای سیگنالینگ سلولی و مولکولی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دکتری عمومی دامپزشکی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه رازی می‌باشد. به این وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه رازی به دلیل حمایت‌های مالی تقدیر و تشکر می‌گردد.

تعارض در منافع: نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافعی را گزارش نمی‌کنند.

حامی مالی: پژوهش حاضر توسط معاونت پژوهشی دانشگاه رازی کرمانشاه حمایت مالی شد.

ملاحظات اخلاقی (کد اخلاق): این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه رازی کرمانشاه با کد ۳۹۶-۲-۰۳۹ تأیید شده است.

مشارکت نویسندگان:

- **طراحی ایده:** صمد علی‌محمدی، مهرداد پویان‌مهر
- **روش کار:** صمد علی‌محمدی، مهرداد پویان‌مهر
- **جمع‌آوری داده‌ها:** مهرداد پویان‌مهر، میلاد خزائی، علی ملکی، لیدا حق‌نظری
- **تجزیه و تحلیل داده‌ها:** صمد علی‌محمدی، مهرداد پویان‌مهر، میلاد خزائی
- **نظارت:** صمد علی‌محمدی، مهرداد پویان‌مهر
- **مدیریت پروژه:** صمد علی‌محمدی، مهرداد پویان‌مهر
- **نگارش- پیش نویس اصلی:** صمد علی‌محمدی
- **نگارش- بررسی و ویرایش:** صمد علی‌محمدی

References

1. Nie P, Zhao Y, Xu H. Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: A review. *Ecotoxicol Environ Saf* 2023; 253: 114636.

2. Fewtrell L, Majuru B, Hunter PR. A re-assessment of the safety of silver in household water treatment: rapid systematic review of mammalian in vivo genotoxicity studies. *Environ Health* 2017; 16(1): 66.

3. Ferdous Z, Nemmar A. Health impact of silver nanoparticles: a review of the biodistribution and toxicity following various routes of exposure. *Int J Mol Sci* 2020; 21(7): 2375.

4. Naguib M, Mahmoud UM, Mekkawy IA, Sayed AE. Hepatotoxic effects of silver nanoparticles on Clarias gariepinus; Biochemical, histopathological, and histochemical studies. *Toxicol Reports* 2020; 7: 133-41.

5. Albrahim T. Silver nanoparticles-induced nephrotoxicity in rats: the protective role of red beetroot (Beta vulgaris) juice. *Environ Sci Pollut Res* 2020; 27: 38871-80.

6. Elblehi SS, Abd El-Maksoud EM, Aldhahrani A, Alotaibi SS, Ghamry HI, Elgendy SA, et al. Quercetin abrogates oxidative neurotoxicity induced by silver nanoparticles in Wistar rats. *Life* 2022; 12(4): 578.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]

[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

CCBY-NC.4.0 DEED

7. Shamohammadi M, Pooyanmehr M, Maleki A, Alimohammadi S. Evaluation of protective and immunomodulatory effects of hydroalcoholic extract of Scrophularia striata on silver nanoparticle-induced toxicity in male rats. *Arch Adv Biosci* 2021; 12(1): 7-17.

8. Paydar E, Alimohammadi S. Anxiolytic-like effect of hydroalcoholic extract of Cynara scolymus L. in male mice: an experimental study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2023; 22(8): 805-16. [Farsi].

9. Mohammadifard F, Alimohammadi S. Chemical composition and role of opioidergic system in antinociceptive effect of Ziziphora clinopodioides essential oil. *Basic Clin Neurosci* 2018; 9(5): 357-66.

10. Ahmadi A, Gandomi H, Derakhshandeh A, Misaghi A, Noori N. Phytochemical composition and in vitro safety evaluation of Ziziphora clinopodioides Lam. ethanolic extract: Cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity assessment. *J Ethnopharmacol* 2021; 266: 113428.

11. Shahbazi Y. Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial properties of Ziziphora clinopodioides Lam. essential oils collected from different parts of Iran. *J Food Sci Technol* 2017; 54(11): 3491-503.

12. Amini-Shirazi N, Hoseini A, Ranjbar A, Mohammadirad A, Khoshakhlagh P, Yasa N, et al. Inhibition of tumor necrosis factor and nitrosative/oxidative stresses by Ziziphora clinopoides (Kahlioti); a molecular mechanism of protection against dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Toxicol Mech Methods* 2009; 19(2): 183-9.

13. Bolbol Haghighi N, Molzemi S, Goli Sh, Mohammad Sadeghi H, Aminian M. The effect of hydroalcoholic extract of Ziziphora clinopodioides Lam on testicular damage caused by diabetes mellitus in male rats. *J Babol Univ Med Sci* 2017; 19(12): 43-9. [Farsi].

14. Abdolsamad Halaf IA, Tehranipour M, Mahmodzadeh Akharat H. Effect of aqueous and alcoholic extracts of Ziziphora clinopodioides on apoptosis and alteration of caspase-3 and caspase-9 gene expression in anterior horn neurons of the spinal cord after sciatic nerve compression in male rats. *J Birjand Univ Med Sci* 2021; 28(3): 222-35. [Farsi].

15. Sedighi S, Tehranipour M, Vaezi G, Vida Hojati V, Hashemi-Moghaddam H. The effect of hydroalcoholic extract of Ziziphora clinopodioides L. on spatial memory and neuronal density of hippocampal CA1 region in rats with sporadic Alzheimer's disease. *Avicenna J Phytomed* 2019; 9(4): 362-73.

16. Tiwari R, Singh RD, Khan H, Gangopadhyay S, Mittal S, Singh V, et al. Oral subchronic exposure to silver nanoparticles causes renal damage through apoptotic impairment and necrotic cell death. *Nanotoxicology* 2017; 11(5): 671-86.

17. Abyari M, Alimohammadi S, Pooyanmehr M, Ghashghaii A, Maleki A. Assessment of the effects of cyclooxygenase inhibitors on the immune status following surgery in adult male rats. *Qom Univ Med Sci J* 2021; 15(2):110-9. [Farsi].

18. Bahrami E, Pooyanmehr M, Maleki A, Alimohammadi S. The protective effects of Allium saralicum aqueous extract on blood glucose and some related biochemical factors in alloxan-induced diabetic male rats: an experimental study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2022; 21(7):729-40. [Farsi].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]

[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

CCBY-NC.4.0 DEED

19. Khan Y, Sadia H, Ali Shah SZ, Khan MN, Shah AA, Ullah N, et al. Classification, synthetic, and characterization approaches to nanoparticles, and their applications in various fields of nanotechnology: A review. *Catalysts* 2022; 12(11): 1386.

20. Magdy G, Aboelkassim E, Abd Elhaleem SM, Belal F. A comprehensive review on silver nanoparticles: synthesis approaches, characterization techniques, and recent pharmaceutical, environmental, and antimicrobial applications. *Microchem J* 2024; 196: 109615.

21. Ferdous Z, Nemmar A. Health impact of silver nanoparticles: a review of the biodistribution and toxicity following various routes of exposure. *Int J Mol Sci* 2020; 21(7): 2375.

22. Shehata AM, Salem FM, El-Saied EM, Abd El-Rahman SS, Mahmoud MY, Noshy PA. Evaluation of the ameliorative effect of zinc nanoparticles against silver nanoparticle-induced toxicity in liver and kidney of rats. *Biol Trace Elem Res* 2022; 200: 1201-11.

23. Ji JH, Jung JH, Kim SS, Yoon JU, Park JD, Choi BS, et al. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 2007; 19(10): 857-71.

24. Lee SH, Jun BH. Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 865.

25. Ansar S, Alshehri SM, Abudawood M, Hamed SS, Ahamad T. Antioxidant and hepatoprotective role of selenium against silver nanoparticles. *Int J Nanomed* 2017; 12: 7789-97.

26. Kim WY, Kim J, Park JD, Ryu HY, Yu IJ. Histological study of gender differences in accumulation of silver nanoparticles in kidneys of Fischer 344 rats. *J Toxicol Environ Health Part A* 2009; 72: 1279-84.

27. Alarifi S, Ali D, Gurabi MAA, Alkahtani S. Determination of nephrotoxicity and genotoxic potential of silver nanoparticles in Swiss albino mice. *Toxicol Environ Chem* 2017; 99(2):294-301.

28. Chen R, Zhao L, Bai R, Liu Y, Han L, Xu Z, et al. Silver nanoparticles induced oxidative and endoplasmic reticulum stresses in mouse tissues: implications for the development of acute toxicity after intravenous administration. *Toxicol Res* 2016; 5(2): 602-8.

29. Ranjbar A, Firozian F, Soleimani Asl S, Ghasemi H, Taheri Azandariani M, Larki A, et al. Nitrosative DNA damage after sub-chronic exposure to silver nanoparticle induces stress nephrotoxicity in rat kidney. *Toxin Rev* 2018; 37(4): 327-33.

30. Yang Q, Luo J, Lv H, Wen T, Shi B, Liu X, et al. Pulegone inhibits inflammation via suppression of NLRP3 inflammasome and reducing cytokine production in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2019; 41(3): 420-7.

31. Bacanli M, Başaran AA, Başaran N. The antioxidant and antigenotoxic properties of citrus phenolics limonene and naringin. *Food Chem Toxicol* 2015; 81: 160-70.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]

[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]

CCBY-NC.4.0 DEED

Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Ziziphora clinopodioides* on Hepato-Renal Toxicity of Silver Nanoparticles in Male Rats: An Experimental Study

Milad Khazaie[1], Mehrdad Pooyanmehr[2], Ali Maleki[3], Samad Alimohammadi[4], Lida Haghnazari[5]

Received: 07/08/24 Sent for Revision: 17/09/24 Received Revised Manuscript: 09/10/24 Accepted: 13/10/24

Background and Objectives: Toxicological studies on silver nanoparticles (Ag-NPs) have great importance due to their extensive biomedical applications. Because of high antioxidant property of *Ziziphora clinopodioides*, the aim of this study was to investigate the protective effect of this plant against Ag-NPs-induced toxicity.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 male rats weighing 200±20 g were divided into 5 groups of 6 which included the control group, the group receiving Ag-NPs with a dose of 200 ppm, the groups receiving the hydroalcoholic extract of Ziziphora clinopodioides with doses of 20, 60, and 180 mg/kg along with Ag-NPs (200 ppm). The compounds were administered orally once a day for 30 days. At the end of the treatment period, blood samples were collected and serum activity of alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, and serum concentration of urea and creatinine were evaluated. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test.

Results: The results indicated that administration of Ag-NPs significantly increased the serum activity of alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, and serum concentration of urea and creatinine compared to the control group ($p<0.05$). These changes were improved during treatment with the extract of *Ziziphora clinopodioides* in different doses compared to the group receiving Ag-NPs ($p<0.05$).

Conclusion: Based on the results of the present study, the *Ziziphora clinopodioides* may be effective in preventing the toxicity of Ag-NPs.

Keywords: Silver nanoparticle, *Ziziphora clinopodioides*, Hepato-Renal toxicity, Rat

Funding: This study was funded by Razi University, Kermanshah, Iran.

Conflict of interest: None declared.

Ethical considerations: The Ethics Committee of Razi University approved the study (Code of ethics: 396-2-039).

Authors' contributions:

- **Conceptualization:** Samad Alimohammadi, Mehrdad Pooyanmehr
- **Methodology:** Samad Alimohammadi, Mehrdad Pooyanmehr
- **Data collection:** Mehrdad Pooyanmehr, Milad Khazaie, Ali Maleki, Lida Haghnazari
- **Formal analysis:** Samad Alimohammadi, Mehrdad Pooyanmehr, Milad Khazaie
- **Supervision:** Samad Alimohammadi, Mehrdad Pooyanmehr
- **Project administration:** Samad Alimohammadi, Mehrdad Pooyanmehr
- **Writing - original draft:** Samad Alimohammadi
- **Writing - review & editing:** Samad Alimohammadi

Citation: Khazaie M, Pooyanmehr M, Maleki A, Alimohammadi S, Haghnazari L. Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Ziziphora clinopodioides on Hepato-Renal Toxicity of Silver Nanoparticles in Male Rats: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2024; 23 (7): 578-88. [Farsi]

1- DVM Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
2- Assistant Prof., Dept. of Basic Sciences and Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
3- Assistant Prof., Medical Biology Research Center, Health Technology Research Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- Assistant Prof., Dept. of Basic Sciences and Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
ORCID: 0000-0001-7489-4578.
(Corresponding Author) Tel: (083) 38320041, E-mail: S.alimohammadi@razi.ac.ir
5- Associate Prof., Dept. of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

CCBY-NC.4.0 DEED

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-10]

[DOI: 10.61186/jrums.23.7.578]