

## بررسی تاثیر نانوذره نیکولات آهن و روی ( $Fe_4NiO_4Zn$ ) بر فاکتورهای کبدی Wistar ALP-TR-LDH, Albumin در رت‌های نژاد

راشد گل محمدی<sup>۱</sup>، دکتر زهرا هوشمندی<sup>۲</sup>، دکتر محبوبه سترکی<sup>۳</sup>

zhoushmandi@yahoo.com

نویسنده‌ی مسول: سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، گروه زیست شناسی

دریافت: ۹۳/۱۱/۱۲ پذیرش: ۹۴/۴/۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه استفاده از نانوذره نیکولات آهن و روی، یکی از زمینه‌های کاربردی نانوتکنولوژی می‌باشد. با توجه به اهمیت کبد در سم‌زدایی بدن، در این مطالعه، به بررسی اثرات توکسیک این نانوذره، بر روی تغییرات برخی از فاکتورهای کبدی در شرایط *in vivo* پرداخته شده است.

**روش بررسی:** ۲۴ رت نژاد Wistar در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات به ۳ گروه تقسیم گردیدند: گروه اول (کنترل) - گروه تیمار دوم - سوم، به ترتیب ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (گروه کنترل) - ۰/۵ میلی‌لیتر از نانوذره نیکولات آهن و روی با غلظت (بخش در میلیون ppm) ۱۰۰ و ۲۰۰، به مدت ۷ روز متوالی دریافت کردند. سپس پارامترهای لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، ترانسفرین (TR) و آلبومین در روزهای دوم - هفتم و چهاردهم بعد از تیمار اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** میزان ترانسفرین در روز هفتم پس از تیمار در گروه دریافت کننده نانوذره نیکولات آهن و روی (۲۰۰ ppm) و در روز چهاردهم در هر دو گروه تیمار با نانوذره نیکولات آهن و روی (۲۰۰ و ۱۰۰ ppm)، میزان LDH در روز دوم پس از تیمار در گروه دریافت کننده نانوذره نیکولات آهن و روی (۱۰۰ ppm) و در روز هفتم و چهاردهم در هر دو گروه دریافت کننده نانو نانوذره نیکولات آهن و روی (۲۰۰ و ۱۰۰ ppm) و بالاخره میزان ALP در روز دوم در هر دو گروه دریافت کننده نانوذره نیکولات آهن و روی (۲۰۰ و ۱۰۰ ppm) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان دادند.

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به نتایج تحقیق حاضر (کاهش فاکتورهای کبدی) می‌توان گفت که: احتمالاً بدن قادر است نانوذرات نیکولات آهن روی را پس از تزریق، بتدریج از بدن دفع کند و یا به دلیل از بین رفتن خواص نانوذرات پس از تزریق و یا با ایجاد تحمل در سلول‌های کبدی، اثرات سمی آنها از بین خواهد رفت.

**واژگان کلیدی:** نانوذره نیکولات آهن و روی، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، ترانسفرین (TR) و آلبومین

### مقدمه

امروزه نانوذرات، به علت خواص جدید خود، مانند سطح ویژه بزرگ و واکنش بالا، به میزان زیادی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱). به دلیل گسترش سریع نانوتکنولوژی، نانوذرات با شکل‌ها و قطرهای مختلف تهیه می‌شوند و در محصولات

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

۲- دکترای فیزیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج

۳- دکترای فیزیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه

میکروارگانسیم‌ها وجود دارد (۱۰). از طرفی دیگر مطالعات اثرات مخرب این نانوذره فلزی را اثبات کرده‌اند. از جمله: پژوهش‌های براردیس و همکاران نشان داد که نانوذرات اکسید روی موجب افزایش میزان هیدرژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل و کاهش میزان اکسیژن مولکولی و گلوکاتینون می‌گردد (۱۱).

بنابراین قبل از کاربرد نانوذرات و یا انتقال دارو به صورت کونژوگه بررسی‌های توکسیک و ساختارهای غیر مضر نانوذرات ضروری است. در این تحقیق برآن شدیم تا تاثیر نانوذره ترکیبی نیکولات آهن و روی ( $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$ ) را بر برخی از آنزیم‌های کبدی در شرایط *In vivo* بررسی کنیم.

### روش بررسی

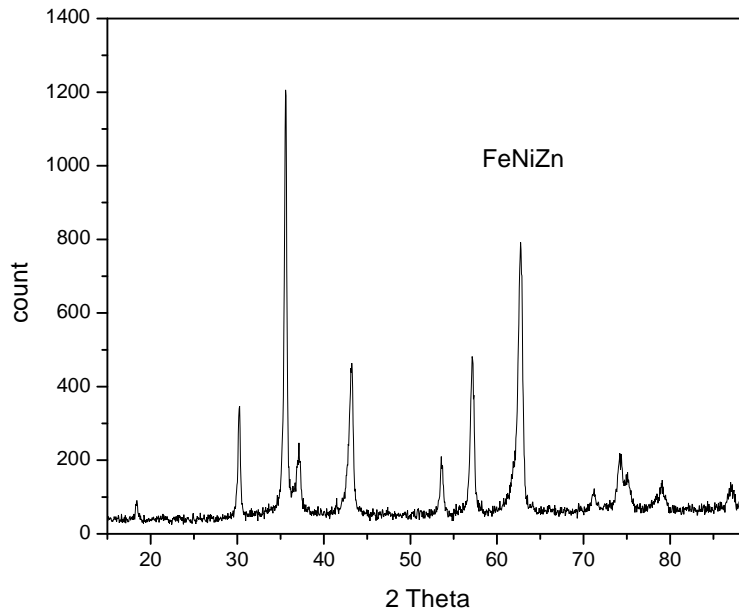
**خصوصیات نانوذره  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$ : ۲۵ گرم،**  
 $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  از شرکت یاسا طب، که به صورت تجاری از کمپانی  $\sigma$  این نانو ذره را تهیه می‌کند، با مشخصات:

size <100nm particle, basis >99% trace metal,  
 linear formula:  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$ ; form: nanopowder;  
 CAS number: 12645-50-0; molecular weight: 411,  
 46; density: 2,81 gr/ml at 25<sup>0</sup> c

خریداری شد. برای اطمینان از صحت ابعاد نانوذرات با شناسنامه فوق‌الذکر یک گرم از نانو ذره به دانشکده‌ی مهندسی مواد دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد ارسال شد و این مرکز با آزمایشات اشعه ایکس صحت این نانوذره و اندازه‌ی قطر آن را تایید کرد. تصویر میکروسکوپ الکترونی TEM (میکروسکوپ TEM مدل H600 کمپانی سازنده: Philips) از نانو ذره مذکور بانضمام الگوی پراش اشعه ایکس در ادامه نشان داده شده است (شکل ۱).

و کالاهای صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴-۲). نانوذرات متشکل از عناصری مانند کبالت-آهن و نیکل با خواص مغناطیسی، "نانوذرات مگنتیک یا مغناطیسی" نامیده می‌شوند (۵). نانوذرات مغناطیسی برای شرایط مختلف پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). به طور معمول، توزیع نانوذرات مغناطیسی در کبد (۸۰ تا ۹۰ درصد)، طحال (۵ تا ۸ درصد) و در مغز استخوان (۱ تا ۲ درصد) می‌باشد. سطوح آن‌ها ممکن است با اجزاء ماتریکس خارج سلول-غشای پلاسمایی سلول‌ها از جمله: ماکروفاژها سلول‌های اندوتلیال-اپتلیوم پوست و تنفس (نسته به روش مصرف و اندازه ذره)، برهم کنش داشته باشد.

اکسید نیکل به‌عنوان کاتالیست، برای سرامیک و ذخیره سازی باطری مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷). اکسید نیکل ترکیبی با قابلیت حل بسیار ضعیف و قدرت مقاومت بیولوژیکی بالا خصوصاً در شش‌ها است (۸). نه تنها سطح ویژه نانوذرات نیکل در اثرات مخرب آن نقش دارد، بلکه یون‌های نیکل نیز اثر مهمی در ایجاد مسمومیت در سلول‌های بدن موجود زنده خواهند داشت. نانوذرات اکسید آهن، مصارف زیادی در پزشکی دارد، از جمله: تضاد در رزونانس مغناطیسی هسته (MRI)، تشخیص بیماری‌ها، درمان سرطان، مصارف دارویی، ژن درمانی و... از طرفی تحقیقات نشان می‌دهد که این نانوذرات در سلول‌های کبدی تجمع کرده و موجب استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (۹). تحقیقات نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید روی در زمینه‌های زیادی کاربرد دارد، از قبیل لوازم آرایشی - بیوسنسورها، افزودنی‌های غذایی، پیگمان‌ها، تولید رزین و انتقال دارو و همچنین به علت خاصیت ضد باکتری این نانوذره امکان کاربرد آن در دندانپزشکی و داروهای پیشگیری کننده بر علیه



شکل ۱: اشعه ایکس نانوذره  $Fe_4NiO_4Zn$ : نانو متر  $d=0.9*1.504/(0.31*3.14/180)*\cos 17.77=262A=26$

#### تهیه‌ی محلول‌ها:

برای تعیین غلظت نانو ذره  $Fe_4NiO_4Zn$  دو محلول مادر تهیه می‌کنیم.

۱- غلظت ۱۰۰ نانومتر (محلول مادر ۱): مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم نانوذره مورد نظر را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده (۱۰ میلی‌لیتر در ۱۰۰ میلی‌گرم)، آنچه که به دست می‌آید، غلظت ۱۰۰ نانومتر از نانوذره خواهد بود. سپس مقدار نانوذره لازم جهت تزریق به یک رت ۱۵۰ گرمی، در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به روش زیر از نمونه محلول مادر تهیه گردید:

غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مقدار تزریق شده به موش

۱۵۰ گرمی =  $1/5$  میلی‌لیتر

۱۰۰۰ گرم

۱۰۰ میلی‌گرم

$X = 1/5$  ۱۵۰ گرم X

۲- غلظت ۲۰۰ نانو گرم (محلول مادر ۲): مقدار ۲۰۰

میلی‌گرم نانوذره مورد نظر را در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده (۲۰ میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم)، آنچه که به دست می‌آید، غلظت ۲۰۰ نانو متر از نانوذره خواهد بود. سپس مقدار نانوذره لازم جهت تزریق به یک رت ۱۵۰ گرمی، در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به روش زیر از نمونه محلول مادر تهیه گردید:

غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مقدار تزریق شده به موش

۱۵۰ گرمی = ۳ میلی‌لیتر

۱۰۰۰ گرم ۲۰۰ میلی‌گرم

۳ میلی‌لیتر X = ۱۵۰ گرم X

به‌همین ترتیب مقدار لازم از محلول مادر ۱ و ۲ جهت تزریق به رت‌ها با وزن‌های متفاوت محاسبه گردید و توسط سرنگ انسولین به صورت درون صفاقی به رت‌ها تزریق گردید.

تیمار حیوانات: این مطالعه به‌صورت تجربی بر روی ۲۴ رت نر نژاد ویستار انجام شد. این حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه خریداری و به‌منظور آماده‌سازی برای

آزمایش به مدت دو هفته در لانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج نگهداری شدند. حیوانات در شرایط و درجه حرارت مناسب آزمایشگاهی، درجه حرارت ( $22 \pm 2$ ) درجه ی سانتی گراد و نور کافی اتاق (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. حیوانات دارای میانگین وزنی  $234 \pm 43$  گرم بودند و به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم گردیدند.

**این گروه‌ها شامل:**

گروه اول: گروه کنترل که به میزان ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی دریافت کردند. به گروه دوم - سوم به ترتیب: ۰/۵ میلی لیتر از نانوذرات  $Fe_4NiO_4Zn$  با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm (بخش در میلیون) تزریق شد. این تزریقات به مدت ۷ روز متوالی انجام شد. در ضمن شیوه تزریق در تمام گروه‌ها درون صفاقی بود. روزهای دوم - هفتم و چهاردهم بعد از تیمار خون‌گیری انجام شد. فاکتورهای بیوشیمیایی لاکتات دهیدروژناز (LDH) - آلکالین فسفاتاز (ALP) - ترانسفرین (TR) و آلبومین اندازه‌گیری شدند. خون‌گیری از گوشه پلک چشم حیوانات به کمک لوله موینه انجام گرفت. نمونه‌های خون به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده ( $3000$  دور بر دقیقه) و سرم آن‌ها جدا گردید.

### یافته‌ها

از مدل‌های MANOVA (زمان‌های اندازه‌گیری به عنوان متغیرهای وابسته) برای مقایسه میانگین هر یک از فاکتورها در سه گروه (کنترل-گروه‌های تیمار:  $Fe_4NiO_4Zn$  (200ppm)- $Fe_4NiO_4Zn$  (100ppm) استفاده شد.

در مورد فاکتور TR در روز هفتم مداخله، بین میانگین گروه کنترل و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P = 0/032$ ) و همچنین بین میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ppm) و میانگین گروه

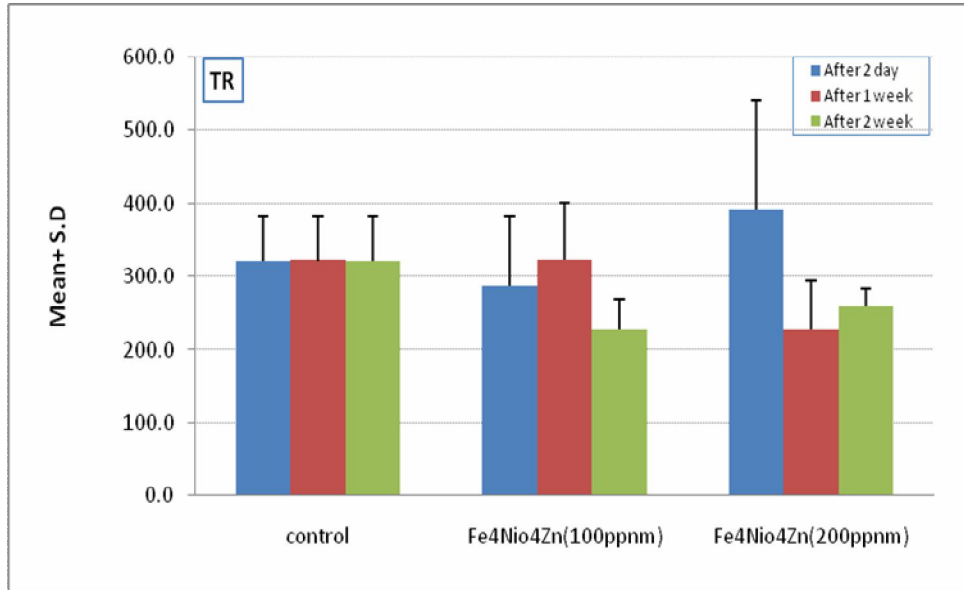
مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ) (شکل ۳). در مورد فاکتور LDH در روز دوم مداخله، بین میانگین گروه کنترل و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ) و همچنین بین میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ppm) و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ).

در مورد فاکتور LDH در روز هفتم مداخله، بین میانگین گروه کنترل و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ) و بین میانگین گروه کنترل و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ) و همچنین بین میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ppm) و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ).

در مورد فاکتور LDH در روز چهاردهم مداخله، بین میانگین گروه کنترل و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ) و بین میانگین گروه کنترل و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ) و همچنین بین میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ppm) و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P = 0/001$ ) (شکل ۴). در مورد فاکتور ALP در روز دوم

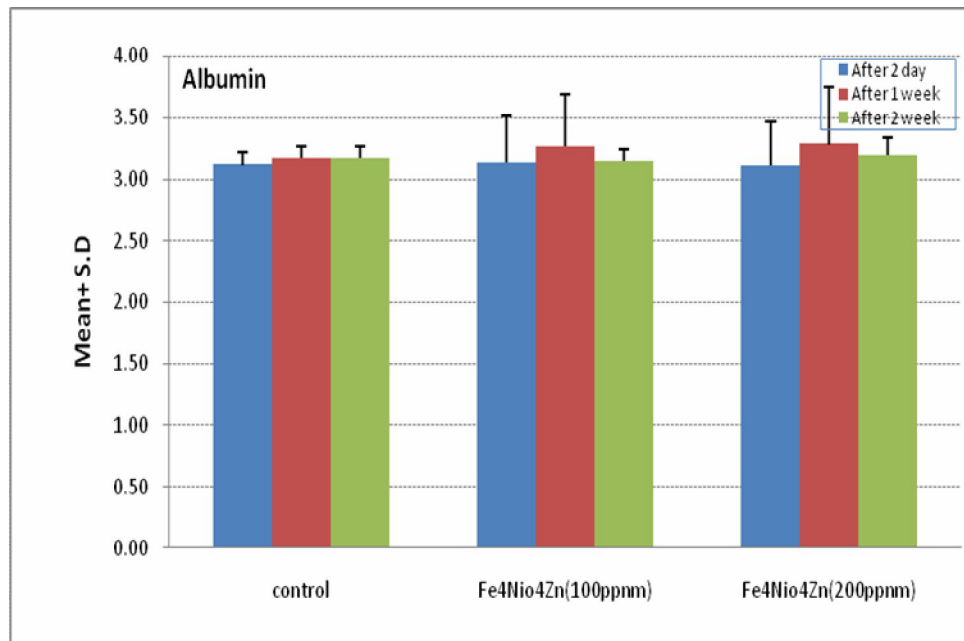
معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های تیمار مشاهده نشد (شکل ۵)

مداخله، بین میانگین گروه کنترل و میانگین گروه  $Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ ppm) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $P=0/011$ ). در روز هفتم و چهاردهم مداخله اختلاف



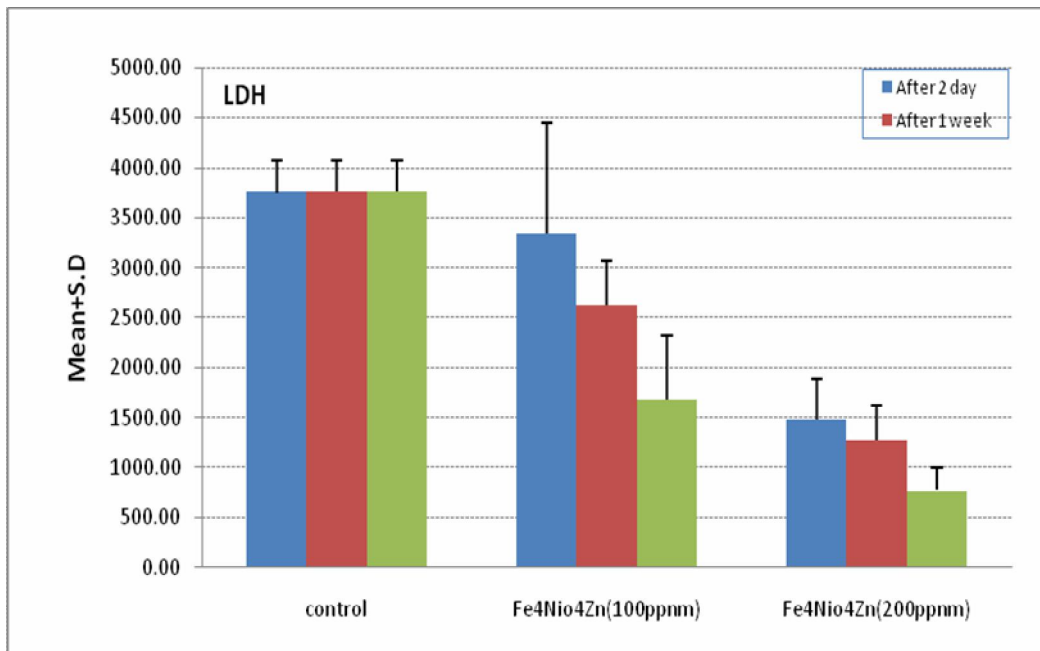
شکل ۲. میانگین تغییرات ترانسفرین:  $TR$  در گروه‌های کنترل و تیمار:

$Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ ppm) -  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ ppm) در روزهای ۲-۷-۱۴

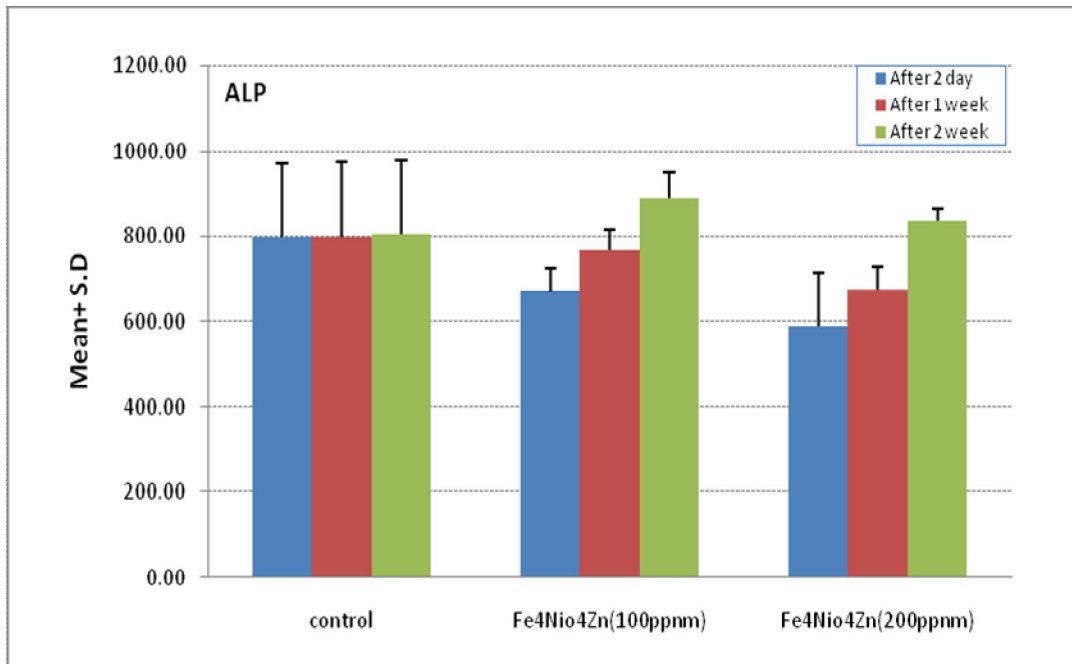


شکل ۳. میانگین تغییرات آلبومین در گروه‌های کنترل و تیمار:

$Fe_4NiO_4Zn$  (۲۰۰ ppm) -  $Fe_4NiO_4Zn$  (۱۰۰ ppm) در روزهای ۲-۷-۱۴



شکل ۴. میانگین تغییرات لاکتات دهیدروژناز (LDH) در گروه‌های کنترل و تیمار:  $Fe_4NiO_4Zn(100\text{ ppm}) - Fe_4NiO_4Zn(200\text{ ppm})$  در روزهای ۲-۷-۱۴



شکل ۵. میانگین تغییرات الکلین فسفاتاز (ALP) در گروه‌های کنترل و تیمار:  $Fe_4NiO_4Zn(100\text{ ppm}) - Fe_4NiO_4Zn(200\text{ ppm})$  در روزهای ۲-۷-۱۴

## بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان TR در روز هفتم پشس از تیمار در گروه  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  (۲۰۰ ppm) و در روز چهاردهم در هر دو دوز:  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد. همچنین میزان LDH در روز دوم پس از تیمار در گروه:  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  (۱۰۰ ppm) و در روز هفتم و چهاردهم در هر دو دوز:  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) کاهش معنی‌دار نشان داد. میزان ALP در روز هفتم فقط در دوز:  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  (۲۰۰ ppm) و در روز دوم در هر دو دوز:  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) کاهش معنی‌دار یافت. سرانجام میزان آلبومین در هیچ یک از گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. از آن جایی که کبد محل اصلی تغییرات زیستی است و در برابر مواد خارجی و گزنیوتیک‌ها از بدن دفاع می‌کند شناسایی عوامل ایجاد سمیت و آسیب به کبد از اهمیت زیادی برخوردار است. آسیب کبدی ناشی از نانوذرات بر پایه آسیب‌های بافت شناسی مانند التهاب و یا نکروزه شدن شاخصه‌بندی می‌شود و همچنین در سطح ملکولی این آسیب مشخص می‌گردد. برای مطالعه اثر نانوذرات بر نقاط ویژه کبد باید به مواردی از قبیل موارد ذیل توجه گردد:

سیستم‌های آنزیمی، عملکرد میتوکندری، سنتز آلبومین، انفصال سلول، بیان پروتئین یا ژن و آسیب‌های غشایی، نقاط ویژه مجزا از نظر مکانیکی از قبیل مورفولوژی سلولی، زیست‌پذیری، آسیب‌پذیری غشا و... مورد استفاده قرار می‌گیرند. همان‌گونه که می‌دانیم آسیب به بافت کبد می‌تواند به افزایش آنزیم‌های مختلف این اندام به سبب آزاد شدن مواد درون سلول به پلاسما خون منجر شود. آنزیم‌هایی چون اگزوالاستات ترانس آمیناز (AST)، پیرووات ترانس آمیناز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) از مهم‌ترین آنزیم‌های

موجود در سلول‌های کبدی می‌باشند که جزء آنزیم‌های غیر عملکردی در پلاسما محسوب می‌شوند. در آسیب‌های قلبی-عضلانی و خصوصاً کبدی سطح این آنزیم در سرم به شدت افزایش می‌یابد. میزان ALP سرم با بیماری‌های کبدی و استخوانی افزایش می‌یابد. آنزیم لاکتات دهیدروژناز واکنش تبدیل اسید لاکتیک به پیروویک را به‌طور برگشت پذیر کاتالیز می‌کند. این آنزیم به‌طور فراوان با غلظت بالا در قلب- ماهیچه- کبد- کلیه- مغز و گلبول‌های قرمز وجود دارد و لذا به علت فراوانی اندازه‌گیری فعالیت تام آن در پلاسما به‌صورت یک علامت غیراختصاصی برای آسیب بافتی می‌باشد. اما نتایج این تست در کنار تست‌های تشخیصی ALT-AST-ALP ارزشمند است.

آلبومین پروتئینی است که توسط سلول‌های کبدی سنتز می‌شود و غلظت قابل توجهی از پروتئین‌های پلاسما را تشکیل می‌دهد. در بیماری‌های حاد و مزمن کبدی کاهش چشمگیری در غلظت این پروتئین در پلاسما پدید می‌آید و سبب ادم عمومی و آسیب می‌شود و در عفونت‌های حاد و تروما غلظت پلاسمایی آلبومین افزایش می‌یابد.

با توجه به نتایج ارائه شده در این تحقیق، کاهش میزان آنزیم‌های TR-LDH-ALP احتمالاً به دلیل کاهش سنتز این آنزیم‌ها ناشی از اثرات سمیت زایی  $\text{Zn}^{+2}$  در سلول است. حذف اثرات جانبی نانوذرات:  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  در تحقیق حاضر، احتمالاً به این دلیل است که نانوذرات تزریق شده، توسط کبد جذب شده و به تدریج از بدن دفع می‌گردند، چنانچه در گزارشی که توسط شوبایف و همکاران آورده شده است، مشخص شد که مهم‌ترین علت عدم تاثیرات سمی نانوذرات اکسید آهن بر جانوران، حذف سریع آن‌ها از جریان خون توسط سیستم رتیکولاندوتلیال موجود در کبد-طحال و گره‌های لنفاوی است که البته این حذف سریع پس از Oponization (تجمع پروتئین‌های خون در اطراف

M-Zn با غلظت ۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر روی موش‌های نر و ماده بالغ به صورت *In vivo* انجام شد. تست‌های بیوشیمیایی کبد از سرم خون این حیوانات نشان داد که میزان ALT (آلانین آمینوترانسفراز)، AST (آسپارات آمینوترانسفراز)، ALP (آلکان فسفاتاز)، LDH (لاکتات دهیدروژناز) در موش‌های گروه M-Zn نسبت به گروه N-Zn و گروه شاهد افزایش یافته است که به علت تجمع Zn در این اندام‌ها می‌باشد و در نتیجه باعث آسیب‌های کبدی و تخریب هپاتوسیت کبدی می‌شود. طبق یافته‌های حاصل قرار گرفتن در معرض نانو و میکروپودر روی در دوز بالا ممکن است باعث تولید اثرات سمی بر روی سیستم خون ساز، سیستم‌های بیوشیمیایی و انواع بافت‌ها از قبیل کبد و کلیه شود (۱۷). با جذب نانوذرات اکسیدروی به داخل سلول‌ها به شیوه‌ی آندوسیتوز و ورود به لیزوزوم‌ها، در اثر آنزیم‌های هیدرولیز کننده در PH اسیدی، یون‌های روی آزاد توسط نانوذرات ایجاد می‌گردد (۱۸). سمیت نانوذره ZnO مربوط به آزاد کردن یون‌های خالص روی (Zn) محلول در محیط می‌باشد که غلظت این یون را در سلول‌ها افزایش می‌دهد اما سمیت اکسید آهن بیشتر ممکن است وابسته به جذب بالای آن‌ها در سلول باشد (۱۹). فانگ و همکاران پس از گاوآژ نانوذرات اکسید روی به موش دریافتند که میزان سوپراکسیددسموتاز- مالون دی‌الدهید-گلوکوتاتیون در بافت‌های کبد و کلیه تغییرات فاحشی را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد که نشان دهنده‌ی درصدهای متفاوتی از آسیب استرس اکسیداتیو به اندام‌های مذکور است (۲۰). مطالعات احمد و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که نانوذرات نیکل با اندازه ۲۵ نانومتر و غلظت ۱۰۰-۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، سیتوتوکسیتی را در سلول‌های کبد القا می‌کنند که درجه این القا به غلظت نانوذره وابسته است. همچنین نانوذرات نیکل، موجب القای استرس اکسیداتیو به روش وابسته به دوز می‌شوند. این موضوع به وسیله‌ی تولید

نانوذرات) رخ می‌دهد که باعث تحریک سیستم ایمنی و دفع نانوذرات می‌شود (۱۲). (در تحقیق قبلی که ما انجام دادیم میزان فاکتورهای التهابی TNF, IL-6 توسط این نانوذره افزایش یافته بود). بنابراین بسیاری از نانوذرات تزریق شده به سرعت از جریان خون خارج و فقط مقدار کمی از آن‌ها فرصت نفوذ و ورود به اندام‌های مختلف بدن را پیدا می‌کنند و در نتیجه اثرات جانبی چندانی را ایجاد نمی‌کنند (۱۳). خطر برای سلامتی انسان، با حجم تولید و یا در معرض قرار گرفتن نانوذرات ارتباط ندارد، بلکه با واکنش پذیری و قدرت تاثیر بر سیستم‌های بیولوژیکی ارتباط دارد. بنابراین نانوذرات مهندسی (ENM) تولید شده در مقادیر پایین‌تر، مانند نانوذرات نیکل و کبالت می‌توانند خطرات قابل توجهی بر سلامت انسان داشته باشند (۱۴).

ارزیابی سمیت زایی نانوذرات اکسید فلزی از جمله  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{TiO}_2$  با اندازه‌ی ذرات در محدوده‌ی ۳۰ تا ۴۵ نانومتر بر سلول‌های پستانداران نتایج قابل توجهی نشان داد. نشت LDH در سلول‌های در معرض ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اکسیدروی به میزان قابل توجهی افزایش یافته است، در حالی که دیگر نانوذرات آزمایش شده نشت LDH را فقط در دوزهای بالاتر از ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان دادند. آزمایش فلوسیتومتری مرگ برنامه ریزی شده سلولی (آپوپتوز) را در سلول‌های در معرض نانوذرات اکسیدروی نشان دادند و هنگامی که غلظت افزایش یافت، سلول‌های زیادی نکروز شدند (۱۵).

همچنین محققین دریافتند استرس‌های اکسیداتیو در سلول‌های اپیدرمی انسان، ناشی از القای تخلیه‌ی گلوکوتاتیون، کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز توسط نانوذرات اکسیدروی است. حتی در غلظت‌های کم این نانوذره، توانایی سمیت‌زایی ژنی در سلول‌های اپیدرمی انسان از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و استرس‌های اکسیداتیو وجود دارد (۱۶). در بررسی دیگری سمیت حاد پودر Zn در دو مقیاس نانو N-Zn و میکرو



شیمیایی دیگر در نانوذرات شده است؛ بنابراین تاثیر و برهم کنش چنین نانو ذراتی با سلولها و بافت‌های بدن جانور متفاوت خواهد بود (۲۳).

### نتیجه گیری

باتوجه به تحقیقات مختلف انجام شده و نتایج تحقیق حاضر می‌توان گفت که: به علت نفوذپذیری بالای نانوذرات  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  در گردش خون و نفوذ موثر آن‌ها به اندامها و بافت‌هایی مثل کبد، ابتدا آن‌ها موجب اختلال در عملکرد این اندام و تغییر در فاکتورهای کبدی شدند، اما پس از مدتی، بدن قادر است نانوذرات  $\text{Fe}_4\text{NiO}_4\text{Zn}$  را به تدریج از بدن دفع کند و یا به دلیل از بین رفتن خواص نانوذرات پس از تزریق و یا با ایجاد تحمل در سلول‌های کبدی (دفع نانوذره توسط سیستم رتیکلواندوتلیال کبد)، اثرات سمی آن‌ها از بین خواهد رفت. با این حال با توجه به ضد و نقیض بودن بسیاری از نتایج در گزارش‌های مختلف، انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه بسیار ضروری است.

رادیکال‌های آزاد اکسیژن ROS و کاهش گلوکاتینون به اثبات رسیده است (۲۱). اثرات سمی نانوذرات به عوامل زیر نسبت داده شده است: ۱- نوع ترکیب شیمیایی نانوذرات در رابطه با آزاد کردن یون‌های توکسیک و یا واکنش‌های سطحی نظیر تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن ۲- سمیت‌ها و استرس‌های ناشی از ویژگی‌های سطحی، اندازه و شکل نانو ذرات و ۳- میزان حلالیت نانو ذرات.

با توجه به این نتایج مشخص می‌شود که نانوذرات مختلف به شیوه‌های متفاوتی بر سلول‌ها اثر می‌گذارند و حتی سلول‌های مختلف با داشتن ویژگی‌های متفاوت، پاسخ یکسانی به این مواد نمی‌دهند. بنابراین، تاثیرات متقابل بین نانوذرات و سلول باید به‌طور اختصاصی برای هر نانوذره‌ی خاص با پوشش‌های مختلف، سلول‌ها و محیط‌های کشت متفاوت به طور مجزا مورد بررسی قرار گیرد و نمی‌توان نتایج حاصل از یک آزمایش را به دیگر آزمایش‌ها تعمیم داد (۲۲). علت تفاوت در توزیع و نفوذ بافتی و آسیب بافتی نانوذرات در مطالعات مختلف احتمالاً تفاوت در روش سنتز آن‌ها می‌باشد که منجر به تغییر در اندازه، شکل و خواص فیزیکی و

### References

- 1- Gupta AK, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*. 2005; 26: 3995-4021.
- 2- Pankhurst QA, Connolly J, Jones SK, Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles. *Phys D ApplPhys*. 2003; 36: R167-81.
- 3- Saiyed ZM, Telang SD, Ramchand CN. Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedicine. *Biomagn Res Technol*. 2003; 1: 2.
- 4- Shubayev VI, Pisanic TR, Jin S. Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 61: 467-77.
- 5- Yan L, Zheng YB, Zhao F, et al. Chemistry and physics of a single atomic layer: strategies and challenges for functionalization of graphene and graphene-based materials. *Chem Soc Rev*. 2012; 41: 97-114.
- 6- Tang F, Li L, Chen D. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery. *Adv Mater*. 2012; 24: 1504-34.

- 7- Laurent S, Forge D, Port M, et al. Iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem. Rev.* 2008; 108: 2064-10.
- 8- Card JW, Zeldin DC, Bonner JC. Pulmonary applications and toxicity of engineered nanoparticles. *Am J Physiol.* 2008; 295: L400-11.
- 9- Yousefi Babadi V, Najafi L, Najafi A, et al. Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *J Pharmaceu Biomed Sci.* 2012; 23: 51-55.
- 10- Kante B, Couvreur P, Dubois-Krack G, et al. Toxicity of polyalkylcyanoacrylate nanoparticles: free nanoparticles. *J pharm sci.* 2006; 71: 786-90.
- 11- De Berardis B, Civitelli G, Condello M, et al. Exposure to ZnO nanoparticles induces oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010; 246: 116-27.
- 13- Doudi M, Setorki M, Esmail N, Toodoei M, Zabih T. Effect of Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn nanoparticle on inflammatory cytokines: IL6 and TNF male wistar rat. *IJBPAS.* 2014; 2290-300.
- 12- Shubayev VI, Pisanic TR, Jin S. Magnetic nanoparticles for theragnostics. *ADV Drug Delivery Rev.* 2009; 61: 467-77.
- 14- Stone V, Johnston and H, Clift M. Air pollution, ultrafine and nanoparticle toxicology: cellular and molecular interactions. *IEEE Transactions on Nanobioscience.* 2007; 6: 331-40.
- 15- Jeng HA, Swanson J. Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *J Environ Sci.* 2006; 41: 2699-711.
- 16- Sharma V, Anderson D, Dhawan A. Zinc oxide nanoparticles induce oxidative stress and genotoxicity in human liver cells (HepG2). *J Biomed Nanotechnol.* 2011; 7: 98-9.
- 17- Wang B, Feng W, Wang M, et al. Acute toxicological impact of nano and submicroscaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *J Nanopart Res.* 2008; 10: 263-76.
- 18- Ayres JG, Borm P, Cassee FR, Castranova V, Donaldson K, Ghio A. Evaluating the toxicity of airborne particulate matter and nanoparticles by measuring oxidative stress potential-a workshop report and consensus statement. *Inhal Toxicol.* 2008; 20: 75-99.
- 19- Green-Saden T. Gelial cell line derived neurotrophic factor conjugated nanoparticles suppress acquisition of cocaine self administration in rats. *Exp Neural.* 2005; 194: 97-105.
- 20- Fang C. Invivo tumor targeting of tumor necrosis factor alpha loaded stealth nanoparticles: effect of MEPEG molecular weight and particle size. *Eur J Pharm Sci.* 2006; 27: 27-36.
- 21- Ahmad J, Alhadlaq HA, Siddiqui MA, et al. Concentration-dependent induction of reactive oxygen species, cell cycle arrest and apoptosis in human liver cells after nickel nanoparticles exposure. *Environ Toxicol.* 2013; 17: 88-91.

22- Petri-Fink A, Steitz B, Finka A, Salaklang J, Hofmann H. Effect of cell media on polymer coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): colloidal stability, cytotoxicity, and cellular uptake studies. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008; 68: 129-37.

23- Chaves SB, Lacava LM, Lacava ZGM. Light microscopy and magnetic resonance characterization of a DSMA coated magnetic fluid in mice. *IEEE Transactions on Magnetic.* 2002; 38: 3231-3.

## The Effect of Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn Nanoparticles on some Liver Factors in Wistar Rats

Golmohammadi R<sup>1</sup>, Hooshmandi Z<sup>2</sup>, Setorki M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biology, Zanjan, Islamic Azad University, Zanjan, Iran

<sup>2</sup>Dept. of Biology, Sanandaj Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

<sup>3</sup>Dept. of Biology, Izeh Islamic Azad University, Izeh, Iran

**Corresponding Author:** Hooshmandi Z, Dept. of Biology, Sanandaj Islamic Azad University, Sanandaj, Iran,

**E-mail:** zhoushmandi@yahoo.com

**Received:** 1 Feb 2015    **Accepted:** 25 Jun 2015

**Background and Objective:** Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn nanoparticles are used in nano technological applied arenas. Given the importance of liver in detoxification of the body, this study dealt with the toxicity effect of Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn nanoparticles on changes of hepatic factors

**Materials and Methods:** Twenty four Wistar rats were randomly assigned to three groups: A control group(1) and two treatment groups (2, 3) which received 0.5cc of saline, 0.5cc of solution containing 100, 200 ppm Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub> for 7 successive days, respectively. Then, parameters such as lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP), transferrin (TR) and albumin were measured on days 2, 7 and 14 after the treatment.

**Results:** Mean TR levels, on day 7 after the intervention in the group of Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn (200ppm) and on day 14 of the study in both groups of Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn (100,200ppm) significantly decreased. Likewise, on day 2 of the study the average of LDH in the group of Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn (100ppm) and on days 7 and 14 in both groups of Fe<sub>2</sub>NiO<sub>4</sub>Zn(100,200ppm) significantly decreased. Mean ALP showed a significant decrease on day 2 after the intervention in both treatment groups as compared with the control group.

**Conclusion:** Findings concerning reduced hepatic factors throughout this study assert that the body can gradually eliminate Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn nanoparticles after the injection. On the other hand, the toxic effects of these elements are eliminated either as a consequence of the loss of the properties of nanoparticles after the administration or due to a state of hepatocyte tolerance.

**Keywords:** Fe<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>Zn, lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP), transferrin (TR), albumin