

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۲۰، آبان ۱۴۰۰، ۸۷۹-۸۹۰

تهیه نانوذرات اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ و تأثیر آن بر عملکرد کبدی، کلیوی و طحالی در موش صحرایی: یک مطالعه تجربی

مهدی تمجید^۱، فریبا محمودی^۲، آرش عبدالملکی^۳؛ شراره میرزایی^۴

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۴/۲۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱۴۰۰/۰۶/۲۸ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۶/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: نانوذرات اکسید آهن با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد، کاربردهای فراوانی در زمینه پزشکی دارد. هدف از مطالعه حاضر تهیه نانوذرات اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ و تأثیر آن بر عملکرد کبدی، کلیوی و طحالی در موش صحرایی بود. **مواد و روش‌ها:** در این پژوهش تجربی، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار به صورت تصادفی به سه گروه شامل گروه کنترل (دریافت سرم فیزیولوژی به عنوان حلال دارو)، گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب تحت تیمار با نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ با دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. بعد از یک هفته تیمار دارویی، خون‌گیری و نمونه‌برداری بافتی از کبد، کلیه و طحال صورت پذیرفت. جهت تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون تعقیبی Tukey، آزمون Levene و آزمون ناپارامتریک Kolmogorov-Smirnov استفاده شد.

یافته‌ها: تزریق نانوذره با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم تغییر معناداری در فاکتورهای خونی اوره و (Aspartate Transaminase) AST در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد ($P=0/042$). ولی در دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم فاکتورهای خونی کراتینین و ALT (Alanine Transaminase) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت ($P=0/038$). بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نمونه‌های بافتی کبد، کلیه و طحال گروه‌های تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل هیچ‌گونه اختلال بافتی را نشان نداد. **نتیجه‌گیری:** یافته‌ها نشان داد که نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ اثرات سمی بر بافت‌های مورد مطالعه نداشته و در دوز پایین اختلالی در فاکتورهای خونی به وجود نیاورده است. از این رو، می‌تواند به عنوان یک فاکتور کمکی در درمان سلول‌های سرطانی و همچنین حامل دارویی مورد ارزیابی بیش‌تر قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات اکسید آهن، کبد، کلیه، سمیت بافتی، موش صحرایی

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- (نویسنده مسئول) استادیار، گروه علوم مهندسی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، نمین، ایران.

تلفن: ۰۴۵-۳۱۵۰۵۱۸۷، دورنگار: ۰۴۵-۳۱۵۰۵۱۸۷، پست الکترونیکی: abdolmalekiarash1364@gmail.com

۴- استادیار، مرکز پژوهشی علوم زیستی و زیست فن آوری، دانشگاه فن آوری‌های نوین سبلان، نمین، ایران

۵- استادیار، گروه علوم مهندسی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، نمین، ایران

مقدمه

امروزه فناوری نانو مدرن‌ترین و تازه‌ترین فناوری است که در نتیجه همگرایی و ترکیب علوم زیست‌شناسی، شیمی و فیزیک پدید آمده است. پیشرفت چشم‌گیر نانو تکنولوژی و بهره‌گیری از نانومواد در زمینه‌های مختلف موجب ارزیابی اثرات تخریبی آن‌ها بر سیستم بیولوژیک شده است [۱]. فناوری نانو یکی از زمینه‌های نوظهور علم محسوب می‌شود که کاربردهای گسترده‌ای در زمینه‌های درمان سرطان، هدایت دارو، میکروالکترونیک، حسگرهای زیستی، تولید لوازم آرایشی و نیز در زمینه‌های کشاورزی دارد [۲].

اهمیت و نقش عنصر آهن در تشکیل و پایداری بافت‌ها، تنظیم فرآیندهای متفاوت حیاتی، کمک به جذب مواد غذایی از لوله‌گوارش و ورود مواد غذایی به درون سلول‌ها، خون و مایعات بدن و همچنین حفظ (Potential of Hydrogen) pH در محدوده فیزیولوژیکی باعث شده که پژوهش‌های فراوانی در رابطه با نقش و اهمیت این عنصر ضروری در حوزه‌های علوم زیستی و تغذیه صورت گیرد [۳].

نانوذرات اکسید آهن یک بستر اساسی برای انواع کاربردهای پزشکی محسوب می‌شود. ترمیم بافتی، هدایت داروها، آنزیم‌ها و آنتی‌بادی به واسطه نانوذرات اکسید آهن تحت تأثیر یک میدان مغناطیسی به بافت یا موضع سرطانی می‌تواند از کاربردهای درمانی این نانوذرات باشد [۴-۶].

همچنین نانوذرات اکسید آهن به عنوان ایجاد کننده تضاد در (Magnetic Resonance Imaging) MRI مورد استفاده قرار می‌گیرند [۷].

Hajirahimi و همکاران در پژوهشی تأثیر نانوذرات اکسید آهن و روی را بر بافت کبد و عضله در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان‌گر این بود که نانوذرات اکسید آهن و روی در غلظت‌های بالا اثرات سمی بر فعالیت کبد و تیروئید دارند و فعالیت آن‌ها را مهار می‌کنند [۷].

در پژوهش دیگری Ramezani و همکاران اثرات دوزهای مختلف نانوذرات نقره بر روی ریه‌ی موش صحرائی نر نژاد ویستار را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌گر آن بود که اثرات نانوذرات نقره بر بافت ریه قابل ملاحظه بوده و تغییرات حاصله نشان‌گر آسیب‌های سلولی و بافتی می‌باشد و ریه به عنوان یکی از اندام‌های مهم در سیستم تنفسی بدن می‌تواند مکان رسوب نانوذرات نقره باشد [۸]. هم‌چنین Sheydaei و همکاران اثرات سمیت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر پارامترهای خونی و سرمی موش سفید آزمایشگاهی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آزمایشات حاکی از آن بود که افزایش قابل توجهی در میزان سلول‌های سفید خون در گروه‌های دریافت کننده نانوذره نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. ولی در تعداد گلبول‌های قرمز کاهش مشاهده گردید [۹].

نانوذرات می‌توانند از عوامل ایجاد کننده سمیت در خون باشند. با ورود نانوذرات اکسید فلزی در محیط زیست و تغذیه، احتمال قرارگیری در معرض آن افزایش یافته و ممکن است سلامتی را تحت تأثیر خود قرار دهد [۹]. خون یک معیار مهم در بررسی سلامت عمومی و شاخص‌های خون‌شناسی به‌عنوان ابزار تشخیص برای ارزیابی تغییرات فیزیولوژیکی، پاتولوژیکی و متابولیکی در سیستم‌های زنده

آب و غذای کافی نگهداری شدند. در تمامی مراحل کار با حیوانات، اصول اخلاقی با کد اخلاق IR.ARUMS.REC.1400.084 مطابق با منشور اخلاق آزمایشگاهی دانشگاه محقق اردبیلی رعایت شد.

در این پژوهش تهیه نانوذرات اکسید آهن به روش هم رسوبی صورت گرفت [۱۱]. به این ترتیب که محلول آبی یون‌های $(Fe^{2+} 25ml, 0.2M)$ و $(Fe^{3+} 25 ml, 0.4M)$ در دمای بین ۸۰ الی ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد همراه با هیدروکسید سدیم $(NaOH 25 ml, 4.0M)$ و روغن امگا-۳ (2 ml) با همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت هم زده شدند. سپس محصولات ناشی از رسوبدهی با آب مقطر دوبار یونیزه شستشو داده شده و در دمای ۵۰ درجه سانتی-گراد خشک شده و به پودر تبدیل شدند.

برای انجام پژوهش حاضر حیوانات موردنظر بصورت تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل (بدون تیمار دارویی دریافت سرم فیزیولوژی به عنوان حلال)، گروه تجربی ۱ و ۲ که به ترتیب تحت تیمار با نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ با دوزهای ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار داشتند. جهت تهیه دوزهای مورد نظر ابتدا استوک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از نانوذره تهیه گردید و سپس با توجه به وزن حیوانات دوزهای مورد نظر از استوک برداشته شد. این دوزها در پژوهش‌های انجام گرفته پیشین اثرات نوروپروتکتیو داشته و جهت بررسی اثر سمیت آن‌ها بر بافت‌های کبدی و کلیوی مورد استفاده قرار گرفتند [۱۳-۱۲]. در پایان پژوهش حیوانات با کتامین $(60mg/kg)$ و زایلازین $(10mg/kg)$ بیهوش شدند و خون‌گیری از طریق قطع سر

مورد استفاده قرار می‌گیرد. از این رو پژوهش در زمینه اثرات نانوذرات اکسید آهن بر روی فاکتورهای خونی با توجه به کاربردهای زیاد این نانوذرات در زمینه‌های پزشکی اهمیت زیادی دارد. هم‌چنین نانوذرات اکسید فلزی می‌توانند از رگ‌ها عبور کرده و به بافت‌های مغزی برسند و از این جهت قابلیت دسترسی زیستی را افزایش دهند. به همین دلیل ممکن است تأثیرات سمی و پاسخ‌های التهابی در مغز و سیستم عصبی مرکزی به‌وجود آورند [۱۰]. از این رو بررسی سمیت آن‌ها از موارد مهم و قابل مطالعه به شمار می‌رود.

با توجه به اهمیت موضوع، در پژوهش حاضر به تهیه نانوذرات اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ و تأثیر آن بر عملکرد کبدی، کلیوی و طحالی در موش صحرایی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی در شهریورماه سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات از مؤسسه پاستور خریداری شدند و در خانه حیوانات دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی نگهداری شدند. جهت سازگاری ابتدا حیوانات به مدت دو هفته به منظور خو گرفتن به شرایط آزمایشگاهی در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های مخصوص و بر بستری از پوشال در شرایط کنترل شده (درجه حرارت 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی $10 \pm 60\%$ و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دسترسی آسان به

توسط دستگاه میکروتوم (مدل ۱۵۱۲ شرکت Leitz ساخت آلمان) به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. سپس مرحله پارافین‌زدایی مقاطع بافتی توسط زایلین و آبگیری توسط اتانول با درجات نزولی صورت گرفت. در ادامه نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ شدند. برای ارزیابی مقاطع تهیه شده از میکروسکوپ (Olympus IX71، ژاپن) استفاده شد و از تمامی لام‌ها تصویر تهیه شد. در تصاویر تهیه شده تغییرات در شکل ظاهری سلول، اندازه، رنگ و میزان سیتوپلاسم، رنگ و شکل هسته، تغییرات نکروتیک (درجات مرگ سلولی) و همچنین وجود سلول‌های التهابی در ناحیه مورد بررسی قرار گرفت [۱۴].

تحلیل‌های آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. نتایج داده‌ها بصورت انحراف استاندارد \pm میانگین گزارش شده است. وجود یا عدم وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفت و برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene و نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون ناپارامتریک Kolmogorov-Smirnov مورد بررسی قرار گرفت. سطح معناداری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ صورت گرفت.

نتایج

تصویر Scanning Electron Microscope (SEM) نمونه نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ در شکل ۱ مشاهده می‌گردد. با توجه به شکل، نمونه شامل ذرات ریزی با اندازه کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر است که به دلیل برهمکنش‌های

(بدون آسیب‌های متابولیکی صورت می‌گیرد). به‌وسیله گیوتین خون‌گیری از حیوانات کوچک آزمایشگاهی انجام گرفت.

در این پژوهش تمامی تزریقات به صورت درون‌صفافی انجام شد. نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ به صورت سوسپانسیون در سرم فیزیولوژی با دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم، به‌صورت درون‌صفافی به حیوانات تزریق گردید. همچنین دوره تیمار دارویی ۱ هفته در نظر گرفته شد [۱۲].

نمونه‌های خونی در داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس به منظور لخته شدن یک ساعت در دمای آزمایشگاهی قرار گرفت. در ادامه نمونه‌ها ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوز شد. بعد از جداسازی سرم از لخته خون، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه فریز شد. در ادامه میزان فاکتورهای AST (Aspartate Transaminase)، Urea، Ceratinine و ALT (Alanine Transaminase) با دستگاه اتوآنالایزر (Biotechnica, BT3000، ایتالیا) و کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند [۹].

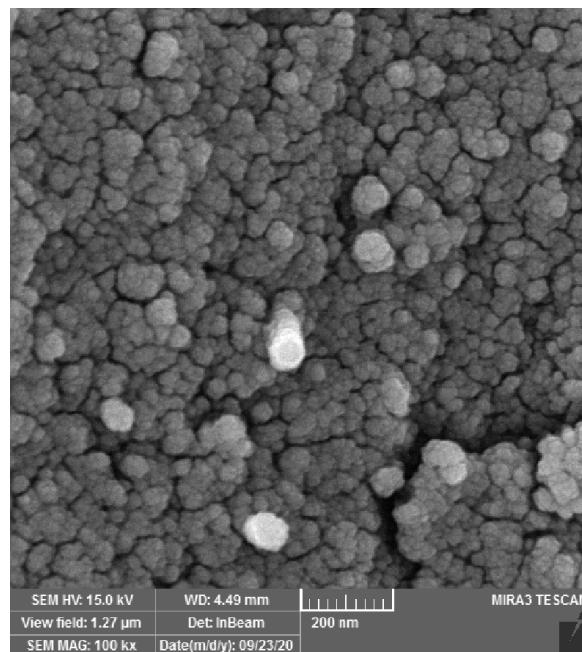
با ثابت نگاه‌داشتن حیوانات روی تخته جراحی، کالبد شکافی انجام و بلافاصله نمونه‌های بافتی کبد، کلیه و طحال برداشته شد. سپس با در نظر گرفتن موازین اخلاقی حیوانات، بعد از فیکس کردن نمونه‌های بافتی کبد، کلیه و طحال در فرمالین ۱۰ درصد، فرآیند آب‌گیری به منظور جلوگیری از چروکیدگی و خراب شدن نمونه‌های بافتی توسط اتانول انجام پذیرفت و بعد از مرحله‌ی قالب‌گیری برای ورود به مرحله‌ی رنگ‌آمیزی برش‌های بافتی نازک

طرح X-Ray Crystallography (XRD) نمونه نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳، و الگوی استاندارد Fe_3O_4 در شکل ۲ مشاهده می‌گردد. قله‌های پراش ایجاد شده در راستای صفحات بلوری (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۵۱۱) و (۴۴۰) نشان دهنده ساختار اسپینل مکعبی و در توافق با الگوی استاندارد است. همچنین پهن شدگی قله‌های پراش حاکی از کاهش اندازه نانوذرات است. متوسط اندازه بلورک‌ها در نمونه فراوری شده ۷ نانومتر می‌باشد که با استفاده از رابطه دبی-شرر [۱۱]. محاسبه گردیده است:

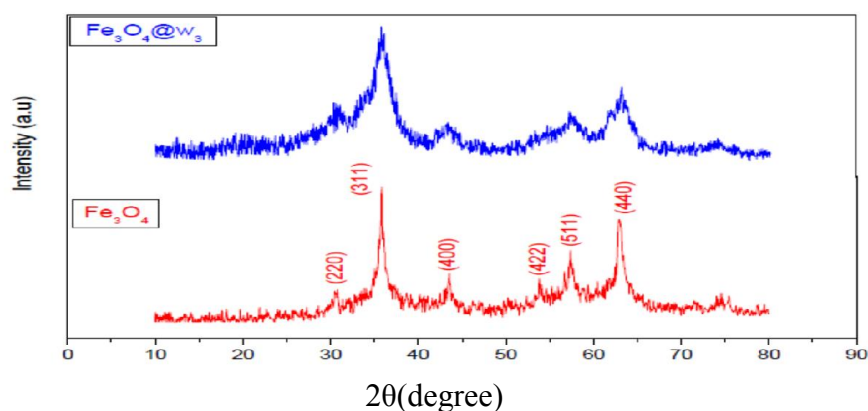
$$d = \frac{0.9 \lambda}{\beta \cos \theta}$$

که در آن λ طول موج تابش پرتو X، d اندازه بلورک‌ها، θ زاویه پراش و β پهنای کل در نیمه ارتفاع بیشینه پراش مورد نظر می‌باشد. همچنین ثابت شبکه برای نمونه نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگاتری، $۸/۳۲۴$ آنگستروم محاسبه گردید که نسبت به نمونه بدون پوشش ($۸/۳۷۶$ آنگستروم) اندکی کاهش یافته است.

مغناطیسی بین ذرات خوشه‌هایی کروی شکل با اندازه کم‌تر از ۲۰۰ نانومتر تشکیل شده است. همچنین مشاهده شد که ذرات و خوشه‌های تشکیل شده دارای توزیع اندازه تقریباً یکنواختی می‌باشند.

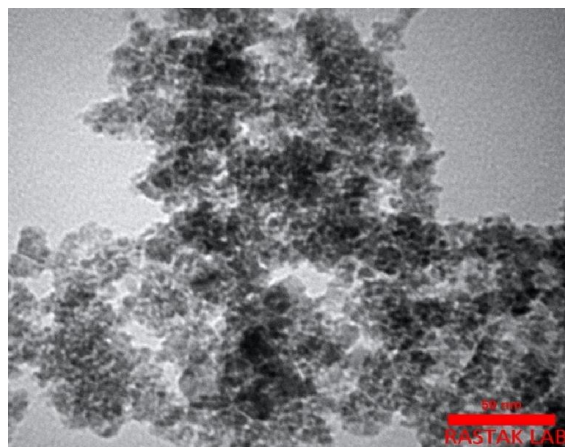


شکل ۱- تصویر SEM نمونه اکسید آهن پوشیده شده با امگا-۳



شکل ۲- تصویر الگوی پراش (XRD) نمونه اکسید آهن پوشیده شده با امگا-۳ و الگوی استاندارد اکسید آهن (Fe_3O_4)

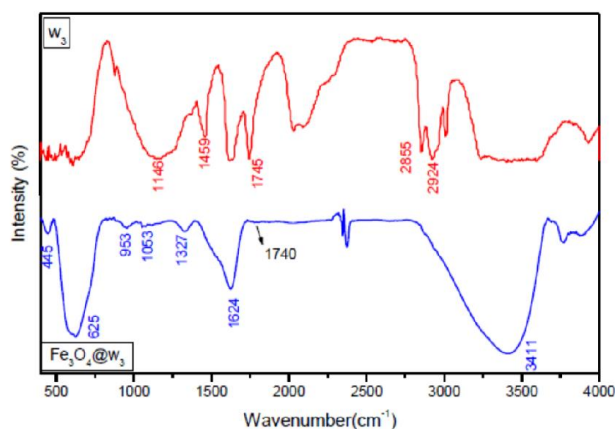
تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) Transmission Electron Microscopy نانوذرات اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ در شکل ۴ نمایش داده شده است. همان گونه که ملاحظه می‌گردد تصویر شامل نقاط (نواحی) تیره است که نشان دهنده نانوذرات اکسید آهن بوده و نواحی روشن مؤید پوشش اطراف آن‌ها می‌باشد که به دلیل اندازه بسیار ریز ذرات با وضوح بالا قابل مشاهده نیست. با توجه به تصاویر، اندازه ذرات کمتر از ۱۰ نانومتر بوده و توزیع اندازه آن‌ها تقریباً یکنواخت می‌باشد.



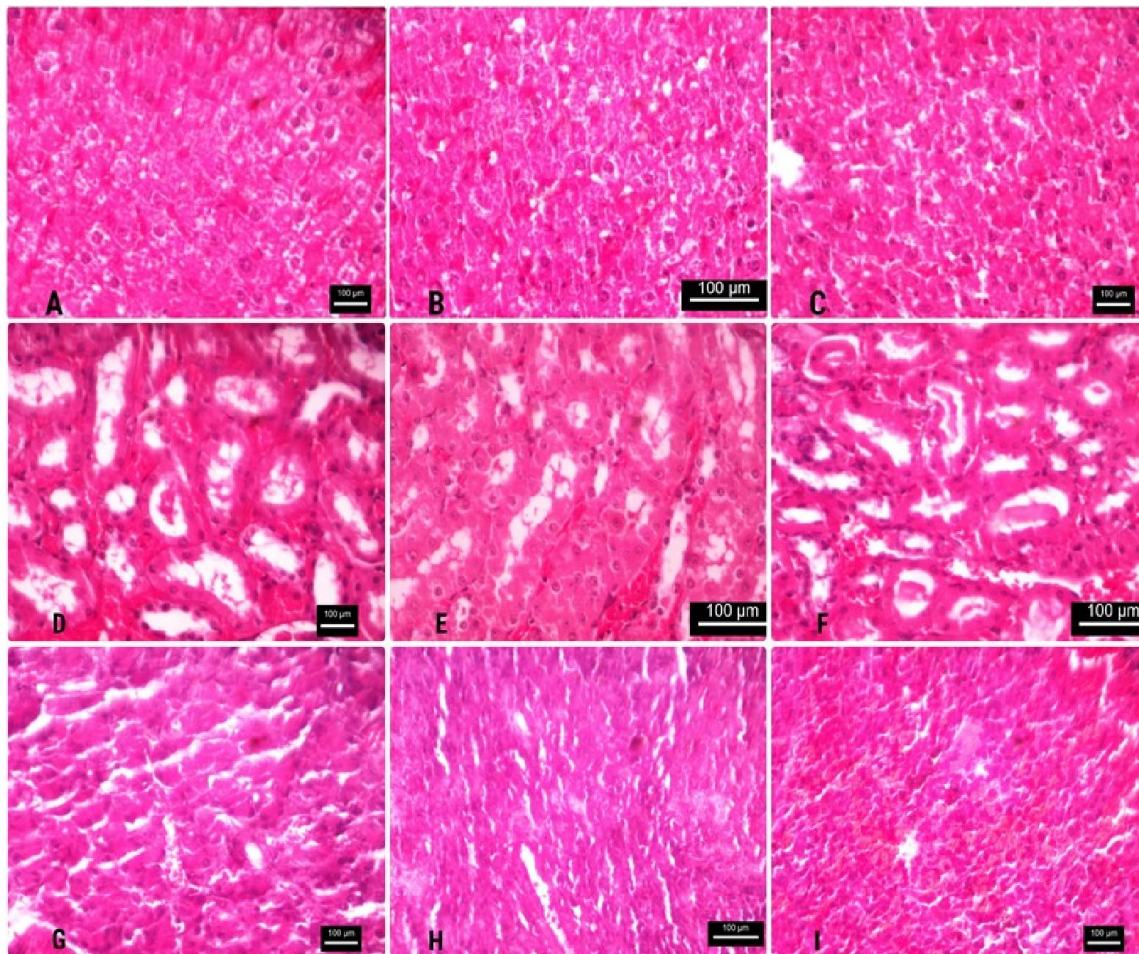
شکل ۴- تصویر TEM نمونه اکسید آهن پوشش داده شده با امگا-۳

ارزیابی‌های هیستولوژیک کبد، کلیه و طحال موش‌های هر سه گروه مورد آزمایش، در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ که به ترتیب تحت تیمار با نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ با دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفته بودند، ساختار سلولی نرمالی مشاهده شد و در مقایسه با گروه کنترل تصویر بافتی یکسانی داشتند و اندازه سلول‌ها و عروق خونی تفاوتی با گروه کنترل نشان نداد (شکل ۵).

طیف Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectrometer روغن امگا-۳ و نمونه اکسید آهن در شکل ۳ نمایش داده شده است. روغن امگا-۳ دارای گروه اسیدی کربوکسیلیک (-COOH) در ابتدای زنجیره است. باندهای جذبی مشاهده شده در بازه ۱۰۰۰-۱۵۰۰ cm^{-1} مربوط به ارتعاشات پیوندهای کربنی C-H و C-O می‌باشد. ارتعاش پیوند C=O نیز یک باند جذبی در ۱۷۴۵ cm^{-1} ایجاد می‌نماید [۱۳]. ارتعاشات کششی پیوندهای C-H(CH₂) نیز منجر به پیدایش باندهای جذبی در ۲۸۵۵ و ۲۹۲۴ cm^{-1} می‌شوند. دره‌های جذبی مشاهده شده در ۴۴۵ و ۶۲۵ cm^{-1} در نمونه نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ مربوط به ارتعاش پیوند Fe-O در ساختار اسپینلی است [۱۵]. که مؤید وجود اکسید آهن در نمونه است. از سوی دیگر باند جذبی ناشی از پیوند C=O در نمونه اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ بسیار ضعیف شده و پیوند C-O نیز به سمت فرکانس پایین‌تر (۱۰۵۳ cm^{-1}) انتقال یافته است که نشان دهنده برهمکنش بین امگا-۳ و سطح نانوذرات است.



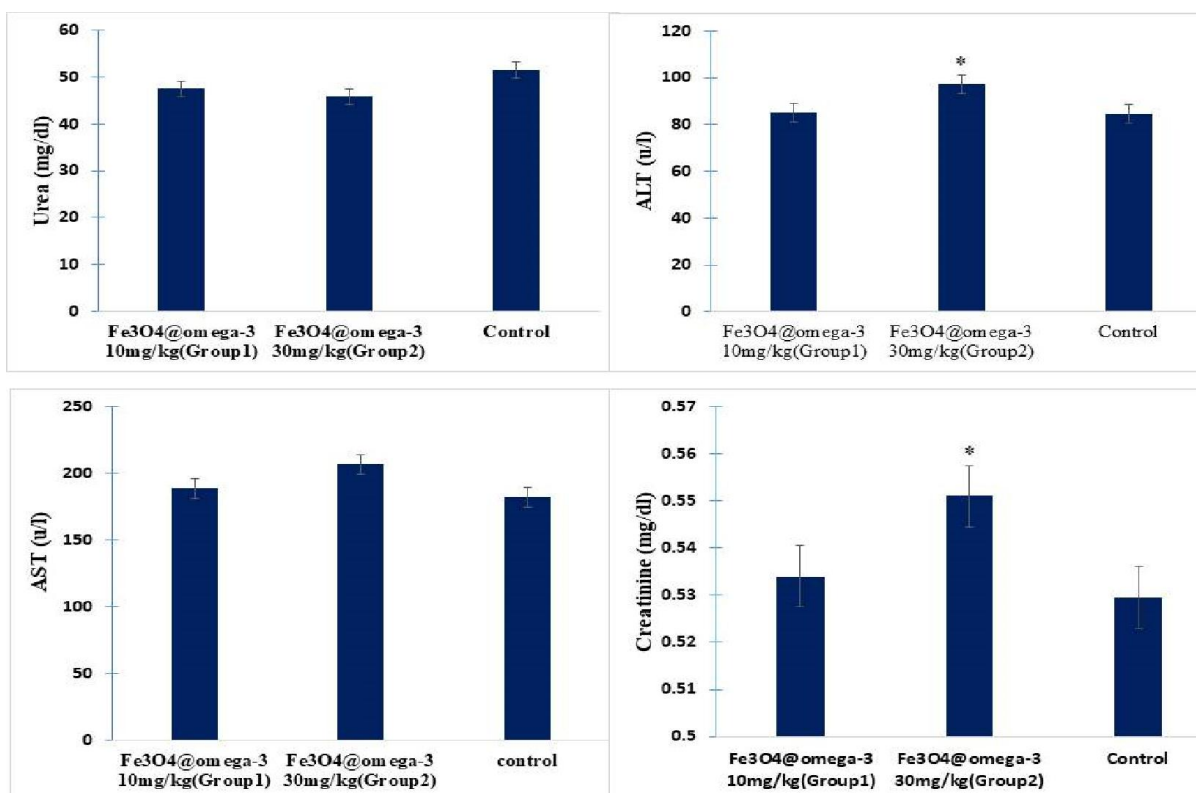
شکل ۳- طیف FTIR روغن امگا-۳ (W₃) و اکسید آهن پوشش داده شده با امگا-۳



شکل ۵- تصاویر هیستولوژیک کبد، کلیه و طحال (A) کبد گروه کنترل (B) کبد گروه تجربی ۱ (C) کبد گروه تجربی ۲ (D) کلیه گروه کنترل (E) کلیه گروه تجربی ۱ (F) کلیه گروه تجربی ۲ (G) طحال گروه کنترل (H) طحال گروه تجربی ۱ (I) طحال گروه تجربی ۲

اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در بررسی کراتینین خون نیز در نمونه‌های مورد بررسی، سطح کراتینین در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($P=0/042$) (نمودار ۱).

براساس نتایج حاصل، میزان فاکتور اوره خون در نمونه‌های مورد بررسی، هیچ‌گونه تغییر معناداری در مقایسه با گروه کنترل نداشت. در بررسی آنزیم‌های کبدی، میزان آنزیم ALT در گروه تجربی ۲ در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($P=0/038$). همچنین هیچ تغییری در آنزیم AST در گروه‌های تحت تیمار با نانوذره



نمودار ۱- آنالیز فاکتورهای اوره، کراتینین، ALT و AST در گروه‌های مورد آزمایش. نتایج نشان دهنده میانگین \pm انحراف استاندارد می‌باشد، اختلاف آماری در مقایسه با گروه کنترل منفی می‌باشد ($P < 0.05$).

بحث

نانوذرات اکسید آهن با توجه به خواص فیزیکی و شیمیایی کاربردهای وسیعی دارند [۱۶]. با توجه به سنتز آسان، سازگاری زیستی، چند منظوره بودن و امکان اصلاح سطح بیش‌تر با عوامل مختلف شیمیایی، نانوذرات اکسید آهن می‌توانند در بسیاری از زمینه‌های پزشکی مورد استفاده قرار گیرند [۴].

نانوذرات با توجه به ابعاد بسیار کوچک از سدهای فیزیولوژیکی داخل بدن به سهولت عبور می‌کنند [۱۷] و پس از ورود به جریان خون با سلول‌های ایمنی بدن، سلول‌های خونی، فاکتورهای انعقادی، پروتئین‌های پلاسما و

پلاکت‌ها تعامل برقرار کرده و موجب فعالیت‌های متعددی از جمله تغییر تعداد سلول‌های خونی، تحریک استرس اکسیداتیو، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلول و افزایش سلول‌های درگیر در فرآیندهای ایمنی می‌شوند [۱۸-۱۹].

در پژوهش حاضر اثرات نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ با دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم که به صورت درون صفاقی تزریق شد، بر فاکتورهای خونی و آنزیم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل بیان‌گر این بود که میزان اوره خون و آنزیم AST در گروه‌های تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل هیچ‌گونه تفاوت معناداری را نشان نداد. در بررسی آنزیم ALT مشاهده شد که سطح این آنزیم در گروه‌های تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری

سیتوپلاسم شود. در نتیجه موجب بهبود دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد شود. هم‌چنین اسیدهای چرب امگا-۳ می‌توانند جایگزین اسیدهای چربی شوند که مورد حمله رادیکال‌های اکسیژن قرار گرفته‌اند [۲۱-۲۲].

نانوذرات اکسید آهن در محافظت از سلول‌های عصبی در برابر استرس‌های اکسیداتیو در ضایعات نخاعی نقش دارند. هم‌چنین اثر نانوذرات اکسید آهن و میدان مغناطیسی در رگ‌زایی در موش‌های دچار ایسکمی در ناحیه هیپوکامپ مغز در مطالعات اخیر تأیید گردیده است [۲۳].

یکی از محدودیت‌های این پژوهش، نداشتن کار مولکولی و بررسی بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز بود. پیشنهاد می‌شود که ژن‌های دخیل در آپوپتوز در بافت‌های مختلف هم در پژوهش‌های آتی مورد بررسی قرار بگیرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ اثرات سمی بر بافت‌های مورد مطالعه نداشته است و اختلال محسوسی در فاکتورهای خونی به وجود نیاورده است. از این رو می‌تواند به عنوان یک فاکتور کمکی در درمان سلول‌های سرطانی و هم‌چنین به عنوان یک حامل دارویی مورد ارزیابی بیشتر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

با تشکر از دانشگاه محقق اردبیلی که امکانات لازم در جهت انجام این پژوهش را فراهم نمود. هم‌چنین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی به خاطر حمایت مالی این پژوهش قدردانی می‌شود.

افزایش یافته بود. هم‌چنین میزان کراتینین نیز در دوز ۳۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافته بود. به نظر می‌رسد نانوذرات به دلیل ابعاد کوچک‌تر و توانایی نفوذ بیشتر به غشای سلول به خصوص در غلظت بیشتر، می‌توانند به سلول‌های کبدی نفوذ کرده و در فعالیت آنزیمی آن‌ها اختلال ایجاد کنند [۷]. نتایج مطالعات Shubayev و همکاران نشانگر این بود که اساسی‌ترین علت عدم اثرات سمیت نانوذرات اکسید آهن بر جانوران، حذف سریع آن‌ها از جریان خون توسط ماکروفاژ-های موجود در کبد، طحال و گره‌های لنفاوی است که این حذف سریع پس از پدیده اپسونیزاسیون (تجمع پروتئین‌های خون در اطراف نانوذرات) صورت می‌گیرد و موجب تحریک سیستم ایمنی و دفع نانوذرات می‌شود. بنابراین در پژوهش حاضر با تزریق نانوذرات، بخشی از آن‌ها از طریق جریان خون خارج و مقدار باقی‌مانده از آن‌ها فرصت نفوذ و ورود به اندام‌های مختلف بدن را داشته و در نتیجه اثرات جانبی چندانی ایجاد نکرده است [۲۰].

مطالعات میکروسکوپی بافت‌های کبد، کلیه و طحال گروه‌های تحت تیمار با نانوذره اکسید آهن پوشیده با امگا-۳ با گروه کنترل نشان داد که بافت‌های کبد، کلیه و طحال کاملاً عادی است. هم‌چنین سلول‌های کبد، کلیه و طحال در گروه‌های تحت تیمار سیتوپلاسم و هسته مشخصی دارند و هیچ اختلال غیر طبیعی در آن وجود ندارد.

مطالعات پیشین نشان داده است که استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ به عنوانی پوششی برای نانوذره اکسید آهن می‌تواند باعث افزایش سطح کاتالاز در پراکسی‌زوم‌ها و

References

- [1] Ostadhadi S, Bakhtiarian A, Azizi Y, Nikoui V. Respiratory and blood responses following intratracheal instillation of titanium dioxide nanoparticles in rabbits. *TUMJ* 2013; 71(1): 71-79.
- [2] Bhushan I, Singh VK, Tripathi DK, editors. Nanomaterials and environmental biotechnology. India, *S N*. 2020; 1-17.
- [3] Alirezaee M, BEHNAM RM, MAHDAVI SN, Chamsaz M. Epidemiological study of trace elements (Iron, Zinc, Copper, Chromium and Cobalt) in nails of sexually premature and matured boys. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 26(1): 136-144.
- [4] Dulińska-Litewka J, Łazarczyk A, Hałubiec P, Szafranski O, Karnas K, Karewicz A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles—Current and prospective medical applications. *Materials* 2019; 12(4): 617-9.
- [5] Abayarathne HM, Dunuweera SP, Rajapakse RM. Synthesis of cisplatin encapsulated Zinc oxide nanoparticles and their application as a carrier in targeted drug delivery. *Ceylon J Sci* 2020; 49(1): 71-9.
- [6] Trivedi M, Murase J. Application of Titanium Dioxide. London, *Intech*. 2017; 61-71.
- [7] Hajirahimi A, Farokhi F, Tokmehchi A. Effects of Iron oxide and zinc nanoparticles on the liver and muscles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iran J Vet Res* 2015; 28(3): 293-306 [Farsi]
- [8] Ramezani N, Shiravi A, Hojati V. The effect of different doses of silver nanoparticles on the lungs of male Wistar rats. *J Anim Sci* 2017; 9 (3): 57-62 [Farsi]
- [9] Sheydaei P, Bayrami A, Arbabi S. Evaluation the toxicity of Titanium dioxide nanoparticles on hematological and biochemical parameters in mice. *J Anim Sci* 2019; 31(4): 396-404.
- [10] Chang YN, Zhang M, Xia L, Zhang J, Xing G. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials* 2012; 5(12): 2850-71.
- [11] Mirzaee S, Shayesteh SF, Mahdaviifar S. Synthesis and characterization of cubic omega-3-coated cobalt ferrite nanoparticles. *J Supercond Nov Magn* 2014; 27(7): 1781-5.
- [12] Naserzadeh P, Hafez AA, Abdorahim M, Abdollahifar MA, Shabani R, Peirovi H, Simchi A, Ashtari K. Curcumin loading potentiates the neuroprotective efficacy of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles in cerebellum cells of schizophrenic rats. *Biomed Pharmacother* 2018; 108: 1244-52.

- [13] Ghasemi M, Khazaei Koozpar Z, Falahati M. The Effect of Iron Oxide Nanoparticles and Magnetic Field on Angiogenesis and Deregulation of Vegfa Gene After Ischemia Reperfusion in Rat. *J Arak Uni Med Sci* 2018; 21(3): 83-93.
- [14] Asadi A, Zahri S, Abdolmaleki A. Biosynthesis, characterization and evaluation of the supportive properties and biocompatibility of DBM nanoparticles on a tissue-engineered nerve conduit from decellularized sciatic nerve. *Regen Ther* 2020; 14: 315-21.
- [15] Stoia M, Istrate R, Păcurariu C. Investigation of magnetite nanoparticles stability in air by thermal analysis and FTIR spectroscopy. *J Therm Anal Calorim* 2016; 125(3): 1185-98.
- [16] Morton JG, Day ES, Halas NJ, West JL. Nanoshells for photothermal cancer therapy. *Cancer Nanotechnol* 2010; 3(624): 101-17.
- [17] Sheydaei P, Bayrami A, Arbabi S. Evaluation the toxicity of Titanium dioxide nanoparticles on hematological and biochemical parameters in mice. *J Anim Sci* 2019; 31(4): 396-404.
- [18] Gaharwar US, Paulraj R. Iron oxide nanoparticles induced oxidative damage in peripheral blood cells of rat. *Int j biomed Sci Eng* 2015; 8(04): 274.
- [19] Cheraghi J, Hosseini E, Hoshmandfar R, Sahraei R. Hematologic parameters study of male and female rats administrated with different concentrations of silver nanoparticles. *IJACS* 2013; 5(7): 789-96.
- [20] Shubayev VI, Pisanic II TR, Jin S. Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61(6): 467-77.
- [21] Visioli F, Giordano E, Nicod NM, Dávalos A. Molecular targets of omega 3 and conjugated linoleic fatty acids—"micromanaging" cellular response. *Front Physiol* 2012; 42(3): 21-9.
- [22] Gomes EC, Silva AN, Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell Longev* 2012; 4(2012): 65-8.
- [23] Ramezani T, Nabiun IM, Namvar F. Anti-cancerous effects of silver nanoparticles coated with curcumin on A2780 ovarian cancerous cells. *Tissue Cell* 2016; 7(3): 313-22.

Preparation of Omega-3 Coated Iron Oxide Nanoparticles and Their Effect on Hepatic, Renal, and Splenic Function in Rats: An Experimental Study

M. Tamjid^۱, F. Mahmoudi^۲, A. Abdolmaleki^{۳,۴}, Sh. Mirzaee^۵

Received: 13/07/21 Sent for Revision: 25/07/21 Received Revised Manuscript: 19/09/21 Accepted: 20/09/21

Background and Objectives: Due to its unique properties, iron oxide nanoparticles have many applications in medicine. The aim of this study was to prepare omega-3 coated iron oxide nanoparticles and investigate their effect on liver and kidney, and spleen function in rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 Wistar rats were randomly divided into three groups including control group (receiving physiology serum as drug solvent), experimental groups 1 and 2 treated with omega-3 coated iron oxide nanoparticles with doses of 10 and 30 mg/kg, respectively. After one week of drug treatment, blood sampling and tissue sampling of liver, kidney, and spleen were performed. One-way analysis of variance, Tukey's post hoc, Levene, and non-parametric Kolmogorov-Smirnov tests were used for data analysis.

Results: Injection of nanoparticles at a dose of 10 mg/kg did not show a significant change in blood urea and AST (Aspartate Transaminase) factors compared to the control group ($p=0.042$). However, at a dose of 30 mg/kg, creatinine and ALT (Alanine Transaminase) blood factors increased significantly compared to the control group ($p=0.038$). Histopathological examination of liver, kidney, and spleen tissue samples of the treated groups did not show any tissue disorders compared to the control group.

Conclusion: The results showed that omega-3 coated iron oxide nanoparticles at low doses had no toxic effects on the studied tissues and did not disrupt blood factors. Therefore, it can be further evaluated as an adjunct in the treatment of cancer cells as well as drug carriers.

Key words: Iron oxide nanoparticles, Liver, Kidney, Histotoxicity, Rat

Funding: This study was funded by University of Mohaghegh Ardabili.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest.

Ethical approval: The Ethics Committee of University of Mohaghegh Ardabili approved the study (IR.ARUMS.REC.1400.08).

How to cite this article: Tamjid M, Mahmoudi F, Abdolmaleki A, Mirzaee Sh. Preparation of Omega-3 Coated Iron Oxide Nanoparticles and Their Effect on Hepatic, Renal, and Splenic Function in Rats: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2021; 20 (8): 879-90. [Farsi]

1- MSc, Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, ORCID: 0000-0002-6984-8742

2- Associate Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, ORCID: 0000-0001-6092-1352

3- Assistant Prof., Dept. of Engineering Sciences, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohaghegh Ardabili, Namin, Iran ORCID: 0000-0002-7454-8728

(Corresponding Author) Tel: (045) 31505187, Fax: (045) 31505187, E-mail: abdolmalekiarash1364@gmail.com

4- Assistant Prof., Bioscience and Biotechnology Research Center (BBRC), Sabalan University of Advanced Technologies (SUAT), Namin, Iran, ORCID: 0000-0002-7454-8728

5- Assistant Prof., Dept. of Engineering Sciences, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohaghegh Ardabili, Namin, Iran, ORCID: 0000-0001-7956-2863