

تأثیر نانوذرات اکسید آهن بر غلظت آنزیم های کبدی، هورمون های تیروئیدی و هورمون محرک تیروئید در موش صحرائی

محمد افخمی اردکانی^۱، علی شیربند^{۲*}، جلال گلزاده^۱، مجید اسدی سامانی^۳، ابراهیم لطیفی^۱، محمد خیلاپور^۱

نسیم جعفری^۱

^۱گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ ^۲گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران؛ ^۳مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۳ اصلاح نهایی: ۹۱/۴/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۲۶

چکیده:

زمینه و هدف: نانوذرات اکسید آهن به عنوان عنصر ایجاد کننده ی تضاد در رزونانس مغناطیسی هسته (MRI) و همچنین گرمادرمانی سلول های سرطانی استفاده های گسترده ای دارند. با این وجود، اثرات این نانوذرات روی سلامتی انسان هنوز به طور کامل بررسی نشده است. در این تحقیق اثرات نانوذرات اکسید آهن روی سطح سرمی آنزیم های کبدی، هورمون های تیروئیدی و هورمون محرک تیروئید (TSH) در موش های صحرائی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۸ سر موش صحرائی از نژاد ویستار به چهار گروه تقسیم شدند. گروه های مورد، روزانه به مدت پانزده روز، نانوذرات اکسید آهن را با غلظت های ۲۰۰µg/kg، ۵۰۰µg/kg و ۱۵۰۰µg/kg که در یک میلی لیتر آب مقطر حل شده بود توسط لوله ی گاواژ دریافت کردند. گروه شاهد نیز روزانه یک میلی لیتر آب مقطر دریافت کرد. داده ها با استفاده از آزمون آماری ANOVA و تست Tukey تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: غلظت سرمی آنزیم های آلکالاین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و هورمون تیروکسین (T4) در گروه دریافت کننده ی دوز ۱۵۰۰µg/kg نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵). غلظت سرمی آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه های دریافت کننده ی دوزهای ۵۰۰µg/kg و ۱۵۰۰µg/kg نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان داد (P<۰/۰۵). غلظت سرمی هورمون TSH در گروه های دریافت کننده ی دوزهای ۵۰۰µg/kg و ۱۵۰۰µg/kg نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد (P>۰/۰۵).

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان می دهد که نانوذرات اکسید آهن در غلظت های بالا (۱۵۰۰µg/kg) اثرات سمی بر فعالیت کبد و تیروئید دارند.

واژه های کلیدی: آنزیم های کبدی، نانوذرات اکسید آهن، هورمون های تیروئیدی، هورمون محرک تیروئید.

مقدمه:

اکسید آهن جهت نشانه گذاری (Labeling) سلول های بنیادی و ردیابی آنها استفاده می شود (۲). این نانوذرات به دلیل خواص فیزیکوشیمیایی که دارند به عنوان حامل های دارویی در درمان سلول های سرطانی در محیط های زنده استفاده های گسترده ای دارند (۳). همچنین این نانوذرات دارای کاربردهای زیست پزشکی

با پیشرفت نانو تکنولوژی، کاربرد مهندسی نانوذرات به سرعت در حال گسترش به رشته های دیگر نظیر الکترونیک، پزشکی، صنایع غذایی، صنایع پوشاک، صنایع آرایشی و تجهیزات ورزشی می باشد (۱). نانوذرات اکسید آهن به عنوان عنصر ایجاد کننده تضاد در MRI استفاده می شود. امروزه از نانوذرات

زیادی از قبیل بازسازی بافتی، ایمنی سنجی، رفع مسمومیت مایعات زیستی، گرمادرمانی سلول های سرطانی و غیره می باشد (۴). استفاده از نانوذرات اکسید آهن به عنوان انتقال دهنده ی دارو برای درمان سرطان به سال ۱۹۷۰ باز می گردد و تا به حال نیز ادامه داشته است (۵). با وجود کاربرد فراوان این نانوذرات اثرات آنها روی سلامتی انسان هنوز به طور کامل شناخته نشده است (۱). اخیراً برخی مطالعات ثابت کرده اند که اگرچه فرایند نشانه گذاری با نانوذرات اکسید آهن بر روی قابلیت زیست و تکثیر سلول ها اثری ندارد ولی این عمل فرایند حفره سازی بدن جنین و نیز تمایز سلول های بنیادی جنینی به سلول های عصبی (نوروزن) را به طور ناچیزی مهار می کند (۶). همچنین نانوذرات اکسید آهن باعث تشدید پاسخ های التهابی در موش های تیمار شده با این نانوذرات می شوند. مطالعات نشان داده است که این نانوذرات قادرند چرخه سلولی را در مرحله G1 متوقف کنند (۱). Apopa و همکارانش اعلام کردند که نانوذرات اکسید آهن باعث افزایش نفوذپذیری سلول های اندوتلیالی می شوند (۷). نانوذرات به دلیل شکل و اندازه ای که دارند می توانند از سد های فیزیولوژیکی عبور کرده و اثرات مضر به جای گذارند. به هر حال اطلاعات ما در مورد سمی بودن آن ها بسیار محدود می باشد (۸).

در این تحقیق فرض بر این است که تماس طولانی با نانوذرات اکسید آهن موجب بروز اختلال در سیستم های آنزیمی کبدی (ALP، ALT و AST) و همچنین هورمون های تیروئیدی (T_3 و T_4) و TSH می گردد.

در این تحقیق فرض بر این است که تماس طولانی با نانوذرات اکسید آهن موجب بروز اختلال در سیستم های آنزیمی کبدی (ALP، ALT و AST) و همچنین هورمون های تیروئیدی (T_3 و T_4) و TSH می گردد.

در ایزوآنزیم های میتوکندریایی و سیتوزولی وجود دارد و در کبد، ماهیچه، مغز و پانکراس یافت می شود. ALT یک آنزیم سیتوزولی است که برای کبد اختصاصی است. ALP آنزیمی است که در بسیاری از بافت ها وجود دارد و به مقدار زیادی از کبد و استخوان آزاد می شود و انسداد مجاری صفراوی منجر به افزایش سرمی آن می گردد (۹).

روش بررسی:

حیوانات مورد استفاده در این تحقیق تجربی موش های صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۳۰۰ گرم بود که از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تهیه شد. حیوانات در زمان آزمایش به طور متوسط دارای سن ۳-۲/۵ ماه بودند. درجه حرارت محیط در زمان آزمایش ۲۵-۲۰ درجه ی سانتیگراد در طول شبانه روز بود. همچنین شرایط نوری به مدت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. آب آشامیدنی از آب لوله کشی شهری و تغذیه ی حیوانات به وسیله ی خوراک مخصوص موش (غذای فشرده) که از شرکت سهامی خوراک دام و طیور پارس تهیه شده بود انجام شد.

در این پژوهش حیوانات به صورت تصادفی به دو گروه شاهد و مورد تقسیم شدند. گروه شاهد شامل ۷ سر موش بود که در زمان آزمایش به آن ها روزانه یک میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۵ روز خورانده شد. گروه تجربی شامل سه زیر گروه و هر کدام شامل ۷ سر موش که به آن ها مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن که از پژوهشکده نانوتکنولوژی یزد تهیه و در یک میلی لیتر آب مقطر حل شده بود با غلظت حداقل $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ ، غلظت متوسط $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ و غلظت حداکثر $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ ، به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی و از طریق لوله گاواژ خورانده شد.

اندازه گیری شد.

نتایج حاصله توسط برنامه آماری SPSS و آزمون ANOVA و تست تعقیبی توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف در سطح احتمال $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

آنزیم AST در گروه های دریافت کننده ی دوز $50 \mu\text{g/kg}$ و $150 \mu\text{g/kg}$ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$). غلظت سرمی آنزیم های ALT و ALP تنها در گروه تجربی دریافت کننده دوز $150 \mu\text{g/kg}$ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$) (جدول شماره ۱).

از تمام موش ها در پایان روز پانزده ام خون گیری از طریق سیاهرگ رترواوربیتال چشمی صورت گرفت. و سپس هر نمونه به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. بعد از جداسازی سرم از لخته، نمونه ها تا زمان انجام سنجش های آنزیمی و هورمونی در دمای -20 درجه سانتیگراد منجمد و نگهداری شد.

آنزیم های کبدی شامل AST، ALT و ALP با استفاده از کیت های آنزیمی شرکت پارس آزمون و به روش توصیه شده در IFCC اندازه گیری شدند. غلظت هورمون های تیروئیدی (T3 و T4) و TSH با استفاده از روش الایزا و کیت های خریداری شده از شرکت Monobind ساخت آمریکا و خاص هر هورمون

جدول شماره ۱: غلظت سرمی آنزیم های کبدی در گروه شاهد و گروه های تجربی دریافت کننده نانوذرات اکسید آهن.

گروه ها	شاهد	دوز حداقل	دوز متوسط	دوز حداکثر	نوع آنزیم
AST	$130/66 \pm 5/81$	$140 \pm 4/35$	$171/66 \pm 9/93^*$	$214/33 \pm 8/56^*$	
ALT	$85 \pm 7/00$	$74 \pm 13/79$	$60 \pm 2/08$	$143 \pm 7/37^*$	
ALP	$490/33 \pm 6/06$	$489 \pm 17/52$	$440 \pm 9/01$	$586 \pm 18/71^*$	

* $P < 0/05$ ، دوز حداقل: $20 \mu\text{g/kg}$ ، دوز متوسط: $50 \mu\text{g/kg}$ ، دوز حداکثر: $150 \mu\text{g/kg}$.
 AST آسپارات آمینوترانسفراز. ALT آلانین آمینوترانسفراز. ALP آلکالاین فسفاتاز.
 داده ها به صورت "میانگین \pm انحراف معیار" می باشند.

اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0/05$). ولی بین گروه دریافت کننده ی دوز $150 \mu\text{g/kg}$ و گروه شاهد افزایش معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). همچنین میزان هورمون TSH در گروه های دریافت کننده ی دوز های $50 \mu\text{g/kg}$ و $150 \mu\text{g/kg}$ نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد (جدول شماره ۲).

بررسی تاثیر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن بر غلظت هورمون تری یدوتیرونین (T3) نشان داد که بین گروه های تجربی و گروه شاهد اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P > 0/05$). غلظت هورمون تیروکسین (T4) در گروه های دریافت کننده دوزهای $50 \mu\text{g/kg}$ و $20 \mu\text{g/kg}$ نسبت به گروه شاهد

جدول شماره ۲: غلظت سرمی هورمون های تیروئیدی و هورمون محرک تیروئید در گروه کنترل و گروه های تجربی دریافت کننده نانوذرات اکسید آهن

نوع هورمون	گروه ها	شاهد	دوز حداقل	دوز متوسط	دوز حداکثر
T ₃		۱۰۶/۳۳ ± ۱/۲	۱۰۸/۳۳ ± ۳/۷۵	۱۱۱ ± ۲۵/۶۹	۱۲۹/۶۶ ± ۳۲/۵۱
T ₄		۱/۳ ± ۰/۱۵	۱/۹۳ ± ۰/۲۹	۲/۰۶ ± ۰/۵۲	۳/۲۳ ± ۰/۵۶*
TSH		۰/۱۵ ± ۰/۰۰۸	۰/۱۳ ± ۰/۰۱۰	۰/۰۴ ± ۰/۰۱۰*	۰/۰۲۳ ± ۰/۰۰۳*

* $P < 0.05$ نسبت به گروه شاهد دوز حداقل: $20 \mu\text{g/kg}$ ، دوز متوسط: $50 \mu\text{g/kg}$ ، دوز حداکثر: $150 \mu\text{g/kg}$.
 T₃: تری یودوتیرونین، T₄: تیروکسین، TSH: هورمون محرک تیروئید.
 داده ها به صورت "میانگین ± انحراف معیار" می باشند.

بحث:

لازمه‌ی اعمال حیاتی کبد می باشد (۹). نانوذرات اکسید آهن با توجه به خصوصیات فیزیکوشیمیایی که دارند این ثبات را بر هم زده و موجب بروز اختلال در عملکرد کبد می گردند. مطالعات زیادی روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات صورت گرفته است. به عنوان مثال تحقیقات نشان دادند که نانوذرات نقره دارای اثرات سمی، روی سلول های ماهی ها هستند (۱۱). همچنین نانوذرات به دلیل دارا بودن خصوصیات فیزیکوشیمیایی، قابلیت زیست و تکثیر سلول های زنده را کاهش دهد (۱۲، ۱۳). مطالعه بر روی جوندگانی که نانوتیوب های کربنی در مجاری تنفسی و مغز آن ها انباشته شده بود نشان داد که این نانوذرات دارای اثرات سمی هستند (۱۴).

در این مطالعه مشاهده شد که نانوذرات اکسید آهن باعث افزایش معنی داری در غلظت سرمی هورمون T₄ و کاهش معنی داری در غلظت سرمی هورمون TSH می شوند. احتمال می رود که این نانوذرات می توانند اعمال آندوکربینی را از طریق مهار محور هیپوفیز-هیپوتالاموس تحت تاثیر قرار دهد که شاید به دلیل کاهش TSH باشد. با توجه به کاهش سطح هورمون

نتایج بدست آمده در بررسی تاثیر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن بر میزان آنزیم های کبدی نشان می دهد که نانوذرات اکسید آهن در غلظت های بالا ($150 \mu\text{g/kg}$) باعث افزایش معنی داری در غلظت این آنزیم ها می شود. آنزیم ALT برای کبد اختصاصی بوده و آسیب سلول های کبدی باعث افزایش آزاد شدن این آنزیم می گردد. از این رو ممکن است دلیل افزایش آنزیم ALT تاثیر تخریبی نانوذرات اکسید آهن روی سلول های کبدی باشد. همچنین انسداد مجاری صفراوی باعث افزایش غلظت سرمی آنزیم ALP می گردد. از این رو احتمالاً با توجه به تخریب سلول های کبدی و انسداد مجاری صفراوی غلظت ALP افزایش یافته است. افزایش غلظت آنزیم های AST و ALT ممکن است به دلیل افزایش آنابولیسیم یا کاهش کاتابولیسیم آن ها باشد (۱۰). به نظر می رسد تغییرات در میزان آنزیم های کبدی به دلیل اثرات نانوذرات اکسید آهن روی هورمون های تیروئیدی و با توجه به نقش مهم آن ها در فعالیت های متابولیکی بافت ها باشد.

ثبات و درستی غشای هیپاتوسیت ها

نتیجه گیری:

با توجه به تغییرات حاصله و نتایج بدست آمده از این تحقیق تجربی می توان چنین نتیجه گرفت که نانوذرات اکسید آهن در غلظت های بالا ($150 \mu\text{g/kg}$) دارای اثرات سمی بر فعالیت بافت کبد و غده تیروئید بوده و فعالیت آن ها را مهار می کنند.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق با مساعدت آقای دکتر سعید رضایی زارچی و دانشگاه پیام نور یزد و همچنین همکاری مدیریت محترم گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد و پرسنل بخش نگهداری حیوانات این دانشگاه انجام شده است که بدینوسیله از آن ها تشکر و قدردانی می گردد.

TSH انتظار می رود که میزان هورمون های تیروئیدی نیز کاهش یابد اما مشاهده شد که میزان هورمون T_4 افزایش یافته است، احتمالاً این امر به دلیل تخریب سلول های بافت تیروئید باشد. علت تخریب بافت تیروئید، سطح بالای نانوذرات در داخل خون است که باعث مهار دیدیناسیون T_4 و آسیب به بافت تیروئید می گردد. تحقیقات نشان داده است که استفاده از مهارکننده ی مونو آمین اکسیداز در موش صحرایی می تواند الگوی آزاد شدن TSH را تغییر دهد (۱۵). احتمال می رود نانوذرات اکسید آهن با تاثیر بر روی کبد که مکان اصلی سنتز آنزیم مونو آمین اکسیداز می باشد باعث تاثیر بر روی الگوی آزاد شدن TSH گردد، که به نوبه ی خود منجر به کاهش در مکانیسم انتقال ید می گردد (۹).

منابع:

1. Park EJ, Kim H, Kim Y, Yi J, Choi K, Park K. Inflammatory responses may be induced by a single intratracheal instillation of iron nanoparticles in mice. *Toxicology*. 2010 Sep; 275(1-3): 65-71.
2. Au K-W, Liao S-Y, Lee Y-K, Lai W-H, Ng K-M, Chan Y-C, et al. Effects of iron oxide nanoparticles on cardiac differentiation of embryonic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Feb; 379(4): 898-903.
3. Prijic S, Scancar J, Romih R, Cemazar M, Bregar VB, Znidarsic A, et al. Increased cellular uptake of biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticles into malignant cells by an external magnetic field. *J Membrane Biol*. 2010 Jul; 236(1): 167-79.
4. Mirkovic B, Turnsek TL, Kos J. Nanotechnology in the treatment of cancer. *Zdr Vestn*. 2010 Feb; 79(2): 146-55.
5. Plank C, Scherer F, Schillinger U, Bergemann C, Anton M. Magnetofection: enhancing and targeting gene delivery with superparamagnetic nanoparticles and magnetic fields. *J Liposome Res*. 2003 Feb; 13(1): 29-32.
6. Krejci J, Pachernik J, Hampl A, Dvorak P. In vitro labelling of mouse embryonic stem cells with SPIO nanoparticles. *Gen Physiol Biophys*. 2008 Sep; 27(3): 164-73.
7. Apopa PL, Qian Y, Shao R, Guo NL, Schwegler-Berry D, Pacurari M, et al. Iron oxide nanoparticles induce human microvascular endothelial cell permeability through reactive oxygen species production and microtubule remodeling. *Part Fibre Toxicol*. 2009 Jan; 6.
8. Stone V, Johnston H, Clift MJD. Air pollution, ultrafine and nanoparticle toxicology: Cellular and molecular interactions. *IEEE Trans Nanobioscience*. 2007 Dec; 6(4): 331-40.

9. Mokhtari M, Shariati M, geshmardi N. Oral effects of lead on thyroid hormones and liver enzymes in rats. *Hormozgan Med J*. 2007; 11(2): 115-20.
10. Christ-Crain M, Meier CPuder J, Staub J, Huber P ,Keller U. Changes in liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of euthyroidism in patients with subclinical hypothyroidism. *Excil J*. 2004; 3: 9.
11. Wise JP, Sr Goodale BC, Wise SS, Craig GA, Pongan AF, Walter RB, et al. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells. *Aquat Toxicol*. 2010 Apr; 97(1): 34-41.
12. Shvedova A, Castranova V, Kisin E, Schwegler-Berry D, Murray A, Gandelsman V, et al . Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *J Toxicol Envheala*. 2003; 66(20): 1909-26.
13. Monteiro-Riviere NA, Nemanich RJ, Inman AO, Wang YY, Riviere JE. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett*. 2005 Mar; 155(3): 377-84.
14. Oberdorster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R ,Kreyling W, et al. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol*. 2004 Jun; 16(6-7): 437-45.
15. NourEddine D, Miloud S, Abdelkader A. Effect of lead exposure on dopaminergic transmission in the rat brain. *Toxicology*. 2005 Feb; 207(3): 363-8.

Archive of SID

The effect of iron oxide nanoparticles on liver enzymes (ALT, AST and ALP), thyroid hormones (T₃ and T₄) and TSH in rats

Afkhami-Ardakani M (MSc)¹, Shirband A (MSc)², Golzadeh J (MSc)¹, Asadi-Samani M (MSc)³, Latifi E (MSc)¹, Kheyilapour M (MSc)¹, Jafari N (MSc)¹

¹Biology Dept., Urmia University, Urmia, I.R. Iran; ²Biology Dept., Tehran Payamnoor University, Tehran, I.R. Iran; ³Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 23/Jun/2012 Revised: 9/Jul/2012 Accepted: 16/Jul/2012

Background and aims: Iron oxide nanoparticles have been used as contrast agents in MRI and in thermal therapy for cancer cells. However, their adverse effects on human health have not been fully investigated. In this study the effect of iron oxide nanoparticles on liver enzymes (ALT, AST and ALP), thyroid hormones (T₃ and T₄) and TSH in rats were investigated.

Methods: In this experimental study, 28 male Wistar rats were divided into 4 groups. Three intervention groups received iron oxide nanoparticle (in 20 µg/kg, 50 µg/kg and 150 µg/kg doses, dissolved in 1 ml of distilled water) and the control group received 1 ml of distilled water through gavage tube daily for fifteen consecutive days. Data were analyzed using ANOVA and Tukeys tests.

Results: The serum levels of ALP, ALT and T₄ in the group receiving the maximum dose (150 µg/kg) showed a higher increase compared with control group (P<0.05). Serum AST level in groups receiving the medium (50 µg/kg) and maximum (150 µg/kg) doses showed more increase compared with control group (P<0.05). Serum TSH level in the groups receiving 50 µg/kg and 150µg/kg doses underwent more decrease compared with control group (P<0.05).

Conclusion: The results of this study show that iron oxide nanoparticles have toxic effects on liver and thyroid gland in mice at high concentrations (150 µg/kg).

Keywords: Iron oxide nanoparticles, Liver enzyme, Thyroid hormone, TSH.

A

Cite this article as: Afkhami-Ardakani M, Shirband A, Golzadeh J, Asadi-Samani M, Latifi E, Kheyilapour M, Jafari N. The effect of iron oxide nanoparticles on liver enzymes (ALT, AST and ALP), thyroid hormones (T₃ and T₄) and TSH in rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Feb, March; 14(6): 82-88.

*Corresponding author:

No 20, Lane number 32, Bahonar St., Ardakan, Yazd, I.R. Iran. Tel: 00983527221123,
E-mail: a_shirband@yahoo.com