

اثر نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با کیتوزان

بر شاخص‌های عملکردی کلیه موش‌های صحرایی

ماندانا صالحی^۱، دکتر سهیل فتاحیان*^۲، دکتر کیهان شاهانی پور^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی سلولی و ملکولی (بیوشیمی)، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و ملکولی (بیوشیمی)، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: نانوذرات اکسید آهن به عنوان عنصر ایجاد کننده تضاد در رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (MRI) و نیز در دارورسانی هدفمند دارای استفاده‌های گسترده‌ای است. با این وجود اثر سمی این نانوذرات بر سلامتی انسان هنوز به‌طور کامل بررسی نشده است. کیتین بعد از سلولز یکی از فراوان‌ترین مواد آلی موجود در طبیعت است که کاربردهای زیادی در صنایع غذایی، آرایشی، کشاورزی، پزشکی و محیط دارد. این پلیمر، ساختار اسکلتی سخت پوستان، حشرات و دیواره سلولی برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها را تشکیل می‌دهد. مشتق داستیل کیتین، کیتوزان نامیده می‌شود که قابلیت انحلال آن از کیتین بیشتر است. این مطالعه به منظور تعیین اثر نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با کیتوزان بر شاخص‌های عملکردی کلیه موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۶۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار به ۱۰ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شام سرم فیزیولوژی دریافت نمود. غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش از کیتوزان، نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش و نانوذرات با پوشش کیتوزان به صورت درون صفاقی به ۹ گروه از موش‌ها تزریق گردید. در فواصل زمانی ۱۵ و ۳۰ روز پس از تزریق نمونه‌های خونی مستقیماً از قلب حیوانات جمع‌آوری گردید و شاخص‌های عملکردی کلیه شامل اوره، کراتینین، اسیداوریک، سدیم، پتاسیم و پروتئین تام اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تزریق نانوذرات اکسید آهن با پوشش کیتوزان اختلاف آماری معنی‌داری بر میزان متوسط اوره، کراتینین، اسیداوریک، سدیم، پتاسیم و پروتئین تام نسبت به گروه شام و گروه‌های دریافت کننده نانوذرات بدون پوشش و گروه‌های دریافت کننده کیتوزان ایجاد ننمود. در طول مدت آزمایش مرگ و میری در حیوانات مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد کاربرد کوتاه‌مدت نانوذرات اکسید آهن با پوشش کیتوزان در موارد بیولوژیک و پزشکی سمیت خاصی در کلیه ایجاد نمی‌کند.

کلید واژه‌ها: سمیت، کیتوزان، نانوذره، اکسید آهن، کراتینین، اوره، کلیه، موش صحرایی

* نویسنده مسؤول: دکتر سهیل فتاحیان، پست الکترونیکی fatahian@iaufala.ac.ir

نشانی: اصفهان، اتوبان ذوب آهن، فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، تلفن و نمابر ۰۳۱۳-۷۴۲۰۱۴۵

وصول مقاله: ۱۳۹۴/۸/۱۶، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۱۱/۲۱، پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰

مقدمه

نانوذرات سوپرپارامغناطیسی اکسید آهن با پوشش‌های متفاوت و متغیر در مکانیسم دارورسانی مورد استفاده هستند (۳ و ۴). نانوتکنولوژی در حوزه‌های سلامت، بهداشت، غذا، محیط، کشاورزی، نظامی، پزشکی و داروسازی استفاده می‌شود (۵). نانوذرات فلزی در حشره‌کش‌ها و باکتری‌کش‌ها نیز استفاده می‌شوند (۶). از پوشش به منظور کاربرد مفید و مؤثر نانوذرات اکسید فلزی و برای کاهش اثرات سمی در سیستم‌های بیولوژیک استفاده می‌گردد. این پوشش‌های آلی و غیر آلی معایبی دارند که موجب بروز سمیت، آگلومریزاسیون، انحلال‌پذیری در غشاء سلول

نانوذرات به دلیل ابعاد کوچک دارای خواص فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی، الکتریکی و مغناطیسی خاصی هستند. برای مثال به‌سادگی وارد سلول شده و در روند طبیعی و حیاتی آن مداخله می‌کنند (۷ و ۸). استفاده و کاربرد نانو فناوری در شاخه‌های مختلف علوم از جمله پزشکی، داروسازی، تصویربرداری، محیط زیست و صنعت توجه و علاقه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است. نانو مواد دارای یک، دو یا سه بعد هستند؛ اما نانوذرات موادی کروی هستند که در هر سه بعد در اندازه نانومتری دیده می‌شوند. مشتقات

شد.

نانوذرات اکسید آهن به روش هم‌رسوبی تهیه شدند. مقادیر ۱/۹۸ گرم از کلرید آهن ۲ ظرفیتی ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)، ۵/۴۱ گرم از کلرید آهن ۳ ظرفیتی ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) و ۳/۲ گرم هیدروکسید سدیم (NaOH) به‌دقت توزین و هر کدام در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری جداگانه ریخته شدند و با افزودن آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول‌های به‌دست آمده روی گرم‌کننده برقی مجهز به مگنت‌گردان، گرم شدند و پس از رسیدن به دمای جوش، ابتدا محلول‌های کلرید آهن با یکدیگر مخلوط شدند و سپس محلول NaOH ، یکباره به آنها اضافه گردید و بلافاصله رسوب سیاه رنگی با ساختار نانو تشکیل شد. سپس محلول با آب مقطر چندین بار شست و شو داده شد و نمک‌های اضافی آن خارج شد. برای پوشش‌دهی، کیتوزان با وزن مولکولی بالا را در محلول اسیداستیک یک مولار حل کرده و به حجم نهایی رساندیم. سپس نانوذرات (Fe_3O_4) به محلول قبلی افزوده شد. یک سوسپانسیون قهوه‌ای تیره‌رنگ حاصل گردید (۹ و ۱۸-۱۶).

حیوانات به ده گروه شش تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه اول (شم): دریافت‌کننده سرم فیزیولوژی به صورت درون‌صفاقی.

گروه‌های دوم، سوم و چهارم: به ترتیب تیمار شده با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با کیتوزان به صورت درون‌صفاقی.

گروه‌های پنجم، ششم و هفتم: به ترتیب دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش به صورت درون‌صفاقی.

گروه‌های هشتم، نهم و دهم: به ترتیب دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از کیتوزان به صورت درون‌صفاقی.

حیوانات ۱۵ و ۳۰ روز پس از تیمار در دو نوبت، هر نوبت ۳ سر موش به صورت تصادفی برای خونگیری مستقیم از قلب آماده شدند.

موش‌ها با استفاده از کتامین گزلین (۰/۷ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن بدن) بیهوش شدند و عمل خونگیری بلافاصله مستقیماً از قلب به کمک سرنگ ۱۰cc انجام شد. سرم خون جداسازی شد و توسط دستگاه اتوآنالیزر (هیتاچی ۹۰۲، ساخت ژاپن)، مقادیر اوره، کراتینین، اسیداوریک، سدیم، پتاسیم و پروتئین تام اندازه‌گیری گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-20 و آزمون آماری t دو نمونه‌ای مستقل در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

و ایجاد سمیت بیشتر می‌شوند که بایستی مطالعات بیشتری روی آن صورت گیرد. پوشش‌های مختلفی چون دکستران، پلی‌اتیلن‌گلیکول، پلی‌اتیلن‌اکسید و کیتوزان به پایداری نانوذرات در محلول‌های بیولوژیک، گردش خون، توزیع بافتی و ورود آنها به سلول کمک می‌کند (۷ و ۸). نانوذرات اکسید آهن کاربرد زیست‌پزشکی گسترده‌ای نسبت به سایر نانوذرات مغناطیسی دارند. نانوذرات اکسید آهن در محیط آبی متراکم شده و برخلاف ماهیت هیدروفیلیکی، به دلیل دارا بودن سطح ویژه بالا و سطح بالای انرژی آزاد، نیازمند استفاده از پایدارکننده‌هایی مانند سورفاکتانت‌ها و ترکیبات پلیمری هیدروفیل به عنوان پوشش بر سطح خود هستند (۹). امروزه از نانوذرات اکسید آهن برای نشانه‌گذاری سلول‌های بنیادی و ردیابی استفاده می‌شود (۱۰). کیتوزان یک پلیمر محسوب شده و در اثر دآستیل‌اسیون کیتین حاصل می‌گردد. کیتین به‌طور طبیعی در اسکلت خارجی سخت‌پوستان و دیواره سلولی قارچ‌ها یافت می‌گردد که بعد از سلولز دومین پلیمر طبیعی فراوان است (۱۱-۱۳). کیتوزان غیرسمی و زیست‌تخریب‌پذیر است و عملکرد فوق‌العاده‌ای از لحاظ تشکیل فیلم دارد. وزن مولکولی کیتوزان مورد استفاده اثر عمیقی روی ویژگی حرارتی، مکانیکی و نفوذپذیری فیلم نهایی دارد (۱۴). زیست‌سازگار بودن نانوذرات اکسید آهن با شرایط محیط بدن، پایداری و تهیه آسان موجب توسعه استفاده آنها شده است. به‌عنوان مثال Fe_3O_4 و Fe_2O_3 از این گروه نانوذرات هستند که در بیشتر کاربردهای دارویی و پزشکی با انواع بسیارها پوشش داده می‌شوند (۱۵). این مطالعه به منظور تعیین اثر نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با کیتوزان بر شاخص‌های عملکردی کلیه موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی

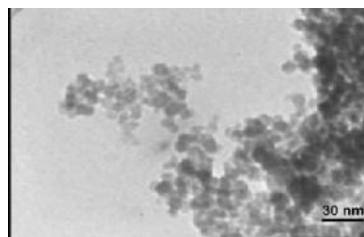
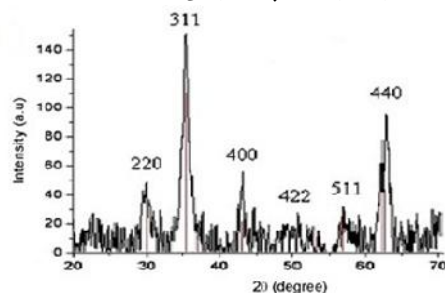
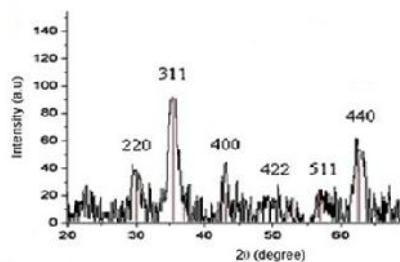
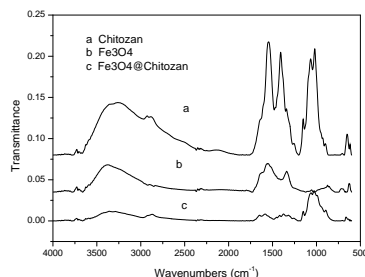
این مطالعه تجربی روی ۶۰ سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰-۱۸۰ گرم انجام شد. موش‌ها از حیوانخانه آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه فلاورجان خریداری شدند. قفس‌ها پس از شست‌وشو با محلول ۵ درصد فنول ضدعفونی شدند. دمای اتاق حیوانات در حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود و حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی نگهداری شدند و دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

گستره اندازه نانوذرات اکسید آهن، نمونه توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه تهران (Philips هلند، مدل CM30) بررسی گردید. همچنین ویژگی نانوذرات و ساختمان کریستالین آنها توسط دستگاه FTIR آزمایشگاه مرکزی دانشگاه صنعتی اصفهان (مدل Bruker TENSOR27، آلمان) و دستگاه XRD آزمایشگاه پراش پرتو ایکس دانشکده مهندسی مواد دانشگاه صنعتی اصفهان (مدل Bruker D8 ADVANCE، آلمان) بررسی

یافته‌ها

با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نمونه اکسید آهن (شکل یک) اندازه ذرات $5-7 \text{ Fe}_3\text{O}_4$ نانومتر تخمین زده شد. نتایج میکروسکوپ الکترونی و نتایج به دست آمده از نمودار پراش پرتو ایکس در شکل‌های ۲ و ۳ آمده است. طبق نمودار پراش پرتو ایکس نانوذرات سنتز شده کاملاً خالص است و اندازه نانوذرات پوشش داده شده ۱۲ نانومتر تخمین زده شد. با توجه به نتایج حاصل از منحنی‌های مربوط به FTIR، در شکل ۴ حاصل از هر سه نمونه نانوذرات اکسید آهن، نانوذرات پوشش داده شده با کیتوزان و کیتوزان، خصوصیات اصلی کیتوزان در 3430 cm^{-1} قطعات O-H و N-H، در 2924 cm^{-1} قطعه C-H، در 1642 cm^{-1} قطعه C=O، در 1148 cm^{-1} پل O- و قطعه C-O در 1079 cm^{-1} نشان داده شد. کربوکسی متیل کیتوزان حضور حداکثری را در 1726 cm^{-1} نشان داد که بیانگر کشش نامتقارن C=O کربوکسیلات است. همچنین سیگنال در 1394 cm^{-1} را می‌توان به ارتعاش کششی متقارن کربوکسیلات C=O نسبت داد. از طرفی سیگنال 577 cm^{-1} دارای حداکثر ویژگی اختصاصی گروه Fe-O در Fe_3O_4 بود. جذب حداکثری در 1629 cm^{-1} و 1397 cm^{-1} نشان داد که اتصال کیتوزان با Fe_3O_4 رخ داده است. این دو حضور حداکثری مشخصه اتصال یون فلزی COOM است که اشاره به گروه‌های کربوکسیل در کیتوزان و واکنش داده با گروه‌های هیدروکسید سطحی نانوذرات اکسید آهن دارد و تشکیل کربوکسیلات آهن می‌دهد (۱۹).

آنالیز شاخص‌های عملکردی کلیه به تفکیک دوز نشان داد میانگین غلظت اوره، کراتینین، اسیداوریک، سدیم، پتاسیم و پروتئین تام در هیچکدام از گروه‌های تیمار نسبت به گروه شام، گروه‌های دریافت کننده نانوذرات بدون پوشش و گروه‌های دریافت کننده کیتوزان تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند (جدول یک).

شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره از نمونه Fe_3O_4 شکل ۲: تصویر پراش پرتو ایکس نمونه Fe_3O_4 شکل ۳: تصویر پراش پرتو ایکس نمونه Fe_3O_4 پوشش داده شده با کیتوزان

شکل ۴: تصویر FTIR مربوط به نمونه‌ها

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه پس از گذشت ۱۵ و ۳۰ روز از تیمار، نانوذرات اکسید آهن سنتز شده سبب تغییر محسوسی در میزان غلظت شاخص‌های عملکردی کلیه نگردید. تغییر کم شاخص‌های عملکردی کلیه بیانگر شوک حاصل از تزریق است و می‌توان نتیجه گرفت که این تغییرات حاصله موقتی است و به تدریج از بین می‌رود. البته پوشش کیتوزان نیز توانست تا حدودی به کاهش میزان اثرات سمی نانوذرات کمک نماید. به طور کلی تغییرات غلظت در گروه تیمار با نانوذرات پوشش دار شده با کیتوزان نسبت به گروه شام، گروه‌های دریافت کننده نانوذرات بدون پوشش و گروه‌های دریافت کننده کیتوزان در برخی عوامل (کراتینین، اسیداوریک، پروتئین تام و پتاسیم) کاهش یا افزایش جزئی داشت؛ ولی این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود. معمولاً تغییر غلظت کراتینین، اوره سرم و پلازما به عنوان یک عامل برای ارزیابی عملکرد بخش گلومولولار کلیه شناخته می‌شوند (۲۰).

در مطالعه قاسم‌پور و همکاران اثر سمی حاد نانوذرات اکسید آهن با پوشش اوره بر رده سلولی $L929$ ، متغیرهای بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک کلیه و کبد موش صحرایی ارزیابی و میزان زیست‌پذیری سلول‌ها با افزایش دوز کاهش یافت. عوامل بیوشیمیایی خون یک ساعت و ۲۴ ساعت پس از تزریق نانوذرات افزایش معنی‌داری نشان ندادند (۲۱). تفاوت مطالعه قاسم‌پور و همکاران (۲۱) با مطالعه ما در این است که به جای پوشش اوره از پوشش کیتوزان استفاده شد و همچنین این اثرات برای دوره یک ماهه بررسی گردید که کاهش تعداد گلبول‌ها را در پی داشت. احتمالاً این کاهش تعداد به علت همولیز و یا تغییر در ساختار و

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار اوره، کراتینین، اسیداوریک، سدیم، پتاسیم و پروتئین تام در گروه‌های مورد مطالعه ۱۵ و ۳۰ روز پس از تزریق

زمان	گروه‌ها	اوره	کراتینین	اسیداوریک	سدیم	پتاسیم	پروتئین تام
۱۵ روز پس از تزریق	اول (شم)	68/90 ± 0/40	0/01 ± 0/81	0/50 ± 2/20	2/00 ± 144/00	0/40 ± 0/10	0/43 ± 8/73
	دوم	0/25 ± 67/52	0/15 ± 0/75	0/05 ± 2/05	3/50 ± 141/50	0/20 ± 0/20	0/39 ± 8/10
	سوم	2/50 ± 67/50	0/06 ± 0/75	0/10 ± 2/00	2/50 ± 142/50	0/42 ± 0/57	0/63 ± 7/84
	چهارم	0/75 ± 67/75	0/01 ± 0/74	0/05 ± 2/15	1/50 ± 143/50	0/15 ± 0/15	0/47 ± 7/58
	پنجم	0/50 ± 67/35	0/03 ± 0/78	0/05 ± 2/06	0/50 ± 142/50	0/47 ± 4/73	0/50 ± 8/50
	ششم	0/05 ± 67/15	0/15 ± 0/76	0/05 ± 2/05	1/00 ± 143/00	0/05 ± 4/25	0/45 ± 8/55
	هفتم	0/20 ± 67/20	0/01 ± 0/72	0/10 ± 2/00	0/50 ± 143/50	0/25 ± 4/53	0/10 ± 8/10
	هشتم	2/50 ± 67/50	0/05 ± 0/70	0/20 ± 2/00	4/06 ± 143/33	0/40 ± 4/43	0/24 ± 7/46
	نهم	0/25 ± 67/25	0/05 ± 0/70	0/25 ± 2/07	2/02 ± 142/83	0/15 ± 4/35	0/50 ± 7/48
	دهم	0/35 ± 67/65	0/03 ± 0/71	0/10 ± 2/10	1/95 ± 143/03	0/15 ± 4/65	0/35 ± 7/35
۳۰ روز پس از تزریق	اول (شم)	69/40 ± 0/10	0/91 ± 0/01	2/15 ± 0/05	155/00 ± 1/00	0/13 ± 0/21	8/80 ± 0/50
	دوم	68/25 ± 0/25	0/82 ± 0/02	2/05 ± 0/05	152/33 ± 1/53	0/10 ± 0/10	8/26 ± 0/44
	سوم	68/50 ± 0/50	0/81 ± 0/02	2/03 ± 0/15	152/25 ± 0/25	0/10 ± 0/10	8/13 ± 0/38
	چهارم	68/25 ± 0/05	0/82 ± 0/03	2/10 ± 0/10	152/50 ± 1/50	0/15 ± 0/05	8/10 ± 0/40
	پنجم	68/75 ± 0/55	0/83 ± 0/01	2/10 ± 0/10	152/75 ± 0/75	0/05 ± 0/05	7/80 ± 0/20
	ششم	68/75 ± 0/55	0/82 ± 0/09	2/11 ± 0/10	154/00 ± 1/00	0/10 ± 0/10	7/82 ± 0/08
	هفتم	68/75 ± 0/55	0/86 ± 0/05	2/07 ± 0/01	154/83 ± 0/29	0/12 ± 0/12	7/80 ± 0/15
	هشتم	68/75 ± 0/55	0/80 ± 0/01	2/07 ± 0/05	152/25 ± 0/25	0/20 ± 0/20	7/46 ± 0/21
	نهم	68/60 ± 0/40	0/81 ± 0/03	2/11 ± 0/10	152/00 ± 1/00	0/10 ± 0/10	7/33 ± 0/33
	دهم	68/65 ± 0/35	0/72 ± 0/04	2/05 ± 0/04	152/65 ± 0/55	0/05 ± 0/05	7/70 ± 0/26

گروه اول (شم): دریافت کننده سرم فیزیولوژی به صورت درون صفاقی؛ گروه‌های دوم، سوم و چهارم، تیمار شده به ترتیب با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با کیتوزان به صورت درون صفاقی؛ گروه‌های پنجم، ششم و هفتم، تیمار شده به ترتیب با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش به صورت درون صفاقی؛ گروه‌های هشتم، نهم و دهم، تیمار شده به ترتیب با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از کیتوزان به صورت درون صفاقی. عوامل کلیدی مورد مطالعه در گروه‌های دوم، سوم و چهارم نسبت به گروه ششم و گروه‌های پنجم تا دهم از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نانوذرات از بدن و نیز کاهش و از بین رفتن ویژگی‌های اختصاصی سطحی پس از تزریق، به دلیل تجمع و اتصال ترکیبات آلی به آنها و در نتیجه عدم جذب و ورود آنها به گردش خون و اندام‌ها نسبت داده شده است (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که با وجود بزرگ‌تر شدن اندازه نانوذرات در اثر پوشش دهی، اما این افزایش اندازه به حدی نیست که از حد اندازه بحرانی (برای اکسید آهن ۳۰ نانومتر) بیشتر شود. همچنین نانوذرات اکسید آهن سنتز شده سبب کاهش غلظت شاخص‌های عملکردی کلیه در بدن موش‌های صحرائی نگردید. احتمالاً کاربرد کوتاه‌مدت نانوذرات اکسید آهن با پوشش کیتوزان در موارد بیولوژیک و پزشکی سمیت خاصی در بدن ایجاد نمی‌کند.

شکر و قدرانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۹۱۶) خانم ماندانا صالحی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان بود.

تخریب سلول‌ها به علت اتصال با نانوذرات بوده است (۲۳-۲۱).

در مطالعه حاج‌شفیعی و همکاران نانوذرات اکسید آهن به روش هم‌رسوبی سنتز و با DMSA و آلبومین پوشش‌دار گردید. آنها دریافتند وجود پوشش اندازه نانوذرات را بزرگ‌تر می‌کند؛ اما از حد بحرانی ۳۰ نانومتر بیشتر نمی‌شود و نانوذرات تک‌حوزه باقی می‌مانند و خاصیت سوپراپارامغناطیسی خود را با مغناطش اشباع کمتری حفظ می‌کنند. همچنین نتیجه‌گیری شد تزریق درون صفاقی نانوذرات با این پوشش‌ها با غلظت کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بافت، پس از ۳۰ روز هیچ اثر برگشت‌ناپذیری بر عوامل کبدی ندارد (۲۴). در مطالعه Creanga و همکاران افزایش همولیز گلبول‌های قرمز با تزریق نانوذرات مغناطیسی با پوشش اسیدسیتریک روی موش ارزیابی شد و کاهش میزان اکسی‌هموگلوبین در اثر افزودن نانوذرات مغناطیسی با پوشش اسیدسیتریک گزارش گردید که احتمالاً علت آن باند شدن گروه هیدروکسیدسیترات با یون‌های آهن در ساختار هموگلوبین بوده است (۲۲). در مطالعه‌ای دلیل عدم سمیت نانو ذرات اکسید آهن را به حذف و خروج سریع مقداری از آنها توسط سیستم ریکولواندوتیلیال کبد، طحال و گره‌های لنفاوی و سپس دفع

References

- Chen D, Xi T, Bai J. Biological effects induced by nanosilver particles: in vivo study. *Biomed Mater*. 2007 Sep; 2(3): S126-8. doi: 10.1088/1748-6041/2/3/S08
- Yi-Hong Hsin, Chun-Feng Chen, Shing Huang, Tung-Sheng Shih, Ping-Shan Lai, Pin Ju Chueh. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. *Toxicol Lett*. 2008; 179(3): 130-39. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.04.015
- Guo L, Liu G, Hong RY, Li HZ. Preparation and characterization of chitosan poly(acrylic acid) magnetic microspheres. *Mar Drugs*. 2010 Jul; 8(7): 2212-22. doi: 10.3390/md8072212
- Romero EL, Morilla MJ. Nanotechnological approaches against Chagas disease. *Adv Drug Deliv Rev*. 2010 Mar; 62(4-5): 576-88. doi: 10.1016/j.addr.2009.11.025
- Wijnhoven S, Peijnenburg W, Herberths C. Nano-silver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*. 2009 Jun; 3(2): 109-38. doi: 10.1080/17435390902725914
- Wu TH, Tai YD, Shen LH. The novel methods for preparing antibacterial fabric composites containing nano-material. *Solid State Phenomena*. 2007; (124-26): 1241-44. doi: 10.4028/www.scientific.net/SSP.124-126.1241
- Salata OV. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology*. 2004; 2:3. doi: 10.1186/1477-3155-2-3
- Massia SP, Stark J, Letbetter DS. Surface-immobilized dextran limits cell adhesion and spreading. *Biomaterials*. 2000 Nov; 21(22): 2253-61.
- Mohammadi-Samani S, Miri R, Salmanpour M, Khalighian N, Sotoudeh S, Erfani N. Preparation and assessment of chitosan-coated superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles for controlled delivery of methotrexate. *Res Pharm Sci*. 2013 Jan; 8(1): 25-33.
- Au KW, Liao SY, Lee YK, Lai WH, Ng KM, Chan YC, et al. Effects of iron oxide nanoparticles on cardiac differentiation of embryonic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Feb; 379(4): 898-903. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.12.160
- Kim Dung DT, Hai TH, Phuc LH, Long BD, Vinh LK, Truc PN. Preparation and characterization of magnetic nanoparticles with chitosan coating. *Journal of Physics: Conference Series*. 2009; 187: 012036.
- Park JH, Saravanakumar G, Kim K, Kwon IC. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010; 62(1): 28-41. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2009.10.003
- Srinivasa PC, Ravi R, Tharanathan RN. Effect of storage conditions on the tensile properties of eco-friendly chitosan films by response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 2007; 80(1): 184-89. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.05.007
- Butler BL, Vergano PJ, Testin RF, Bunn JM, Wiles JL. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of Food Science*. 1996 Sep; 61(5): 953-56. doi: 10.1111/j.1365-2621.1996.tb10909.x
- Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J Biosci Bioeng*. 2005 Jul; 100(1): 1-11.
- Pisanic TR 2nd, Blackwell JD, Shubayev VI, Fiñones RR, Jin S. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons. *Biomaterials*. 2007 Jun; 28(16): 2572-81.
- El Ghandoor H, Zidan HM, Khalil M, Ismail MIM. Synthesis and some physical properties of magnetic (Fe₃O₄) nanoparticles. *Int J electrochem sci*. 2012; 7(6): 5734-45.
- Fatahian S, Shahbazi-Gahruei D, Pouladian M, Yousefi MH, Amiri GhR, Noori A. Biodistribution and toxicity assessment of radiolabeled and DMSA coated ferrite nanoparticles in mice. *J Radioanal Nucl Chem*. 2012; 293(3): 915-21. doi: 10.1007/s10967-012-1822-y
- Safee NHA, Pauzi A, Othman MR. Carboxymethyl chitosan-Fe₃O₄ nanoparticles: synthesis and characterization. *Analytical Sciences*. 2010; 14(2): 63-68.
- Asagaba S, Obi F. Effects of oral cadmium exposure on renal glomerular and tubular functions in the rat. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 2004; 8(1): 29-32. doi: 10.4314/jasem.v8i1.17222
- Ghasempour S, Shokrgozar MA, Ghasempour R, Alipour M. The acute toxicity of urea coated ferrous oxide nanoparticles on L929 cell line, evaluation of biochemical and pathological parameters in rat kidney and liver. *Physiol Pharmacol*. 2014; 17(4): 423-36.
- Creanga DE, Culea M, Nadejde CS, Curecheriu L, Racuciu M. Magnetic nanoparticle effects on the red blood cells. *Journal of Physics: Conference Series*. 2009; 170(1): 1-6. doi:10.1088/1742-6596/170/1/012019
- Noori A, Amiri GhR, Taj B, Nasr Isfahani M, Taj S, Valiani A. [The effect of magnetic iron oxide nanoparticles on mice liver and kidney]. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*. 2012; 19(3): 243-52. [Article in Persian]
- Hajshafiei P, Fatahian S, Shahanipoor K. In vivo toxicity assessment of bovine serum albumin and dimercaptosuccinic acid coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Iranian Journal of Biotechnology*. 2014; 12(2): 63-68. doi: 10.5812/ijb.16858

Original Paper

Effect of iron oxide Nanoparticles coated with chitosan on renal functional indeces in rats

Salehi M (B.Sc)¹, Fatahian S (Ph.D)^{*2}, Shahanipour K (Ph.D)²

¹M.Sc Student in Biochemisty, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

²Assistant Professor, Department of Biochemisty, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Iron oxide nanoparticles have wide applications such as MRI contrast agent and drug delivery. Nevertheless, their effects on human health have not been fully investigated yet. After cellulose, chitin is one of the most abundant organic materials in nature which is widely used in food industry, cosmetics, agriculture, medicine and the environment. This study was done to evaluate the effect of iron oxide nanoparticles coated with chitosan on renal functional indeces in rat.

Methods: In this experimental study, 60 adult female Wistar rats were allocated into 10 equal groups. Concentrations of 50, 100 and 150 mg/kg/bw from chitosan, iron oxide nanoparticles and chitosan coated nanoparticles were intraperitoneally injected into 9 groups and animals in control group were received normal saline. Blood samples were collected directly from the rat heart in the days 15 and 30 post after injection and renal functional indeces including urea, creatinine, uric acid, sodium, potassium and total protein were measured.

Results: There were no significant differences in the level of urea, creatinine, uric acid, sodium, potassium and total protein in the groups whom received chitosan-coated iron oxide nanoparticles compared to control. There was no mortality during the study time.

Conclusion: Short-term using of iron oxide nanoparticles coated with chitosan does not create any toxicity in the rat kidney.

Keywords: Toxicity, Chitosan, Nanoparticles, Iron oxide, Urea, Creatinine, Kidney, Rat

* Corresponding Author: Fatahian S (Ph.D), E-mail: fatahian@iaufala.ac.ir

Received 7 Nov 2015

Revised 10 Feb 2016

Accepted 29 Feb 2016