اثرات نانوذره اکسید آهن ـ روی (Fe_2O_4Zn) بر بافت کلیه و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون در رت‌های نر نژاد ویستار

دیمن رحمانی[۱]، زهرا هوشمندی[۱*]، شیرین فردوسی[۲ و ۳]

۱- گروه بیوشیمی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲- مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران

۳- پایگاه انتقال خون کردستان، سنندج، ایران

*مسئول مکاتبات: zhoushmandi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱٤ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۳۰

چکیده

با توجه به تنوع نانوذرات تولید شده، باید اثرات جانبی این نانوذرات در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردد تا جهت درمان بیماری‌ها، از نوع بدون اثرات توکسیک استفاده گردد. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیرات نانوذره اکسید آهن- روی (Fe2O4Zn) بر فاکتورهای کلیوی موش‌های نر نژاد ویستار انجام گرفت. در این مطالعه تجربی، ۲٤ موش نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم شدند که شامل ۲ گروه آزمایش و یک گروه کنترل بود. گروه کنترل به میزان ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی دریافت کردند اما به گروه‌های آزمایش به ترتیب ۰/۵ میلی‌لیتر از نانوذره اکسید آهن- روی با غلظت‌های ۱۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm به مدت ۷ روز متوالی به صورت درون صفاقی تزریق گردید. روزهای دوم، هفتم و چهاردهم بعد از تیمار، خون‌گیری از گوشه پلک چشم به کمک لوله مویینه انجام شد. فاکتورهای بیوشیمایی اوره، اسید اوریک و کراتینین به کمک روش الایزا اندازه‌گیری شدند. نتایج آنالیز واریانس بررسی مقادیر اوره و اسید اوریک نشان داد که میزان اوره و اسید اوریک، در روزهای هفتم و چهاردهم بعد از تیمار در دوزهای ۱۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm کاهش یافته است. همچنین بررسی مقادیر کراتینین نشان داد که میزان کراتینین، در روزهای ۲، ۷ و ۱٤ روز بعد از تیمار در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ افزایش یافته است. نتایج هیستولوژیک تزریق نانوذره آهن در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ نشان داد که در دوز پایین، نانوذره درون بافت همبند و سیتوپلاسم سلول‌های پروکسیمال و دیستال نفرون رسوب می‌کند و همچنین در دوز بالا علاوه بر سلول‌های توبول پروکسیمال و دیستال، در لوله‌های جمع کننده قسمت مرکزی کلیه هم رسوب تشکیل شده است. در کل نتایج پژوهش حاکی از آن بود که تزریق نانوذره اکسید آهن- روی منجر به تغییر فاکتورهای شیمیایی کلیوی از جمله کاهش میزان سطح اوره و اسیداوریک و افزایش کراتینین می‌شود. همچنین نتایج هیستولوژیک، رسوب نانوذره را در بافت کلیوی نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد کاربرد این نانوذره آنچنان اثر سمی پایدار و طولانی مدت بر بدن جانداران ایجاد نمی کند.

کلمات کلیدی: نانوذره اکسید آهن-روی، اوره، اسیداوریک، کراتینین، کلیه، رت.

مقدمه

نانوذرات دارای ویژگی‌های بسیار خاص شیمیایی و فیزیکی از نظر اندازه، شکل و نسبت بالای سطح به حجم می‌باشند که این صفات کاربرد آن‌ها را در بسیاری از موارد پزشکی و بیولوژیک مناسب ساخته است. نانوذرات مغناطیسی که متشکل از عناصری چون آهن، کبالت، روی و یا نیکل هستند برای مصارف پزشکی به کار گرفته می‌شوند (۳، ۹). با توجه به تنوع نانوذرات تولید شده، لازم است که

اثرات جانبی و توزیع بافتی این نانو ذرات در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردد تا در موارد مختلف بیولوژیکی و درمان بیماری‌ها، از نوع بدون اثرات توکسیک استفاده گردد چرا که مشخص شده برخی از نانوذرات می‌توانند اثرات سمی داشته باشند (۳). بیشتر بررسی‌های پزشکی در مورد اثر نانوذرات بر روی سلول‌ها و بافت‌های بدن نشان می‌دهند که نانوذرات می‌توانند از راه‌های تنفسی وارد اعضای بدن انسان شوند با این وجود مشخص نیست که آیا نانوذرات، توانایی عبور از مانع‌های بیولوژیکی را دارند یا خیر (۸). هرچند در برخی مطالعات نشان داده شده که نانوذرات می‌توانند از روده کوچک عبور کرده و به داخل خون، مغز، شش، کلیه، طحال، معده و روده منتشر و پخش شوند (۵).

کلیه یکی از ارگان‌های حیاتی بدن انسان می‌باشد که نقشی کلیدی در نظیم مایعات و سایر مواد مورد نیاز بدن دارد. سه فاکتور مهم برای سنجش عملکرد کلیه، کراتینین -اوره و اسید اوریک می‌باشد. در چندین مطالعه تاثیر نانوذرات بر این فاکتورها مورد بررسی و تایید قرار گرفته است (۱، ۲، ٤، ۹). اما از آنجایی که تاکنون تاثیر نانوذره Fe_2O_4Zn بر فاکتورهای بیوشیمایی و بافت کلیه مورد بررسی قرار نگرفته، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر این نانوذره بر بافت و فاکتورهای بیوشیمایی کلیه انجام گردید.

مواد و روش کار

ابتدا ۲۵ گرم نانوذره Fe_2O_4Zn از شرکت یاسا طب که به‌صورت تجاری از کمپانی sigma این نانو ذرات را تهیه می‌کند خریداری شد (جدول ۱). برای اجرای این پژوهش ابتدا ٢٤ راس از موش‌های نر ویستار (سن ۸ هفته و با وزن۳۰۰- ۲۵۰ گرم) در ۳ گروه ۸ تایی شامل یک گروه کنترل و ۲ گروه آزمایشی تقسیم بندی شدند. برای تعیین غلظت نانوذره Fe_2o_4zn دو محلول مادر تهیه شد:

ا- غلظت ppm ۱۰۰ (محلول مادر ۱): مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم نانوذره مورد نظر را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده (۱۰۰mg/۱۰ml)، آنچه که بدست می‌آید، غلظت ۱۰۰ نانومولار (nm) از نانوذره خواهد بود. سپس مقدار نانوذره لازم جهت تزریق به یک رت ۱۵۰ گرمی، در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نمونه محلول مادر تهیه شد. غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقدار تزریق شده به موش ۱۵۰ گرمی برابر ۱/۵ میلی‌لیتر می‌باشد.

۲-غلظت ppm ۲۰۰ (محلول مادر ۲): مقدار۲۰۰ میلی‌گرم نانوذره مورد نظر را در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده (۲۰۰mg/۲۰ml) آنچه که به دست می‌آید، غلظت ppm ۲۰۰ از نانوذره خواهد بود. سپس مقدار نانوذره لازم جهت تزریق به یک رت ۱۵۰ گرمی، در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نمونه محلول مادر تهیه گردید و غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقدار تزریق شده به موش ۱۵۰ گرمی برابر ۳ میلی‌لیتر می‌باشد.

به همین ترتیب مقدار لازم از محلول مادر ۱و ۲ جهت تزریق به رت‌ها با وزن‌های متفاوت محاسبه و توسط سرنگ انسولین به صورت درون صفاقی به رت‌ها تزریق گردید. گروه کنترل ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی را به مدت ۷ روز دریافت کردند. گروه دوم و سوم نیز نانوذره Fe_2O_4Zn را در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (حل شده در ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر) از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۷ روز دریافت کردند. پس از گذشت ۲، ۷ و ١٤ روز از زمان تیمار، اثر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف بر مقدار سرمی فاکتورهای کلیوی در رت‌های نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار

گرفت. وزن موش‌ها قبل از تزریق اندازه‌گیری و ثبت گردید (میانگین وزن موش‌ها ۲۵± ۲۲۵ گرم بود).

خونگیری‌ها قبل از تیمار و ۲، ۷ و ۱٤ روز پس از تیمار و به صورت خون‌گیری از گوشه پلک چشم حیوانات به کمک لوله موئینه انجام گرفت. نمونه‌های خون درون لوله‌های آزمایش جمع آوری و به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سرم آنها جدا گردید. میزان فاکتورهای کلیوی (کراتینین، اسید اوریک و اوره) با دستگاه اتونالایزر هیتاچی و کیت-های بیوشیمیایی به روش الایزا اندازه گیری شد.

آنالیز بافت‌شناسی: پس از خون‌گیری در روز چهاردهم، بافت کلیه حیوانات تحت بی‌هوشی عمیق جداسازی شده و تکه کوچکی از آن توسط فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. پس از قالب‌گیری با پارافین، نمونه‌ها برش داده شده، سپس بر روی لام‌های میکروسکوپی قرار گرفتند و به روش ترنبول بلو رنگ‌آمیزی باف‌ها صورت گرفت.

آنالیز آماری: برای سنجش آماری داده‌ها از نرم‌افزار $SPSS_{16}$ استفاده شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارها توسط آزمون ANOVA و به دنبال آن از آزمون Dunnett's T3 برای مقایسه گروه کنترل با گروه‌های آزمایشی و از آزمون Tukey برای مقایسه گروه‌های آزمایشی استفاده شد. نتایج بر حسب میانگین ± انحراف معیار گزارش شد و ۰/۰۵ >p معنی‌دار فرض شد.

نتایج

تأثیر تزریق نانوذره Fe_2O_4Zn در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ بر مقدار اوره: آنالیز واریانس و بررسی مقادیر اوره در روز دوم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار اوره ۳ گروه تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد (***p<۰/۰۰۱) (نمودار ۱). نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز دوم بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ ppm و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار وجود دارد (***p<۰/۰۰۱) و سطح اوره گروه ۱۰۰ppm به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است.

همچنین بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ ppm و میانگین گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد (***p <۰/۰۰۱) و سطح اوره گروه ۱۰۰ ppm به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است. تفاوت میانگین اوره گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ppm و Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ ppm از لحاظ آماری اختلاف آماری معنی‌دار نشان نداد (P.V= ۰/۳۸۱). آنالیز واریانس و بررسی مقادیر اوره در روز هفتم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار اوره سه گروه تفاوت معنی‌دارآماری وجود دارد (***p <۰/۰۰۱). همچنین نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز هفتم بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ ppm و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح اوره گروه ۱۰۰ ppm پایین‌تر از گروه کنترل می‌باشد (***p <۰/۰۰۱).

همچنین میانگین اوره گروه Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ppm به نسبت گروه کنترل از لحاظ آماری کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد (***p <۰/۰۰۱).

میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ ppm و Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ ppm اختلاف آماری معنی‌دار نشان نداد (P.V =۰/۰۵۷).

آنالیز واریانس و بررسی مقادیر اوره در روز چهاردهم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار اوره سه گروه تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد (***P<۰/۰۰۱). هم‌چنین نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز چهاردهم بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ ppm و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح اوره

گروه Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است (p^{***} <۰/۰۰۱). میانگین اوره گروه Fe_2O_4Zn با غلظت ppm ۲۰۰ به نسبت گروه کنترل از لحاظ آماری کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد (p^{***}<۰/۰۰۱). میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P.V=۰/۸٦٦). این بدین معناست که تزریق نانوذره Fe_2O_4Zn در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ منجر به کاهش سطح اوره کلیه موش‌های تحت آزمایش گردیده است.

بررسی تأثیر تزریق نانوذره Fe_2O_4Zn در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ بر مقدار اسید اوریک‌اسید: آنالیز واریانس و بررسی مقادیر اوریک‌اسید در روز دوم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار اسید اوریک سه گروه تفاوت معنی‌دار آماری وجود ندارد (P.V=۰/۱٦۷) (نمودار ۲). آنالیز واریانس و بررسی مقادیر اسید اوریک‌اسید در روز هفتم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار اسید اوریک‌اسید ۳ گروه تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد (p^{***} <۰/۰۰۱). نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز هفتم بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ppm ۱۰۰ و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد (p^{***} <۰/۰۰۱) و سطح اوره در گروه ۱۰۰ به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است. همچنین بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح اوریک اسید گروه ۲۰۰ ppm به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است (p^{***} <۰/۰۰۱). تفاوت میانگین اسید اوریک گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ppm۱۰۰ و با غلظت ۲۰۰ ppm نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p^{**}<۰/۰۱) و سطح اوریک اسید گروه ppm۱۰۰ به نسبت گروه ۲۰۰ بیشتر کاهش یافته بود. آنالیز واریانس و بررسی مقادیر اسید اوریک‌اسید در روز چهاردهم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار اسید اوریک‌اسید ۳ گروه تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد (p^{***} <۰/۰۰۱).

نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز چهاردهم بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دارآماری وجود دارد و سطح اوریک اسید گروه ۱۰۰ به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است (p^{***}<۰/۰۰۱).

بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح اوریک اسید گروه ۲۰۰ به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است (p^{***}<۰/۰۰۱). تفاوت میانگین اسید اوریک اسید گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P.V=۰/۲۹۹).

بررسی تأثیر تزریق نانوذره Fe_2O_4Zn در دو غلظت ۱۰۰ و ppm۲۰۰ بر مقدار کراتینین: آنالیز واریانس و بررسی مقادیر کراتینین در روز دوم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار کراتنین ۳ گروه تفاوت معنی‌دار وجود دارد (p^{***} <۰/۰۰۱) (نمودار ۳).

همچنین نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز دوم بین میانگین گروه Fe_2O_4Zn با غلظت ppm۲۰۰ و میانگین گروه کنترل اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح کراتینین گروه ppm۲۰۰ به نسبت گروه کنترل افزایش یافته است (p^{***} <۰/۰۰۱). میانگین کراتینین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ppm۱۰۰ و با غلظت ۲۰۰ ppm اختلاف معنی‌دارآماری نشان نداد (P.V=۰/٤۱).

آنالیز واریانس و بررسی مقادیر کراتینین در روز هفتم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار کراتینین ۳

گروه تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد ($p<۰/۰۰۱^{***}$). همچنین نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز هفتم بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ppm ۱۰۰ و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح کراتینین گروه ۱۰۰ به نسبت گروه کنترل افزایش یافته است ($p<۰/۰۵^{*}$).

همچنین بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح کراتینین گروه ۲۰۰ به نسبت گروه کنترل افزایش یافته است ($p<۰/۰۵^{*}$).

تفاوت میانگین کراتینین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ و با غلظت ۲۰۰ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P.V=۰/۳۱٤). آنالیز واریانس و بررسی مقادیر کراتینین در روز چهاردهم مداخله نشان داد که بین میانگین مقدار کراتینین ۳ گروه تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد ($p<۰/۰۰۱^{***}$).

همچنین نتایج حاصل از آزمون تعقیبی LSD بیانگر آن است که در روز چهاردهم بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ppm ۱۰۰ و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح کراتینین گروه ۱۰۰ به نسبت گروه کنترل افزایش یافته است ($p<۰/۰۰۱^{***}$).

بین میانگین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ppm ۲۰۰ و میانگین گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد و سطح کراتینین گروه ۲۰۰ به نسبت گروه کنترل افزایش یافته است ($p<۰/۰۰۱^{***}$). تفاوت میانگین کراتینین گروه‌های Fe_2O_4Zn با غلظت ۱۰۰ و Fe_2O_4Zn با غلظت ۲۰۰ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P.V=۰/۲۲۱).

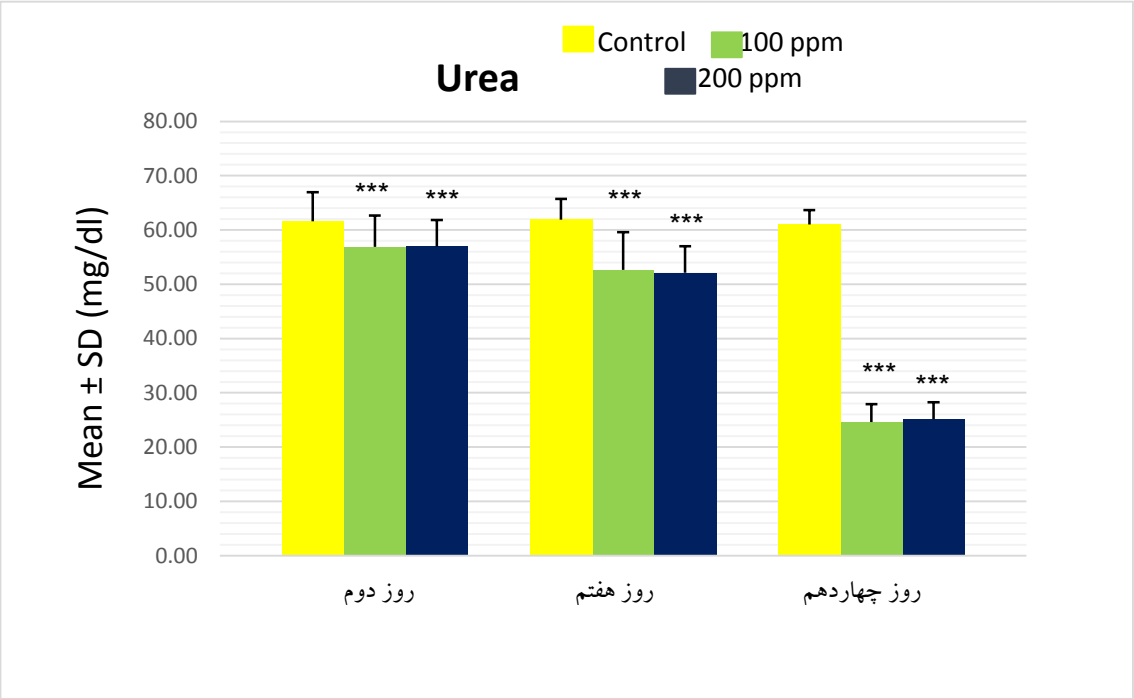
بافت‌شناسی: لام‌های حاصل از مقاطع بافتی جهت مطالعات پاتولوژی به یک پاتولوژیست باتجربه ارجاع داده شد. سپس نتایج بررسی لام‌ها طبقه‌بندی و به‌صورت جداولی تهیه شد و گروه‌های تیمار با گروه‌های کنترل مقایسه گردید. نتایج حاصله از رنگ‌آمیزی ترنبول بلو مقاطع میکروسکوپی در گروه کنترل که تزریق نانوذره آهن انجام نگرفته است بافت سالم کلیه را نشان داد (تصویر A).

در گروه تیمار اول، بقایای نانوذره اکسید آهن روی به شکل لکه‌های آبی درخشان در بافت همبندی بین لوله‌های پیچیده دور و نزدیک در ناحیه قشری کلیه مشاهده شد که در ناحیه مرکزی کلیه قابل مشاهده نبود (تصویر B). در گروه تیمار دوم میزان بقایای نانوذره آهن و روی در بافت کلیه نسبت به گروه تیمار اول افزایش داشت و در بافت همبندی بین لوله‌های پیچیده دور و نزدیک در ناحیه قشری مشاهده گشت که همانند گروه قبل در ناحیه مرکزی کلیه قابل مشاهده نبود (تصویر C). مقاطع حاصله از گروه تیمار سوم نیز همانند دو گروه تیمار اول و دوم بود، به نحوی‌که بقایای نانوذره آهن و روی نسبت به این دو گروه افزایش‌داشت و در ناحیه مرکزی کلیه هیچ‌گونه بقایایی از نانوذره آهن و روی مشاهده نشد (تصویر D).

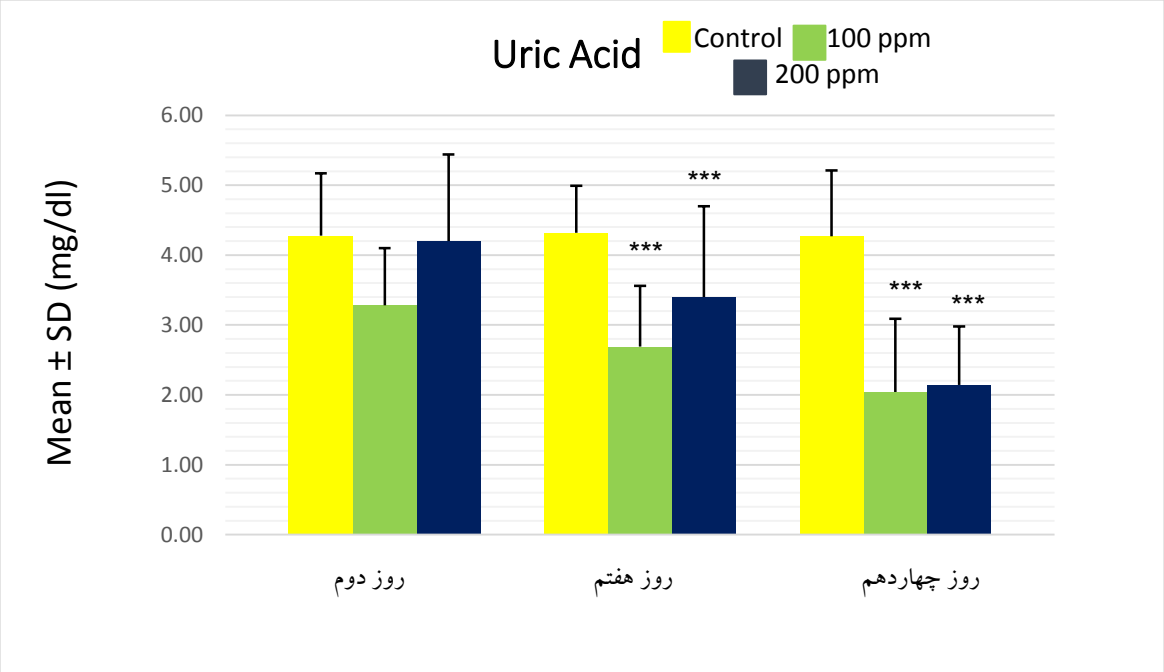
مقاطع حاصله از گروه تیمار چهارم نیز همانند سه گروه تیمار اول، دوم و سوم بود، به‌صورتی که بقایای نانوذره آهن و روی نسبت به این سه گروه افزایش‌داشت و در ناحیه مرکزی کلیه نیز بقایایی نانوذره آهن و روی را در بین لوله‌های جمع کننده در ناحیه مرکزی کلیه نیز نشان می‌داد (تصاویر E و F).

جدول ۱- مشخصات نانوذره Fe_2O_4Zn

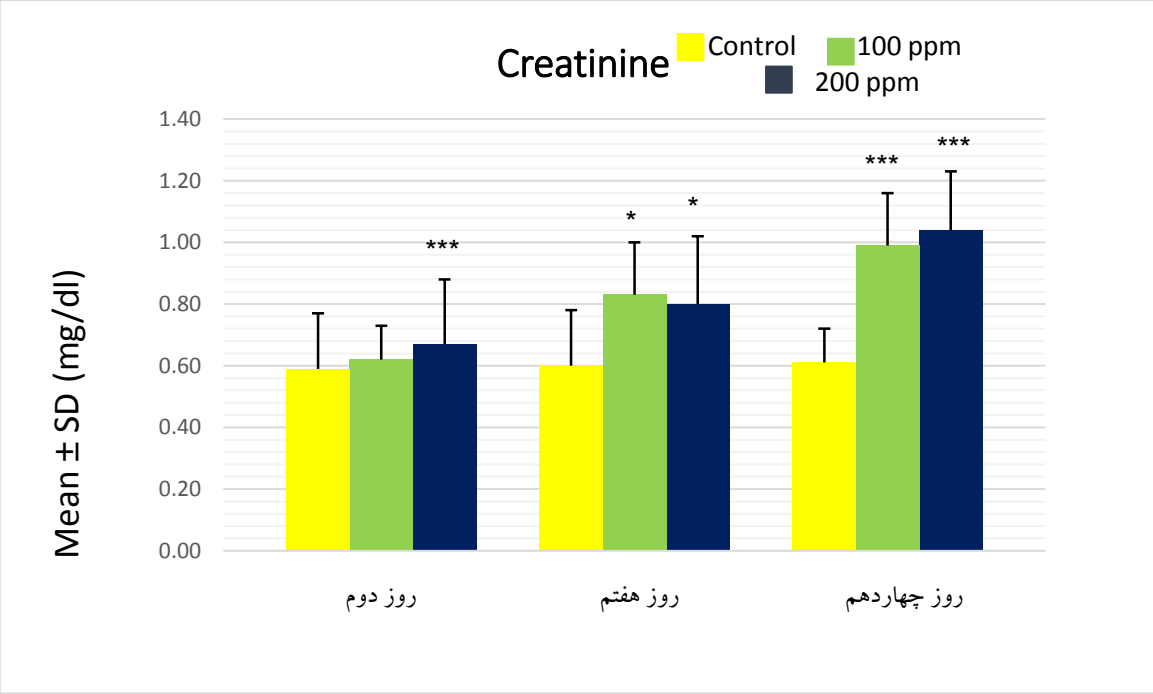
اندازه ذره (APS)	۱۰۰ نانومتر>
Trace metal basis	۹۹ درصد >
فرمول خطی	Fe_2O_4Zn
شکل	نانوپودر
شماره CAS	۱۲۰۶۳-۱۹-۳
وزن مولکولی	۲٤۱/۰۸



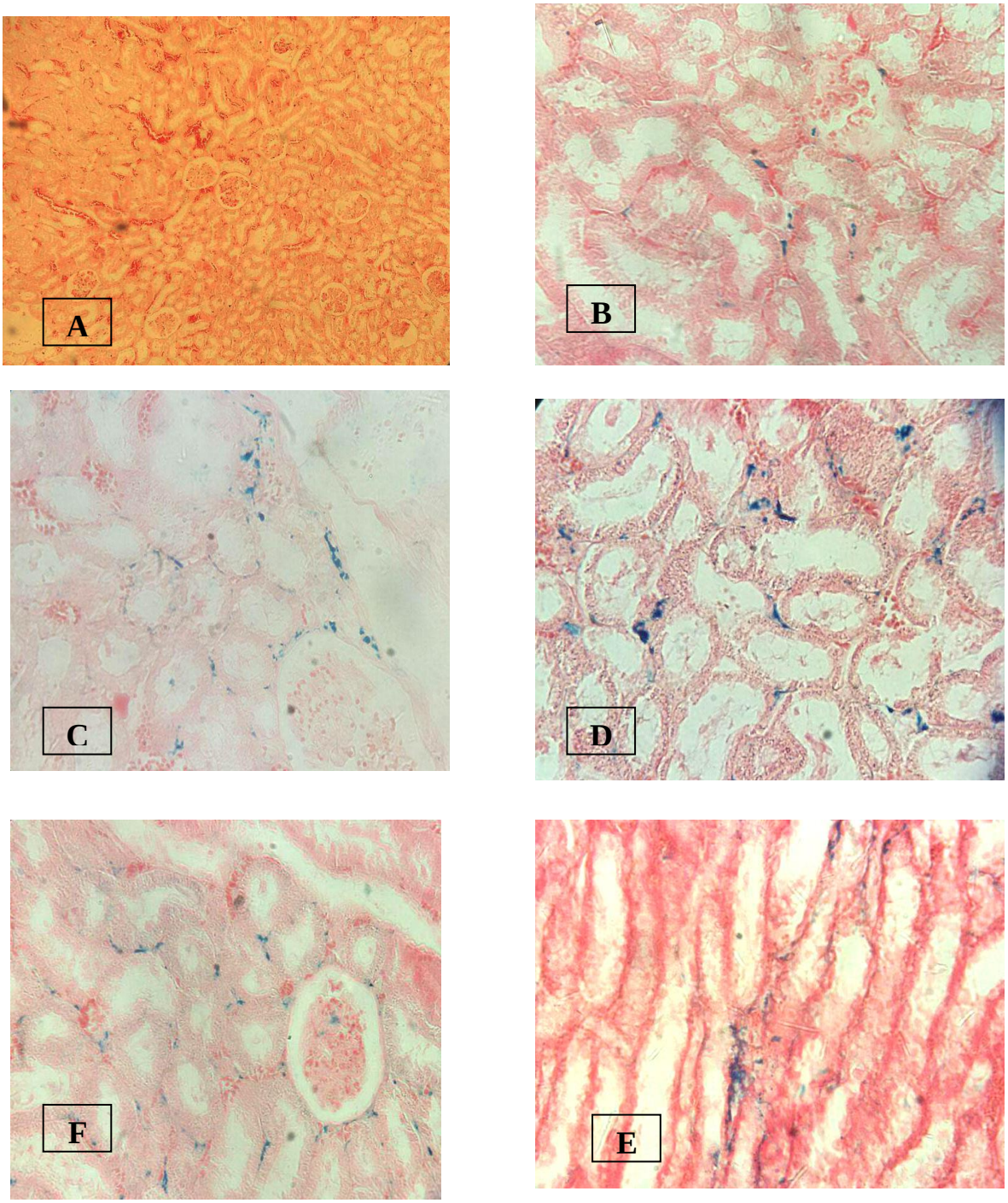
نمودار ۱- بررسی تأثیر تزریق نانوذره Fe_2O_4Zn در دو غلظت ppm۱۰۰ و ppm۲۰۰ بر مقدار اوره کلیه در روزهای ۲، ۷ و ۱٤ (***p <۰/۰۰۱)



نمودار ۲- بررسی تأثیر تزریق نانوذره Fe_2O_4Zn در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm بر مقدار اوره کلیه در روزهای ۲، ۷ و ۱٤ (***p <۰/۰۰۱)



نمودار ۳- بررسی تأثیر تزریق نانوذره Fe_2O_4Zn در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm بر مقدار کراتینین در روزهای ۲، ۷ و ۱٤ ***p<۰/۰۰۱ و *p< ۰/۰۵



شکل ۱- (A): گروه کنترل : ناحیه قشری کلیه (x٤٠)(turnbull blue)، (B): گروه تیمار اول: ناحیه قشری کلیه- رسوب نانوذرات آهن به شکل آبی‌رنگ در بافت همبندی، (C): گروه تیمار دوم: ناحیه قشری کلیه- رسوب نانوذرات آهن به شکل آبی‌رنگ در بافت همبندی کلیه (x۱۰۰)(turnbull blue)، (D): گروه تیمار سوم: ناحیه قشری کلیه- رسوب نانوذرات آهن به شکل آبی‌رنگ در بافت همبندی کلیه(x۱۰۰)(turnbull blue)، (F): گروه تیمار چهارم: ناحیه قشری کلیه- رسوب نانو ذرات آهن به شکل لکه‌های آبی‌رنگ در بافت همبندی کلیه(x۱۲۰)(turnbull blue)، (E): گروه تیمار چهارم: ناحیه مرکزی کلیه- رسوب نانوذرات آهن به شکل لکه‌های آبی‌رنگ در بین لوله‌های جمع کننده (x۱۰۰)(turnbull blue)

بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر تزریق نانوذره آهن –روی بر فاکتورهای شیمیایی کلیوی موش‌های رت نژاد ویستار انجام گرفت. نتایج آنالیز واریانس بررسی مقادیر اوره نشان داد که میزان اوره، ۲ روز، ۷ روز و ۱٤ روز بعد از تیمار در دوز ppm ۱۰۰ و ppm ۲۰۰ کاهش یافته است که از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد. اما بین دو تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ از لحاظ سطح اوره، در روزهای دوم، هفتم و چهاردهم بعد از تزریق تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج آنالیز واریانس بررسی مقادیر اسید اوریک کلیه نشان داد که میزان اوره، ۷ روز و ۱٤ روز بعد از تیمار در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ کاهش یافته است که از لحاظ آماری معنی‌دار بود. بین دو تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ از لحاظ سطح اسید اوریک، در روز چهاردهم بعد از تزریق تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما در روز هفتم بعد از تزریق، تیمار ppm ۱۰۰ کاهش اسید اوریک بیشتری را به نسبت تیمار ppm ۲۰۰ نشان داد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود. از سوی دیگر آنالیز واریانس بررسی مقادیر کراتینین نشان داد که میزان کراتینین، ۲ روز، ۷ روز و ۱٤ روز بعد از تیمار در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ افزایش معنی‌داری یافته است. اما بین دو تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ از لحاظ سطح کراتینین در روزهای دوم، هفتم و چهاردهم بعد از تزریق تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

نوری و همکاران تأثیر کوتاه‌مدت اکسید آهن را بر بافت کلیه و کبد بررسی کردند و هیچ تغییر غیرنرمالی را در بافت کبد و کلیه مشاهده ننمودند (۷).

آزاده و همکاران (۲) در مطالعه خود به تاثیر نانوذره Fe_4NiO_4Zn بر فاکتورهای کلیوی اوره، کراتینین و اسیداوریک در رت‌های نر پرداختند. حیوانات به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم گردیدند: به گروه دوم – سوم به ترتیب: ۰/۰۵ میلی‌لیتر از نانوذرات Fe_4NiO_4Zn با غلظت‌های ppm ۱۰۰ و ppm ۲۰۰ تزریق شد (به مدت ۷ روز متوالی). در روز هفتم پس از تیمار، میزان اسید اوریک در هر دو دوز تیمار افزایش معنی‌دار نشان داد. درگروه دوم، میزان اسید اوریک در روزهای ۲و ۱٤ پس از تیمار نیز افزایش معنی‌دار یافت. میزان اوره در هر دو دوز تیمار در روزهای ۲، ۷ و ۱٤ نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد. میزان کراتینین فقط در دوز بالا، کاهش معنی‌دار داشت.

در مطالعه Amara و همکاران (۱) نیز تاثیر نانوذرات اکسیدروی بر پارامترهای بیوشیمیایی کلیه و کبد رت بررسی و نتایج کاهش میزان کراتینین و افزایش اسیداوریک در گروه تیمار با نانوذرات اکسیدروی را نشان داد. این تاثیر ممکن است به علت آزاد شدن یون روی و تجمع آن در اندام‌ها باشد. در مطالعه دودی و همکاران (٤) تأثیر حاد نانوذره دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد و بافت کلیه در ۳۲ رت نژاد ویستار بررسی شد. حیوانات به ٤ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی و گروه‌های دوم، سوم و چهارم به میزان ۰/۵ میلی لیتر نانوذره دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۱۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ ppm به روش درون صفاقی (هفت روز متوالی) دریافت کردند. روزهای اول، هفتم و چهاردهم بعد از تیمار، خونگیری انجام و فاکتورهای کلیوی بررسی شد. نتایج بیوشیمیایی این تحقیق نشان داد که بین گروه تیمار ۲ با گروه کنترل اختلاف معنی دار در میزان کراتینین در هفته اول وجود دارد اما در بقیه گروه‌های تیمار، اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. میزان BUN و UA در تمام گروه‌های تیمار، هیچ گونه اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداد.

نتایج هیستوپاتولوژیکی بافت کلیه در گروه تیمار ۱ به صورت دفرمه شدن جسمک‌های کلیوی و متراکم شدن

شبکه گلومرولی، در گروه تیمار ۲ به صورت تخریب کامل توبول‌های پروگزیمال - دیستال و جسمک‌های کلیوی، در گروه تیمار ۳به صورت دفرمه شدن اندک جسمک‌های کلیوی و افزایش حجم لومن در توبول های پروگزیمال و دیستال.

در مطالعه حاضر، بررسی تاثیر نانوذره آهن روی بر روی بافت کلیه نشان داد که نانوذره آهن در دوز پایین ۱۰۰ داخل بافت همبند و سیتوپلاسم سلول‌های پروکسیمال و دیستال کلیه رسوب داشته و همچنین در دوز بالای ۲۰۰ علاوه بر سلول‌های پروکسیمال و دیستال در سلول‌های لوله‌های جمع کننده قسمت مرکزی کلیه هم رسوب داشته است. این یافته‌ها تا حدودی با نتایج مطالعات آزاده (۲) و Kumari (٦) همخوانی نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

در کل نتایج پژوهش حاکی از آن بود که که تزریق نانوذره اکسید آهن- روی منجر به تغییر فاکتورهای شیمیایی کلیوی از جمله باعث کاهش میزان سطح اوره و اسیداوریک و افزایش کراتینین کلیه بعد از ترزریق می شود، همچنین نتایج رسوب نانوذره را در بافت کلیوی نشان می دهد. با توجه به تحقیقات مختلف انجام شده و مطالعه حاضر، نتایج به دست امده از چند منظر قابل تبیین است:

۱- به علت ایجاد توکسیسیته باعث افزایش کراتینین نسبت به گروه کنترل شده پس می‌تواند در دراز مدت احتمالا اثرات سمی و توکسیک در اثر افزایش کراتینین داشته باشد. اوره و اسیداوریک احتمالا از طریق سیستم رتیکولواندوتلیال از بدن دفع یا تجزیه شده باشد.

۲- احتمالاً بدن موش‌های آزمایشگاهی نسبت به افزایش اوره و اسیداوریک تحمل نشان داده و با افزایش طول زمان آزمایش از طریق سیستم رتیکولواندوتلیال تجزیه یا دفع شده‌اند، پس به نظر می‌رسد که این نانوذره به صورت مزمن طولانی مدت اثرات چندانی بر این فاکتورهای کلیوی ایجاد نکند.

۳- شناخت مکانیسم خاص نانوذرات و نحوه‌ی واکنش آنها نیازمند تحقیقات بسیار گسترده‌ای در این زمینه است. هنگامی که نانوذرات در یک بافت انباشته شوند ممکن است به درون سلول‌ها جذب شوند و یا این که جذبی صورت نگیرد. اگر این ذرات جذب شوند جایگزینی نهایی در لیزوزوم یا سیتوپلاسم سلول وابسته به ویژگی‌های نانوذره خواهد بود. اگر نانوذره در سیتوپلاسم مستقر شود حضور برخی مواد درشت دانه می‌تواند باعث ایجاد آسیب مستقیم یا مرگ سلول در اثر این تعاملات شود.

منابع

1. Amara S., Slama I. B., Mrad I., Rihane N., Khemissi W., El Mir L., Sakly M., 2014. Effects of zinc oxide nanoparticles and/or zinc chloride on biochemical parameters and mineral levels in rat liver and kidney. *Human and Experimental Toxicology*, 0960327113510327.

2. Azadeh N., Hooshmandi Z., Setorki M., 2015. Effect of Fe4NiO4Zn Nanoparticles on Serum Urea-Uric Acid and Creatinine in Male Rat. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*, 37(3): 6-11.

3. Chen Z., Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G., Zhao F., 2006. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicological Letters*, 163(2): 109-120.

4. Doudi, M., & Setorki, M. (2014. Effect of dioxid-titanium nanoparticles on function and tissue of kidney. *Urmia Medical Journal*, 25(8): 684-692.

5. Hillyer J.F., Albrecht R.M., 2001. Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *Journal of*

Mice Liver and Kidney. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 19(3): 243-252.

8. O'Neill M., Hutchison G., 2008. The effect on nanoparticale exposure on male reproductive function. *Nanotoxicology*, 10: 2261-2268.

9. Tang, F., Li, L., Chen, D., 2012. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery. *Advanced Materials*, 24(12): 1504-1534.

Pharmaceutical Sciences, 90(12): 1927-1936.

6. Kumari M., Rajak S., Singh S.P., Murty U. S., Mahboob M., Grover P., Rahman M.F., 2013. Biochemical alterations induced by acute oral doses of iron oxide nanoparticles in Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 36(3): 296-305.

7. Noori A., Amiri G. R., Taj B., Isfahani M. N., Taj S., Valiani A., 2012. The Effect of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles on