

Evaluation of lipid profile and oxidative stress indices in serum and liver of rat after iron-oxide nanoparticle administration

Moslemi N¹, Najafzadeh H^{1*}, Koochak M², Shahriary A¹

1- Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, I. R. Iran.

2- Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Jundishahpou University of Medical Sciences, Ahvaz, I. R. Iran.

Received October 10, 2012; Accepted May 8, 2013

Abstract:

Background: Considering the importance of iron and the role of oxidative stress in its toxicity, the purpose of this study was to compare the effect of nano iron-oxide on oxidative stress indices and lipid profile in serum and liver of rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 15 rats were allocated into 3 groups; the control and the other two groups were interaperitoneally received either nano or conventional iron-oxide (8mg/kg) daily for 15 days. The amount of malondialdehyde (MDA), antioxidant activity (AOA), triglyceride (TG) and cholesterol in serum and liver; carbonyl protein and total lipid in liver and LDL, VLDL and HDL in serum of rats were determined.

Results: Liver AOA was significantly increased by nano and conventional iron-oxide ($P=0.02$). MDA in serum was significantly decreased ($P=0.001$), but in liver increased ($P=0.04$) in the group received nano iron-oxide compared with the other two groups. Moreover, carbonyl protein was significantly increased by nano and conventional iron-oxide ($P=0.05$). TG and VLDL levels were decreased but LDL was increased by nano and conventional iron-oxide ($P=0.02$).

Conclusion: According to the results of the study, nano iron-oxide can increase oxidative stress in liver and induce atherosclerosis.

Keyword: Nano iron-oxide, Oxidative stress, Lipid profile, Rat

* Corresponding Author.

Email: najafzadeh@scu.ac.ir

Tel: 0098 611 333 0073

Fax: 0098 611 336 0807

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences July, 2013; Vol. 17, No 3, Pages 247-254

Please cite this article as: Moslemi N, Najafzadeh H, Koochak M, Shahriary A. Evaluation of lipid profile and oxidative stress indices in serum and liver of rat after iron-oxide nanoparticle administration. *Feyz* 2013; 17(3): 247-54.

بررسی تاثیر مصرف نانو اکسید آهن بر پروفایل لیپیدی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در سرم و کبد موش صحرایی

نقیسه مسلمی^۱، حسین نجف زاده^{*۲}، مریم کوچک^۳، علی شهریاری^۲

خلاصه:

سابقه و هدف: با توجه به اهمیت آهن و نقش استرس اکسیداتیو در بروز سمیت آن، در مطالعه حاضر تاثیر نانو اکسید آهن بر تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو و پروفایل لیپیدی سرم و کبد موش‌های صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی تعداد ۱۵ سر موش صحرایی در سه گروه به صورت زیر استفاده شدند: یک گروه از موش‌ها به عنوان شاهد نگهداری شدند و در دو گروه دیگر اکسید آهن معمولی و نانو اکسید آهن با دوز ۸mg/kg به صورت داخل صفاقی و به مدت ۱۵ روز تجویز شد. مقادیر مالون دی آلدئید، فعالیت آنتی اکسیدانی، تری گلیسرید و کلسترول در سرم و کبد، مقدار پروتئین کربونیل و لیپید تام در کبد و مقدار LDL، VLDL و HDL در سرم موش‌ها تعیین شد.

نتایج: اگرچه اکسید آهن به صورت نانو و معمولی بر فعالیت آنتی اکسیدانی سرم تاثیری نداشت، ولی مقدار آن را به طور معنی داری ($P=0/02$) در کبد افزایش داد. مقدار مالون دی آلدئید سرم در گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن در مقایسه با دو گروه دیگر کاهش یافت ($P=0/01$) و در کبد افزایش ($P=0/04$) داشت. مقدار پروتئین کربونیل کبد نیز توسط اکسید آهن نانو و معمولی افزایش معنی داری ($P=0/05$)، مقدار تری گلیسرید و VLDL سرم توسط اکسید آهن نانو و معمولی کاهش معنی دار ($P=0/001$) و مقدار LDL سرمی توسط نانو اکسید آهن افزایش معنی داری ($P=0/02$) داشت.

نتیجه گیری: در مجموع می توان گفت با توجه به دوز مصرفی و دوره کوتاه مدت تجویز در مطالعه حاضر تغییرات ایجاد شده توسط نانو اکسید آهن تا حدودی بیانگر افزایش استرس اکسیداتیو در کبد بوده و مستعد کننده آترواسکلروز می باشد.

واژگان کلیدی: نانو اکسید آهن، استرس اکسیداتیو، پروفایل لیپیدی، موش صحرایی

دو ماه نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۲، صفحات ۲۵۴-۲۴۷

مقدمه

هنگامی که ذخایر آهن بافتی طی مصرف زیاد و طولانی آهن بیشتر از حد باشد می تواند منجر به آسیب های پراکسیداتیو در کبد شود. مکانیسم اساسی بیماری زایی در مسمومیت آهن آسیب پراکسیداتیو چربی های غشاء سلولی است و میزان آسیب بستگی به وضعیت آنتی اکسیدان های بدن به خصوص ویتامین E دارد. به دلیل اینکه افزایش و کاهش آهن سلولی هر دو منجر به مرگ سلولی می شوند سطح آهن فعال باید به دقت کنترل و محدود شود. بیشتر آثار پاتولوژیک افزایش عمومی آهن ناشی از تجمع آهن در بافت ها است. اختلالات موضعی در هموستاز آهن در بیماری زائی بیماری های تحلیل برنده عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر موثر است [۲]. هرچه ذره کوچک تر می شود نسبت سطح به حجم آن بیشتر می شود و واکنش شیمیایی و بیولوژیکی آن افزایش می یابد. واکنش شیمیایی بیشتر نانو مواد منجر به افزایش تولید رادیکال های آزاد از جمله رادیکال های واکنش گر اکسیژن (ROS) می شود. تولید ROS در محدوده متنوعی از نانو مواد شامل فولرن، نانو لوله های کربنی و نانو ذرات اکسید فلزی مشاهده شده است [۳، ۴]. رادیکال های آزاد به غشای سلول آسیب می رسانند و با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و شاخص های استرس اکسیداتیو منجر به التهاب بافت و مرگ سلول ها می شوند [۵، ۶]. با تولید نانو ذرات آهن شناسایی سمیت و عوارض

آهن فراوان ترین فلز موجود در بدن است. این عنصر به عنوان جزئی از هموگلوبین، میوگلوبین، سیتوکروم، کاتالاز، پراکسیداز، گزانتین اکسیداز و آلفا گلیسرو فسفو دهیدروژناز شناخته شده است. فعال شدن آهن فرو با پراکسید هیدروژن یا پراکسیدهای لیپیدی منجر به تولید آهن فریک، OH و رادیکال بسیار فعال هیدروکسیل یا رادیکال های لیپیدی می شود. این رادیکال ها منجر به صدمه به غشاهای لیپیدی، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک می شوند [۱]. آهن آزاد به دلیل توان اکسید کنندگی و هم چنین توان تولید رادیکال های آزاد اکسیژن به وسیله واکنش هابر-ویس و به دلیل این که با پروتئین ها پیوندهای محکمی ایجاد می کند که منجر به تجمع آن می شود، برای سلول های سمی است.

^۱ دانشجوی دکتری عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۲ دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۳ دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

* نشانی نویسنده مسئول:

اهواز، دانشگاه شهید چمران، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

تلفن: ۰۶۱۱۳۳۳۰۰۷۳

پست الکترونیک: najafzadeh@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۹

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۲/۱۸

ضمن چون بین گروه‌ها مقایسه می‌شوند درصد خطای احتمالی برای همه یکسان است. میزان VLDL-C از طریق محاسبه به دست آمد. میزان کلسترول VLDL برابر با یک پنجم محتوای تری گلیسرید است. از تفریق VLDL از میزان کلسترول تام، میزان LDL محاسبه گردید. اندازه گیری لیپید تام به روش رنگ سنجی شیمیایی توسط واکنش سولفو- فسفو- وانیلین انجام گرفت [۸]. فعالیت آنتی-اکسیدانی (AOA) و مقدار مالون دی آلدئید (MDA) با استفاده تئو باربیتوریک اسید به روش اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد [۱۰۹]. مقدار پروتئین کربونیل در کبد نیز بر اساس منابع اندازه‌گیری شد [۱۱]. به منظور مقایسه میانگین پارامترها در بین گروه‌ها از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. از آزمون ANOVA و سپس آزمون LSD برای تعیین اختلاف آماری میانگین‌ها استفاده شد و تفاوت میانگین‌ها با $P \leq 0.05$ معنی‌دار تلقی شد. میانگین‌ها در نمودارها و جداول به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ و با کمک نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۳ ارائه گردید.

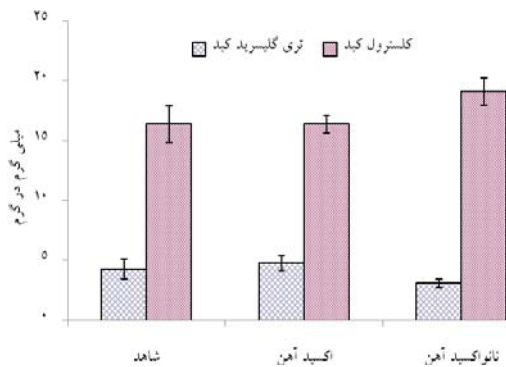
نتایج

در بررسی پروفایل لیپیدی سرم موش‌ها در گروه‌های مختلف شاهد، دریافت‌کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن میانگین (\pm خطای استاندارد) سرمی تری گلیسرید به ترتیب 7.96 ± 0.67 ، 17.696 ± 2.785 و 9.293 ± 1.428 میلی‌گرم در دسی لیتر تعیین شد. مشاهده گردید که با تجویز اکسید آهن و نانو اکسید آهن مقدار سرمی تری گلیسرید در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ($P=0.001$)، در حالی که بین دو گروه دریافت‌کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن تفاوت چندانی وجود نداشت (شکل شماره ۱). میانگین (\pm خطای استاندارد) سرمی کلسترول در گروه‌های مختلف شاهد، دریافت‌کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن به ترتیب در 89.793 ± 3.954 ، 83.586 ± 3.356 و 97.057 ± 3.684 میلی‌گرم در دسی لیتر تعیین شد و مشاهده گردید که میانگین این فاکتور، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نداشته است ($P > 0.05$) (شکل شماره ۱). هم‌چنین، میانگین (\pm خطای استاندارد) LDL سرم در گروه گروه شاهد، دریافت‌کننده نانو اکسید آهن و دریافت‌کننده اکسید آهن به ترتیب 81.894 ± 8.277 ، 50.059 ± 5.750 و 54.111 ± 8.393 میلی‌گرم در دسی لیتر بود که در گروه شاهد نسبت به دو گروه دیگر افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P=0.02$)؛ در حالی که گروه دریافت‌کننده اکسید آهن نسبت به گروه شاهد تغییر قابل توجهی نشان نداد (شکل شماره ۲). میانگین (\pm خطای استاندارد) VLDL در سه گروه فوق به ترتیب 12.013 ± 1.592 ، 3.050 ± 0.344 و 1.858 ± 0.285 میلی‌گرم در دسی لیتر بود که در

آن ضروری به نظر می‌رسد. لذا، در این مطالعه سمیت نانو ذره آهن بر تغییرات لیپیدها و شاخص‌های استرس اکسیداتیو سرم و کبد موش صحرائی ارزیابی شد. پروفایل لیپیدی سرم شامل کلسترول تام، تری گلیسرید، HDL، VLDL، LDL و شاخص‌های استرس اکسیداتیو نظیر مالون دی آلدئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (AOA) نیز اندازه‌گیری گردید. هم‌چنین، در کبد نیز پروفایل لیپیدی کلسترول تام، تری گلیسرید، لیپید تام و فاکتورهای استرس اکسیداتیو مالون دی آلدئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئین کربونیل اندازه‌گیری و بررسی شد.

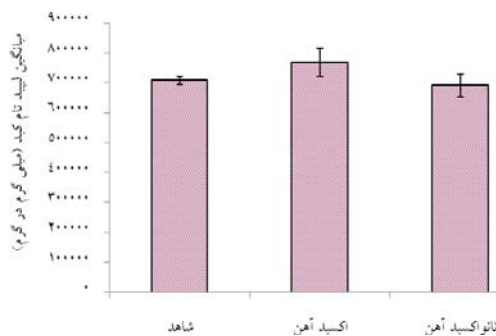
مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۱۵ سر موش صحرائی نژاد ویستار با میانگین وزنی 20 ± 20 گرم وارد شدند. موش‌ها از بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه جندی شاپور اهواز تهیه شدند. کلیه حیوانات یک هفته قبل از شروع آزمایش به اتاق پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه دامپزشکی منتقل شده و در طول دوره نگهداری و آزمایشات، آب و غذا به‌طور آزاد در اختیار آنها قرار داشت و حیوانات در معرض ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند. دمای محیط نگهداری حیوانات 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد بود. این مطالعه در ۳ گروه از موش‌های صحرائی (در هر گروه ۵ سر) انجام شد. گروه کنترل: حیوانات این گروه تنها سرم فیزیولوژی را با حجمی معادل ۲ گروه دیگر به‌صورت داخل صفاقی و روزانه به‌مدت ۱۵ روز متوالی دریافت کردند. گروه اکسید آهن معمولی: این گروه، اکسید آهن معمولی را با دوز 8 mg/kg وزن بدن روزانه به‌مدت ۱۵ روز متوالی به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه نانو اکسید آهن: حیوانات این گروه، نانو اکسید آهن را با دوز 8 mg/kg [۷] به‌صورت داخل صفاقی و روزانه به‌مدت ۱۵ روز متوالی دریافت کردند. در پایان، موش‌ها با اتر بی‌هوش شدند. از موش‌های مذکور از طریق داخل قلبی خون‌گیری به‌عمل آمد. سرم به‌وسیله سانتریفیوژ جدا شد. سپس موش‌ها به‌وسیله اتر آسان‌کشی شده و یک گرم از بافت کبد جداسازی و هم‌وزن‌نیزه شد. مقادیر مالون دی آلدئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تری گلیسرید و کلسترول در سرم و کبد، مقدار پروتئین کربونیل و لیپید تام در کبد و مقدار VLDL، LDL و HDL در سرم موش‌ها تعیین شد. برای اندازه‌گیری کلسترول و HDL از کیت شرکت پارس آزمون استفاده شد. اگرچه برای فاکتورهای ارزیابی شده در مطالعه حاضر، کیت‌های اختصاصی موش صحرائی در دسترس نبود و از کیت‌های انسانی استفاده شد. با این حال فاکتورهای ارزیابی شده در مطالعه ما اختصاصی گونه‌ای نیستند و می‌توان برای حیوان استفاده کرد. در



شکل شماره ۳- میانگین \pm خطای استاندارد کلسترول و تری گلیسرید کبد در گروه‌های مختلف. (n=5)

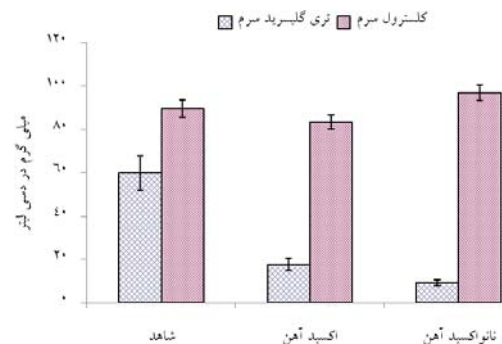
میانگین لیپید تام کبدی نیز در بین گروه شاهد، گروه دریافت کننده اکسید آهن و گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن تفاوت معنی داری نداشت ($P>0/05$). مقدار لیپید تام کبد در شکل شماره ۴ نشان داده شد.



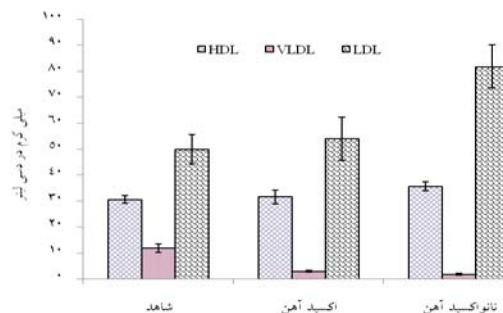
شکل شماره ۴- میانگین \pm خطای استاندارد لیپید تام کبد در گروه‌های مختلف. (n=5)

میانگین (\pm خطای استاندارد) مالون دی آلدئید سرم به ترتیب $1388/46 \pm 56/015$ و $839/743 \pm 77/983$ و $844/537 \pm 55/350$ نانومول در لیتر تعیین شد. مقدار مالون دی آلدئید سرم با تجویز نانو اکسید آهن نسبت به گروه دریافت کننده اکسید آهن و گروه شاهد، کاهش معنی داری یافت ($P=0/001$) (شکل شماره ۵). به علاوه با تجویز اکسید آهن و نانو اکسید آهن مقدار مالون دی آلدئید کبد در گروه دریافت کننده اکسید آهن در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت، در حالی که گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن نسبت به گروه دریافت کننده اکسید آهن و گروه شاهد، افزایش معنی داری داشت ($P=0/04$) (شکل شماره ۵).

دو گروه دریافت کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری داشت ($P=0/001$) (شکل شماره ۲). میزان HDL نیز در سه گروه شاهد، گروه دریافت کننده اکسید آهن و گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن $2/999 \pm 1/499$ و $31/696 \pm 2/111$ و $35/770 \pm 1/748$ میلی گرم در دسی لیتر بود که تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند (شکل شماره ۲).



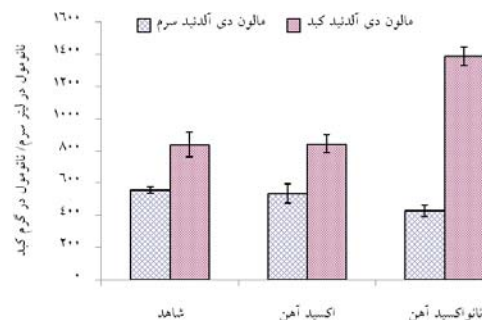
شکل شماره ۱- میانگین \pm خطای استاندارد کلسترول و تری گلیسرید سرم در گروه های مختلف. * بیانگر تفاوت معنی دار بین گروه شاهد با دو گروه دیگر می باشد ($P<0/05$, n=5).



شکل شماره ۲- میانگین \pm خطای استاندارد HDL و LDL و VLDL سرم در گروه های مختلف. * بیانگر تفاوت معنی دار VLDL بین گروه شاهد با دو گروه دیگر می باشد ($P<0/05$). ** بیانگر تفاوت معنی دار LDL بین گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن با دو گروه می باشد ($P<0/05$, n=5).

با تجویز اکسید آهن و نانو اکسید آهن در مقدار تری گلیسرید در مقایسه با گروه شاهد تغییری مشاهده نشد. همچنین، در گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن نسبت به گروه دریافت کننده اکسید آهن تغییر معنی داری دیده نشد (شکل شماره ۳). در بررسی حاضر، میانگین کلسترول کبد، در هر سه گروه مورد مطالعه نیز تفاوت معنی داری نداشت (شکل شماره ۳).

مقدار AOA سرم نیز تفاوت معنی داری بین ۳ گروه مطالعه نداشت، اما مقدار AOA کبد در گروه دریافت کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشت ($P=0/02$). این در حالی بود که هیچ یافته معنی داری بین گروه دریافت کننده اکسید آهن در مقایسه با گروه نانو اکسید آهن وجود نداشت (جدول شماره ۱). مقدار پروتئین کربونیل کبد در گروه دریافت کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشت ($P=0/05$)؛ در حالی که هیچ یافته معنی - داری بین گروه دریافت کننده اکسید آهن در مقایسه با گروه نانو اکسید آهن وجود نداشت (جدول شماره ۱).



شکل شماره ۵- میانگین \pm خطای استاندارد مالون دی آلدئید سرم و کبد در گروه های مختلف. * بیانگر تفاوت معنی دار مالون دی آلدئید سرم بین گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن با دو گروه دیگر می باشد ($P>0/05$). ** بیانگر تفاوت معنی دار مالون دی آلدئید کبد بین گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن با دو گروه می باشد ($P<0/05$, $n=5$).

جدول شماره ۱- میانگین \pm خطای استاندارد سطح دفاع آنتی اکسیدانی و پروتئین کربونیل در گروه های مختلف. حروف بیانگر تفاوت معنی دار بین گروه ها با $P<0/05$ می باشد.

گروه	AOA سرم (میلی مول در لیتر)	AOA کبد (میلی مول در گرم)	پروتئین کربونیل (نانومول در گرم)
شاهد (a)	$0/4028 \pm 0/058$	$366/7325 \pm 13/873$ ^{bc}	$111/59 \pm 10/065$ ^{bc}
اکسید آهن (b)	$0/5686 \pm 0/078$	$421/76 \pm 6/272$ ^a	$195/1725 \pm 11/929$ ^a
نانو اکسید آهن (c)	$0/4556 \pm 0/052$	$420/7025 \pm 7/796$ ^a	$206/886 \pm 20/622$ ^a

بحث

استرس اکسیداتیو می باشد؛ اگرچه نیازمند بررسی در مدت بیشتری می باشد. اگرچه مطالعات متعددی در مورد اثر اکسید آهن بر شاخص های استرس اکسیداتیو انجام شده است، ولی در مورد نانو اکسید آهن تعداد معدودی در دسترس است که در زیر به برخی از آنها اشاره می شود. در یک مطالعه عوارض ناشی از اثرات سمی نانو ذرات کسید آهن به دنبال ورود این ذرات به دو سیستم تنفسی مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به دو صورت برون- و درون تنی انجام شد و اثرات نانو ذرات اکسید آهن روی سیستم تنفسی، سیستم ایمنی و ماکرومولکول ها تعیین شد. آزمایشات هیستوپاتولوژیک هیچ یافته غیر معمولی را در اندام ها (کبد، ریه، کلیه ها و طحال) نشان نداد؛ به جز در ریه ها، که فیبروز ضعیف ریوی و افزایش قطر دیواره بینابینی آلونول ها در مراحل انتهایی آزمایش دیده شد. IgG و IgM در بافت مجاری هوایی و ترشحات ریوی به طور معنی دار کاهش یافت، در صورتی که در خون تغییری نداشت. هم چنین، فاکتورهای استرس اکسیداتیو ریوی اندازه گیری شده تغییری نکرده بود [۱۱]. نتایج مطالعه فوق با مطالعه حاضر تا حدودی هم خوانی دارد. در مطالعه حاضر مقدار AOA با تجویز اکسید آهن و نانو اکسید آهن در سرم نسبت به گروه شاهد تغییری نداشت، در حالی که

در مطالعه حاضر که با هدف ارزیابی مقایسه سمیت نانو اکسید آهن با اکسید آهن معمولی انجام شد، شاخص های ارزیابی شده در رابطه با استرس اکسیداتیو و فاکتورهای لپیدی نشان داد که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در سرم، با تجویز اکسید آهن در هر ۲ شکل نانو و معمولی در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی داری نداشت، در حالی که این فاکتور در کبد موش های دریافت کننده اکسید آهن افزایش معنی داری پیدا کرد و بین فرم نانو و معمولی اکسید آهن تفاوتی مشاهده نشد. در مورد مالون دی آلدئید، تفاوت معنی داری بین گروه شاهد و گروه دریافت کننده اکسید آهن معمولی در سرم و کبد مشاهده نگردید، در حالی که در گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن این شاخص در سرم کاهش یافته و در کبد افزایش معنی داری نسبت به ۲ گروه قبل داشت. با بررسی شاخص دیگر استرس اکسیداتیو یعنی پروتئین کربونیل که در کبد اندازه گیری گردید مشاهده شد که با تجویز اکسید آهن در هر ۲ فرم اکسید آهن معمولی و نانو اکسید آهن، افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد ایجاد شده است. به هر حال با توجه به دوز مصرفی و دوره کوتاه مدت تجویز در مطالعه حاضر تغییرات ایجاد شده تا حدودی بیانگر افزایش

در کبد افزایش معنی‌داری در هر ۲ گروه دریافت‌کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن به همراه داشت. تغییر این شاخص در سرم با مطالعه فوق که در ریه انجام گرفت، متفاوت بود. بررسی سمیت وابسته به غلظت نانو ذرات اکسید آهن به واسطه افزایش فاکتورهای استرس اکسیداتیو توسط Naqvi و همکاران در سال ۲۰۱۰ با کشت سلولی ماکروفاژهای انسانی و اضافه کردن نانو ذرات به این محیط، مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از یک غلظت رو به بالا و افزایشی از نانو ذرات اکسید آهن، منجر به افزایش ROS شد که در ادامه آسیب و مرگ سلولی را سبب گردید [۱۲]. آسیب غشای سلولی ناشی از نانو ذرات اکسید آهن با اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز مورد مطالعه قرار گرفت. لاکتات دهیدروژناز یک آنزیم سیتوزولی است که به دنبال آسیب غشای سلولی در مایعات خارج سلولی ظاهر می‌شود. بر اساس این مطالعه آسیب سلولی ناشی از نانو ذرات اکسید آهن هم وابسته به غلظت و هم وابسته به زمان است. بنابراین، استفاده از غلظت پایینی از نانو ذرات اکسید آهن بسیار مهم است تا از آسیب سلولی و مرگ سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری شود. نتیجه مطالعه فوق در برخی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو با مطالعه حاضر تا حدودی هم‌خوانی دارد. البته به دلیل کوچک‌تر بودن نانو ذرات اکسید آهن و احتمالاً حذف سریع‌تر آن‌ها از طریق ادرار، سمیت آن در بافت‌ها متفاوت خواهد بود. نانو ذرات اکسید آهن پس از ۲۴ ساعت می‌توانند استرس اکسیداتیو مرگ سلولی را تحریک کنند. با وجود این که نانو ذرات سریع حذف می‌شوند، اما باعث ایجاد آسیب در کبد، کلیه و شش‌ها می‌گردند. اگرچه نانو ذرات اکسید آهن از طریق ادرار حذف می‌شوند، ولی می‌توانند در بسیاری از اندام‌ها ایجاد سمیت کنند [۱۲]. Samal و همکاران نانو ذره اکسید آهن را به صورت داخل صفاقی در دوزهای مختلف به موش سوری تزریق کردند و مشاهده نمودند که نانو ذرات اکسید آهن باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌شوند [۱۳]. در مطالعه فوق که با مطالعه حاضر هم‌سو بوده است مشاهده گردید که نانو ذرات اکسید آهن باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود. نانو ذرات آهن می‌توانند به اندام‌های داخلی سلول آسیب برسانند و با تولید رادیکال‌های آزاد موجب مرگ سلولی می‌شوند؛ به طوری که Hoskins و همکاران نشان دادند که تولید ROS و پراکسید-اسیون لیپیدی توسط نانو ذرات آهن افزایش می‌یابد که این عوامل استرس اکسیداتیو موجب مرگ سلولی می‌شود [۱۴]. بیان شده است که نانو ذرات اکسید آهن وارد لیزوزوم‌ها می‌شوند و با پاره کردن غشا لیزوزوم‌ها باعث آزاد سازی آنزیم‌ها شده که

منجر به آسیب سلولی می‌شوند [۱۴]. در مطالعه حاضر بررسی پروفایل لیپیدی سرم و کبد موش صحرائی نشان داد که تری گلیسرید سرم در هر ۲ گروه دریافت‌کننده اکسید آهن و نانو اکسید آهن نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت، در حالی که در کبد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نبود. به علاوه، تغییر معنی‌داری در میزان کلسترول سرم و کبد گروه‌ها مشاهده نشد. همچنین، مقدار لیپید تام کبد در بین گروه‌ها تفاوت آماری نداشت. در حالی که HDL سرمی بین گروه‌ها تفاوت چندانی نداشت، مقدار سرمی VLDL با تجویز نانو اکسید آهن و اکسید آهن معمولی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. با تجویز نانو اکسید آهن، مقدار LDL سرم موش‌ها در مقایسه با گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده اکسید آهن معمولی افزایش معنی‌داری یافت. نشان داده شده است که در افراد سیگاری مقدار پلاسمایی LDL اکسیده شده و لیپید پراکسید بیشتر از افراد غیر سیگاری بوده که ارتباط بین این افزایش LDL و افزایش سرمی آهن افراد سیگاری وجود داشته است [۱۵]. بنابراین، نتیجه مطالعه فوق با نتیجه مطالعه حاضر هم‌سو می‌باشد که LDL سرمی بیشتری در موش‌های دریافت‌کننده آن ثبت گردید. Lamb و Leake بیان کردند که آهن آزاد شده از ترانسفرین می‌تواند منجر به اکسیداسیون LDL شود. با توجه به این که در ضایعات آترواسکلروتیک به دلیل اسیدی بودن pH موضع دچار آترواسکلروز آهن بیشتری از ترانسفرین آزاد می‌شود، بنابراین اکسیداسیون LDL هم به تبع آن بیشتر خواهد بود [۱۶]. بیان شده است که بین اکسیداسیون LDL و غلظت سرمی فریتین (ذخیره آهن بدن در سلول) ارتباط مستقیمی وجود دارد [۱۷]. و این در حالی است که Iribarren و همکاران نشان داده‌اند که آهن ذخیره بدن ارتباطی با اکسیداسیون LDL ندارد [۱۸]. فلورانول (فلاونونوئید گیاهی) با اتصال به یون‌های ۳ ظرفیتی آهن می‌تواند از اکسیداسیون LDL جلوگیری کند [۱۹]. افزایش آهن کبد می‌تواند منجر به آسیب کبدی و در نهایت ایجاد اختلال در متابولیسم لیپیدها در کبد شود [۲۰]. در مطالعه حاضر نیز میزان LDL سرمی افزایش یافت. Wilkins و همکاران بیان کردند که یون‌های آهن موجب اکسیداسیون LDL شده و LDL اکسید شده در آترواسکلروز دخالت دارد [۲۱]. بنابراین، می‌توانیم بگوییم که نانو اکسید آهن با افزایش LDL سرم در مطالعه حاضر می‌تواند شرایط آترواسکلروتیک را فراهم و یا تشدید نماید و با توجه به حضور ذرات نانو اکسید آهن در هوای استنشاقی در برخی از نواحی از جمله خوزستان [۲۲] و

بررسی تاثیر مصرف نانواکسید آهن بر، ...

مقایسه با گروه شاهد و گروه دریافت کننده اکسید آهن افزایش یافت که می‌تواند بیانگر تاثیر استرس اکسیداتیو ناشی از نانو اکسید آهن در ایجاد خطر آترواسکلروز باشد. پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای مشابه با مقادیر بیشتر از نانو اکسید آهن و در مدت زمان طولانی‌تری انجام شود و آزمون‌های شرکت‌کننده در حذف رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها ارزیابی شوند.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز برای تامین اعتبار مالی تحقیق حاضر تشکر می‌شود.

References:

- [1] Najafzadeh H, Razijalali M, Morovvati H, Taravati F. Comparison prophylactic effect of silymarin and deferoxamine on iron overload-induced hepatotoxicity in rat. *J Med Toxicol* 2010; 6: 22-6.
- [2] Hentze MW, Muckenthaler MV. Balancing acts molecular control of Mammalian Iron Metabolism. *Cell* 2004; 117(3): 285-97.
- [3] Hanini A, Schmitt A, Kacem K, Chau F, Ammar S, Gavard J. Evaluation of iron oxide nanoparticle biocompatibility. *Inter J Nanomed* 2011; 6: 787-94.
- [4] Scott E. Characterization of nanoparticles intended for drug delivery. *Methods Mole Biol* 2011; 697(1): 3-5.
- [5] Puntarulo, S. Iron, Oxidative stress and Human Health. *Mole Aspe Med* 2005; 26(4-5): 299-312.
- [6] Droge W. Free radicals in physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82(1): 47-95.
- [7] Szalay B, Tátrai E, Nyíró G, Vezér T, Dura G. Potential toxic effects of iron oxide nanoparticles in vivo and in vitro experiments. *J Appl Toxicol* 2012; 32(6): 446-53.
- [8] Hara A, Radin NS. Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvents. *Analat Biochem* 1978; 90(1): 420-6.
- [9] Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol* 2001; 54: 356-67.
- [10] Plaster ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malondialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-64.
- [11] Levine RL, Williams J, Stadman ER, Shacter E. Carbonyl assay for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1994; 233: 346-57.
- [12] Naqvi S, Samim M, Abdin MZ, Jalees Ahmed, F, Maitra AN, Prashant CK, Dinda AK.

تاثیر آن بر روی آترواسکلروز می‌تواند این فاکتور برای جمعیت انسانی یا دامی مضر باشد [۲۳].

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر مشاهده شد که با تجویز اکسید آهن برخی از فاکتورهای استرس اکسیداتیو همانند مالون دی آلدئید و پروتئین کربونیل در کبد تغییر می‌کند و نانو اکسید آهن بیشتر از اکسید آهن معمولی توانست مقدار مالون دی آلدئید کبد را افزایش دهد. بررسی پروفایل لیپیدی نیز نشان داد که تری گلیسرید سرم توسط نانو اکسید و اکسید آهن معمولی کاهش یافت و از طرفی LDL سرمی به‌وسیله نانو اکسید آهن در

- Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *Inter J Nanomed* 2010; 5: 983-9.
- [13] Samal NK, Paulraj R. Combined role of magnetic iron oxide nanoparticles and 2.45 GHz microwave radiation on antioxidant enzymes of mice. *Mutat Res-Fund Mole Mechan Mutagen* 2006; 596(1): 76-80.
 - [14] Hoskins C, Cuschieri A, Wang L. The cytotoxicity of polycationic iron oxide nanoparticles: Common endpoint assays and alternative approaches for improved understanding of cellular response mechanism. *J Nanobiotechnology* 2012; 10: 15.
 - [15] Yoshida H, Sasaki K, Hirowatari Y, Kurosawa H, Sato N, Furutani, N. Tada, N. Increased serum iron may contribute to enhanced oxidation of low-density lipoprotein in smokers in part through changes in lipoxigenase and catalase. *Clin Chim Acta* 2004; 345(1-2): 161-70.
 - [16] Lamb DJ, Leake DS. Iron released from transferrin at acidic pH can catalyse the oxidation of low density lipoprotein. *FEBS Lett* 1994; 352(1): 15-8.
 - [17] Brouwers A, Langlois M, Delanghe J, Billiet J, Buyzere MD, Vercaemst R, et al. Oxidized low density lipoprotein, iron stores, and haptoglobin polymorphism. *Atherosclerosis* 2004; 176: 189-95.
 - [18] Iribarren C, Sempos CT, Eckfeldt JH, Folsom AR. Lack of association between ferritin level and measures of LDL oxidation: The ARIC Study. *Atherosclerosis* 1998; 139: 189-95.
 - [19] Botelho FV, Alvarez-Leite JI, Lemos VS, Pimenta AMC, Calado HDR, Matencio T, et al. Physicochemical study of floranol, its copper (II) and iron (III) complexes, and their inhibitory effect on LDL oxidation. *J Inorg Biochem* 2007; 101(6): 935-43.
 - [20] Ahmed U, Latham PS, Oates PS. Interactions between hepatic iron and lipid metabolism with

possible relevance to steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18(34): 4651-8.

[21] Wilkins GM, Leake DS. The oxidation of low density lipoprotein by cells or iron is inhibited by zinc. *FEBS Lett* 1994; 341: 259-62.

[22] Zarasvandi A, Carranza EJM, Moore F, Rastmanesh F. Spatio-temporal occurrences and mineralogical-geochemical characteristics of airborne dusts in Khuzestan Province (southwestern

Iran). *J Geochemic Explor* 2011; 111: 138-51. Available At: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2011.04.004>.

[23] Zhu MT, Wang B, Wang Y, Yuan L, Wang HJ, Wang M, et al. Endothelial dysfunction and inflammation induced by iron oxide nanoparticle exposure: Risk factors for early atherosclerosis. *Toxicol Lett* 2011; 203(2): 162-71.