



Original Paper

Effect of Cobalt Ferrite Nanoparticles Synthesized with Sumac Extract on Changes in Biochemical and Histological Factors in Rats

Morteza Ghasemi¹ , Fariba Mahmoudi (Ph.D)^{*2}  , Arash Abdolmaleki (Ph.D)³  , Milad Soluki⁴  

¹ M.Sc Student of Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ² Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ³ Associate Professor, Department of Bioinformatics, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohaghegh Ardabili, Namin, Iran. ⁴ Ph.D Candidate, Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Abstract

Background and Objective: The application of different nanoparticles using green synthesis is increasing due to fewer complications. This study was conducted to identify the effect of cobalt ferrite nanoparticles synthesized with sumac extract on changes in biochemical and histological factors in rats.

Methods: In this experimental study, 30 five-month-old male Wistar rats with an approximate weight of 250-300 mg/kg of body weight were divided into three groups: The control group (saline receiving), the experimental groups receiving intraperitoneal cobalt ferrite nanoparticles synthesized with sumac extract at a dose of 10 and 20 mg/kg of body weight. Serum and tissue samples (liver, kidney, and spleen) were isolated. Serum concentrations of urea, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and creatinine were determined. The photometric method was used to measure liver enzymes, the calorimetric method without omitting proteins based on the Jaffe method was used to measure creatinine, and the urease-glutamate dehydrogenase (GLDH) method was used to measure urea. Tissue samples were assessed by hematoxylin-eosin staining. Transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscope (SEM) microscopic studies were used for microscopic investigations.

Results: No statistical significance was observed in blood samples and factors (urea, creatinine, ALT, and AST) in the experimental groups compared to the control group. Similarly, in the morphological investigation, the size of the liver, kidney, and spleen of the groups receiving cobalt ferrite nanoparticles synthesized with sumac extract was normal compared to the control group.

Conclusion: Cobalt ferrite nanoparticles synthesized with sumac had no toxic effect on the rats' liver, spleen, and kidney tissues.

Keywords: Nanoparticles, Rhus, Cobalt Ferrite, Histology, Rats

*Corresponding Author: Fariba Mahmoudi (Ph.D), E-mail: f.mahmudi@uma.ac.ir



Received 23 Jan 2023

Final Revised 4 Sep 2023

Accepted 11 Sep 2023

Published Online 30 Dec 2023

Cite this article as: Ghasemi M, Mahmoudi F, Abdolmaleki A, Soluki M. [Effect of Cobalt Ferrite Nanoparticles Synthesized with Sumac Extract on Changes in Biochemical and Histological Factors in Rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2023; 25(4): 19-27. [Article in Persian]





Extended Abstract

Introduction

Cobalt ferrite nanoparticles, as an attractive structure, are used in medicine, targeted drug delivery, heat therapy, bactericidal systems, food processing and packaging, biomedical devices, and water disinfection. However, the extended use of cobalt ferrite nanoparticles may culminate in penetrating impurities into the human body through ingestion and inhalation, and in case of injecting into the human body, may lead to creating oxidative stress, cytotoxicity, genetic disorders, inflammation, apoptosis, and developmental, metabolic, and hormonal abnormalities in the long run. Despite the cobalt ferrite nanoparticles' biological features and numerous applications, these uncoated nanoparticles are sensitive to oxidation and may act differently in body conditions.

Sumac has been used for coating cobalt ferrite nanoparticles due to its strong antioxidant capacity, positive effects on wound healing and inflammation reduction, and analgesic properties. Sumac is a potential source of natural and harmless compounds with analgesic effects. Access to an effective analgesic drug with fewer complications has always been a serious challenge in medicine. Sumac extract contains high phenolic and flavonoid content, which exerts a proper anti-inflammatory effect by inhibiting reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) production on BV-2 cells.

The present study was conducted to identify the effect of cobalt ferrite nanoparticles synthesized with sumac extract on changes in biochemical and histological factors in rats

Methods

This experimental study was conducted on 30 five-month-old male Wistar rats.

The co-precipitation method was employed to process cobalt ferrite nanoparticles. The X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, transmission electron microscopy (TEM), and scanning electron microscope (SEM) analyses were performed for structural assessment of the generated nanoparticles.

The animals were divided into three groups of 10, including the control group (saline receiving), the experimental groups receiving intraperitoneal cobalt ferrite nanoparticles synthesized with sumac extract at a dose of 10 mg/kg of body weight (the first experimental group), and at a dose of 20 mg/kg of body weight (the second experimental group).

After one week of nanoparticle injection, blood samples were collected. Animals were anesthetized with ketamine-xylazine. After anesthetizing the rats, liver, spleen, and kidney tissue sampling was performed.

The mean serum concentrations of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatinine, and urea were determined using the medical diagnostic kits of Pars Azmoun Company (Pars Azmoun, Iran). The photometric method was used to measure liver enzymes. Creatinine was measured through a test carried out using the calorimetric method without omitting proteins based on the Jaffe method. In addition, urea was measured through a test carried out using the urease-glutamate dehydrogenase (GLDH) method.

The samples were fixed in 10% formalin to prepare the tissue section. Then, thin tissue sections were prepared using a microtome device that was 5 micrometers thick and a paraffin mold. Afterward, the samples were stained with the hematoxylin-eosin stain. The images of all slides were prepared to

investigate changes in cell appearance, size, color and amount of cytoplasm, color and shape of the nucleus, and necrotic changes (degree of cell death).

Results

Sumac-coated cobalt ferrite nanoparticles had an almost uniform size distribution.

The XRD pattern of cobalt ferrite nanoparticles was sumac-coated cobalt ferrite, and the standard XRD pattern of cobalt ferrite code is 1086-022-00.

The majority of the absorption bands detected in the FTIR spectrum of sumac and sumac-coated nanoparticles were related to the structures of flavonoids and tannins.

In the morphological examination one week after the treatment, no changes were observed in the size and shape of the liver, spleen, and kidney tissues in the two experimental groups compared to the control group, and the size and shape of the organs were normal. Also, in the histological examination of the liver, spleen, and kidney of the experimental groups, identical tissue images were observed, the cell structure was normal, and no difference was observed in the size of cells and blood vessels compared to the control group.

Based on the results of biochemical tests in the studied samples of the experimental groups, no statistically significant changes were found in the blood urea levels, ALT and AST enzymes, and creatinine levels compared to the control group.

Conclusion

According to the results of the current study, synthesized cobalt ferrite nanoparticles with sumac showed no toxic effect on the liver, spleen, and kidney tissues and caused no disturbance in blood factors either.

Sumac extract contains high flavonoid compounds. Thus, it has a strong anti-inflammatory potential on cells by inhibiting the production of free electrons and NO. Moreover, sumac was used to coat cobalt ferrite nanoparticles due to its strong antioxidant capacity, positive effects in wound healing, inflammation reduction, and analgesic properties. Therefore, cobalt ferrite nanoparticles synthesized with sumac extract may have prevented body tissue injuries by decreasing inflammatory factors and oxidative stress due to their antioxidant and anti-inflammatory properties.

Ethical Statement

The present study was approved by the Research Ethics Committee of Ardabil University of Medical Sciences (IR.ARUMS.REC.1400.083), and the ethical protocol for experimental animals was observed.

Funding

This article was extracted from Morteza Ghasemi's master's thesis in the field of Animal Physiology from the Faculty of Science, Mohaghegh Ardabili University, and was conducted with the financial support of Mohaghegh Ardabili University.

Conflicts of Interest

No conflict of interest.

Acknowledgment

We would like to thank Mohaghegh Ardabili University for its financial support.

Sumac-coated cobalt ferrite nanoparticle causes no morphological and histological disturbances in the liver, spleen, and kidney tissues of rats.



تحقیقی

اثر نانوذرات فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی و هیستولوژیکی موش‌های صحرائی

مرتضی قاسمی^۱ ID، دکتر فریبا محمودی*^۲ ID، دکتر آرش عبدالملکی^۳ ID، میلاد سلوکی^۴ ID

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ^۲ دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ^۳ دانشیار، گروه بیوانفورماتیک، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، نمین، ایران. ^۴ دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: کاربرد نانوذرات مختلف با استفاده از سنتز سبز به دلیل عوارض جانبی کمتر رو به گسترش است. این مطالعه به منظور تعیین اثر نانوذرات فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی و هیستولوژیکی موش‌های صحرائی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار پنج ماهه با وزن تقریبی ۳۰-۲۵۰ به سه گروه کنترل (دریافت کننده سالین)، گروه‌های تجربی دریافت کننده درون صفاتی نانو ذره فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. نمونه‌های سرمی و بافتی (کبد، کلیه و طحال) جداسازی شدند. غلظت سرمی اوره، ALT، AST و کراتینین تعیین شد. برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی از روش فوتومتریک، برای اندازه‌گیری کراتینین از روش کالریمتری بدون حذف پروتئین‌ها براساس روش JAFFE و برای اندازه‌گیری اوره از تکنیک Ureas - GLDH استفاده شد. نمونه‌های بافتی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین بررسی شدند. برای مطالعات میکروسکوپی، میکروسکوپ‌های الکترونی SEM و TEM مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: در نمونه‌های بافتی و فاکتورهای خونی (اوره، کراتینین، ALT و AST) گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین در بررسی مورفولوژیکی، اندازه کبد، کلیه و طحال گروه‌های دریافت کننده نانوذرات فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق در مقایسه با گروه کنترل، طبیعی بود.

نتیجه‌گیری: نانوذره فریت کبالت سنتز شده با سماق، اثر سمی بر بافت‌های کبدی، طحال و کلیه موش‌های صحرائی نداشت.

واژه‌های کلیدی: نانوذره، سماق، فریت کبالت، هیستولوژی، موش صحرائی

* نویسنده مسؤل: دکتر فریبا محمودی، پست الکترونیکی: f.mahmudi@uma.ac.ir

نشانی: اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، تلفن ۰۴۵-۳۱۵۰۵۰۱۲

وصول ۱۴۰۱/۱۱/۱۳ اصلاح نهایی ۱۴۰۲/۶/۱۳ پذیرش ۱۴۰۲/۶/۲۰ انتشار ۱۴۰۲/۱۱/۰۹

مقدمه

نانوذرات با توجه به ویژگی‌های مورفولوژیکی و اندازه کوچک، با تعدیل عوامل التهابی، تکثیر سلول‌های عصبی و اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به عنوان رویکرد درمانی جدید مورد استفاده قرار گیرند.^۱ رویکردهای نانوتکنولوژی برای پزشکی اساساً به تخصص بین رشته‌ای از زیست‌شناسی، شیمی و مهندسی نیاز دارد.^۲ مطالعات فراوانی نشان داده است که استفاده از نانوذرات در پزشکی می‌تواند به‌طور قابل توجهی اثربخشی بسیاری از روش‌های درمانی موجود را افزایش دهد.^۳ پیوند داروها با نانوذرات می‌تواند تجمع انتخابی آنها در بافت‌های بیمار و همچنین توانایی نفوذ از طریق غشای سلول را افزایش دهد. افزایش قدرت داروها یک

چالش بزرگ برای پزشکی مدرن است. این هدف را می‌توان با تحقیق متمرکز بر سیستم‌های درمانی با کاهش سمیت، همراه با کارایی درمانی بالاتر به دست آورد.^۴ فناوری‌های نانو شامل نانومولسیون‌ها، نانوذرات سنتز شده به روش سبز، نانوذرات مغناطیسی، نانوکامپوزیت‌های پلیمری، نانولوله‌های مبتنی بر کربن و سایر فناوری‌ها است.^۵ در مقایسه با مصرف معمول دارو، استفاده از نانوذرات به عنوان درمان هدفمند، به کاهش مقدار داروی مورد نیاز، جذب بهتر و جلوگیری از عوارض جانبی سیستماتیک کمک می‌کند.^۶ اندازه نانوذرات به طور قابل توجهی، توزیع زیستی و کاربرد‌های درمانی آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد.^۷ نانوذرات فریت کبالت، به عنوان ساختاری جذاب در پزشکی،

اکسید نیتریک (NO) بر سلول‌های BV-2 اعمال می‌کند.^{۱۵} این مطالعه به منظور تعیین اثر نانوذرات فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی و هیستولوژیکی موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۵ ماهه با وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ خریداری شده از انستیتو پاستور انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (IR.ARUMS.REC.1400.083) قرار گرفت. پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

حیوانات در شرایط استاندارد در اتاقی با دما 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد در قفس‌های مخصوص با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. نور اتاق به صورت ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی تنظیم شده بود. با توجه به این که چرخه‌های قاعدگی و تغییرات هورمونی می‌تواند بر اثرگذاری نانوذرات مداخله کند؛ بنابراین از موش‌های نر استفاده شد.

برای فرآوری نانوذرات فریت کبالت، از روش هم‌رسوبی استفاده شد. ۵۰ گرم از پودر سماق به ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت یک ساعت روی هیتر با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد هم زده شد. سپس از کاغذ واتمن عبور داده شد و عصاره آن جدا گردید. در مرحله بعد محلول آبی یون‌های کبالت ($\text{Co}_2 + 25\text{ml}, 0.2\text{M}$) و آهن ($\text{Fe}_3 + 25\text{ ml}, 0.4\text{M}$) در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد توسط همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد. سپس هیدروکسید سدیم ($4\text{M}, 25\text{ml}$) به صورت یکباره اضافه و هم زده شد. ۵ دقیقه پس از آن عصاره سماق افزوده گردید و پس از سپری شدن یک ساعت، رسوب ایجاد شده چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد و در کوره‌ای در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک‌سازی و تهیه پودر صورت گیرد. برای بررسی ساختاری نانوذرات ایجاد شده، آنالیزهای XRD (X-Ray Diffraction)، FTIR (Fourier Transform Infrared Spectrometer)، TEM (Transmission Electron Microscopy) و SEM (Scanning Electron Microscope) انجام شد.

یکی از روش‌های توصیف خصوصیات ساختاری نانوذرات، طرح پراش اشعه ایکس (XRD) است.

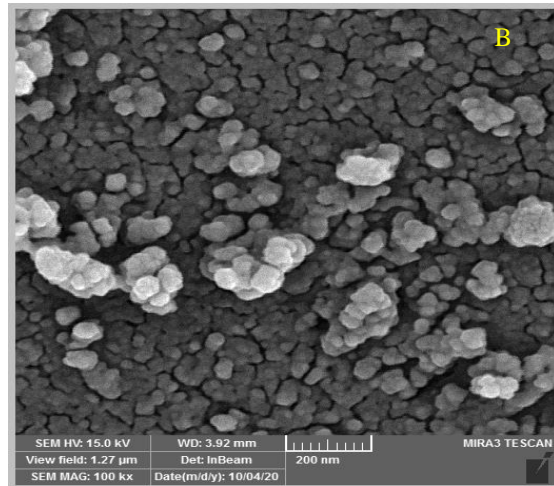
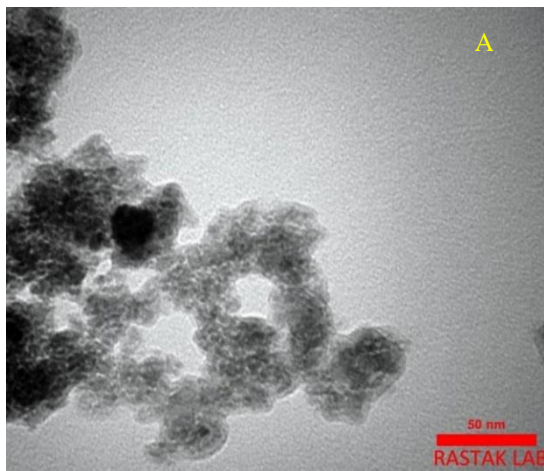
نمونه تولید شده حاوی بلورک‌هایی با متوسط اندازه ۲۳ نانومتر است که برای محاسبه اندازه آنها از رابطه دباي - شرر استفاده شد.^{۱۶}

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

در این معادله θ زاویه پراش و β پهنای کل در نیمه قله پراش مورد

سیستم‌های دارو رسانی هدفمند و گرمادرمانی و باکتری کشی و در پردازش و بسته‌بندی مواد غذایی، دستگاه‌های زیست‌پزشکی و ضد عفونی آب کاربرد دارند. نانوذرات فریت کبالت به دلیل سهولت در سنتز و داشتن خاصیت الکترومغناطیسی خوبی که در رهاسازی دارو و نیز کنترل آن در بیرون بدن با یک میدان مغناطیسی دارد؛ مورد استفاده قرار می‌گیرند. خاصیت الکترومغناطیسی آن نیز در تحریک عصب‌زایی موثر است.^۸ نانوذرات فریت کبالت مواد مغناطیسی مقرون به صرفه‌ای هستند که در محیط‌های متنوع، پایدار و شکلی بلوری دارند.^{۹،۱۰} این نانوذرات از نظر خصوصیات نوری، مغناطیسی و الکترونیکی از اهمیت زیادی برخوردارند.^{۱۱} همچنین نانوذرات فریت کبالت به دلیل خواص شیمیایی و مغناطیسی و روش‌های سنتز آسان گزینه بسیار مناسبی برای استفاده در سیستم‌های بیولوژیکی محسوب می‌شوند. با این حال استفاده گسترده از نانوذرات فریت کبالت، ممکن است منجر به نفوذ ناخالصی‌ها در بدن انسان از طریق بلع و استنشاق شوند و در صورت تزریق به بدن انسان در طولانی مدت ممکن است باعث ایجاد استرس اکسیداتیو، سمیت سلولی، اختلال ژنتیکی، التهاب، آپوپتوز و ناهنجاری‌های رشدی، متابولیکی و هورمونی شوند.^{۱۲} علیرغم ویژگی‌های زیستی و کاربردهای فراوان نانوذرات فریت کبالت، این نانوذرات بدون پوشش به اکسیداسیون حساسند و ممکن است در شرایط بدن، متفاوت رفتار کنند. زیرا خون یک محیط ناهمگن بسیار یونیزه است. بنابراین هنگامی که نانوذرات مغناطیسی وارد جریان خون می‌شوند؛ می‌توانند بهم بچسبند و یا با پروتئین‌های پلاسما، مواد بین سلولی و سلول‌هایی که هدف تحویل آنها نیست؛ واکنش نشان دهند.^{۱۳}

استفاده از روش سنتز سبز با استفاده از ترکیبات بیولوژیکی در سال‌های اخیر مورد توجه محققان قرار گرفته است. روش سنتز سبز برای تولید نانوداروها دارای عوارض جانبی کمتر، مقرون به صرفه و سازگار با محیط است. سماق درختچه‌ای است که میوه آن دارای ترکیبات مختلفی مانند فلاونوئیدها، تانن، آنتوسیانین و کوئرستین است و به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت، قلب - عروق، کاهش چربی و قندخون استفاده می‌شود.^{۱۴} برای افزایش پراکندگی و پایداری حرارتی و زیست‌سازگاری بیشتر، پوشش‌دهی نانوذرات انجام می‌شود. به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی و اثرات مثبت در ترمیم زخم و کاهش التهاب و خاصیت ضد درد از سماق برای پوشش نانوذره فریت کبالت استفاده شده است. سماق یک منبع بالقوه برای ترکیبات طبیعی و بی‌خطر با اثر ضد درد است. داروی ضد درد موثر با عوارض جانبی کمتر، همیشه در پزشکی یک چالش جدی بوده است. عصاره سماق حاوی محتوی فنلی و فلاونوئیدی بالایی است که اثر ضد التهابی مناسبی با مهار تولید اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) و تولید



شکل ۱: نانوذرات فریت کبالت پوشش داده شده با سماق. (A. تصویر TEM و B) تصویر SEM

به منظور جلوگیری از چروکیدگی و خراب شدن ساختار قطعات، فرایند آبگیری توسط اتانول صورت گرفت و برای رنگ آمیزی، قالب گیری شدند. سپس برش های بافتی نازک توسط دستگاه میکروتوم، به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. در ادامه توسط زایلین مرحله پارافین زدایی مقاطع بافتی و توسط اتانول آبگیری مقاطع صورت گرفت. سپس با رنگ همتاکسیلین-انوزین نمونه ها رنگ آمیزی شدند. در نهایت برای مطالعات میکروسکوپی و برای ارزیابی مقاطع، میکروسکوپ نوری زیستی «صا ایران» مدل BM-180N، میکروسکوپ های الکترونی SEM (مدل VEGA3 ساخت شرکت TESCAN کشور جمهوری چک) و TEM (مدل Philips EM208S 100KV ساخت کشور هلند) مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی تغییرات در شکل ظاهری سلول، اندازه، رنگ و میزان سینتوپلاسم، رنگ و شکل هسته، تغییرات نکروتیک (درجات مرگ سلولی)، تصاویر تمامی لام ها تهیه شد.

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-16 و با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه در سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شدند.

یافته ها

تصویر TEM نانوذرات فریت کبالت پوشیده شده با سماق در شکل یک-A نشان داده شده است. نانوذرات ابعادی کوچک تر از ۵۰ نانومتر دارند. همچنین با توجه به خاصیت مغناطیسی نانوذرات، در بخش هایی از نمونه تراکم ذرات بیشتر از سایر نواحی است. از سوی دیگر نواحی روشنی اطراف نانوذرات مشاهده می گردد که نشان دهنده پوشش دهی سماق روی سطح نانوذرات است. با توجه به شکل، مشخص شد که ذرات تشکیل شده، دارای توزیع اندازه تقریباً یکنواختی هستند.

تصویر SEM نمونه فریت کبالت پوشیده شده با سماق در شکل یک-B آمده است. در این شکل قسمت های روشن تر حاوی

اندازه بلورک ها و طول موج اشعه X نیز به ترتیب با d و λ نمایش داده شده است. نمونه فریت کبالت بدون پوشش دارای ثابت شبکه ۸/۳۹۱ آنگستروم و نمونه پوشش داده شده با سماق دارای ثابت شبکه ۸/۳۵۷ آنگستروم است.

حیوانات به سه گروه ۱۰ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه کنترل: دریافت کننده سالین.

گروه تجربی اول: دریافت کننده نانوذرات فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت یک هفته.

گروه تجربی دوم: دریافت کننده نانوذرات فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت یک هفته.

تمام تزریقات در ساعت ۹-۱۱ صبح انجام شد. پس از یک هفته تزریق نانوذرات، نمونه های خونی جمع آوری شدند. حیوانات با کتامین - زایلانین بیهوش شدند. به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن ۰/۲ میلی لیتر از مخلوط کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلانین (۳ mg/kg) استفاده شد. پس از بیهوش کردن موش های صحرایی نمونه برداری بافتی از کبد، طحال و کلیه انجام شد.

نمونه های سرمی با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه جداسازی شدند. میانگین غلظت سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، کراتینین و اوره با استفاده از کیت های تشخیص طبی شرکت پارس آزمون ایران، ویژه هر یک از این آنزیم ها و ترکیبات تعیین گردید. برای اندازه گیری آنزیم های کبدی از روش فوتومتریک استفاده شد. برای اندازه گیری کراتینین آزمایش به روش کالریمتری بدون حذف پروتئین ها، براساس روش JAFFE انجام شد. برای اندازه گیری اوره آزمایش به روش Urease - GLDH انجام شد.

برای تهیه برش بافتی، نمونه ها در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند.

سماق و نانوذرات پوشیده شده با سماق در شکل ۳ آمده است. بیشتر باندهای جذبی مشخص شده در طیف سماق، مربوط به ساختارهای فلاوونوئیدها و تانن‌ها است. باند جذبی ایجاد شده در 3397 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند H-O است. ارتعاش پیوندهای هیدروکربنی CH- و CH_2 - نیز منجر به ایجاد باند جذبی در 2934 cm^{-1} گردید.

باند ارتعاشی ایجاد شده ناشی از پیوند گروه کربونیل C=O در 1652 cm^{-1} مشاهده شد. در خصوص طیف مربوط به نانوذرات فریت کبالت پوشیده شده با سماق می‌توان به چند باند جذبی مهم در 1624 cm^{-1} و 601 cm^{-1} اشاره نمود که مربوط به ارتعاشات پیوندهای یون‌های فلزی با اکسیژن در Fe-O و Co-O در جایگاه‌های ساختار اسپینلی است. از سوی دیگر باند ارتعاشی مربوط به گروه کربونیل در نمونه هسته-پوسته به فرکانس‌های پایین‌تر انتقال یافته و باندهای ارتعاشی ناشی از پیوندهای هیدروکربنی نیز قابل مشاهده است که این مسأله وجود پوسته سماق بر سطح نانوذرات را تایید نمود.

در بررسی مورفولوژیک یک هفته پس از تیمار، در دو گروه تجربی نسبت به گروه کنترل هیچ تغییری در اندازه و شکل بافت‌های کبد، طحال و کلیه مشاهده نشد و اندازه و شکل اندام‌ها طبیعی بودند. همچنین در بررسی هیستولوژیکی کلیه، کبد و طحال گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل تصاویر بافتی یکسانی مشاهده شد و ساختار سلولی نرمال بودند و در اندازه سلول‌ها و عروق خونی نسبت به گروه کنترل تفاوتی مشاهده نشد (شکل‌های ۴ و ۵).

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش‌های بیوشیمیایی در نمونه‌های مورد بررسی گروه‌های تجربی میزان اوره خون، آنزیم‌های ALT و AST و سطح کراتینین در مقایسه با گروه کنترل، هیچگونه تغییر آماری معنی‌داری یافت نشد (جدول یک).

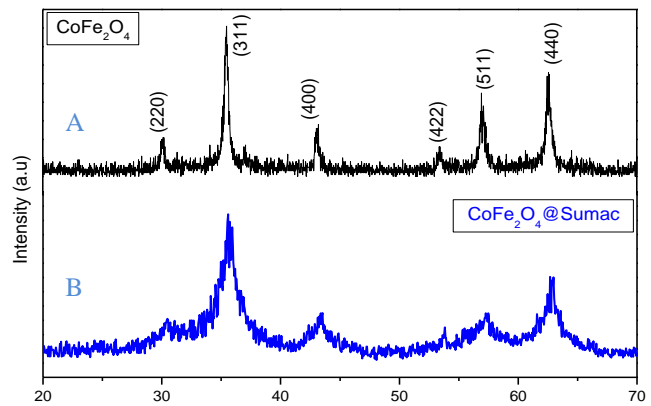
بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، نانوذره فریت کبالت سنتز شده با سماق بر بافت‌های کبد، طحال و کلیه اثر سمی نشان نداد و اختلالی نیز در فاکتورهای خونی ایجاد نکرد.

عصاره سماق حاوی ترکیبات فلاونوئیدی بالایی است. بنابراین پتانسیل ضد التهابی قوی بر سلول‌ها از طریق مهار تولید الکترون‌های آزاد و مهار تولید اکسید نیتریک (NO) دارد. همچنین به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی، اثرات مثبت در ترمیم زخم، کاهش التهاب و خاصیت ضد درد از سماق برای پوشش نانوذره فریت کبالت استفاده شد. ^{۱۵ و ۱۸} لذا این احتمال وجود دارد که نانوذرات فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق با کاهش فاکتورهای التهابی و کاهش استرس اکسیداتیو به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی مانع از آسیب به بافت‌های بدن شده باشد.

در مطالعه Abudayyak و همکاران سمیت نانوذرات فریت کبالت

نانوذراتی کوچک‌تر با اندازه‌ای کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. مورفولوژی این بخش‌های متراکم، کروی و توزیع اندازه آنها تقریباً یکنواخت است. سایر نواحی شامل توزیع همگنی از نانوذرات است.

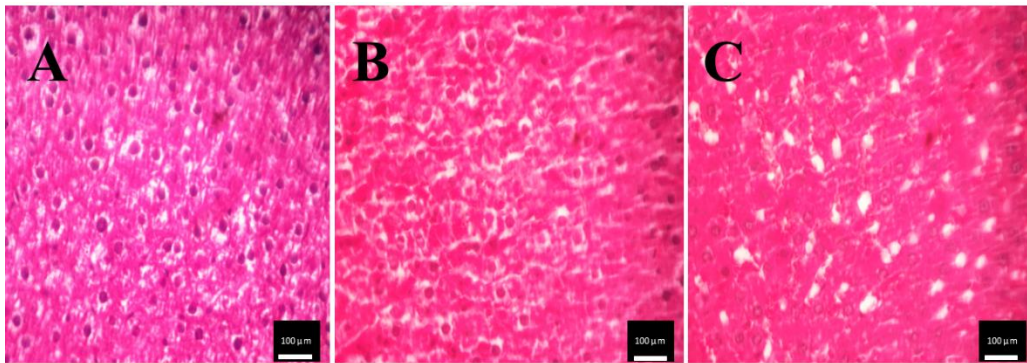


شکل ۲: (A) طرح پراش XRD نانوذرات فریت کبالت (CoFe₂O₄), (B) فریت کبالت پوشش داده شده با سماق، (C) الگوی استاندارد XRD فریت کبالت.

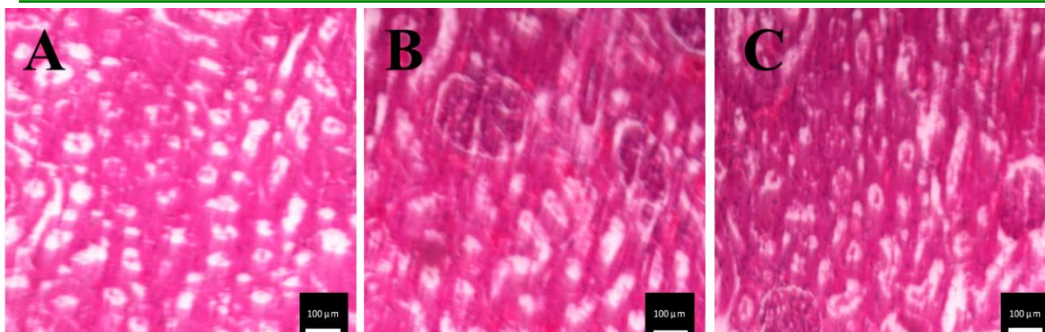
شکل ۳: طیف FT-IR سماق و نمونه فریت کبالت پوشش داده شده با سماق.

طرح پراش اشعه ایکس نانوذرات فریت کبالت، فریت کبالت پوشیده شده با سماق و الگوی استاندارد XRD فریت کبالت code: ۱۰۸۶-۰۲۲-۰۰ در شکل ۲ مشاهده می‌گردد. قله‌های پراش ایجاد شده در راستای صفحات بلوری ۲۲۰، ۳۱۱، ۴۰۰، ۵۱۱ و ۴۴۰ تشکیل ساختار مکعبی را تایید می‌کنند و با الگوی استاندارد پراش فریت کبالت مطابقت دارند. پهن‌شدگی ایجاد شده در محل پیک‌های پراش، نشان‌دهنده کاهش اندازه نانوذرات فراوری شده است.

برهمکنش بین پوشش سماق و سطح نانوذرات، طیف FT-IR



شکل ۴: تصویر بافت شناسی کبد. (A) گروه کنترل، (B) گروه دریافت کننده نانوذره فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق (دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) (C) گروه دریافت کننده نانوذره فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق (دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)



شکل ۵: تصویر بافت شناسی کلیه. (A) گروه کنترل، (B) گروه دریافت کننده نانوذره فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق (دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) (C) گروه دریافت کننده نانوذره فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق (دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار غلظت سرمی اوره، ALT، AST و کراتینین در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	کراتینین	ALT	AST	اوره
کنترل	۰/۰۴±۰/۵۱	۱۱/۵±۷۱/۷۵	۲۶/۲±۱۶۲	۲/۹±۵۱/۵
تجربی اول	۰/۳۷±۰/۵۲	۱۰/۴±۸۵/۲	۱۳/۰۳±۱۸۴	۶/۸±۶۴
تجربی دوم	۰/۰۳±۰/۵۸	۱۲/۳±۹۵	۱۴/۳۳±۱۸۱	۳/۴±۴۴

گروه تجربی اول و دوم به ترتیب دریافت کننده نانوذره فریت کبالت سنتز شده با عصاره سماق در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم؛ ALT: آلانین آمینوترانسفراز، AST: آسپارات آمینوترانسفراز.

سطح گلوتاتیون (GSH) و بدون تغییر در سطح پروتئین کربونیل (PC)، آسیب DNA و آسیب اکسیداتیو را القا کردند. نانوذرات CoFe_2O_4 دارای اثر آپوپتوز در سلول‌های HepG2 و Caco-2 به صورت وابسته به غلظت و اثرات نکروزه بر سلول‌های SH-SY5Y و A549 بودند. در نتیجه، اثرات نامطلوب وابسته به غلظت نانوذرات فریت کبالت، نگرانی‌هایی را در محصولات مصرفی می‌تواند ایجاد کند.^{۲۰}

مطالعات زیستی، شاخص‌های بیوشیمیایی، ارزیابی‌های آسیب‌شناسی، عوامل التهابی، اکسیداسیون و سطح آنتی‌اکسیدانی و آزمایش سمیت سلولی برای ارزیابی سمیت ناشی از نانوذرات فریت کبالت در موش‌های صحرایی انجام شده است که نشان می‌دهد نانوذرات فریت کبالت نسبت به نانوذرات سنتز شده با عصاره‌های گیاهی سمیت بیشتری دارند.^{۲۱} یکی از مهم‌ترین عوامل سمیت نانوذرات مغناطیسی، غلظت آنها است. نانوذرات مگنتیت با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بدون پوشش و روکش با دکستران، باعث

بر روی سلول‌های NRK-52E کلیه ارزیابی و سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در معرض نانوذرات قرار گرفتند. نتایج نشان داد نانوذرات در غلظت‌های بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بر روی زنده ماندن سلول تأثیر نمی‌گذارند؛ اما به‌طور قابل توجهی در غلظت ≥ 1000 میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث آسیب DNA می‌شوند. همچنین هیچ اثر آپوپتوز یا نکروز در سلول‌های در معرض نانوذره مشاهده نشد.^{۱۹} در پژوهشی دیگر Abudayyak و همکاران اثرات سمی نانوذرات فریت کبالت روی سلول‌های کبد (HepG2)، کولون (Caco-2)، ریه (A549) و سلول‌های عصبی (SHSY5Y) با استفاده از سمیت سلولی، سمیت ژنی، آسیب اکسیداتیو و القای آپوپتوز را بررسی نمودند. پس از ۲۴ ساعت، نانوذرات با غلظت ≥ 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر، زنده‌مانی سلولی را کاهش دادند. در حالی که زنده‌مانی را در غلظت بیش از ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر افزایش دادند. نانوذرات فریت کبالت، با افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ۸-هیدروکسی دئوکسی گوانوزین (8-OHdG)، کاهش

کیلوگرم) با عملکرد کبد، کلیه، قلب و مغز تداخل ایجاد نمی‌کنند.^{۲۴} یک پوشش مناسب برای نانوذرات می‌تواند آنها را از تخریب محافظت کرده و خواص مغناطیسی و یکپارچگی آنها حفظ شود. بنابراین برای افزایش پراکندگی، پایداری حرارتی و زیست سازگاری بیشتر، پوشش‌دهی نانوذرات انجام می‌شود.^{۲۵}

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم بیان زن به دلیل محدودیت در امکانات آزمایشگاهی اشاره نمود. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی اندازه‌گیری وزن ارگان‌های مورد مطالعه نیز انجام شود. همچنین در مطالعات آتی، رویکرد استفاده از نانوذرات مغناطیسی فریت کبالت پوشیده شده با سماق به عنوان یک استراتژی مفید درمانی استفاده گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذره فریت کبالت پوشیده شده با سماق، اختلالی بر بافت‌های کبدی، طحال و کلیه موش صحرایی به لحاظ مورفولوژیکی و هیستولوژیکی ایجاد نکرد. همچنین تفاوت آماری معنی‌داری در میزان فاکتورهای خونی اوره، کراتینین، ALT و AST به خصوص در دوز پایین مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه آقای مرضی قاسمی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری از دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی بود و با حمایت مالی دانشگاه محقق اردبیلی به انجام رسید. بدین‌وسیله نویسندگان از حمایت مالی دانشگاه محقق اردبیلی تشکر می‌نمایند. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

- Chung EJ, Leon L, Rinaldi C. Nanoparticles for Biomedical Applications. *Fundamental Concepts, Biological Interactions and Clinical Applications*. 1st ed. 2019; pp: 1-4. doi: 10.1016/B978-0-12-816662-8.00001-1.
- Waldron RD. Infrared spectra of ferrites. *Phys Rev*. 1955 Sep; 99(6): 1727. doi: 10.1103/PhysRev.99.1727.
- Solanki A, Kim JD, Lee KB. Nanotechnology for regenerative medicine: nanomaterials for stem cell imaging. *Nanomedicine (Lond)*. 2008 Aug; 3(4): 567-78. doi: 10.2217/17435889.3.4.567.
- Zheng K, Balasubramanian P, Paterson TE, Stein R, MacNeil S, Fiorilli S, et al. Ag modified mesoporous bioactive glass nanoparticles for enhanced antibacterial activity in 3D infected skin model. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 Oct; 103: 109764. doi: 10.1016/j.msec.2019.109764.
- Mady MF, Kelland MA. Review of Nanotechnology Impacts on Oilfield Scale Management. *ACS Appl Nano Mater*. 2020, 3(8): 7343-64.
- Kefeni KK, Msagati TAM, Nkambule TT, Mamba BB. Spinel ferrite nanoparticles and nanocomposites for biomedical applications and their toxicity. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020 Feb; 107: 110314. doi: 10.1016/j.msec.2019.110314.
- Oroojalian F, Charbgo F, Hashemi M, Amani A, Yazdian-Robati R, Mokhtarzadeh A, et al. Recent advances in

مرگ سلولی و کاهش تکثیر فیروبلاست‌ها می‌شود.^{۱۳} اگرچه برای نانومواد مزایای متعددی ارائه شده است؛ اما هنوز عوامل بسیاری از نظر سمیت وجود دارد که ناشناخته است و مطالعات بیشتری لازم است تا ایمنی چنین رویکردهایی نشان داده شود. اخیراً تجزیه و تحلیل گسترده‌ای در مورد اثرات مضر نانو مواد بر سلامتی از جمله تنش‌های اکسیداتیو، افزایش التهاب، اختلال ژنی و تغییرات اپی‌ژنتیکی ارائه شده است.^{۲۲} نانوذرات ممکن است در اندام‌های مختلف بدن جذب و ذخیره شده و باعث ایجاد عوارض حاد شوند. بنابراین، توصیه می‌شود از نانوذرات مغناطیسی فقط پس از پوشش مناسب برای هرگونه تداخل پزشکی استفاده شود.^۶

همچنین نکته جالب توجه این است که از سمیت ذاتی کبالت برای درمان تومور استفاده می‌شود. نانوذرات فریت کبالت مکعبی شکل، به عنوان عوامل گرما درمانی مغناطیسی عمل کرده و امکان دستیابی به اثرات حرارتی و سمیت سلولی را نیز فراهم می‌کنند. علاوه بر این نانوذرات فریت کبالت توانایی منحصر به فردی برای تشکیل زنجیره، تحت تاثیر میدان مغناطیسی متناوب خارجی دارند. این تشکیل زنجیره، همراه با گرما درمانی خفیف و سمیت ذاتی کبالت، منجر به تخریب کامل تومور و افزایش بقا در مدل زونگرافت موش‌های صحرایی، تحت شرایط میدان مغناطیسی اعمالی، شده است.^{۳۳}

در مطالعه‌ای برای کاهش سمیت سلولی در شرایط آزمایشگاهی، از پوشش‌دهی نانوذرات فریت کبالت با پلیمر زیست‌سازگار مانند کیتوزان (CH) مورد بررسی قرار گرفت. مشاهدات هماتولوژیکی، بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک نشان دادند که تزریق داخل وریدی نانوذرات فریت کبالت با روکش کیتوزان (تا ۲۰ میلی‌گرم بر

nanotechnology-based drug delivery systems for the kidney. *J Control Release*. 2020 May; 321: 442-62. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.02.027.

8. Amiri S, Shokrollahi H. The role of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in medical science. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013 Jan; 33(1): 1-8. doi: 10.1016/j.msec.2012.09.003.

9. Vinosha PA, Manikandan A, Preetha AC, Dinesh A, Slimani Y, Almesseire MA, et al. Review on Recent Advances of Synthesis, Magnetic Properties, and Water Treatment Applications of Cobalt Ferrite Nanoparticles and Nanocomposites. *J Supercond Nov Magn*. 2021; 34: 995-1018. doi: 10.1007/s10948-021-05854-6.

10. Bououdina SM, Manoharan C. Dependence of structure/morphology on electrical/magnetic properties of hydrothermally synthesised cobalt ferrite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2020 Jan; 493: 165703. doi: 10.1016/J.JMMM.2019.165703.

11. Khizar S, Ahmad NM, Ahmed N, Manzoor S, Hamayun MA, Naseer N, et al. Aminodextran Coated CoFe₂O₄ Nanoparticles for Combined Magnetic Resonance Imaging and Hyperthermia. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Nov; 10(11): 2182. doi: 10.3390/nano10112182.

12. Ahmad F, Zhou Y. Pitfalls and Challenges in Nanotoxicology: A Case of Cobalt Ferrite (CoFe₂O₄) Nanocomposites. *Chem Res Toxicol*. 2017 Feb; 30(2): 492-507. doi:

- 10.1021/acs.chemrestox.6b00377.
13. Ziental D, Czarczynska-Goslinska B, Mlynarczyk DT, Glowacka-Sobotta A, Stanisz B, Goslinski T, et al. Titanium Dioxide Nanoparticles: Prospects and Applications in Medicine. *Nanomaterials* (Basel). 2020 Feb; 10(2): 387. doi: 10.3390/nano10020387.
14. Raeeszadeh M, Heidari R, Khademi N. [Effect of Sumac (*Rhus coriaria* L.) Aqueous Extract on Liver Enzymes and Anxious Behavior Caused by Lead Poisoning in Rat]. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2021; 31(196): 136-42. [Article in Persian]
15. Khalil M, Bazzi A, Zeineddine D, Jomaa W, Daher A, Awada R. Repressive effect of *Rhus coriaria* L. fruit extracts on microglial cells-mediated inflammatory and oxidative stress responses. *J Ethnopharmacol*. 2021 Apr; 269: 113748. doi: 10.1016/j.jep.2020.113748.
16. Cullity BD, Stock SR. *Elements of X-ray Diffraction*. 3rd ed. Boston: Addison-Wesley Publishing. 1956.
17. Plan Sangnier A, Van de Walle AB, Curcio A, Le Borgne R, Motte L, Lalatonne Y, et al. Impact of magnetic nanoparticle surface coating on their long-term intracellular biodegradation in stem cells. *Nanoscale*. 2019 Sep; 11(35): 16488-98. doi: 10.1039/c9nr05624f.
18. Alsamri H, Athamneh K, Pintus G, Eid AH, Iratni R. Pharmacological and Antioxidant Activities of *Rhus coriaria* L. (Sumac). *Antioxidants* (Basel). 2021 Jan; 10(1): 73. doi: 10.3390/antiox10010073.
19. Abudayyak M, Altınçekiç Gürkaynak T, Özhan G. In Vitro Evaluation of the Toxicity of Cobalt Ferrite Nanoparticles in Kidney Cell. *Turk J Pharm Sci*. 2017 Aug; 14(2): 169-73. doi: 10.4274/tjps.99609.
20. Abudayyak M, Altınçekiç Gürkaynak T, Özhan G. In Vitro Toxicological Assessment of Cobalt Ferrite Nanoparticles in Several Mammalian Cell Types. *Biol Trace Elem Res*. 2017 Feb; 175(2): 458-65. doi: 10.1007/s12011-016-0803-3.
21. Zamay GS, Zamay TN, Lukyanenko KA, Kichkailo AS. Aptamers Increase Biocompatibility and Reduce the Toxicity of Magnetic Nanoparticles Used in Biomedicine. *Biomedicines*. 2020 Mar; 8(3): 59. doi: 10.3390/biomedicines8030059.
22. Akhtar S, Khan Q, Anwar S, Ali G, Maqbool M, Khan M, et al. A Comparative Study of the Toxicity of Polyethylene Glycol-Coated Cobalt Ferrite Nanospheres and Nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*. 2019 Dec; 14(1): 386. doi: 10.1186/s11671-019-3202-9.
23. Ferson ND, Uhl AM, Andrew JS. Piezoelectric and Magnetolectric Scaffolds for Tissue Regeneration and Biomedicine: A Review. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2021 Feb; 68(2): 229-41. doi: 10.1109/TUFFC.2020.3020283.
24. Balakrishnan PB, Silvestri N, Fernandez-Cabada T, Marinaro F, Fernandes S, Fiorito S, et al. Exploiting Unique Alignment of Cobalt Ferrite Nanoparticles, Mild Hyperthermia, and Controlled Intrinsic Cobalt Toxicity for Cancer Therapy. *Adv Mater*. 2020 Nov; 32(45): e2003712. doi: 10.1002/adma.202003712.
25. Shakil MS, Hasan MA, Uddin MF, Islam A, Nahar A, Das H, et al. In Vivo Toxicity Studies of Chitosan-Coated Cobalt Ferrite Nanocomplex for Its Application as MRI Contrast Dye. *ACS Appl Bio Mater*. 2020 Nov; 3(11): 7952-64. doi: 10.1021/acsabm.0c01069.