

## بررسی اثر شلاتور نانوکیتین بر توکسیکوکینتیک فلز سرب در بافت کلیه رت‌های نر نژاد ویستار

خزائی پور،<sup>۱</sup>، نمرودی، س. \*<sup>۲</sup>، تازیکی، ش. <sup>۳</sup>

دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۰۵ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۰

### خلاصه

سرب یک فلز سمی برای موجودات زنده از جمله انسان است. در سال‌های اخیر استفاده از انواع مختلف نانوذرات همچون نانوکیتین برای حذف فلز سرب از محلول‌های آبی، رواج یافته است. هدف این مطالعه بررسی اثر نانوکیتین ( $1/6 \text{ mg/kg}$ ) بر بافت کلیه و میزان جذب و حذف سرب ( $50 \text{ mg/kg}$ ) از بافت کلیه بود.

۷ گروه ۵ تایی از رت‌های ویستار (۱۸۰-۱۵۰ گرم، ۸-۱۰ هفته)، با سرب و نانوکیتین با دوزها و زمان‌های متفاوت تغذیه شدند. پس از مرگ آرام، بافت‌های کلیه و کبد جدا شده و غلظت سرب با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. همچنین بافت‌های کبد و کلیه برای رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین آماده‌سازی و سپس بوسیله میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

هیچگونه ضایعه بافتی در موش‌هایی که با نانوکیتین تغذیه شده بودند مشاهده نشد. استفاده از نانوکیتین موجب کاهش معنی‌دار غلظت سرب و همچنین ضایعات بافتی در بافت‌های کلیه گروه‌هایی که با نانوکیتین-سرب تغذیه شده بودند نسبت به گروهی که فقط با سرب تغذیه شده بودند، شد. مصرف نانوکیتین بعد از ۲ هفته موجب کاهش غلظت سرب در بافت کلیه موش‌هایی که چهار هفته با سرب تغذیه شده بودند نسبت به گروه شاهد شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که نانوکیتین بدون داشتن اثرات منفی بر بافت کلیه می‌تواند باعث کاهش جذب و همچنین حذف فلز سرب در بدن شود، لذا به نظر می‌رسد بتوان از این ماده به عنوان مکمل غذایی جهت جلوگیری از مسمومیت با سرب استفاده کرد

**واژه‌های کلیدی:** نانوکیتین، سرب، کلیه، ویستار رت

۱- دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، گلستان، ایران

۲- گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، گلستان، ایران

۳- عضو مرکز تحقیقاتی ضایعات ایسکمیک، گرگان، گلستان، ایران

\*نویسنده مسئول: namroodi@gau.ac.ir

مسمومیت با سرب از قدیمی ترین بیماریهای شغلی و محیطی در جهان است. از این فلز در تولید باتری ها و الیازهای مختلف لحیم کاری، شیشه، پلاستیک، رنگ و لوله های قدیمی اب استفاده می شود. سرب هیچ نقش مفیدی در بدن ایفا نمی کند و هیچ آستانه ایمنی برای تماس با سرب وجود ندارد. منابع سرب که وارد بدن انسان می شود شامل رنگ ها، عبارات، خاک، آب و غذا است. خصوصا خاک مناطق خاص مثلا مناطق نزدیک کارخانه ذوب آهن بسیار آلوده است. سرب غیر آلی به راحتی از طریق تنفس و دستگاه گوارش جذب میشود و سرب آلی جذب بسیار خوبی از پوست دارد. جذب عبارات سرب بصورت استنشاقی شایع ترین علت مسمومیت صنعتی با سرب است. سرب یک عنصر سمی است که حضور آن حتی در غلظت های بسیار پایین در بدن جانوران موجب اختلال در عملکرد سیستم عصبی، دستگاه گردش خون و بافت های کبد و کلیه می شود (Nassiri و همکاران، ۲۰۰۸). سرب به نحو وسیعی وارد بافتهای نرم مانند مغز استخوان، مغز، کبد، کلیه، عضله و گنادها می شود و در مرحله بعد در ماتریکس استخوانی رسوب میکند. سرب از جفت عبور می کند و سبب نوروتوکسیسیته در جنین می شود. در استخوان نیمه عمر آن به چند دهه (۲۰ سال) می رسد. اصلی ترین راه دفع سرب از طریق کلیه (ادرار) است (%۷۰) امکان دفع سرب از بدن از طریق صفرا، پوست، مو، ناخن، تعریق و شیر نیز به میزان کمتری وجود دارد (Ara و Usmani، ۲۰۱۵).

غلظت خونی ۵ میکروگرم در دسی لیتر سبب بروز عوارض عصبی و کاهش بهره هوشی در کودکان می شود. غلظت بالای ۳۰ میکروگرم در دسی لیتر خون سبب بروز تاثیرات رفتاری عصبی، تحریک پذیری، خستگی، کاهش میل جنسی، بی اشتها، اختلالات خواب، سردرد، ارتراژی و میالژی می شود (Ara و Usmani، ۲۰۱۵).

از سایر عوارض این فلز سمی می توان به سمیت تولید مثلی شامل سقط خودبخودی و کاهش بهره هوشی نوزادان و کاهش رشد فیزیکی و شناختی دوران نوزادی ارتباط دارد. سمیت گوارشی از مهمترین عوارض مسمومیت حاد با سرب است. استرس اکسیداتیو، سمیت قلبی، افزایش فشارخون از سایر عوارض این فلز سمی است. در درمان مسمومیت حاد با سرب از انواعی از شلاتورها مانند دی مرکاپرول و EDTA استفاده میشود و در مسمومیت مزمن با سرب درمانها صرفا علامتی است (Katzung و Trevor، ۲۰۲۱). با توجه به حضور غیر قابل اجتناب این

فلز در محیط و احتمال بالای ورود آن به بدن جانوران از طریق مصرف غذای آلوده به این فلز، یافتن راهی جهت جلوگیری از جذب سرب در بدن جانوران و یا حتی حذف آن از بافت های جانوران بعد از آلودگی به فلز سرب، می تواند بسیار با ارزش باشد.

شلاتورها موادی هستند که با فلزات سنگین ترکیب شده و باعث جلوگیری از اثرات منفی آنها از طریق تولید ترکیبات محلول در آب و دفع فلزات سنگین از طریق آب از بدن می شوند (Pachauri و Flora، ۲۰۱۰).

کیتین که منشاء آن پوسته سخت پوستان، پوسته برخی حشرات، دیواره سلولی قارچ ها و باکتری ها است، از فراوان ترین پلی ساکاریدها در کره خاکی است. این ماده طبیعی بعلت نامحلول بودن تاکنون مورد توجه قرار نگرفته است، اما تبدیل کیتین به نانو باعث می شود تا خواص مفید این ماده آشکار شود (Jaafarzadeh و همکاران، ۲۰۱۵).

نانوکیتین دارای سازگاری زیستی بالا، قابلیت تجدید شونده، قابلیت تخریب پذیری، خواص ضد میکروبی و به همین دلیل تاکنون کاربردهای متنوعی در صنایع مختلف از جمله داروسازی، آرایشی، صنایع غذایی، کشاورزی و محیط زیست داشته است (Rezaei و Yoosefi، ۲۰۱۴; Tan و همکاران، ۲۰۱۵; Toiserkani و Sadaghat، ۲۰۱۳).

با توجه به آلودگی روز افزون اکوسیستم ها و منابع غذایی به فلز سرب و همچنین وجود گزارشات فراوان مبنی بر آلودگی انسان ها و حیات وحش به سرب، در این مطالعه با هدف پیدا کردن شلاتوری که توانایی جلوگیری از جذب و همچنین حذف سرب را در بدن جانوران داشته و در عین حال خود نیز موجب بروز مشکلات برای انسان ها و جانوران نشود، اثر مصرف خوراکی نانوکیتین بر بافت های کلیه و همچنین میزان جذب و تجمع بافتی سرب در بافت کلیه رت های نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفت.

### مواد و روش کار

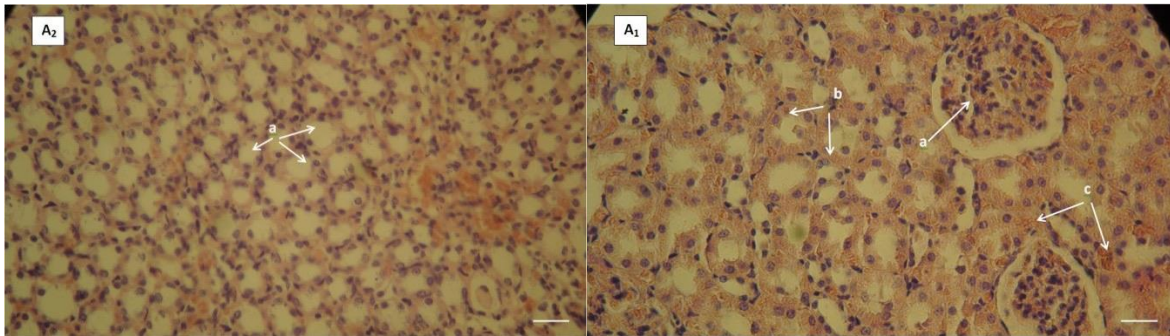
پس از ثبت و تایید مراحل آزمایش با کد ۲۵۳۳۶۲۰ از طریق کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، جهت انجام پژوهش از اسات سرب (شرکت Chem Lab، بلژیک) با غلظت ۵۰ mg/kg و نانوکیتین (شرکت دانش بنیان نانوپین پلیمر، ساری، ایران) با غلظت ۱/۶ mg/kg استفاده شد. ۳۵ سر رت نژاد ویستار با سن ۱۰-۸ هفته و محدوده وزنی ۱۵۰-۱۸۰ گرم به ۷ گروه ۵ تایی به صورت زیر:

گروه ۱: کنترل  
 گروه ۲: گاواژ با نانوکیتین به مدت ۶ هفته  
 گروه ۳: گاواژ با سرب به مدت ۶ هفته  
 گروه ۴: گاواژ با استات سرب و نانوکیتین به طور همزمان به مدت ۶ هفته  
 گروه ۵: گاواژ با استات سرب و سپس بعد از ۴ ساعت گاواژ با نانوکیتین به مدت ۶ هفته  
 گروه ۶: گاواژ با سرب به مدت ۴ هفته و سپس دو هفته گاواژ با نانوکیتین  
 گروه ۷: گروه دریافت کننده سرب به مدت چهار هفته و سپس دو هفته تغذیه با مواد غذایی سالم (کنترل ۲) تقسیم و در محیطی با درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی-گراد در طول شبانه روز و شرایط نوری به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در آزمایشگاه فارماکولوژی و توکسیکولوژی دانشگاه علوم پزشکی گلستان نگهداری شدند (Al-Attar, ۲۰۱۱). جهت تغذیه رت ها از غذای آماده مخصوص و آب آشامیدنی شهری استفاده شد. هر هفته ضمن پاکسازی قفس ها، پوشال کف تعویض می گردید.  
 پس از طی شدن دوره آزمایش، موش ها تحت بیهوشی با کتامین زایلازین قرار گرفته و پس از کالبدگشایی حیوان

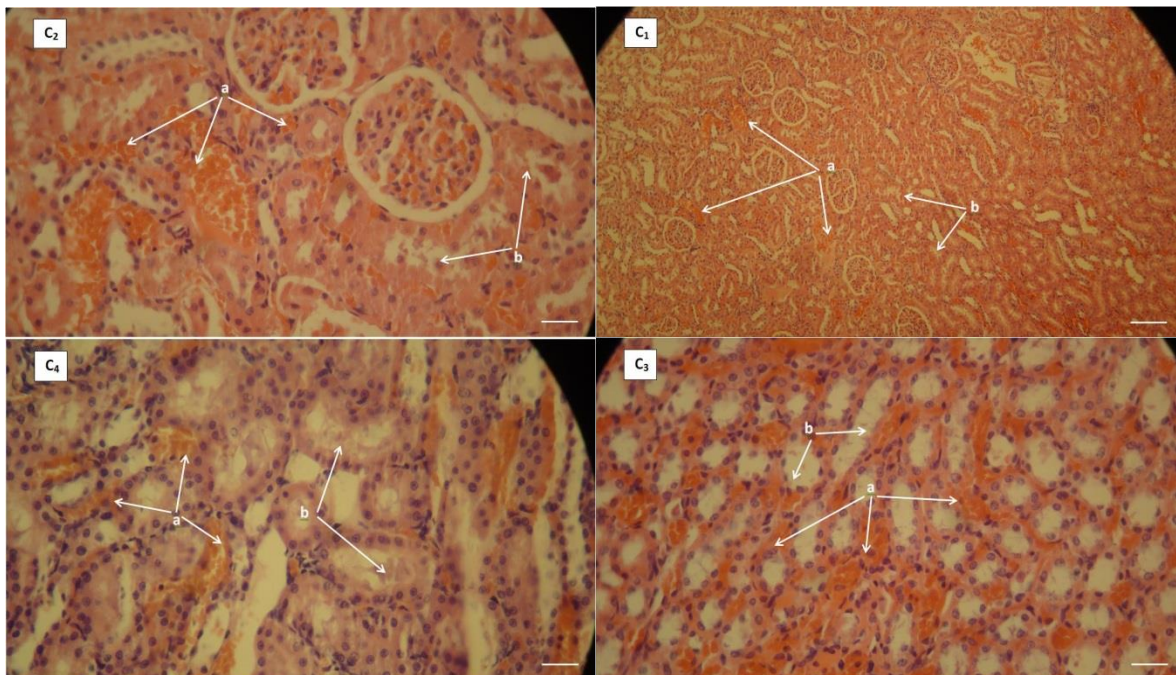
بافت کلیه جداسازی شده، ابتدا با نرمال سالین شسته و سپس در فریزر ( $-22^{\circ}\text{C}$ ) برای انجام مراحل بعدی نگهداری گردید. بخشی از بافت ها نیز جهت رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین و انجام مطالعات هیستوپاتولوژیک در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و لام های تهیه شده با روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شدند. میکروسکوپ نوری Nikon با بزرگنمایی ۴۰ جهت مشاهده لام های تهیه شده مورد استفاده قرار گرفت. از دستگاه Agilent مدل Z 240 ساخت کشور آمریکا جهت اندازه گیری غلظت سرب در بافت های مختلف استفاده شد (۱۳). نرم-افزارهای مورد استفاده در این مطالعه SPSS 19 برای تجزیه واریانس یکطرفه (Anova) و مقایسه میانگین ها (Duncan)، و Excel جهت رسم نمودارها بود. نتایج به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SD}$  گزارش شد و  $P < 0.05$  معنی-دار در نظر گرفته شد (Khazaeipour و همکاران، ۲۰۲۰).

### نتایج

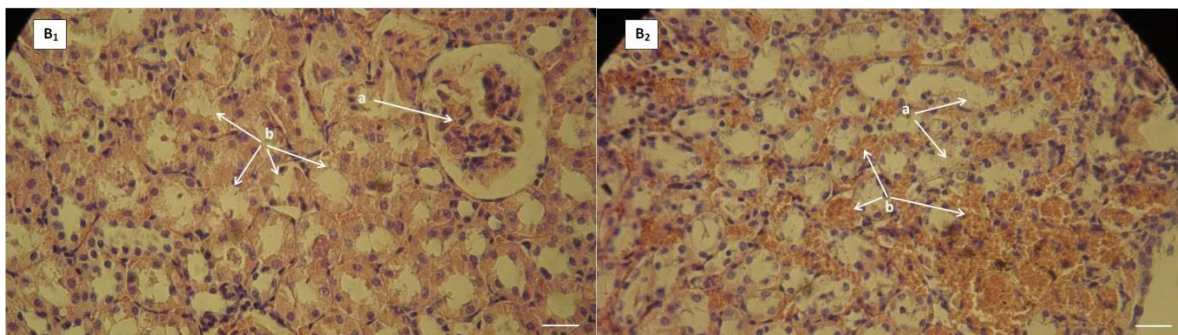
ضایعات مشاهده شده در کلیه های مورد مطالعه در عکس های تهیه شده از نمای میکروسکوپی لام ها با بزرگنمایی ۴۰ در شکل ها نشان داده شده است.



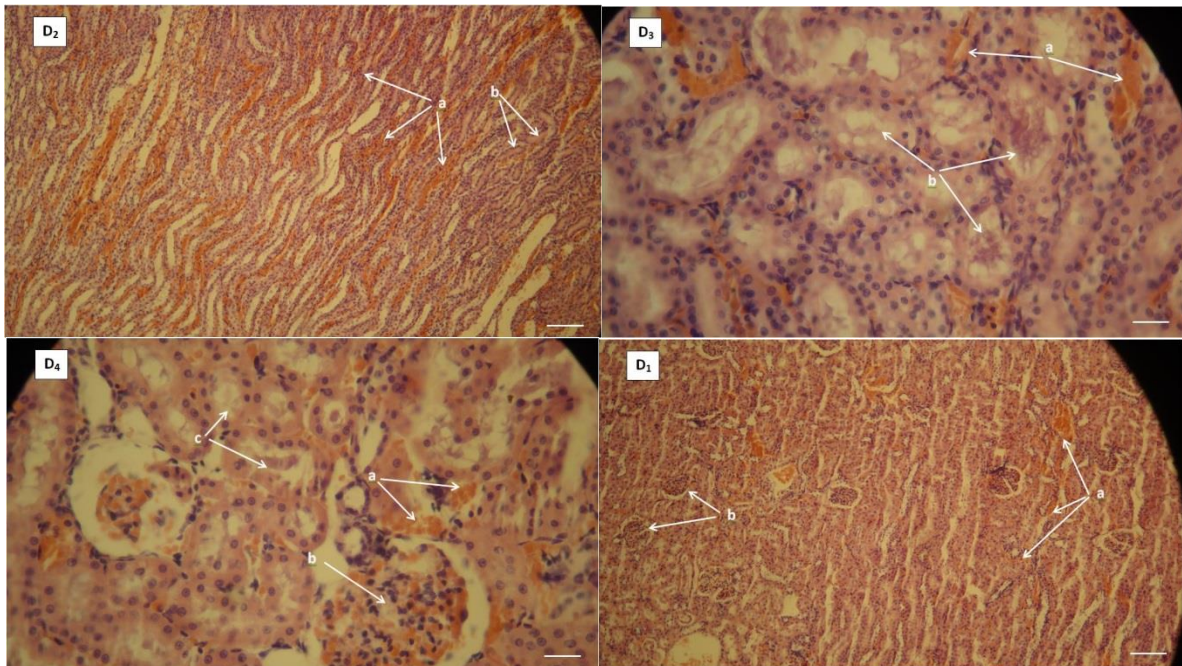
شکل ۱: عکس های تهیه شده از بافت های کلیه گروه ۱ و ۲: A1: گلومرول کلیوی نرمال (a)، توپول های کلیوی نرمال (b)، گلبول های خونی (c). A2: توپول های کلیوی نرمال (a).



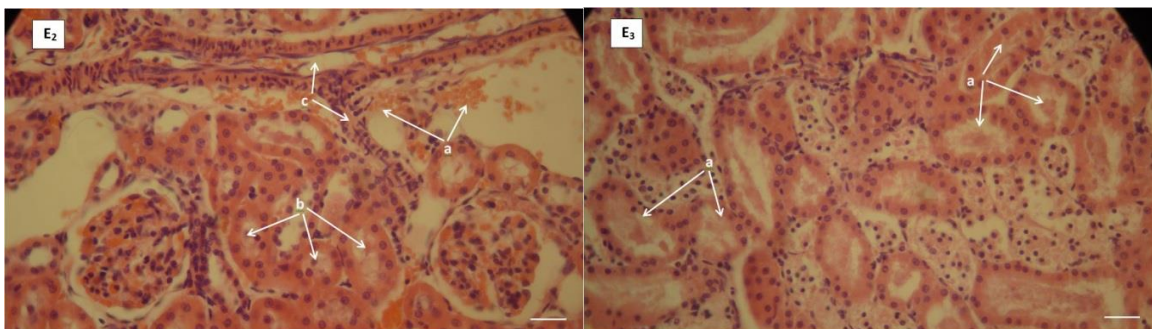
شکل ۲: عکس های تهیه شده از بافت های کلیه گروه ۳: C1: پرخونی و خونریزی (a)، دژنره شدن توپول های کلیوی (b) در ناحیه کوتکس. C2: پرخونی (a) و دژنره شدن و نکروز توپول های کلیوی در ناحیه کوتکس (b). C3: پرخونی و خونریزی گسترده (a) و دژنره شدگی مختصر (b) در توپول های کلیوی دور. C4: پرخونی (a) و تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توپول های کلیوی (b).



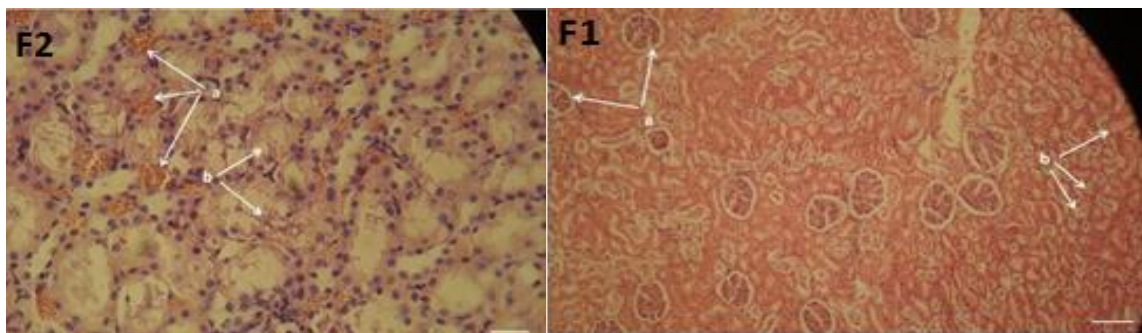
شکل ۳: عکس های تهیه شده از بافت های کلیه گروه ۴: B1: دژنره شدن گلومرول کلیوی (a)، دژنره شدن و نکروز گسترده در توپول های کلیوی ناحیه کورتکس (b). B2: دژنره شدن گسترده در توپول های کلیوی (a) و پرخونی (b).



شکل ۴: عکس های تهیه شده از بافت های کلیه گروه ۵: D1: پرخونی و احتقان در ناحیه کورتکس (a) و گلومرول های کلیوی (b). D2: پرخونی گسترده (a) و تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توبول های کلیوی دور (b). D3: پرخونی (a) و تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توبول های کلیوی نزدیک (b). D4: پرخونی ناحیه کورتکس (a)، پرخونی در گلومرول های کلیوی (b)، تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توبول های کلیوی ناحیه کورتکس کلیه (c).



شکل ۵: عکس های تهیه شده از بافت های کلیه گروه ۶: E1: گلومرول کلیوی نرمال (a)، تجمع مایعات اکسوداتیو در لومن توبول ها در ناحیه کورتکس (b). E2: پرخونی مختصر (a) تجمع مایعات اکسوداتیو در لومن توبول ها در ناحیه کورتکس (b)، توبول جمع کننده مایعات پس از گلومرول (c).



شکل ۶: عکس های تهیه شده از بافت های کلیه گروه ۷: F1) تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توبول های کلیوی نزدیک (a). F2) پرخونی (a) و تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توبول های کلیوی (b).

متوسط شدت ضایعات بافتی و متوسط غلظت سرب در بافت کلیه رت ها از گروه های مختلف در جدول شماره یک نشان داده شده است.

تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توبولها	پرخونی و خونریزی	دژنره شدن گسترده در توبولها	دژنره شدن گلومرول	متوسط غلظت سرب	نوع و شدت ضایعه گروه مورد مطالعه
۰	۰	۰	۰	۰	۱ و ۲
۶+	۶+	۶+	۶+	±۱۲/۱۸ ۰.۸/۱	۳
۴+	۴+	۴+	۴+	±۶/۹۹ ۴۳/۰	۴
۴+	۵+	۴+	۵+	۴۲/۱±۴۸/۱۰	۵
۱+	۱+	۱+	۱+	±۳/۸۸ ۶۵/۰	۶
۴+	۵+	۳+	۵+	۹/۹±۰/۹	۷

جدول شماره ۱: درجه ضایعات بافتی و متوسط غلظت سرب (µg/g) کلیه رت های مورد مطالعه

میزان تجمع سرب در گروه های مختلف مورد مطالعه در این تحقیق بطور معنی داری با یکدیگر متفاوت بود و در واقع مصرف نانوکیتین باعث کاهش غلظت سرب به میزان ۶۳/۱۱ و ۱۸/۴۷ درصد به ترتیب در گروه های ۴ و ۵ که حین تغذیه با سرب با نانوکیتین نیز تغذیه شده بودند نسبت به گروهی که فقط با سرب تغذیه شده بودند، شده بود. عکس های تهیه شده از آب در مطالعات پیشین بیانگر حذف سرب از محلول های آبی توسط گروه های هیدروکسیل و آمین نانوکیتین بوده است (Jaafarzadeh و همکاران، ۲۰۱۵؛ Marianti و همکاران، ۲۰۱۷؛ Wang و همکاران، ۲۰۱۶).

احتمالا نانوکیتین پس از وارد شدن به دستگاه گوارش رت های مورد مطالعه توانایی جذب سرب را از دست نداده و از طریق این گروه ها در دستگاه گوارش و یا پس از جذب در خون با سرب تشکیل باند داده و موجب حذف آن از بدن رت های تغذیه شده با نانوکیتین شده است. تهیه عکس های Transmission Electron Microscopy = TEM از مدفوع، خون و ادرار که به علت محدودیت های مالی در این مطالعه امکان تهیه آن نبود، احتمالا بتواند توضیح دقیقی برای نتیجه بدست آمده باشد. در مطالعات

حداکثر مقدار جذب بافتی سرب در بافت کلیه گروه های تغذیه شده با استات سرب محلول روزانه به مدت ۶ هفته، تغذیه شده با استات سرب محلول و نانوکیتین به طور همزمان طی ۶ هفته و تغذیه شده با استات سرب محلول در ابتدای روز و نانوکیتین بعد از چهار ساعت طی ۶ هفته، به ترتیب ۱۶/۲، ۸/۱ و ۱۵/۶ میکروگرم بر گرم بود. حداقل مقدار جذب بافتی سرب در بافت کلیه گروه های تغذیه شده با استات سرب محلول روزانه به مدت ۶ هفته، تغذیه شده با استات سرب محلول و ۱/۶ میلی گرم بر کیلوگرم نانوکیتین به طور همزمان طی ۶ هفته و تغذیه شده با استات سرب محلول در ابتدای روز و نانوکیتین بعد از چهار ساعت طی ۶ هفته، به ترتیب ۱۰/۰۴، ۶/۰۴ و ۷/۸ میکروگرم بر گرم بود. نتایج حاصل از آزمون دانکن نشان داد که تفاوت غلظت بافتی سرب بین نمونه های کلیه از گروه های مختلف، معنادار است ( $P < 0.05$ ).

### بحث

تجمع بافتی سرب در کلیه رت هایی که فقط با سرب تغذیه شده بودند نسبت به بقیه گروه ها بالاتر بود که این خود بیانگر اجرای صحیح روند آزمایش در این تحقیق بود.

پیشین نتایج مشابه با مطالعه اخیر از طریق مصرف خوراکی کیتین و کیتوزان که از کیتین مشتق می شود، نیز گزارش شده است.

نتایج مطالعه Yoo و همکاران (۲۰۰۸) بر میزان جذب نیکل در صورت خوراندن آن به تنهایی و همچنین خوراندن آن با مخلوط کیتوزان - کیتین - دیتیکورینات کیتوزان به موش های قهوه ای نیز همچون مطالعه اخیر بیانگر کاهش جذب بافتی نیکل در بافت کبد موش های قهوه ای در صورت مصرف نیکل با مخلوط کیتوزان - کیتین - دیتیکورینات کیتوزان بود و در نهایت این ترکیب به عنوان یک عامل بازدارنده بروز اثرات منفی نیکل بر بافت کبد معرفی شد (Yoo و همکاران، ۲۰۰۸).

Wang و همکاران (۲۰۱۶) با استفاده خوراکی از کیتوزان (۱۵ گرم بر کیلوگرم) و سرب (۱ گرم بر کیلوگرم) در رژیم غذایی موش های آزمایشگاهی، کاهش ۲۹-۲۲ درصدی غلظت سرب را در بافت های کبد و کلیه گروه های تحت درمان با کیتوزان و ترکیباتش نسبت به گروهی که تنها در معرض سرب قرار گرفته بودند، گزارش کردند (Wang و همکاران، ۲۰۱۶).

Marianti و همکاران (۲۰۱۷) نیز اثر مصرف کیتوزان (۳۲، ۶۴ و ۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم محلول در اسیداستیک دو درصد) را بر فاکتورهایی که بیانگر عملکرد بافت های کبد و کلیه بودند، در موش هایی تغذیه شده با سرب (۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) مطالعه کردند. نتایج نشان داد که کیتوزان باعث کاهش سرب و تنظیم آنزیم های کبدی و کلیوی در گروه هایی که ضمن مسمومیت با سرب با کیتوزان تغذیه شده بودند نسبت به موش هایی که فقط با سرب تغذیه شده بودند، شده بود (Marianti و همکاران، ۲۰۱۷).

نتایج مطالعه Levitskaia و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد مصرف خوراکی کیتوزان (۳۶۶-۲۸۸ میلی گرم بر کیلوگرم) که نانوکیتین در واقع از آن به دست می آید در حذف کبالت رادیواکتیو (۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی هر ۲۴ ساعت یکبار) نیز موثر است زیرا مصرف کیتوزان خوراکی باعث کاهش ۵۰ درصدی کبالت رادیواکتیو در بافت های کبد و کلیه رت هایی که با کیتوزان تغذیه شده بودند شد (Levitskaia و همکاران، ۲۰۰۹).

مصرف نانوکیتین به مدت دو هفته در رت هایی که به مدت ۴ هفته در مطالعه حاضر با سرب تغذیه شده بودند باعث کاهش غلظت سرب ( $3/88 \mu\text{g/g}$ ) در بافت کلیه رت های مورد مطالعه شد و با توجه به اینکه در گروه ۷ (شاهد) غلظت سرب ( $9/9 \mu\text{g/g}$ ) چنین کاهش یافته بود، به نظر می رسد تنها توضیح برای شرح چنین نتیجه ای باند شدن نانوکیتین جذب شده از دستگاه گوارش و موجود در خون با

سرب بافتی و شلاته کردن آن از طریق خون و حذف آن از بافت کلیه باشد (Muzzarelli و همکاران، ۲۰۰۹).

مطالعه حاضر اولین مطالعه ای بود که در آن اثر نانوکیتین بر بافت کلیه و جلوگیری از جذب بافتی و حذف بافتی سرب در کلیه رت ها بررسی شد.

مشابه با نتایج این مطالعه، نتایج مطالعه khazaeipour و همکاران (۲۰۲۰) بیانگر کاهش جذب بافتی سرب در صورت مصرف خوراکی سرب با نانوکیتین در بافت کبد رت های نژاد ویستار بود.

مطالعات مشابه با استفاده از کیتوزان و سایر شلاتورها جهت حذف فلز سرب در حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است که در اینجا به برخی از آنها جهت مقایسه با نتایج مطالعه اخیر اشاره می گردد.

ضایعاتی چون دژنره شدن گلوامرول ها در کورتکس، خونریزی و تجمع مایعات اکسیداتیو در لومن توپول های کلیوی که بر اثر آلودگی به سرب در بافت کلیه رت های مورد مطالعه مشاهده گردید در مطالعات پیشین مشابه نیز بیان گردیده است (Azarnia و همکاران، ۲۰۰۳).

نتایج مطالعه Marianti و همکاران (۲۰۱۷) بیانگر بروز آسیب های کلیوی از جمله دژنره شدن سلول ها و نکروز سلولی در رت های آلوده شده به سرب خوراکی (۱۷۵ میلی - گرم بر کیلوگرم) بود (Marianti و همکاران، ۲۰۱۷).

وجود و شدت ضایعات بافتی در گروه های مختلف رت های مورد مطالعه در این آزمایش، ارتباط تنگاتنگی با میزان غلظت سرب بافتی داشت. به طوریکه بالاترین میزان ضایعات در بافت کلیه موش هایی که تنها با سرب تغذیه شده بودند و بالاترین غلظت بافتی سرب در آنها دیده شده بود، مشاهده گردید و شدت ضایعات بافتی و غلظت سرب در رت هایی که با نانوکیتین تغذیه شده بودند نسبت به گروهی که فقط با سرب تغذیه شده بودند، پایین تر بود. لذا به نظر می رسد جلوگیری از جذب بافتی سرب توسط نانوکیتین احتمالاً باعث کاهش بروز ضایعات بافتی بر اثر مسمومیت با سرب شده باشد (Marianti و همکاران، ۲۰۱۷).

ضایعات بافتی در گروهی که پس از ۴ هفته تغذیه با سرب به مدت دو هفته با نانوکیتین تغذیه شده بودند نسبت به گروهی که بعد از ۴ هفته تغذیه با سرب به مدت دو هفته با غذای معمولی تغذیه شدند، کمتر بود. کمتر بودن ضایعات بافتی ممکن به علت کاهش غلظت بافتی سرب در گروه ۶ باشد و یا به علت توانایی ترمیم بافتی نانوکیتین باشد (Sadaghat و Toiserkani، ۲۰۱۳).

خوشبختانه استفاده از نانوکیتین با دوز  $1/6 \text{ kg}$  باعث بروز ضایعات کلیوی و کبدی در رت های مورد مطالعه نگردید. این موضوع می تواند بیانگر نقش احتمالی نانوکیتین به

عنوان شلاتوری بدون اثرات منفی بر جانوران جهت حذف و جلوگیری از جذب سرب باشد. جهت اثبات این نتیجه‌گیری نیاز به اندازه‌گیری سرب در خون و ادرار و همچنین انجام مطالعات تکمیلی بر سایر جانوران، با دوزها و دوره های مصرف متفاوت است.

### نتیجه‌گیری

همانطور که گفته شد شلاتور درمانی ایده ال ترین راه درمانی برای کاهش اثرات سمی فلزات سنگین است و شلاتورها قادرند با یون‌های فلزی باند شده و یک کمپلکس محلول در آب تشکیل دهند که به آسانی از بدن دفع می‌شوند. از مهمترین ویژگی های شلاتورها می توان به توانایی رسیدن به محل تجمع فلز در بدن - تشکیل کمپلکس پایدار با فلز - ایجاد کمپلکس غیر سمی و قابل دفع از بدن اشاره نمود اما اثرات جانبی آنها انکارناپذیر است. بنابراین انتخاب

نوع شلاتور از نظر خواص شیمیایی و فیزیکی بسیار حائز اهمیت است. کیتین و کیتوزان دارای خصوصیتی از جمله سازگاری زیستی بالا، زیست‌تخریب‌پذیری، غیرسمی بودن، چسبندگی زیستی، ضدسرطان، ضد میکروب می‌باشند. طبق نتایج این پژوهش، نانوکیتین علاوه بر اینکه می‌تواند باعث جلوگیری از تجمع فلز سرب در بافت کلیه رت‌ها شود همچنین سبب حذف آن از بافت کلیه نیز می‌گردد. برای استفاده از نانوکیتین در رژیم تغذیه‌ای جاندارانی که با سرب آلوده شده‌اند، مطالعات تکمیلی بیشتری جهت بررسی مؤثرترین و بی خطرترین دوز، اثرات سوء این شلاتور که می‌تواند ناشی از افزایش دفع فلزات ضروری بدن و بروز آسیب به بافت‌های تناسلی، عصبی و سایر دستگاه های بدن باشد، ضروری به نظر می‌رسد.





## Survey on the effect of nanochitin as a chelator on lead toxicokinetic in kidney tissues of male Wistar rats

Khazaeipour, A.<sup>1</sup>, Namroodi, S.<sup>2\*</sup>, Taziki, SH.<sup>3</sup>.

Received: 25.04.2022

Accepted: 11.08.2022

### Abstract

**Background & Purpose:** Lead is a toxic metal to living organisms, including humans. In recent years, the use of different types of nanoparticles such as nanochitin has become common for the removal of lead from aqueous solutions. This study aimed to evaluate the effect of nanochitin (1.6 mg/kg) on kidney tissue, the rate of Pb (50 mg/kg) absorption and elimination from kidney tissue.

**Materials & Methods:** Seven groups of 5 Wistar rats (180-150 g, 8-10 weeks) were fed with Pb and nano chitin with different doses and duration. After euthanasia, kidney tissues were separated and Pb concentration was measured by atomic absorption spectrometry. Kidney tissues were also prepared for hematoxylin-eosin staining and then were examined by light microscopy.

**Results:** No tissue damage was observed in nano chitin-fed rats. The use of nano chitin significantly reduced the Pb concentration as well as lesions in the tissues of all groups that were fed with nanochitin and Pb compared to the group which was fed only with Pb. Nanochitin consumption after two weeks reduced Pb concentration in the tissues of all rats fed with Pb for 4 weeks compared to the control group.

**Conclusions:** The results of this study showed that nano chitin, without having negative effects on kidney tissues, can cause the reduction of the Pb absorption and its removal from the body. Therefore, it seems that this substance can be used as a dietary supplement to prevent Pb poisoning.

**Keywords:** Nanochitin, lead, kidney, Wistar rat

1,2- Corresponding Author, Departement of Environmental Sciences, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

3-Assistant Professor, Department of Pharmacology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. 2- ischemic disorder research center, Gorgan, Golestan, Iran.

\*Corresponding author: [namroodi@gau.ac.ir](mailto:namroodi@gau.ac.ir)

**Al-Attar**, A. M. 2011. Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi journal of biological sciences*. **18**, 63-72.

**Ara**, A., and Usmani, J. A. 2015. Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary toxicology*. **8**, 55-64.

**Azarnia**, M., Shakour, A., Hemayat, K. J. V. 2010. The effect of lead acetate on tissues structure of kidney in one day old rat, Wistar species. *Scientific journal of forensic medicine*. **7**, 29-36.

**Flora**, S. J., Pachauri, V. 2010. Chelation in metal intoxication. *International journal of environmental research and public health*. **7**, 2745-2788.

**Jaafarzadeh**, N., Mengelizadeh, N., Takdastan, A., Heidari-Farsani, M., Niknam, N. 2014. Adsorption of Zn (II) from aqueous solution by using chitin extraction from crustaceous shell. *Journal of Advances in Environmental Health Research*. **2**, 110-119.

**Khazaeipour**, A., Namroodi, S., Taziki, S. 2020. Effect of nano-chitin on lead acetate absorption in liver of rats. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*. **22**, 43-52.

**Katzung**, B. G., A. J. Trevor. 2021. Basic & clinical pharmacology. EGC. **5**, 89-105 .

**Levitskaia**, T. G., Creim, J. A., Curry, T. L., Luders, T., Morris, J. E., Sinkov, S. I., Woodstock, A. D., Thrall, K. D. 2009. Investigation of chitosan for decorporation of <sup>60</sup>Co in the rat. *Health physics*. **97**, 115-124.

**Marianti**, A., Anatiara, D., Ashar, F. F. 2017. Chitosan as chelating and protective agents from lead intoxication in rat. . *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. **9**, 126-133.

**Muzzarelli**, R., Muzzarelli, C., Cosani, A., Terbojevich, M. 2009. 6-Oxychitins, novel hyaluronan-like regiospecifically carboxylated chitins. *Carbohydrate Polymers*. **39**, 361-367.

**Nassiri**, M., Khaki, A., Bazi, P., Sahizadeh, R., Sahizadeh, A. 2008. Ultra-Structure Study of Lead Acetate Cytotoxic Effects on Testis in Rabbit. *Armaghane Danesh Bimonthly Journal*. **13**, 45-53.

**Rezaei**, Z., Yoosefi, H. 2014. Applications of Nano-chitin and Nano-chitosan. *Nano Science and Technology*. **4(7)**, 76-85

**Salehi, M., Fatahian, S., Shahanipour, K.** 2017. Effect of iron oxide nanoparticles coated with chitosan on renal functional indices in rats. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences.* **19(2), 12-27.**

**Tan, T.S., Chin, H.Y., Tsai, M.L., Liu, C.L.** 2015. Structural alterations, pore generation, and deacetylation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -chitin submitted to steam explosion. *Carbohydrate polymers.* **122, 321-328.**

**Toiserkani, H., Sadaghat, F.** 2013. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications. *Journal of aquatic ecology.* **2, 26-40.**

**Wang, Z., Yan, Y., Yu, X., Li, W., Li, B., Qin, C.** 2016. Protective effects of chitosan and its water-soluble derivatives against lead-induced oxidative stress in mice. *International journal of biological macromolecules.* **83, 442-449.**

**Yoo, I.S., Choi, K.S., Ryu, M.H.** 2008. A Study on the Effect of Chitin, Chitosan and Dithiocarbamate Chitosan on the Nickel Toxicity in Rat liver. *Journal of Environmental Health Sciences.* **34, 285-291.**