

سنتز نانو حسگر رنگی هسته-پوسته ذرات مغناطیسی آهن-پالمیتیک اسید جهت تشخیص کبد چرب

۱-مریم حلوایی*، ۲- هستی خداوردی، ۳- دنیز تقی زاده، ۴-متینه جلائیان

۱- استاد راهنما halvaiy1978@gmail.com

۲- دانش آموز سمپاد cshortcake4@gmail.com

۳- دانش آموز سمپاد deniztaghizadeh4@gmail.com

۴- مشاور طرح matinehjalaeyan3@gmail.com

چکیده:

بیماری کبد چرب یا استئاتوز کبدی یکی از شایع ترین بیماری های کبد است که به دلیل تجمع چربی در کبد ایجاد می شود. شیوع این بیماری در بسیاری از نقاط جهان در حال افزایش است و حدود ۲۵ درصد از مردم را تحت تاثیر قرار می دهد. افراد مبتلا به این بیماری می بایست به طور مکرر برای بررسی بیماری شان، آزمایش دهند. روش های موجود برای تشخیص این بیماری عبارتند از: روش آزمایشگاهی، بافت شناسی و تصویر برداری. با توجه به اینکه روش های مذکور، زمان بر بوده و همچنین مقرون به صرفه نیستند، برای بیماران مناسب نبوده و موجب صرف زمان و هزینه بسیاری می شود. همچنین روش های ذکر شده، نشان دهنده ی شدت بیماری کبد چرب نیستند. در این طرح، با هدف صرفه جویی در وقت و زمان بیماران مبتلا به کبد چرب و همچنین تشخیص دقیق شدت بیماری، کیت تشخیص بیماری کبد چرب طراحی شد. آزمایش های متعددی که طراحی و انجام شد، در نهایت نشان داد که با استفاده از هسته-پوسته نانوذرات مغناطیسی آهن-پالمیتیک اسید، جذب ۸۵ درصدی اسیدهای چرب آزاد خون امکان پذیر بوده و پس از آن که رنگ نیل رد، توسط اسیدهای چرب آزاد جذب شده و جذب نمونه توسط دستگاه اسپکتوفتومتر بررسی شده ضریب همبستگی ۰.۹۷۳۶ بدست آمده که نشان دهنده ی دقت بسیار بالای کیت می باشد.

کلید واژه: اسید های چرب آزاد، کیت تشخیص، هسته پوسته، نانوذره ی مغناطیسی آهن، پالمیتیک اسید

مقدمه:

بیماری کبد چرب بیماری سلولهای کبد انسان است که اخیرا به علت افزایش میزان چاقی در جامعه ما افزایش یافته است. اهمیت این بیماری به خاطر تخریب سلول های کبدی است و در صورت عدم تشخیص زودرس و درمان مناسب میتواند منجر به بیماری پیشرفته و غیر قابل برگشت کبد به نام سیروز شود. طبق آمار مقالات به نظر می رسد بیماری کبد یکی از شایع ترین بیماری های کبد در دنیا می باشد و میزان شیوع آن در جوامع مختلف از ۲.۸ درصد تا ۲۴ درصد متفاوت است. اگرچه تاکنون در این بیماری هیچ شاخص ژنتیکی کشف نشده است، اما افزایش شیوع بیماری در بعضی خانواده ها مشاهده شده است. این بیماری شایع ترین علت افزایش آنزیم های کبدی و نیز بیماری سیروز کبدی با علت ناشناخته میباشد. مطالعات انجام شده در این زمینه در ایران محدود است. در مطالعه ای که در استان گلستان در سال ۱۳۸۵ انجام شد، میزان بیماری کبد چرب ۲ درصد در جمعیت عمومی بالاتر از ۱۸ سال گزارش شد. اگر چه میزان هپاتیت و پیروسی با توجه به همه گیری چاقی در کشورهای شرقی به خاطر افزایش بی تحرکی و روی آوردن به رژیم های غذایی پرکالری به سبک جوامع غربی، به نظر میرسد که در کشورمان شاهد این روند صعودی افزایش میزان چاقی و عوارض سوء ناشی از آن مانند افزایش میزان چربی خون، پرفشاری خون، عوارض قلبی عروقی و در گزارش وزارت بهداشت کشورمان در سال ۱۳۸۰، بیماری پیشرفته و غیرقابل برگشت کبدی یا همان سیروز عامل ۱ درصد مرگ و میر افراد بالاتر از ۱۵ سال در ایران بوده است. با توجه به اینکه کبد چرب نشانه ای از درگیری کبد در بیماری مقاومت به انسولین (سندروم متابولیک) است، مرگ و میر ناشی از آن به صورت افزایش مرگ و میر به علت عوارض قلبی عروقی است و آسیب سلول های کبدی روند بسیار کندی داشته و در صورت کنترل عوارض قلبی در انتها میتواند منجر به سیروز کبدی شود. به عبارتی دیگر به نظر میرسد که اکثر مبتلایان به کبد چرب قبل از ایجاد سیروز از عوارض قلبی و عروقی سندروم متابولیک فوت میکنند. در نتیجه توجه به بیماری کبد چرب در جوامع امروز حائز اهمیت است. از روش های تشخیص بیماری کبد چرب میتوان به روش های آزمایشگاهی، روش های تصویربرداری و روش های بافت شناسی اشاره کرد. روش آزمایشگاهی برای قشر متعدد جامعه مقرون به صرفه نمی باشد و یافته های آزمایشگاهی و بالینی نشانه شدت بیماری کبد چرب نیست. ام آی آر یکی از روش های تصویربرداری می باشد استفاده از آن جهت تشخیص بیماری کبد چرب به تدریج در حال افزایش است؛ اگرچه در حال حاضر کاربرد آن جهت تشخیص کبد چرب به دلیل گران بودن متداول نیست. همچنین هیچکدام از روش های تصویر برداری نشان دهنده شدت بیماری کبد چرب نمی باشند. بافت شناسی از روش هایی است که نیازمند تجهیزات پیشرفته می باشد و همچنین تشخیص بیماری کبد چرب از طریق بافت شناسی زمانبر است. از ایده های نوین برای تشخیص بیماری کبد چرب می توان استفاده از کیت تشخیص کبد چرب را نام برد. شایان ذکر است کیت تشخیص علاوه بر اینکه نسبت به سایر روش ها مقرون به صرفه است همچنین برای استفاده اقشار متعدد جامعه در دسترس می باشد. امیر حسین حقیقی و همکاران در مقاله ای با عنوان «مروری بر ویژگی نانوذرات اکسید آهن با پوشش های متفاوت در کاربردهای زیست پزشکی» به بررسی این موضوع پرداخته اند در این پژوهش، براساس تحقیقات و مطالعات پیشین، به مرور مزایا و معایب انواع روش های سنتز نانوذرات اکسید آهن، اصلاح سطحی نانوذرات تولید شده به کمک مواد شیمیایی مختلف، کاربردهای نانوذرات اصلاحی و نیز چالش های پیش رو به هنگام استفاده پرداخته شده است و پیشنهادات ارائه شده جهت بهبود کارایی این مواد در عرصه زیست پزشکی اعم از درون تن و برون تن، نیز بیان شده است طی مقاله ی تاثیر آنتی اکسیدانی منیزیم بر اسیدهای چرب

آزاد پلاسما در رت های دیابتی شده با آلوکسان، حسین مدنی و همکاران، اثرات متقابل آلوکسان و منیزیم بر متابولیسم چربی ها در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است. در این تحقیق، از موش های صحرایی بالغ نر به عنوان مدل آزمایشگاهی برای ایجاد دیابت استفاده شد با توجه به اهمیت بیماری کبد چرب در جوامع امروزی و دشواری و هزینه بالای آزمایش هایی مثل آزمایش میزان آنزیم های کبدی و سونوگرافی، برای افراد مبتلا به کبد چرب، ساخت کیت تشخیص بیماری کبد چرب به طوری که در مدت زمان کم و با صرفه ی اقتصادی بالا مورد استفاده قرار گیرد، می تواند برای عموم مردم مفید واقع شود.

گزارش مواد و روش ها:

از آنجایی که این پژوهش به منظور کمک به بیماران مبتلا به کبد چرب، برای تشخیص سطح پیشروی بیماری انجام شده است، روش ساخت کیت به طور کامل آورده شده است تا پژوهشگران بتوانند از آن در جهت توسعه ی طرح استفاده کرده و بهره بگیرند.

- مواد و وسایل مورد نیاز

مواد: آهن (II) کلرید، آهن (III) کلرید، پالمیتیک اسید، اسید کلریدریک، آمونیاک، آب مقطر، نیل رد و نمونه پلاسمای خون

وسایل: شیشه ساعت، ارلن، بشر، قاشقک، ترازو، همزن مغناطیسی، اسپکتوفتومتر

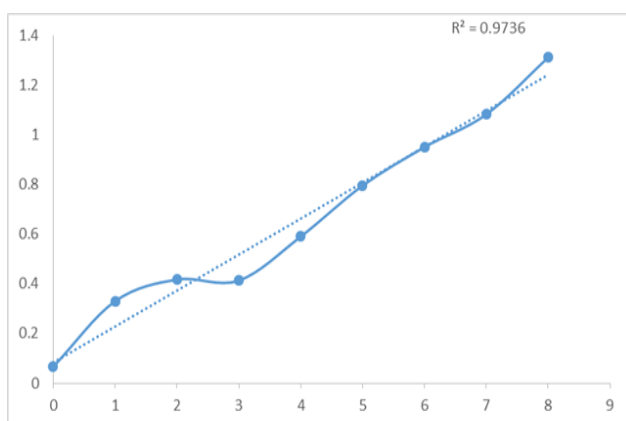
- روش انجام کار:

ابتدا ۲۷ میلی لیتر آمونیاک را به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانده تا آمونیاک ۲ مولار بدست آید. سپس ۱۶.۶۶ میلی لیتر از اسید کلریدریک ۳۷ درصد را به حجم ۲۵۰ میلی لیتر ساند تا اسید کلریدریک ۲ مولار تهیه شود. ۱۰.۸ گرم کلرید آهن III را وزن کرده و در مجاورت هوا قرار داده تا اکسید شود. همچنین ۳.۹۷ گرم کلرید آهن II را وزن کرده و آن را نیز در مجاورت هوا قرار داده تا اکسید شود. کلرید آهن III را با ۶۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و نیز ۳ گرم کلرید آهن II را با ۱۰ میلی لیتر از اسید کلریدریک ۲.۲ مولار مخلوط کرده تا محلول ها بدست آیند. محلول آماده شده را در آمونیاک ۲ مولار ریخته تا با همزن مغناطیسی به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شود. همزمان با هم زدن، محلول رفته رفته رنگ محلول سیاه می شود که این نشان دهنده ی آزاد شدن نانوذرات مغناطیسی آهن است. پودر جامد سیاه رنگ حاصل توسط قیف و کاغذ صافی جدا می گردد. برای نشان دادن پالمیتیک اسید بر روی نانوذرات مغناطیسی بدست آمده، نانوذرات در اتانول توسط همزن مغناطیسی پراکنده می شود. پالمیتیک اسید به نسبت ؟؟؟ به نانوذرات به محلول اضافه می گردد. محلول به مدت ۲ ساعت هم زده شده و در دمای مناسب قرار می گیرد تا پالمیتیک اسید به سطح نانوذرات می چسبد. نانوذرات با حلال شستشو داده می شود تا هرگونه پالمیتیک اسید چسبیده از بین برود. نانوذرات در دمای مناسب خشک می شود تا حلال اضافی تبخیر شود. سپس هسته-پوسته و رنگ هموفوب نیل رد، در آن ریخته شده و تشکیل محلول می دهند. پس از اینکه هسته پوسته و نیل رد یکدیگر را جذب کردند، پلاسمای خون تهیه شده از آزمایشگاه، به محلول اضافه می شود. سپس هسته پوسته و نیل

رد متصل به اسیدهای چرب آزاد پلاسما، توسط آهن ربا از محلول سرریز می شود. طی چند بار انجام آزمایش، با غلظت های متفاوتی از اسیدهای چرب آزاد موجود در پلاسما، غلظت رنگ موجود در محلول باقیمانده، توسط دستگاه اسپکتوفتومتر جذب و تعیین شد.

نتایج

با آزمایش چند باره جذب غلظت های متفاوت اسیدهای چرب آزاد در نمونه ی پلاسما و بررسی نمودار رهائش چربی از هسته-پوسته، می توان نتیجه گرفت که هسته-پوسته نانوذرات مغناطیسی آهن و پالمیتیک اسید نقش به سزایی در جذب کامل اسید های چرب آزاد داشته و همچنین از بررسی غلظت رنگ هموفوب ردنیل در محلول باقیمانده، نمودار رهائش چربی با ضریب همبستگی (رگرسیون) 0.9736 بدست آمده است که نشان دهنده ی دقت بالا و خطای کم استفاده از این روش در تعیین میزان اسیدهای چرب آزاد پلاسما می باشد. با استناد بر نتایج بدست آمده، استفاده از کیت تشخیص طراحی شده، می تواند روش جایگزین و مناسبی برای تشخیص بیماری کبد چرب باشد که از سایر روش ها، مقرون به صرفه تر بوده و استفاده از آن، زمان زیادی را از بیمار نمی گیرد.



Time	OD
0	0.066
1	0.33
2	0.417
3	0.413
4	0.59
5	0.795
6	0.95
7	1.082
8	1.311

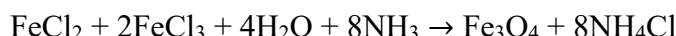
-نمودار رهائش بعد از ۴۸ ساعت و ۳ بار خوانش

با توجه به نمودار فوق، طبق آزمایش های انجام شده، ضریب همبستگی 0.9736 بدست آمده که نشان دهنده ی دقت بالا و خطای کم کیت است.

تجزیه و تحلیل:

ابتدا، همانطور که در روش کار نیز ذکر شد، نانوذرات مغناطیسی آهن به روش هم رسوبی، ترکیب مغناطیسی

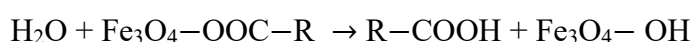
Fe_3O_4 طی واکنش زیر بدست آمد:



پس از آن، طی واکنش ذیل، نانوذرات مغناطیسی آهن با پالمیتیک اسید، تشکیل هسته -پوسته می دهند. پالمیتیک اسید

($\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$) یک اسید چرب بلند زنجیره است. گروه کربوکسیلیک این اسید می تواند با سطح نانوذرات مغناطیسی آهن،

بر هم کنش کند و با آن پیوند برقرار کند. واکنش سطحی:



طی این واکنش، نانوذرات مغناطیسی آهن آبگریز می شود.

رنگ نیل رد، رنگ آبگریز بوده است و بنابر این در محیط آبی جذب هسته-پوسته می شود. سپس وقتی پلاسما ی خون، به

محلول اضافه شود، نیل رد با اسیدهای چرب آزاد نیز وارد بر هم کنش غیر کووالانسی می شود.

با توجه به جذب اسپکتوفتومتر و نمودار رهایش چربی، ضریب ریگراسیون نزدیک به یک بدست آمده که نشان دهنده ی

دقت بالای کیت در تشخیص اسیدهای چرب آزاد پلاسما است.

نتیجه گیری:

با آزمایش چند باره جذب غلظت های متفاوت اسیدهای چرب آزاد در نمونه ی پلاسما و بررسی نمودار رهایش چربی از

هسته-پوسته، می توان نتیجه گرفت که هسته-پوسته نانوذرات مغناطیسی آهن و پالمیتیک اسید نقش به سزایی در جذب

کامل اسید های چرب آزاد داشته و همچنین از بررسی غلظت رنگ رد نیل در محلول باقیمانده، نمودار رهایش چربی با

ضریب همبستگی (رگرسیون) ۰.۹۷۳۶ بدست آمده است که نشان دهنده ی دقت بالا و خطای کم استفاده از این روش در

تعیین میزان اسیدهای چرب آزاد پلاسما می باشد. با استناد بر نتایج بدست آمده، استفاده از کیت تشخیص طراحی شده،

می تواند روش جایگزین و مناسبی برای تشخیص بیماری کبد چرب باشد که از سایر روش ها، مقرون به صرفه تر بوده و

استفاده از آن، زمان زیادی را از بیمار نمی گیرد.

منابع و مراجع:

۱. جمالی، رایکا؛ جمالی، ارسیا. مروری بر بیماری کبد چرب. فصلنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره ی چهاردهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۹، صفحات ۱۸۱-۱۶۹.
۲. گوغانیان، امیرمحمد؛ ارسلانی محمد. اصلاح سطحی نانوذرات مغناطیسی با پلیمرهای زیست سازگار به منظور به کارگیری آنها در سیستم های بیولوژیکی. گروه شیمی آلی و بیوشیمی، دانشکده ی شیمی، دانشگاه تبریز. دنیای نانو، سال دهم (۱۳۹۳)، شماره ۳۴.
۳. یلداگرد، مریم؛ جهانشاهی، محسن؛ احمدپور، علی. نانوذرات مغناطیسی: بخش اول: خواص نانوذرات مغناطیسی و سنتز آنها. فصلنامه ی انجمن نانوفناوری ایران، شماره ۲۸، سال هشتم، پاییز ۱۳۹۱.
۴. شیرازی، زاده، ملینا؛ واعظی، زهرا. نانو ذره مغناطیسی با روکش پلی پیروول جاذب موثر برای جذب هموگلوبین. پنجمین کنگره ملی شیمی و نانو شیمی از پژوهش تا توسعه ملی.
۵. حقیقی، امیرحسین؛ طاهری نژاد طبیبی، سارا؛ بابایی، زهرا. مروری بر ویژگی نانو ذرات اکسید آهن با پوشش های متفاوت در کاربرد های پزشکی. دنیای نانو، سال هجدهم (۱۴۰۱)، شماره ۶۶.
۶. اثنا عشری ایوری، حسین؛ عربی، هادی. سنتز نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن به روش هم رسوبی و بررسی تاثیر نسبت غلظت مواد واکنش دهنده بر اندازه و خواص مغناطیسی ذرات. مجله ی علم و مهندسی سرامیک، جلد ۲، شماره ی ۱، بهار ۱۳۹۲.
۷. هدایتی، کامبیز؛ شعبانیانف میثم؛ رحیمی، نسیم؛ مقنیان، حسن. سنتز و شناسایی ساختاری نانوذرات هسته-پوسته مگنتیت-سیلیکا عامل دار شده به وسیله ی گروه ایمیدی. مجله ی نانو مقیاس سال سوم، شماره ی اول، بهار ۱۳۹۵.
۸. فیروززای، محسن؛ قهرمان پور، فرانک؛ کرانی، محسن؛ حیدری، ایرج. بررسی مقایسه ای اسیدهای چرب اشباع و ترانس و سپس در بافت چربی و سرم بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ مراجعه کننده به انستیتو غدد داخلی و متابولیسم دانشگاه ایران. دوره ۱۴، شماره ۵۴، بهار ۱۳۸۶.
9. Afraz Ahmad Raja, Abdullah Dandare, Muhammad Jawad Khan, Muhammad Jadoon Khan, "Free fatty acid overload targets Mitochondria: Gene expression analysis of Palmitic acid-treated endothelial cells". Genes journal, ۲۰۲۲, ۱۰:۳۳۹.
10. Adeeb Hayyan and Wan Jefray Basirun, "New route for preparing palmitic acid imidazole from free fatty acid using imidazole", Catalysis Communications, ۱۸۳ (۲۰۲۳) ۱۰۶۷۴۹.