

ناشی از تزریق، یک سی‌سی آب مقطر به هریک از آن‌ها تزریق شد. **گروه‌های تجربی:** ۴ گروه تجربی تیمار شونده با نانوذرات نقره به ترتیب دریافت کننده مقدار یک سی‌سی نانو نقره با غلظت‌های 50، 100، 200، 400 ppm بودند. به طوری که به هر رت، یک سی‌سی نانونقره روزی یک بار در پنج روز متوالی به صورت داخل صفاقی تزریق شد. سپس سه، هشت و دوازده روز پس از آخرین تزریق، خون‌گیری از گوشه داخلی چشم انجام شد. نمونه‌های خون به وسیله دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت بیست دقیقه سانتریفیوژ شد و سرم آن‌ها جدا گردید.

سنجش فعالیت آنزیم: سرم جدا شده، با رعایت اصول رنگ سنجی جهت سنجش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز مورد بررسی قرار گرفت. دستگاه اسپکتروفتومتر جهت این سنجش استفاده شد و طول موج مورد استفاده ۳۴۰ نانومتر بود. جذب نوری به دست آمده نشان دهنده فعالیت آنزیمی است.

سنجش‌های بافت شناسی: در پایان دوره خون‌گیری، از بافت عضله قلب رت‌ها نمونه بافتی جدا گردید و در فرمالین ۱۰٪ فیکس شد. سپس نمونه‌ها در غلظت‌های کاهش یابنده از الکل قرار گرفت تا آب‌گیری از بافت‌ها انجام شود. پس از طی مراحل پاساژ بافت و برش با میکروتوم، نمونه‌های حاصل بر روی لام قرار گرفته و جهت بررسی با هماتوکسیلین-آئوزین رنگ آمیزی شدند. در این روش مواد اسیدی مثل هسته با آئوزین و مواد بازی مثل سیتوپلاسم با هماتوکسیلین رنگ می‌گیرند.

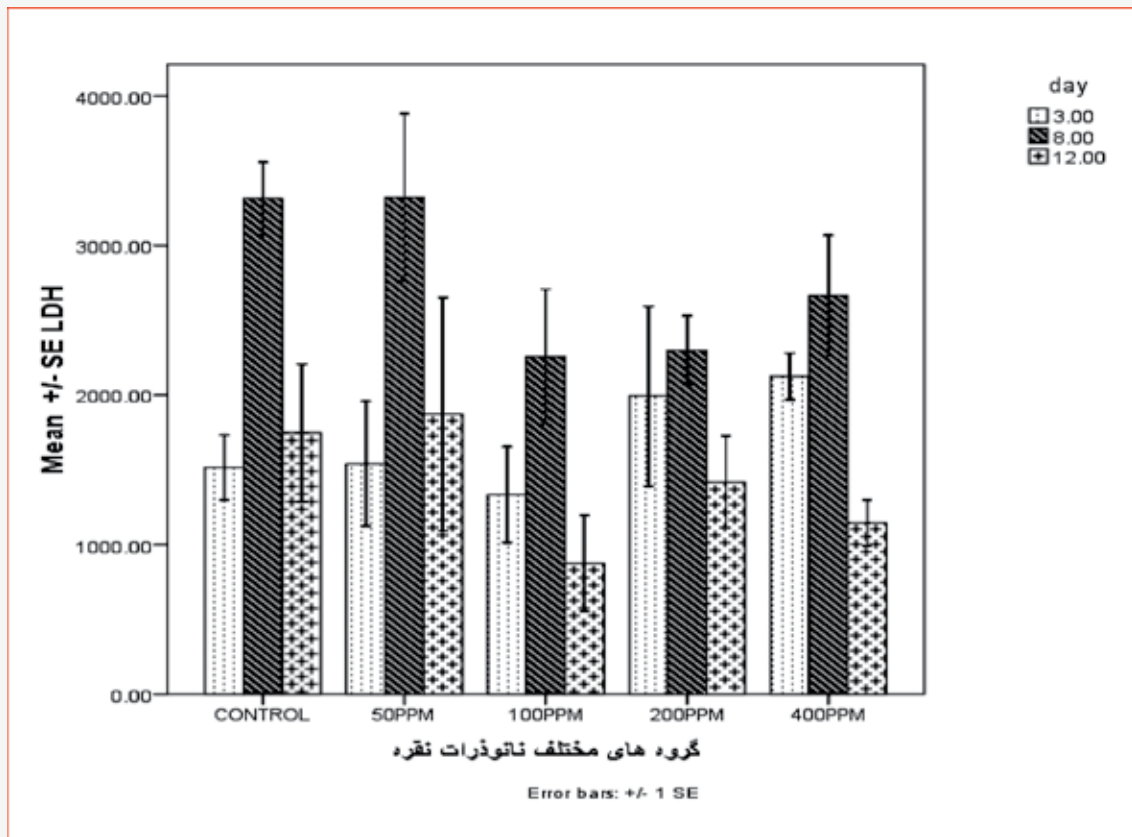
تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های به‌دست آمده برای هر گروه در

اکسیژن دارد (۹). در موارد انفارکتوس قلب و کلیه، سطح سرمی LDH افزایش می‌یابد. این آنزیم همچنین در پیش آگهی لوسمی و سرطان کولون نقش مهمی دارد (۸). با توجه به کاربرد وسیع نانوذرات نقره در کشور ما و عدم مطالعه دقیق فیزیولوژیک این نانوذرات بر تغییر فعالیت آنزیم‌های بدن، در این مطالعه اثر نانوذرات نقره کروی با قطر ۴ نانومتر بر میزان تغییرات آنزیم لاکتات دهیدروژناز بر روی رت‌های نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از ۴۰ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار استفاده شد که میانگین وزن آن‌ها در روز شروع 20 ± 220 گرم و سن آن‌ها دو تا سه ماه بود. محلول کلونیدی نانوذرات نقره با میانگین قطر ۴ نانومتر به شکل کروی از شرکت نانونصب پارس تهیه شد. در ابتدا غلظت‌های مورد نظر از کلونید نانوذرات نقره به وسیله آب مقطر دیونیزه تهیه شد. سپس در شرایط استریل، یک سی‌سی از نانونقره در غلظت‌های 50، 100، 200، 400 ppm به صورت داخل صفاقی به هر رت تزریق شد. درجه حرارت محیط در زمان انجام آزمایش، 25 ± 2 درجه سانتیگراد در تمام طول شبانه روز بود و غذای فشرده بدون محدودیت در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت. در این تحقیق، حیوانات مورد استفاده به پنج گروه هشت تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل: حیوانات این گروه بدون هیچ‌گونه محدودیتی و به اندازه کافی از آب و غذای فشرده استفاده می‌کردند. علاوه بر این، مانند سایر گروه‌های تجربی برای یکسان بودن شرایط یعنی القای اثر شوک



نمودار ۱- میانگین لاکتات دهیدروژناز به تفکیک گروه‌ها و دوزهای مختلف

توده‌های بزرگ‌تر از ابعاد نانو (بالک) وجود داشته و از اثرات آن کاسته شده است.

لینگ سانگ و همکاران در سال ۲۰۱۲، ارزیابی نانوذرات نقره بر زیست پذیری سلولی (Viability cell)، نشت لاکتات دهیدروژناز، استرس اکسیداتیو و چرخه سلولی را نشان دادند که نتایج نشان دهنده کاهش زیست پذیری سلولی (Viability) یعنی قابلیت زنده ماندن سلول‌ها و حفظ متابولیسم آن‌ها در محیط کشت به صورت روش‌های وابسته به دوز و زمان در سطوح بین ۲۵/۶ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر به شدت کاهش یافت. یعنی نانوذرات نقره منجر به آسیب غشایی (نشت لاکتات دهیدروژناز) و کاهش فعالیت سوپراکسید دسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز شدند (۱۰).

حسین و همکاران در سال ۲۰۰۵ سمیت نانوذرات مختلف از جمله نانوذرات نقره را بر کبد موش صحرائی مورد ارزیابی قرار دادند و پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در معرض میتوکندری نشت قابل ملاحظه و وابسته به دوز لاکتات دهیدروژناز را مشاهده کردند (۱۱). از طرفی Moudgi BM، Robert SM و همکاران در سال ۲۰۰۶، نشان دادند که تاثیر نانوذرات بر روی سلول‌های موجودات زنده به قطر، شکل و اندازه نانوذرات بستگی دارد (۱۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات نقره کروی با قطر ۴ نانومتر موجب تغییر در میزان فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز نمی‌شوند، اما از طرفی مطالعات بافتی بیشترین تغییرات را در دوز ppm400 نشان دادند، بدین مفهوم که تغییر بافتی در دوز بالا از نانوذرات نقره ایجاد می‌شود (۱۳). در مطالعه احمدی و همکاران در

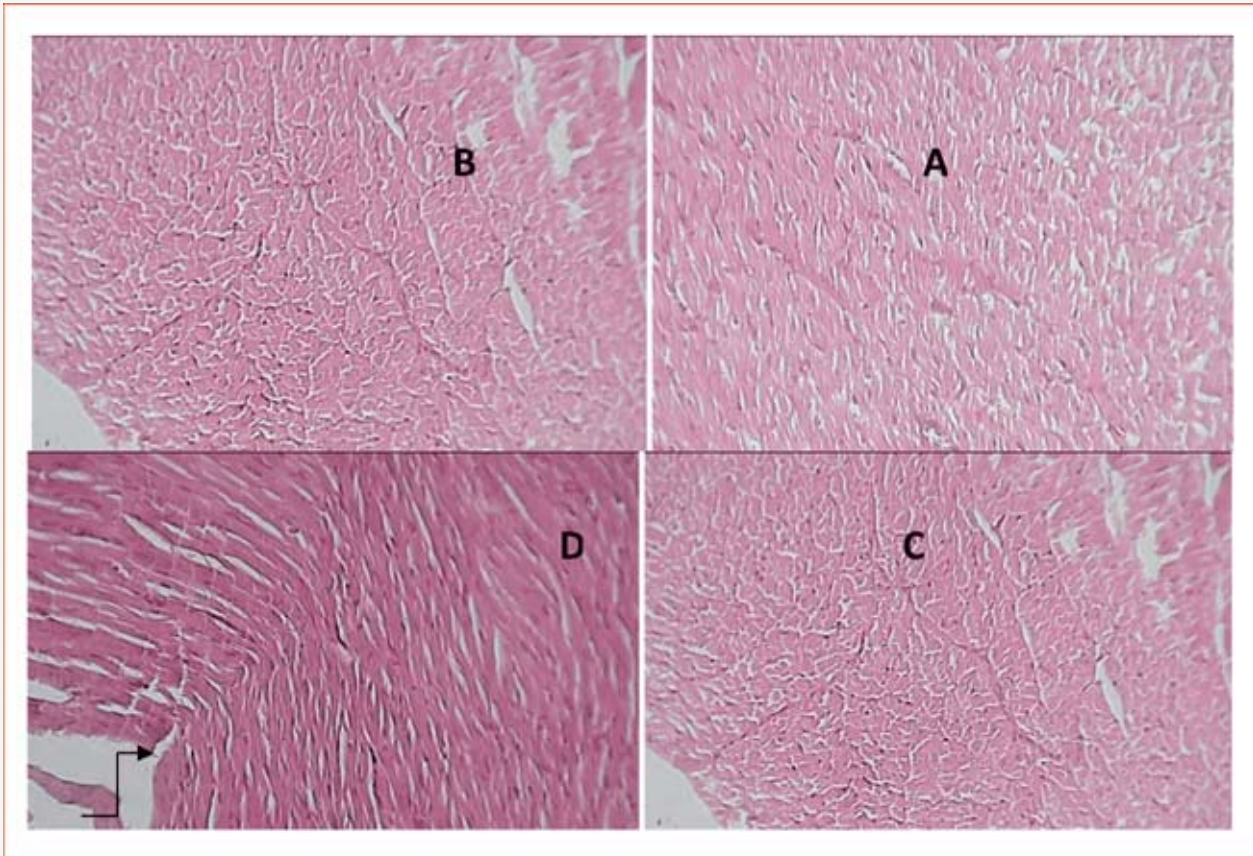
جدول از پیش تعیین شده و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA OneWay) تجزیه و تحلیل شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که در غلظت‌ها و زمان‌های مورد اشاره، تفاوت معناداری از نظر فعالیت آنزیمی بین گروه‌های تیمار با گروه کنترل وجود نداشته اما در مجموع میانگین فعالیت این آنزیم در روز هشتم بعد از تیمار در تمام گروه‌های آزمایشی افزایش معنی داری ($P \text{ value} = 0.05/0$) داشته که مستقل از تاثیرات نانوذرات نقره می‌باشد (نمودار ۱). در بررسی هیستولوژیک بافت قلب، بیشترین تغییر در هسته‌ها مشاهده می‌شود. همچنین فیبرهای عضله قلب بسیار متراکم شده و انشعابات این فیبرها تا حدود زیادی محو شدند که احتمالاً نشان دهنده شروع آسیب بافتی از نوع آپوپتوز می‌باشد (شکل ۱).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که در هیچ‌یک از دوزها و زمان‌ها تفاوت معناداری بین گروه‌های تیمار و گروه کنترل وجود ندارد اما در دوز ppm400 از نانوذرات نقره، بیشترین تاثیر بافتی بر قلب رت‌های نر دیده شد (شکل ۱). با توجه به تغییر خواص فیزیولوژیک نانوذرات با تغییر شکل و دوز می‌توان نتیجه گرفت، در این مطالعه، احتمال به هم چسبیدن نانوذرات نقره در داخل بدن و تشکیل



شکل ۱- مقایسه بافت قلب در گروه کنترل (A) و تیمار شده با دوز 100 ppm (B) و 100 ppm (C) و 100 ppm (D). پیکان موجود در شکل (D) نشان دهنده خروج محتویات سلولی و شروع احتمالی آپوپتوز می‌باشد که موجب ایجاد فضاهای خالی در بین عضلات طولی شده است.

نقره در صنایع و محصولات مختلف در کل دنیا و در کشور ما، لزوم مطالعه دقیق فیزیولوژیک در غلظت‌ها و دوزهای متفاوت از نانوذره بر بافت‌های مختلف بدن پیشنهاد می‌شود.

نتیجه گیری

در تحقیق حاضر، در میزان فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در غلظت‌های مزبور، تغییر معنی داری حاصل نشد. فقط تغییرات بافتی در قلب موش‌ها در دوز بالا مشاهده شد. با توجه به شباهت فیزیولوژیک موش و انسان از تعمیم نتایج این مطالعه می‌توان در زمینه جلوگیری از آسیب‌های قلبی انسان در حین استفاده از نانوذرات نقره استفاده نمود.

سال ۲۰۱۱، تجمع نانونقره در کبد و پوست پستانداران و نکروز قلبی و کاهش گلوکوتایون پراکسیداز در خون خوک‌های تحت بررسی با نقره گزارش شده است (۱۱). آشارانی و همکاران در سال ۲۰۰۹ با بررسی سلول‌های آسیب دیده توسط نانوذرات نقره نشان دادند که آسیب وارده به سلول‌ها به توانایی خروج نانوذرات توسط خود سلول بستگی دارد. از اینرو، میزان اگزوسیتوز نانوذرات نقره برای فهم بهتر حفظ و خروج نانوذرات بررسی شد (۱۳). اخیراً گزارش شده است که ذرات نانو، رادیکال آزاد و استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کنند و با مکانیسم استرس اکسایشی یعنی حمله رادیکال‌های آزاد به بافت‌ها، می‌توانند به اندام‌ها و بافت‌های مختلف آسیب برسانند (۷). با توجه به شباهت مکانیسم‌های داخل سلولی موش و انسان، احتمال تغییرات مشابهی در این زمینه برای انسان نیز وجود دارد. با توجه به کاربرد وسیع نانوذرات

References

- Hassan SF, Abdel-Fattah SA, Elsalmony AE. Relationship between some serum enzyme activities, liver functions and body weight in growing local chickens. *International Journal of Poultry Science*. 2009;8(7):700-705.
- Moaddab S, Ahari H, Shahabzade D. Toxicity study of nanosilver on osteoblast cancer cell line. *Int Nano Lett*. 2011;1(1):11-16.
- Yeo MK, Kang M. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebra fish embryogenesis. *Bull Korean Chem Soc*. 2008;29(6):1179-1184.
- Wijnhoven S, Peijneburg W, Herberts C. Nano-silver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. 2009;3(2):109-138.
- Ahmadi J, Irani M, Choobchian M. Pathological study of intestine and liver in broiler chickens after treatment with different levels of silver nanoparticles. *World Applied Sciences Journal*. 2009;7(S1):28-32.
- Stebounova L, Adamcakova-Dodd A, Sung Kim J. Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model. *Particle and Fibre Toxicology*. 2011;8(5):1-12.
- Akradi L, Sohrabi Haghdoust I, Djeddi AN. Histopathologic and apoptotic effect of nanosilver in liver of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(22):6207-6211.
- Naghsh N, Mashayekh A, Khodadadi S. Effects of Silver Nanoparticle on Phosphocreatine kinase and Histological Changes of Skeletal Muscle Tissue in Male Wistar Rat. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2013;22(97):36-41.
- Kayser G, Kassem A, Siene W. Lactate-Dehydrogenase is overexpressed in non-small cell lung cancer and correlates with the expression of the transketolase-like protein 1. *Diagnostic Pathology*. 2010;5(22):1-10.
- ling song X, Li B, Xu K. Citotoxicity of water-soluble Mpeg-SH-coated silver nanoparticles in HL-7702 cells. *Cell Bio Toxicol*. 2012;28:225-237.
- Saber MH, John JS. Toxicological highlight safety evaluation of silver nanoparticles: inhalation model for chronic exposure. *Toxicological Sciences*. 2009;108(2):223-224.
- Moudgi BM, Robert SM. Designing a strategies for safety evaluation of nanomaterials. *Part nano-interface in a microfluidic chip to probe living VI. Characterization of nanoscale particles for cells: challenges and perspectives*. *Toxicological Science USA*. 2006;103:6419-6424.
- Asha Rani PV, Kah Mun GL, Prakash Hande M. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano*. 2009;3(2):279-290.

