مقایسه اثر تزریقی و تماسی نانو ذرات نقره بر میزان تغییرات هموگلوبین در موش های صحرائی نر

زهرا امیرخانی دهکردی[1]، دکتر نوشین نقش[2]*، دکتر حیدر آقابابا[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، فارس، ایران
۲. دکترای فیزیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۳. دکترای فیزیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، فارس، ایران

چکیده:

زمینه و هدف: *استفاده از نانو ذرات نقره یکی از زمینه های کاربردی نانوتکنولوژی است. این نانو ذرات دارای خاصیت ضد باکتری و ضد قارچ هستند. یون های فعال آزاد شده از نانو ذرات نقره می تواند رادیکال های آزاد تولید کرده و به انواع سلول ها آسیب برسانند. این مطالعه به مقایسه اثر تزریقی و تماسی نانو ذرات نقره بر میزان تغییرات هموگلوبین در موش های صحرائی نر می پردازد.*

روش بررسی: *این مطالعه تجربی بر روی ۷۲ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۲۵ تا ۲۵۰ گرم انجام شد،حیوانات به صورت تصادفی در ده گروه هشت تایی قرار داده شدند. نانو ذرات نقره به صورت تزریقی، از طریق داخل صفاقی و به صورت تماس پوستی با غلظت های ppm ۵۰،۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰ بر روی گروه های تیمار اثر داده شدند. برای یکسان کردن شوک حاصل از تزریق و تماس به رت های گروه کنترل به همان حجم سرم فیزیولوژی تزریق و تماس پوستی داده شد. سپس خونگیری از گوشه داخلی چشم رت ها توسط لوله های مویینه انجام شد. میانگین سطح هموگلوبین خون موش ها در گروه های تیمار و کنترل، ۱۲ روز بعد از تیمار با همدیگر مقایسه گردید. به منظور مقایسه میانگین ها از آزمون ANOVA استفاده شد.*

یافته ها: *یافته ها حاکی از وابستگی دوز در تغییرات میزان هموگلوبین در تزریق داخل صفاقی و عدم اثر نانو ذرات نقره بر تغییرات هموگلوبین در تماس پوستی بود.*

نتیجه گیری: *تزریق نانو ذرات نقره بر میزان هموگلوبین به صورت وابسته به دوز بوده است. اما روش تماس پوستی بر میزان هموگلوبین اثری نداشته است. به نظر می رسد غلظت کم نانو ذرات و مدت زمان کوتاه، باعث عدم تغییر در فاکتور مورد نظر می شود.*

کلید واژه ها: *نانو ذرات نقره، هموگلوبین، موش صحرائی*

***نویسنده مسئول: دکتر نوشین نقش**
نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
پست الکترونیک: n_naghsh@yahoo.com

مقدمه

حداقل نیمی از عفونت‌های بیمارستانی در ارتباط با وسایل پزشکی هستند که عواقب این گونه عفونت‌ها در برخی موارد بسیار وخیم بوده به طوری که به حذف این وسایل پزشکی می‌انجامد و حتی در مراحل پیشرفته منجر به مرگ و میر بیماران می شود[۴-۱]. نقره خالص بالاترین ضریب الکتریکی و انتقال حرارتی را نسبت به دیگر فلزات دارا است. استفاده از نقره کلوئیدی برای اولین بار توسط Lee و همکارانش در سال ۱۸۸۹ بوده است. امروزه کاربرد نانو ذرات نقره (Nano silver Particles) در علوم مختلف و بخصوص پزشکی، در سراسر جهان دیده می‌شود. به عنوان مثال در بیمارستان‌ها برای زخم‌های خارجی و سوختگی‌ها از آن استفاده می‌شود[۶ و۵]. استفاده از تکنولوژی نانو همانند سایر فن آوری‌ها دارای معایبی است. به عنوان مثال هنوز از میزان اثرات مخرب این نانو ذره بر بافت و سلول‌های خونی اطلاعات کافی در دست نیست. متساعد شدن این نانو ذرات در محیط زیست، تماس پوستی محققین با این نانو ذرات و اثرات آن‌ها بر ارگانیسم‌های بدن انسان، موضوع مهمی است که باید مورد بررسی جدی قرار بگیرد[۵]. از طرفی نانو ذرات ممکن است سیستم ایمنی بدن و میزان گلبول‌های خونی را تغییر داده و استفاده از آن‌ها برای بدن مضراتی داشته باشد[۷ و ۸]. کاربرد بسیار زیاد نانو ذرات مختلف در کل جهان و به خصوص در کشور ما، مطالعات دقیق‌تری را برای شبیه سازی مدل‌های حیوانی، پیرامون تأثیرات این نانو ذره بر روی سیستم‌های مختلف بدن انسان می‌طلبد. لذا در این مطالعه به بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر میزان تغییرات هموگلوبین در دو فاز تماس پوستی و تزریقی پرداخته شده است.

روش کار:

این مطالعه به صورت تجربی بر روی ۷۲ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar انجام شد. این حیوانات از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند و به منظور آماده سازی برای آزمایش به مدت یک ماه در اطاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان نگهداری شدند. حیوانات در شرایط درجه حرارت مناسب آزمایشگاهی (درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی گراد) و نور کافی اتاق (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند.

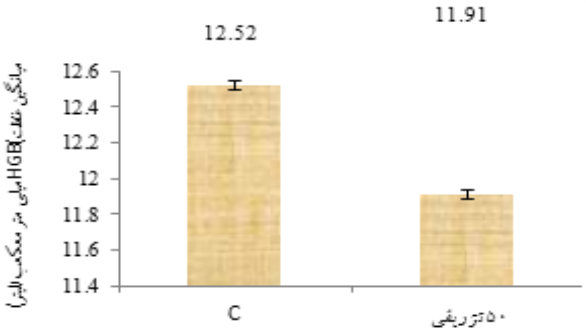
حیوانات آزمایشگاهی با میانگین وزنی ۲۵±۲۲۵ گرم بودند و به صورت تصادفی در ده گروه هشت تایی قرار داده شدند. گروه اول و دوم کنترل، که به میزان ۱ سی سی سرم فیزیولوژی دریافت کردند تا تأثیر شوک حاصل از تماس و تزریق در گروه‌های تیمار و کنترل یکسان گردد. به گروه سوم ۱ سی سی از نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۵۰، به گروه چهارم، ۱ سی سی از نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۱۰۰ به گروه پنجم، ۱ سی سی از نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۲۰۰ و به گروه ششم، ۱ سی سی از نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۴۰۰ تماس پوستی داده شد. در گروه هفتم تا دهم به ترتیب دوزهای ppm۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ تزریق گردید. این تیمارها به مدت ۵ روز متوالی تکرار شدند. ۱۲ روز پس از تیمار، خونگیری از موش‌ها انجام شد. خونگیری از سینوس داخلی گوشه پلک چشم حیوانات با کمک لوله مویینه انجام شد. میزان هموگلوبین خون توسط دستگاه cell counter اندازه گیری شد. میانگین غلظت هموگلوبین در موش‌های گروه‌های تیمار شده با نانو ذرات نقره و گروه کنترل با همدیگر مقایسه گردید. در ضمن نانو ذرات نقره با میانگین قطر۴ نانومتر از شرکت نانو پارس خریداری شد. نانو ذرات نقره به روش سری رقت (serial dilution) رقیق شدند. همچنین کلیه مراحل آزمایشگاهی مطابق با اصول استاندارد رفتار با حیوانات انجام شد.

روش آماری:

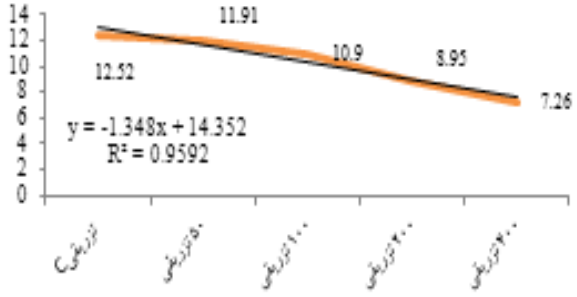
با استفاده از نرم افزار SIGMASTAT ™ Jandel Software, San Raphael, CA ، کارهای آماری لازم بر روی نتایج انجام پذیرفت. به منظور مقایسه میانگین هموگلوبین در گروه کنترل با تک تک گروه‌های تیمار شده در هر غلظت از نانو ذرات نقره، بعد از اعمال تیمارها از آزمون ANOVA استفاده شد. حد معنی دار بودن تفاوت بین نمونه‌ها ۱ درصد و ۵ درصد در نظر گرفته شد. با توجه به این نکته که قبل از اعمال تیمار میزان هموگلوبین در بین رت‌ها اختلاف معنی داری ندارد، طرح استفاده شده در این تحقیق طرح کاملاً تصادفی بود. تعداد تکرار نمونه‌ها ۸ راس رت نر در نظر گرفته شد. در ضمن، برای سنجش آماری داده‌ها و رسم نمودارها، از برنامه نرم افزاری Excel استفاده شد.

یافته ها

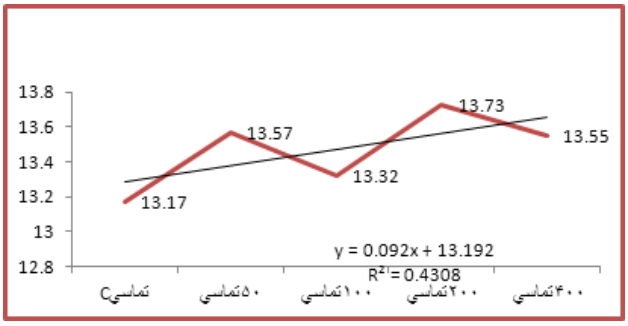
نمودار شماره ۱ نشان می دهد که میزان هموگلوبین در گروه کنترل ۱۲/۵۲ است که این عدد در روز ۱۲ پس از تزریق به میزان ۱۱/۹۱ کاهش می یابد. در این گروه تفاوت معنادار نیست (نمودار ۱). در شکل ۱ اثرات نانو ذرات نقره در تمامی دوزهای آزمایشی نشان داده شده است. در این گروه ها با افزایش دوز تغییرات در میزان هموگلوبین مشاهده گردید (شکل ۱).



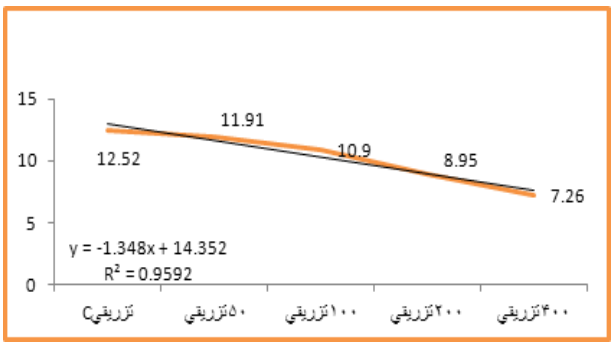
نمودار ۱. مقایسه میانگین HGB در گروههای کنترل و گروهPPM ۵۰.
هرستون نمایانگر میانگین ± خطای معیار (SE± Mean)است.
اختلاف در p≥۰,۰۵ معنادار نیست.
*** اختلاف بین گروه های کنترل و PPM ۵۰ تزریقی معنادار نیست.**



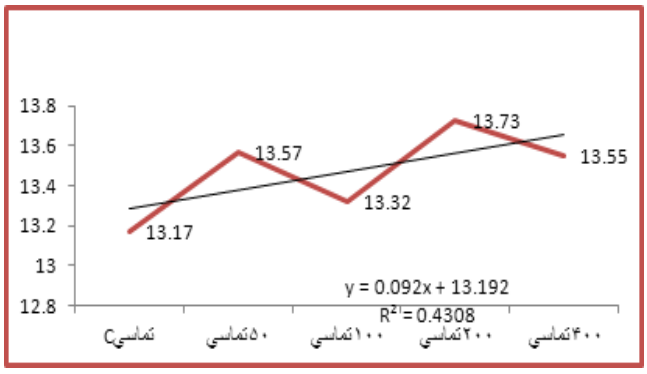
نمودار ۱. مقایسه میانگین هموگلوبین در گروه‌های کنترل و گروه PPM ۵۰. هر ستون نمایانگر میانگین ± خطای معیار (SE± Mean) است. اختلاف در p≤۰,۰۵ معنادار نیست.
*** اختلاف بین گروه‌های کنترول و PPM ۵۰ تزریقی معنادار نیست.**



نمودار۲. مقایسه میانگین هموگلوبین در گروه‌های کنترل و گروه PPM ۵۰. هر ستون نمایانگر میانگین ± خطای معیار (SE± Mean) است. اختلاف در p≥۰,۰۵ معنادار نیست.
*** اختلاف بین گروه‌های کنترول و PPM ۵۰ تماسی معنادار نیست.**



شکل ۱- مقایسه میانگین تعداد هموگلوبین در گروه کنترل و تیمار در روز ۱۲ پس از تزریق نانو ذرات نقره در دوزهای PPM۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰



شکل ۲- مقایسه میانگین تعداد هموگلوبین در گروه کنترل و تیمار در روز ۱۲ پس از تماس نانو ذرات نقره در دوزهای PPM ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰

Concentration of nanosilver 12 day post treatment	ppm تماسی ۵۰	ppm تماسی ۱۰۰	ppm تماسی ۲۰۰	ppm تماسی ۴۰۰
Controls	۱۳/۱۷	۱۳/۱۷	۱۳/۱۷	۱۳/۱۷
Treatments	۱۳/۵۷	۱۳/۳۲	۱۳/۷۳	۱۳/۵۵
p-value	۰/۴۱۵	۰/۸۱۵	۰/۴۰۱	۰/۵۹۷

جدول شماره ۱: مقایسه هموگلوبین در گروه شاهد و تیمار شده با نانو ذرات نقره به صورت تماس پوستی در روز ۱۲ پس از تیمار

Concentration of nanosilver 12 day post treatment	ppm تزریقی ۵۰	ppm تزریقی ۱۰۰	ppm تزریقی ۲۰۰	ppm تزریقی ۴۰۰
Controls	۱۲/۵۲	۱۲/۵۲	۱۲/۵۲	۱۲/۵۲
Treatments	۱۱/۹۱	۱۰/۹	۸/۹۵	۷/۲۶
p-value	۰/۰۴۳	۰/۰۰۶	۰/۰۲۶	۰/۰۳۲

جدول شماره ۲: مقایسه هموگلوبین در گروه شاهد و تیمار شده با نانو ذرات نقره به صورت تزریقی در روز ۱۲ پس از تیمار

بحث و نتیجه گیری:

در مطالعه حاضر به مقایسه اثرات تزریقی و تماسی نانو ذرات نقره بر روی فاکتور هموگلوبین خون پرداخته شد. نتایج یافته ها نشان می دهد که در مورد هموگلوبین تزریقی اثرات وابسته به دوز خواهیم داشت. در حالی که در مورد هموگلوبین تماسی اثرات وابسته به دوز مشاهده نگردیده است.

Choi و Hu در سال ۲۰۰۹ طی مطالعاتی اثبات کردند که AgNPsدر دوزهای ۵۰۰ تا ppm۸۰۰ نسبت به کلرید نقره یا یون های نقره سمیت بیشتری بر روی سلول های خونی دارد[۹]. دوزهای مصرفی در تماس پوستی احتمالاً باعث تفاوت در نتیجه بدست آمده با تحقیقات Choi و Hu است. یکی از خواص مهم ترکیبات نقره خاصیت ضد عفونی کننده آن است. در سال ۱۸۸۴ محلول نیترات نقره ۱ درصد به عنوان شستشو دهنده چشم استفاده می شده است[۱۰]. احتمالاً با مصرف دوزهای پایین تر از نانو ذرات نقره بتوان از آن ها جهت درمان بیماری ها استفاده کرد.

در سال ۲۰۰۸ Navarro و همکارانش اعلام کردند که سمیت زیست محیطی AgNPs می تواند به عوامل متعددی از جمله شکل، اندازه و مهم تر از همه به مکانیسم این مواد وابسته باشد. با تغییر هر کدام از این فاکتورها میزان سمیت تغییر قابل توجهی پیدا خواهد کرد[۱۱]. شکل و قطر نانو ذره استفاده شده در این تحقیق می تواند عامل مؤثری در نتایج بدست آمده باشد.

در سال ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ Soto و همکارانش بعد از انجام آزمایشات گسترده اعلام کردند که برخی نانو مواد (بویژه AgNPs) و داروهایی که از آن ها ساخته می شوند چه به صورت خوراکی و چه به صورت تماس پوستی می توانند یک تهدید مهم برای سلامت جوامع انسانی باشند. استفاده دراز مدت از این مواد بدون در نظر گرفتن عواقب آن می تواند زندگی تمام موجودات زنده روی کره زمین تهدید کند[۱۲]. مدت زمان کوتاه استفاده شده از نانو ذرات نقره در این مطالعه می تواند علت عدم تأثیر بر فاکتورهای مورد نظر در روش تماس پوستی باشد.

نتیجه گیری:

در این مطالعه، غلظت های مختلفی از نانو ذرات نقره جهت پیدا نمودن غلظتی که بیشترین اثر تخریبی را بر هموگلوبین داشته باشد، آزمایش و بررسی گردید و در نهایت مشخص شد که در گروه های تزریقی اثرات وابسته به دوز خواهیم داشت به نحوی که با افزایش دوز اثر مخرب بیشتر می گردد، در حالی که در گروه های تماس پوستی اثر وابسته به دوز مشاهده نگردیده است.

با توجه به اهمیت نانو ذرات در عصر کنونی بررسی اثرات این ذرات بر سیستم بدن انسان اهمیت بسزایی دارد و تحقیقات بیشماری را می طلبد. پژوهش حاضر تنها به بررسی یکی از اثرات این ذرات پرداخته و برای رسیدن به قطعیت آزمایشات بیشتر بر روی سایر فاکتورهای خونی و دیگر ارگانیسم های بدن ضروری است. نتایج بدست آمده در مورد نانو ذرات با شکل کروی و در اندازه ۴ نانومتر مصداق دارد. بدیهی است که برای رسیدن به قطعیت این موضوع آزمایشات بیشتری باید صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان این مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان به علت حمایت از این طرح تشکر نموده، کاستی های این مطالعه را قبول می نمایند.

References:

1. Kumar A, Prasad R. Biofilms. Journal of Medical Education and Research. 2006; 8(1):14-7.

2. Kojic EM, Darouiche RO. Candida infections of medical devices. Clinical microbiology reviews. 2004;17(2):255-67.

3. Guan ZZ. An experimental study of blood biochemical diagnostic indices for chronic fluorosis. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zh. 1991;25(1):33-8.

4. Eisler R. A review of silver hazards to plants and animals. Proceedings of the 4th international conference transport, fate and effects of silver in the environment. USA, Maryland University. 1996:143-44.

5. Hori K, Martin TG, Rainey P, Robertson WO. Believe it or not, silver still poisons. Vet Hum Toxicol. 2002;44(5):291-4.

6. Lagaron JM, Cabedo L, Cava D. Nanotechnology and improving packaged food quality and safety. Part 2: Nanocomposites. Food Addit Contam. 2005;22(10):994-8.

7. Hogstrand C, Wood CM. The toxicity of silver to marine fish. USA, University of Kentucky. 1996:109-12.

8. Hussain SM, Hess KL, Gearhart JM. In-vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. Toxicol in-vitro. 2005;19(7):975-83.

9. Choi OK, Hu ZQ. Nitrification Inhibition by Silver Nanoparticles. Water Sci Technol. 2009;59:1699-1702.

10. Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. Environ Health Perspect. 2005;113:823-39.

11- Navarro E, Piccapietra F, WagnerB, Marconi F, Kaegi R, Odzak N, Sigg L, Behra R. Toxicity of Silver Nanoparticles to Chlamydomonas Reinhardtii. Environ Sci Technol. 2008;42:8959-64.

12- Soto IO, Noguez C, Barrera RG. Optical properties of metal nanoparticles with arbitrary shapes. J Phys Chem. 2003;107:6269-75.

Comparison of Injective and Contact Effect of Silver Nanoparticles on The Rate of Hemoglobin Changes in Male Rats

Zahra Amirkhani Dehkordi [1], ***Nooshin Naghsh*** [2*] ***(PhD)***, ***Heydar Aqbaba*** [3] ***(PhD)***

1. MSc Student of Animal Physiology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Fars, Iran.
2. PhD in Animal Physiology, Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran.
3. PhD in Animal Physiology, Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Fars, Iran.

Abstract

Background and objective: The use of silver nanoparticles is one of the functional areas of nanotechnology. These nanoparticles have an antibacterial and antifungal quality. The active ions released form silver nanoparticles can produce free radicals and damage different types of cell. Considering the importance of hemoglobin, this study investigates Comparison of injective and contact effect of silver nanoparticles on the rate of hemoglobin changes in male rats.

Materials and Methods: In this experimental study were 72 male adult Wistar rats with a mean weight of 225 to 250 grams. The animals were randomly divided into ten groups of eight rats. Nanoparticles were administered to treatment groups using the injective method through intraperitoneal (IP) and the skin contact method with concentrations of 50, 100, 200, and 400 ppm. In order to assimilate the shock resulted by injection and contact, physiologic serum of the same amount was injected to rats of control group or contacted to their skin. Then, blood was drawn from the internal corner of the rats' eye using capillary tubes. The mean level of hemoglobin in the rats' blood in the treatment and control group was compared 12 days after the treatment. To compare the means, ANOVA test was used.

Results: The results showed the dependence of dose and the rate of hemoglobin changes in intraperitoneal injection and the lack of effect of silver nanoparticles on hemoglobin changes in skin contact.

Conclusion: The effectof the injection of silver nanoparticles on the rate of hemoglobin has been dose-dependent. But the skin contact method has had no effects on the rate of hemoglobin. It seems that a low concentration of nanoparticles and a short period of time cause a lack of effect on the factor.

Keywords: Silver Nanoparticles, Hemoglobin, Rats

**Corresponding Author: Nooshin Naghsh (PhD)*
Address: Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
E-mail: n_naghsh@yahoo.com