



## بررسی بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیکی ضایعات حاصل از نانوذره اکسید روی در بافت کبد موش صحرایی نژاد ویستار

سید محمد حسینی\*، امیر حسین مشرفی، رضا امانی، سید وحید رضوی مهر، محمدحسن آقاجانی خواه

باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

\*مسئول مکاتبات: dr\_hosseini2323@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۷

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲

### چکیده

اکسید روی یکی از موارد پر استفاده در زمینه‌های مختلف صنعتی است، به همین علت به صورت گسترده تولید می‌شود و کاربردهای تکنولوژیکی فراوان دارد. بدن انسان ممکن است خواسته یا ناخواسته در معرض این نانوذرات قرار گیرد. در این مطالعه سمیت حاد نانوذرات اکسید روی بر میزان آنزیم‌های کبدی و هیستوپاتولوژی بافت کبد مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۵۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار به وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم را به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم کردیم که گروه‌ها شامل یک گروه کنترل، گروه شام و سه گروه با دوزهای مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم نانوذره اکسید روی (دو بار در هفته به مدت چهار هفته) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی دریافت کردند. پس از خونگیری میزان کلاسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام، آلومین و آنزیم‌های کبدی (AST، ALT) و ALP تعیین شد و پس از برداشتن بافت کبد مراحل فیکساسیون و پردازش، تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین انجام شد، پس از جداسازی بافت، نمونه‌ها هضم و غلظت فلز روی توسط دستگاه جذب اتمی سنجیده شد، در نهایت داده‌ها توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. ارزیابی هیستوپاتولوژیک کبد ضایعاتی همچون نکروز، پرخونی و دژنراسانس واکوئولی در دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نشان داد و در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اینفیلتریشن سلول‌های آماسی نیز مشاهده شد. در بررسی سرولوژیکی نیز سطح آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP افزایش یافت. همچنین بیشترین مقادیر جذب نانوذره در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر سمیت نانوذرات ZnO را بر روی کبد به شکل وابسته به دوز مشخص نمود؛ بنابراین مواجهه با نانوذرات می‌تواند خطرات جدی را در انسان ایجاد کند.

کلمات کلیدی: نانوذره، کبد، اکسید روی، سمیت، آنزیم‌های کبدی.

### مقدمه

برای بهبود ایمنی آن دست نیافته‌ایم اقدام نماییم. با صنعتی شدن نانو تکنولوژی و انتشار نانوذرات اکسید فلزی در محیط و زنجیره غذایی، موجبات تداوم مسمومیت‌های ناشی از آنها و در آینده نزدیک افزایش مواجهه عموم با این نانوذرات مطرح می‌باشد [۱۲، ۲۲].

اکسید روی (ZnO) یکی از پر مصرف‌ترین مواد در زمینه‌های مختلف صنعتی است. نانوذرات اکسید روی دارای خصوصیات منحصر به فرد نوری، کاتالیکی، نیمه هادی، پیزو الکتریک و مغناطیسی می‌باشند به همین علت به صورت گسترده تولید می‌شوند و دارای کاربردهای

امروزه به کارگیری نانوذرات مهندسی شده (ENPS) بسیاری از کاربردهای زیست پزشکی را دامن زده و در سالیان اخیر استفاده از فناوری نانو در پزشکی و دامپزشکی پیشرفت‌های بزرگی را نشان داده است. همچنین، اثرات این نانو ذرات در سطح بیوشیمیایی سرم و بافت نیز مورد بررسی قرار گرفته است [۲۱، ۲۵].

محققان به وضوح نشان دادند که نانوذرات نسبت به ذرات بزرگتر سمیت بیشتری را به همراه دارند. طبق هشدار سازمان‌های علمی نباید به انتشار محصولات حاوی نانو مواد تا زمانی که بسیاری از الزامات مورد نیاز



چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دسترسی مناسب به آب و غذا و رعایت موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند.

**تهیه محلول نانوذره:** نانوذره روی مورد استفاده در این آزمایش از شرکت (Nanosany Company, Mashhad, Iran) نانوسونی تهیه شد که به شکل کریستال سفید شیری تقریباً کروی با ذراتی به ابعاد ۱۰ تا ۳۰ نانومتر و درصد خلوص بیش از ۹۹ درصد می‌باشد. سپس محلول ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم آن با رقیق سازی توسط محلول نرمال سالین ۰/۹٪ تهیه شد. مشخصات این نانوذره و تصویر میکروسکوپ الکترونی (TEM) آن در جدول ۱ و تصویر ۱ آمده است.

**گروه های مورد آزمایش:** موش‌ها به صورت تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند:

گروه کنترل (A): در این گروه، حیوانات از آب و غذای معمولی تغذیه کرده و هیچ گونه ماده یا دارویی را دریافت نکردند.

گروه شم (B): حیوانات در این گروه، دو بار در هفته مقدار ۰/۵ میلی لیتر محلول ۰/۹٪ نرمال سالین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه تجربی (۱): حیوانات در این گروه، دو بار در هفته، مقدار ۰/۵ میلی لیتر محلول ۲۵ mg/kg نانو ذره اکسید روی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه تجربی (۲): حیوانات در این گروه، دو بار در هفته، مقدار ۰/۵ میلی لیتر محلول ۵۰ mg/kg نانو ذره اکسید روی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه تجربی (۳): حیوانات در این گروه، دو بار در هفته، مقدار ۰/۵ میلی لیتر محلول ۱۰۰ mg/kg نانو ذره اکسید روی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

**خونگیری و اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی:** حیوانات پس از پایان روز ۲۸، وزن گیری شده و توسط ماده کلروفورم بیهوش شده و در حالت بیهوشی قفسه

تکنولوژیکی فراوان هستند [۱۷]. امروزه اکسید روی بیشتر در زمینه‌های مختلف صنعتی از قبیل تولید رنگ، رنگدانه‌ها، لاستیک، آلیاژها، سرامیک، الیاف شیمیایی، کاتالیزور، تشخیص پزشکی، کرم‌های ضد آفتاب، لوازم آرایشی، محصولات مراقبت شخصی و مواد افزودنی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۸، ۹].

با توجه به اطلاعات موجود در رابطه با اثرات سمی نانومواد و همچنین خواص فیزیکی و شیمیایی آنها در تعامل با اجزای بیولوژیک، اثرات القایی قابل توجه آنها بر رفتار و خواص مولکول‌ها و سلول‌های بدن به اثبات رسیده است. وقوع استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، نشت غشاء سلول، آسیب اکسیداتیو DNA، افزایش کلسیم داخل سلولی و حتی فعالیت‌های ضد تکثیری، توسط ZnO در رده‌های سلولی به اثبات رسیده است [۱۶]. با توجه به کاربرد گسترده نانوذرات ZnO در زمینه‌های صنعتی، قابل تصور است که بدن انسان ممکن است خواسته یا ناخواسته از چندین طریق، از جمله بلع، استنشاق، تزریق داخل وریدی و نفوذ پوستی در معرض این نانو ذرات قرار گیرد [۲۶]. لذا با توجه به آنکه ایمنی زیستی این نانوذرات هنوز یک مسئله بحث برانگیز است و این نانو ذرات (اکسید روی) به میزان فراوان به روش صنعتی تولید شده و می‌توانند از مسیرهای گوناگون وارد بدن انسان شوند؛ در این مطالعه سمیت حاد نانوذرات اکسید روی بر میزان آنزیم‌های کبدی و همچنین هیستوپاتولوژی بافت کبد متعاقب تزریق دوزهای معینی از (ZnO) در موش صحرائی نژاد ویستار مورد ارزیابی قرار گرفته است.

#### مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی، از ۵۰ سر موش صحرائی ماده بالغ نژاد ویستار ۱۲-۱۰ هفته‌ای، با وزن تقریبی  $20 \pm 20$  گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات انستیتو پاستور شمال کشور تهیه شد. موش‌ها در شرایط استاندارد، با درجه حرارت  $22 \pm 23$ ، رطوبت نسبی  $5 \pm 55$ ،



سینه باز شده و از ناحیه بطنی قلب خونگیری انجام گرفته، سپس با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سرم خون را جداسازی و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اندازه‌گیری کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام خون، آلبومین و آنزیم‌های کبدی (ALT، ALP، AST) با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت پارس آزمون و به کمک اتوآنالایزر (Hitachi 902) به روش IFCC اندازه‌گیری شدند.

**تهیه نمونه بافت:** پس از آن حفره بطنی باز شده و بافت کبد با دقت از بدن خارج گردیده و در محلول تثبیت کننده فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شد و به آزمایشگاه بافت شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انتقال داده شد. پس از انجام مراحل پاساژ بافت، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید. تمامی برش‌ها با استفاده از هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس مقاطع بافتی تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری (NiKon, E200) از لحاظ هیستوپاتولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**جذب اتمی:** به منظور جذب اتمی، یک گرم از هر نمونه بافت کبد را جدا کرده و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۴ ساعت اتوکلاو کرده تا به طور کامل خشک گردند، سپس در آن چینی به طور کامل پودر شدند. یک گرم از هر بافت پودر شده را در یک بشر ریخته و توسط ۵ میلی لیتر محلول HNO<sub>3</sub> عمل هضم شیمیایی انجام گرفته شد. سپس نمونه هضم در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد تا به صورت محلول کاملاً شفاف درآید. نمونه‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت حرارت دیدند. پس از آن کلیه نمونه‌ها را با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رساندیم و سوسپانسیون‌های حاصل، با استفاده از کاغذ صافی صاف و محلول صاف شده به یک بالن مدرج انتقال داده شد و جهت اندازه‌گیری میزان

جذب اتمی فلز روی از دستگاه جذب اتمی مدل Buck-210VGP استفاده گردید [۶]. نتایج حاصل از این تحقیق، با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (تست ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و به کمک تست تعقیبی دانکن تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مشخص گردید به طوری تفاوت هر حرف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد.

### نتایج

در بررسی هیستوپاتولوژیک متعاقب استفاده از دوزهای مختلف نانوپارتنیکل روی ضایعاتی همچون پرخونی، نکروز، اینفیلتریشن سلول‌های آماسی و دژنراسانس واکوئولی مشاهده شد که بیشترین ضایعات در گروه ۱۰۰ mg/kg مشاهده شد (تصویر ۲) (جدول ۲).

اندازه‌گیری مقادیر بیوشیمیایی کلسترول گروه ۱۰۰ mg/kg تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها نشان داد ( $P < 0/05$ ) این در حالی است که تفاوت معنی‌داری در بین سایر گروه‌ها دیده نشد. (جدول ۲)

همچنین اندازه‌گیری مقادیر بیوشیمیایی تری‌گلیسرید، پروتئین تام تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg با گروه کنترل و شم نشان داد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲).

همچنین اندازه‌گیری مقادیر بیوشیمیایی آلبومین تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ با سایر گروه‌ها مشاهده گردید. ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲).

اندازه‌گیری مقادیر آنزیم‌های کبدی ALT، ALP و AST نشان داد گروه ۱۰۰ mg/kg با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان داد (نمودارهای ۱، ۲ و ۳) ( $P < 0/05$ ).

مقادیر جذب اتمی نانوذره اکسید روی در بافت کبد نشان داد بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت (نمودار ۴).



جدول ۱- مشخصات نانوذره روی

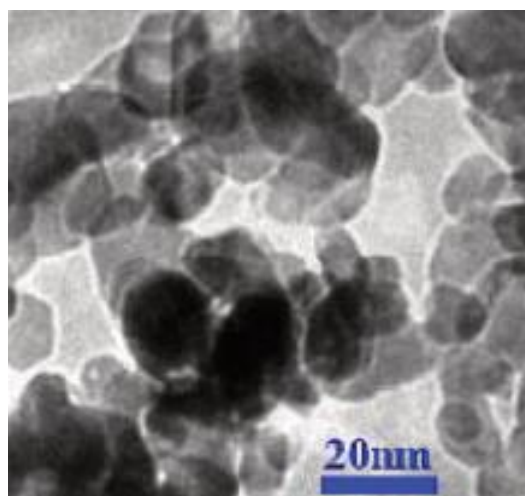
نوع نانوذره	اندازه نانوذره	سطح ویژه	درصد خلوص	شکل ظاهری	چگالی واقعی
نانوذره روی	۱۰-۳۰ nm	۲۰-۶۰ m <sup>2</sup> /g	٪۹۹	سفید شیری	۵/۶۰۶ g/cm <sup>3</sup>

جدول ۲- بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیکی بین گروه‌های مورد آزمایش

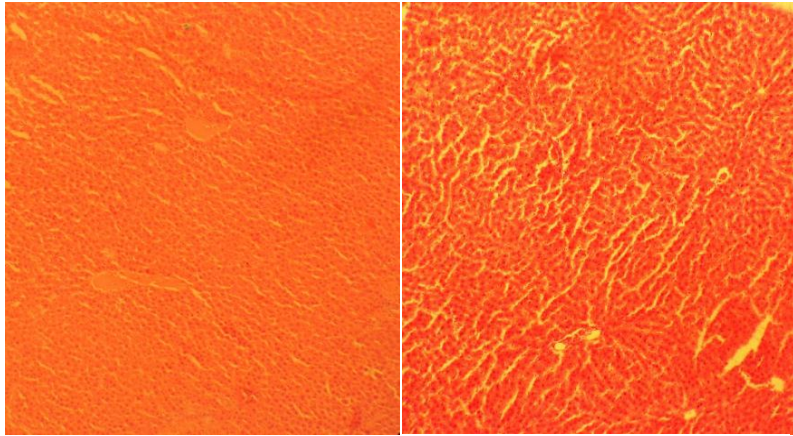
پرخونی	نکروز	اینفیلتریشن سلول‌های آماسی	دژنراسانس واکوئولی
-	-	-	-
+	-	-	-
++	++	-	+
++	++	+	+
++	+++	+	++

جدول ۳- بررسی تغییرات بیوشیمیایی خون بین گروه‌های مورد آزمایش

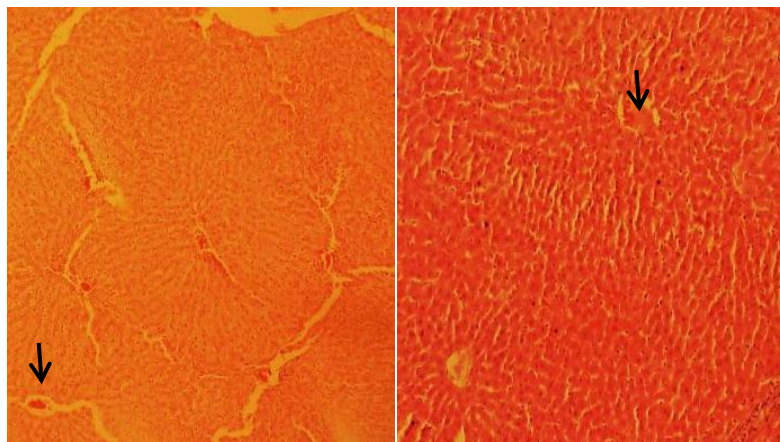
آلبومین	پروتئین تام	تری‌گلیسرید	کلسترول
۳/۶۵۰۰±۰/۰۲۵۸ <sup>a</sup>	۷/۸۰۰۰±۰/۰۵۹۶ <sup>a</sup>	۱۹۶/۵±۲/۰۰۶۹ <sup>a</sup>	۶۳/۴۰۰۰±۲/۸۷۹۸ <sup>a</sup>
۳/۶۳۰۰±۰/۰۲۴۹ <sup>a,b</sup>	۷/۴۸۰۰±۰/۰۵۷۳ <sup>a</sup>	۱۸۷/۸±۱/۷۴۹۹ <sup>a</sup>	۶۲/۰۰۰۰±۲/۳۸۵۱ <sup>a</sup>
۳/۵۲۰۰±۰/۰۵۳۳ <sup>b,c</sup>	۷/۳۲۰۰±۰/۱۳۷۲ <sup>b</sup>	۱۰۵/۰±۴/۴۰۲ <sup>b</sup>	۵۹/۴۰۰۰±۱/۸۹۲۶ <sup>a</sup>
۳/۴۰۰۰±۰/۰۵۱۶ <sup>c</sup>	۷/۲۰۰۰±۰/۱۵۳۴ <sup>c</sup>	۹۴/۶۰۰۰±۲/۸۰۹۵ <sup>c</sup>	۵۸/۵۰۰۰±۱/۴۰۶۳ <sup>a</sup>
۳/۲۵۰۰±۰/۰۴۹۴ <sup>d</sup>	۶/۱۰۰۰±۰/۰۵۹۶ <sup>d</sup>	۷۷/۰۰۰۰±۲/۳۸۵۱ <sup>d</sup>	۴۹/۰۰۰۰±۰/۹۱۸۹ <sup>b</sup>



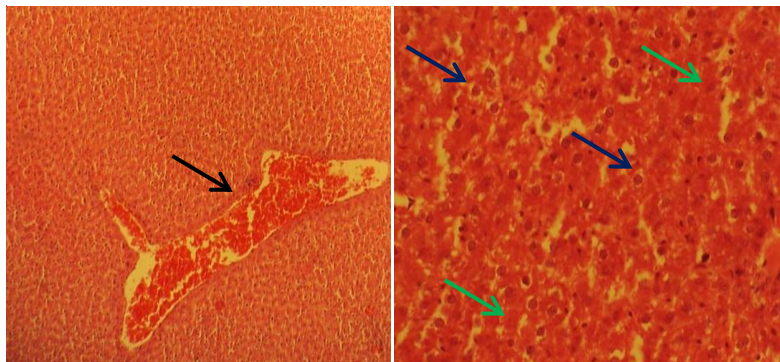
تصویر ۱- تصویر نانوذره روی توسط میکروسکوپ الکترونی



تصویر ۲- گروه کنترل، بافت کبد نرمال. رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 4 و 10x

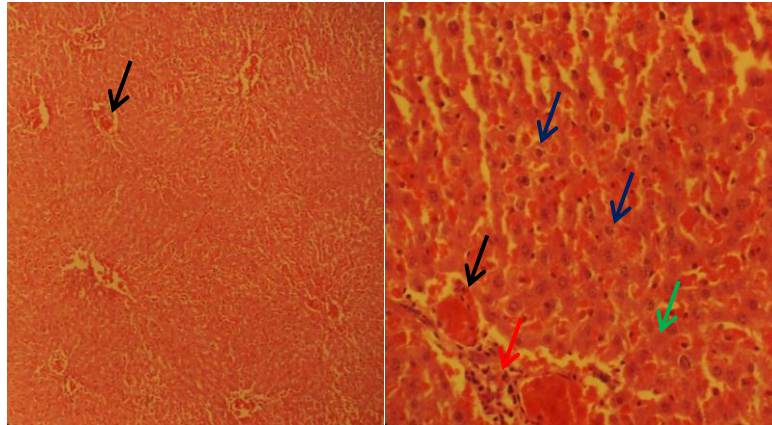


تصویر ۳- گروه Sham، پرخونی نسبی. رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 10x، 4.

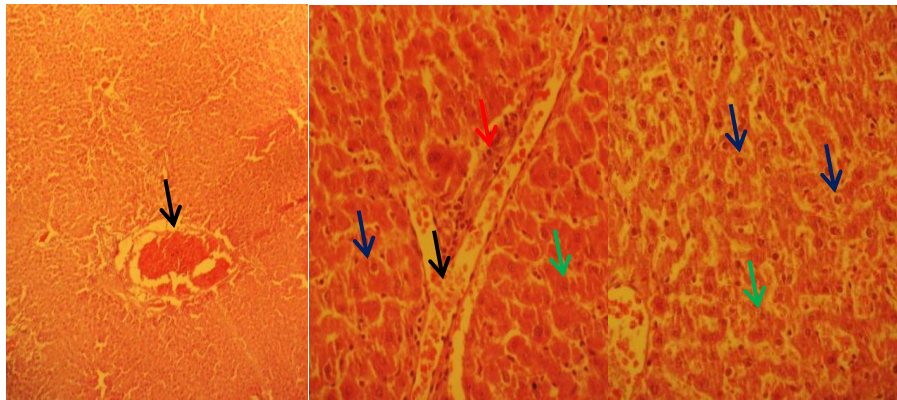


تصویر ۴- گروه ۲۵ mg/kg، پرخونی، نکروز (پیکان سبز)، دژنراسانس واکوئولی.

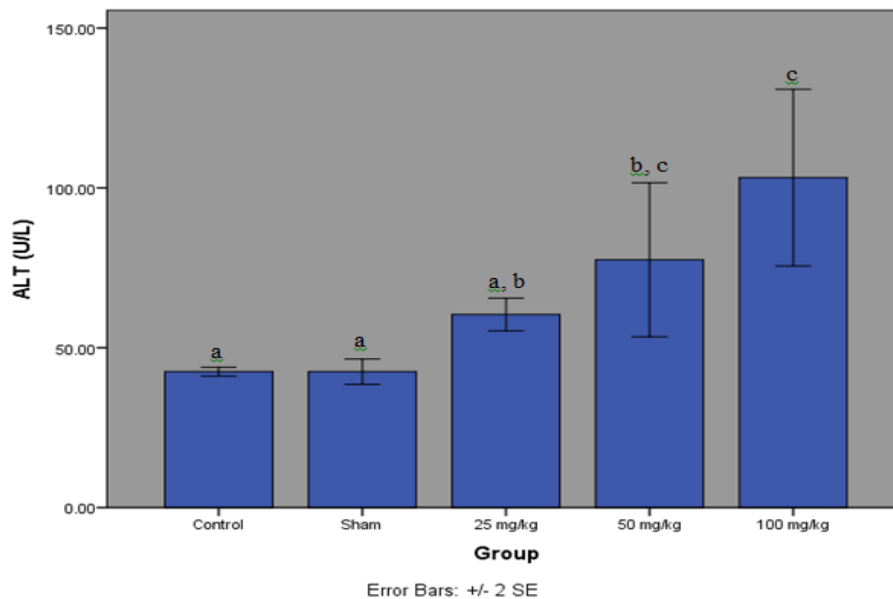
رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 40x، 10.



تصویر ۵- گروه ۵۰ mg/kg، پرخونی، نکروز (پیکان سبز)، دژنراسانس واکوئولی، اینفیلتریشن آماسی (پیکان قرمز). رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 10, 40x.

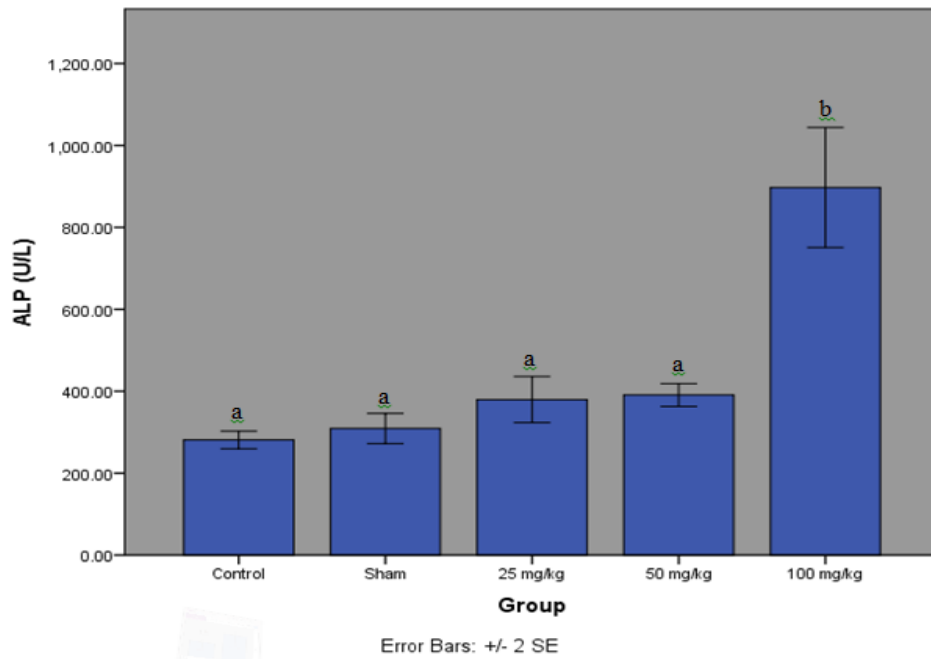


تصویر ۶- گروه ۱۰۰ mg/kg، پرخونی، نکروز (پیکان سبز)، دژنراسانس واکوئولی، اینفیلتریشن آماسی (پیکان قرمز). رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی 10, 40x.

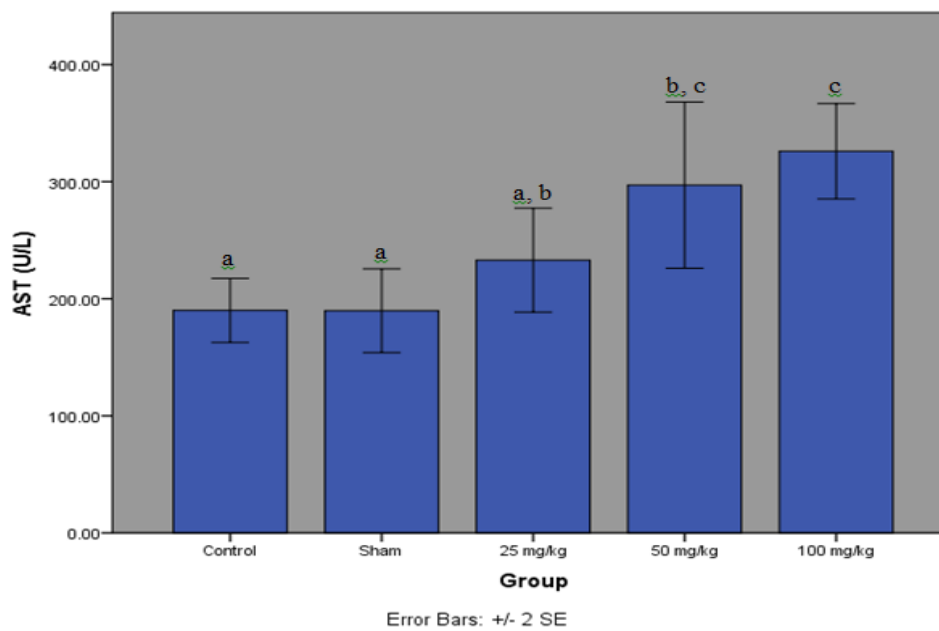


نمودار ۱- بررسی تغییرات آنزیم ALT ما بین گروه های مورد آزمایش

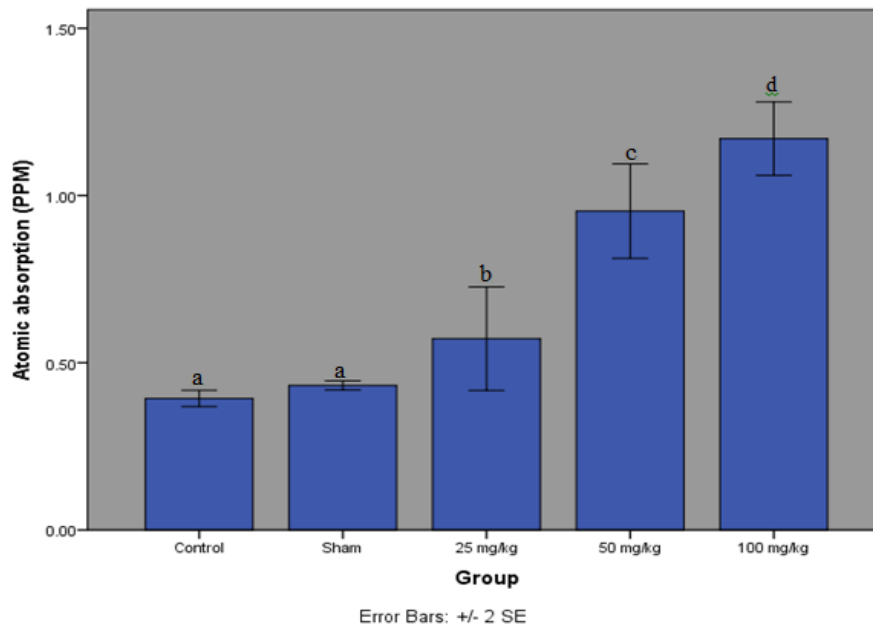




نمودار ۲- بررسی تغییرات آنزیم ALP ما بین گروه های مورد آزمایش



نمودار ۳- بررسی تغییرات آنزیم AST ما بین گروه های مورد آزمایش



نمودار ۴- بررسی تغییرات جذب اتمی فلز روی ما بین گروه های مورد آزمایش

#### بحث

سلول‌های التهابی دیده شد [۴]؛ در این مطالعه نیز افزایش وزن کبد به همراه اینفیلتراسیون سلول‌های آماسی در گروه‌های تجربی حاصل شد.

در شرایط عادی آنزیم‌های ALT و AST درون هپاتوسیت‌ها وجود دارند که در صورت آسیب دیدن کبد این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند؛ غالباً ALT و AST به عنوان شاخص آسیب کبدی مطرح هستند [۱۳، ۱۵، ۲۰]. ممکن است افزایش آنابولیسیم و یا کاهش کاتابولیسیم آنزیم‌های ALT و AST دلیل افزایش غلظت آنها باشد [۷].

طبق نتایج بدست آمده از مطالعه فضیلتی در سال ۲۰۱۳ تزییق داخل صفاقی نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های ۲۵ ppm، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ در رت‌های نر به مدت یک هفته، آنزیم‌های کبدی ALT، ALP و AST را به طور معناداری افزایش داد [۱۰]. در مطالعه حاضر غلظت نانوذرات در مقایسه با پژوهش فوق متفاوت بوده اما نتایج حاصل هم راستا می‌باشد. در مطالعه قربانی در سال ۲۰۱۳ نیز افزایش دوز اکسید روی همراه با افزایش میزان آنزیم-

به دلیل طول عمر زیاد نانوذرات اکسید فلزی در محیط و زنجیره‌های غذایی، مسمومیت ناشی از آنها به طور مداوم اتفاق می‌افتد [۲۳]. یکی از ویژگی‌های نانوذرات برای تعیین انتشار آنها در شرایط زنده اندازه آنها می‌باشد که در مطالعه Fukuoka و همکاران این موضوع به اثبات رسیده است که هرچه قطر ذرات کوچکتر باشد نفوذ آنها به داخل سلول‌ها و مسمومیت آنها افزایش می‌یابد [۱۱، ۲۴]. علاوه بر این نانوذرات به دلیل داشتن خصوصیات فیزیکیوشیمیایی، موجب کاهش قابلیت زیست و تکثیر سلول‌های زنده می‌شوند [۱۹، ۲۷].

در این مطالعه کاهش معناداری در وزن بدن موش‌هایی که نانوذرات اکسید روی دریافت کرده بودند مشاهده شد؛ در مطالعه کمال امام محمود و همکاران هم کاهش وزن متعاقب دریافت وانادیوم و نیکل حاصل شد [۱۸]. مطالعه سهرابی در سال ۱۳۸۸ بر روی اثرات مزمن کلرید روی بر بافت‌های مختلف موش صحرائی مثل کبد افزایش معناداری در وزن کبد بین گروه‌های شاهد و تجربی رخ داده است، همچنین در فضای پورت به تعداد نسبتاً زیادی



از این تحقیق کاهش سطوح سرمی کلسترول و تری گلیسرید را در گروه‌های دریافت کننده نانوپارتیکل اکسید روی نسبت به گروه کنترل نشان داد. در مطالعه‌ی Haiyan Zhu و همکاران در سال ۲۰۱۴ سطح کلسترول تنها در دوزهای بالا از فلزات سنگین کاهش یافت همچنین میزان تری گلیسرید در گروه‌های با دوزهای بالا و پائین نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی نشان داد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۲۸]. در بررسی نجف‌زاده و همکاران تاثیر نانو اکسید و اکسید آهن تزریق شده به صورت داخل صفاقی مورد ارزیابی قرار گرفت که در نتیجه آن سطح سرمی تری گلیسرید در گروه دریافتی نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری داشته است [۵].

با توجه به ضایعات هیستوپاتولوژیک حاصل از نانوذره اکسید روی بر روی بافت کبد و تغییر در سطح آنزیم‌های کبدی، به منظور تعیین مقدار جذب در بافت کبد، جذب اتمی به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت. مقدار نانوذره اکسید روی در بافت کبد در موش‌های دریافت کننده دوزهای بالاتر به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود که بیانگر تجمع بیشتر فلز سنگین در این دوزها می باشد. به دلیل مصارف بالای فلزات در صنایع، کشاورزی و پزشکی، افزایش آلاینده‌های صنعتی و آلودگی محیطی پدید آمده است [۱۴]. از آنجایی که جذب بالای روی با تهوع، سردرد، اسپاسم و دردهای شکمی همراه است؛ دریافت آن در شهرهای صنعتی می‌تواند زمینه ساز مشکلات فوق باشد.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله کمال تشکر و امتنان خود را بابت حمایت مالی و معنوی این پروژه از معاونت محترم پژوهشی و ریاست محترم باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل اعلام می دارند. همچنین از سرکار خانم اسلامی بابت همکاری صمیمانه ایشان در آزمایشگاه پاتولوژی سپاسگزاریم.

های ALT، AST و ALP در رت‌های نژاد ویستار نسبت به گروه کنترل همراه بوده است [۲۶]. رضایی در سال ۱۳۹۰ اثر نانوذرات اکسید تیتانیوم بر روی میزان سلول‌های خونی و آنزیم‌های کبدی را در موش نژاد ویستار مورد ارزیابی قرار داد که در نتیجه آن غلظت آنزیم‌های کبدی افزایش یافت [۳]. در بررسی اثر نانوذرات اکسید آهن بر غلظت سرمی آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) افزایش معناداری در موش‌های صحرائی دریافت کننده دوز  $150 \mu\text{g/kg}$  نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که نشانگر تاثیر تخریبی نانوذرات اکسید آهن بر روی سلول‌های کبدی و همچنین انسداد مجاری صفراوی می‌باشد [۱]. در مطالعه حاضر افزایش قابل توجه سطح سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP نسبت به گروه کنترل مشاهده شد که بیانگر سمیت کبدی می‌باشد؛ نتایج حاصل با یافته‌های مطالعات فوق مطابقت دارد.

در بررسی هیستوپاتولوژیک بافت کبد در دوز  $25 \text{ mg/kg}$  پرخونی، نکروز و دژنراسانس واکوئولی و در دوزهای  $50 \text{ mg/kg}$  و  $100 \text{ mg/kg}$  علاوه بر ضایعات فوق اینفیلتریشن سلول‌های آماسی نیز مشاهده شد. Haiyan Zhu و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۱۴ تاثیرات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی تحت مزمن دهانی ۵ عنصر سمی کادمیوم کلراید، پتاسیم دی کرومات، مرکوریک کلراید، سدیم آرسنیک و سرب استات را در رت‌ها مورد بررسی قرار دادند که طی آن بیان داشتند در گروه با دوز بالا هیپاتوسیت‌ها متورم و به طور قابل محسوسی دژنراتیو بودند [۲۸]. نتایج هیستولوژیک تحقیقات خدادای و همکاران نشان می‌دهد که غلظت  $400 \text{ ppm}$  از نانوذرات نقره موجب ایجاد آپاپتوز در بافت کبد موش‌های صحرائی نر می‌شود [۲]. ذرات لیپوپروتئینی با دانسیته خیلی کم (VLDL) عمده‌ترین منبع تری گلیسرید خون هستند؛ با توجه به اینکه این ذرات در کبد سنتز می‌شوند لذا کاهش سطح VLDL در خون می‌تواند احتمال آسیب نانوذرات اکسید روی به کبد را افزایش دهد. نتایج حاصل



منابع

9. Fan Z., Lu J.G. (2005), Zinc oxide nanostructures: synthesis and properties. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5(10): 1561-1573.
10. Fazilati M. (2013), Investigation toxicity properties of zinc oxide nanoparticles on liver enzymes in male rat. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1): 97-103.
11. Fukuoka A, Sakamoto Y, Guan S, et al. (2001), Novel templating synthesis of necklace shaped mono and bimetallic nanowires in hybrid organic inorganic mesoporous material. *American Journal of Chemical Society*, 123(14): 3373-3374.
12. Galbraith D.W. (2007), Nanobiotechnology: silica breaks through in plants. *Nature Nanotechnology*, 2:272-273.
13. Geho D.H., Jones C.D., Petricoin E.F., Liotta L.A. (2006), Nanoparticles: potential biomarker harvesters. *Current Opinion in Chemical Biology*, 10(1):56-61.
14. Hodgson E., Levi P.E. (1997), A textbook of modern toxicology. 20th ed. Stanford, Connecticut: Appleton and Lange: 260-266.
15. Hoffmann W.E., Solter P.F., Wilson B.W. (1999), Clinical enzymology. *The Clinical Chemistry of Laboratory Animals*, 5: 399-454.
16. Huang C.C., Aronstam R.S., Chen D.R., Huang Y.W. (2010), Oxidative stress, calcium homeostasis, and altered gene expression in human lung epithelial cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicology in Vitro*, 24(1): 45-55.
17. Li L.Z., Zhou D.M., Peijnenburg W.J., Gestel C.A., Jin S.Y., Wang Y.J., Wang P. (2011), Toxicity of zinc Oxide nanoparticle in the earthworm, *Eisenia fetida* and subcellular fractionation of Zn. *Environment International*, 37(6): 1098-1104.
18. Mahmoud K.E., Shalahmetova T., Deraz S., Umbayev B. (2011), Combined effect of vanadium and nickel on lipid peroxidation and selected parameters of antioxidant system in liver and kidney of male rat. *African Journal of Biotechnology*, 10(79): 18319-18325.
1. افخمی اردکانی م.، شیربند ع.، گلزاده ج.، اسدی سامانی م.، لطیفی ا.، خیلاپور م.، جعفری ن. ۱۳۹۱. تاثیر نانوذرات اکسید آهن بر غلظت آنزیم های کبدی، هورمون های تیروئیدی و هورمون محرک تیروئید در موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، دوره ۱۴، شماره ۶، صفحات ۸۸-۸۲.
۲. خدادادی س.، نقش ن.، مشایخ ا. م. ۱۳۹۱. تاثیر نانوذرات نقره بر میزان تغییر آنزیم آلکالن فسفاتاز و بافت کبد در موشهای صحرایی نر. دوماهنامه فیض، دوره ۱۶، شماره ۷، صفحات ۶۸۸-۶۸۷.
۳. رضایی زارچی س. ۱۳۹۰. اثر نانو ذرات اکسید تیتانیوم روی میزان سلو لهای خونی و آنزیمهای کبدی موجود در خون رت نژاد ویستار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، دوره ۹، شماره ۵، صفحات ۶۲۶-۶۱۸.
۴. سهرابی د.، غلامی م. ر. ۱۳۸۸. بررسی اثرات مزمن فلز روی (کلرید روی) بر بافت های کبد، کلیه و طحال در موش (RAT) صحرایی نر. فصلنامه زیست شناسی تکوینی، سال اول، شماره ۲، صفحات ۱۴-۹.
۵. مسلمی ن.، نجف زاده ح.، کوچک م.، شهریاری ع. ۱۳۹۲. بررسی تاثیر مصرف نانو اکسید آهن بر پروفایل لیپیدی و شاخصهای استرس اکسیداتیو در سرم و کبد موش صحرایی. دوماهنامه فیض، دوره ۱۷، شماره ۳، صفحات ۲۵۴-۲۴۸.
6. Ajayi O.A., Idowu A.B., Eromosele C.O., Dedeke G.A., Ademolu K.O. (2012), Distribution and Effect of some Heavy Metals in Selected Organs and Tissues of Albino Rats Exposed to Vehicular Exhaust Fumes. *COLERM Proceedings*, 5(2): 518-526.
7. Christ-Crain M., Meier C., Puder J., Staub J., Huber P.R., Keller U., Muller B. (2004), Changes in liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of Euthyroidism in patients with subclinical hypothyroidism. *Excel Journal*, 3:1-9.
8. Djurusic A.B., Leung Y.H. (2006), Optical properties of ZnO nanostructures. *Small*, 2(8-9): 944-961.



24. Portney N.G., Ozkan M. (2006), Nanotechnology: drug delivery, imaging, and sensing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384(3): 620-630.
25. Rasmussen J.W., Martinez E., Louka P., Wingett D.G. (2010), Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(9): 1063-1077.
26. Saman S., Moradhaseli S., Shokouhian A., Ghorbani M. (2013), Histopathological effects of ZnO nanoparticles on liver and heart tissues in wistar rats. *Advances in BioResearch*, 4(2): 83-88.
27. Shvedova A., Castranova V., Kisin E., Schwegler-Berry D., Murray A., Gandelsman V. (2003), Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 66(20): 1909-1926.
28. Zhu H., Jia Y., Cao H., Meng F., Liu X. (2014), Biochemical and histopathological effects of subchronic oral exposure of rats to a mixture of five toxic elements. *Food and Chemical Toxicology*, 71: 166-175.
19. Monteiro-Riviere N.A., Nemanich R.J., Inman A.O., Wang Y.Y., Riviere J.E. (2005) Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicology Letters*, 155(3): 377-384.
20. Moudgil B.M., Roberts S.M. (2006), 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 Sciences*, 103: 6419-6424.
21. Newman M.D., Stotland M., Ellis J.I. (2009), The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide based sunscreens. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 61(4): 685-692.
22. Park H.J., Kim S. H., Kim H. J., Choi S.H. (2007), A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. *Plant Pathology*, 22: 295-302.
23. Peter H.H., Irene B.H., Oleg V.S. (2004), Nanoparticles-known and unknown health risks. *Journal of Nanobiotechnology*, 2(1): 12-27.

