

اثرات هیستوپاتولوژی و بیوشیمیایی تیامین بر کبد موش‌های مواجهه شده با اکسید مس و نانوذره اکسید مس

فتاحیان دهکردی^{۱*}، محمدسعید حیدرنژاد^۲، عبدالناصر محبی^۳ و فتانه مسیبی^۲

^۱ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، بخش علوم پایه

^۲ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم، بخش زیست‌شناسی

^۳ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، بخش علوم درمانگاهی

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱۵

چکیده

هدف، ارزیابی اثرات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی تیامین به دنبال تجویز همزمان اکسید مس و نانوذره‌ی اکسید مس بر کبد موش بود. در مجموع ۳۰ سر موش بالغ به‌طور تصادفی به ۵ گروه (در هر گروه ۶ موش) تقسیم‌شده و سه بازه‌ی زمانی صفر، ۱۰ و ۲۰ روزه مدنظر قرارگرفت. گروه A به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. مقدار 0.2 mg/kg از اکسید مس و نانوذره‌ی اکسید مس به ترتیب، به موش‌های گروه‌های B و C به شکل داخل صفاقی تزریق شد. موش‌های گروه‌های D و E همین مقدار از اکسید مس و نانوذره‌ی آن را همراه با تیامین (30 mg/l) دریافت کردند. نتایج حاکی از نفوذ گلبول‌های قرمز خون به سینوزوئیدهای کبدی و نفوذ سلول‌های آماسی از نوع نتروفیل و لنفوسیت در اطراف وریدهای پورت در گروه‌های B و C بود. این اختلالات در گروه‌های دریافت‌کننده تیامین کمتر مشهود بود تا اندازه‌ای که به گروه کنترل نزدیک شده بودند. اختلافات معنی‌داری در مقادیر کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز در گروه‌های B و C روز ۲۰ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. مقادیر TBARS در گروه‌های B و C در روزهای ۱۰ و ۲۰ و در گروه E در روز ۲۰ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافته بود. به‌طورکلی مطالعه‌ی حاضر نشان داد که نانوذره‌ی اکسید مس سبب آسیب به کبد و تجویز همزمان تیامین کاهنده‌ی این اثرات بود.

واژه‌های کلیدی: تیامین، موش، اکسید مس، نانوذره‌ی اکسید مس، کبد 03832324427

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۸۳۲۳۲۴۴۲۷، پست الکترونیکی: fatahian_1349@yahoo.com

مقدمه

می‌دهند، این درحالی است که در نانوذرات بیشترین اتم‌ها در نزدیک یا حتی روی سطح ماده قرار می‌گیرند (۵). شواهد زیادی از ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی منحصربه‌فرد نانوذرات وجود دارد، که به علت کاربرد فزاینده‌ی آن‌ها در مصارف صنعتی، ممکن است اثرات مخربی را بر ساختار ارگانسیم‌های زنده به‌همراه داشته باشند. به‌علت افزایش تولید روزافزون نانوذرات و احتمال در معرض قرارگیری شغلی و محیطی به این مواد، موسساتی مثل EU فعالیت خود را بر ارزیابی سلامت

آثار و دست‌نوشته‌های علمی، نانوذرات مهندسی شده (مصنوعی یا ساخت دست بشر) معمولاً ذراتی هستند که با ابعاد حداقل بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر مشخص می‌شوند (۳). در مقیاس نانو، مواد دارای ویژگی‌های منحصربه‌فرد و متمایزی بوده که در مقایسه با ساختار اولیه‌ی جسمی خود (میکروسایز)، مساحت نسبی گسترده‌ای داشته و این خصیصه واکنش‌پذیری نانومواد را افزایش می‌دهد (۲۲). موادی که دارای ساختار میکروسایز می‌باشند، اتم‌های سطحی آن‌ها تنها درصد کمی از تعداد کل اتم‌ها را تشکیل

انسان و خطرات محیطی پس از در معرض قرارگرفتن با این مواد، معطوف کرده‌اند (۳).

در بدن انسان مس نقش مهمی در حفظ هموستاز دارد (۱۰). اگر میزان مس دریافتی بیش از طیف وسیع تحمل انسان باشد باعث اثرات سمی، همولیز، یرقان و حتی مرگ می‌شود. سمیت حاد عنصر مس می‌تواند به دنبال مصرف حلال‌های $CUSO_4$ در قارچ‌کش‌ها و کشنده‌های خزها باشد. مس غشای مخاطی دستگاه گوارش را از بین می‌برد و نکروز کبدی ایجاد می‌کند. نانوذرات اکسید فلزی، براساس نسبت سطح به حجم، خاصیت‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند (۱۷ و ۲۳).

نانوذرات اکسید فلزی به علت یکسری از ویژگی‌های مخصوص، توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. این ویژگی‌ها به علت کاربرد این مواد در نانوآبزارها، نانوالکترونیک، نانوحسگرها و ذخیره سازی اطلاعات می‌باشد. امروزه نانوذرات مصنوعی به طور فزاینده‌ای در صنایع تولید می‌شوند. این نانوذرات به‌ناچار در زمان تولید، حمل‌ونقل و مصرف به محیط‌زیست آزاد می‌شوند و باعث خطرات زیست‌محیطی و بهداشتی می‌گردند. به‌خصوص نانوذرات مس (CuO nanoparticles)، با توجه به خواص نوری و الکترونیکی عالی خود و استفاده‌های گسترده در زمینه‌ی لاستیک، کارخانه‌های ذوب، ایستگاه‌های برق و سوخت‌های سلولی، خطرات بیشتری ایجاد می‌کنند (۹، ۱۹، ۲۰ و ۲۸). باوجوداین، انتشار نانوذرات اکسید مس به محیط باید کنترل شود که مستلزم درک بهتر در مورد اکسید مس، حمل‌ونقل، و حلالیت نانوذرات اکسید مس است (۲۵). نانوذرات اکسید مس برای انسان بسیار سمی می‌باشند و در مقایسه با دیگر نانوذرات اکسید فلزی و نانوتیوپ‌های کربنی، نانوذرات اکسید مس بالاترین پتانسیل سمیت را نشان می‌دهند که باعث تخریب DNA و ضایعات اکسیداتیو در DNA می‌گردند (۱۴).

تیامین یک عضو از خانواده‌ی ویتامین B و محلول در آب است که اولین بار در سال ۱۹۱۲ کشف شد و در سال ۱۹۲۶ خالص‌سازی گردید. در گیاهان تیامین در برگ‌ها سنتز شده و به سمت ریشه جایی که رشد کنترل می‌شود رفته و یک عمل هورمون مانند دارد. در حیوانات تیامین نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها ایفا می‌کند (۲۴). هیچ مسیری برای بیوسنتز تیامین یا همان ویتامین B1 در سلول‌های پستانداران وجود ندارد. از این‌رو باید در رژیم غذایی مصرف گردد. تیامین به طور گسترده در غذاها توزیع شده اما فقط شامل غلظت کمی از این ویتامین هستند. غنی‌ترین منابع این ویتامین، مخمرها هستند و همچنین در کبد، به‌خصوص در کبد خوک نیز یافت می‌شود (۱۳). تیامین آزادشده در بدن در قسمت بالای روده‌ی کوچک، به‌وسیله فعالیت فسفاتاز و پیروفسفاتاز از دو طریق جذب می‌شود. تیامین در خون به‌وسیله انتقال فعال جذب می‌شود. به نظر می‌رسد که جذب و ترشح تیامین از طریق انتقال‌دهنده‌های تیامین $Thtr1$ و $Thtr2$ انجام شود (۷). هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثرات تیامین پس از تجویز داخل صفاقی اکسید مس و نانوذره‌ی آن می‌باشد.

مواد و روشها

تهیه حیوانات: تعداد ۳۰ سر موش سفید آزمایشگاهی، جنس ماده و با وزن تقریبی 23 ± 0.2 گرم از دانشگاه علوم پزشکی تهیه و به مدت یک هفته برای سازگار شدن با محیط آزمایشگاه در دمای 1 ± 20 درجه‌ی سانتی‌گراد با چرخه‌ی روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش‌ها را در محفظه‌های شیشه‌ای که در کف آن‌ها خاک اره ریخته شده بود، قرارداد و به‌منظور پیشگیری از هرگونه آلودگی، خاک اره و محیط زندگی آن‌ها هر ۳ روز یکبار تمیز می‌شد. تغذیه‌ی موش‌ها با استفاده از مواد غذایی آماده‌ی استاندارد، شامل ۲۰٪ پروتئین، ۵۰٪

نشاسته، ۱۰٪ سلولز، ۱۵٪ چربی و ۵٪ املاح و ویتامین صورت گرفت.

تهیه نانوذره اکسید مس: نانوذرات اکسید مس از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان واقع در مشهد خریداری گردید. مشخصات این نانو پودر به صورت زیر می‌باشد.

جدول ۱- مشخصات نانو ذرات اکسید مس

نوع نانوذره	اکسید مس (copper oxide)
درصد خلوص	+۹۹
اندازه نانوذره	40 nm
سطح ویژه	20 m ² /g
رنگ نانوذره	سیاه
شکل کریستالی	نزدیک به کروی
چگالی واقعی	6.4 g/cm ³

گروه بندی: پس از اتمام دوره‌ی دوهفته‌ای سازگار شدن موش‌ها با محیط، گروه‌بندی حیوانات به صورت کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. پس از گروه‌بندی، تزریق مواد در گروه‌های حیوانی، در ۱۰ و ۲۰ روزگی و به صورت درون صفاقی انجام گرفت. به این صورت که در هر گروه ابتدا پس از ۱۰ روز و به دنبال آن در روز ۲۰ (انتهای آزمایش) نمونه‌گیری انجام گرفت.

موش‌ها به طور تصادفی در ۵ گروه ۶ تایی به شرح زیر قرارگرفتند:

گروه A: حیوانات گروه A به عنوان گروه کنترل مدنظر قرارگرفتند و دوز مشخصی از آب مقطر دریافت کردند.

گروه B: حیوانات در گروه B با غلظت ۰/۲ mg/kg از نانو ذرات اکسید مس تیمار شدند.

گروه C: گروه C یون اکسید مس را در غلظت ۰/۲ mg/kg دریافت کردند.

گروه D: گروه D نانوذرات اکسید مس را با غلظت mg/kg ۰/۲ به طور هم‌زمان با تیامین با غلظت ۳۰ mg/L دریافت کردند.

گروه E: گروه E یون اکسید مس را با غلظت ۰/۲ mg/kg به طور هم‌زمان با تیامین با غلظت ۳۰ mg/L دریافت کردند.

خون‌گیری: نمونه‌گیری در هر گروه ۲ بار صورت پذیرفت، ابتدا ۱۰ روز پس از تزریق و سرانجام در ۲۰ روزگی (انتهای آزمایش)، جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پس از بیهوشی حیوان خون‌گیری به طور مستقیم توسط سرنگ استریل از قلب موش‌ها انجام گرفت. نمونه‌های خون، در آزمایشگاه قرارداد شده و پس از لخته شدن، سرم آن‌ها را جدا کرده و در دمای ۷۰- درجه، تا زمان اندازه‌گیری فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و TBARS) نگاه‌داری شدند و همچنین در انتهای هرکدام از دوره‌ها، موش‌ها تشریح شده و بافت کبد برای تهیه‌ی اسلایدهای بافتی خارج گردید.

سنجش وضعیت شاخص‌های استرس اکسیداتیو

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها: سنجش مالون دی آلدهید سرم یا همان TBARS به روش رنگ‌سنجی انجام گرفت. ۱۰۰۰ میکرولیتر از سرم با ۲ میلی‌لیتر از معرف مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش قرارداد شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها، لوله‌ها با دور ۱۵۰۰ بر دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. جذب نوری در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید (۴).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه سرم را با ۱ میلی‌لیتر از محلول واکنش به مدت یک دقیقه در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. جذب نوری محلول زرد رنگ حاصله در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت گردیده و با بلانک مقایسه شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز از روش احیاء رنگ نیترو بلو تترازولیوم استفاده شد. ۲۰۰ میکرولیتر از سرم موش به ۲/۴۵ میلی‌لیتر از معرف اضافه‌شده و به مدت ۲۰

حالت طبیعی خود خارج گردیده و متسع شده است. در داخل بافت همبند نفوذ سلول‌های خونی قرمز که نشان‌دهنده‌ی علائمی از خونریزی است مشاهده گردید. هسته‌ی سلول‌های کبدی پیوستگی خود را ازدست‌داده و سیتوپلاسم به‌صورت پراکنده رؤیت شد (شکل‌های ۳ و ۴). با بالا رفتن شمار روزهای تزریقی نانوذرات اکسید مس به موش‌ها در روز ۲۰، ورید پورت متسع شده و در اطراف ورید پورت نفوذ سلول‌های آماسی از نوع نوتروفیل (دارای هسته‌ی سه‌قسمتی) و لنفوسیت (هسته‌ی تک قطعه‌ای) مشاهده گردید. سینوزوئیدها در بین لایه‌های سلولی هپاتوسیتی متسع گردیده و در برخی از سلول‌ها سیتوپلاسم واکوئله شده بود (شکل‌های ۵ و ۶). در گروه دریافت‌کننده اکسید مس در روز ۱۰، اکسید مس به‌صورت قابل‌ملاحظه‌ای سبب نفوذ سلول‌های خونی به ساختار پورت گردید و ورید مرکزی در قسمت لایه‌ای اندوتلیال از هم‌گسیخته شده بود. همین حالت در روز ۲۰ نیز مشاهده شد (شکل‌های ۷ و ۸). در گروه موش‌های تیمار شده با نانوذره و تیمار در روز ۱۰ اثر محافظتی تیمار مشاهده گردید، به‌صورتی که نفوذ سلول‌های خونی قرمز به داخل بافت کمتر شد ولی در روز ۲۰ اثر محافظتی تیمار نقش کمتری داشت و اثر تخریبی نانوذرات در بافت کبد قابل‌مشاهده بود (شکل‌های ۹ و ۱۰). اثر محافظتی تیمار در گروه اکسید مس مشهودتر بوده، به‌صورتی که سلول‌های سنگفرشی کپسول نظم خود را حفظ کرده‌اند و از نفوذ سلول‌های آماسی تا حد زیادی کاسته شده بود و در روز ۲۰ هم همین شرایط مشاهده شد (شکل‌های ۱۱ و ۱۲).

نتایج سنجش بیوشیمیایی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو سرم خون: نتایج آنالیز داده‌های حاصل از سنجش فاکتورهای سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو نشان داد که سطح آنزیم کاتالاز در گروه‌های تیمار شده با نانوذره‌ی اکسید مس در اکسید مس روز ۲۰ کاهش یافته و دارای تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد و همچنین در

دقیقه در داخل حمام آب گرم (۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد) قرارگرفت. سپس جذب نوری در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر قرائت گردید (۲۹).

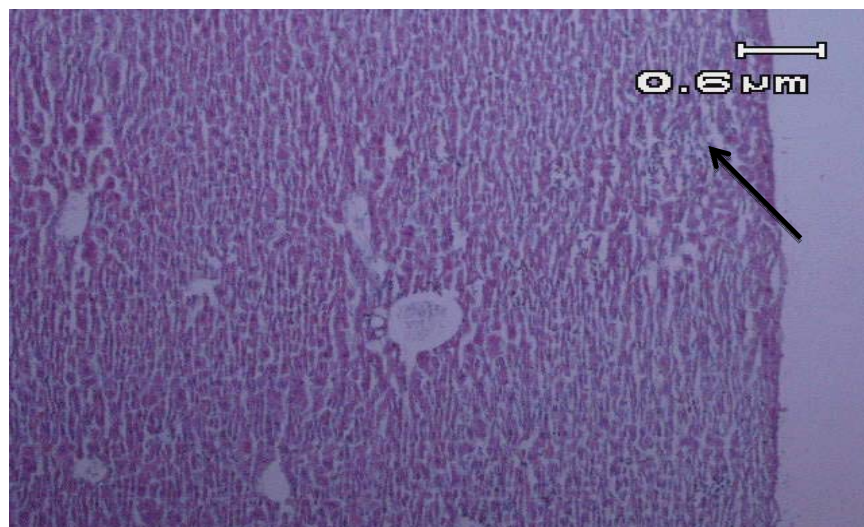
روش تهیه‌ی مقاطع بافتی: پس از تشریح، نمونه‌های بافت موردنظر (کبد) را داخل فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت برای نفوذ بهتر به داخل بافت، فرمالین تعویض شد و با استفاده از الکل اتانول آبگیری و با استفاده از ماده شفاف‌کننده تولوئن، شفاف‌سازی انجام شد. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و اسلایدهای بافتی در اندازه‌ی حدود ۵ میکرون مقطع‌گیری شدند. سرانجام مقاطع بافتی تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری Olympus مورد ارزیابی قرارگرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: برای مقایسه‌ی داده‌ها بین گروه‌های تیمار و شاهد از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از روش واریانس یک‌طرفه و سپس آزمون LSD برای مقایسه‌ی میانگین‌های مربوط به گروه کنترل با هریک از گروه‌های تیمار انجام شد و نتایج $means \pm SEM$ نمایش داده شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح احتمال ($P < 0/05$) بررسی شد.

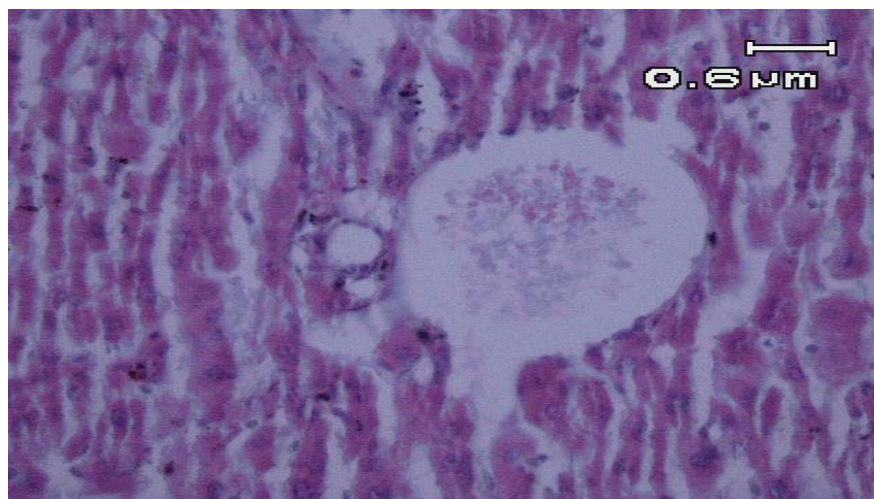
نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی: نتایج به‌دست‌آمده از تصاویر نشان داد که در گروه موش‌های شاهد، ساختار کبد دارای حالت نرمال است به‌صورتی که ساختار کبد توسط کپسولی از بافت همبند به نام گلیسون احاطه‌شده و ساختار پورت به‌صورت نرمال و طبیعی خود همراه با شریان کبدی، ورید پورت و مجاری صفراوی مشاهده گردید. هپاتوسیت‌ها به‌صورت منظم و ردیفی قابل‌مشاهده بوده و در بین ردیف‌های هپاتوسیتی سینوزوئیدها نمایان بود (شکل‌های ۱ و ۲). بررسی تصاویر از گروه موش‌های دریافت‌کننده نانوذرات اکسید مس در روز ۱۰ نشان داد که ساختار بافت کبد نظم خود را ازدست‌داده، به‌صورتی که ورید پورت از

مقایسه با روز صفر می‌باشد. در سایر گروه‌ها نتایج آنالیز آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱، نمودارهای ۱ و ۲).



شکل ۱-۳ گروه A: ساختار بافت کبد در گروه موش‌های شاهد: ساختار کبد توسط بافت همبند (کپسول گلیسون) پوشیده شده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ×۲۰۰).



شکل ۲-۳ گروه A: ساختار بافت کبد در گروه موش‌های شاهد: ساختار پورت به صورت نرمال و طبیعی همراه با شریان کبدی، ورید پورت و مجرای صفراوی مشاهده گردید. هپاتوسیت‌ها به صورت منظم قابل مشاهده است و در بین ردیف‌های هپاتوسیتی سینوزوئیدها نمایان بودند (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ×۴۰۰).

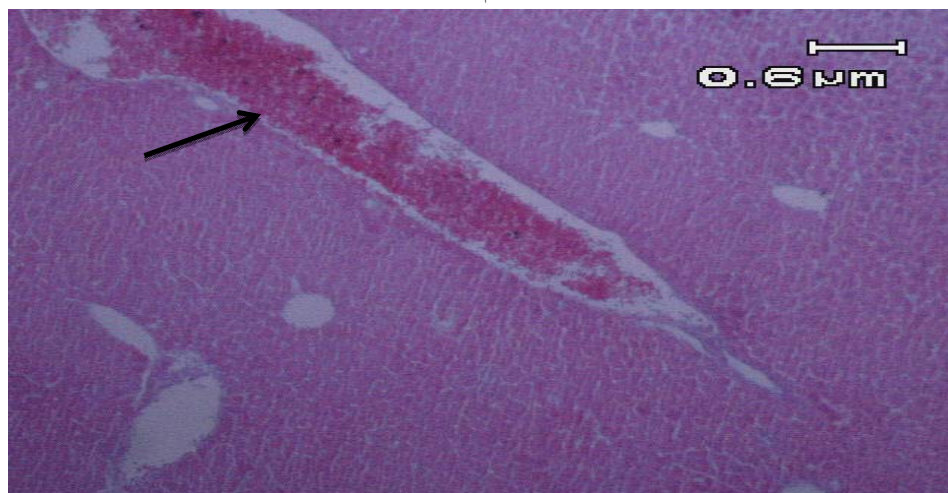
است. آنالیز آماری بیانگر افزایش سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به گروه شاهد در روز ۲۰ در گروه‌های تزریق‌شده با نانوذره و اکسید مس است (جدول ۲، نمودارهای ۳ و ۴).

نتایج آنالیز داده‌های حاصل از سنجش فاکتورهای سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو نشان داد که سطح سوپراکسید دیسموتاز در تمامی گروه‌ها در روز ۱۰ هیچ‌گونه تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشته

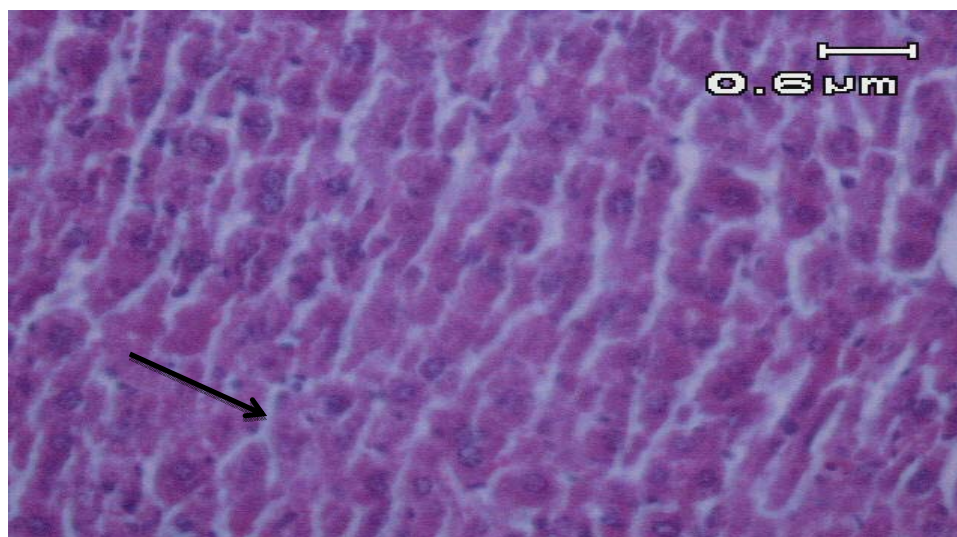
جدول ۳-۱ تغییرات فعالیت کاتالاز در طول روزهای مختلف نمونه‌برداری

پارامتر	روز	گروه A (کنترل)	گروه B (نانو اکسید مس)	گروه C (اکسید مس)	گروه D (نانو + تیامین)	گروه E (اکسید مس + تیامین)
	۰	۱۷۳/۸±۵۷/۲۹۰	۱۷۲/۷±۸۵/۹۵	۱۷۳/۸±۲۶/۱۷	۱۷۳/۷±۷۲/۸۷	۱۷۲/۸±۹۰/۰۱
کاتالاز	۱۰	۱۷۳/۸±۵۷/۲۹۰	۱۴۷/۱±۰۵/۴۸۷	۱۴۶/۳±۵۹/۶۵	۱۵۲/۱±۷۸۷/۱۱۳	۱۵۴/۱±۵۹۸/۷۰۱
	۲۰	۱۷۲/۷±۸۲/۶۹	۱۳۹/۳۰±۱۷/۵۶ ^{*,**}	۱۳۰/۳۴±۳/۴۴ ^{*,**}	۱۵۲/۱۵±۳۳/۵۶	۱۴۷/۱۴±۱۵/۰۶
مقدار p		>۰/۰۵	<۰/۰۵	<۰/۰۵	>۰/۰۵	>۰/۰۵

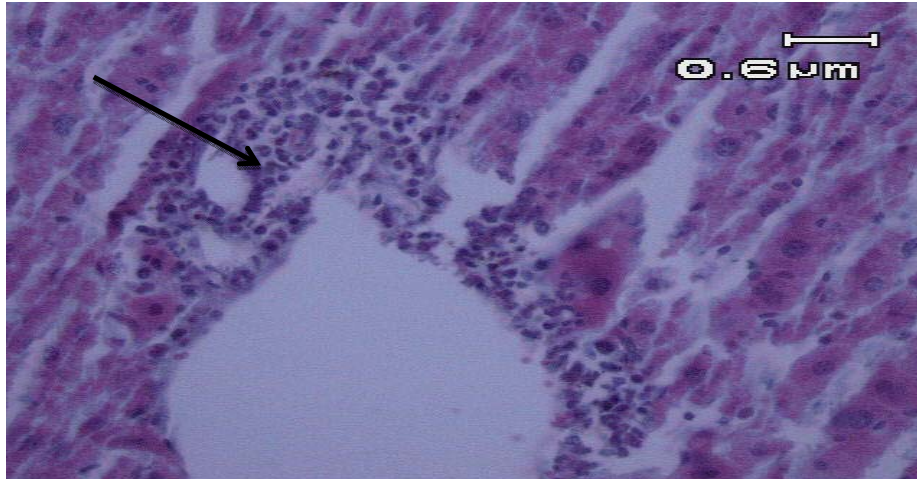
داده‌ها به صورت میانگین \pm SEM آورده شده‌اند. $p < 0.05$ ، کاهش معنی دار نسبت به روز ۰ و $p < 0.05$ ** کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد. واحد تغییرات فعالیت کاتالاز: واحد بین المللی بر میلی‌گرم پروتئین (U/mg protein) می‌باشد.



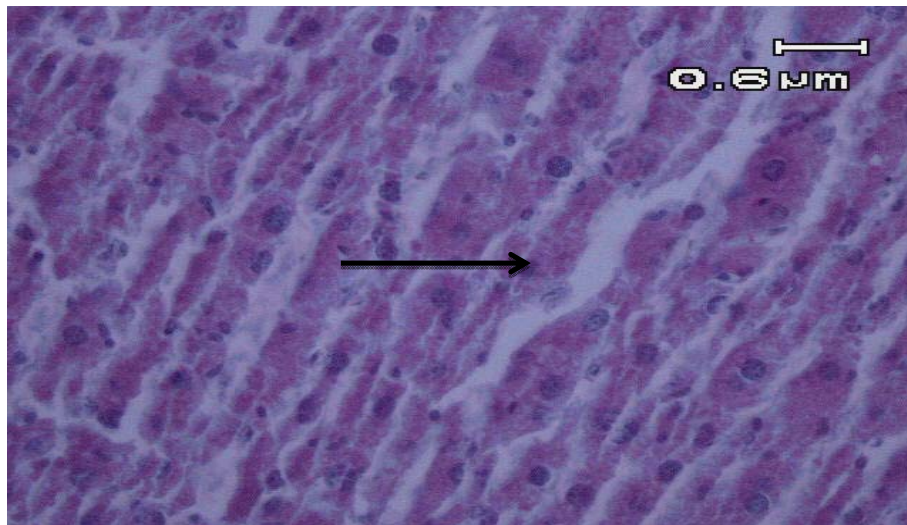
شکل ۳-۳: گروه B، ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی با نانو ذره اکسید مس در روز ۱۰: در مناطق عروقی اطراف هپاتوسیت‌ها نفوذ بیشمار سلول‌های خونی قرمز که نشان دهنده خونریزی داخل کبدی می‌باشد، مشاهده شد (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی $\times 200$)



شکل ۳-۴: گروه B، ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی با نانوذره اکسید مس در روز ۱۰، هسته در برخی از سلول‌ها پیوستگی خود را از دست داده و سیتوپلاسم به صورت پراکنده در داخل سلول قابل مشاهده بود. (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی $\times 400$)



شکل ۳-۵ گروه B ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی با نانو ذره اکسید مس در روز ۲۰، ورید پورت متسع گشته و نفوذ سلول‌های آماسی از نوع نوتروفیل (هسته چند قطعه‌ای) و لنفوسیت (هسته تک قطعه‌ای) مشاهده شد. (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ×۲۰۰)

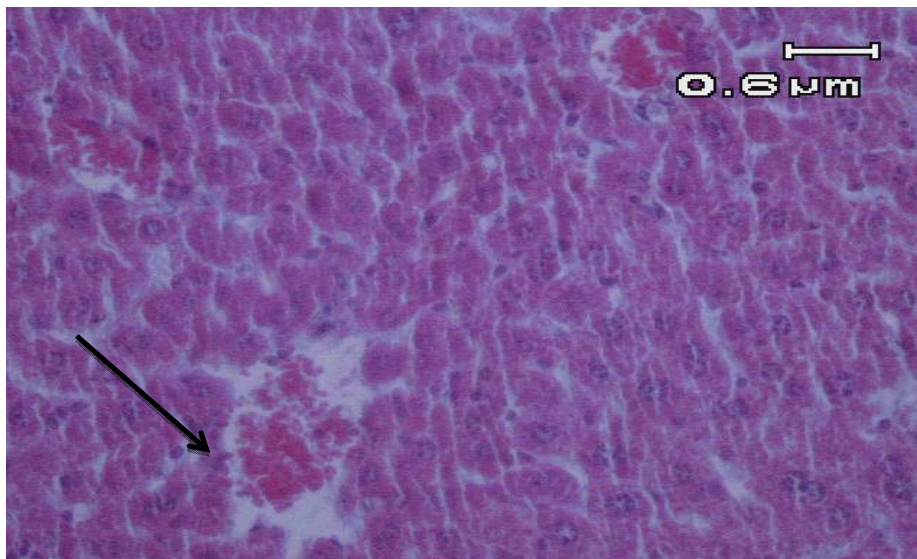


شکل ۳-۶ گروه B ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی با نانو ذره اکسید مس در روز ۲۰، سینوزوئیدها در بین لایه‌های سلولی هیپاتوسیستی متسع گردیده و در برخی از سلول‌ها سیتوپلاسم واکوئله شده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ×۴۰۰)

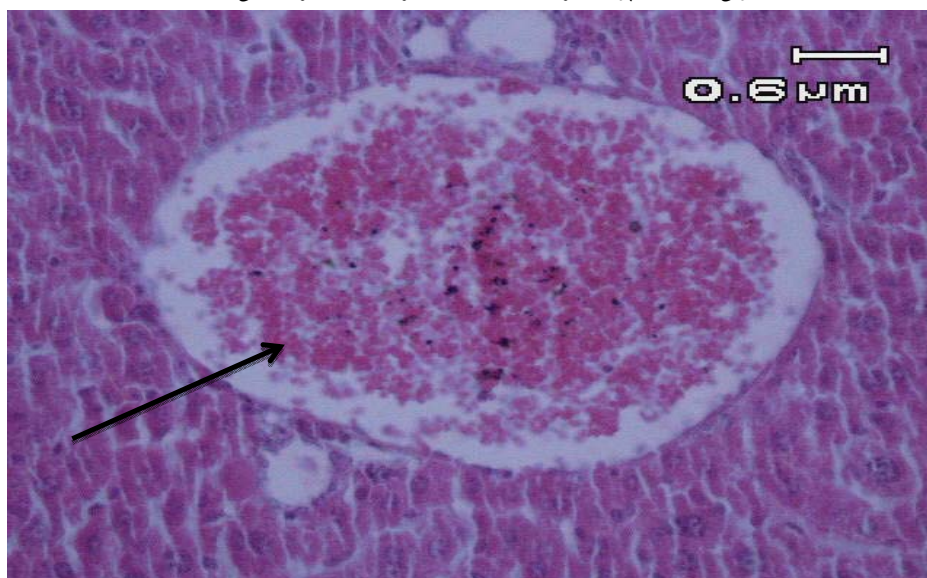
جدول ۲-۳ تغییرات فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در طول روزهای مختلف نمونه برداری

پارامتر	روز	گروه A (کنترل)	گروه B (نانو اکسید مس)	گروه C (اکسید مس)	گروه D (نانو + تیمین)	گروه E (اکسید مس + تیمین)
سوپراکسید دیسموتاز	۰	۲۴/۴±۱۳/۵۸	۲۴/۴±۱۳/۵۸	۲۴/۴±۱۳/۵۸	۲۴/۴±۱۳/۵۸	۲۴/۴±۱۳/۵۸
	۱۰	۲۴/۴±۱۳۳/۵۸	۲۸/۱±۰۰/۲۸	۳۰/۴±۰۰/۱۶	۴۱/۳۷±۴۶/۳۶	۳۵/۶±۰۶/۳۴
	۲۰	۲۴/۴±۱۳۳/۵۸	۴۰/۶۶۷±۳/۸۱ ^{*,**}	۴۱/۲۰۰±۳/۸۸ ^{*,**}	۴۰/۵±۲۶/۷۷	۳۶/۱±۲۶۷/۱۸
مقدار p		>۰/۰۵	<۰/۰۵	<۰/۰۵	>۰/۰۵	>۰/۰۵

داده‌ها به صورت میانگین ± SEM آورده شده‌اند، *p<۰/۰۵، **افزایش معنی دار نسبت به روز ۰ و <math>p<۰/۰۰۵</math> **افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۷ گروه C: ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی با اکسید مس در روز ۱۰، اکسید مس به صورت قابل ملاحظه‌ای سبب نفوذ سلول‌های خونی به ساختار پورت گردیده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۲۰۰×)

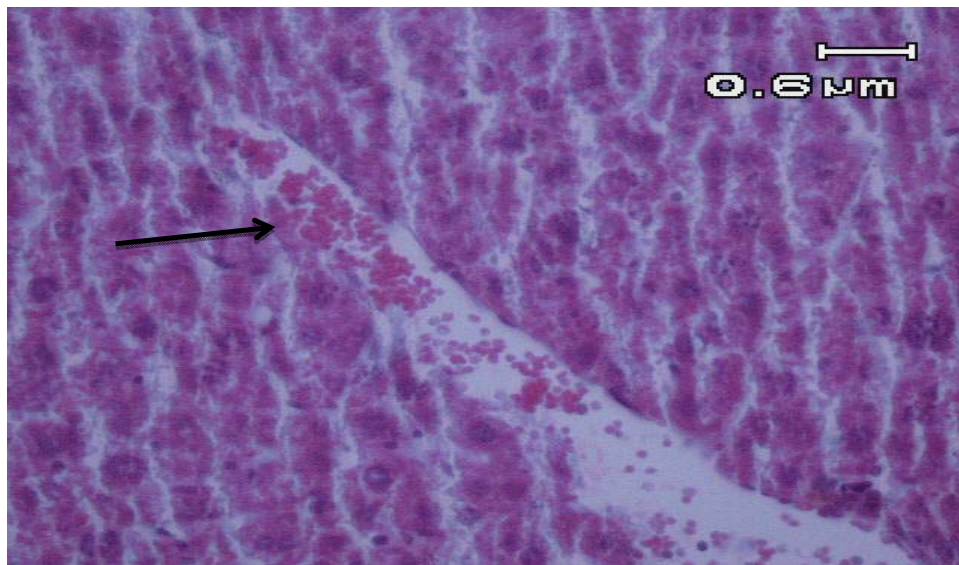


شکل ۳-۸ گروه C ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی با اکسید مس در روز ۲۰، نفوذ سلول‌های خونی به داخل پورت مشاهده شده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰۰×)

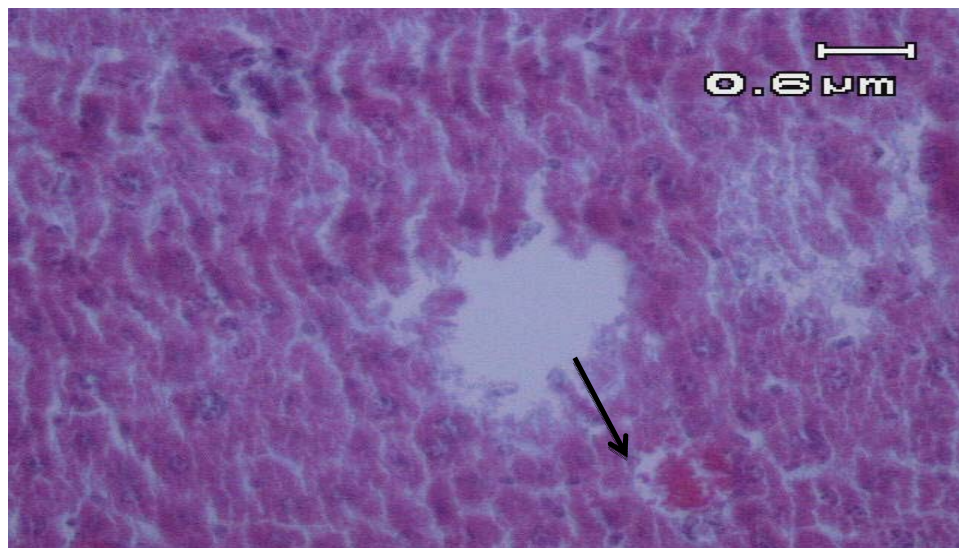
جدول ۳-۳ تغییرات فعالیت TBARS طول روزهای مختلف نمونه‌برداری

پارامتر	روز	گروه A (کنترل)	گروه B (نانو اکسید مس)	گروه C (اکسید مس)	گروه D (نانو + تیامین)	گروه E (اکسید مس + تیامین)
TBARS	۰	۳/۰±۰/۱/۰۱	۳/۰±۱۲/۰۳	۳/۰±۲۴/۰۲	۳/۰±۳۰/۰۴	۳/۰±۲۰/۰۳
	۱۰	۳/۰±۲۲/۰۳	۵/۲۳±۰/۳۶*	۵/۲۶±۰/۱۳*	۳/۰±۲۱/۳۰	۳/۰±۱۳/۱۷
	۲۰	۳/۰±۲۳/۰۴	۵/۱۹±۰/۵۴*	۵/۲۷±۰/۳۵*	۳/۰±۱۹/۲۸	۵/۰۰±۰/۳۵*
مقدار p		>۰/۰۵	<۰/۰۵	<۰/۰۵	>۰/۰۵	>۰/۰۵

داده‌ها به صورت میانگین ± SEM آورده شده‌اند، *p<۰/۰۵، افزایش معنی دار نسبت به روز ۰ و گروه کنترل



شکل ۳-۹ گروه D: ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی نانو ذره به همراه تیامین در روز ۱۰، نفوذ سلول‌های آماسی و سلول‌های خونی قرمز به داخل پورت بیانگر اثر محافظتی بسیار کم تیامین در برابر نانو ذره است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۲۰۰×)



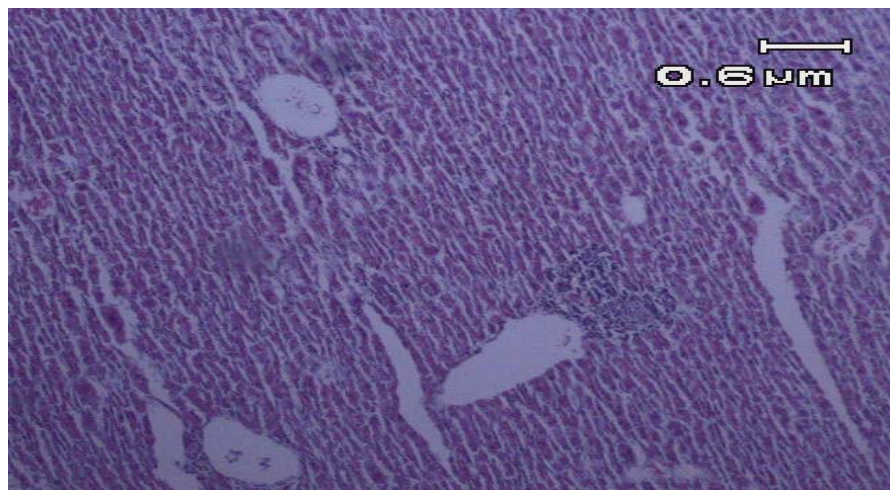
شکل ۳-۱۰ گروه D: ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی نانو ذره به همراه تیامین در روز ۲۰، پرخونی شدید در داخل پورت اثر محافظتی بسیار کم تیامین را بیان می‌کند (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰۰×).

افزایش یافته و میزان این فعالیت در گروه‌های تیمار شده با ویتامین تیامین در روز ۲۰، نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. این اختلاف در سطح ($P < 0/05$) معنی‌دار است (جدول ۳، نمودارهای ۵ و ۶).

نتایج آنالیز داده‌های مربوط به سنجش پراکسیداسیون لیپیدی نشان داده که با تزریق نانو ذره اکسید مس و هم‌چنین یون اکسید مس در هر دو بازه زمانی ۱۰ و ۲۰ روز سطح فعالیت TBARS نسبت به گروه شاهد



شکل ۳-۱۱ گروه E: گروه تیمار تزریقی با اکسید مس به همراه تیمار در روز ۱۰، نقش محافظتی تیمار در لایه جداری کپسول به خوبی نمایان است سلول‌های سنگفرشی کپسول دارای نظم بوده و از نفوذ سلول‌های آماسی جلوگیری شده است (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ×۲۰۰)

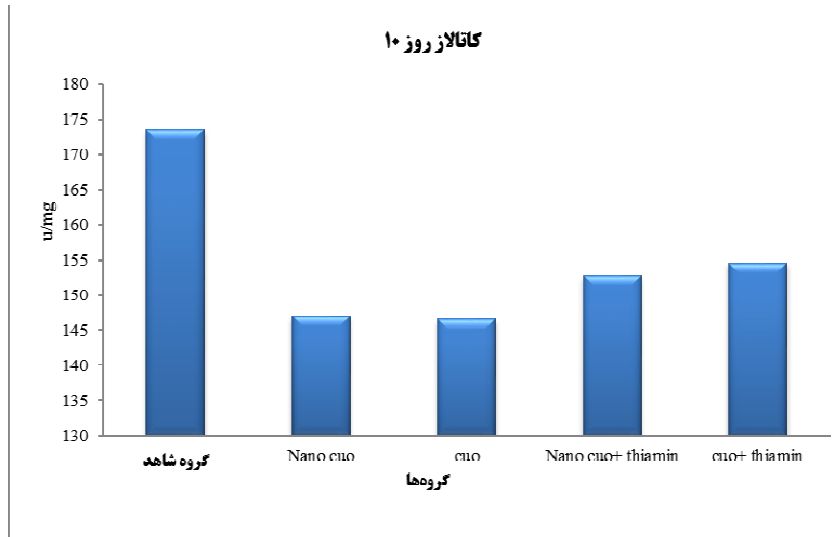


شکل ۳-۱۲ گروه E: گروه تیمار تزریقی با اکسید مس به همراه تیمار در روز ۲۰، در این گروه تا حدی تیمار از تخریب بافتی جلوگیری کرده است ولی نه به صورت کامل و نفوذ سلول‌های خونی اتفاق افتاده است. (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ×۴۰۰)

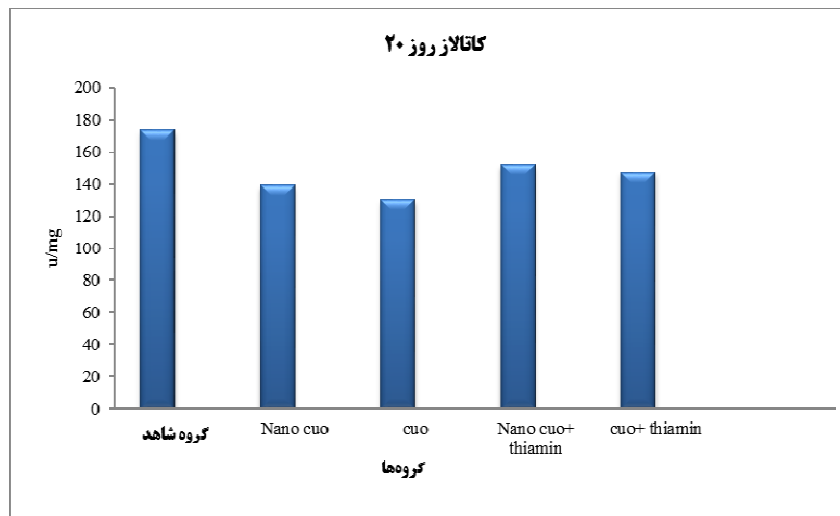
بحث

مختلف (مانند پساب، نشت در طول حمل و نقل و دست زدن) وارد محیط زیست و بدن انسان می‌شوند. تحقیقات اخیر بر فعالیت نانو ذرات اکسید مس پس از تزریق درون صفاقی نشان داده است که اثر نانو ذرات در موجودات به دوز مورد استفاده بستگی دارد (۱۱).

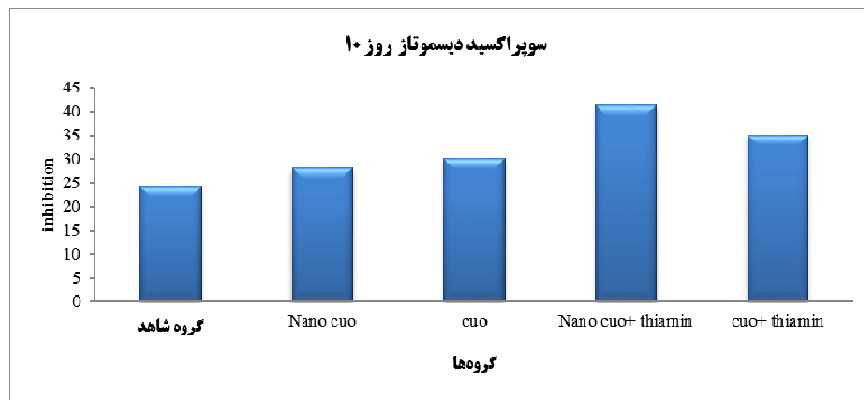
هیستولوژی: در این مطالعه به بررسی اثر سمیت نانو ذرات اکسید مس و یون اکسید مس و همچنین بررسی اثر محافظتی تیمار در برابر این گونه ذرات پرداخته شد. نانو ذرات مس شبیه به نانو ذرات فلزی دیگر از طریق راه‌های



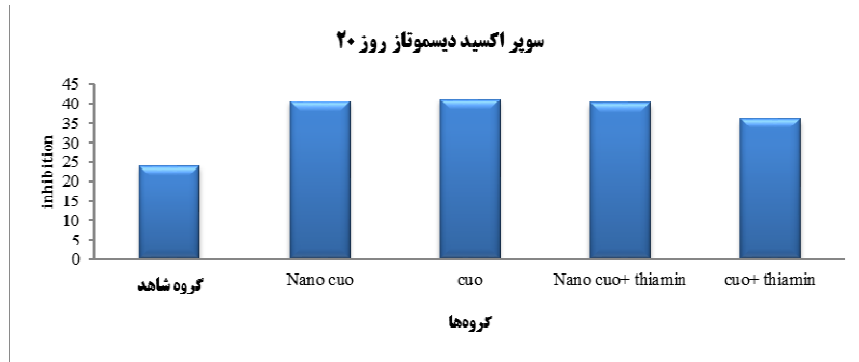
نمودار ۱-۳- فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای مختلف، روز ۱۰



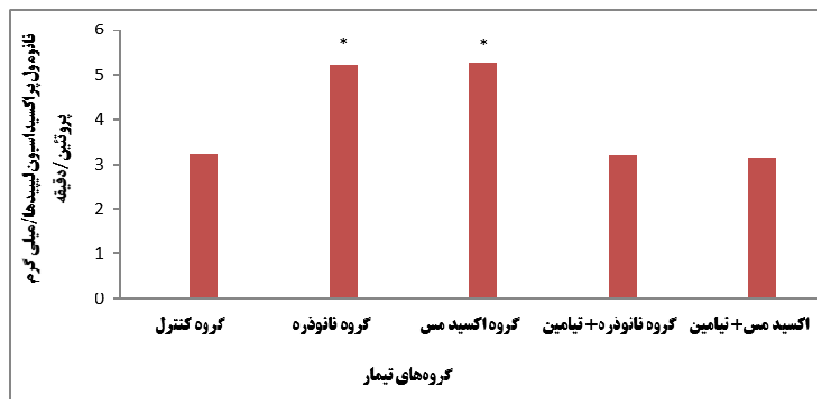
نمودار ۲-۳- فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای مختلف، روز ۲۰



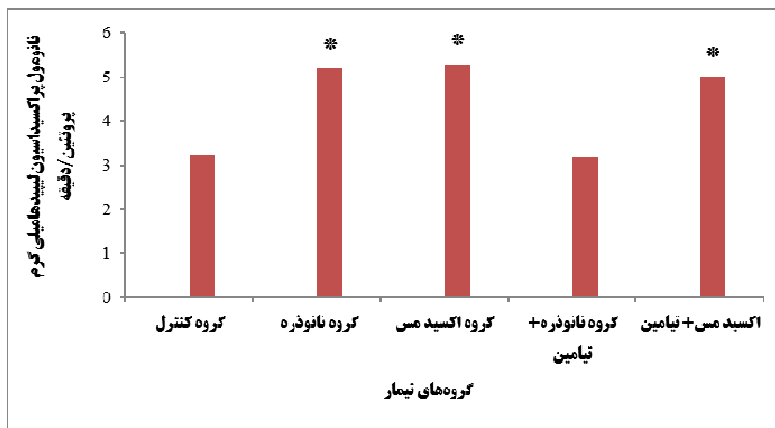
نمودار ۳-۳- فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در تیمارهای مختلف در روز ۱۰



نمودار ۳-۴ فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در تیمارهای مختلف در روز ۲۰



نمودار ۳-۵ فعالیت TBARS در تیمارهای مختلف در روز ۱۰



نمودار ۳-۵ فعالیت TBARS در تیمارهای مختلف در روز ۲۰

نانو ذرات با قطر ۲۳/۵ نانومتر اثرات سم‌شناسی را پس از جذب در کبد کلیه و طحال بر روی موش آزمایشگاهی ایجاد می‌کند (۶). در این مطالعه دوز موردنظر ۰/۲ mg/kg از وزن بدن بوده، که در دو بازه‌ی زمانی، به مدت ۱۰ و ۲۰

در مطالعه‌ی دیگری که توسط حاجی رحیمی و همکاران صورت گرفت مشخص گردید که در آبزبان مقادیر کم نانوذرات روی و آهن در کبد اثرات سوء بافتی دارند (۱۲). نتایج مطالعات به‌وسیله‌ی چن و همکاران نیز نشان داد که

ذرات مس در دوزهای ۵۰ یا ۱۰۰ کمتر از دوز ۲۰۰ است و نانوذرات مس در دوز ۲۰۰ باعث سمیت کبدی و کلیوی شدید برای مدت ۵ روز می‌گردد. که به طور عمده باعث نکروز کبدی می‌شود و انحطاط در لوله‌ی پروگزیمال در کلیه را باعث می‌شود. تغییرات واضح در عصاره‌ی آبی کبد عبارتند از: افزایش تولید لاکتات و کراتین، همراه با کاهش سطح تورین (۱۶).

در این مطالعه اثرات حفاظتی تیمین بر بافت کبد به مقدار بسیار کمی مشاهده گردید در صورتی که نتوانسته بود از تخریب بافت کبد در برابر نانوذرات به طور کامل جلوگیری کند. در پژوهش دیگری نتایج درمان روزانه با تیمین در دوز (۲۵ یا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن) و همچنین درمان با کلسیم اتیل ترا استات در دوز (۵۰ میلی‌گرم از وزن بدن) و یا ترکیب آن‌ها برای ۸ هفته در موش‌های تحت درمان با ۱۰۰ ppm سرب، حاکی از آن بود که تیمین به‌تنهایی و یا در ترکیب با کلسیم اتیل دی آمین ترا استات میزان سرب را در خون و بافت‌های مختلف کبد و کلیه کاهش می‌دهد و به نظر می‌رسد تیمین مانع از رسوب یا احتباس سرب در کبد و کلیه شود. هرچند که مکانیسم اثر متقابل سرب و تیمین مبهم باقی‌مانده است و احتمالاً تیمین باعث افزایش دفع سرب و اختلال در روند جذب آن می‌شود (۱۵، ۲۱ و ۲۳).

بیومارکرهای استرس اکسیداتیو: گزارش شده است که سمیت نانوذرات بستگی به آسیب استرس اکسیداتیو به DNA دارد، باین‌حال مکانیسم‌های دیگری نیز باید در نظر گرفته شود، به‌عنوان مثال تخریب غشای سلولی و اندامک‌ها که به طور بالقوه باعث تسهیل در انتقال عوامل سمی می‌گردد و سمیت و آلرژی را نیز امکان‌پذیر می‌کند (۲۳). در این مطالعه سطح آنزیم کاتالاز در گروه‌های تزریقی با نانوذره‌ی اکسید مس در اکسید مس روز ۲۰، نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. میزان این اختلاف در آنالیز آماری در سطح ($P < 0.05$) نسبت به گروه شاهد معنی‌دار

روزه به‌صورت درون صفاقی تزریق شد و نتایج، تخریب شدید کبدی را در هر دو نوع نانو اکسید مس و یون اکسید مس نشان داد، این مطالعه با یافته‌های فتحیان و همکاران نیز مطابقت دارد (۱ و ۱۰).

همچنین در مطالعه حاضر اثراتی از پرخونی شدید و علائم اپوپتوز در اپیتلیوم اطراف پورت مشهود بود و ورید پورت متسع گردید و نفوذ سلول‌های آماسی از نوع نوتروفیل و لنفوسیت مشاهده شد. از سوی دیگر برخی محققان آسیب‌های بافتی کبد ناشی از برخی نانوذرات را مورد بررسی قرار داده‌اند (۲).

براساس مشاهدات سیزووا و همکاران نیز نشان داده شد که ۳ ساعت پس از تزریق ۲ mg/kg از نانوذرات مس به داخل عضله، این نانوذرات می‌تواند در مناطق عروقی اطراف هپاتوسیت‌ها و در سیتوپلاسم سلول‌های کوپفر کبد موش مشاهده شود. باین‌حال آن‌ها در عرض ۳ روز پس از درمان ناپدید شدند. در سلول‌های کبدی دور پورت، علائم دژنراسیون هیدروپیک دیده شد. یک هفته پس از درمان، تکرار تزریق نانوذرات به داخل عضله، نانوذرات به طور عمده در بخش‌های عروقی دور پورت مشاهده شدند و یک روز پس از دومین تکرار تزریق نانو ذرات، نشانه انحطاط هیدروپیک در مناطق عروقی کبد قابل مشاهده بود. آن‌ها همچنین دریافتند که سمیت کبدی و کلیوی نانو ذرات مس در دوز ۶ mg/kg ظاهر می‌گردد. باین‌حال اپوپتوز را می‌توان در اپیتلیوم اطراف پورت و لوله‌ی کلیوی بعد از ۳ روز به‌وسیله‌ی ۳ بار تزریق از نانوذرات مس مشاهده کرد (۲۷).

لی و همکاران نیز ترکیبات بیوشیمیایی موجود در ادرار، سرم، و عصاره بافت کبد و کلیه را در رت‌های تحت درمان با دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ از نانو ذرات مس به مدت ۵ روز مورد مطالعه قرار دادند. تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی و بافت‌شناسی کبد و کلیه از تمام رت‌ها به طور همزمان انجام شد و نتایج نشان دادند که اثر نانو

کلیه از قبیل BUN (نیتروژن اوره خون)، AST (آسپاراتات آمینوترانسفراز) و ALT (آلانین آمینوترانسفراز) به این نتیجه رسیدند که فرارگرفتن در معرض آرسنیک منجر به درجه‌ای از پراکسیداسیون لیپیدی و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های مختلف موش و تغییرات بیوشیمیایی پلاسما می‌شود و درمان با تیامین و اسید آسکوربیک و متیونین از بافت بدن در مقابل خسارات اکسیداتیو جلوگیری می‌کند. نقش سودمند تیامین در کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو در این مطالعه ممکن است به علت پتانسیل خفیف آنتی‌اکسیدانی آن باشد و پیشنهاد می‌شود که گروه‌های سولفیدریل در بسته شدن کووالان با فلز و تشکیل آسان یک کمپلکس که از طریق صفرا حذف می‌شود نقش داشته باشند (۱۹). در پژوهش حاضر میزان آنزیم سوپراکسید دسموتاز در اثر تزریق نانوذره‌ی اکسید مس و اکسید مس در روز ۲۰ افزایش یافت. در پژوهشی دیگر که به بررسی اثر اسید آسکوربیک و مکمل تیامین در کبد موش‌های تحت تیمار با سرب پرداخته شد. پس از ۴۲ روز آزمون، آسیب سلول‌های DNA کبدی با استفاده از ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بررسی‌ها نشان داد که مصرف مزمن سرب در موش منجر به کاهش Hb (هموگلوبین)، GSH-PX (گلوتاتیون پراکسیداز) و SOD (سوپراکسید دسموتاز) در خون می‌شود و همچنین باعث آسیب قابل‌توجه به DNA و آپوپتوز سلول‌های کبدی می‌گردد. درحالی‌که مکمل اسید آسکوربیک و ویتامین تیامین می‌تواند آسیب کبدی ناشی از استرس اکسیداتیو تولیدشده از سرب را کاهش دهد. اما این اثرات آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت آن‌ها می‌باشد که در چه غلظتی مورد استفاده قرار بگیرد (۲۷). در پژوهش فتاحیان و همکاران نیز نقش محافظتی تیامین در برابر عوارض جانبی استات سرب بر پراکسیداسیون لیپیدی و پارامترهای خونی موش در مدت ۲۰ روز بررسی شد و نتایج این پژوهش نشان داد زمانی که موش‌ها ۳۰ mg/kg از تیامین را در مدت ۲۰ روز دریافت کنند تأثیرات مخرب سرب به حداقل

بود. در مطالعه‌ای مشابه نیز نشان داده شد که سلول‌های در معرض نانوذرات مس در مقایسه با سلول‌های طبیعی، سطح فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز کاهش، و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز افزایش یافته است. کاهش سطح کاتالاز بیانگر ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول می‌باشد. در حقیقت فرارگرفتن در معرض نانوذرات مس باعث افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌گردد. مطالعات مکانیسم انتقال سیگنال نشان می‌دهد که فرارگرفتن در معرض نانوذرات مس، پتانسیل غشای میتوکندری را مختل کرده و به‌صورت بالقوه، به آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری به سیتوزول کمک می‌کند و می‌تواند، هر دو مسیر آپوپتوز درونی و بیرونی در استرس اکسیداتیو را آغاز کنند. افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون نشان می‌دهد که نانوذرات مس نه‌تنها تولید رادیکال‌های آزاد می‌کند بلکه دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی آن‌ها را متوقف می‌کند (۸).

در مطالعه‌ی حاضر میزان فعالیت TBARS در گروه‌های تزریقی با نانوذره‌ی اکسید مس افزایش یافته بود که این افزایش هم در تیمارهای روز ۱۰ و هم در تیمارهای روز ۲۰ مشهود بود و تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان داده بودند که نشانگر پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب غشای سلولی می‌باشد. همچنین در مقابل، تزریق تیامین به همراه نانوذره اکسید مس باعث کاهش سطح فعالیت TBARS شده که نشانگر اثرات آنتی‌اکسیدانی تیامین می‌باشد. در پژوهشی که اشمید و همکاران انجام دادند نیز نشان دادند که تیامین باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدی در شرایط آزمایشگاهی می‌شود و خواص آنتی‌اکسیدانی بنفوتیامین در خطوط سلول کبدی نشان داده‌شده است (۲۶). در مطالعه‌ی دیگری به بررسی اثر ویتامین‌های مختلف از جمله تیامین در بهبود اثرات سمی ناشی از آرسنیک در کبد، کلیه، و خون پرداخته شد. موش‌ها از طریق خوراکی آرسنیک را به مدت ۱۲ هفته دریافت کردند و با بررسی پارامترهای بیوشیمیایی کبد و

تشکیل تیوکروم غیرسمی و تیامین دی سولفید، مانع اکسیداسیون رادیکال‌های آزاد می‌شوند و اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌کند (۱۸).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید مس می‌تواند سبب صدمات بافتی به کبد گردیده و تجویز همزمان تیامین از اثرات مخرب آن جلوگیری می‌کند.

می‌رسد (۱۰). در پژوهشی نشان داده شد که پراکسیداسیون لیپیدی میکروزوم توسط تیامین در سلول‌های کبدی موش مهار می‌گردد. این محققان گزارش دادند که تیامین در وضعیت استرس اکسیداتیو به طور مستقیم با رادیکال‌های آزاد و هیدروپراکسیدها واکنش می‌دهد و از طریق انتقال الکترون از گروه NH₂ حلقه‌ی پیریمیدین به رادیکال‌ها، با

منابع

۲- حاجی رحیمی، ا.، فرخی، ف.، و توکمه چی، ا.، ۱۳۹۴. بررسی تأثیر نانوذرات اکسید آهن و روی بر بافت کبد و عضله در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله پژوهش‌های جانوری، (۳) ۲۸، صفحات ۳۰۶-۲۹۳.

۱- حامدی، م.، فتحیان دهکری، ر.، حیدرنژاد، م. س.، و مبینی دهکردی، م.، ۱۳۹۴. اثر نانوذرات اکسید روی بر فاکتور التهابی TGF- β ، میزان بیوشیمیایی LDH سرمی و تغییرات بافتی در کبد موش. مجله پژوهش‌های جانوری، (۳) ۲۸، صفحات ۱۳۴-۱۱۷.

3- Bondarenko, O., Ivask, A., Käkinen, A., and Kahru, A., 2012. Sub-toxic effects of CuO nanoparticles on bacteria: Kinetics, role of Cu ions and possible mechanisms of action. *Environmental Pollution*, 169, PP: 81-89.

Beneficial effects of dietary copper supplementation on serum lipids and antioxidant defenses in rats. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 49(5), PP: 283-288.

4- Buege, J.A., and Aust, S.D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, PP: 302-310.

11- Glushchenko, N., Olkhovskaya, I., Pleteneva, T., Fatkullina, L., Ershov, Y.A., and Fedorov, Y.I., 1989. The Biological Effect of Superfine Metal Powders. *Izvestiya AN*, 3, PP: 415-418.

5- Casals, E., Gonzalez, E., and Puentes, V., 2012. Reactivity of inorganic nanoparticles in biological environments: insights into nanotoxicity mechanisms. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45(44), 443001 p.

12- hajirahimi, A., Farokhi, F., and A, T., 2016. Effects of Iron oxide and zinc nanoparticles on the liver and muscles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Reaserchers*, 28(3), PP: 293-306.

6- Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G., Wang, T., and Yuan, H., et al., 2006. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters*, 163(2), PP: 109-120.

13- Jordan, F., Nemeria, N., Guo, F., Baburina, I., Gao, Y., Kahyaoglu, A., Li, H., and Wang, J., et al., 1998. Regulation of thiamin diphosphate-dependent 2-oxo acid decarboxylases by substrate and thiamin diphosphate. Mg (II)-evidence for tertiary and quaternary interactions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1385(2), PP: 287-306.

7- Combs, J.R., and Gerald, F., 2012. The vitamins. Academic press, PP: 1957-1963.

8- Fahmy, B., and Cormier, S.A., 2009. Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. *Toxicology In Vitro*, 23(7), PP: 1365-1371.

14- Karlsson, H.L., Cronholm, P., Gustafsson, J., and Moller, L., 2008. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chemical Research in Toxicology*, 21(9), PP: 1726-1732.

9- Fatahian Dehkordi, R.A., Khosravian Dehkordi, S., Bahmaninia, S., and Mohammadi, S., 2015. Histopathological Study of the Rat Liver Exposed with Lead Acetate as a Microscopic Survey. *Medicine and Medical Sciences*, 3(8), PP: 319-324.

15- Kim, J.S., Blakley, B.R., and Rousseaux, C.G., 1990. The effects of thiamin on the tissue distribution of lead. *Journal of Applied Toxicology*, 10(2), PP: 93-97.

10- Galhardi, C., Diniz, Y., Rodrigues, H., Faine, L., Burneiko, R., Ribas, B., and Novelli, E., 2005.

- 16- Lei, R., Wu, C., Yang, B., Ma, H., Shi, C., Wang, Q., Wang, Q., and Yuan, Y., et al., 2008. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: A rapid *in vivo* screening method for nanotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 232(2), PP: 292-301.
- 17- Linder, M.C., 2013. *Biochemistry of copper*. Springer Science & Business Media, 10, PP.
- 18- Lukienko, P., Mel'nichenko, N., Zverinskii, I., and Zabrodskaia, S., 2000. Antioxidant properties of thiamine. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 130(3), PP: 874-876.
- 19- Midander, K., Cronholm, P., Karlsson, H.L., Elihn, K., Möller, L., Leygraf, C., and Wallinder, I.O., 2009. Surface Characteristics, Copper Release, and Toxicity of Nano- and Micrometer-Sized Copper and Copper (II) Oxide Particles: A Cross-Disciplinary Study. *Small*, 5(3), PP: 389-399.
- 20- Mudunkotuwa, I.A., Pettibone, J.M., and Grassian, V.H., 2012. Environmental implications of nanoparticle aging in the processing and fate of copper-based nanomaterials. *Environmental Science & Technology*, 46(13), PP: 7001-7010.
- 21- Nandi, D., Patra, R., and Swarup, D., 2005. Effect of cysteine, methionine, ascorbic acid and thiamine on arsenic-induced oxidative stress and biochemical alterations in rats. *Toxicology*, 211(1), PP: 26-35.
- 22- Nel, A., Xia, T., Mädler, L., and Li, N., 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761), PP: 622-627.
- 23- Onishchenko, G., 2007. *The Concept of Toxicological Studies, Estimated Risk Methodology, Methods of Identification and Quantification of Nanomaterials*. Resolution.
- 24- Page, G., Laight, D., and Cummings, M., 2011. Thiamine deficiency in diabetes mellitus and the impact of thiamine replacement on glucose metabolism and vascular disease. *International Journal of Clinical Practice*, 65(6), PP: 684-690.
- 25- Ruparelia, J.P., Chatterjee, A.K., Duttagupta, S.P., and Mukherji, S., 2008. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, 4(3), PP: 707-716.
- 26- Schmid, U., Stopper, H., Heidland, A., and Schupp, N., 2008. Benfotiamine exhibits direct antioxidative capacity and prevents induction of DNA damage *in vitro*. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 24(5), PP: 371-377.
- 27- Sizova, E., Miroshnikov, S., Poliakova, V., Lebedev, S., and Glushchenko, N., 2012. Copper nanoparticles as modulators of apoptosis and structural changes in some organs. *Morfologiia (Saint Petersburg, Russia)*, 144(4), PP: 47-52.
- 28- Taberna, P.L., Mitra, S., Poizot, P., Simon, P., and Tarascon, J.M., 2006. High rate capabilities Fe₃O₄-based Cu nano-architected electrodes for lithium-ion battery applications. *Nature Materials*, 5(7), PP: 567-573.
- 29- Yasuda, M., Takesue, F., Inutsuka, S., Honda, M., Nozoe, T., and Korenaga, D., 2002. Prognostic significance of serum superoxide dismutase activity in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*, 5(3), PP: 0148-0153.

Istopathological and Biochemical Effects of Thiamine Administration on Mice Liver Exposure by the Copper Oxide and Copper Oxide Nanoparticles

Fatahian Dehkordi R.A.¹, Heidarnejad M.S.², Mohebbi A.N.³ and Mosayebi F.²

¹ Basic Sciences Dept., Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. of Iran

² Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. of Iran

³ Clinical Sciences Dept., Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. of Iran

Abstract

The aim of this study was to assess biochemical and histopathological effects of co-administration of thiamine and copper oxide and copper nanoparticles on the liver mouse. A total of the 30 adult mice were randomly divided into 5 groups (6 mice per each group) and considers on days 0, 10 and 20. Group A served control. Copper oxide and copper oxide nanoparticles (0.2 mg/kg) was injected intraperitoneally to groups B and C, respectively. The mice in groups E and D received the similar dose of copper oxide and copper nanoparticles along with thiamine (30 mg/l). As a result, influence of blood cells into liver sinusoids and inflammatory cells infiltration (neutrophil and lymphocyte) around the veins in groups B and C were observed. These abnormalities were less evident in the groups receiving thiamine to the extent that was near to control group. Significant differences were observed in the amount of catalase and superoxide dismutase in groups B and C on day 20 than to the control group. TBARS values in groups B and C on days 10 and 20 and in Group E at day 20 was significantly increased compared to control group. As a result, copper oxide nanoparticles causes damage to the liver and thiamine reducing the effects of the concurrent administration.

Key words: Thiamine, Mouse, Oxide copper, Copper nanoparticles, Liver