

اثر نانوذرات اکسید روی بر فاکتور التهابی $TGF-\beta$ ، میزان بیوشیمیایی LDH سرمی و تغییرات بافتی در کبد موش

مریم حامدی^۱، رحمت‌الله فتاحیان دهکردی^{۲*}، محمد سعید حیدرنژاد^۱ و محسن مبینی دهکردی^۳

^۱ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه علوم جانوری

^۲ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

^۳ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه ژنتیک

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱۶

چکیده

به دنبال این تحقیق، اثر نانوذره اکسید روی بر ویژگی‌های هیستوپاتولوژی کبد و فعالیت $TGF-\beta$ و آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) مورد مطالعه قرار گرفت. ۹۰ موش نر به طور تصادفی به سه گروه با سه تکرار در هر گروه، تقسیم‌بندی شدند. گروه ۱ و ۲ نانوذرات اکسید روی را بترتیب به صورت خوراکی و درون صفاقی دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای ۱۴ روز متوالی دریافت کردند، گروه ۳ به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. مقدار $TGF-\beta$ و سطح آنزیم LDH در ۱۴ روزگی تعیین شد و نمونه کبد در فواصل ۱۴ روز جمع‌آوری گردید. نتایج نشان داد که مقدار $TGF-\beta$ در گروه ۱ و ۲ در روز ۱۴ نسبت به گروه شاهد بالاتر بود، اما این افزایش معنی‌دار ($P > 0/05$) نبود. همچنین مشخص شد که در روز ۱۴، فعالیت آنزیم LDH در هر دو گروه تیمار به طور قابل توجهی بالاتر از گروه شاهد بود ($P < 0/05$). با این حال، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه درمان ($P > 0/05$) وجود نداشت. نتایج هیستوپاتولوژی نشان داد که تغییرات در سلول‌های کبدی بیشتر بزرگ شدن هسته بود، به شکلی که هسته در اندازه‌های بزرگ و کوچک دیده شد. برخی از سلول‌های کوپفر (Kupffer) داخل سینوزوئیدهای کبدی دارای یک هسته بزرگ بودند. پرخونی در رگ مرکزی آشکار بود و گلبول‌های قرمز به ماتریکس نفوذ کرده بود. در سلول‌های کبدی گروه درون صفاقی، سیتوپلاسم سلول‌ها حالت واکوئله شدن دیده شد. با توجه به نتایج حاصله می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که نانوذرات اکسید روی باعث تغییر در ساختار آنزیم‌های کبدی و ساختار کبد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: موش، نانوذره اکسید روی، کبد، $TGF-\beta$ ، LDH

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۸-۳۲۳۲۴۴۲۷، پست الکترونیکی: fatahian_1349@yahoo.com

مقدمه

برای ذخیره‌سازی سوخت هیدروژن اشاره کرد، اما آینده‌ی استفاده از این فناوری نوین بسیار گسترده‌تر می‌باشد (۷، ۱۷). استفاده‌ی روبه رشد و فزاینده از نانوذرات مصنوعی در جوامع انسانی، بی‌شک سبب آزادسازی چنین موادی به انواع محیط‌ها و اکوسیستم‌ها خواهد شد (۱۱، ۲۸). اکسیدهای فلزی نانوذرات در مقیاس گسترده‌ای، هم در

کاربرد نانوتکنولوژی دارای اثرات مستقیم و غیرمستقیمی بر محیط زیست می‌باشد، که از جنبه‌های مختلف قابل بررسی است. امروزه می‌توان موارد مختلفی از کاربردهای نانو مواد را در حفظ محیط‌زیست برشمرد که از آن جمله می‌توان به کاربرد نانوفیلترها در تصفیه‌ی پساب‌های صنعتی، نانوپودرها جهت تصفیه‌ی گازهای آلاینده‌ی خروجی از اتومبیل‌ها و واحدهای صنعتی و نانوتیوپ‌ها

نظارت بر سیستم ایمنی، رگ‌زایی و آپوپتوز را میانجی‌گری و تنظیم می‌کنند (۶، ۱۱، ۱۵، ۲۱، ۳۲).

کبد در انسان بزرگترین غده بدن به وزن تقریبی ۱ تا ۱/۵ کیلوگرم می‌باشد و در حفره‌ی شکم و زیر دیافراگم قرار دارد. کبد ارگانی است که مواد غذایی جذب شده در دستگاه گوارش در آن پردازش و جهت استفاده دیگر قسمت‌های بدن، ذخیره می‌شود. در نتیجه حد فاصلی بین جریان خون و سیستم گوارش توسط کبد ایجاد می‌شود. بیشتر خون آن (۸۰-۷۰ درصد) از سیاهرگ پورت (که از معده، روده‌ها و طحال منشأ می‌گیرد) و بخش کمتری از آن (۳۰-۲۰ درصد) بوسیله شریان کبدی تأمین می‌شود. تمام موادی که از روده جذب می‌شوند، توسط ورید پورت به کبد می‌رسند، به جز لیپیدهای پیچیده (شیلومیکرون‌ها) که به‌وسیله‌ی رگهای لنفاوی منتقل می‌شوند. کبد بهترین موقعیت را در سیستم گردش خون دارد تا متابولیت‌ها را جمع کرده و همچنین مواد سمی را خنثی و برداشت نماید. این تخلیه از راه صفرا صورت می‌پذیرد. کبد همچنین عمل مهم تولید پروتئین‌های پلازما مانند آلبومین، سایر پروتئین‌های حامل، عوامل انعقادی و فاکتورهای رشد را به‌عهده دارد (۳، ۱۶). تاکنون مطالعه‌ای روی اثر نانوذرات اکسید روی بر فاکتور انتهایی، میزان LDH سرم و تغییرات بافتی در کبد موش انجام نشده است، لذا تحقیق حاضر بررسی‌های ذکر شده را مورد ارزیابی قرار داده است.

مواد و روشها

تعداد ۹۰ رأس موش سفید آزمایشگاهی نر (با سن ۶ هفته)، از خانه‌ی حیوانات دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه شهرکرد خریداری گردید و در شرایط آزمایشگاهی (دمای 2 ± 18 با چرخه‌ی روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعت) جهت سازگار شدن با محیط آزمایشگاه به‌مدت یک هفته در قفس‌های ویژه نگاه‌داری شدند. در کف قفس‌ها خاک اره ریخته شد و برای رعایت بهداشت و پیشگیری از هرگونه آلودگی، خاک اره و محیط زندگی آنها هر ۳ روز یکبار

صنعت و هم در مصارف خانگی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۹).

برخی از نانوذرات مهندسی شده مانند: مس، روی، تیتانیوم، نقره و طلا پایه‌ی فلزی دارند و بنابراین دارای کاربردهای فراوان و گسترده‌ای در حوزه‌هایی چون الکترونیک، مهندسی و صنعت می‌باشند (۳۱). نانو ذرات اکسید روی (Zno) یکی از مهمترین نانوذرات بوده که در بسیاری از کشورها در مقیاس صنعتی از آن به وفور استفاده می‌شود (۱۹، ۳۰). اندازه‌ی نانوذرات اکسید روی در مقیاس ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. در واقع نانو ذرات اکسید روی، مواد ریز غیرآلی می‌باشند که دارای این ویژگی‌ها هستند عملکرد بسیار بالا، فعالیت شیمیایی بالا، مقاومت بالای اکسیداسیونی، مقاومت به خوردگی و زنگ‌زدگی، فوتوکاتالیزور، فیلتر جذبی منحصر به فرد و توانایی استحفاظی در مقابل اشعه فرابنفش (۷، ۲۵). همچنین از دیگر کاربردهای نانوذرات اکسید روی در جامعه‌ی امروزی می‌توان به استفاده از آنها در مواد رنگی، دستگاه پیزوالکتریک، وسایل لومی‌نسانس، حسگرهای گازی، آشکارسازهای UV، کاتالیست‌ها و مواد آرایشی، اشاره کرد (۵، ۱۴). از طرفی، مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات اکسید روی در تشکیل رادیکال‌های آزاد در سلول‌های پوست دخالت دارند و به این صورت با آسیب به DNA و پروتئین سلول‌ها باعث سرطان می‌شوند (۱۸). به‌علاوه این مواد ممکن است با عبور از سد‌های سلولی مانند سد خونی- مغذی و امثال آن، سبب آسیب‌های بالقوه حاد و جدی‌تر نیز بشوند (۴، ۸).

یکی از فاکتورهای مهم سلولی، فاکتور تغییردهنده‌ی رشد بتا ($TGF-\beta$) می‌باشد، که اعضای آن، نقش‌های مهم و پرمعنایی را در تکوین، تمایز سلول و ریخت‌زایی بافت در هر دو حالت جنینی و بالغ در موجودات زنده ایفا می‌کنند (۲۶، ۳۵). سایتوکین‌های خانواده‌ی $TGF-\beta$ ، هومئوستاز سلولی به انضمام تکوین جنینی، تمایز، تکثیر، ترمیم بافت،

قرارداده شد و در سانتیفریژ با دور ۳۰۰۰ جهت تهیه سرم به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. پس از تهیه سرم، تعدادی از سرم‌ها برای آزمایش اندازه‌گیری فاکتور $TGF-\beta$ (فاکتور مورد بررسی به روش -Elisa- آزمون ایمنونوسوربنت متصل به آنزیم) اندازه‌گیری شد و LDH مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها پس از کشتن تشریح شده و بافت کبد برای تهیه اسلایدهای بافتی و بررسی آثار هیستوپاتولوژیک احتمالی آن استخراج و در ظرف‌های حاوی فرمالین نگهداری شد.

پروتکل آزمایش مطابق با حفظ قوانین حقوق حیوانات بوده و با تأیید کمیته دانشگاه شهرکرد مورد تصویب قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: برای مقایسه داده‌ها بین گروه‌های تیمار و شاهد از نرم‌افزار SPSS استفاده شد (۳۹). آنالیز داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون LSD برای مقایسه‌ی میانگین‌های مربوط به گروه کنترل با هر یک از گروه‌های تیمار انجام شد و به صورت $means \pm SD$ نمایش داده شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد با سطح معنی‌دار $P < 0/05$ بررسی شد.

نتایج

اثر نانو ذرات اکسید روی بر سطح آنزیم LDH سرم خون: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از آنالیز سرم خون نشان داد که سطح LDH سرم در هر دو گروه تیمار در روز ۱۴ نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است و این افزایش سطح LDH سرم در روز ۱۴ در هر دو گروه تیمار تزریقی و خوراکی نسبت به گروه شاهد در سطح $P < 0/05$ معنی‌دار بود. همچنین بین ۲ گروه تیمار نسبت به هم در روز ۱۴ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

تمیز شده و خاک‌اره تازه در آن قرار داده می‌شد. موش‌ها با پلیت‌های غذایی که حاوی مواد غذایی و ویتامین‌های ضروری بود، تغذیه شده و همچنین به‌طور آزادانه به آب مورد نیاز دسترسی داشتند.

موش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه ۳۰ تایی تقسیم شدند، که شامل یک گروه تیمار خوراکی (گروه ۱)، یک گروه تیمار تزریقی (گروه ۲) و یک گروه شاهد (گروه ۳) بودند. در هر گروه دو مولفه‌ی تکرار مد نظر قرار گرفت. هر گروه در قفس‌های جداگانه قرار داده شدند. قبل از آزمایش موش‌ها وزن شده که متوسط وزن آنها به‌طور تقریبی ± 2 گرم به دست آمد. در این پژوهش برای اینکه مسمومیت حاد ایجاد شود از غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذره‌ی اکسید روی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش استفاده شد (۲۲، ۳۷). با توجه به اینکه میانگین وزن موش‌ها در حدود ۲۱ گرم بود، بنابراین میزان نانو ذره اکسید روی مورد نیاز برای هر موش، ۰/۰۵ گرم محاسبه گردید (نانوذرات اکسید روی در غلظت زیاد در آب نامحلول است). لازم به ذکر است که یک روز قبل از تیمار، موش‌ها در شرایط گرسنگی و تشنگی قرار داده شدند. در گروه تیمار خوراکی میزان ۰/۰۵ گرم بر میلی‌لیتر نانو ذره‌ی اکسید روی به کمک آمپول گاواژ به موش‌ها خوراندن شد و در گروه تیمار تزریقی همین مقدار نانوذره به‌صورت درون صفاقی به هر موش تزریق شد. بعد از تیمار آب و غذا در اختیار موش‌ها قرار گرفت. همچنین نشانه‌های بالینی نیز هر روز و تا پایان دوره‌ی تیمار یادداشت شد.

نانوذرات اکسید روی با درجه خلوص ۹۹ درصد از شرکت نانوامور، ایالات متحده خریداری گردید. برپایه نتایج SEM، نانوذرات دارای شکل تقریباً کروی بوده و قطر ذرات در حدود ۶۰ نانومتر به دست آمد.

در روز ۱۴ پس از تیمار موش‌ها را بیهوش کرده و خون‌گیری به‌صورت مستقیم از قلب آن‌ها، انجام شد. سپس نمونه‌ی خون هر گروه در داخل میکروتیوب

(هپاتوسیت‌ها) در اندازه‌های متفاوت به چشم می‌خورد و از سوی دیگر تعداد سلول‌های کوپفر با هسته‌ای برجسته، افزایش نشان می‌داد. اثرات نانو در گروه‌های تیمار با بزرگ شدن سلول‌های کوپفر مشخص بود. در گروه تیمار تزریقی برخی از سلول‌های کبدی حالت واکنش به خود گرفته بودند (شکل‌های ۲، ۳).

بحث

امروزه آلودگی محیط‌زیست، به عنوان یکی از مباحث بسیار مهم در زندگی بشر بوده (۱، ۲) و از سوی آلودگی‌های ناشی از نانوذرات مسأله‌ای جدید و تاحدی خطرناک عنوان می‌شود (۳۳، ۳۸، ۴۰). حضور و ماندگاری بالای نانوذرات اکسید فلزی در محیط و زنجیره‌ی غذایی موجب تداوم مسمومیت‌های ناشی از آنها می‌شود (۲۰). با وجود کاربرد فراوان نانومواد، در مورد تأثیر نانومواد بر سلامت انسان و محیط‌زیست اطلاعات اندکی وجود دارد. به نظر می‌رسد که نانوذرات به دلیل داشتن اندازه فوق‌العاده کوچک، مشکل‌چندانی برای عبور از سد‌های فیزیولوژیکی درون بدن نداشته باشند و به این ترتیب به‌طور مؤثر از راه رگ‌های خون در بافت‌های بدن توزیع می‌شوند (۱۰، ۱۳، ۲۹).

در مطالعه حاضر سمیت نانوذرات اکسید روی در دو حالت خوراکی و تزریق درون صفاقی مورد بررسی قرار گرفته است. چنانچه، در معرض قرار گرفتن با نانوذرات اکسید روی تغییرات مشهودی هم بر فعالیت $TGF-\beta$ و LDH و هم بر ساختار بافت کبد داشته است. در مطالعه‌ی پوزالت و همکاران (۲۰۱۱) مشخص گردید که نانوذرات پس از استنشاق، هضم یا تزریق درون رگی، وارد سیستم گردش خون می‌شوند و سپس در اندام‌های مختلفی همچون کبد، طحال، کلیه‌ها، مغز و قلب توزیع می‌شوند. نانوذرات وارد شده در سیستم گردش خون با پاکسازی کلیوی از بدن خارج می‌شوند. در واقع نقش کلیه در حذف مواد خارجی از بدن بسیار مهم می‌باشد (۳۱).

جدول ۱- غلظت سرمی آنزیم LDH در گروه شاهد و گروه‌های تیمار دریافت‌کننده نانو ذرات اکسید روی

پارامتر	شاهد	تیمار روز ۱۴	
		خوراکی	تزریقی
LDH	۶±۵۶/۱۶ ۴۹۰/	۶۷۰±۵۱/۹۷	۶۶۳/۶±۶۶/۴۶

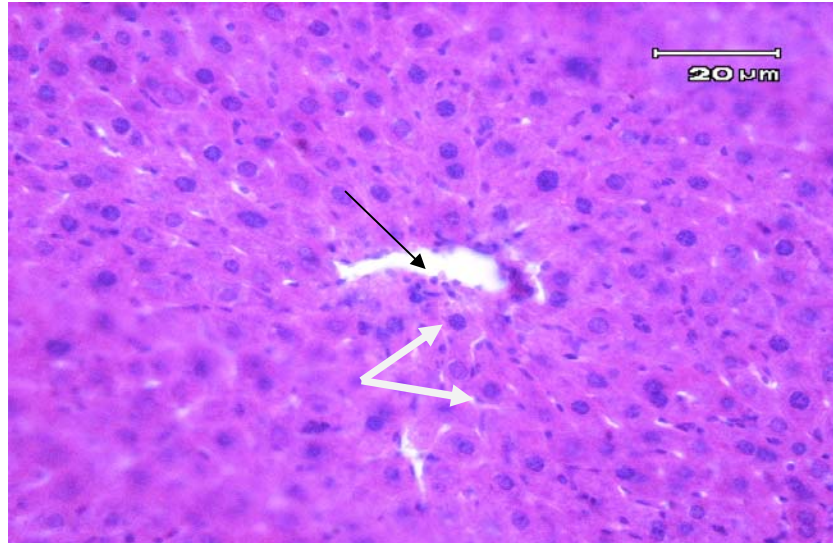
اثر نانوذرات اکسید روی بر سطح فاکتور $TGF-\beta$ سرم خون: بعد از جداسازی سرم خون مربوط به گروه‌های تیمار و شاهد و سنجش میزان فاکتور سرمی $TGF-\beta$ به کمک کیت اختصاصی الیزا، داده‌های به دست آمده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون LSD تجزیه و تحلیل شدند و مشخص شد که تغییرات سطح $TGF-\beta$ سرم خون در هیچ یک از گروه‌های تیمار نسبت به کنترل در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲- اثر نانوذرات اکسید روی بر سطح فاکتور $TGF-\beta$

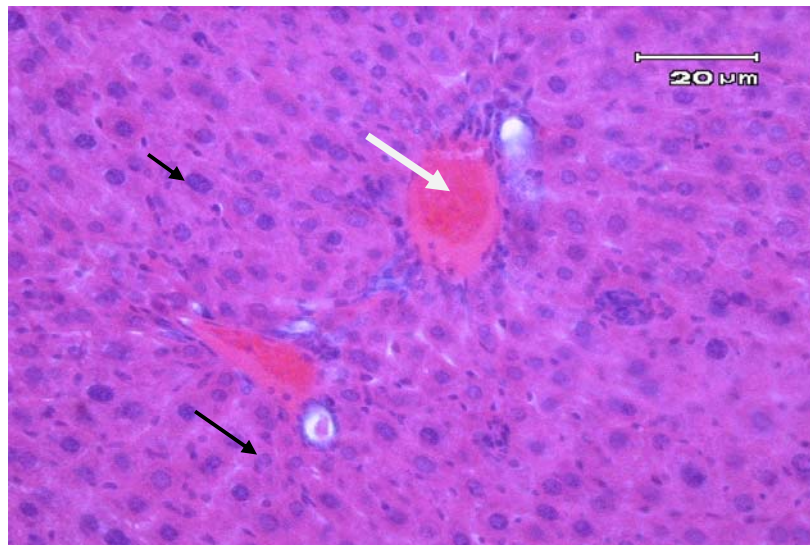
$TGF-\beta$	۱	۲	۳	میانگین
شاهد	۰/۳۹۱	۰/۳۹۸	۰/۴	۰/۳۹۶
خوراکی روز ۱۴	۰/۴۱۶	۰/۴۱۷	۰/۴۱۸	۰/۴۱۷
تزریقی روز ۱۴	۰/۴۳۱	۰/۵۰۷	۰/۶۴۱	۰/۵۲۶

بررسی هیستوپاتولوژیک بافت کبد: در گروه شاهد کبد توسط بافت همبند سست پوشیده شده بود و از نظم خاصی برخوردار بود. سینوزوئیدها که در بین سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) بودند، در اندازه طبیعی خود دیده شدند. هپاتوسیت‌ها دارای هسته هتروکروماتین (هسته تیره) در مرکز سلول بودند. سیتوپلاسم با رنگ اتوژینوفیلی مشخص، هسته را دربر گرفته بود. هپاتوسیت‌ها در ردیف‌های مشخص سلولی قرار داشتند (شکل ۱).

در هر دو گروه تیمار علائمی از پرخونی آشکار داخل سینوزوئیدها و همچنین درون ورید باب به چشم می‌خورد که البته پرخونی در گروه تیمار تزریقی بیشتر مشهود بود. به‌علاوه، در گروه‌های تیمار، هسته‌ی سلول‌های کبدی



شکل ۱- ساختار بافت کبد در گروه شاهد، ورید مرکزی (فلش مشکی) و هپاتوسیت‌ها (فلش سفید) مشخص می‌باشند، (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰۰x)



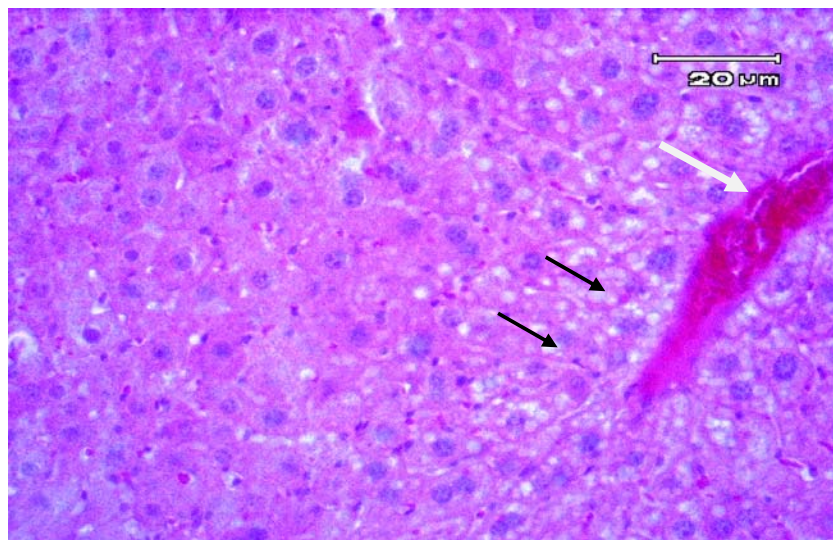
شکل ۲- ساختار بافت کبد در گروه تیمار خوراکی با نانوذرات اکسید روی، حالت پرخونی در ورید باب (فلش سفید) و هسته هپاتوسیت‌ها در اندازه‌های مختلف (فلش مشکی) دیده می‌شود، (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰۰x).

تزریقی نسبت به گروه تیمار خوراکی مشهود بود. تحقیقات نشان داده که فاکتورهای رشد پروتئین‌هایی هستند که توسط سلول‌های تغییر یافته، تولید شده و قادر به تحریک رشد سلول‌های طبیعی می‌باشند. در پاسخ به آسیب، TGF- β توسط پلاکت‌های خونی و انواع عناصر بنیادی مثل ماکروفاژها تولید می‌شود تا از تکثیر سلولی شدید و آماس

در این مطالعه آسیب‌های کبدی شدیدی در موش‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل دیده شد و تغییرات در سطح فاکتور بیوشیمیایی کبدی (LDH) ایجاد شد. اما نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تیمار و گروه کنترل در مقدار فاکتور TGF- β وجود ندارد. هرچند که افزایش این فاکتور در گروه تیمار

باعث القاء بیان خودکار خود نیز می‌شود (۲۵). مشخص شده است که $TGF-\beta$ که توسط لنفوسیت‌های فعال تولید شده است به‌طور بالقوه تکثیر لنفوسیت‌ها را سرکوب می‌کند (۲۲، ۲۳، ۳۷).

جلوگیری کند (۳۴). آزاد سازی $TGF-\beta$ به عنوان جاذب شیمیایی بالقوه برای مونوسیت‌ها، ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها عمل می‌کند. علاوه بر آن باعث تحریک رهاسازی سایر فاکتورهای رشد و حتی



شکل ۳- ساختار بافت کبد در گروه تیمار تزریقی با نانوذرات اکسید روی، حالت پرخونی (فلش سفید) و همچنین حالت واکنش سلول‌های کبدی (فلش مشکی) (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی $\times 400$).

مطالعات بافت‌شناسی کبد نشان می‌دهد که در هر دو گروه تیمار، بویژه در گروه تیمار تزریقی، بافت کبد دچار آسیب شده است، به طوری که هپاتوسیت‌های کبدی متورم شده‌اند و در بین سینوزوئیدها علائمی از وجود سلول‌های آماسی مشاهده می‌شود. تعداد سلول‌های کوپفر نیز با هسته‌ای درشت به وفور قابل دیدن می‌باشد. بنابراین در این پژوهش، به علت اثر سمی و تخریبی نانوذرات اکسید روی، سلول‌های کبدی و کوپفر دچار تغییر شده بودند و نفوذ گلبول‌ها نیز به درون ماده‌ی زمینه مشاهده گردید. پژوهش تسو در سال ۲۰۱۱ نشان داد که یون‌های روی در القاء آزادسازی کموکین‌ها و سایتوکین‌های التهابی از پرو-مونوسیت‌ها نقش دارند، که البته همراه با فعال‌سازی، پاسخ‌های ایمنی چندگانه به فاکتورهای رونویسی شده می‌باشد. در بررسی پاسخ‌های التهابی القا شده با روی در سلول‌های خونی، مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که بین

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مقدار LDH سرمی در دو گروه تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافته است. فاکتور LDH آنزیمی سیتوپلاسمی است و در همه‌ی اندام‌های اصلی بدن یافت می‌شود. از وجود LDH در خارج از سلول برای تشخیص آسیب سلولی و یا مرگ سلولی استفاده می‌کنند، بنابراین وجود LDH در سرم خون طبیعی نمی‌باشد. پس از مرگ سلولی LDH وارد خون می‌شود. عوامل فراوانی ممکن است سبب مرگ سلولی شوند که از آن جمله می‌توان به مواردی همچون ایسکمی، حرارت بیش از حد یا سرما، کم آبی بدن، آسیب، در معرض سم‌های باکتریایی قرارگرفتن، مصرف بعضی داروها و ایجاد مسمومیت شیمیایی اشاره کرد. پس می‌توان گفت بررسی میزان LDH سرم خون سنجش بسیار حساسی در برخی بیماری‌ها است که غیراختصاصی است (۱۲).

سبب آسیب‌های کبدی همچون تغییر هپاتوسیت‌های کبدی، خونریزی میان بافتی و آسیب به غشای سلول‌های کبدی شود و با آسیب دیدن سلول‌های کبدی آنزیم‌ها از سلول‌ها خارج شده و وارد خون شوند. بنابراین سطح آنزیم‌های فوق در پلاسما افزایش می‌یابد.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از زحمات کلیه کارشناسان آزمایشگاه بافت‌شناسی بویژه آقای حاتم‌پور کارشناس بخش بافت کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

عرضه روی و ایجاد بیماری‌های آماس رگی ارتباط وجود دارد (۳۶).

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالعات صورت گرفته می‌توان به این نتیجه رسید که در شرایطی که کبد ناکارآمد باشد، سطح آنزیم‌های کبدی افزایش خواهد یافت. بنابراین در این پژوهش افزایش قابل ملاحظه‌ای در سطح آنزیم LDH در هر دو گروه تیمار خوراکی و تزریقی با نانوذرات اکسید روی نسبت به شاهد وجود داشت که نشان دهنده‌ی این می‌باشد که غلظت حاد نانوذرات اکسید روی می‌تواند

منابع

- ۱- بهرامی سیرمندی، س.، احمدی مقدم، ع.، و حسینی فرد، ج.، ۱۳۹۲. تأثیر اکتومیکوریز و زیادی منیزیم بر غلظت چند عنصر غذایی (کلسیم، منیزیم، پتاسیم، فسفر و آهن، سدیم، روی، مس، منگنز) پسته رقم فندقی، مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۶ (۱)، صفحات ۷۰-۸۱.
- ۲- نورانی آزاد، ح.، و کفیل زاده، ف.، ۱۳۹۰. تأثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌ها در *(Carthamus tinctorius L)* گلرنگ، مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۴ (۶)، صفحات ۸۶۷-۸۵۸.
- 3- Bailey, F.R., Kelly, D.E., Wood, R.L., and Enders, A.C., 1984. "Bailey's textbook of microscopic anatomy," Williams and Wilkins. PP:1-50.
- 4- Barbu, E., Molnár, É., Tsi bouklis, J., and Górecki, D.C., 2009. The potential for nanoparticle-based drug delivery to the brain: overcoming the blood-brain barrier. *Expert Opin. Drug Deliv*, 6, PP: 553-565.
- 5- Beckett, W.S., Chalupa, D.F., Pauly-Brown, A., Speers, D.M., Stewart, J.C., Frampton, M.W., Utell, M.J., Huang, L.S., Cox, C., and Zareba, W., 2005. Comparing inhaled ultrafine versus fine zinc oxide particles in healthy adults: a human inhalation study. *Am. J., Respir. Crit. Care Med*, 171, PP: 1129-1135.
- 6- Bökel, C., Schwabedissen, A., Entchev, E., Renaud, O., and González-Gaitán, M., 2006. Sara endosomes and the maintenance of Dpp signaling levels across mitosis. *Sci*, 314, PP: 1135-1139.
- 7- Buzea, C., Pacheco, I.I., and Robbie, K., 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2, PP: MR17-MR71.
- 8- Bystrzejewska-Piotrowska, G., Golimowski, J., and Urban, P.L., 2009. Nanoparticles: their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Manag*, 29, PP: 2587-2595.
- 9- Chow, J.C., 2005. Introduction to the A and WMA critical review: Nanoparticles and environment. *J., Air Waste Manage. Assoc*, 55, PP: 1411-1417.
- 10- Cristina, B., Ivan, I., Pache, C., and Robbie, K., 2007. Nanomaterials and nanoparticles :sources and toxicity. *Biointer phases*, 2, p. 4.
- 11- Derynck, R., and Miyazono, K., 2008. TGF-b family in: The TGF- b family (Derynck, R., and Miyazono, K., Eds.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, PP: 29-43.
- 12- Drent, M., Cobben, N., Henderson, R., Wouters, E., and Van Diejen-Visser, M., 1996. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur. Respir. J*, 9, PP: 1736-1742.
- 13- Elder, A., Gelein, R., Silva, V., Feikert, T., Opanashuk, L., Carter, J., Potter, R., Maynard, A., Ito, Y., and Finkelstein, J., 2006.

- Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environ Health Perspect*, PP: 1172-1178.
- 14- Fan, Z., and Lu, J.G., 2005. Zinc oxide nanostructures: synthesis and properties. *J. Nanosci. Nanotechnol*, 5, PP: 1561-1573.
- 15- Gatza, C.E., Oh, S.Y., and Blobe, G.C., 1986. Roles for the type III TGF- β receptor in human cancer. *Cell Signaling Technology*, 22, PP: 1163-1174.
- 16- Getty, R., 1975. Sisson and Grossman's The anatomy of the domestic animals. Volumes 1 and 2. Sisson and Grossman's The anatomy of the domestic animals, Volumes 1 and 2.
- 17- Goldman, L., and Christine, C.E., 2005. Implications of Nanotechnology for Environmental Health Research. Washington D.C., National Academies Press.
- 18- Gurr, J.R., Wang, A.S., Chen, C.H., and Jan, K.Y., 2005. Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology*, 213, PP: 66-73.
- 19- Handy, R.D., Owen, R., and Valsami-Jones, E., 2008. The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. *Ecotoxicology*, 17, PP: 315-325.
- 20- Hoet, P.H., Brüske-Hohlfeld, I., and Salata, O.V., 2004. Nanoparticles-known and unknown health risks. *J. Nanobiotechnol*, 2, 12 p.
- 21- Hogan, B.L., 1996. Bone morphogenetic proteins: multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes Dev*, 10, PP: 1580-1594.
- 22- Kehrl, J., Roberts, A., Wakefield, L., Jakowlew, S., Sporn, M., and Fauci, A., 1986. Transforming growth factor beta is an important immunomodulatory protein for human B lymphocytes, 137, PP: 3855-3860.
- 23- Kehrl, J., Wakefield, L., Roberts, A., Jakowlew, S., Alvarez-Mon, M., Derynck, R., Sporn, M., and Fauci, A., 1986. Production of transforming growth factor beta by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med*, 163, PP: 1037-1050.
- 24- Li, L.Z., Zhou, D.M., Peijnenburg, W.J., van Gestel, C.A., Jin, S.Y., Wang, Y.J., and Wang, P., 2011. Toxicity of zinc oxide nanoparticles in the earthworm, *Eisenia fetida* and subcellular fractionation of Zn. *Environ Int*, 37, PP: 1098-1104.
- 25- Lote, C.J., 2001. Applied physiology: the renal tubule. *Current Paediatrics*, 11, PP: 207-211.
- 26- Massague, J., Andres, J., and Attisano, L., 1992. TGF- β receptors. *Mol Reprod Dev*, 32, PP: 99-104.
- 27- Nadworny, P., Wang, J., Tredget, E., and Burrell, R., 2008. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. *Nanomedicine*, 4p.
- 28- Nowack, B., and Bucheli, T.D., 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environ Pollut*, 150, PP: 5-22.
- 29- Oravec, K., Kalka, D., Jeney, F., Cantz, M., and Nagy, I.Z., 2002. Hydroxyl free radicals induce cell differentiation in SK-N-MC neuroblastoma cells. *Tissue Cell*, 34, PP: 33-38.
- 30- Ostrowski, A.D., Martin, T., Conti, J., Hurt, I., and Harthorn, B.H., 2009. Nanotoxicology: characterizing the scientific literature, 2000-2007. *J. Nanopart. Res*, 11, PP: 251-257.
- 31- Pujalté, I., Passagne, I., Brouillaud, B., Tréguer, M., Durand, E., Ohayon-Courtès, C., and L'Azou, B., 2011. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Part. Fibre Toxicol*, 8, PP: 1-16.
- 32- Reddi, A.H., 1998. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nat. Biotechnol*, 16, PP: 247-252.
- 33- Revell, P.A., 2006. The biological effects of nanoparticles. *Nanotechnology Perceptions*, 2, PP: 283-298.
- 34- SchultzMarlous, A., Thijs, H., Oude, Munnink, Hetty, T.B., Michael, R., Annemiek, M.E, Walenkamp, Marjolijn, N., Lub-de, Hooge, Elisabeth, G.E, Vries,, and Carolina, P., Schröder,, 2012. Transforming growth factor (TGF)- β expression and activation mechanisms as potential targets for anti-tumor therapy and tumor imaging. *Pharmacology and Therapeutics*, 135, PP: 123-132.

- 35- Taipale, J., and Beachy, P.A., 2001. Extracellular matrix-associated transforming growth factor-beta: role in cancer cell growth and invasion. *Adv. Cancer Res*, 75, PP: 87-134.
- 36- Tsou, T.C., Chao, H.R., Yeh, S.C., Tsai, F.Y., and Lin, H.J., 2011. Zinc induces chemokine and inflammatory cytokine release from human promonocytes, J., *Hazard. Mater*, 196, PP: 335-341.
- 37- Wahl, S., Hunt, D., Wong, H., S.D., McCartney-Francis, N., Wahl, L., Ellingsworth, L., Schmidt, J., Hall, G., and Roberts, A., 1988. Transforming growth factor- is a potent immunosuppressive agent that inhibits IL-1-dependent lymphocyte proliferation, 140, PP: 3026-3032.
- 38- Wang, B., Feng, W.Y., Wang, T.C., Jia, G., Wang, M., Shi, J.W., Zhang, F., Zhao, Y.L., and Chai, Z.F., 2006. Acute toxicity of nano-and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicol. Lett*, 161, PP: 115-123.
- 39- Yeh, S.C., Tsai, F.Y., Chao, H.R., and Tsou, T.C., 2011. Zinc ions induce inflammatory responses in vascular endothelial cells. *Bull Environ Contam Toxicol*, 87, PP: 113-116.
- 40- Zhang, X.D., Wu, H.Y., Wu, D., Wang, Y.Y., Chang, J.H., Zhai, Z.B., Meng, A.M., Liu, P.X., Zhang, L.A., and Fan, F.Y., 2010. Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *Int. J., Nanomedicine*, 5, 771 p.

Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Inflammatory Factor TNF- β , Value of serum LDH and Tissue changes in the Mice Liver

Hamedi M.¹, Fatahian Dehkordi R.A.², Heidarnejad M.S.¹ and Mobini Dehkordi M.³

¹ Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. of Iran

² Basic Sciences Dept., Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. of Iran

³ Genetic Dept., Faculty of Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. of Iran

Abstract

Following this study, the effect of zinc oxide nanoparticles on the liver histopathological features and TGF- β and LDH enzyme activity was studied. Ninety male mice were randomly allocated into three groups each with three repeats in each group. Group 1 and 2 received Zn oxide nanoparticles orally and intra-peritoneal respectively at a dose of 2.5 mg/kg for 14 consecutive days; group 3 served as the control. The value of TGF- β and level of LDH enzyme were determined on day 14 and liver samples were collected at supplementation intervals, 14 days. Results showed that TGF- β value in groups 1 and 2 were higher on day 14 compared to the controls, but this increase was not significant ($P > 0.05$). It was also found that on day 14, the activity of LDH enzyme in both treated groups was significantly higher than those of the controls ($P < 0.05$). However, there was no significant difference between two treatment groups ($P > 0.05$). The histopathological results showed that the alterations in the hepatocytes were mainly nuclear enlargement, as nucleus was observed in large and small sizes. Some of the Kupffer cells in hepatic sinusoids included a large nucleus. Hyperemia in central veins was evident and RBCs had infiltrated into the matrix. In the intra-peritoneal group, cytoplasm of hepatocytes showed vacuolization. According to the results, it can be concluded that zinc oxide nanoparticles cause changes in the structure of the liver and liver enzymes.

Key words: Mouse, Zinc oxide nanoparticles, Liver, TGF- β , LDH