

Skin Touch Effects of Gold Nanoparticles in Male Mice

Marziyeh Ziaee Ghahnavieh¹,
Mahboobeh Ziaee Ghahnavieh²,
Nooshin Naghsh³,
Elahe Dorostkar¹

¹ MSc Student in Biology, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

² BSc in Labarooty Sciences, Department of Medical Technology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

(Received August 20, 2013 ; Accepted January 18, 2013)

Abstract

Background and purpose: Despite relative neutrality of metal gold in chemistry reactions, there is a concern about skin absorption and toxicity of gold nanoparticles that nowadays are increasingly used around us. On the other hand, judging from liver detoxification, in this study, the histological alterations of liver and their enzymes and blood cells were investigated in mice by touch of gold nanoparticles.

Material and Methods: The backs of 32 male mice were shaved and then were divided into control group in which their back skins were touched with 0.2ml/day distilled water and 3 groups (25, 50,100 ppm) that were being treated with 0.2 ml/day of gold nanoparticles with mentioned doses and 10 nm diameter for 14 days. Finally, their blood was taken for hematology and biochemistry tests and their livers were removed for histopathology tests.

Results: To compare the liver tissues of the control group with 3 other groups showed some abnormalities in liver tissues of all treated groups that in 50 & 100 ppm were significant. The levels of two liver enzymes (ALT,AST) and CBC (complete blood count) of control group in comparison with 3 other groups showed that ALT enzyme levels in 50 &100 ppm groups had increased but the levels of ALT & AST in other groups decreased (not significant) and also the values of CBC test showed no significant differences.

Conclusion: Touch of gold nanoparticles and conditions of this study has toxic effect on the liver of male mice. So, this has a hazard potential.

Keywords: Gold nanoparticles, male mice, liver, liver enzymes, blood cells

اثرات تماس پوستی نانو ذرات طلا در موش های سوری نر

مرضیه ضیایی قهنویه^۱

محبوبه ضیایی قهنویه^۲

نوشین نقش^۳

الهه درستکار^۱

چکیده

سابقه و هدف: با وجود خنثی بودن تقریبی فلز طلا در واکنش های شیمیایی، نگرانی از جذب پوستی و سمیت نانوذرات طلا که امروزه به طور روز افزون در پیرامون ما به کار می روند، وجود دارد. با توجه به عمل سم زدایی ارگان کبد، تأثیر تماس پوستی این نانو ذره بر بافت کبد، دو آنزیم کبدی و سلول های خونی در موش های سوری نر بررسی شد.

مواد و روش ها: موهای پشت ۳۲ موش تراشیده شد و سپس موش ها، به چهار گروه تقسیم شدند. گروه های ppm و ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ ppm که روزانه ۰/۲ میلی لیتر نانو ذرات طلای کروی به قطر ۱۰ نانومتر و با غلظت های ذکر شده به پشت شان تماس داده می شد (به مدت ۱۴ روز) و گروه کنترل که روزانه ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر به پوست پشت آن ها تماس داده می شد خون گیری، آزمایشات هماتولوژی و بیوشیمیایی و همچنین آزمایشات بافت شناسی کبد صورت گرفت.

یافته ها: مقایسه بافت کبد گروه کنترل با سه گروه تیمار، اختلالات بافت کبد را در همه گروه های تیمار شده نشان داد که در گروه ۱۰۰ ppm و ۵۰ این اختلاف معنی دار بود. مقایسه سطوح آنزیم های کبدی (ALT, AST) و شمارش سلول های خونی (CBC) گروه کنترل با سه گروه تیمار دیگر، نشان داد که سطح آنزیم ALT در گروه های ۱۰۰ و ۵۰ افزایش یافت ولی سطح آنزیم های ALT و AST در سایر گروه ها کاهش یافت (غیر معنی دار) و همچنین برخی فاکتورهای آزمایش CBC نیز تغییرات غیر معنی داری نشان دادند.

استنتاج: تماس پوستی نانو ذرات طلا با شرایط ذکر شده در این مطالعه، بر بافت کبد موش های سوری نر اثر سمی داشته و بالقوه خطرناک می باشد.

واژه های کلیدی: نانوذرات طلا، موش سوری نر، کبد، آنزیم های کبدی، گلبول های خونی

مقدمه

کوچک تر بودن اندازه نانو ذرات از سلول و اندامک های سلولی، آن ها می توانند به راحتی به درون این اجزاء نفوذ یابند (۴). پوست از سه لایه اپیدرم، درم و چربی تشکیل شده است و جذب پوستی نانو ذرات از

یک نانومتر یک میلیارد متر است و اولین اثر کاهش اندازه ذرات در این مقیاس، افزایش سطح در واحد جرم (۱) و در نتیجه افزایش سطح تماس ماده با سایر عناصر و واکنش با آن ها است (۲، ۳). به دلیل

ziaee13@gmail.com E-mail:

مؤلف مسئول: مرضیه ضیایی قهنویه - تهران: دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی

۱. دانشجوی کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۶/۲۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۱۰/۲۸

طریق پوست، بحث برانگیز است. چندین مطالعه نفوذ نانوذرات از طریق پروتئین خارجی اپیدرم (Stratum Corneum) (۵-۷) و یا نفوذ نانوذرات کروی با قطر بین ۷۵۰ nm تا ۶ μm، از طریق فولیکول‌های مو و سوراخ‌های اپیدرم و پوست آسیب دیده را ثابت کرده‌اند (۸-۱۰). اما ایجاد ازدیاد حساسیت پوستی تیپ چهار در تماس با فلزات و یا نانوذرات دی اکسید تیتانیوم موجود در کرم‌های ضد آفتاب، همگی از تأثیرات مضر نفوذ درمی نانوذرات می‌باشند (۱۱-۱۳).

در بسیاری از پژوهش‌ها، تصاویر میکروسکوپ الکترونی پس از تجویز نانوذرات طلا به بدن نشان داده‌اند که کبد و طحال، دو ارگان برجسته در تجمع زیستی و متابولیسم نانوذرات طلا به شمار می‌روند (۱۴). کبد با بیش از ۵۰۰ کارکرد حیاتی، پالایشگاه بدن است و هر چیزی که خورده، نوشیده یا تنفس می‌شود و یا با پوست تماس می‌یابد، سرانجام به کبد می‌رسد. تمام خون برگشتی از دستگاه گوارش به کبد رفته و پردازش می‌شود. در هر دقیقه بیش از یک لیتر خون از طریق کبد فیلتر می‌شود و این ارگان می‌تواند باکتری‌ها و سموم را پیش از آن‌که به جریان خون راه یابند، با استفاده از سیستم آنزیمی با قابلیت بالا (سیستم به P۴۵۰)، آنزیم‌های شبکه آندوپلاسمی صاف کند و از طریق اکسیداسیون و متیلاسیون، دفع نماید (۱۵). در مقابل، گاهی خود بافت کبد در اثر عدم تعادل آنتی‌اکسیدانی دچار آسیب می‌شود (استرس اکسیداتیو) و بنابراین افزایش حضور آنزیم‌های شاخص کبدی در خون بیانگر آسیب به بافت کبد می‌باشد. آمینوترانسفرازها شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) حساس‌ترین آنزیم‌های تشخیصی بافت کبد هستند (۱۶).

آزمایش CBC نیز یکی از ابتدایی‌ترین و در عین حال اصلی‌ترین آزمایشی است که می‌تواند به تشخیص بسیاری از بیماری‌ها کمک کند و از آن مهم‌تر، این آزمایش بیانگر شرایط کلی و حیاتی بدن است. لذا اگرچه فلز طلا تقریباً با هیچ ترکیب شیمیایی واکنش

نمی‌دهد و پایدارترین فلز در طبیعت، با کم‌ترین اثر بیولوژیکی شناخته شده است (۱۷) اما امروزه به دلیل استفاده روزافزون نانو ذرات طلا در وسایل آرایشی، کرم‌ها و ماسک‌های صورت، غذا و نوشیدنی‌ها، خمیردندان و رنگ اتومبیل، وسایل نوری و الکترونیکی و مواد بیوشیمیایی و در زمینه‌های پزشکی، نگرانی از تأثیر سوء آن در بدن وجود داشته و بنابراین در این پژوهش به بررسی تأثیرات ناشناخته تماس پوستی این نانو ذره روی بافت کبد و دو آنزیم کلیدی آن و هم‌چنین شمارش سلول‌های خونی بر روی موش‌های سوری نر پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

تهیه محلول نانوذرات طلا

جهت سنتز محلول نانوذرات طلا از $AuCl_4$ به عنوان پیش ماده طلا استفاده شد و یون‌های طلا موجود در محلول به کمک سیترات احیا شد و سوسپانسیون نانوذرات طلا با غلظت ۱۰۰ ppm تولید شد و سپس سایر غلظت‌های مورد نیاز با رقیق کردن محلول اصلی نانوذرات طلا با آب مقطر تهیه شد.

گروه‌بندی و تیمار حیوانات

۳۲ موش سوری نر سفید نژاد آلبینو با میانگین وزن ۲۵ گرم از دانشگاه علوم پزشکی اهواز خریداری شد. برای انجام این مطالعه بر اساس دستورالعمل نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، در لانه حیوانات دانشگاه اصفهان نگهداری شد. قبل از شروع آزمایش حیوانات یک هفته در شرایط این محیط نگهداری شدند تا به محیط عادت نمایند. موش‌ها در دمای ۲۷-۲۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت 10 ± 60 درصد و در چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفسه‌هایی با جنس پلی‌وینیل‌کربنات با ابعاد $15 \times 20 \times 40$ که در زیر آن‌ها کاه قرار داده شده بود، نگهداری شدند و با آب و غذای نرمال تغذیه می‌شدند. موهای پشت همه موش‌ها با موزر به ابعاد 1×1 cm تراشیده شد و سپس به طور

تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند در هر گروه هشت موش قرار گرفت و همه موش‌ها وزن شدند. در گروه کنترل به هر موش، روزانه ۰/۲cc آب مقطر توسط سواب جهت حذف اثر ناشی از شوک به محل تراشیده شده تماس داده شد و به موش‌هایی گروه‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ ppm روزانه ۰/۲cc نانوذرات طلا با غلظت‌های مذکور به پشت موش‌ها توسط سواب تماس داده شد و جهت جلوگیری از زبان زدن موش‌ها به موضع تیمار یکدیگر، هر موش از دیگری جداگانه نگهداری می‌شد. این آزمایش برای ۱۴ روز متوالی ادامه داشت.

هموگلوبین و هماتوکریت و غیره) و میزان فراوانی آسیب به بافت کبد جمع‌آوری و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون T-Test جهت مقایسه وزن موش‌ها قبل و بعد از تیمار و آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست تعقیبی (Dunnett t(2-sided) جهت مقایسه گروه‌های تیمار با گروه کنترل مورد استفاده قرار گرفت. نتایج به صورت میانگین و انحراف استاندارد (Mean±sem) بیان و حد معنی‌داری تفاوت‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نمونه‌گیری

سه روز پس از آخرین تیمار، همه حیوانات به مدت ۱۲ ساعت تحت شرایط روزه داری قرار گرفتند، توزین شدند و پس از بی‌هوش کردن موش‌ها، خون‌گیری از قلب انجام شد. یک میلی‌لیتر از خون هر موش به لوله‌های CBC حاوی ۱ میلی‌گرم ماده ضد انعقاد K₃EDTA منتقل و سریعاً جهت آزمایش CBC توسط دستگاه SYSMEX K1000 ژاپن به آزمایشگاه ارسال شد. بقیه خون گرفته شده از هر موش به لوله‌های پلاستیکی درب دار منتقل شد. پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰، سرم آن‌ها جدا و سطوح آنزیم‌های ALT و AST توسط دستگاه اتوآنالایزر Hitachi 902 اسپانیا اندازه‌گیری شد. پس از خون‌گیری، شکم موش‌ها شکافته و با پنس بافت‌های کبد خارج شد و بلافاصله در ظرف پلاستیکی محتوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و بعد از مقطع‌گیری با دستگاه tissue processor، برش‌های با قطر دو میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم تهیه شد و با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شد. برش‌ها زیر میکروسکوپ نوری مشاهده و عکس برداری شد.

کنترل نانوذرات طلا

پس از تهیه سوسپانسیون نانوذرات طلا، کروی بودن شکل نانوذرات و اندازه نانوذرات طلا (۱۰ نانومتر) در این کلویید با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) مشاهده و تأیید شد. میکروسکوپ الکترونی عبوری، از ستونی بلند تشکیل شده است که در آن الکترون‌ها از منبع نور در بالای میکروسکوپ منتشر می‌شدند و از خلاء عبور می‌کنند و توسط عدسی‌های الکترومغناطیسی جمع و متمرکز می‌شوند و در نهایت و به صورت یک پرتو باریک از نمونه عبور می‌کنند و به فیلم یا پرده متشکل از مواد فلورسنت برخورد و تصویر سیاه و سفید ایجاد می‌کنند. قسمت‌های تاریک‌تر بیانگر عبور الکترون‌های کم‌تر از قسمت‌های با چگالی بیش‌تر نمونه است. سایز و شکل نانوذرات طلا در این آزمایش توسط میکروسکوپ مدل CM10 Philips، به شکل کروی و حدود ۱۰ نانومتر تخمین زده شد (تصویر شماره ۱).

وزن و ظاهر حیوانات

علائم ظاهری و وزن بدن موش‌های سوری نر، قبل و پس از تیمار با نانوذرات طلا، مقایسه شد. هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در مشخصات ظاهری موش‌ها وجود نداشت. در ضمن در طول آزمایش مرگ و میری مشاهده نشد (جدول شماره ۱).

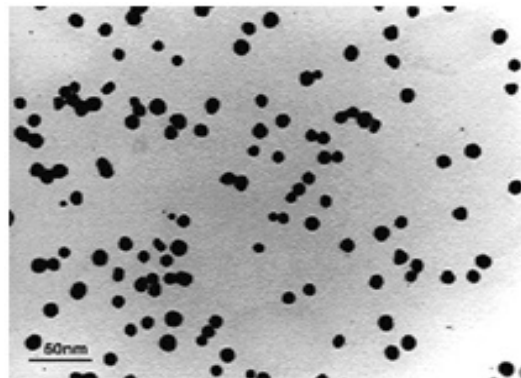
روش آماری

داده‌های حاصل از توزین و نتایج دستگاه اتوآنالایزر (غلظت آنزیم‌های ALT و AST) و دستگاه CBC (تعداد سلول‌های قرمز و سفید و پلاکت و میزان

مقایسه شد فاکتورهای RBC, HCT, HGB, MCHC و PLT در گروه های ۱۰۰ و ۲۵ ppm کاهش و در گروه ۵۰ ppm افزایش یافت و فاکتور MCH و RDW در گروه های ۵۰ و ۲۵ ppm افزایش و در گروه ۱۰۰ ppm کاهش یافت. تعداد گلبول های سفید در هر سه گروه آزمایشی دچار افزایش و MCV در گروه ۲۵ ppm افزایش و در گروه ۱۰۰ و ۵۰ ppm دچار کاهش یافت. اما هیچ کدام از این تغییرات معنی دار نبودند ($p > 0.05$) (جدول شماره ۳).

نتایج آزمایشات بافت شناسی

پس از تماس نانوذرات طلا به حیوانات و خارج کردن کبد از بدن موش های سوری نر، هیچ تغییر ماکروسکوپی در کبد حیوانات مشاهده نگردید. تغییرات بافتی برش های کبد رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین گروه های تیمار و گروه کنترل در زیر میکروسکوپ نوری به ترتیب زیر بود گروه کنترل، وضعیت لوپول های شش و جهی کبدی، طناب های رماک، سینوزوئیدها، وریدهای مرکزی، فضا های پورت، اجزای سه گانه تریاد پورت و سلول های کوپفر نرمال بود؛ در گروه ppm ۲۵، هپاتوسیت ها با هسته های کمی هایپرکرم و بزرگ و سینوزوئیدهای تقریباً نازک بودند و تغییرات غیر طبیعی زیادی مشاهده نشد؛ در گروه ppm ۵۰، تشکل لوپول ها و حالت شش ضلعی بودن آنها تا حد زیادی از بین رفته بود، هپاتوسیت ها در طناب های رماک منظره کاملاً متراکم پیدا کرده بودند و در نتیجه سینوزوئیدها پهن تر شدند، وریدهای مرکزی تا حدی پر خون و از نظر اندازه کوچک و بزرگ شدند، هسته هپاتوسیت ها در بعضی از لوپول های کبدی کوچک و کم رنگ دیده شد، فضا های پورت و اجزاء تریاد در مرز لوپول ها چندان قابل تشخیص نبود؛ در گروه ppm ۱۰۰، مرز لوپول ها کاملاً از بین رفته بود و شش و جهی بودن آنها را به هیچ عنوان قابل مشاهده نبود، پرخونی های بسیار واضحی در بسیاری از وریدهای مرکزی و وریدهای پورت و شریان های



تصویر شماره ۱: تصویر نانوذرات طلا با میکروسکوپ الکترونی گذاره

جدول شماره ۱: مقایسه وزن بدن موش های سوری نر قبل و بعد از تیمار نانوذرات طلا

گروه ها	تعداد	وزن بدن (g)	
		قبل	بعد
گروه کنترل	۸	۲۲/۸±۱/۵	۲۳/۳±۰/۹
گروه ۲۵ ppm	۸	۲۴/۴±۱/۵	۲۴/۲±۱/۶
گروه ۵۰ ppm	۸	۲۵/۸±۱/۲	۲۷/۲±۱/۵
گروه ۱۰۰ ppm	۸	۲۷/۴±۰/۵	۲۵/۰±۰/۸
سطح معنی داری		$p > 0.05$	

نتایج آزمایشات بیوشیمیایی

پس از تماس نانوذرات طلا به حیوانات، میزان آنزیم کبدی ALT و AST، در گروه های تیمار با گروه کنترل مقایسه شد نتایج نشان داد که سطح آنزیم ALT در گروه های ۱۰۰ و ۵۰ ppm دچار افزایش یافت ولی سطوح آنزیم های ALT و AST در بقیه گروه ها کاهش یافته است هر چند که این تغییرات معنی دار نبود ($p > 0.05$) (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: مقایسه سطوح آنزیمی ALT و AST گروه های تیمار در مقابل گروه کنترل

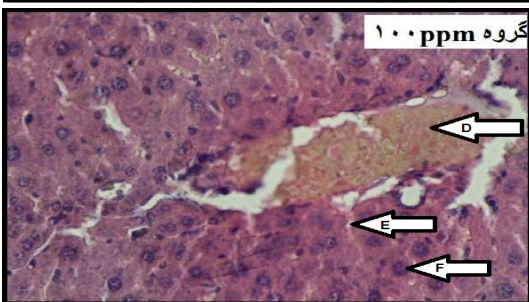
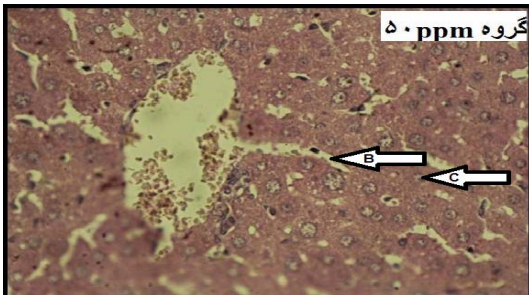
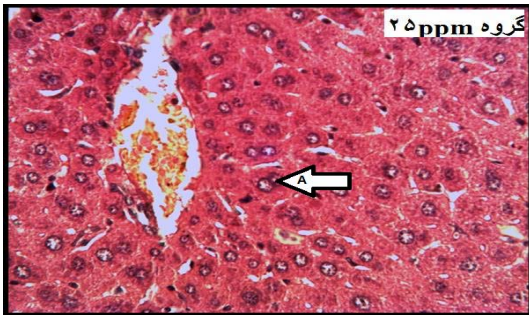
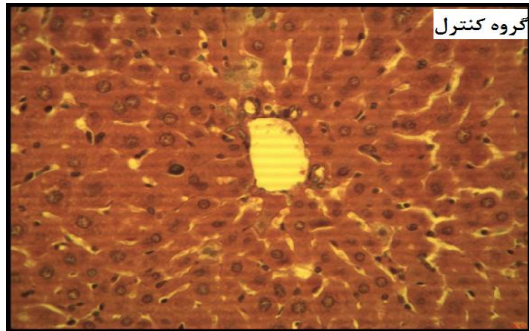
گروه ها	تعداد	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
		(انحراف استاندارد دخیانگین)	(انحراف استاندارد دخیانگین)
گروه کنترل	۸	۱۴۶/۲±۱۶/۱	۱۴۴۶/۷±۲۵۳/۱
گروه ۲۵ ppm	۸	۱۰۸/۶±۱۲/۲	۸۷۸/۴±۱۱۱/۴
گروه ۵۰ ppm	۸	۱۶۲/۰±۲۵/۹	۱۴۰۲/۸±۲۸۰/۱
گروه ۱۰۰ ppm	۸	۱۴۷/۰±۲۱/۱	۱۲۲۶/۴±۱۸۷/۲
سطح معنی داری		$p > 0.05$	

نتایج آزمایشات هماتولوژی

پس از تماس نانوذرات طلا به حیوانات، نتایج آزمایش CBC، در گروه های تیمار با گروه کنترل

جدول شماره ۳: مقایسه نتایج آزمایش CBC گروه های تیمار در مقابل گروه کنترل

WBC ($N \times 10^9/\mu L$)	PLT ($N \times 10^3/\mu L$)	RBC ($N \times 10^6/\mu L$)	HCT (%)	HGB (g/dl)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	RDW-CV (%)	Group
3.2 ± 1.0	692.5 ± 133.5	8.2 ± 0.4	33.3 ± 1.8	11.3 ± 1.4	41.5 ± 0.8	13.6 ± 1.1	32.8 ± 2.0	20.7 ± 2.6	گروه کنترل
5.3 ± 0.1	681.0 ± 105.0	7.3 ± 0.3	30.5 ± 0.4	10.0 ± 0.2	42.2 ± 1.0	13.7 ± 0.3	32.7 ± 0.4	25.7 ± 2.3	گروه ۲۵ppm
4.9 ± 0.9	800.7 ± 62.3	8.4 ± 0.2	34.4 ± 1.0	12.3 ± 0.4	40.8 ± 0.9	14.6 ± 0.3	35.8 ± 0.5	20.9 ± 1.5	گروه ۵۰ ppm
5.5 ± 1.5	645.0 ± 117.5	7.6 ± 0.8	31.3 ± 3.7	9.8 ± 1.2	40.8 ± 1.1	13.5 ± 0.4	31.6 ± 1.6	20.0 ± 0.6	گروه ۱۰۰ ppm



تصویر شماره ۲: تصاویر میکروسکوپی برش های بافت کبد گروه های کنترل و تیمار رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و انوزین با بزرگ نمایی ۴۰۰ برابر. هسته ها تقریباً بزرگ و هایپرکرم (A)، سینوزوئیدهای پهن تر در نتیجه متراکم شدن هپاتوسیت ها (B)، هسته های کوچک و کم رنگ (C)، پرخونی شدید (D)، سینوزوئیدهای نازک در نتیجه هایپرتروفی (بزرگ شدن) هپاتوسیت ها (E)، هسته های بزرگ و هایپرکرم (F).

هپاتیک مشهود بود و به علت هایپرتروفی شدن هپاتوسیت ها، سینوزوئیدها تا حد زیادی نازک شده بود علاوه بر این، در هپاتوسیت ها، هسته های بزرگ و هایپرکرم کاملاً مشهود بودند. در کل با مقایسه بافت کبد نرمال (گروه کنترل) با دیگر گروه های آزمایشی آسیب کم و تفاوت غیر معنی دار بافت کبد در گروه ۲۵ ppm و آسیب بیش تر و تفاوت معنی دار بافت کبد در گروه ۵۰ ppm و خصوصاً ۱۰۰ ppm قابل مشاهده بود (تصویر شماره ۲ و جدول شماره ۴).

جدول شماره ۴: مقایسه میزان آسیب بافت کبد گروه های تیمار در مقابل گروه کنترل

گروه ها	تعداد	میزان آسیب بافت کبد (انحراف استاندارد± میانگین)	سطح معنی داری
گروه کنترل	۸	0.00 ± 0.00	
گروه ۲۵ppm	۸	0.50 ± 0.19	$p=0.57$
گروه ۵۰ ppm	۸	1.50 ± 0.42	$***p=0.008$
گروه ۱۰۰ ppm	۸	1.38 ± 0.46	$*p=0.016$

بحث

یافته های مرتبط به وزن بدن حیوانات در این مطالعه، نشان داد که ۱۴ روز تماس پوستی نانوذرات طلای کروی به قطر ۱۰ نانومتر و با دوزهای ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ ppm موجب اعمال سمیت حاد در کل بدن نمی شود. کاهش وزن جزیی در همه گروه های تیمار را می توان یک پاسخ سازگار و نرمال به ماده سمی قلمداد کرد (۱۸). سلول های اندوتلیال جدار عروق خونی سد فیزیکی برای عبور ذرات قلمداد می شود ولی در برخی ارگان های خاص از قبیل کبد، این اندوتلیوم سورخا دار بوده و اندازه سورخا های آن بیش تر از ۱۰۰ نانومتر است (۱۹) و بنابراین نانوذرات طلای کروی استفاده

شده در مطالعه حاضر با قطر ۱۰ نانومتر، به آسانی از دیواره عروق خونی بافت کبد عبور کرده و وارد این ارگان شده است.

Lasagna و همکارانش در سال ۲۰۱۰ میزان تجمع نانوذرات طلا با قطر ۱۲/۵ نانومتر در ارگان‌های بدن، پس از هشت روز تزریق داخل صفاقی به موش‌های سوری مورد بررسی قرار دادند. مشاهده نانوذرات طلا در سلول‌های کوپفر توسط میکروسکوپ الکترونی، نشان داد که بیش‌ترین تجمع نانوذرات در کبد است (۲۰) که این امر به دلیل تجمع زیاد ماکروفاژهای سیستم رتیکولواندوتلیال ایمنی در کبد می‌باشد (۲۵) بیلیون سلول کوپفر در کبد هر انسان قرار دارد (۲۱). Abdelhalim و Jarrar نیز طی پژوهشی اثر هیستوپاتولوژیک تزریق داخل صفاقی نانوذرات طلا طی هفت روز و با سه اندازه ۱۰ و ۲۰ و ۵۰ نانومتر بر کبد رت‌ها را مورد بررسی قرار دادند که نانوذرات طلای کروی با قطر ۱۰ نانومتر بیش‌ترین اثر تخریبی را نشان داده این اثرات تخریبی شامل تغییر شکل هسته هیاتوسیت‌ها، تخریب سیتوپلاسم، تغییر ساختار سینوزوئیدها و ورید پورت و مرکزی است و در نهایت چنین استنباط کردند که در اثر القای واکنش استرس اکسیداتیو (ROS)، بافت کبد دچار آتروفی و آپوپتوز و سپس نکروز گردیده است (۲۲). نتایج هیستوپاتولوژی بافت‌های کبد این مطالعه، حاکی از تأثیرپذیری خفیف تا شدید بافت کبد در همگی گروه‌های تیمار شده بود و این تغییرات در دو گروه ۵۰، ۱۰۰ ppm موجب تأثیر بر سطوح آنزیمی و افزایش آنزیم ALT نیز شد. از آن‌جا که کبد یک ارگان مهم در متابولیسم و سم زدایی مواد خارجی و سمی است و با آسیب‌پذیری خود طی متابولیسم کردن مواد بیگانه در واکنش‌های پیچیده که خود باعث اثرات مخرب بر بافت کبد می‌شود، موجب کاهش صدمه به بدن می‌گردد (۲۳). افزایش سطح آنزیم‌های ALT و AST در خون نشان‌دهنده آسیب کبدی می‌باشد. ایزوآنزیم‌های AST هم در میتوکنندری و هم در سیتوپلاسم و آنزیم

ALT فقط در سیتوپلاسم سلول‌ها وجود دارد (۲۴)، بنابراین در این مطالعه، افزایش سطح ALT در گروه‌های ۱۰۰ ppm و ۵۰ دللیلی بر آسیب غشای میتوکنندری و غشای هیاتوسیت‌های کبد به علت حمله اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد حاصل از نانوذرات طلا می‌باشد.

در تحقیق حاضر، تماس دادن نانوذرات طلا به بدن موش‌های سوری نر با قطر و غلظت‌های ذکر شده، به مدت ۱۴ روز موجب هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در تعداد RBC ها و سایر فاکتورهای مربوط به RBC نشد به علاوه هیچ‌گونه افزایش یا کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید موش‌های سوری نر نیز مشاهده نگردید بنابراین می‌توان گفت که تماس نانوذرات طلا با قطر ۱۰ نانومتر و دوزهای ذکر شده به مدت ۱۴ روز موجب عفونت، التهاب و سمیت حاد در موش‌های سوری نر نمی‌شود زیرا همان‌طور که می‌دانیم به طور کلی افزایش در تعداد WBC، یک واکنش نرمال فیزیولوژیک التهابی به مواد خارجی وارد شده به خون است و کاهش تعداد WBC ها، به دلیل ورود دوز بیش از حد ماده سمی به بدن و عفونت است (۲۵). Jue و Hyuck و همکارانش نیز تأثیر سمیت استنشاقی یک دوره ۹۰ روزه نانوذرات طلا با قطر پنج نانومتر و با سه دوز $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ و $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$ و $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ روی رت‌های نر و ماده را مورد آزمایش قرار دادند و به این نتیجه دست یافتند که با وجود التهاب خفیف و افزایش ماکروفاژهای بافت ریه، تعداد سلول‌های سفید خون و هم‌چنین دیگر سلول‌های خونی در نتایج هماتولوژی، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (۲۶).

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله کمال قدردانی و تشکر را از همه کسانی که در این پژوهش مساعدت نمودند، دارند. این پژوهش قسمتی از پایان‌نامه نویسنده مسئول بوده و هزینه‌های آن نیز توسط شخص نویسنده مسئول پرداخت گردیده است.

References

1. Frb U, Aust KT, Palumbo G. In nanostructured materials. Processing, properties and potential applications. New York: Noyes; 2002. p. 179-222.
2. Lanone S, Boczkowski J. Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Curr Mol Med* 2006; 6(6): 651-663.
3. Yu LE, Yung L-YL, Balasubramaniam KS, Hartono D, Shui G, Wenk RM, et al. Translocation and effects of gold nanoparticles after inhalation exposure in rats. *Nanotoxicology* 2007, 1(3): 235-242.
4. Buzea C, Pacheco Blandino II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases* 2007; 2(4): MR17-MR172.
5. Hoet PH, Brüske-Hohlfeld I, Salata OV. Nanoparticles- known and unknown health risks. *J Nanobiotechnology* 2004; 2(1): 12.
6. Borm PJ, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Fissan H, Donaldson K, et al. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. Part *Fibre Toxicol* 2006; 3: 11.
7. Corachan M, Tura JM, Campo E, Soley M, Traveria A. Podoconiosis in Aequatorial Guinea. Report of two cases from different geological environments. *Trop Geogr Med* 1988; 40(4): 359-364.
8. Toll R, Jacobi U, Richter H, Lademann J, Schaefer H, Blume-Peytavi U. Penetration profile of microspheres in follicular targeting of terminal hair follicles. *J Invest Dermatol* 2004; 123(1): 168-176.
9. Corachán M. Endemic non-filarial elephantiasis of the lower limbs: podoconiosis. *Med Clin (Barc)* 1988; 91(3): 97-100.
10. Mott JA, Meyer P, Mannino D, Redd SC, Smith EM, Gotway-Crawford C, et al. Wildland forest fire smoke: health effects and intervention evaluation, Hoopa, California, 1999. *West J Med* 2002; 176(3): 157-162.
11. Monteiro-Riviere NA, Nemanich RJ, Inman AO, Wang YY, Riviere JE. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett* 2005; 155(3): 377-384.
12. Tinkle SS, Antonini JM, Rich BA, Roberts JR, Salmen R, DePree K, et al. Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease. *Environ Health Perspect* 2003; 111(9): 1202-1208.
13. Nohynek GJ, Lademann J, Ribaud C, Roberts MS. Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. *Crit Rev Toxicol* 2007; 37(3): 251-277.
14. De Jong WH, Hagens WI, Krystek P, Burger MC, Sips AJ, Geertsma RE. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials* 2008; 29(12): 1912-1919.
15. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's Principles of internal medicine, 16th ed. McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2005.
16. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G, Ferrero CA, Franck PF, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of

-
- aspartate aminotransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(7): 725-733.
17. Waalkes MP. An ecotoxicological study of population of the white foot mouse (*peromyscus leucopus*) in haluting a polychlorinated biphenyls contaminated area. *Arch Environ Contam Toxicol* 1990; 19(2): 283-290.
 18. Rhiouani H, El-Hilaly J, Israili ZH, Lyoussi B. Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *J Ethnopharmacol* 2008; 118(3): 378-386.
 19. Schwab AJ, Pang KS. The multiple indicator dilution method and its utility in risk assessment. *Environ Health Perspect* 2000; 108(Suppl 5): 861-872.
 20. Lasagna-Reeves C, Gonzalez-Romero D, Barria MA, Olmedo I, Clos A, Sadagopa Ramanujam VM, et al. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393(4): 649-655.
 21. Singer JM, Adlersberg L, Sadek M. Long-term observation of intravenously injected colloidal gold in mice. *J Reticuloendothel Soc* 1972; 12(6): 658-671.
 22. Abdelhalim MA, Jarrar BM. Histological alterations in the liver of rats induced by different gold nanoparticle sizes, doses and exposure duration. *J Nanobiotechnology* 2012; 10: 5.
 23. Nalpas B, Vassault A, Le Guillou A, Lesgourgues B, Ferry N, Lacour B, et al. Serum activity of mitochondrial aspartate aminotransferase: a sensitive marker of alcoholism with or without alcoholic hepatitis. *Hepatology* 1984; 4(5): 893-896.
 24. Rousselot P, Larghero J, Labaume S, Poupon J, Chopin M, Dosquet C, et al. Arsenic trioxide is effective in the treatment of multiple myeloma in SCID mice. *Eur J Haematol* 2004; 72(3): 166-171.
 25. Sung JH, Ji JH, Park JD, Song MY, Song KS, Ryu HR, et al. Subchronic inhalation toxicity of gold nanoparticles. *Part Fibre Toxicol* 2011; 8: 16.