

بررسی تاثیر نانوذرات نقره سنتز شده به روش احیاء شیمیایی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز پلازما در مدل موش صحرایی

الهام قویدل اقدم^{۱*}، محمد نریمانی راد^۲، علیرضا لطفی^۳

- ۱- مربی گروه شیمی، واحد ایلخچی، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلخچی، ایران.
 ۲- استادیار گروه فیزیولوژی، واحد ایلخچی، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلخچی، ایران.
 ۳- گروه فیزیولوژی، واحد ایلخچی، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلخچی، ایران.
 *نویسنده مسئول مکاتبات: ghavidel.chemistry@yahoo.com
 (دریافت مقاله: ۹۴/۱۰/۳۰ پذیرش نهایی: ۹۵/۳/۵)

چکیده

با وجود امکان سنتز نانوذرات نقره به صورت "سیترات پوش" به روش احیاء شیمیایی و مشخص بودن تاثیرات اکسیداتیو نانوذرات نقره، بررسی اثرات اکسیداتیو این نوع از نانوذرات، ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه مشاهده تاثیر نانوذرات نقره سنتز شده به روش احیاء شیمیایی بر سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز خون در موش صحرایی بود. سنتز نانو ذرات نقره به روش احیاء شیمیایی با مخلوط آب مقطر و سدیم بوروهیدرات و اضافه نمودن نیترات نقره، سپس افزودن تری‌سدیم سیترات به محلول به دست آمده، صورت پذیرفت. مطالعه با استفاده از ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار در چهار گروه آزمایشی شامل گروه‌های شاهد، دارونما و گروه‌های تیمار با نانوذرات نقره با دزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن انجام شد. گروه‌های تیمار با نانوذرات نقره به ترتیب دزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول نانوذرات نقره را در روزهای اول و هفتم آزمایش (دو بار) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. تزریق نانوذرات نقره در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) خون گردید، به طوری که این کاهش در دز ۲۰۰ میلی‌گرم بارزتر بود ($p < 0.01$). همچنین، تاثیر اکسیداتیوی تزریق غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو ذرات نقره، منجر به بروز تلفات در حیوانات آزمایشی گردید. نتایج نشان داد که غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو ذرات نقره سنتز شده به روش احیاء، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نهایت بروز تلفات می‌گردد.

کلید واژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش اکسیداتیو، روش احیاء شیمیایی، نانوذرات نقره.

مقدمه

از دیرباز نقره به علت خواص ضد باکتریایی خود شهرت یافته است. نانوذرات نقره به علت رهائش یون نقره چنین خاصیتی را علیه باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی از خود نشان می‌دهند. اتصال این ذرات به پروتئین‌های حاوی گوگرد در سطح غشای باکتری‌ها، امکان ورود و تغییر در مورفولوژی و زنجیره تنفسی باکتری را فراهم می‌کند و در نهایت با اثرگذاری بر فرآیند مرگ سلولی منجر به مرگ عامل بیگانه می‌شود (Rai et al., 2009). نانوذرات نقره علاوه بر باکتری‌ها، با اتصال به گلیکوپروتئین‌های سطح ویروس مانع از اتصال آنها به سلول‌های میزبان و در نهایت مرگ ویروس می‌شوند. عده‌ای از محققین بر این باورند که عدم سمیت و ضدباکتریایی بودن نانوذرات نقره، سبب بروز خواص ضدالتهابی از آنها شده است. البته کاهش تولید سیتوکین‌های التهابی و مهار فعالیت اینترفرون گاما و فاکتور نکروزدهنده آلفا را در بروز این رفتار نبایستی نادیده گرفت (Wong, 2012).

نانوذرات نقره قادر به ایجاد اثرات سمیت در موجودات زنده هستند. سمیت ایجاد شده توسط این ذرات به ویژگی و مسیر ورودشان به بدن بستگی دارد. سمیت القاء شده توسط نانوذرات نقره به علت استرس اکسیداتیو بوده که با تجمع در سیتوپلاسم و هسته سلول منجر به تولید رادیکال آزاد می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است که نانوذرات نقره ضمن اثرگذاری بر باکتری‌ها، در غلظت‌های کمتر از ۲۰-۲۵ ppm بر سلول‌های انسانی بی‌اثر و حتی زیست‌سازگار است (Martirosyan and Schneider, 2014; Rai et al., 2009; Lee et al., 2012).

نانوذرات نقره در مقادیر کنترل نشده اثرات مخربی بر عملکرد میتوکندری دارند. از این رو، استفاده از مقادیر بالاتر آن در موجود زنده سبب ایجاد رادیکال آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود و آسیب‌های سلولی را به همراه دارد (Gorbani, 2014؛ رضایی زراچی و همکاران، ۱۳۹۲).

مطالعاتی که در رابطه با نانوذرات نقره انجام گرفته‌اند، عمدتاً با استفاده از نانوذرات‌های تجاری بوده‌اند و تهیه نانوذرات به روش احیاء شیمیایی در مطالعات محدودی کاربرد داشته است. از طرفی مطالعات مربوط به تاثیر نانوذرات نقره بر وضعیت اکسیداسیون داخل سلولی نتایج کاملاً متفاوتی را در برداشته‌اند. به عنوان مثال، هانق و همکارانش، افزایش تنش اکسیداتیوی و ایجاد صدمه به DNA سلول را از مخاطرات قرارگیری در معرض نانوذرات نقره دانسته‌اند و نانوذرات نقره را به عنوان یک عامل اکسیداسیون سلولی برشمرده‌اند (Huang et al., 2010)، در حالی که رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2014) تاثیر قوی ضداکسیدانی نانوذرات نقره را گزارش کرده‌اند. لذا تاثیر نانوذرات نقره بر اکسیداسیون در شرایط *in vivo* به عنوان یک سوال مطرح می‌باشد. از طرفی ارتباط تاثیر نانوذرات نقره بر فعالیت اکسیداسیونی با شاخص‌های آنزیمی و متابولیکی بدن نیز مشخص نگردیده است.

با وجود کارایی سنتز نانوذرات نقره به صورت "سیترات پوش" با روش احیاء شیمیایی (محتشمی و همکاران، ۱۳۹۱) و مشخص بودن تاثیرات اکسیداتیو نانوذرات نقره بر اساس بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی (Ranjbar et al., 2014)، بررسی اثرات اکسیداتیوی این نوع از نانوذرات، ضروری به نظر

فلزی در این محلول معادل ۰/۲ میلی‌مولار بود (Leopold and Lendl, 2003).

برای بررسی کمی و کیفی نانوذرات سنتز شده از نظر اندازه و شکل ذرات، از طیف‌سنجی XRD (پراش اشعه ایکس) و تصویربرداری SEM (تصویربرداری روبشی میکروسکوپ الکترونی) استفاده گردید. هدف از گرفتن تصاویر میکروسکوپ الکترونی، بررسی ریخت‌شناسی سطوح نمونه‌ها، اندازه‌دانه‌ها و همچنین نحوه دانه‌بندی و در کنار هم قرار گرفتن آنها بود.

بررسی برخی از اثرات بیولوژیکی نانوذرات در مدل موش صحرائی

مطالعه با استفاده از ۴۰ سر موش صحرائی نر از نژاد ویستار با میانگین وزنی 100 ± 5 گرم انجام شد. حیوانات در دمای اتاق (۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد)، با رژیم غذایی فرموله شده شرکت نیروسهند تبریز (خوراک حیوانات آزمایشگاهی)، و چرخه معمول روشنایی نگره-داری شدند. حیوانات در قالب چهار گروه مساوی شامل گروه‌های شاهد، دارونما و گروه‌های تیمار با نانوذرات نقره با دزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوذرات نقره تقسیم‌بندی شدند.

گروه‌های تیمار با نانوذرات نقره به ترتیب ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول نانوذرات نقره را در روزهای اول و هفتم آزمایش (دو بار) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد هیچ گونه تزریقی نداشته و گروه دارونما صرفاً محلول نمک دریافت کرد. مطالعه مطابق با روش کار رنجبر و همکاران، به مدت ۱۴ روز ادامه پیدا کرد (Ranjbar et al., 2014). در روز ۱۴، نمونه‌های خون با بیهوشی حیوانات به وسیله دی اتیل اتر (اثر تجاری) که طبق روش متداول بیهوشی (JHU Joint Health Safety and)

می‌رسد. لذا هدف از مطالعه حاضر، مشاهده تاثیر نانوذرات نقره سنتز شده به روش احیاء شیمیایی بر سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز خون در موش صحرائی می‌باشد. اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم‌ها به عنوان آنزیم‌های شاخص برای ارزیابی وضعیت آنتی-اکسیدانی بدن (Moreno et al., 2005; Zhan et al., 2004)، تاثیر محلول حاوی نانوذرات نقره را بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و تنش اکسیداتیوی در موش‌های صحرائی مشخص می‌کند.

مواد و روش‌ها

روش تهیه نانوذرات نقره

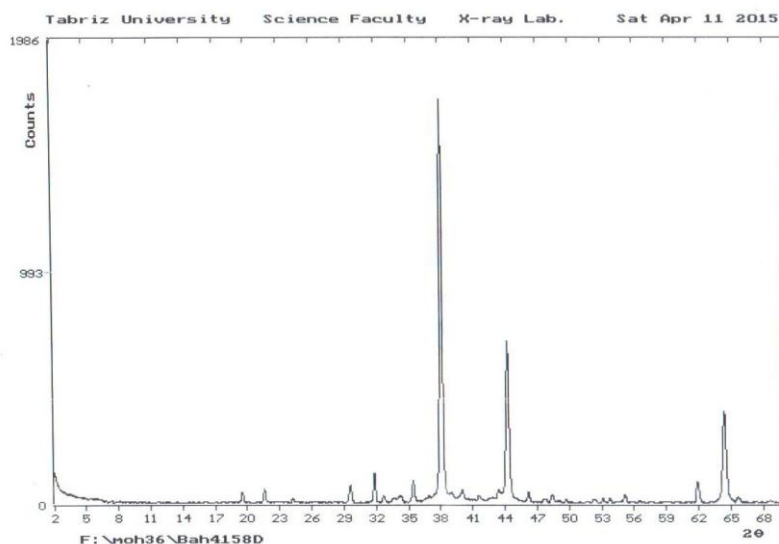
مقدار ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل درون ارلن استریل که داخل بشر حاوی یخ بود، ریخته شد. ۶۷ میکرولیتر از محلول سدیم بوروهیدرات دو میلی‌مولار به آن اضافه گردید و یک میلی‌لیتر محلول نیترات نقره ($AgNO_3$) دو میلی‌مولار به صورت قطره قطره اضافه شد تا محلول زرد رنگ به دست آید. ارلن از روی یخ برداشته شد و محتویات آن به صورت قطره قطره به ارلن حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محلول تری‌سدیم سیترات دو میلی‌مولار که روی شیکر با ۱۵۰ دور در دقیقه قرار گرفته بود، اضافه گردید. محلول نهایی درون میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری تقسیم و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. جهت حذف آلودگی‌ها و مواد اضافی واکنش، سه بار شستشوی رسوب نانوذرات با استفاده از آب مقطر استریل انجام گرفت. رسوب نهایی در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل جداسازی گردید. غلظت نقره احیاء شده

توکی (Tukey) انجام گرفت. مقادیر $p < 0.01$ معنی دار تلقی شدند.

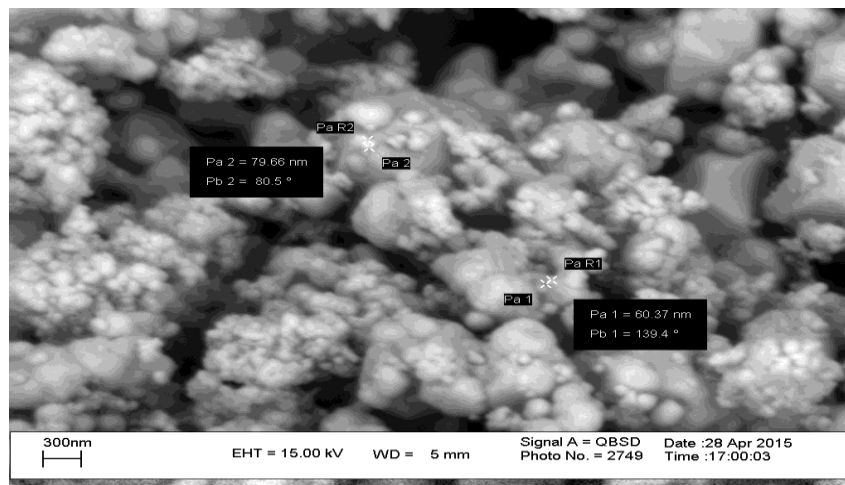
یافته‌ها

بررسی طیف XRD (پراش اشعه ایکس) نشان‌دهنده تطابق کامل آن با داده‌های پراش ایکس نمونه Ag (نقره)، کامل بودن فاز تشکیل شده و کریستالیزاسیون خوب نمونه سنتزی را نشان می‌دهد (شکل ۱). تصاویر SEM (میکروسکوپ الکترونی روبشی) به دست آمده نشان‌دهنده ایجاد ترکیبات همگن و یکنواختی از نمونه های نقره سنتز شده می‌باشند. با توجه به شکل‌های ۲ تا ۴ که طیف‌های SEM نمونه Ag خالص را نشان می‌دهد، ذرات به شکل توده‌های توپر بوده و اندازه آنها ۶۰ الی ۸۰ نانومتر می‌باشد.

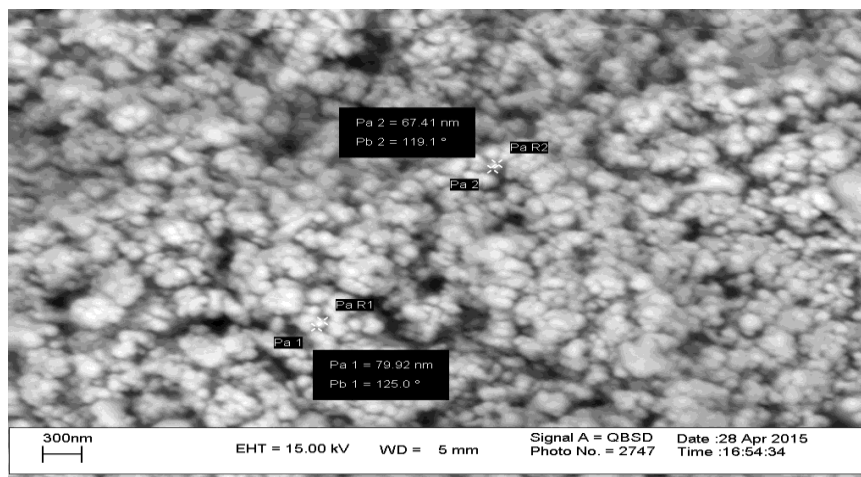
Environment/Animal Care, 2006) انجام گرفت، از سینوس چشمی (به دلیل به حداقل رساندن تنش ثانویه) اخذ شده و خون تام حاوی EDTA (اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید) به منظور سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) به آزمایشگاه مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انتقال یافت. نمونه‌های خون توسط دستگاه اتوآنالیزر و کیت‌های اختصاصی مربوطه (گلوری-کانادا) با روش الایزا مورد آزمایش قرار گرفتند. داده‌های حاصل در جداول اکسل وارد شده و توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل آماری با روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) قرار گرفت. مقایسه میانگین بین گروه‌ها به وسیله آزمون



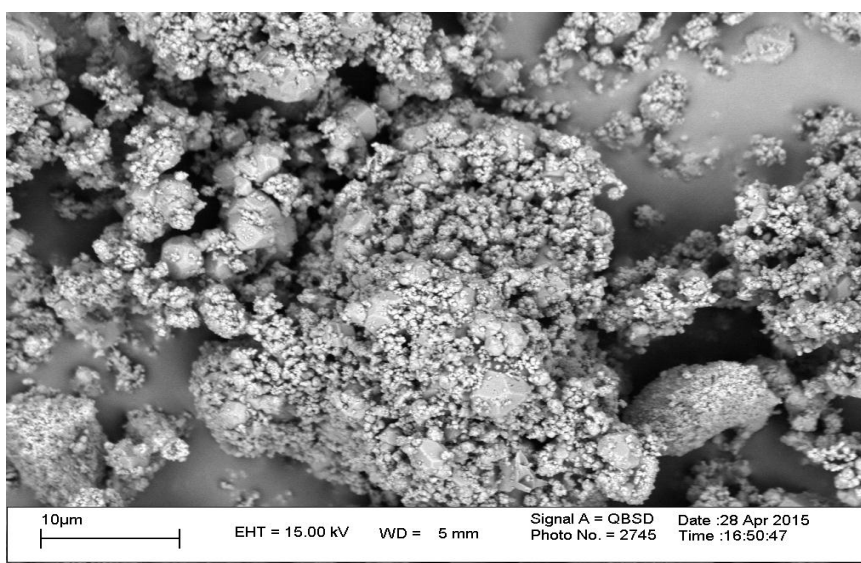
شکل ۱- طیف XRD مربوط به نمونه سنتز شده Ag را نشان می‌دهد.



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه Ag با بزرگنمایی $\times 50,000$.



شکل ۳ - تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه Ag با بزرگنمایی $\times 50,000$.



شکل ۴ - تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه Ag با بزرگنمایی $\times 50,000$.

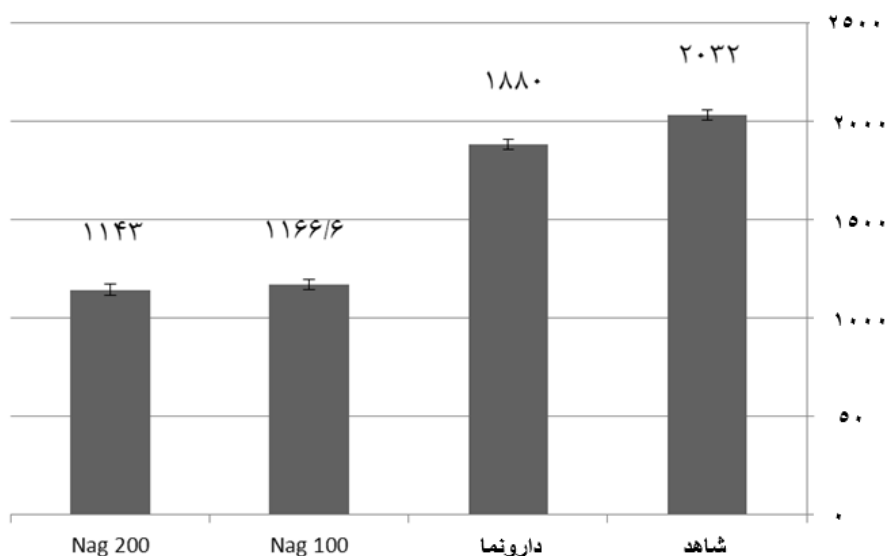
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما

تزریق غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوذرات نقره به دلیل اثرات شدید اکسیداتیوی، منجر به بروز تلفات شدیدی در موش‌ها گردید، به طوری که خونگیری صرفاً از یک حیوان باقی‌مانده از این گروه انجام گرفت.

تاثیر تزریق غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پلاسما در نمودارهای ۱

و ۲ ارائه شده است. تزریق غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوذرات نقره، باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) خون گردید، به طوری که این کاهش در دز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بارزتر بود ($p < 0.01$).

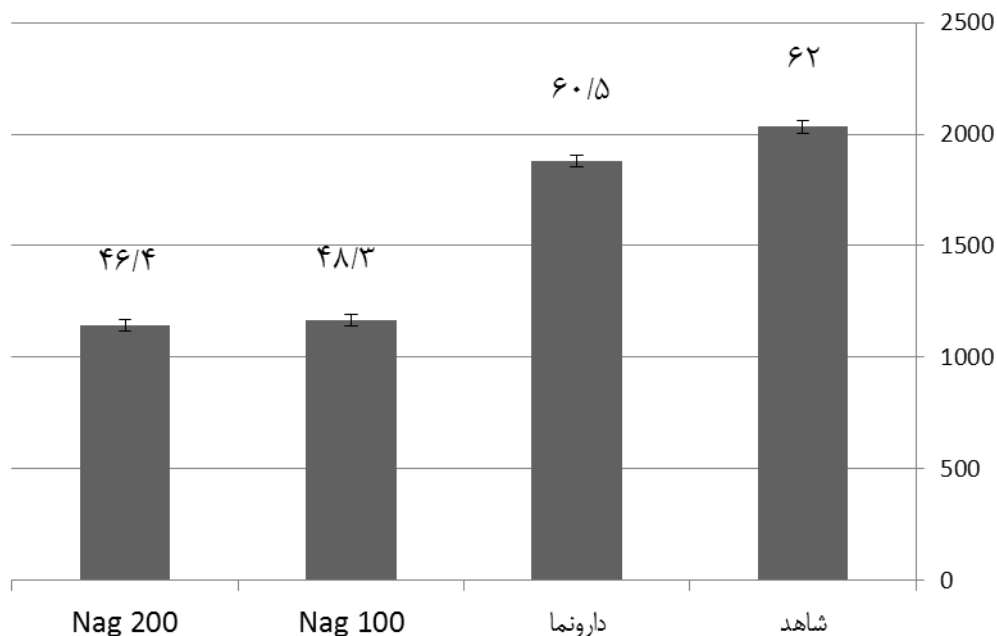
سوپراکسید دیسموتاز (SOD)



نمودار ۱- تاثیر تزریق نانوذرات نقره بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) خون موش‌های صحرائی.

واحد: واحد بر میلی‌لیتر، ارزش $p: 0.0001$ ، خطای میانگین استاندارد (SEM): ۳۶/۳۲۱.

گلوکاتیون پراکسیداز (GPx)



نمودار ۲- تاثیر تزریق نانوذرات نقره بر فعالیت آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز (GPx) خون موش‌های صحرائی. واحد: واحد بر لیتر، ارزش $p: 0/046$ ، خطای میانگین استاندارد (SEM): $0/0665$.

بحث و نتیجه‌گیری

(*et al.*, 2012). در مطالعه ایشان فعالیت آنزیم‌های آنتی-

اکسیدان در بافت مغز و خون با استفاده از ۲۰۰ میکروگرم نانوذرات نقره پوشیده شده با سیترات در هر لیتر آب برای ماهی‌های مورد مطالعه اثرات توکسیک شنیدنی در پی داشت. نتایج مطالعه ایشان در توافق با یافته‌های مطالعه حاضر بر روی موش صحرائی است.

لذا، به نظر می‌رسد مطابق پیشنهاد حیدری و همکاران در سال ۲۰۱۴ غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و بالاتر برای موش صحرائی سمی و کشنده است (*Heidary et al.*, 2014).

نتایج مربوط به روش احیای شیمیایی برای سنتز نانوذرات نقره و بررسی‌های آن روی سیستم آنزیمی مدل حیوانی مورد بحث قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که با استفاده از غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره انجام

در این مطالعه، با توجه به گزارشات منتشر شده در رابطه با استفاده از غلظت‌های ۲۰۰ الی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرائی (*Heidary et al.*, 2014; *Attia*, 2014) و احتمال سمیت دز مربوطه، استفاده از غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوذرات نقره تهیه شده به روش احیا، منجر به تلفات عمده شد و نتایج مربوط به این گروه، صرفاً از حیوانات باقی‌مانده اخذ شده است. شایان ذکر است، مطالعه لی و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان داده است که استفاده از سیترات و به عبارتی پوشش یافتن ذرات نانونقره با سیترات (که در روش احیای شیمیایی استفاده می‌شود) باعث افزایش سمیت نانوذرات نقره برای مدل حیوانی می‌شود (*Lee*

در مطالعه مشابهی که با تزریق داخل صفاقی غلظت- های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم نانوذرات نقره به موش‌های صحرایی انجام گرفت، بررسی فراسنجه‌های خونی بعد از ۲۸ روز، افزایش معنی دار مالون‌دی‌آلدئید و کاهش معنی دار سوپراکسید دیسموتاز را برای تمامی غلظت‌های تزریق شده گزارش کردند. اگرچه در این مطالعه علی‌رغم اشاره بر بررسی تلفات، گزارشی از تعداد و دز منجر به اتلاف حیوانات نشده است (Attia, 2014).

هریتسو و همکاران در سال ۲۰۱۱ با استفاده از تزریق داخل صفاقی نانوذرات نقره در دو اندازه مختلف ۲۹ نانومتر و ۲۳ نانومتر در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تاثیرات ناشی از تنش اکسیداتیوی را در حافظه و آسیب‌شناسی مغز بررسی کردند. ایشان بعد از گذشت ۷ روز از زمان تزریق مشاهده کردند که تمامی گروه‌های مورد تزریق با هر دو اندازه ذرات و هر دو غلظت در نتیجه تنش اکسیداتیوی، اختلالاتی را در حافظه نشان داده و وزن مغز هر چهار گروه مورد تزریق، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد داشت. این کاهش در وزن مغز در گروهی که با ذرات ریزتر (۲۹ نانومتر) مورد تزریق قرار گرفته بودند، محسوس‌تر و معنی‌دارتر بود. این تاثیر در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کاهش معنی‌دار سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز همراه بود (Hritcu et al., 2011).

در مطالعه‌ای دیگر که توسط رنجبر و همکاران در سال ۲۰۱۴ با غلظت‌های ۵ تا ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز نانوذرات نقره و به مدت ۱۴ روز روی موش- های صحرایی انجام دادند، کاهش فعالیت سوپراکسید

گرفت، کاهش معنی‌دار سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در کبد مدل ماهی تیلیا گزارش کردند (Govindasamy and Abdul Rahuman, 2012).

با توجه به نتایج مطالعات منتشر شده، افزودن نانوذرات نقره به جیره غذایی نیز باعث تغییرات قابل ملاحظه‌ای در سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد (Adeyemi and Faniyan, 2014; Ahmadi and Hafsi Kurdestany, 2010). در مطالعه‌ای که روی جوجه‌های گوشتی انجام گرفت، احمدی و حفظی کردستانی، با افزودن ۱۰ و ۲۰ نانوذرات نقره، افزایش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید سرم و کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز خون را مشاهده کردند (Ahmadi and Hafsi Kurdestany, 2010).

در مطالعه‌ای که آدیمی و فانیان در سال ۲۰۱۴ با استفاده از کانولا و به صورت خوراکی روی موش‌های صحرایی انجام داد، غلظت‌های ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانوذرات نقره را به صورت خوراکی مورد تغذیه حیوانات قرار داد. بعد از گذشت یک روز نمونه‌های خون اخذ شده، سطح بالای مالون- دی‌آلدئید و تغییر در تعادل آنزیمی بین SOD و GPx را نشان داد، به طوری که SOD افزایش و GPx کاهش معنی‌داری نشان داد. این محققین پیشنهاد کردند که مصرف خوراکی غلظت‌های ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی- گرم بر کیلوگرم باعث بروز ناهماهنگی بین آنزیم‌ها و آشفتگی وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن و احتمالاً افزایش پراکسیداسیون لیپیدها خواهد شد (Adeyemi and Faniyan, 2014).

الی ۸۰ نانومتر به دست آمد. از نظر سازوکار، مطابق نتیجه‌گیری مک‌شان و همکاران (McShan *et al.*, 2014)، سطح نانوذرات نقره در محیط زنده در تقابل با اکسیژن و سایر اکسیدان‌ها به سرعت اکسید شده و یون Ag^+ آزاد می‌کند که این یون باعث استرس اکسیداتیوی و سایر صدمات سلولی می‌گردد. مطالعات روی مدل حیوانی نشان داده است که غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو ذرات نقره سنتز شده به روش احیاء باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان می‌گردد. تزریق غلظت بالا (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در این مطالعه منجر به بروز تلفات شدید و اثرات سمی در گروه مربوطه شد. به نظر می‌رسد برخلاف برخی از گزارشات علمی منتشر شده مبنی بر اثرات مفید این نانوذرات، استفاده از غلظت‌های بالا می‌تواند سبب تنش اکسیداتیو و سایر عوارض پاتوفیزیولوژیکی مرتبط، در بدن گردد. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده از غلظت‌های پایین استفاده گردد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلخچی می‌باشد. از همکاری مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در انجام آنالیزهای آزمایشگاهی این پژوهش نهایت سپاس را دارد.

دیسموتاز و کاتالاز و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام گزارش گردید (Ranjbar *et al.*, 2014).

در مطالعه حاضر، کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز خون تام متعاقب تزریق ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوذرات نقره در موش‌های صحرایی مطابق یافته‌های رنجبر و همکاران در سال ۲۰۱۴، هریتسو و همکاران در سال ۲۰۱۱ و آتیا در سال ۲۰۱۴ می‌باشد که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در نتیجه تزریق غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره گزارش کرده‌اند (Attia, 2014; Hritcu *et al.*, 2011; Ranjbar *et al.*, 2014).

همچنین یافته‌های این مطالعه با گزارش آدیمی و فانیان در سال ۲۰۱۴ که تاثیر اکسیداتیوی نانوذرات نقره را به صورت خوراکی روی موش‌های صحرایی مطالعه کردند (Adeyemi and Faniyan, 2014)، هم‌خوانی دارد. به نظر می‌رسد، تزریق داخل صفاقی سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات نقره باعث تنش اکسیداتیو (تضعیف آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان) می‌گردد که احتمالاً دلیل اصلی تلفات حاصله در حیوانات گروه دریافت کننده دز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات نقره بوده است.

در مطالعه حاضر، نانو ذرات نقره با استفاده از روش احیاء شیمیایی سنتز گردید که دلیل انتخاب این روش، سادگی تولید، توانایی کنترل شکل و اندازه نانو ذرات بود. ذرات به شکل توده‌های توپر بوده و اندازه آنها ۶۰

منابع

- رضایی زراچی، س.، تقوی فومنی، م.، رضوی ششده، س. و نگهداری، م. (۱۳۹۲). اثر نانوذرات نقره بر سلول های خونی در موش صحرائی نر. فصلنامه پژوهشی خون، دوره ۱۰، شماره ۲، صفحات: ۱۵۳-۱۴۷.
- محتشمی، م.، سپهری سرشت، س.، اصلی، ا.، برومند، م. و قاسمی، ا. (۱۳۹۱). سنتز نانوذرات نقره با روش احیاء شیمیایی و روش بیوسنتز و بررسی اثرات ضد باکتری آنها. مجله علوم پزشکی رازی. دوره ۱۹، شماره ۱۰۳، صفحات: ۶۵-۷۴.
- Adeyemi, O.S. and Faniyan, T.O. (2014). Antioxidant status of rats administered silver nanoparticles orally. *Journal of Taibah University of Medical Sciences*, 9: 182-186.
- Ahmadi, F. and Hafsi Kurdestany, A. (2010). The Impact of Silver Nano Particles on Growth Performance, Lymphoid Organs and Oxidative Stress Indicators in Broiler Chicks. *Global Veterinaria*, 5(6): 366-370.
- Attia, A.A. (2014). Evaluation of the Testicular Alterations Induced By Silver Nanoparticles in Male Mice: Biochemical, Histological and Ultrastructural Studies. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(4): 1585-1589.
- Govindasamy, R. and Abdul Rahuman, A. (2012). Histopathological studies and oxidative stress of synthesized silver nanoparticles in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Environmental Sciences*, 24(6): 1091-1098.
- Heidary, T., Shayesteh, F.K., Ghasemi, H., Zijoud, S.M.H. and Ranjbar, A. (2014). Effects of silver nanoparticle (Ag NP) on oxidative stress, liver function in rat: hepatotoxic or hepatoprotective? *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(5): 040-044.
- Hritcu, L., Stefan, M., Ursu, L., Neagu, A., Mihasan, M., Tartau, L., *et al.* (2011). Exposure to silver nanoparticles induces oxidative stress and memory deficits in laboratory rats. *Central European Journal of Biology*, 6: 497-509.
- Huang, C.C., Aronstam, R.S., Chen, D.R. and 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.
- JHU; Joint Health Safety and Environment/Animal Care and Use Committee. (2006). Use of Ether for Animal Anesthesia at Johns Hopkins University. Johns Hopkins University, USA. Online: <http://web.jhu.edu/animalcare/policies/ether.html>
- Lee, B., Duong, C.N., Cho, J., Lee, J., Kim, K., Seo, Y., *et al.* (2012). Toxicity of citrate-capped silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, ID: 262670.
- Leopold, N. and Lendl, B. (2003). A new method for fast preparation of highly surface-enhanced Raman scattering (SERS) active silver colloids at room temperature by reduction of silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride. *Journal of Physical Chemistry B*, 107: 5723-5727.
- Martirosyan, A. and Schneider, Y.J. (2014). Engineered nanomaterials in food: implications for food safety and consumer health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(6): 5720-5250.
- McShan D., Ray P.C. and Yu, H. (2014). Molecular toxicity mechanism of nanosilver. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(1): 116-127.
- Moreno, I., Pichardo, S., Jos, A., Gomez-Amores, L., Mate, A. and Vazquez, C.M. (2005). Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to microcystin-LR administered intraperitoneally. *Toxicol*, 45: 395-402.
- Rai, M., Yadav, A. and Gade A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27: 76 -83.

-
- Ranjbar, Z., Ataie, F. and Khajavi, H. (2014). Effects of silver nanoparticle (Ag NP) on oxidative stress biomarkers in rat. *Nanomedicine Journal*, 1: 205-210.
 - Wong, K.Y. (2012). Nanomedicine. *Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8(6): 935-940.
 - Zhan, C.D., Sindhu, R.K., Pang, A. and Vaziri, N.D. (2004). Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the spontaneously hypertensive rat kidney: effect of antioxidant-rich diet. *Journal of Hypertension*, 22(10): 2025-2033.

Effects of silver nanoparticles synthesized through chemical reduction on plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in rat model

Ghavidel Aghdam, E.^{1*}, Narimani Rad, M.², Lotfi, A.³

- 1- Department of Chemistry, Ilkhchi Branch, Islamic Azad University, Ilkhchi, Iran.
- 2- Assistant Professor, Department of Physiology, Ilkhchi Branch, Islamic Azad University, Ilkhchi, Iran.
- 3- Department of Physiology, Ilkhchi Branch, Islamic Azad University, Ilkhchi, Iran.

*Corresponding author email: ghavidel.chemistry@yahoo.com

(Received: 2015/1/20 Accepted: 2016/5/25)

Abstract

With possibility of synthesis of silver nanoparticles in citrate-coated form and via chemical method, the aim of this study was synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and investigation of the impact of nanoparticles on superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in an animal model. Silver nanoparticles were synthesized by chemical reduction with a mixture of distilled water and sodium borohydrate and adding silver nitrate and sodium citrate to the obtained solution. *In vivo* study was conducted using 40 adult male rats with an average weight of 100 grams. Animals were divided into four groups, as control, placebo, and treatment groups receiving silver nanoparticle solutions (100 and 200 mg/kg, respectively). The treatment groups received silver nanoparticle solutions (100 and 200 mg/kg) on the first and the seventh days of experiment intraperitoneally. Oxidative effects of injected high concentrations of silver nanoparticles (200 mg/kg) lead to mortality in the experimental animals. Infusion of silver nanoparticles at concentrations of 100 and 200 milligrams per kilogram of body weight decreased the activity of plasma superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx). This reduction was significantly higher ($p < 0.01$) at the dose of 200 mg/kg. In conclusion, studies on animal models showed that the concentrations of 100 and 200 milligrams per kilogram of body weight of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction method decreases the activity of antioxidant enzymes, eventually leading to mortality.

Key words: Antioxidant enzymes, Oxidative stress, Chemical reduction method, Silver nanoparticles.