

Original Article

Evaluation of the simultaneous effect of zinc oxide nanoparticles and vitamin C on oxidative stress in rat cerebellum

Rafiei-Rad M*, Valipour-Chahardah-Charic S

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, I. R. Iran.

Received: 2018/01/31 | Accepted: 2018/05/7

Abstract:

Background: In recent years, the potential effects of nanoscale materials on the central nervous system have become even more noticeable. The cerebellum is one of the areas of the brain with high absorption of zinc. The aim of this study was to investigate the effects of zinc oxide nanoparticles (NPs) on oxidative stress indices in rat cerebellum in the presence and absence of vitamin C.

Materials and Methods: In this experimental study, male Wistar rats (250-200g) were divided into the following groups (n=7): a normal saline group (control), three groups that received different doses of zinc oxide NPs (1.25, 2.5 and 5 mg/kg), three groups that received different doses of vitamin C (30, 60 and 120 mg/kg) and three groups that received 1.25, 2.5 and 5 mg/kg of zinc oxide NPs combined with 30 mg/kg of vitamin C. Half an hour after receiving the medication, the rats were anesthetized and then their cerebellum was removed and the malondialdehyde (MDA) and thiol groups of the cerebellum region were measured.

Results: The MDA level decreased significantly in the groups received 5mg/kg of zinc oxide NPs, in the groups received different doses of vitamin C, and in the groups received different doses of zinc oxide NPs combined with 30 mg/kg vitamin C compared with the saline group. Total thiol concentration did not change significantly in the different study groups compared to the control group.

Conclusion: Zinc oxide NPs alone or in combination with vitamin C has a reduced effect on oxidative stress in the rat cerebellum.

Keywords: Zinc oxide NPs, Malondialdehyde, Thiol, Vitamin C, Rats

* Corresponding Author.

Email: Rafieirad.m@gmail.com

Tel: 0098 916 311 6542

Fax: 0098 614 364 3374

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2018; Vol. 22, No 3, Pages 274-282

Please cite this article as: Rafiei-Rad M, Valipour-Chahardah-Charic S. Evaluation of the synchronous effect of zinc oxide nanoparticles and vitamin C on oxidative stress in rat cerebellum. *Feyz* 2018; 22(3): 274-82.

بررسی اثر همزمان نانوذرات اکسید روی و ویتامین C بر استرس اکسیداتیو در مخچه موش صحرایی

مریم رفیعی راد^{۱*}، سعید ولی پور چهارده چریک^۱

خلاصه:

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر به تاثیرات بالقوه مواد در ابعاد نانو روی سیستم عصبی مرکزی توجه بیشتری شده است. مخچه یکی از مناطق مغزی با جذب بالای روی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات نانواکسید روی بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو مخچه موش‌های صحرایی در حضور و غیاب ویتامین C می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (250g-200g) به گروه‌های زیر (n=7) تقسیم شدند: یک گروه دریافت کننده سالیسین (شاهد)، سه گروه دریافت کننده دوزهای 1/25، 2/5 و 5 mg/kg نانواکسید روی، سه گروه دریافت کننده دوزهای 30، 60 و 120 mg/kg ویتامین C و 3 گروه دریافت کننده نانواکسید روی 1/25، 2/5 و 5 توأم با دوز 30 mg/kg ویتامین C. نیم ساعت پس از دریافت دارو، پس از بیهوش کردن حیوانات، مخچه آن‌ها خارج شده و مالون دی‌آلدئید و گروه‌های تیول ناحیه مخچه اندازه‌گیری شد.

نتایج: سطح مالون دی‌آلدئید در گروه‌های دریافت کننده 5 mg/kg نانواکسید روی و گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف ویتامین C، همچنین گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف نانواکسید روی توأم با 30 mg/kg ویتامین C در مقایسه با گروه سالیسین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. غلظت تیول تام در گروه‌های مختلف مطالعه در مقایسه با گروه شاهد تغییر معنی‌دار نکرد.

نتیجه‌گیری: نانواکسید روی به‌تنهایی و یا توأم با ویتامین C اثرات کاهشی در میزان استرس اکسیداتیو مخچه موش صحرایی دارد.

واژگان کلیدی: نانوذره اکسید روی، مالون دی‌آلدئید، تیول، ویتامین C، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره 3، مرداد و شهریور 97، صفحات 282-274

مقدمه

این ماده مورد استفاده پزشکان و داروسازان قرار گرفته و اثربخشی آن در عکس‌برداری‌های پزشکی، درمان سرطان‌های مغزی، ترمیم بافتی و انتقال دارو مورد تایید می‌باشد [2]. در مطالعات اخیر مشخص شده است که نانواکسید روی اثرات مثبتی را بر برخی اعمال عصبی رفتاری اعمال می‌کند؛ به‌طوری‌که رفتارهای شبه-اضطرابی و درد را بهبود بخشیده و با سیستم اویپوئیدی تداخل عمل نشان می‌دهد [3]. نانوذرات از سد خونی-مغزی عبور کرده [4] و جالب آن‌که آپولیوپروتئین E با آنها ارتباط برقرار کرده و ممکن است به‌عنوان یک واسطه حمل و نقل در سراسر سد خونی-مغزی عمل کند [5]. همچنین، مشخص شده است که تزریق مزمن نانواکسید روی به موش‌های صحرایی طی 8 هفته باعث افزایش تقویت بلندمدت (LTP) در هیپوکامپ می‌شود [6] که این نتیجه اثر مثبت این دارو را در فرآیند حافظه نشان می‌دهد. برخی مطالعات نشان داده‌اند نانوذرات سمیت بیشتری نسبت به اندازه میکرو همان ترکیب نشان می‌دهند و نانوذرات با اندازه‌های مختلف میزان متفاوتی از سمیت سلولی و آسیب DNA را القا می‌کنند [7]. استرس اکسیداتیو نشان‌دهنده یک مکانیسم عمومی برای آسیب سلولی ناشی از نانوذرات است و این مکانیسم در بسیاری از مطالعات بررسی سمیت نانوذرات تایید شده است. معمولاً یک جنبه مخرب واکنش‌های استرس اکسیداتیو، تولید گونه‌های اکسیژن

اکسید روی از جمله مواد با خواص منحصر به‌فرد است. این ماده در قرن اخیر به‌دلیل استفاده در وسایل ذخیره انرژی دارای اهمیت زیادی شده است. با سنتز نانوذرات اکسید روی می‌توان خواص این ماده را بهبود بخشید و کاربردهای بیشتری از آن ارایه کرد. اکسید روی زیست‌سازگار و ایمن بوده و می‌تواند در پزشکی به‌راحتی به‌کار رود. نانوذرات اکسید روی از نظر جذب اشعه فرا-بنفش نیز دارای کاربردهای ویژه‌ای هستند که از جمله آن می‌توان به کاربرد آنها در پماد سوختگی و کرم‌های ضدآفتاب به‌عنوان جذب‌کننده قوی پرتو فرابنفش و فوتوکاتالیست برای حذف آلودگی‌های محیط زیست اشاره کرد. طی چندسال گذشته با توسعه فناوری نانو، نانواکسید روی به‌عنوان یک مکمل جدید حاوی یون روی با خصوصیات متفاوت از ترکیب معمولی خود عرضه شده و به‌سرعت توجه بسیاری از محققین علوم مختلف از جمله بیوتکنولوژی را به‌خود جلب کرده است [1].

^۱ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

ایذه، گروه زیست‌شناسی، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی

دوره‌نویس: ۰۶۱۴۳۶۴۳۳۷۴

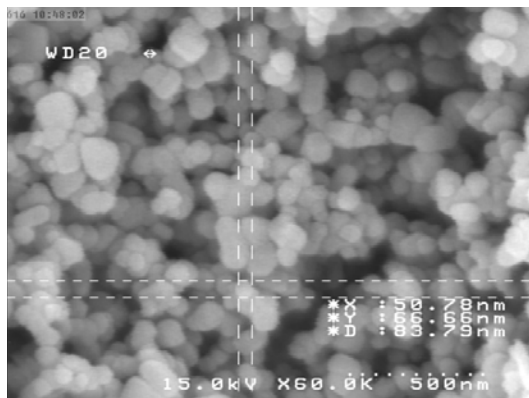
تلفن: ۰۹۱۶۳۱۱۶۵۴۲

پست الکترونیک: Rafieirad.m@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۲/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۱

پودر سفیدرنگ جامد بود که پس از عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی (SEM) در دانشگاه تهران و تأیید ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر (۸۳-۵۰ نانومتر) آن (شکل شماره ۱)، به‌میزان مورد نیاز روزانه قبل از شروع آزمایش به‌مدت ۱۵ دقیقه توسط دستگاه حمام اولتراسونیک در سالیان ۰/۹ درصد پراکنده می‌شد. قبل از هر بار تزریق نیز ترکیب مجدداً به‌مدت ۱ دقیقه توسط دستگاه شیکر پراکنده می‌گردید [۱۴]. ویتامین C (مرک، آلمان) نیز به‌مقدار لازم در سالیان ۰/۹ درصد حل و تزریق شد. جهت ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو مخچه، سر موش‌ها قطع شده و مخچه آنها بیرون آورده شد [۱۵].



شکل شماره ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) از نانوذره اکسید روی مورد استفاده در مطالعه حاضر

سنجش پراکسیداسیون لیپیدی:

سطوح واکنش تیوباریتوریک اسید (TBARS)، یک شاخص پراکسیداسیون لیپیدی که به‌وسیله رادیکال‌های آزاد تولید می‌گردد، اندازه‌گیری شد. مالون دی‌آلدئید (MDA) با تیوباریتو-ریک اسید (TBA) واکنش می‌دهد و تولید یک کمپلکس قرمز رنگ می‌کند که حداکثر جذب را در طول موج ۵۳۲ نانومتر دارد. سه میلی‌لیتر اسید فسفریک (۱ درصد) و ۱ میلی‌لیتر TBA (۰/۶ درصد) به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن در یک لوله سانتریفیوژ اضافه شد و مخلوط به‌مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. پس از خنک شدن، ۴ میلی‌لیتر n-بوتانول به مخلوط اضافه گردید و به‌مدت ۱ دقیقه هم زده شد و سپس در ۲۰۰۰ g به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. لایه رنگی به یک لوله تازه منتقل شده و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با استفاده از ۱،۰۳،۳-ترا متوکسی پروپان جهت محاسبه غلظت تهیه شد [۱۶].

سنجش میزان گروه‌های تیول (-SH)

مجموع گروه‌های تیول با استفاده از DTNB (معرف المن) اندازه‌گیری شد. این معرف با گروه‌های تیول (-SH) برای تولید یک

واکنشی (Reactive Oxygen Species; ROS) مانند رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسیدها و سوپراکسید می‌باشد و کاهش آن‌ها سبب افزایش طول عمر می‌شود [۸]. مقدار زیادی از ROS می‌تواند حتی زمانی که فقط مقدار کمی از نانواکسید روی در سلول‌ها موجود باشد، تولید شود [۹]. اختلالات ایجاد شده در حالت اکسیداسیون از عوارض ناشی از تولید پراکسیدها و رادیکال‌های آزاد است که موجب آسیب اجزای سلولی، از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA می‌شود [۱۱،۱۰]. در مقابل، آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که از تشکیل رادیکال‌های آزاد در سلول جلوگیری می‌کنند و نقش مهمی در حفاظت از سلول در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو دارند [۱۲]. ویتامین C یا اسید آسکوربیک یک ویتامین محلول در آب است که به‌واسطه اثر آنتی‌اکسیدانی خود رادیکال‌های آزاد بسیار واکنش‌پذیر را که پیوسته به‌وسیله متابولیسم سلول تولید می‌شوند، از بین می‌برد [۱۳]. از آنجایی که تاکنون گزارشی از اثر ترکیبات یون روی در اندازه نانو و اسید آسکوربیک بر آسیب‌های اکسیداتیو مشاهده نشده است، در این تحقیق اثر نانواکسید روی در حضور و غیاب ویتامین C بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو نظیر مالون دی‌آلدئید و تیول نام مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که طی تابستان ۱۳۹۳ در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه انجام شد، از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) تهیه شده از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز استفاده گردید. یک هفته قبل از شروع هرگونه آزمایش، و جهت تطابق با محیط نگهداری، حیوانات در شرایط استاندارد دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته (ساعت روشنایی ۱۹-۷) نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. ملاحظات اخلاقی با توجه به منشور اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی رعایت گردید. تعداد ۷۰ سر موش‌های صحرایی نر بالغ به‌صورت تصادفی در ۱۰ گروه ۷ تایی ($n=7$) به شرح ذیل قرار گرفتند: سالیان (شاهد درمان)، ۳ گروه دریافت‌کننده نانواکسید روی با مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۳ گروه دریافت‌کننده ویتامین C با مقادیر ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۳ گروه دریافت‌کننده نانواکسید روی با مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم همراه با ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C. همه تجویزها به‌صورت یک دوز حاد و داخل صفاقی انجام شده و به گروه شاهد تزریق، سالیان ۰/۹ درصد (به میزان ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) تزریق گردید. نانواکسید روی (لولیتک، آلمان) به صورت

نمی‌دهد (جدول شماره ۱). همان‌طور که در نمودار شماره ۲ ملاحظه می‌شود میزان مالون دی‌آلدئید در مخچه موش‌های صحرایی دریافت کننده دوزهای مختلف ویتامین C نسبت به گروه دریافت کننده سالین کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0/01$). همچنین، میزان مالون دی‌آلدئید در مخچه موش‌های صحرایی دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی توام با ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C نسبت به گروه دریافت کننده سالین کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0/001$) (نمودار شماره ۳).

ارزیابی میزان کل محتوای گروه‌های تیول (SH-):

نمودار شماره ۴ مقدار کل محتوای گروه‌های تیول (SH-) را در ناحیه مخچه موش‌های صحرایی نر دریافت کننده سالین و نیز موش‌های صحرایی دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، میزان کل محتوای گروه‌های تیول در مخچه موش‌های صحرایی دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه سالین نشان نمی‌دهد. همان‌طور که در نمودار شماره ۵ نشان داده شده است میزان کل محتوای گروه‌های تیول در ناحیه مخچه مغز موش‌های صحرایی دریافت کننده دوزهای مختلف ویتامین C اگرچه نسبت به گروه سالین افزایش را نشان می‌دهند اما این افزایش معنی‌دار نیست. در نمودار شماره ۶ مقدار کل محتوای گروه‌های تیول (SH-) در مخچه موش‌های صحرایی دریافت کننده سالین و موش‌های صحرایی‌های دریافت کننده دوز-های مختلف نانو اکسید روی توام با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C نشان داده شده است. در گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۱/۲۵ و ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو اکسید روی توام با ویتامین C با وجود افزایش در میزان محتوای گروه‌های تیول نسبت به گروه دریافت کننده سالین، اما این افزایش معنی‌دار نیست.

مجموعه زرد رنگ که حداکثر جذب آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر است، واکنش می‌دهد. یک میلی‌لیتر بافر Tris- EDTA (pH=۸/۶) به ۵۰ میکرو لیتر هموژن اضافه شده و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۲ نانومتر در مقابل بافر Tris- EDTA به‌تنهایی خوانده شد (A1). سپس، ۲۰ میکرو لیتر معرف DTNB (۱۰ میلی‌مول در متانول) به مخلوط اضافه شده و بعد از ۱۵ دقیقه (نگهداری در دمای اتاق) جذب نمونه دوباره خوانده شد (A2). همچنین، جذب معرف DTNB به‌عنوان یک بلانک (B) خوانده شده و مجموع غلظت تیول (میلی‌مول) از معادله زیر محاسبه گردید [۱۷]:

$$\text{تیول (میلی‌مول)} = (A2 - A1 - B) \times 1.07 / 0.05 \times 13.6 = \text{مجموع غلظت تیول (میلی‌مول)}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

جهت بررسی آماری از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ و آزمون ANOVA یک‌طرفه استفاده شد. مقایسه دویه‌دوی گروه‌ها با استفاده از آزمون پشتیبان حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام گردید. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شده و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

ارزیابی شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (مالون دی‌آلدئید):

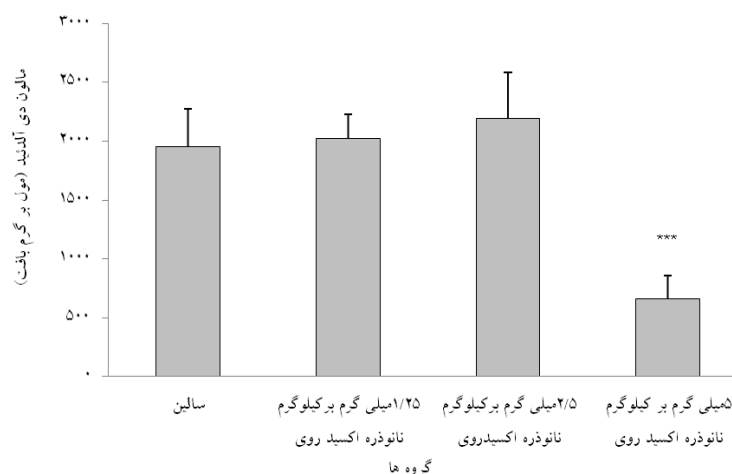
نمودار شماره ۱ میزان MDA به‌عنوان یک شاخص پراکسیداسیون لیپیدی را در ناحیه مخچه موش‌های صحرایی دریافت کننده سالین و نیز گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود میزان مالون دی‌آلدئید در مخچه موش‌های صحرایی دریافت کننده دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو اکسید روی کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه دریافت کننده سالین نشان می‌دهد ($P < 0/001$). در حالی که در گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو اکسید روی میزان مالون دی‌آلدئید تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه سالین نشان

جدول شماره ۱- تحلیل واریانس مقایسه میانگین \pm انحراف معیار میزان مالون دی‌آلدئید و گروه‌های تیول در گروه‌های مختلف آزمایش

معنی داری	F	۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۱/۲۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	گروه‌ها
۰/۰۰۱	۱۲/۵۱۵	۵۷۷/۹۷±	۱۲۸۴/۴±	۳۷۳/۲۷±	مالون دی-آلدئید
۰/۸۶۷	۰/۵۰۳	۰/۲۷۹۵±	۰/۰۲۳۳±	۰/۲۴۳۲±	تیول
		۰/۰۳۹۰۳	۰/۰۹۴۱۵	۰/۰۵۳۳	
		۰/۰۶۱۲	۰/۰۳۳۰۹	۰/۰۵۵۱	
		۰/۰۱۰۹	۰/۰۱۷۱۵±	۰/۰۱۰۹±	
		۰/۰۲۹۶۶	۰/۰۹۵۲	۰/۰۲۹۶۶	
		۰/۰۶۴۴۹	۰/۰۶۰۵۱	۰/۰۶۴۴۹	
		۰/۰۱۷۴±	۰/۱۹±	۰/۱۷۴±	
		۰/۰۱۰۹/۵	۰/۰۱۰۹/۵	۰/۰۱۰۹/۵	
		۰/۰۱۵۷/۰۹	۰/۰۱۵۷/۰۹	۰/۰۱۵۷/۰۹	
		۰/۰۸۲/۹۲±	۰/۰۸۲/۹۲±	۰/۰۸۲/۹۲±	
		۰/۰۴۰/۱۴±	۰/۰۴۰/۱۴±	۰/۰۴۰/۱۴±	
		۰/۰۶۴/۱۱±	۰/۰۶۴/۱۱±	۰/۰۶۴/۱۱±	
		۲۱۹۴/۸±	۲۱۹۴/۸±	۲۱۹۴/۸±	
		۲۰۲۶/۳±	۲۰۲۶/۳±	۲۰۲۶/۳±	
		۱۹۵۶/۲±	۱۹۵۶/۲±	۱۹۵۶/۲±	

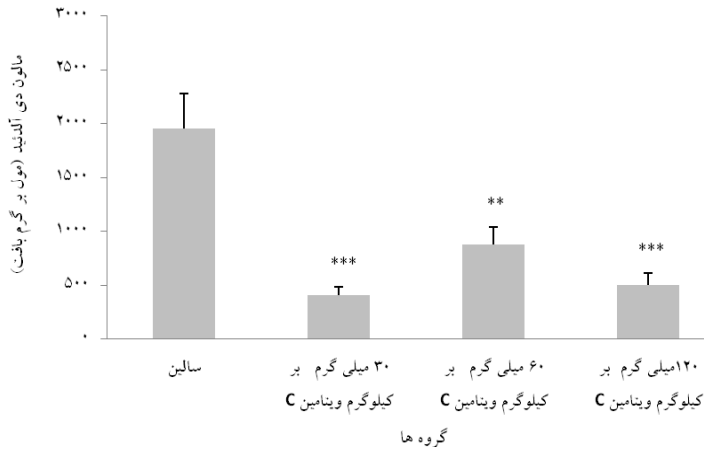
جدول شماره ۲- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار میزان مالون دی آلدئید و گروه‌های تیول در گروه‌های مختلف آزمایش

سطح معنی‌داری	انحراف معیار	تفاوت میانگین (I-J)	گروه‌ها (J)	مالون دی آلدئید (I)
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۱۵۰/۲۸۲۸۹*	۵ نانوذره	سالمین
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۴۰۸/۰۶۲۲۳*	۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۲	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۸۷۴/۵۷۵۶۷*	۶۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۳۰۷/۲۹۰۳۸*	۱۲۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۴۴۱/۱۵۹۸۳*	۱/۲۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۲۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۶۴۴/۹۷۸۷۸*	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۲۳۶/۴۵۶۸۶*	۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۲۲۵/۷۷۷۹۳*	۵ نانوذره	۱/۲۵ نانوذره
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۴۸۳/۵۵۷۲۸*	۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۹۵۰/۰۷۰۷۲*	۶۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۳۸۲/۸۸۵۴۳*	۱۲۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۵۱۶/۶۵۴۸۸*	۱/۲۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۱۰	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۷۲۰/۴۷۳۸۳*	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۳۱۱/۹۵۱۹۱*	۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۵۳۰/۴۱۰۱۸*	۵ نانوذره	۲۵ نانوذره
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۷۸۸/۱۸۹۵۳*	۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۲۵۴/۷۰۲۹۷*	۶۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۶۸۷/۵۱۷۶۸*	۱۲۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۸۲۱/۲۸۷۱۳*	۱/۲۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۰۲۵/۱۰۶۰۸*	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۶۱۶/۵۸۴۱۶*	۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	
۰/۰۰۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۱۵۳۰/۴۱۰۱۸*	۵ نانوذره	
۰/۰۰۷	-۰۸۳۴۵/۷۶۳*	-۷۶۳/۰۸۳۴۵*	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۳۰ ویتامین C
۰/۰۴۱	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۵۶۶/۵۸۴۱۶*	۱/۲۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۶۰ ویتامین C
۰/۰۱۸	۲۷۱/۹۳۷۱۲	-۶۶۲/۴۱۱۶۰*	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۱۲۰ ویتامین C
۰/۰۰۵	۲۷۱/۹۳۷۱۲	-۷۹۶/۱۸۱۰۵*	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۱/۲۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C
۰/۰۰۵	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۷۹۶/۱۸۱۰۵*	۱/۲۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C
۰/۰۳۴	۲۷۱/۹۳۷۱۲	۵۹۱/۴۷۸۰۸*	۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C	۲/۵ نانوذره + ۳۰ ویتامین C

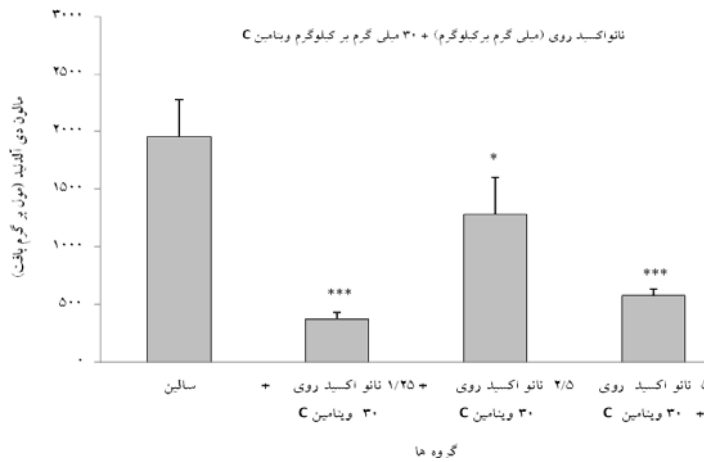


نمودار شماره ۱- مقایسه مقدار مالون دی آلدئید در ناحیه مخچه گروه دریافت کننده سالمین با گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید

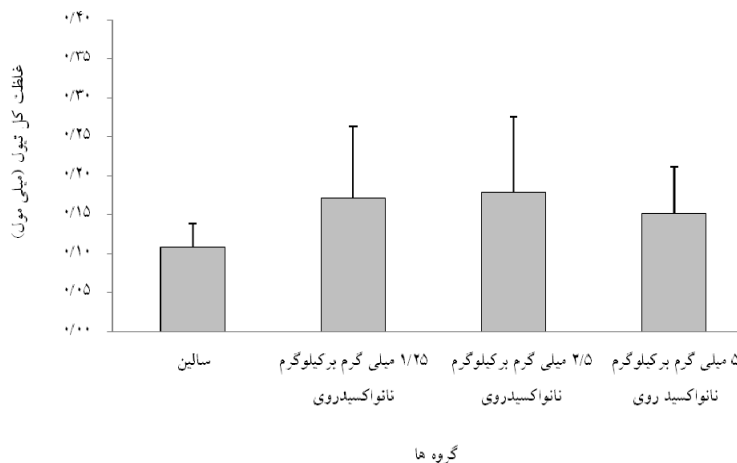
روی



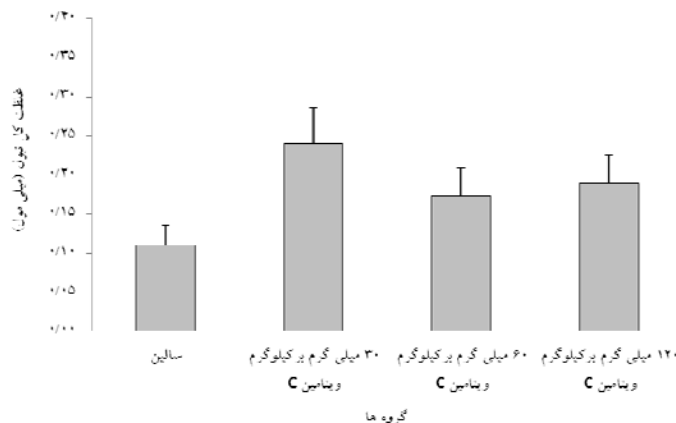
نمودار شماره ۲- مقایسه مقدار مالون دی آلدئید در ناحیه مخچه گروه دریافت کننده سالیین با گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف ویتامین C



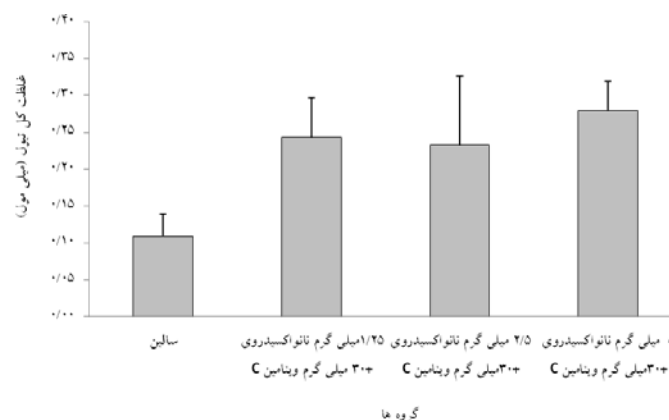
نمودار شماره ۳- مقایسه مقدار مالون دی آلدئید در ناحیه مخچه گروه دریافت کننده سالیین با گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی توأم با ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C



نمودار شماره ۴- مقایسه میزان کل گروه‌های تیون در ناحیه مخچه گروه دریافت کننده سالیین با گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی



نمودار شماره ۵- مقایسه میزان کل گروه‌های تیول در ناحیه مخچه گروه دریافت کننده سالیन با گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف ویتامین C



نمودار شماره ۶- مقایسه میزان کل گروه‌های تیول در ناحیه مخچه گروه دریافت کننده سالین با گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف نانو اکسید

روی توأم با ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C

بحث

[۴]. در مقابل، برخی مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که نانو-اکسید روی بر غشاء سلولی اثر محافظت‌کنندگی داشته و سبب مهار پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود [۲۰] که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر در این زمینه مطابقت دارد. همچنین، نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دادند که مقدار کل محتوای گروه‌های تیول (SH-) به‌عنوان یکی دیگر از شاخص‌های استرس اکسیداتیو در گروه‌های دریافت کننده دوز بالای نانو ذرات اکسید روی و نیز گروه‌های دریافت کننده توأم دوزهای مختلف نانو اکسید روی و ویتامین C افزایش قابل توجهی داشتند، اگرچه اثر افزایشی دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو ذرات اکسید روی معنی‌دار نبود. با توجه به این‌که گروه‌های تیول (SH-) نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو حساس هستند و کاهش آنها نشانه مهمی از استرس اکسیداتیو است [۲۱] و این گروه‌ها نقش مهمی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان سلولی بازی می‌کنند [۲۲]. می‌توان گفت که احتمالاً این افزایش گروه‌های تیول ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند تایید دیگری بر اثرات آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات اکسید

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز حاد نانو ذرات اکسید روی باعث تغییر غلظت شاخص‌های استرس اکسیداتیو شده است؛ به طوری که با افزایش مقدار این نانو ذره میزان MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سالین کاهش یافته و مقدار مجموع گروه‌های تیول (SH-) افزایش معنی‌داری را نشان ندادند. نتایج مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض غلظت پایین نانو اکسید روی می‌تواند سبب آسیب ژنی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو در سلول‌های اپیدرمی شود [۱۸]. برخی از محققین نیز اشاره کرده‌اند که Zn^{2+} آزاد شده از نانو اکسید روی بیشترین نقش را در سمیت ناشی از نانو بازی می‌کند [۱۹]. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض سوسپانسیون‌های آبی نانو اکسید روی باعث استرس اکسیداتیو روی تیالپپا می‌شود. علاوه بر این، مقدار استرس اکسیداتیو تحت تأثیر اندازه و غلظت نانو اکسید روی قرار دارد

است که توسط نتایج حاصل از چند مطالعه پشتیبانی می‌شود [۲۹]. در یک مطالعه تجربی مشخص شده است که نانواکسید روی و اسکورییک اسید می‌توانند در کاهش وابستگی به مورفین مؤثر باشند و مصرف توأم آن‌ها با توجه به قدرت اثری که اعمال می‌کنند احتمالاً می‌تواند شیوه‌ای قابل بررسی و تعمیم در درمان پدیده اعتیاد باشد [۳۰]. در مطالعه‌ای دیگر اثر آنتی‌اکسیدانی نانو-ذره اکسید روی در بافت هیپوکامپ نشان داده شده است [۱۵] و هم‌سو با آن نتایج ما نشان داد که نانواکسید روی می‌تواند استرس اکسیداتیو را هم در حضور و هم در غیاب ویتامین C در دوز بالا کاهش دهد.

نتیجه‌گیری

اگرچه با توجه به نتایج گذشته انتظار بر این بود که نانواکسید روی افزایش استرس اکسیداتیو باشد، لیکن در مطالعه حاضر نانوذرات اکسید روی در مخچه اثرات آنتی‌اکسیدانی اعمال کرده که با اثر آنتی‌اکسیدانی ویتامین C به‌عنوان کنترل مثبت در این مطالعه مطابقت دارد. از آنجاکه نانوذره روی در دوزهای بالا به‌صورت توده درمی‌آید، نمی‌توان خواص آنتی‌اکسیدانی و یا استرس اکسیداتیوی آن را در دوزهای بالا بررسی نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه به‌دلیل همراهی در انجام این تحقیق تشکر می‌کنند.

References:

- [1] Dawei A, Zhisheng W, Anguo Z. Protective effects of Nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in vitro against oxidative injury. *World J Agricultural Sci* 2010; 6(2): 149-53.
- [2] Nunes A, Al-Jamal KT, Kostarelos K. Therapeutics, imaging and toxicity of nanomaterials in the central nervous system. *J Control Release* 2012; 161(2): 290-306.
- [3] Kesmati M, Torabi M, Ghandizadeh-Dezfuli M. Nanoparticles of Zinc Oxide Reduces Acute Somatic Pain in Adult Female Wistar Rats. *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 16(2): 24-8. [in Persian]
- [4] Sharma HS, Sharma A. Nanoparticles aggravate heat stress induced cognitive deficits, blood-brain barrier disruption, edema formation and brain pathology. *Prog Brain Res* 2007; 162: 245-73.
- [5] Kreuter J, Shamenkov D, Petrov V. Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier. *J Drug Tar*

روی باشد. مطالعات نشان داده‌اند که یون روی در نورون‌های پس‌سیناپسی روی گیرنده‌ها و کانال‌های یونی مختلف اثر می‌کند که اصلی‌ترین آنها گیرنده NMDA است [۲۳]. در برخی مطالعات مشخص شده است که دردهای پایدار و شدید ممکن است به‌صورت خاص با تأثیر یون روی بر گیرنده NMDA تغییر کند [۲۴]. همچنین، مصرف مزمن مکمل‌های حاوی نانواکسید روی نسبت به اکسید روی معمولی به‌طور نسبی در کاهش درد مؤثرتر بوده است [۱۴]. ویتامین C یک آنتی‌اکسیدان ضروری برای مهار رادیکال‌های آزاد در مغز است و نه تنها در حفظ عملکرد طبیعی سیستم عصبی مرکزی (CNS)، که در بهبود آسیب‌های ناشی از شرایط پاتولوژیک که باعث افزایش تولید ROS می‌شوند نیز شرکت دارد [۲۵]. از سوی دیگر، مطالعات گذشته ما نشان داد که نانوذرات اکسید روی در حضور و غیاب ویتامین C بر تعادل اثر تضعیف‌کننده دارد، اما این اثر احتمالاً ناشی از اثرات استرس اکسیداتیو این نانوذرات نیست و مکانیسم دقیق آن نیازمند بررسی‌های بیشتر است [۲۶]. حفظ غلظت نسبتاً بالای ویتامین C در CNS نشان دهنده نقش محافظ عصبی برای آن است [۲۷]. نقش محافظت عصبی ویتامین C به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی و در دسترس در چندین مدل حیوانی تایید شده است [۲۸]. نتایج حاصل از موارد مطالعه شده نشان می‌دهند که اسید اسکورییک در حفظ عملکرد طبیعی CNS و در بهبود آسیب‌های ناشی از افزایش تولید ROS نقش بازی می‌کند؛ بدین معنی که اسید اسکورییک درون‌سلولی برای محافظت در برابر استرس اکسیدان بسیار مهم

get 2002; 10(4): 317-25.

[6] Han D, Tian Y, Zhang T, Ren G, Yang Z. Nano-zinc oxide damages spatial cognition capability via over-enhanced long-term potentiation in hippocampus of Wistar rats. *Int J Nanomedicine* 2011; 6: 1453

[7] Karlsson HL, Gustafsson J, Cronholm P, Moller L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles--a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol Lett* 2009; 188(2): 112-8.

[8] Sanz A, Fernandez-Ayala DJ, Stefanatos RK, Jacobs HT. Mitochondrial ROS production correlates with, but does not directly regulate lifespan in *Drosophila*. *Aging (Albany NY)* 2010; 2 (4): 200

[9] Toduka Y, Toyooka T, Ibuki Y. Flow Cytometric Evaluation of Nanoparticles Using Side-Scattered Light and Reactive Oxygen Species-Mediated Fluorescence--Correlation with Genotoxicity. *Environ Sci Technol* 2012; 46(14): 7629-36.

- [10] Sanz A, Stefanatos RK. The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr Aging Sci* 2008; 1(1): 10-21.
- [11] Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioessays* 2004; 26(5): 533-42.
- [12] Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(1): 4-15.
- [13] Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr* 2003; 22(1): 18-35.
- [14] Kesmati M, Torabi M, Malek Shahi Nia H, Teymuri Zamaneh H. Effect of chronic administration of zinc supplements (ZnO and nano ZnO) with and without aerobic exercise on nociception in male rats. *J Physiol Pharmacol* 2013; 16: 415-22.
- [15] Valipour-Chahardah-Charic S, Kesmati M, Vahdati A, Hoseiny SE. Oxidative stress indices in rat hippocampus using the memory deficit model induced by zinc oxide nanoparticles. *Feyz* 2015; 19(1): 38-46. [in Persian]
- [16] Goudarzi S, Rafeirad M. Evaluating the effect of α -pinene on motor activity, avoidance memory and lipid peroxidation in animal model of Parkinson disease in adult male rats. *Res J Pharmacognosy* 2017; 4(2): 53-63.
- [17] Mansouri MT, Farbood Y, Sameri MJ, Sarkaki A, Naghizadeh B, Rafeirad M. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food Chem* 2013; 138(2-3): 1028-33.
- [18] Sharma V, Shukla RK, Saxena N, Parmar D, Das M, Dhawan A. DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicol Lett* 2009; 185(3): 211-8.
- [19] Ji J, Long Z, Lin D. Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella* sp. *Chem Eng J* 2011; 170(2-3): 525-30.
- [20] Sanjay SS, Pandey AC, Kumar S, Pandey AK. Cell membrane protective efficacy of ZnO nanoparticles. *Sop Transactions Nanotechnol* 2014; 1: 21-9.
- [21] Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol* 1994; 233: 380-5.
- [22] Chen X, Zhou Y, Peng X, Yoon J. Fluorescent and colorimetric probes for detection of thiols. *Chem Society Reviews* 2010; 39(6): 2120-35.
- [23] Matsunami M, Kirishi S, Okui T, Kawabata A. Chelating luminal zinc mimics hydrogen sulfide-evoked colonic pain in mice: possible involvement of T-type calcium channels. *Neuroscience* 2011; 181: 257-64.
- [24] Liu H, Wang H, Sheng M, Jan LY, Jan YN, Basbaum AI. Evidence for Presynaptic N-Methyl-D-Aspartate Autoreceptors in the Spinal Cord Dorsal Horn. *PNAS* 1994; 91(18): 8383-7.
- [25] Qiu S, Li L, Weeber EJ, May JM. Ascorbate transport by primary cultured neurons and its role in neuronal function and protection against excitotoxicity. *J Neurosci Res* 2007; 85(5): 1046-56.
- [26] Rafeirad M, Valipour Chahardah Charic S. Effect of Zinc Oxide Nano-Particles on Motor Coordination in the Attendance of Vitamin C in Rats. *Report Health Care* 2017; 3(2): 1-6.
- [27] May J.M. Vitamin C transport and its role in the central nervous system. *Subcell Biochem* 2012; 56: 85-103.
- [28] Iwata N, Okazaki M, Xuan M, Kamiuchi S, Hibino Y. Orally Administered Ascorbic Acid Suppresses Neuronal Damage and Modifies Expression of SVCT2 and GLUT1 in the Brain of Diabetic Rats with Cerebral Ischemia-Reperfusion. *Nutrients* 2014; 6(4): 1554-77.
- [29] Brahma B, Forman RE, Stewart EE, Nicholson C, Rice ME. Ascorbate inhibits edema in brain slices. *J Neurochem* 2000; 74(3): 1263-70.
- [30] Kheiry M, Kesmati M, Najaf Zadeh H, Fatemi SR. Effect of ZnO Nanoparticles on Morphine Dependence in Mice in the Presence and Absence of Vitamin C. *AMUJ* 2015; 17: 31-40. [in Persian]