

Assessing the effects of silver nanoparticles on some hematological parameters during the wound healing in mice

Heidarnejad MS¹, Yarmohammadi-Samani P^{2*}, Mobini-Dehkordi M³, Rahnama S²

1- Department of Zoology, Faculty of Sciences, University of Shahrekod, Shahrekod, I. R. Iran.

2- Department of Animal Physiology, Faculty of Sciences, University of Shahrekod, Shahrekod, I. R. Iran.

3- Department of Microbiology, Faculty of Sciences, University of Shahrekod, Shahrekod, I. R. Iran.

Received February 5, 2013; Accepted August 3, 2013

Abstract:

Background: Although nanosilver (Ag-NPs) has long been used to treat wounds, little attention has been paid to the toxicity of nanosilver wound dressing. This study aimed to examine the effect of nanosilver used for wound healing on some hematological parameters.

Materials and Methods: In this experimental study, 50 BALB/c mice were randomly allocated into the treatment and control groups (n=25). After creating similar wound on the back of all animals, the wound bed in the treatment and control groups was treated with a volume of 50 microliters nanosilver solution (10^{ppm}), and distilled water. Afterwards, the mean percentage reduction in wound area was determined at the end of each week by measuring the wound area at 0, 7 and 14 days post-wounding. MCV, distribution range of RBC, hematocrit and the number of blood cells were measured for both groups.

Results: By the end of the second week, a significant reduction was observed in the mean wound area in the treatment group. In treatment group, the number of white blood cells was increased; however, no significant changes in the number of RBCs and other blood parameters were observed.

Conclusion: Application of nanosilver wound dressing not only can accelerate healing process, but also can stimulate the immune system with no adverse effect on some hematological parameters.

Keywords: Silver nanoparticles, Wound healing, Blood cells

* Corresponding Author.

Email: P_yarmohamadi@yahoo.com

Tel: 0098 381 442 4419

Fax: 0098 381 442 4419

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences September, 2013; Vol. 17, No 4, Pages 359-365

Please cite this article as: Heidarnejad MS, Yarmohammadi-Samani P, Mobini-Dehkordi M, Rahnama S. Assessing the effects of silver nanoparticles on some hematological parameters during the wound healing in mice. *Feyz* 2013; 17(4): 359-65.

بررسی تاثیر نانو ذرات نقره بر برخی تغییرات هماتولوژیک به هنگام ترمیم زخم در موش کوچک آزمایشگاهی

محمد سعید حیدرنژاد^۱، پریسا یارمحمدی سامانی^{۲*}، محسن مبینی دهکردی^۳، سمیرا رهنما^۲

خلاصه:

سابقه و هدف: اگرچه مدت‌هاست که نانوذرات نقره برای ترمیم زخم استفاده می‌شود، اما سمیت پمادهای حاوی این ذرات کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق، تأثیر نانوذرات نقره به کار رفته جهت ترمیم زخم بر روی برخی پارامترهای هماتولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش نژاد بालب سی (BALB/c) به‌طور تصادفی در ۲ گروه ۲۵ تایی (گروه کنترل و تیمار) مورد بررسی قرار گرفت. پس از ایجاد زخم یکسان در پشت همه حیوانات، سطح زخم در گروه تیمار با ۵۰ میکرولیتر محلول نانوذرات نقره (۱۰ppm) و در گروه کنترل، با همان مقدار آب مقطر تیمار شد. سپس، در روزهای صفر، هفتم و چهاردهم بعد از ایجاد زخم، با اندازه‌گیری سطح زخم درصد میانگین کاهش سطح زخم در پایان هر هفته اندازه‌گیری گردید. میانگین حجم هر گلبول قرمز، دامنه پراکندگی حجم گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و تعداد سلول‌های خونی برای هر دو گروه اندازه‌گیری گردید. **نتایج:** در پایان هفته دوم این آزمایش، کاهش معنی‌داری در میانگین سطح زخم در گروه تیمار مشاهده شد. اگرچه در گروه تیمار افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون مشاهده شد، اما شمارش گلبول‌های قرمز خون و سایر پارامترهای خونی، تغییر معنی‌داری نشان نداد. **نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که نانو ذرات نقره به کار رفته جهت تسریع ترمیم زخم، می‌تواند بدون اینکه اثرات منفی بر روی برخی از پارامترهای خونی داشته باشد، سیستم ایمنی را تحریک کند. **واژگان کلیدی:** نانو ذرات نقره، ترمیم زخم، سلول‌های خونی

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۲، صفحات ۳۶۵-۳۵۹

مقدمه

نانو ذرات، ذراتی پراکنده شده و یا ذرات جامد با اندازه-ای در محدوده ۱۰۰-۱۰ نانومتر می‌باشند [۱]. نانو ذرات نقره، یکی از گسترده ترین نانو مواد به کاررفته در محصولات مصرفی است [۲]، چرا که دارای خاصیت ضد میکروبی بسیار قوی می باشد [۳]، بنابراین در بسیاری از دستگاه‌های شستشو، دستگاه‌های تهویه مطبوع و یخچال‌ها و نیز در تهیه لباس ورزشی، اسباب بازی‌ها، وسایل کودکان، ظروف ذخیره غذا، برجسب‌های زیستی و عوامل ضد میکروبی استفاده شده است. در زمینه پزشکی در تهیه محصولاتمانند دریچه‌های قلب، ماسک طبی، پمادهای زخم و بانداژ از نانو ذرات نقره استفاده می گردد [۴]. از نقره در محدوده نانو متر، به علت خاصیت ضد باکتری و ضد قارچی قوی، [۵] برای درمان عفونت‌های زخم‌های سوختگی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است [۶].

البته کاربرد نانو ذرات نقره در این زمینه‌ها به توانایی سنتز ذراتی با ترکیبات شیمیایی، شکل و اندازه متفاوت بستگی دارد [۷]. مطالعات صورت گرفته هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در محیط زنده نشان می‌دهند که نانوذرات نقره دارای اثرات سیتو-توکسیک و ایمونوتوکسیک می‌باشند [۸]. نانو ذرات، با اندازه و غلظت متفاوت دارای توزیع و اثر متفاوتی در بافت‌های بدن هستند [۹]. گزارش شده است که نانو ذرات نقره کوچک‌تر نسبت به نانو ذرات بزرگتر سمیت بیشتری ایجاد می کنند [۱۰]. مطالعات نشان می‌دهند که پس از استفاده از پانسمان‌های حاوی نانو ذرات نقره برای درمان سوختگی، این نانو ذرات، وارد جریان خون شده [۸] و بعد از آن می‌توانند با پروتئین‌های پلاسما، فاکتورهای انعقادی، پلاکت، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید ارتباط برقرار کنند [۱۱]. گزارش شده است که غلظت‌های کم یون‌های نقره آزاد شده از نانو ذرات نقره [۱۲]، در شرایط آزمایشگاهی، قادر به همولیز گلبول‌های قرمز هستند [۱۳]. البته نانو ذرات نقره نیز می‌توانند سبب همولیز و تغییر شکل گلبول‌های قرمز انسان گردند [۱۴]. بر اساس مطالعات صورت گرفته عوارض جانبی ایجاد شده در سلول‌های انسان در معرض نانو ذرات [۵]، ممکن است به‌علت تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) باشد که سبب آسیب

^۱ استادیار، گروه جانورشناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

^۲ کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

^۳ استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

* نشانی نویسنده مسئول:

شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم

دوره نویس: ۰۳۸۱ ۴۴۲۴۴۱۹

تلفن: ۰۳۸۱ ۴۴۲۴۴۱۹

پست الکترونیک: P_yarmohamadi@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۵/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۷

ریخته شد. حیوانات گروه تیمار تنها با غلظت مشخصی از نانو ذرات نقره یکبار در روز به صورت موضعی مورد تیمار قرار گرفتند. نانو ذرات نقره در محدوده غلظت ۵۰-۱۰۰ ppm دارای اثر باکتری کشی قوی می‌باشند [۱۹]. لذا، جهت از بین بردن باکتری‌های زخم غلظت ۱۰ ppm مورد استفاده گرفت. بنابراین، بر روی زخم حیوانات گروه تیمار به میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ ppm نانو ذرات نقره (نانو ذرات نقره مصرفی به- صورت کلئیدی ۴۰۰۰ ppm با اندازه‌ی متوسط کمتر از ۳۰ نانومتر و ساخت شرکت نانو ابزار پارس) رقیق شده با آب مقطر توسط سمپلر ریخته شد. البته لازم به ذکر است که برای جلوگیری از ریختن این محلول به مدت چند ثانیه حیوان را ثابت نگه داشته تا این محلول جذب زخم گردد. جهت بررسی روند بهبود زخم مساحت زخم در روزهای صفر، هفتم و چهاردهم بعد از ایجاد زخم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. این کار با قرار دادن طلق پلاستیکی شفاف بر روی زخم و کشیدن شکل زخم انجام گرفت. سپس، مساحت زخم با استفاده از نرم افزار Image Analyser با واحد mm^2 اندازه‌گیری گردید. در این نرم افزار بعد از مشخص کردن واحد مورد نظر، محدوده‌ی زخم را مشخص کرده تا مساحت آن توسط نرم افزار محاسبه شود. البته تنها در مورد گروه کنترل که تا روز چهاردهم بهبودی کامل نیافته بود، اندازه‌گیری مساحت زخم در این روز صورت گرفت. درصد کاهش سطح زخم در طول هر هفته طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\frac{\text{اندازه سطح زخم در انتهای هفته} - \text{اندازه سطح زخم در ابتدای هفته}}{\text{اندازه سطح زخم در ابتدای هفته}} \times 100$$

پس از گذشت ۱۴ روز حیوانات را با ماده بیهوشی ذکر شده بی‌هوش کرده، عمل خون‌گیری به‌طور مستقیم از قلب آنها برای سنجش فاکتورها و سلول‌های خونی صورت گرفت. نمونه‌ها به صورت خون کامل تهیه شد. پارامترهای خونی توسط دستگاه آنالایزر هماتولوژی (ساخت کمپانی sysmex مدل KX-21N) اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شدند. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون t مستقل استفاده گردید. نتایج بر اساس آزمون فوق و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح $P < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

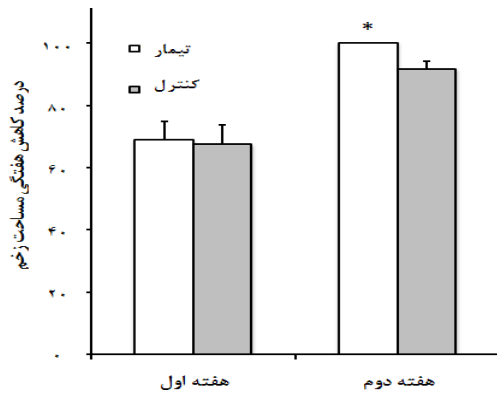
نتایج

درصد کاهش هفتگی مساحت زخم در هفته اول و هفته دوم بعد از ایجاد زخم به کمک فرمول ذکر شده محاسبه گردید.

درون سلولی می‌شوند [۱۵]. هم چنین، یون‌های نقره می‌توانند از طریق تعامل با گروه‌های تیول غشاء داخلی میتوکندری، سبب آسیب میتوکندری شوند؛ به‌طوری‌که این اثرات یون‌های نقره، می‌توانند توسط معرف‌های سولفیدریل مانند گلوپتایون احیاء شده (GSH) مهار شوند [۱۶]. مشخص شده است که یون‌های نقره با اتصال به گلوپتایون احیاء شده سبب کاهش آن می‌شوند، در حالی‌که گلوپتایون احیاء شده نقش مهمی در حفظ ساختار و عملکرد مناسب سلول‌های خونی و نیز از بین بردن پراکسیدهای آلی دارند [۱۷]. نظر به اینکه نانو ذرات نقره می‌توانند به‌طور مستقیم بر روی فعالیت طبیعی سلول‌های بدن تأثیر بگذارند و باعث اختلال در عملکرد اندام‌های بدن شوند [۱۸]. لذا تعیین سمیت آنها در محیط زنده از اهمیت خاصی برخوردار است. بنابراین، در مطالعه حاضر بعد از بررسی اثر نانو ذرات نقره بر روی ترمیم زخم، سمیت این ذرات بر روی سلول‌های خونی و سایر فاکتورهای خونی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش ماده سفید نژاد بالب سی، با سن حدود ۸ هفته، از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد خریداری گردید و در شرایط دما و رطوبت مناسب و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. در بستر قفس‌ها، خاک اره قرار داشت. تغذیه حیوانات از طریق غذاهای فشرده (Pellet) مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت می‌گرفت و در این مدت آب کافی در دسترس حیوانات قرار داشت. برای اطمینان از عدم وجود هر گونه عفونت در بدن به دقت معاینه شدند و نیز ملاحظات اخلاقی در زمینه استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. برای ایجاد زخم، حیوانات را با تزریق عضلانی ترکیبی از ۱۰ میلی‌لیتر کتامین، ۰/۵ میلی‌لیتر آسپارامازین، ۲ میلی‌لیتر دیازپام و کمتر از ۰/۵ میلی‌لیتر زایلازین، به مقدار ۵۰ mg/Kg، بی‌هوش کرده و موهای سطح پشتی حیوان در مجاورت ستون فقرات را در سطح 2×2 سانتی-متر مربع تراشیده و به‌وسیله الکل ۷۰ درصد ضد عفونی شدند. سپس زخم‌هایی یکسان به شکل دایره و به ضخامت کامل پوست در پشت حیوانات ایجاد گردید. حیوانات به‌صورت تصادفی در دو گروه ۲۵ تایی قرار داده شدند. روز ایجاد زخم روز صفر در نظر گرفته شد و از روز بعد از ایجاد زخم تا روز چهاردهم روزی یکبار و در یک زمان مشخص، بر روی زخم‌های حیوانات گروه کنترل میزان ۵۰ میکرولیتر آب مقطر توسط سمپلر



نمودار شماره ۱- درصد کاهش هفتگی مساحت زخم در گروه

کنترل و تیمار در هفته‌های اول و دوم آزمایش.

*: کاهش معنی‌دار مساحت زخم ($P < 0/05$) بر اساس آزمون t.

بر اساس این نتایج در مساحت زخم گروه تیمار در هفته دوم کاهش

معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$).

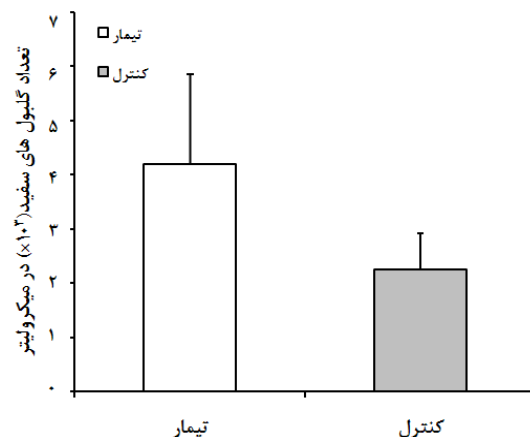
بر اساس آزمون t در هفته اول بعد از ایجاد زخم، تفاوت معنی‌داری بین درصد کاهش مساحت زخم در گروه کنترل و تیمار وجود نداشت ($P > 0/05$). اما در هفته دوم تفاوت معنی‌داری بین درصد کاهش مساحت زخم در این دو گروه مشاهده شد ($P < 0/05$) و کاهش مساحت زخم در گروه تیمار بیشتر از گروه کنترل بود (نمودار شماره ۱). بر اساس آزمون t مستقل در بررسی شمارش گلبول‌های قرمز و اندازه‌گیری میانگین حجم هر گلبول قرمز (MCV)، دامنه پراکندگی حجم گلبول‌های قرمز (RDW-CV) و هماتوکریت (HCT)، تفاوت معنی‌داری میان گروه تیمار و کنترل مشاهده نشد ($P > 0/05$) (جدول شماره ۱). اما، تعداد گلبول‌های سفید در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$) (نمودار شماره ۲).

جدول شماره ۱- برخی پارامترهای خونی در گروه کنترل و تیمار بعد از گذشت چهارده روز از شروع مطالعه

گروه‌ها	تعداد گلبول‌های قرمز ($\times 10^6$) در میکرولیتر	میانگین حجم هر گلبول قرمز (MCV) با واحد فمتولیت	درصد دامنه پراکندگی حجم گلبول‌های قرمز (RDW-CV)	درصد هماتوکریت (HCT)
کنترل	$6/08 \pm 0/62$	$44/55 \pm 0/46$	$16/14 \pm 0/15$	$27/2 \pm 2/85$
تیمار	$6/66 \pm 1/04$	$43/52 \pm 0/29$	$15/17 \pm 0/23$	$27/55 \pm 0/16$

هر داده نشان‌گر $\bar{X} \pm SD$ است. تفاوت معنی‌داری میان پارامترهای خونی گروه تیمار و کنترل وجود نداشت ($P < 0/05$).

مشاهده نشد، اما افزایش معنی‌داری در میزان گلبول‌های سفید گروه تیمار مشاهده گردید. در یک مطالعه بالینی گزارش شده است که نانو ذرات نقره دارای نقش موثری در بهبود زخم‌های عفونی می‌باشند [۲۰]. هم‌چنین، در مطالعه دیگر بعد از استفاده از پانسمان‌های حاوی نانو ذرات نقره، متوجه شدند که این نانو-ذرات از طریق خاصیت باکتری‌کشی، کاهش آماس زخم و تعدیل سیتوکین‌های فیبروزیک می‌توانند سبب بهبود سریع‌تر زخم‌های سوختگی موش‌ها شوند [۲۱]، که مشابه مطالعه حاضر، با استفاده از نانو ذرات نقره، زمان بهبودی زخم کاهش یافته است. بعد از استفاده از پانسمان‌های حاوی نانوذرات نقره جهت درمان سوختگی، این نانوذرات وارد جریان خون می‌شوند [۸] که این یافته با مطالعه ای بر روی ۳۰ بیمار تحت درمان با اکتیکت (Acticoat). جهت درمان سوختگی‌های کوچک مورد تایید قرار گرفت [۱۱]. در چندین مطالعه بر روی موش‌های صحرایی، تغییرات هماتولوژیک خون، بعد از مصرف خوراکی، استنشاق و نیز تزریق درون وریدی نانو ذرات نقره مورد بررسی قرار گرفت. Kim و همکاران بعد از بررسی مصرف خوراکی نانو ذرات نقره با اندازه ۶۰ نانومتر به مدت ۲۸ روز گزارش دادند که هیچ اختلاف آماری قابل توجهی در اغلب پارامترهای خونی گروه تیمار در



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین تعداد گلبول‌های سفید در گروه‌های مطالعه در روز چهاردهم. تعداد گلبول‌های سفید در گروه تیمار افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد ($P < 0/05$).

بحث

نتایج حاصل از پژوهش حاضر، کاهش معنی‌دار مساحت زخم را در روز چهاردهم نشان می‌دهد؛ به طوری که در روز چهاردهم همی زخم‌های حیوانات گروه تیمار بهبود یافته بود. هم‌چنین، تفاوت معنی‌داری در اغلب پارامترهای خونی در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل در یک دوره زمانی چهارده روزه

وارد شده به خون به پروتئین‌های سرم متصل شده و در نتیجه این ذرات بیشتر در معرض تماس با ماکروفاژها قرار گرفته و در نهایت غلظت آنها در خون به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد [۳۲]. مشخص شده است که پانسمان‌های حاوی نقره دارای اثرات سمی بوده و سمیت آنها به نقره آزاد شده از پماد بستگی دارد [۳۳]. هم‌چنین، گزارش‌های متعدد و نیز مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهند که نقره می‌تواند واکنش‌های ایمنی جانبی را القاء نماید [۳۴]. البته، برخی محققین نیز نشان داده‌اند که یون‌های نقره آزاد شده از نانو ذرات نقره در حالت مایع ممکن است پاسخ‌های التهابی و فرآیندهای سم زدایی فلزی را تحریک نمایند [۳۵]. چندین مطالعه آزمایشگاهی، نشان می‌دهند که نانو ذرات نقره به DNA و سلول آسیب می‌رسانند و سبب ایجاد سرطان، استرس اکسیداتیو و سم‌زدایی فلزی می‌گردند [۳۶، ۳۷]. به‌علاوه، گزارش شده است که این نانو ذرات با اتصال به پروتئین‌های مختلف می‌توانند فاگوسیتوز را تحریک نمایند [۳۷]. Kim و همکاران نیز بعد از بررسی سمیت استنشاق نانو ذرات نقره با اندازه ۱۸ نانومتر به مدت ۹۰ روز متوجه شدند که این ذرات سمیت ژنتیکی را در مغز استخوان موش‌های صحرایی القاء نمی‌نمایند [۳۸]. بنابراین، بر اساس مطالعات صورت گرفته می‌توان گفت که ورود نانو ذرات نقره و هم‌چنین یون‌های نقره به بدن می‌تواند سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید برای بیگانه خواری گردند [۳۹]. در مطالعه حاضر با توجه به بهبود کامل زخم در روز چهاردهم، افزایش معنی‌دار گلبول‌های سفید می‌تواند به علت حضور نانو ذرات نقره و هم‌چنین یون‌های نقره آزاد شده به‌عنوان یک ماده خارجی در داخل بدن باشد که سبب تحریک سیستم ایمنی گردیده است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نانو ذرات نقره به‌کار رفته جهت تسریع ترمیم زخم می‌توانند سبب تحریک سیستم ایمنی شوند، اما بر روی برخی از پارامترهای خونی اثری ندارند. البته با بررسی سطح نقره در خون و سنجش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو می‌توان اثرات این نانو ذرات را بهتر توجیه کرد، بنابراین این موضوع مطالعات بیشتری را می‌طلبد و بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه توصیه می‌گردد استفاده از نانو ذرات نقره جهت ترمیم زخم، با احتیاط صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا بدین‌وسیله از کلیه اساتید گرامی و هم‌چنین پرسنل محترم آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده علوم، دانشگاه

مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد [۲۲]. هم‌چنین، در مطالعه‌ای دیگر بعد از مصرف خوراکی غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره با اندازه ۵۶ نانومتر به مدت ۱۳ هفته، در بررسی اغلب پارامترهای خونی نتیجه مشابهی مشاهده شد [۲۳]. به‌علاوه در بررسی فاکتورهای خونی پس از مصرف خوراکی نانو ذرات نقره با اندازه حدود ۲۰-۱۰ نانومتر و با غلظت ۵۰۰۰ mg/kg [۲۴] و نیز پس از استنشاق غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره در زمان‌های متفاوت نتایج مشابهی گزارش شده است [۲۵]. نتایج این تحقیقات تا حدودی با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارند. گزارش گردیده است که نانو ذرات نقره از طریق استرس اکسیداتیو درون سلولی می‌توانند به سلول‌ها آسیب بزنند [۲۷، ۲۶]. لازم به‌ذکر است که به‌علت وجود آنتی-اکسیدان‌ها در پلاسما خون مانند ویتامین C در فاز آبی و ویتامین E محلول در تری‌گلیسرید غنی از لیپوپروتئین‌ها در جریان خون، سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌شوند و زمانی که یک موجود زنده بیش از حد در معرض اکسیدان‌ها قرار بگیرد، توانایی آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون دچار مشکل شده و ممکن است این توانایی کاهش یابد [۲۸]. گزارش شده است بعد از تزریق درون وریدی غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره به موش‌های صحرایی، تغییرات قابل توجهی در پارامترهای خونی در غلظت‌های بیشتر از ۲۰ mg/kg مشاهده گردید [۲۹] که می‌توان علت آن را ورود مقدار بیشتر این نانو ذرات به خون دانست. البته پروتئین‌های پلاسما نیز می‌توانند بر روی توزیع، حذف و سمیت نانو ذرات نقره اثر بگذارند [۳۰]. در مطالعه حاضر برخلاف اکثر مطالعات فوق، افزایش معنی‌داری در شمارش گلبول‌های سفید گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد که در توجیه این نتیجه می‌توان گفت که احتمالاً علاوه بر نانو ذرات نقره، یون‌های نقره آزاد شده از نانو ذرات، در نتیجه‌ی حاصل موثر بوده است چرا که به‌عنوان مثال در مطالعات فوق پس از مصرف خوراکی نانو ذرات نقره، با اندازه‌های متفاوت، اثر مشابه‌ای بر روی پارامترهای خونی مشاهده شد، بنابراین احتمالاً فرضیه پیشنهادی Wijnhoven و همکاران [۹]، مبنی بر اینکه سمیت نقره عمدتاً به علت یون‌های نقره آزاد شده می‌باشد، مورد تایید است که در این مورد یون‌های نقره آزاد شده از نانو ذرات نقره احتمالاً در نتیجه حاصل از مطالعه موثر بوده است. البته لازم به‌ذکر است که نانو ذرات وارد شده به بدن می‌توانند با اجزاء سیستم ایمنی واکنش داده و بر اساس برخی مطالعات، قادراند سبب افزایش ترشح سیتوکین‌های مختلف شوند. البته نانو ذرات مختلف ممکن است اثرات متفاوتی بر روی سیستم ایمنی داشته باشند و سبب تحریک یا مهار سیستم ایمنی گردند [۳۱]. نانو ذرات

شهرکرد که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، صمیمانه

تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

- [1] Zhang G, Niu A, Peng S, Jiang M, Tu Y, Li M, et al. Formation of novel polymeric nanoparticles. *Acc Chem Res* 2001; 34(3): 249-56.
- [2] Korani M, Rezayat S, Gilani K, Bidgoli SA, Adeli S. Acute and subchronic dermal toxicity of nanosilver in guinea pig. *Int J Nanomedicine* 2011;6(1): 855-62.
- [3] Rattanawaleedirojn P, Saengkiattiyut K, Sangsuk S. Antibacterial efficacy of nano silver finished fabric on *Staphylococcus aureus* and preliminary test on its safety. *J Nat Sci Issue on Nanotechnol* 2008; 7(1): 75-9.
- [4] Theivasanthi T, Alagar M. Anti-bacterial Studies of Silver Nanoparticles. *arXiv preprint arXiv: 1101.0348* 2011. Available at: <http://arxiv.org/abs/1101.0348>
- [5] Ahmadi F, Kordestany AH. Investigation on silver retention in different organs and oxidative stress enzymes in male broiler fed diet supplemented with powder of nano silver. *Amer-Eurasian J Toxicol Sci* 2011; 3: 28-35.
- [6] Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 236(3): 310-8.
- [7] Hendi A. Silver nanoparticles mediate differential responses in some of liver and kidney functions during skin wound healing. *J King Saud Uni* 2011; 23(1): 47-52.
- [8] Trop M, Novak M, Rodl S, Hellbom B, Kroell W, Goessler W. Silver coated dressing Acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J Trauma* 2006; 60(3): 648-52.
- [9] Wijnhoven SW, Peijnenburg WJ, Herberts CA, Hagens WI, Oomen AG, Heugens EH, et al. Nano-silver a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology* 2009; 3(2): 109-38.
- [10] Fukuoka A, Sakamoto Y, Guan S, Inagaki S, Sugimoto N, Fukushima Y, et al. Novel templating synthesis of necklace-shaped mono-and bimetallic nanowires in hybrid organic-inorganic mesoporous material. *J Am Chem Soc* 2001; 123(14): 3373-4.
- [11] Pronk M, Wijnhoven S, Bleeker E, Heugens E, Peijnenburg W, Luttik R, et al. Nanomaterials under REACH. Nanosilver as a case study, *RIVM rapport* 2009.
- [12] Lok CN, Ho CM, Chen R, He QY, Yu WY, Sun H, et al. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem* 2007; 12(4): 527-34.
- [13] Ballinger P, Brown B, Griffin M, Steven F. Evidence for carriage of silver by sulphadimidine: haemolysis of human erythrocytes. *Br J Pharmacol* 1982; 77(1): 141-5.
- [14] Kwon T, Woo HJ, Kim YH, Lee HJ, Park KH, Park S, et al. Optimizing Hemocompatibility of Surfactant-Coated Silver Nanoparticles in Human Erythrocytes. *J Nanosci Nanotechnol* 2012; 12(8): 6168-75.
- [15] Rastogi ID. Nanotechnology: Safety paradigms. *J Toxicol Environ Health* 2012; 4(1): 1-12.
- [16] Almofti MR, Ichikawa T, Yamashita K, Terada H, Shinohara Y. Silver ion induces a cyclosporine a-insensitive permeability transition in rat liver mitochondria and release of apoptogenic cytochrome C. *J Biochem (Tokyo)* 2003; 134(1): 43-9.
- [17] Drake PL, Hazelwood KJ. Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *Ann Occup Hyg* 2005; 49(7): 575-85.
- [18] Ahmadi. F. Impact of Different Levels of Silver Nanoparticles (Ag-NPs) on Performance, Oxidative Enzymes, and Blood Parameters in Broiler Chicks. *Pak Vet J* 2011; 32(3): 325-8.
- [19] Kvitek L, Vanickova M, Panacek A, Soukupova J, Dittrich M, Valentova E, et al. Initial study on the toxicity of silver nanoparticles (NPs) against *Paramecium caudatum*. *J Phys Chem C* 2009; 113(11): 4296-300.
- [20] Furno F, Morley KS, Wong B, Sharp BL, Arnold PL, Howdle SM, et al. Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection? *J Antimicrob Chemother* 2004; 54(6): 1019-24.
- [21] Tian J, Wong KK, Ho CM, Lok CN, Yu WY, Che CM, et al. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *Chem Med Chem* 2007; 2(1): 129-36.
- [22] Kim YS, Kim JS, Cho HS, Rha DS, Kim JM, Park JD, et al. Twenty eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 2008; 20(6): 575-83.
- [23] Kim YS, Song MY, Park JD, Song KS, Ryu HR, Chung YH, et al. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol* 2010; 7(1): 20.
- [24] Maneewattanapinyo P, Banlunara W, Thammacharoen C, Ekgasit S, Kaewamatawong T. An evaluation of acute toxicity of colloidal silver nanoparticles. *J Vet Med Sci* 2011; 73(11): 1417-23.
- [25] Sung JH, Ji JH, Park JD, Yoon JU, Kim DS, Jeon KS, et al. Subchronic inhalation toxicity of silver Nanoparticles. *Toxicol sci* 2009; 108(2): 452-61.
- [26] Kim S, Choi JE, Choi J, Chung K-H, Park K, Yi J, et al. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol In vitro* 2009; 23(6): 1076-74.

- [27] Kim JS, Kuk E, Yu KN. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine* 2007; 3: 95-101.
- [28] Rogers E, Hsieh S, Organti N, Schmidt D, Bello D. A high throughput in vitro analytical approach to screen for oxidative stress potential exerted by nanomaterials using a biologically relevant matrix: human blood serum. *Toxicol in Vitro* 2008; 22(6): 1639-47.
- [29] Tiwari DK, Jin T, Behari J. Dose-dependent in-vivo toxicity assessment of silver nanoparticle in Wistar rats. *Toxicol Mech Methods* 2011; 21(1): 13-24.
- [30] Lovrić J, Bazzi HS, Cuie Y, Fortin GR, Winnik FM, Maysinger D. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots. *J Mol Med (Berl)* 2005; 83(5): 377-85.
- [31] Dwivedi PD, Misra A, Shanker R, Das M. Are nanomaterials a threat to the immune system? *Nanotoxicol* 2009; 3(1): 19-26.
- [32] Jaganathan H, Godin B. Biocompatibility assessment of Si-based nano-and micro-particles. *Adv Drug Deliv Rev* 2012; 64(15): 1800-19.
- [33] Burd A, Kwok CH, Hung SC, Chan HS, Gu H, Lam WK, et al. A comparative study of the cytotoxicity of silver-based dressings in monolayer cell, tissue explant, and animal models. *Wound Rep Reg* 2007; 15(1): 94-104.
- [34] Yoshimaru T, Suzuki Y, Inoue T, Niide O, Ra C. Silver activates mast cells through reactive oxygen species production and a thiol-sensitive store-independent Ca²⁺ influx. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 1949-59.
- [35] Park EJ, Yi J, Kim Y, Choi K, Park K. Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 872-8.
- [36] Asharani PV, Wu YL, Gong Z, Valiyaveetil S. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology* 2008; 19(25): 255102.
- [37] Panyala NR, Peña-Méndez EM, Havel J. Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health. *J Appl Biomed* 2008; 6(3): 117-29.
- [38] Kim JS, Sung JH, Ji JH, Song KS, Lee JH, Kang CS, et al. In vivo genotoxicity of silver nanoparticles after 90-day silver nanoparticle inhalation exposure. *Saf Health Work* 2011; 2(1): 34-8.
- [39] Portney NG, Ozkan M. Nano-oncology: Drug delivery, imaging, and sensing. *Anal Bioanal Chem* 2006; 384(3): 620-30.