مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال سوم، شماره چهارم، پیاپی دوازدهم، بهار ۱۳۹۴ (۸۷-۷۹)

بررسی اثرات آپوپتوتیک تزریق داخل صفاقی نانوذرات نقره بر هیپوکامپ موش صحرایی

پروین خدارحمی[۱*]، حمید نصراله زاده فیلی[۲]، میترا حیدری نصرآبادی[۳]

۱. استادیار، فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

۲. کارشناسی ارشد، زیست شناسی جانوری تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

۳. دانشیار، زیست شناسی جانوری تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۱۱- تاریخ تصویب: ۱۳۹٤/٤/۷)

چکیده

نانوذرات نقره کاربردهای زیادی در زمینه مواد بهداشتی، آرایشی، پزشکی دارد. این کاربردها از طریق اثر بر افزایش تقسیمات سلولی، استرس اکسیداتیو و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (آپوپتوز) می‌باشد. در این مطالعه اثرات کوتاه مدت و دراز مدت تزریق داخل صفاقی نانوذرات نقره بر بافت هیپوکامپ که در رابطه با حافظه و یادگیری دخالت دارد، بررسی شد. تعداد ٥٦ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۲ دسته تقسیم گردید. هر دسته به ٤ گروه هفت تایی تقسیم گردید: گروه اول، سالین و ۳ گروه تیمار نانوذرات نقره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ ppm دریافت کردند. دسته اول در طی پنج روز متوالی و دسته دوم در طی ۱۰ روز متوالی تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. ۱۰ روز بعد از آخرین تزریق، بافت هیپوکامپ خارج و برش آن تهیه شد، سپس برای شناسایی نورون‌های آپوپتوتیک از سالم، رنگ‌آمیزی تانل استفاده شد. در صد سلول آپوپتوتیک در دسته اول، در دوز ۱۰۰ ppm نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). این درصد در دوز ۲۰۰ppm و ٤۰۰ppm باز نسبت به گروه کنترل اثر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). در صد سلول آپوپتوتیک در دسته دوم، در دوز ۱۰۰ppm، نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). این درصد در دوز ۲۰۰ppm و ٤۰۰ppm باز نسبت به گروه کنترل اثر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). نانوذرات نقره باعث آپوپتوز سلول‌های هیپوکامپ می‌شود. این اثر با افزایش دوزهای تزریقی نانوذرات نقره افزایش اما وابسته به طول مدت تزریق نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: هیپوکامپ، نانوذرات نقره، آپوپتوز، تست تانل.

* نویسنده مسئول:
E-mail: khodarahmiparvin@yahoo.com

Evaluation of apoptotic effects of intraperitoneal administration of nano-silver on rat hippocampal cells

P. Khodarahmi[1]*, H. Nasrollahzade Phili[2], M. Heydari Nasrabadi[3]

1. Assistant Professor, Animal Physiology, Parand Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Former Graduate Student, Animal Science Developmental Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Ph.D., Animal Science Developmental Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: Jun. 1, 2014 - Accepted: Jun. 28, 2015)

Abstract

Silver nanoparticles have numerous applications in food technology and medical industry. These applications are mediated via their mitotic, oxidative and apoptotic effects. In this study, the apoptotic effects of short and long term administrations of nanosilver on rat hippocampus, which is involved in memory and learning, was investigated. 56 male Wistar rats were divided into two groups of short term and long term injections which were treated for 5 and 10 consecutive days, respectively. Each group was divided into four subgroups of control, 100, 200 and 400 ppm nanosilver administration. The control subgroup received saline and the treatment subgroups received intraperitoneal injections of silver nanoparticles at doses of 100, 200 and 400ppm. Ten days after the last injection, the hippocampal tissue sections were prepared and the extent of apoptosis was evaluated using TUNEL assay. In short term (5-day injection) group, the percentage of apoptotic cells between control and 100 ($p<0.01$), 200 and 400 ppm were significant ($p<0.001$), showing statistically significant difference between control and treatment subgroups. In long term (10-day injection) group, the percentage of apoptotic cells between control and 200 and 400 ppm subgroups were significant ($p<0.001$), respectively, again representing statistically significant difference between control and treatment subgroups. Silver nanoparticles induce apoptosis in rat hippocampal cells. For the administration regime considered in this study, this apoptotic effect increases at higher doses but is independent of the duration of exposure.

Keywords: hippocampus, nano silver, apoptosis, Tunel test.

مقدمه

نانو تکنولوژی به سرعت در حال توسعه و در حوزه‌هایی از قبیل سلامتی، لوازم آرایشی بهداشتی و حتی اسباب بازی‌ها استفاده می‌شود (Wijnhoven *et al*., 2009; Hussain *et al*., 2009). یکی از پر کاربردی‌ترین نانوذرات، نانوذرات نقره (Nano Silver) می‌باشد و به علت اثرات مفیدی که دارد بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد. نقره در ابعاد بزرگ، فلزی با خاصیت واکنش‌دهی کم می‌باشد ولی زمانی که به نانوذرات تبدیل می‌شود اثرات متفاوتی دارد (Kawata *et al*., 2009). به علاوه درتحقیقات نشان داده شده است که ترکیب، شکل و اندازه‌های مختلف نانو نقره به آن ویژگی‌هایی می‌دهد که در مقایسه با مواد شیمیایی با ترکیب مشابه اما درشت‌تر اثرات سمی متفاوتی دارد. زمانی که به ابعاد کوچک‌تر در حد نانومتر تبدیل می‌شود، خاصیت میکروب‌کشی آن افزایش و برمتابولیسم، تنفس و تولیدمثل میکروارگانیسم‌ها اثر می‌گذارد. این ماده با خاصیت باکتریوسیدی که دارد درصنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Foladband, 2008).

اثرات سمی نانوذرات نقره باعث افزایش تقسیمات سلولی، القای استرس اکسیداتیو و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یا آپوپتوز می‌شود (Rahman *et al*., 2009; Khodadadi *et al*., 2013; Rezaee Ranjbar Sardari *et al*., 2012; Christen *et al*., 2013). بعضی گزارشات در زمینه‌های پزشکی و بیولوژیکی ثابت کرده است که بسیاری از وسایل پزشکی نقره‌دار یون‌های نقره آزاد می‌کنند که وارد خون و در کبد، کلیه، ریه و مغز انباشته شده و باعث سمی شدن آنها و در نهایت منجر به مرگ می‌شود. بنابراین ممکن است نانوذرات نقره اثرات سمی داشته باشند که مکانیسم سمیت آنها روشن نیست. اندازه نانوذرات بسیار با اهمیت است که نقش کلیدی در تعیین ویژگی‌های نهایی نانو ذره دارد. اندازه ذره می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی نانو ماده را تغییر دهد و احتمال جذب و تعامل با بافت‌های بیولوژیکی را افزایش دهد. امروزه نتیجه بررسی‌ها نشان می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی نانوذرات با کاهش اندازه ذره افزایش می‌یابد و احتمال اثرات منفی وآپوپتوتیک آن بر سلول‌های عصبی را می‌افزاید (Rezaee Ranjbar Sardari *et al*., 2012).

تعدادی از آزمایشات نشان داده است که نانوذرات نقره باعث تغییر در بیان ژن‌ها در کورتکس فرونتال، هسته‌های دمدار و هیپوکامپ موش‌ها شده و در اعمال سلولی منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و القای استرس اکسیداتیو شده که در نهایت باعث سیتوتوکسیتی می‌شود (Christen *et al*., 2013).

هیپوکامپ ساختاری در کف بطن‌های طرفی در لوب تمپورال مغز است. هیپوکامپ در سازماندهی اطلاعات نقش دارد و با احساسات و خاطرات درارتباط است. آسیب به هیپوکامپ باعث ایجاد فراموشی بعدی و ضعف حافظه کوتاه مدت و حافظه فضایی می‌شود (Ahmadiasl *et al*., 2003).

از آنجایی که نانوذرات نقره قابلیت عبور از سد خونی مغزی را داشته و منجر به آپوپتوز در سلول‌های در معرض می‌شوند (Tang, 2009)، لذا در این مطالعه اثرات سمی نانوذرات نقره به صورت تزریق درون صفاقی بر بافت هیپوکامپ که در حافظه و یادگیری دخالت دارد، از نظر میزان آپوپتوز مورد بررسی قرار می‌دهیم.

مواد و روش‌ها

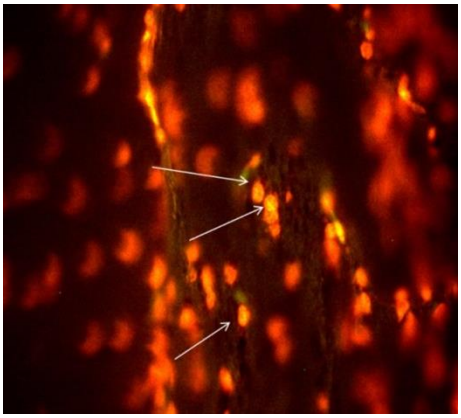
در طی این تحقیق تا هنگام رسیدن موش ها به وزن مورد نظر موش‌ها در شرایط و درجه حرارت مناسب آزمایشگاهی (درجه حرارت ۲±۲۲) و نور کافی اتاق (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. نانوذرات نقره با اندازه ۲۰ نانومتر از شرکت نانو مواد ایرانیان خریداری شد (US Research Nanomaterials). در ابتدا غلظت های مورد نظر از

کلوئید نانوتقره به وسیله آب مقطر دیونیزه و با روش سری رقت (Serial Dilution) تهیه شد (Naghsh *et al.*, 2012). سپس در شرایط استریل تزریق انجام شد. روش تزریق درون صفاقی بود و میزان تزریق با حجم هر دوز ۱ سی‌سی بود.

تعداد ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به ۲ دسته تقسیم گردید. هر دسته به ۴ گروه تقسیم شد. گروه اول شاهد در نظر گرفته شد. در دسته اول تزریق نانو نقره و سالین در طی پنج روز متوالی، و در دسته دوم تزریق نانو نقره و سالین در طی ده روز متوالی در زمان معین صورت گرفت. نانوذرات نقره با قطر ۲۰ نانومتر در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ ppm تزریق شد. ۱۰ روز بعد از آخرین تزریق بافت مغزی موش‌ها را خارج کرده، برش بافتی از هیپوکامپ تهیه شد (Khodadadi *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2001; Naghsh *et al.*, 2012). برای شناسایی سلول‌های آپوپتوز شده از سلول‌های سالم از تست تانل (Tunel test) استفاده شد (Liu *et al.*, 2001; Khalatbari *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2012; Hssanshah *et al.*, 2012; Ahmadpour *et al.*, 2009; Nasirzadeh *et al.*, 2013).

تست تانل

با کمک کیت تانل، هسته نورون‌های آپوپتوتیک به رنگ زرد روشن تا نارنجی مشخص می‌شود، ولی نورون‌های نکروتیک و سالم رنگ زیادی را جذب نمی‌کنند. در این تست، انتهای کروماتین‌های شکسته شده برای تمایز آپوپتوز به کار می‌رود، رنگ‌آمیزی این هسته‌ها توسط آنزیم‌های کیت مشخص و رنگ می‌شود که در آن رنگ مزبوز به انتهای 'OH-3 کروموزوم‌های قطعه‌قطعه شده سلول‌های آپوپتوتیک متصل شده و با میکروسکوپ فلورسنس نور قرمز از خود ساطع می‌کند (شکل ۱).



شکل ۱. فلش‌ها نشان‌دهنده سلول‌های آپوپتوز شده می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از تست آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 تجزیه و تحلیل و به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (Mean±SD) ارائه شد. برای مقایسه دو گروه زمانی کوتاه‌مدت و بلندمدت، از تست آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد.

نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شد، اختلاف درسطح p< ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

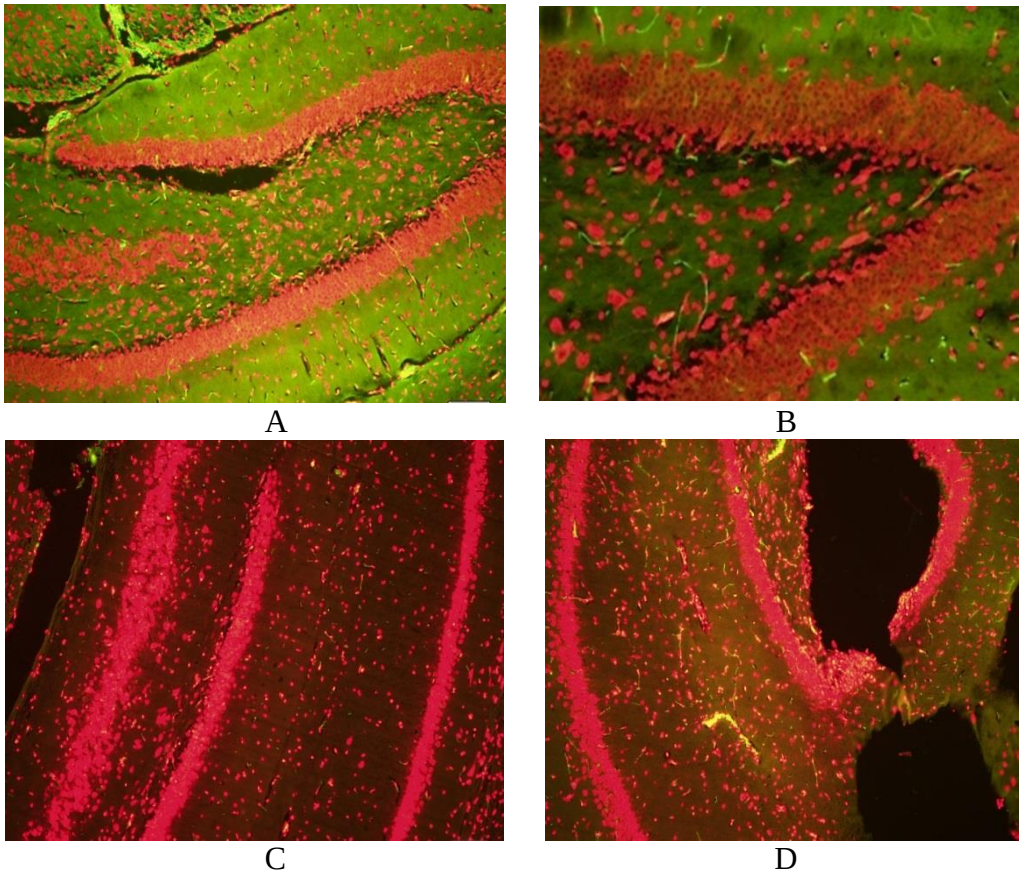
تجربه ۱: نتایج حاصل از تزریق کوتاه مدت نانو نقره بر میزان آپوپتوز

شامل چهار گروه هفت‌تایی بود، گروه اول گروه کنترل که سالین و سه گروه دیگر نانوذرات نقره با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، و ۴۰۰ ppm با حجم ۱ سی‌سی تزریق شد. مدت زمان تزریق به صورت ۵ روز متوالی بود. ۱۰ روز پس از آخرین تزریق حیوانات بوسیله کلرفرم بیهوش، پس از خارج کردن بافت هیپوکامپ، تهیه برش بافتی و بعد از رنگ‌آمیزی با تانل، سلول‌های آپوپتوز شده از سلول‌های سالم شناسایی شد (شکل۲).

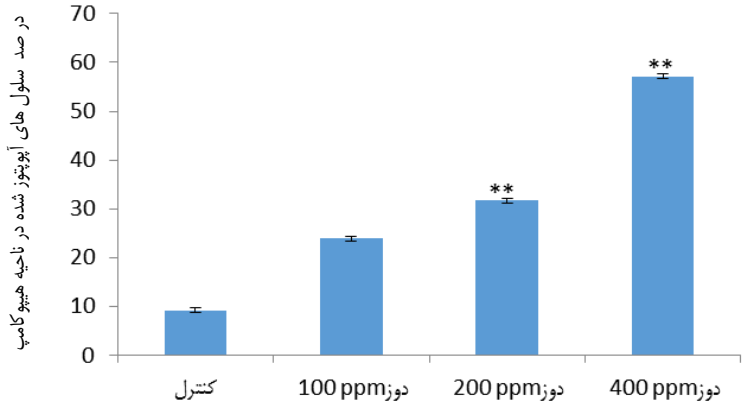
درصد سلول‌های آپوپتوز شده در گروه کنترل (۹/۱۴۲۹±۱/۶۷۶۱۶٪) در دوز ۱۰۰ppm،

٪۲۳/۸۵۷۱±٪۱/۳۴۵۱۹ در دوز ppm۲۰۰، ٪۳۶/۷۱۴۳±٪۲/۵۶۳۴۸ و در دوز ppm۴۰۰، ٪۶۷/۱۴۲۹ ±٪ ۲/۴۱۰۳۰ بود.

درصد سلول‌های آپوپتوز یافته در دوز ppm۱۰۰ نسبت به گروه کنترل معنی‌داری بود (p<۰/۰۱). درصد سلول‌های آپوپتوز یافته در دوز ppm۲۰۰ و دوزppm۴۰۰ نسبت به گروه کنترل اثر معنی داری داشتند (p<۰/۰۰۱). (نمودار۱).



شکل ۲. تزریق کوتاه مدت نانو نقره در رنگ آمیزی تانل. A) گروه کنترل؛ B) گروه ppm۱۰۰؛ C) گروه ppm۲۰۰؛ D) گروه ppm۴۰۰ می‌باشد. بین گروه کنترل و دوزهای دارویی اختلاف معنی‌دار وجود دارد.



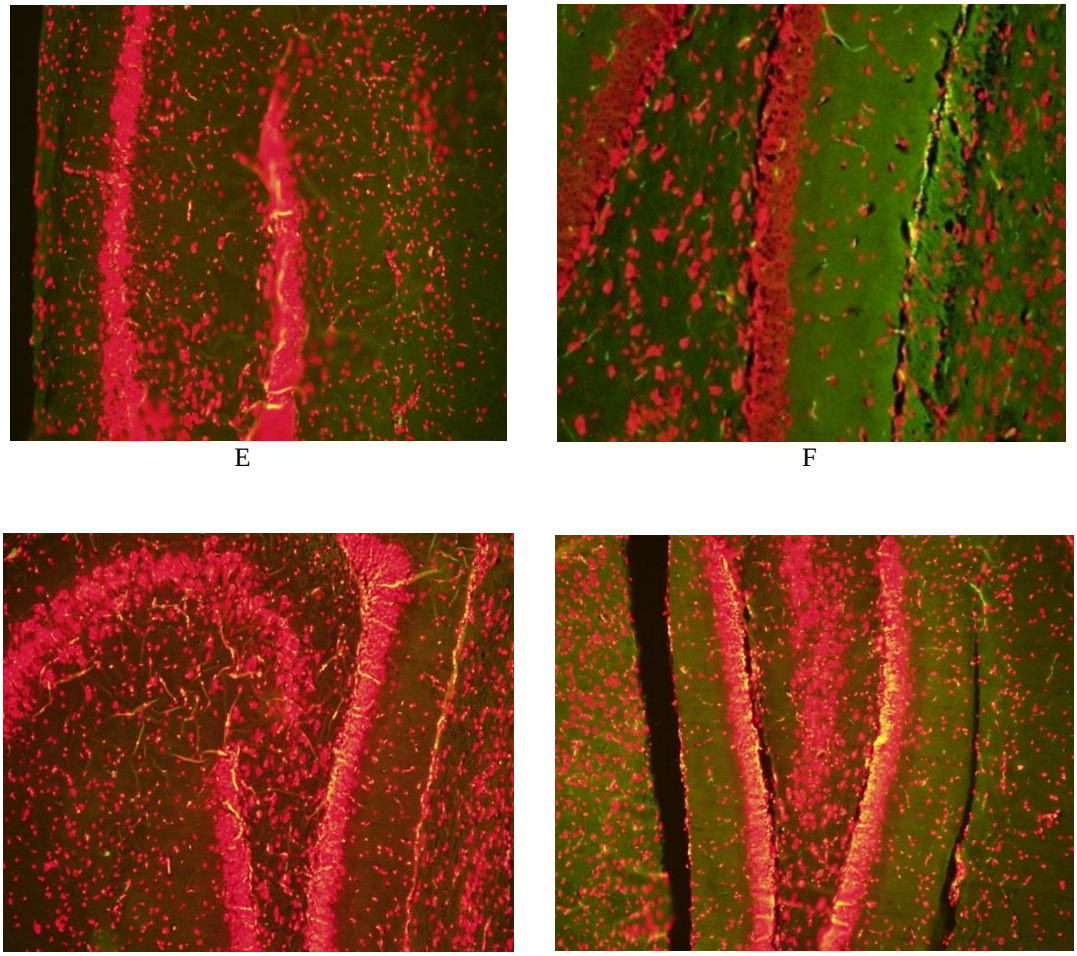
نمودار ۱. نتایج حاصله از تزریق کوتاه مدت دوزهای متفاوت نانوذرات نقره و در صد سلول‌های آپوپتوز یافته در ناحیه هیپوکامپ. مقادیر به صورت MEAN±SEM گزارش شده‌اند. مقایسه اثر دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm نسبت به گروه کنترل. در شکل علامت (**) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (p< ۰/۰۱) و (***) در سطح (p<۰/۰۰۱) می‌باشد.

تجربه ۲: نتایج حاصل از اثر تزریق بلندمدت نانو نقره بر میزان آپوپتوز

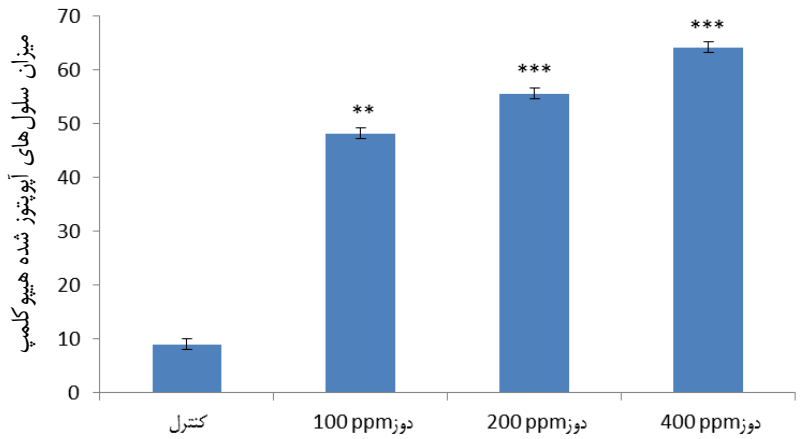
شامل چهار گروه هفت تایی بود که گروه اول گروه کنترل سالین دریافت نمود و سه گروه دیگر نانوذرات نقره با دوزهای ۲۰۰،۱۰۰و۴۰۰ppm با حجم ۱سی سی تزریق شد. مدت زمان تزریق به صورت ۱۰ روز متوالی بود. ۱۰ روز پس از آخرین تزریق حیوانات بوسیله کلرفرم بیهوش، پس از خارج کردن بافت هیپوکامپ، تهیه برش بافتی و بعد از رنگ‌آمیزی بوسیله تانل تعداد سلول‌های آپوپتوز یافته مورد بررسی قرار گرفت (شکل۲).

درصد تعداد سلول‌های آپوپتوز یافته در گروه کنترل ۱/۶۳۲۹۹±۹/۰۰۰۰٪، در دوز ۱۰۰ppm، ۳/۹۷۶۱۲٪±۴۸/۱۴۲۹٪ در دوز ۲۰۰ppm، ۲/۲۲۵۳۹٪±۵۵/۵۷۱۴٪ در دوز ۴۰۰ppm، ۳/۱۳۲۰۲ ٪±۶۴/۱۴۲۹٪ می‌باشد.

درصد سلول‌های آپوپتوز یافته در دوز ۱۰۰ppm نسبت به گروه کنترل معنی‌داری بود (p<۰/۰۱). درصد سلول‌های آپوپتوز یافته در دوز ۲۰۰ppm و دوز۴۰۰ppm نسبت به گروه کنترل اثر معنی داری داشتد (p<۰/۰۰۱). (نمودار ۲).



شکل ۳. تزریق بلندمدت نانو نقره در در رنگ‌آمیزی تانل. E) گروه شاهد؛ F) گروه ۱۰۰ppm؛ G) گروه ۲۰۰ppm؛ H) گروه ۴۰۰ppm می‌باشد. بین گروه شاهد و دوزهای دارویی اختلاف معنی‌دار وجود دارد.



نمودار ۲. نتایج حاصله ازتزریق بلندمدت نانوذرات نقره و آپوپتوز سلول‌های ناحیه هیپوکامپ. مقادیر به صورت MEAN±SEM گزارش شده‌اند. مقایسه اثر دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ ppm نسبت به گروه کنترل. در شکل علامت (**) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۱) و (***)در سطح (p<۰/۰۰۱) می‌باشد.

بین نتایج حاصله ازتزریق کوتاه مدت و بلند مدت نانوذرات نقره و آپوپتوز در سلول‌های ناحیه هیپوکامپ هیچ تفاوت معنی دار مشاهده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از بررسی آپوپتوزیس در سلول‌های هیپوکامپ نشان داد که بین گروه کنترل با گروه‌های دریافت‌کننده نانوذرات نقره اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بنابراین نانوذرات نقره قادر بوده است مرگ برنامه‌ریزی شده را در سلول‌های هیپوکامپ افزایش دهد. وجود اختلاف معنی‌دار در آپوپتوزیس بین دو گروه کنترل و تیمار شده با نانونقره نشان داد که موافق با مطالعات ما Susan *et al.* (2009) اعلام کردند که نانوذرات نقره و داروهایی که از آنها ساخته می‌شوند چه به صورت خوراکی و چه به صورت تماس پوستی می‌توانند یک تهدید مهم برای سلامت جوامع انسانی و استفاده درازمدت از این مواد می‌تواند زندگی تمام موجودات روی کره زمین را تهدید کند (Susan *et al.*, 2009). مقایسه اثرات توکسیکی ذرات کوچک با ذرات بزرگ و تجمع و انتشار ذره در بافت‌های مغز، ریه، کبد، کلیه و بیضه به نحوه مصرف از راه دهانی یا تزریق بستگی دارد (Oberdorster *et al.*, 2005; Tang *et al.*, 2008). موش‌هایی که نانوذرات نقره با سایزهای متفاوت از طریق تزریقی دریافت کرده بودند نانوذرات وارد جریان خون شده و در بافت‌ها مخصوصاً کلیه، کبد، طحال، مغز و ریه انباشته شده بودند (Sriram *et al.*, 2010).

در سال Sriram *et al.* (2010) اثبات کردند که نانوذرات نقره می‌تواند آنزیم‌های میتوکندریایی کاسپازی به خصوص Caspase۳ را در سلول‌های سرطانی لنفاوی فعال و باعث ایجاد مرگ برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوزیس می‌شود (Ghorbanzadeh *et al.*, 2011). در سال ۲۰۱۱ گزارش شده است که استرس اکسیداتیو ناشی از ذرات نانو نقره می‌تواند منجر به آپوپتوز سلول‌ها در تخمدان گردد (Tavakol Heidary *el al.*, 2014). همچنین در تحقیقی که Rahman *et al.* (2009) انجام دادند بعد از قرار گرفتن موش‌ها در معرض نانوذرات نقره کمتر ۲۵ نانومتر، مناطق مختلف مغز شامل هسته دمدار، کورتکس فرونتال و هیپوکامپ مورد مطالعه قرار گرفت و نشان داد که نانوذرات نقره کمتر از ۲۵ نانومتر با تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو باعث تغییر بیان ژن‌های آپوپتوزی شده و باعث تولید

سیتوتوکسیتوسیتی در سلول‌های عصبی می‌شود (Rahman *et al*., 2009). بر اساس این تحقیق نیز ثابت شده که نانوذرات نقره سبب تخریب دیواره خونی- مغزی شده و آپوپتوز را هیپوکامپ به وجود می‌آورند.

در همین راستا در تحقیقی که توسط رضایی Rezaee Ranjbar Sardari *et* al. (2012)، بر روی ریه موش‌های صحرایی به صورت خوراکی انجام شد نشان می‌دهد که مسمومیت‌های نقره در بافت ریه منجر به خونریزی، دژنراسیون شدید سلول‌ها و آسیب‌های بافتی می‌شود و گسترش ضایعات ایجاد شده توسط نانوذرات نقره، روند وابسته به دوز را نشان می‌دهند (Rezaee Ranjbar Sardari *et al*., 2012). در مطالعه Heidary Tavakol *et al*. (2014) و Rezaee Ranjbar Sardari *et al*. (2014) تأثیر نانوذرات نقره را بر استرس اکسیداتیو و عملکرد کبد موش مورد بررسی و نشان دادند، اثرات سمی نانو نقره وابسته به دوز بوده و نانو نقره در دوزهای بالا اثرات توکسیک در بافت‌ها نشان می‌دهند (Tavakol Heidary *et al*., 2014; Rezaee Ranjbar Sardari *et al*., 2014). نتایج این مطالعه نیز نشان داد در دوزهای بالا (۲۰۰ و ۴۰۰ ppm، p<۰/۰۰۱) نسبت به دوز ۱۰۰ ppm تخریب بافت هیپوکامپ بیشتر شد و تأثیر نانوذرات نقره بر میزان سلول‌های آپوپتوتیک هیپوکامپ به صورت وابسته به دوز سبب تخریب دیواره خونی- مغزی شده و تخریب عصبی را به وجود می‌آورند.

در پروژه حاضر از نانوذرات نقره با قطر تقریبی ۲۰ nm استفاده شد. بنابراین شکل و قطر نانو ذره استفاده شده در این تحقیق می‌تواند عامل مؤثری در نتایج به دست آمده باشد. در مطالعه حاضر با توجه به قطر نانوذره نقره مسیر آپوپتوزی در سلول‌های هیپوکامپ فعال شده است. Navarro *et al*. (2008) اعلام کردند که سمیت نانوذرات نقره می‌تواند به عوامل متعددی از جمله شکل اندازه و مهمتر از همه به مکانیسم این مواد وابسته باشد و با تغییر هر کدام از این فاکتورها، میزان سمیت تغییر قابل توجهی پیدا خواهد کرد (Navarro *et al*., 2008).

از طرفی در تحقیقی که Khodadadi *et al*. (2013)، روی تأثیر نانوذرات نقره بر میزان فعالیت آنزیم فسفو کراتین کیناز عضله موش‌های بزرگ آزمایشگاهی انجام دادند، نشان دادند که در هیچ یک از دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ppm۴۰۰ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تیمار و گروه کنترل وجود ندارد، لذا نتیجه گرفتند تأثیر نانوذرات نقره با افزایش غلظت کاهش می‌یابد از طرفی در مطالعات بافتی تغییرات بافت در دوز ۴۰۰ppm از نانوذرات نقره بیشترین تأثیر در عضلات رت‌های نر دیده شد (Foladband, 2008)، بنابراین نانونقره با مکانیسم‌های متنوعی باعث آسیب به سلول‌های مختلف می‌شود (Khodadadi *et al*., 2013).

در پروژه حاضر اثرات آپوپتوتیک ذرات نانو نقره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm بر هیپوکامپ موش‌های صحرایی در تزریق کوتاه‌مدت، یعنی با ۵ روز تزریق و ۱۰ روز بعد از آخرین تزریق و تزریق بلندمدت، یعنی با ۱۰ روز تزریق و ۱۰ روز بعد از آخرین تزریق مورد بررسی قرارگرفت. هیچ تفاوتی بین این غلظت‌ها در زمان کوتاه‌مدت و بلندمدت مشاهده نشد. برخلاف آنچه Khodadadi *et al*. (2013) از دست دادن خاصیت نانو در غلظت‌های بالا را به علت چسبیدن این ذرات به یکدیگر پس از هشت روز و از دست دادن خواص نانویی آنها در بدن موش در روزدوازدهم دلیل این عدم تأثیر می‌دانند (Khodadadi *et al*., 2013).

بنابراین مطالعه حاضر نشان می‌دهد نانوذرات نقره چه در کوتاه‌مدت و چه بلندمدت، به صورت وابسته به دوز باعث افزایش در صد سلول‌های آپوپتوز یافته در ناحیه هیپوکامپ می‌گردد. بنابراین، افزایش آپوپتوز گرچه با سرطان ارتباط ندارد ولی می‌تواند منجر به بیماری‌هایی همچون، آلزایمر و در بیماری‌هایی که منجر به دژنره شدن سیستم عصبی می‌شود، نقش

داشته باشد. مطالعه در مورد چگونگی این فرآیندها نیاز به تحقیقات آینده دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

نانوذرات نقره باعث آپوپتوز سلول‌های هیپوکامپ می‌شود. این اثر با افزایش دوزهای تزریقی نانوذرات نقره افزایش اما وابسته به طول مدت تزریق نمی‌باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات همکاران دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه تهران و دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس که در مراحل مختلف این تحقیق همکاری داشتند کمال تشکر را داریم. این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشجو حمید نصرالله‌زاده فیلی می‌باشد.

REFERENCES

Ahmadiasl, N.; Alaei, H.; Hanninen, O.; (2003). Effect of exercise on learning, memory and levels of epinephrine in rats hippocampus. J Sport Sci Med; 2: 106-109.

Ahmadpour, SH.; Sadeghi, Y.; Sheibanifar, M.; Haghir, H.; (2009). Effect of insulin and L ascorbic acid on rate of neuronal apoptosis in dentate gyrus and CA3 region of hippocampus in type 1 diabetic rats. Hormozgan University of Medical Sciences J.; 13(4): 234-245.

Chang, S.; Sen, S.; Zhang, P.; Gyarfas, B.; Ashcroft, B.; Lefkowitz, S. *et al*.; (2012). Palladium electrodes for molecular tunnel junctions. Nanotechnology; 23(42): 425202. doi: 10.1088/0957-4484/23/42/425202. Epub 2012 Oct 4.PMID: 23037952.

Christen, V.; Capelle, M.; Fent, K.; (2013). Silver nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress response in Zebrafish. Toxicol Appl pharmacol; 272(2): 519-528.

Foladband, F.; (2008). Health and nano-technology. Health magazine; 197: 16.

Ghorbanzadeh, V.; Moshtaghian, J.; Habibian, S.; Ebadi, A-G.; (2011). Influence of Nano-Silver on Primary Follicles of Ovary via Intraperitoneal Injection in Rats. World Journal of Zoology; 6(2): 215-216.

Hssanshah, J.; Hassanshahi, G-H.; Zamani, M.; Hakimizadeh, E.; Soleimani, M.; (2012). Comparison of Therapeutic Effects of Vvitamin C and CoQ10 in Reducing of Damaged Cells in Mice Hippocampus Following Ischemia-Reperfusion, Mazand Univ Med Sci J.; 22(94): 2-13.

Hussain, SM.; Schlager, JJ.; (2009). Safty evaluation of silver nanoparticles: inhalation model for chronic exposure. Toxicol Sci.; 108(2): 223-224.

Kawata, K.; Osawa, M.; Okabe, S.; (2009). In vitro toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. Environ Sci Technol; 43: 6046-6051.

Khalatbary, A.; Tiraihi, T.; Beigi Boroujeni, M.; Ahmadvand, H.; Tavafi, M.; Tamjidipoor, A.; (2010). Study of Neuroprotective Effects of Green Tea Antioxidant on Spinal Cord Injury of Rat. Journal of Iranian Anatomical Sciences; 7: 145-152.

Khodadadi, S.; Naghsh, N.; Mashayekh, A.; (2013). Effects of Silver Nanoparticle on Phospho creatine kinase and Histological Changes of Skeletal Muscle Tissue in Male Wistar Rat. Mazand Univ Med Sci J.; 23(97): 36-41.

Liu, Z.; Gastard, M.; Verina, T.; Bora, S.; Mouton, PR.; Koliatsos, VE.; (2001). Estrogens modulate experimentally induced apoptosis of granule cells in the adult hippocampus. J Comp Neurol; 441(1): 1-8.

Naghsh, N.; Safari, M.; Hajmehrabi, P.; (2012). Investing the effect of silver nanoparticles on E.coli growth. Qom Univ Med Sci.; 6(2): 65-68.

Nasirzadeh, MR.; Babapour, V.; Ahmadi-Asl, N.; Roshangar, L.; Nazemieh, H.; (2013). Effects of methanol extract of soy on the apoptosis of hippocampal cells in ovariectomized rats. Feyz.; 16(6): 501-506.

Navarro, E.; Piccapietra, F.; Wagner, B.; Marconi, F.; Kaegi, R.; Odzak, N.; Sigg, L.; Behra, R.; (2008). Toxicity of Silver Nanoparticles to Chlamydomonas Reinhardtii. Environ Sci Technol; 42(89): 59-64.

Oberdorster, G.; Oberdorster, E.; Oberdorster, J.; (2005). Nanotxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environ Health Perspect; 113(7): 823-839.

Rahman, MF.; Wanga, J.; Patterson, TA.; Saini, UT.; Robinson, BL.; Newport, GD. *et al*.; (2009). Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles. Toxicology Lett; 187: 15-21.

Rezaee Ranjbar Sardari, R.; Rezaei Zarchi, S.; Nasri, S.; Talebi, A.; Khoradmehr, A.; Razavi Sheshde, SA. *et al*.; (2012). Toxicological effects of silver nanoparticles in rats' lung. Shahid Sadoughi Univ Med Sci J.; 20(3): 269-276.

Ranjbar, A.; Ataie, Z.; Khajavi, F.; Ghasemi, H.; (2014). Effects of silver nanoparticle (Ag NP) on oxidative stress biomarkers in rat; 1(3): 205-211.

Sriram, MI.; Kanth, SB.; Kalishwaralal, K.; Gurunathan, S.; (2010). Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. Int J Nanomedicine; 5: 753-762.

Susan, WP.; Williw, GM.; Van Maaike, J.; (2009). Nano silver- A review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. Nanotoxicol; 3(2): 109-138.

Tang, J.; Xi, T.; (2008). Status of biological evaluation on silver nanoparticles. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi; 25(4): 958-561.

Tavakol Heidary, T.; Khajavi, F.; Ghasemi, H.; Hossini Zijoud, SM.; Akram Ranjbar, A.; (2014). Effects of silver nanoparticle (Ag NP) on oxidative stress, liver function in rat: hepatotoxic or hepatoprotective; 2(5): 40-44.

Tang J, Xiong L, Wang S, Liu L, Li j, et al. (2009). Distribution, translocation and accumulation of silver nanoparticles in rats. J Nanosc nanotechnol; 4924-4932.

Wijnhoven, SW.; Peijneburg, WJ.; Herberts, CA.; Hagens, WI.; Oomen, AG.; Heugens, EH. *et al*.; (2009). Nano-silver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. Nanotoxicology; 3(2): 109-138.