مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۷، مرداد ۱۳۹۷، ۴۶۰-۴۴۷

مطالعه پارامترهای استرس اکسیداتیو و آنزیم‌های کبدی در مواجهه با نانولوله‌های کربن چنددیواره در موش‌های صحرایی

وجیهه نساج‌پور[۱]، علی نوری[۲]، هاشم نیری[۳]

دریافت مقاله: ۹۶/۱۰/۳۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۷/۲/۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۷/۳/۷ پذیرش مقاله: ۹۷/۳/۹

چکیده

زمینه و هدف: ویژگی‌های اختصاصی نانولوله‌های کربن ممکن است اثرات سوء بر محیط ایجاد کند. در تحقیق حاضر اثر این نانوذرات بر ایجاد استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد کبد موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، نانولوله‌های کربن چند دیواره عامل دار شده با گروه کربوکسیل به موش‌های صحرایی چهار گروه تیمار (دوز ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن با دو زمان خون‌گیری متفاوت) تزریق گردید وگروه‌های شاهد سرم فیزیولوژیک دریافت کردند. خون‌گیری در دو مرحله، ۲۴ و ۱۴۴ ساعت پس از آخرین تزریق انجام شد، سپس میزان فعالیت آنزیم‌های ALP (Alkaline phosphatase)، ALT (Alanine aminotransferase)، (Aspartate aminotransferase) AST، LDH (Lactate dehydrogenase) و مقدار مالون دی آلدئید و گروه‌های تیول پلاسما اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Duncan تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: در اولین خون‌گیری، فعالیت آنزیم LDH در دوز ۲۰ mg/Kg و مقدار گروه‌های تیول در دوز ۱۰ mg/Kg نسبت به سایر گروه‌ها به ترتیب به طور معنی‌دار کاهش (p=۰/۰۰۶) و افزایش (p=۰/۰۱۱) یافت. در دومین خون‌گیری، فعالیت آنزیم ALP (p=۰/۰۲۰) و LDH (p=۰/۰۰۷) در دوز ۲۰ و فعالیت آنزیم ALT (p=۰/۰۳۳) در دوز ۱۰ mg/Kg نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد. مقدار مالون دی آلدئید نیز در هر دو دوز نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (p=۰/۰۲۳).

نتیجه‌گیری: احتمالاً نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیلیک حتی در دوزهای پایین پس از گذشت ۶ روز از آخرین تزریق، با تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو سبب اختلال در فعالیت کبد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: نانولوله‌های کربن، استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های کبدی، موش صحرایی

۱- کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

۲- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

تلفن: ۰۳۱-۳۷۴۳۰۱۳۵، دورنگار: ۰۳۱-۳۷۴۲۰۱۴۵، پست الکترنیکی: ali.noori55@gmail.com

۳- استادیار گروه آموزشی بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

مقدمه

هدف استفاده از نانوذرات در پزشکی و بیولوژی، کاربرد آن‌ها در سطح مولکولی است تا بتوان از ویژگی‌های منحصر به فرد این مواد در کنترل، ساخت، ترمیم، درمان و بهبود تمامی‌سامانه‌های زیستی استفاده نمود [۲-۱]. ساده ترین نوع نانولوله‌های کربنی، نانولوله‌های کربنی تک دیواره هستند که می‌توان آن را به صورت صفحه منفردی از گرافیت پیچیده شده، به شکل استوانه ای در نظر گرفت. اگر تعدادی از این صفحه‌ها به شکل لوله‌های هم مرکز دور هم پیچانده شوند، نانولوله‌های کربنی چند دیواره به دست می‌آید [۳]. پروتئین‌ها، پیوندهای غیرکووالانتی خیلی محکمی‌با نانولوله‌های کربنی برقرار می‌کنند و انعطاف پذیری آن‌ها اجازه می‌دهد که دور نانولوله‌های کربن پیچیده و سراسر آن را بپوشانند. ویژگی‌های الکتریکی و نوری نانولوله‌های کربن نسبت به مواد جذبی بسیار حساس است و امروزه تلاش‌هایی به منظور کاربرد همزمان ویژگی‌های ماده جذب شده و نانولوله‌های کربن برای تولید نانو حسگرهای زیستی انجام شده است [۵-۴].

از جمله تغییراتی که در سنتز نانولوله‌های کربن کاربردهای بیولوژیک آن‌ها را میسر کرده و به زیست سازگاری آن‌ها نیز کمک می‌کند، اتصال گروه‌های عاملی مختلف نظیر پلی اتیلن گلیکول، هیدروکسیل، کربوکسیل و یا حتی پروتئین‌های آلی به آنها است [۶] که کاربردهای مفید و متعددی را برای این نانوساختارها نظیر تحویل هدفمند دارو و ژن، به عنوان داربست در مهندسی بافت و بازسازی استخوان [۹-۷] و درمان‌های فیزیکی سرطان فراهم می‌کند[۱۰].

با این حال نانولوله‌های کربن با مکانیسم‌های متعددی ممکن است باعث ایجاد اثرات سمی و مخرب بر سلول‌ها و جانداران شوند [۱۱] که از مهم ترین این مکانیسم‌ها، ضمن نفوذ و تجمع در بافت‌ها، ایجاد سطوح فعال کاتالیتیکی آبگریز یا آب دوست است که با داشتن جایگاه‌های فعال انتقال الکترون سبب تولید رادیکال‌های آزاد و فشارهای اکسیداتیو می‌شود، به طوری که این اثرات شدیداً تحت تأثیر قطر، طول، ویژگی‌های سطحی و گروه‌های عاملی نانولوله‌های کربن قرار می‌گیرد [۱۳-۱۲]. از طرفی نقش سیستم رتیکولو- اندوتلیال در حذف نانوذرات مختلف از جریان خون با توجه به پوشش‌های به کار رفته بر سطح آن‌ها نشان داده شده است [۱۵-۱۴] و در تحقیقات متعدد اثرات استرس اکسیداتیو و سمیت نانولوله‌های کربن تک دیواره یا چنددیواره با ویژگی‌ها و دوره‌های تیمار گوناگون تأیید شده است که نتایج آن‌ها بسیار متفاوت بوده و به صورت حضور نانولوله‌های کربن در گردش خون، تغییر پارامترهای استرس اکسیداتیو، تجمع بافتی به ویژه در ریه‌ها، مرگ حیوانات به علت ایجاد انسداد و فیبروز ریوی و یا حتی سمیت ناچیز، گزارش شده است [۱۹-۱۶].

در در تحقیق حاضر با توجه به تأثیر مهم ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانولوله‌های کربن بر سمیت آن‌ها و گستردگی سیستم رتیکولواندوتلیال در کبد به عنوان مهم ترین اندام درگیر با سموم [۱۴]، اثر تزریق‌های مکرر نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیل دار با قطر ۵ تا

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

۱۰ نانومتر و طول ۰/۵ تا ۲ میکرومتر در دو دوره ۲۴ و ۱۴۴ ساعت پس از تیمار به منظور بررسی اثر گذشت زمان بر پارامترهای فشار اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۵، ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین و انحراف معیار وزن ۱۳/۴۵±۲۴۰ گرم از انسیتو پاستور تهران خریداری و در شرایط آزمایشگاهی با دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با رطوبت نسبی ۴۰ درصد به منظور سازگاری با محیط در مرکز نگه داری حیوانات دانشگاه آزاد فلاورجان نگه داری شدند. آزمایشات مورد تأیید شورای پژوهشی دانشگاه آزاد فلاورجان اصفهان قرار گرفت و بر طبق دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین‌المللی مطالعه درد *(International association for study of pain)* در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد [۲۰] و حیوانات در طول مطالعه دسترسی کافی به آب و غذا داشتند.

نانولوله‌های کربن چنددیواره عامل دار شده با گروه کربوکسیل با قطر خارجی ۱۰ تا ۲۰ نانومتر، قطر داخلی ۵ تا ۱۰ نانومتر، طول ۲-۰/۵ میکرومتر، درجه خلوص بالای ۹۵ درصد با محتوای COOH ۲ درصد وزنی و سطح ویژه ۲۰۰ مترمربع بر گرم از شرکت نوترینو در تهران خریداری شد. برای به دست آوردن محلولی نسبتاً یکنواخت از نانولوله‌های کربن، از توین ۸۰ و سرم فیزیولوژیک (نسبت یک به صد) به عنوان حلال استفاده گردید و غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تهیه شد [۱۹-۱۸]. در این آزمایش از توین برای تهیه سوسپانسیون یکنواخت استفاده گردید، به طوری که عدم وجود توین و صرفاً استفاده از سرم فیزیولوژیک سبب رسوب فوری نانولوله‌ها شده و امکان تزریق و تهیه محلول یکنواخت و هموژن وجود نداشت. هم چنین مخلوط حاصل را در دستگاه اولتراسونیک FALC,LB52-۱۰ ساخت کشور ایتالیا با دمای ۴ درجه سانتی گراد و دامنه ۴۰ درصد برای مدت سی دقیقه قرار داده تا سوسپانسیونی یکنواخت به دست آید [۲۱].

حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه‌های تیمار دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانولوله‌های کربن را به صورت درون صفاقی و یک روز در میان طی ۲۱ مرحله دریافت کردند و به دو گروه شاهد سرم فیزیولوژی به همراه توین تزریق گردید. با استناد به گزارش‌های قبلی مبنی بر عدم اثرگذاری شوک حاصل از تزریق سرم فیزیولوژیک بر حیوانات آزمایشگاهی [۲۲]، گروه کنترل در نظر گرفته نشد و گروه شاهد با گروه‌های تجربی (گروه‌هایی که نانولوله‌های کربن دریافت کردند) مقایسه شد. خون‌گیری در دو مرحله زمانی یعنی ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق و ۱۴۴ ساعت پس از آخرین تزریق (مستقیماً از قلب) از گروه‌های تیمار به طور مجزا (دو گروه تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دو گروه تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انجام شد. حیوانات هم چنین قبل از اولین تزریق و قبل از خون‌گیری وزن شدند.

میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی شامل آسپارتات

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase; AST)، آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase; ALT)، آلکالن فسفاتاز(Alkaline phosphatase; ALP) و لاکتات دهیدروژناز (Lactate dehydrogenase; LDH) توسط دستگاه 917 Hitachi Automatic Analyzer, ساخت کشور ژاپن و با استفاده کیت‌های بیوشیمیایی monobind ساخت کشور آمریکا انجام شد.

اندازه‌گیری گروه‌های تیول در اثر واکنش گروه‌های سولفیدریل با معرف Elman یا DTNB (2nitrobenzoic 5،5´dithiobis acid) انجام گردید که در نتیجه واکنش جانشینی DTNB با تیول‌های آلیفاتیک یک مول آنیون نیتروتیوبنزوات به ازای هر گروه سولفیدریل ایجاد می‌گردد. لازم به ذکر است که برای تعیین غلظت گروه‌های تیول کل پلاسما در نمونه‌ها، از منحنی استاندارد گلوتاتیون (GSH; glutathione) استفاده گردید [۱۶].

میزان مالون دی آلدئید با استفاده از کیت MDA ساخت کشور آلمان و به روش اسپکتروفتومتری تیوباربیتوریک اسید (اسپکتروفتومتر SHIMADZU ساخت ژاپن) اندازه‌گیری گردید. روش تیوباربیتوریک اسید در مقایسه با سایر روش‌ها معمول تر است. در این روش آلدئیدهای تشکیل شده به وسیله شکست هیدروپراکسید که شامل مالون دی آلدئید نیز می‌باشد، اندازه‌گیری می‌شود. مواد واکنش دهنده با تیو باربیتوریک اسید مثل مالون دی آلدئید، شاخص پراکسیداسیون لیپیدها است که تولید آن‌ها توسط رادیکال‌های آزاد القاء می‌گردد [۱۶].

داده‌ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش گردید و به منظور مقایسه بین گروه‌های تیمار و شاهد از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Duncan و آزمون t زوجی استفاده گردید. توزیع فراوانی داده‌ها بر طبق آزمون ناپارامتری Kolmogorov Smirnov نرمال بود (P>۰/۰۵) و برابری واریانس با آزمون levene تأیید گردید (P>۰/۰۵). سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

مقایسه میانگین وزن رت‌ها قبل و بعد از تیمار، عدم تأثیر تزریق نانولوله‌های کربن را بر افزایش وزن نشان داد (جدول ۱). به عبارت دیگر ظاهراً ۲۱ بار تزریق درون صفاقی نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیلیک در دو دوره ۲۴ ساعته و ۱۴۴ ساعته اثر معنی‌داری بر تغییرات وزن رت‌ها نداشته است. به طوری که میزان افزایش وزن در تمام گروه‌های تیمار اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نشان نداد (P>۰/۰۵).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

جدول ۱- مقایسه میانگین تغییرات وزن در موش‌های نر نژاد ویستار قبل از تزریق و قبل از خون‌گیری در گروه‌های تیمار و شاهد

غلظت نانولوله های کربن (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	گروه‌های تیمار ۲۴ ساعته (n=۸)		گروه های تیمار ۱۴۴ ساعته (n=۸)	
	انحراف معیار ± میانگین قبل از تزریق (گرم)	انحراف معیار ± میانگین قبل از خونگیری (گرم)	انحراف معیار ± میانگین قبل از تزریق (گرم)	انحراف معیار ± میانگین قبل از خونگیری (گرم)
کنترل (شاهد)	۲۷۲/۸۷ ±۱۴/۱۴	۳۲۲/۸۷ ±۱۸/۵۰	۲۶۱/۳۷ ±۱۶/۱۲	۳۲۰/۶۲ ±۲۰/۶۳
۱۰	۲۳۲/۲۵ ±۱۲/۴۹	۲۷۰/۷۵ ±۱۰/۸۹	۲۳۰/۷۵ ±۱۶/۱۸	۲۷۲/۶۲ ±۱۹/۸۹
۲۰	۲۳۸/۷۵ ±۱۲/۲۵	۲۷۸/۰۰ ±۱۲/۲۱	۲۳۰/۵۰ ±۱۹/۶۷	۲۷۷/۲۵ ±۲۰/۱۷

بر اساس آزمون t زوجی اختلاف معنی دار در میانگین وزن هر گروه قبل از تزریق و قبل از خونگیری مشاهده نشد و در تمام مقایسه‌ها عدد P بزرگتر از ۰/۰۵ بدست آمد (P>۰/۰۵). به عبارت دیگر تزریق نانولوله‌های کربن اثری بر تغییرات وزن در طول آزمایش ایجاد نکرد.

آنالیز واریانس یک طرفه در داده‌های خون‌گیری ۲۴ ساعته نشان داد که میانگین فعالیت آنزیم‌های آلکالن فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و نسبت ALT/AST در گروه‌های تیمار نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار ندارد و فقط در مورد آنزیم لاکتات دهیدروژناز، کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) در دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم های کبدی در موش‌های نر نژاد ویستار ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیل‌دار بین گروه‌های تیمار و شاهد (n=۸)

غلظت نانولوله‌های کربن (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	انحراف معیار ± میانگین فعالیت ALP (U/L)	انحراف معیار ± میانگین فعالیت ALT (U/L)	انحراف معیار ± میانگین فعالیت AST(U/L)	انحراف معیار ± میانگین نسبت فعالیتALT/AST	انحراف معیار ± میانگین فعالیت LDH(U/L)
کنترل (شاهد)	۲۲۵/۷۵±۵۰/۰۱	۴۶/۰۰±۱۵/۳۱	۱۱۶/۰۰±۲۵/۸۸	۰/۳۹±۰/۱۱	۲۰۴۴/۲۵±۷۰۰/۴۴
۱۰	۳۰۰/۳۷±۵۵/۳۰	۴۹/۳۷±۴/۲۷	۱۳۳/۵۰±۲۰/۳۳	۰/۳۷±۰/۰۵	۲۲۵۱/۵۰±۶۵۴/۳۰
۲۰	۲۸۳/۸۷±۹۵/۳	۶۱/۳۷±۱۸/۳۲	۱۳۲/۱۲±۳۱/۰۶	۰/۴۶±۰/۱۱	۱۱۳۴/۸۷ ± ۶۲۴/۷۲*
مقدار F	۲/۵۱۸	۲/۶۶۱	۱/۱۰۹	۲/۱۴۲	۶/۴۶۸
مقدار P	۰/۱۰۵	۰/۰۹۳	۰/۳۴۸	۰/۱۴۲	۰/۰۰۶

****کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم LDH نسبت به سایر گروه ها (P<۰/۰۱)، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Duncan، P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار***

ALP (Alkaline phosphatase)، ALT (Alanine aminotransferase)، AST (Aspartate aminotransferase)، LDH (Lactate dehydrogenase)

در نتایج حاصل از خون‌گیری ۱۴۴ ساعته، فعالیت آنزیم ALP (P<۰/۰۵) و LDH (P<۰/۰۱) در دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و هم چنین فعالیت آنزیم ALT (P<۰/۰۵) در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد. در حالی که فعالیت آنزیم AST و نسبت ALT/AST اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۳).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

جدول ۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های کبدی در موش‌های نر نژاد ویستار ۱۴۴ ساعت پس از آخرین تزریق نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیل‌دار بین گروه‌های تیمار و شاهد (n=۸)

غلظت نانولوله های کربن (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	انحراف معیار ± میانگین فعالیت (U/L) ALP	انحراف معیار ± میانگین فعالیت ALT (U/L)	انحراف معیار ± میانگین فعالیت (U/L) AST	انحراف معیار ± میانگین نسبت فعالیت ALT/AST	انحراف معیار ± میانگین فعالیت LDH (U/L)
کنترل (شاهد)	۳۶۶/۱۲ ± ۸۰/۵۶	۵۸/۶۲ ± ۸/۰۸	۱۵۳/۵۰ ± ۱۹/۱۹	۰/۳۸ ± ۰/۰۸	۲۵۶۰/۱۲ ± ۸۷۹/۳۰
۱۰	۳۱۴/۳۷ ± ۶۶/۱۲	۴۷/۱۲ ± ۹/۲۴ *	۱۵۰/۲۵ ± ۱۹/۴۹	۰/۳۱ ± ۰/۰۷	۲۶۰۱/۶۲ ± ۸۸۱/۰۴
۲۰	۲۸۳/۱۲ ± ۶۲/۶۱ *	۵۵/۷۵ ± ۷/۹۲	۱۴۴/۶۲ ± ۱۴/۶۰	۰/۳۸ ± ۰/۰۵	۱۳۴۷/۷۵ ± ۵۱۲/۳۶ **
مقدار F	۲/۸۵۳	۴/۰۲۲	۰/۵۰۳	۲/۴۶۳	۶/۷۱۹
مقدار P	۰/۰۲۰	۰/۰۳۳	۰/۶۱۲	۰/۱۰۹	۰/۰۰۷

*****کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم LDH نسبت به سایر گروه ها (P<۰/۰۱)، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Duncan، P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار***

****کاهش فعالیت آنزیم ALP و ALT نسبت به گروه شاهد(P<۰/۰۵)، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Duncan،P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار***

***ALP** (Alkaline phosphatase)، **ALT** (Alanine aminotransferase)، **AST** (Aspartate aminotransferase)، **LDH** (Lactate dehydrogenase)*

مقدار مالون دی آلدئید ۲۴ ساعت پس از تزریق اختلاف معنی‌داری را در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد نشان نداد اما پس از گذشت ۱۴۴ ساعت در هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌دار (P<۰/۰۵) افزایش یافت (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین مقدار مالون دی‌آلدئید در موش‌های نر نژاد ویستار ۲۴ و ۱۴۴ ساعت پس از آخرین تزریق نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیل‌دار بین گروه‌های تیمار و شاهد (n=۸)

	گروه‌های تیمار ۲۴ ساعته	گروه‌های تیمار ۱۴۴ ساعته
غلظت نانولوله‌های کربن (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	انحراف معیار ± میانگین مقدار MDA (میکرومولار)	انحراف معیار ± میانگین مقدار MDA (میکرومولار)
کنترل (شاهد)	۲/۵۹ ± ۰/۲۷	۲/۴۵ ± ۰/۲۱
۱۰	۲/۶۹ ± ۰/۱۶	۲/۸۸ ± ۰/۳۲ *
۲۰	۲/۷۶ ± ۰/۳۷	۲/۷۹ ± ۰/۳۳ *
مقدار F	۰/۷۶۰	۴/۵۳۷
مقدار P	۰/۴۸۰	۰/۰۲۳

**** افزایش مقدار مالون دی آلدئید نسبت به گروه شاهد (P<۰/۰۵) ، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Duncan،P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار MDA (Malondialdehyde)***

مقدار گروه‌های تیول پلاسما، با استفاده از منحنی استاندارد GSH و در طول موج ۴۱۲ نانومتر تعیین گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار، مقدار گروه‌های تیول پلاسما در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار یافت (p<۰/۰۵). در حالی که پس از ۱۴۴ ساعت مقدار گروه‌های تیول پلاسما اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۵).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

جدول ۵- مقایسه میانگین غلظت گروه‌های تیول ۲۴ و ۱۴۴ ساعت پس از آخرین تزریق نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیل‌دار بین گروه‌های تیمار و شاهد (n=۸)

غلظت نانولوله های کربن (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	گروه های تیمار ۲۴ ساعته	گروه های تیمار ۱۴۴ ساعته
	انحراف معیار ± میانگین مقدارگروه های تیول پلاسما (میلی مولار)	انحراف معیار ± میانگین مقدارگروه های تیول پلاسما (میلی مولار)
کنترل (شاهد)	۰/۳۴ ±۰/۰۵	۰/۳۲ ±۰/۰۲
۱۰	۰/۴۱ ±۰/۰۴ *	۰/۳۱ ±۰/۰۲
۲۰	۰/۳۸ ±۰/۰۲	۰/۳۰ ±۰/۰۳
مقدار F	۵/۵۷۴	۰/۹۱۷
مقدار P	۰/۰۱۱	۰/۴۱۵

**** افزایش مقدار گروه‌های تیول نسبت به گروه شاهد (P<۰/۰۵)، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Duncan، P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار***

بحث

امروزه احتمال تماس انسان با نانولوله‌ها به دلیل کاربرد وسیع پزشکی و بیولوژیک بیشتر شده است. تماس انسان در حین تولید این مواد و یا در محیط زندگی سبب جذب ریوی یا دهانی آن‌ها و انتقال به اندام‌های مختلف نظیر کبد، طحال، مغز استخوان و قلب می‌شود. به ویژه واکنش و پاسخ‌های سلولی در برابر این مواد هنوز جای بحث دارد [۲۳]. در این تحقیق اثر نانولوله‌های کربنی چنددیواره عامل دار شده با گروه‌های کربوکسیل بر ایجاد فشارهای اکسیداتیو و عملکرد آنزیم‌های کبدی مورد مطالعه قرار گرفت.

در مطالعه حاضر، ۲۱ بار تزریق نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیلیک در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثر معنی‌داری بر افزایش میانگین وزن رت‌ها نداشت به طوری که افزایش وزن در تمام گروه‌ها به طور طبیعی بود. این نتایج با گزارش Sakamoto و همکاران و مطالعات Lim و همکاران در رابطه با عدم تغییر وزن موش‌ها پس از مواجهه با نانولوله‌های کربن چنددیواره مطابقت دارد [۲۵-۲۴]. ولی در مطالعه دیگری توسط Zhao و همکارش، نانولوله‌های کربن باعث کاهش وزن بدن در رت‌ها گردید [۲۶]. هم چنین در مطالعه Yang و همکاران، کاهش وزن رت‌ها فقط در سه روز اول تیمار مشاهده شد [۲۷]. تفاوت در نتایج پژوهش‌های مختلف ممکن است به مدن زمان تیمار، تفاوت در نوع نانولوله‌های کربن (SWCNT; single wall carbon nanotube = نانولوله‌های کربن تک دیواره) و هم‌چنین گروه‌های عاملی متفاوت (الیگونوکلئوتید) مربوط باشد [۲۸]. این محققین دلایل احتمالی کاهش وزن را تغییر در عملکرد گلبول‌های قرمز به علت حضور نانولوله‌های کربن در گردش خون، آگلومره شدن نانولوله‌های کربن در مسیرهای هوایی بدن، ایجاد پاسخ‌های التهابی و استرس موقت ناشی از تزریق نانولوله‌های کربن می‌دانند [۲۸-۲۶].

در اولین خون‌گیری، فعالیت آنزیم LDH در دوز ۲۰

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌دار و مقدار گروه‌های تیول پلاسما در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار نشان داد. در حالی که در فعالیت سایر آنزیم‌ها (ALP، ALT و AST) و هم چنین در مقدار مالون دی آلدئید تغییر معنی‌داری در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد دیده نشد. در دومین خون‌گیری، فعالیت آنزیم ALP و LDH در دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و فعالیت آنزیم ALT در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار داشت. مقدار مالون دی آلدئید نیز در هر دو دوز ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد و تغییری در غلظت گروه‌های تیول پلاسما مشاهده نشد. به نظر می‌رسد با گذشت زمان به مدت ۶ روز (۱۴۴ ساعت) از آخرین تزریق نانولوله‌های کربن، شدت تغییرات در فعالیت آنزیم‌ها و فشارهای اکسیداتیو بیشتر شده است. با توجه به مطالعات انجام شده توسط Muller و همکاران، تزریق نانولوله‌های کربنی چند دیواره غیر عامل دار باعث افزایش میزان آلکالن فسفاتاز در خون می‌شود [۲۹]. از آن جا که سلول‌های آلوئولار نوع Π مسئول ترشح این آنزیم هستند، ممکن است افزایش فعالیت ALP در سرم در اثر آسیب این سلول‌ها باشد [۲۷]. از طرفی نانولوله‌های کربن باعث افزایش مولکول‌های اکسیژن واکنش‌پذیر نظیر سوپراکسید شده و باعث افزایش اکسیداسیون مولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها می‌گردند که باعث مرگ سلولی می‌شوند [۳۰]. بنابراین در تحقیق حاضر احتمال می‌رود تخریب سلول‌های هپاتوسیتی در اثر رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط نانولوله‌های کربنی سبب آسیب غشایی در سلول‌ها شده و در میزان فعالیت آنزیمی‌تأثیر داشته است.

در مطالعه Bo و همکاران بر روی رده سلول‌های ماکروفاژ RAW264.7 موش و رده سلول‌های ریه A549 انسان، با غلظت‌های مختلف نانولوله‌های کربن چنددیواره DNA; Double strand nucleotid acid دار به قطر ۹/۵ نانومتر و طول کمتر از ۱ میکرومتر، افزایش فعالیت LDH مشاهده شد. آنزیم LDH یک آنزیم موجود در همه سلول‌های بافت‌های حیوانی، بیومارکر سمیت سلولی و نشان دهنده تخریب غشاء سلولی به دلیل افزایش فشارهای اکسیداتیو است [۳۱] که در مطالعه حاضر نیز تغییر معنی‌دار فعالیت این آنزیم در هر دو مرحله خون‌گیری مشاهده شد که ممکن است به دلیل نفوذ نانولوله‌های کربن در بافت‌های متعدد از جمله کبد، کلیه و عضلات باشد.

در مطالعات متعدد توسط محققین مختلف، علت اصلی سمیت نانولوله‌های کربن شبیه نانوذرات دیگر، استرس اکسیداتیو معرفی شده است که البته میزان و شدت آن به عوامل مختلفی نظیر دوز به کار رفته، ویژگی‌های نانولوله کربن، گروه‌های عاملی، تعداد دفعات تزریق و طول دوره تیمار بستگی دارد. به‌طوری که در گزارش Clichici و همکاران، افزایش استرس اکسیداتیو در اثر یک بار تزریق نانولوله‌های کربن چند لایه عامل دار با DNA به صورت یک الگوی ناپایدار و گذرا همراه بود و پس از گذشت ۱۴۴ ساعت از تزریق، پارامترهای بیوشیمیایی به حالت نرمال بازگشتند [۳۲]. ولی در

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

مطالعه حاضر با گذشت ۱۴۴ ساعت، اثرات سمی نانولوله‌های کربن عامل دار شده با گروه کربوکسیل شدت یافت. در مطالعات دیگر نیز تغییر معنی‌دار در میزان بیومارکرهای استرس اکسیداتیو مربوط به بافت کبد (کاتالاز، مالون دی آلدئید، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون) در اثر کاربرد نانولوله‌های کربن مشاهده گردید که هر یک از این فاکتورها ممکن است اثرات متفاوتی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی ایجاد کند. از طرفی اثرات مضر رادیکال‌های آزاد اکسیژن بر اکسیداسیون آمینواسیدها و پروتئین‌ها و یا کاهش سنتز و غیرفعال شدن بخشی از آنزیم‌ها [۳۳] نیز می‌تواند دلیلی بر کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی در مطالعه حاضر باشد. هم چنین وجود ناخالصی‌های فلزی در ساختار نانولوله‌های کربن سبب مهار فعالیت LDH می‌شود [۳۴].

با بررسی گزارش‌های متعدد در مورد سمیت نانولوله‌های کربن مشخص می‌شود که ظاهراً نوع گروه‌های عاملی نقش بسیار مهمی، همزمان در حلالیت و زیست سازگاری و یا اثرات سمی ایفاء می‌کنند. به طوری که در یک تحقیق، ۳ بار تزریق درون صفاقی نانولوله‌های کربن تک دیواره عامل دار شده با گروه‌های کربوکسیل پس از ۲۴ ساعت سبب افزایش معنی‌داری در پارامترهای خونی نظیر ALT، AST و ALP گردید [۳۵] که برخی محققین علت آن را نقش گروه‌های کربوکسیل در تغییر ساختار پروتئین‌ها و فعالیت آنزیمی‌مطرح کرده‌اند [۲۶]. در حالی که گروه‌های عاملی فسفوریل کولین بر سطح نانولوله‌های کربن چنددیواره در مطالعه Wang و همکاران با ۲۸ بار تزریق درون صفاقی، فقط سبب افزایش AST گردید و سایر آنزیم‌ها تغییری نشان نداد. در واقع گروه‌های فسفوریل کولین باعث افزایش انحلال پذیری نانولوله‌ها و هم چنین بهبود زیست سازگاری آن‌ها شده است [۳۶]. هم‌چنین طبق گزارش Guo و همکاران، تزریق داخل صفاقی نانولوله‌های کربنی چند دیواره عامل دار شده با گلوکز آمین در موش، پس از گذشت ۲۴ ساعت، هیچ علامتی از پاسخ‌های سمی‌حاد و شدید نشان نداد [۳۷] که با نتایج مرحله اول خون‌گیری (۲۴ ساعته) در مطالعه حاضر مطابقت دارد. با این حال گروه‌های کربوکسیل مورد استفاده در مطالعه حاضر اگرچه انحلال پذیری نانولوله‌ها را در حد قابل قبولی افزایش داده است اما ظاهراً نتوانسته نقش مثبتی در بهبود زیست سازگاری نانولوله‌ها ایفاء کند. البته با توجه به نتایج مطالعه Wang و همکاران در رابطه با دفع کلیوی و صفراوی نانولوله‌های کربن پس از ۲۶ روز از تیمار [۳۶]، ممکن است با گذشت زمان بیشتر از ۶ روز در مطالعه حاضر، ضمن دفع تدریجی نانولوله‌های کربن از بدن، سمیت آن‌ها نیز تا حد زیادی کاهش یابد.

در مطالعه حاضر با وجود استفاده از توبین و اولتراسونیک، باز هم مقداری از نانولوله‌های کربن پس از تزریق در بین احشاء و پرده صفاق باقی ماند که در زمان تشریح نمونه‌ها مشاهده شد. لازم است در تحقیقات بعدی برای تهیه محلول‌های هموژن و پایدار از نانولوله‌های کربن که امکان جذب بیشتری داشته باشند، مطالعه بیشتری صورت گیرد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیل دار حتی در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن پس از گذشت ۶ روز از تیمار، سبب افزایش معنی‌دار غلظت مالون دی آلدئید می‌شود که از شاخص‌های مهم استرس اکسیداتیو است و نشان دهنده تولید رادیکال‌های آزاد و فشار اکسیداتیو بیش از تحمل فیزیولوژیک بدن می‌باشد. هم چنین کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کبدی، اثر سمی این نانوذرات را بر این اندام نشان داد. اما با توجه به عدم تغییر وزن و عدم مرگ و میر در حیوانات و هم چنین عدم تغییر میزان گروه‌های تیول، به نظر می‌رسد تزریق نانولوله‌های کربن چنددیواره کربوکسیل دار در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سمیت ناچیزی بر کبد ایجاد می‌کند و ممکن است با گذشت زمان بیشتر از ۶ روز، اختلالات فوق نیز برطرف گردد که تأیید آن نیاز به انجام تحقیقات بیشتری در این زمینه دارد. توصیه می‌شود در تحقیقات آینده، زمان‌های بیشتر از ۶ روز پس از تزریق نانولوله‌های کربن با مشخصات مشابه در تحقیق حاضر و هم چنین سنجش میزان سایر فاکتورهای استرس اکسیداتیو (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون، پروکسیداز و غیره) نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان اصفهان انجام گرفته و بدین وسیله از مسئولین محترم این مرکز قدردانی می گردد. این پژوهش حاصل پایان نامه دانشجویی است و کلیه هزینه‌ها توسط دانشجو پرداخت گردید.

References

[1] Eatemadi A, Daraee H, Karimkhanloo H, Kouhi M, Zarghami N, Akbarzadeh A, et al. Carbon nanotubes: properties, synthesis, purification, and medical applications. *Nanoscale Res Lett* 2014; 9(1): 1-13.

[2] Yomogida Y , Tanaka T , Zhang M, Yudasaka M, Wei X, Kataura H. Industrial-scale separation of high-purity single-chirality single-wall carbon nanotubes for biological imaging. *Nat Commun* 2016; 7(12056): 1-8.

[3] Lehman JH, Terrones M, Mansfield E, Hurst KE, Meunier V. Evaluating the characteristics of multiwall carbon nanotubes. *Carbon* 2011; 49(8): 2581 –602.

[4] He H, Pham-Huy LA, Dramou P, Xiao D, Zuo P, Pham-Huy C. Carbon Nanotubes: Applications in Pharmacy and Medicine. *BioMed Res Int* 2013; 2013: 1-12.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

[5] De Volder MFL, Tawfick SH, Baughman RH, Hart AJ. Carbon Nanotubes: Present and Future Commercial Applications. *Science* 2013; 339(6119): 535-9.

[6] Ge C, Du J, Zhao L, Wang L, Liu Y, Li D, et al. Binding of blood proteins to carbon nanotubes reduces cytotoxicity. *PNAS* 2011; 108(41): 16968-73.

[7] Meng D, Erol M, Boccaccini A. Processing technologies for 3D nanostructured tissue engineering scaffolds. *Adv Eng Mater* 2010; 12(9): 467–87.

[8] Veetil J, Ye K. Tailored carbon nanotubes for tissue engineering applications. *Biotechnol Prog* 2009; 25(3): 709–21.

[9] Edwards SL, Church JS, Werkmeister JA, Ramshaw JAM. Tubular microscale multiwalled carbon nanotube-based scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 2009; 30(9): 1725–31.

[10] Robinson JT, Welsher K, Tabakman SM, Sherlock SP, Wang H, Luong R, et al. High performance in vivo near-IR (> 1 m) imaging and photothermal cancer therapy with carbon nanotubes. *Nano Res* 2010; 3(11): 779–93.

[11] Wang L, Stueckle TA, Mishra A, Derk R, Meighan T, Castranova V, et al. Neoplastic-like transformation effect of single-walled and multiwalled carbon nanotubes compared to asbestos on human lung small airway epithelial cells. *Nanotoxicology* 2014; 8(5): 485–507.

[12] Alazzam A, Mfoumou E, Stiharu I, Kassab A, Darnel A, Yasmeen A, et al. Identification of deregulated genes by single wall carbon-nanotubes in human normal bronchial epithelial cells. Nanomedicine**:** NBM 2010; 6(4): 563-9.

[13] Chen D, Stueckle TA, Luanpitpong S, Rojanasakul Y, Lu Y, Wang L. Gene expression profile of human lung epithelial cells chronically exposed to single-walled carbon nanotubes. *Nanoscale Res Lett* 2015; 10(12): 1-12.

[14] Liu J, Legros S, Ma G, Veinot JGC, Kammer F, Hofmann T. Influence of surface functionalization and particle size on the aggregation kinetics of engineered nanoparticles. *Chemosphere* 2012; 87(8): 918-24.

[15] Teramura Y, Kuroyama K, Takai M. Influence of molecular weight of PEG chain on interaction between streptavidin and biotin–PEG-conjugated phospholipids studied with QCM-D. *Acta Biomater* 2016; 30(15): 135-43.

[16] Dayem AA, Hossain MK, Soo Bin Lee SB, Kim K, Saha SK, Yang G, et al. The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. *Int J Mol Sci* 2017; 18(1): 1-21.

[17] Vlastou E, Gazouli M, Ploussi A, Platoni K, Efstathopoulos EP. Nanoparticles: nanotoxicity aspects. *J Phys Conf Ser* 2017; 931(17): 1-6.

[18] Sweeney S, Berhanu D, Misra SK, Thorley AJ, Valsami-Jones E, Tetley TD. Multi-walled carbon

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

nanotube length as a critical determinant of bioreactivity with primary human pulmonary alveolar cells. *Carbon N Y* 2015; 78(10): 26–37.

[19] Czarny B, Georgin D, Berthon F, Plastow G, Pinault M, Patriarche G, et al. Carbon Nanotube Translocation to Distant Organs after Pulmonary Exposure: Insights from in Situ 14C-Radiolabeling and Tissue Radioimaging. *ACS Nano* 2014; 8(6): 5715–24.

[20] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; 16(2): 109-10.

[21] Morimoto Y, Hirohashi M, Ogami A, Oyabu T, Myojo T, Todoroki M, et al. Pulmonary toxicity of well-dispersed multi-wall carbon nanotubes following inhalation and intratracheal instillation. *Nanotoxicology* 2011; 6(6): 587-99.

[22] Noori A, Amiri GhR, Taj B, Nasr M, Taj S, Valiyani A. The effect of magnetic iron oxide nanoparticles on mice liver and kidney. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2012; 19(3): 243-52.

[23] Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005; 113(7): 823-39.

[24] Sakamoto Y, Nakae D, Fukumori N, Tayama K, Maekawa A, Imai K, et al. Induction of mesothelioma by a single intrascrotal administration of multiwall carbon nanotube in intact male Fischer 344 rats. *J Toxicol Sci* 2009; 34(1): 65-76.

[25] Lim JH, Kim SH, Shin IS, Park NH, Moon C, Kang SS, et al. Maternal exposure to multi wall carbon nanotubes does not induce embryo-fetal developmental toxicity in rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2011; 92(1): 69-76.

[26] Zhao X, Liu R. Recent progress and perspectives on the toxicity of carbon nanotubes at organism, organ, cell, and biomacromolecule levels. *Environ Int* 2012; 40(16): 244–56.

[27] Yang ST, Wang X, Jia G, Gu Y, Wang T, Nie H, et al. Long term accumulation and low toxicity of single-walled carbon nanotubes in intravenously exposed mice. *Toxicol Lett* 2008; 181(3): 182–9.

[28] Zannotti M, Giovannetti R, D'Amato CA, Rommozzi E. Spectroscopic studies of porphyrin functionalized multiwalled carbon nanotubes and their interaction with TiO2 nanoparticles surface. *Spectrochim. Acta A* 2016; 153(16): 22-9.

[29] Muller J, Huaux F, Moreau N, Misson P, Heilier JF, Delos M, et al. Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 207(3): 221-31.

[30] Chen Z, Zhang A, Wang X, Zhu J, Fan Y, Yu H, et al. The Advances of Carbon Nanotubes in Cancer Diagnostics and Therapeutics. *J Nanomater* 2017; 2017(34): 1-13.

[31] Bo CH, Ying L, Ming SW, Yasuhiko H, Cheng DX, Hua LW. Invitro evaluation of cytotoxicity and oxidative stress induced by multiwalled carbon nanotubes in murine RAW 264.7 macrophages and

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

human A549 lung cells. *Biomed Environ Sci* 2011; 24(6): 593- 601.

[32] Clichici S, Biris AR, Tabaran F, Filip A. Transient oxidative stress and inflammation after intraperitoneal administration of multiwalled carbon nanotubes functionalized with single strand DNA in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 259: 281-92.

[33] Qu R, Wang X, Wang Z, Wei Z, Wang L. Metal accumulation and antioxidant defenses in the freshwater fish *Carassius auratus* in response to single and combined exposure to cadmium and hydroxylated multi-walled carbon nanotubes. *J Hazard Mater* 2014; 275(51): 89–98.

[34] Orynbayeva Z, Singhal R, Vitol EA, Schrlau MG, Papazoglou E, Friedman G, et al. Physiological validation of cell health upon probing with carbon nanotube endoscope and its benefit for single-cell interrogation. *Nanomedicine* 2012; 8(5): 590-8.

[35] Liu Z, Davis C, Cai W, He L, Chen X, Dai H. Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by raman spectroscopy. *PNAS* 2008; 105(5): 1410-5.

[36] Wang H, Wang J, Deng X, Sun H, Shi Z, Gu Z, et al. Biodistribution of carbon single-wall carbon nanotubes in mice. *J Nanosci Nanotech* 2004; 4(8): 1019-24.

[37] Guo YY, Zhang J, Zheng YF, Yang J, Zhu X. Cytotoxic and genotoxic effects of multi-wall carbon nanotubes on human umbilical vein endothelial cells in vitro. *Mutat Res* 2011; 721(2): 184-91.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]

The Study of Oxidative Stress Parameters and Liver Enzymes in Exposure to Multi-Wall Carbon Nanotubes in Rats

V. Nasajpour[1], A. Noori[2], H. Naieri[3]

Received: 20/01/2018 Sent for Revision: 22/04/2018 Received Revised Manuscript: 28/05/2018 Accepted: 30/05/2018

Background and Objectives: The proprietary of carbon nanotubes may cause harmful effects on the environment. In the present study, the effects of these nanoparticles on oxidative stress and liver function impairment in Wistar rats were investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, the multi-wall carbon nanotubes functionalized with carboxylic groups were injected to Wistar rats in 4 treatment groups (doses of 10 and 20 mg/kg/bw with two different blood sampling times) and control groups received physiological saline. Blood sampling was done in two stages, 24 hours and 144 hours after the last injection. Then, the activity levels of ALP (Alkaline phosphatase), ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate aminotransferase), LDH (Lactate dehydrogenase) enzymes, and malondialdehyde and plasma thiol levels were measured. Data were analyzed using one-way ANOVA and Duncan post hoc test.

Results: In the first blood collection, LDH activity at the dose of 20 mg/kg and the amount of thiol groups at the dose of 10 mg/kg increased (p=0.006) and decreased (p=0.011) significantly than other groups, respectively. In the second blood collection, the activity levels of the ALP (p=0.020) and LDH (p=0.007) at a dose of 20 mg/kg and the activity levels of the ALT (p=0.033) at a dose of 10 mg/kg decreased significantly compared to the control group. The amount of malondialdehyde was significantly increased (p=0.023) at either doses of 10 and 20 mg/kg compared to the control group.

Conclusion: Probably, carboxylic multi-wall carbon nanotubes, even at low doses, after 6 days of the last injection, causes disturbances in liver function by producing free radicals and oxidative stress.

Key words: Multi-wall carbon nanotubes, Oxidative stress, Liver enzymes, Rat

Funding: This study was funded by student fees.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Islamic Azad University of Falavarjan approved the study (IR.IAUFALA.2039508230009).

How to cite this article: Nasajpour V, Noori-A, Naieri H. The Study of Oxidative Stress Parameters and Liver Enzymes in Exposure to Multi-Wall Carbon Nanotubes in Rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2018; 17 (5): 447-460. [Farsi]

1- MSc in Biochemistry, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran, ORCID: 0000-0003-0032-9872.
2- Assistant Prof., Dept. of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran, ORCID: 0000-0003-3083-6602. (Corresponding Author) Tel:(031)37430135, Fax:(031) 37420145, E-mail: ali.noori55@gmail.com
3- Assistant Prof., Dept. of Biochemistry, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran, ORCID: 0000-0001-8877-5916.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.5.4.1]