

تأثیر درمان موضعی زخم‌های پوستی با نانوذرات نقره، بر روی آنزیم‌های ALT و AST کبدی و مقدار هموگلوبین در موش سفید آزمایشگاهی

دکتر محمد سعید حیدرنژاد^۱، پریسا یارمحمدی سامانی^۲، دکتر محسن مبینی دهکردی^۳، سمیرا رهنما^۴

نویسنده‌ی مسوول: شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم، گروه فیزیولوژی جانوری P_yarmohamadi@yahoo.com

دریافت: ۹۱/۱۱/۱۲ پذیرش: ۹۲/۲/۹

چکیده

زمینه و هدف: مدت‌هاست که نانوذرات نقره برای درمان زخم‌های حاد و مزمن استفاده می‌شود، اما بررسی سمیت این ماده کمتر مورد توجه واقع شده است. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر مسمومیت احتمالی نانو ذرات نقره به‌کار رفته برای ترمیم زخم، با استفاده از تعیین سطح آنزیم‌های کبدی و هموگلوبین بود.

روش بررسی: ۵۰ سر موش سوری نژاد بالب سی (Balb/c) در حدود ۸ هفته (با وزن 24 ± 3 گرم) به‌طور تصادفی در ۲ گروه ۲۵ تایی (گروه کنترل و تیمار) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از ایجاد زخم یکسان در همه حیوانات، سطح زخم در گروه تیمار با ۵۰ میکرولیتر محلول نانونقره (10 ppm) و در گروه کنترل، با همان مقدار آب مقطر تیمار شد. این آزمایش به مدت ۲۱ روز ادامه یافت. در روزهای ۲، ۷، ۱۴ و ۲۱، غلظت سرمی آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و مقدار هموگلوبین، مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در این مطالعه، آنالیز آماری توسط آزمون t مستقل انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که سطح ALT و AST و هموگلوبین، بین گروه کنترل و تیمار تفاوت معنی داری نداشت.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که درمان زخم با نانوذرات نقره احتمالاً اثرات سمی بر روی هموگلوبین و عملکرد کبد در موش سفید آزمایشگاهی با تعیین سطح سرمی آنزیم‌های ALT و AST ایجاد نمی‌کند.

واژگان کلیدی: ترمیم زخم، نانوذرات نقره، ALT، AST، هموگلوبین

مقدمه

نقره فلزی، از لحاظ تاریخی در همه‌ی تمدن‌ها به‌طور گسترده، برای اهداف مختلف استفاده می‌شده است (۱)، که اهمیت آن به علت فعالیت‌های ضد میکروبی گسترده می‌باشد (۲). همچنین نانو نقره نیز به علت این خواص، به یکی از گسترده‌ترین نانو مواد به‌کار رفته در محصولات مصرفی تبدیل شده است (۱). با توجه به اینکه نقره در محدوده‌ی نانومتر

خواص ضد باکتری و ضد قارچی بیشتری دارد (۳) و به خوبی مشخص شده است که یون‌های نقره و ترکیبات دارای نقره برای میکروارگانسیم‌ها سمی هستند (۴)، پس استفاده از این نانوذرات برای درمان عفونت زخم‌های سوختگی توسعه پیدا کرده است (۵). اما سمیت پوستی احتمالی نانوذرات نقره باعث نگرانی شده است (۶). البته نوع سمیت تولید شده

۱- دکترای تخصصی جانورشناسی، استادیار دانشگاه شهرکرد

۲- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه شهرکرد

۳- دکترای تخصصی میکروبیولوژی، استادیار دانشگاه شهرکرد

توسط نانوذرات، به ویژگی‌ها و مسیر ورود آن‌ها به داخل سیستم زنده بستگی دارد (۷) و نانوذرات، با قطر و غلظت متفاوت دارای توزیع و اثر متفاوت در بافت‌های بدن می‌باشند (۸). پس یکی از ویژگی‌های مهم نانوذرات، برای تعیین انتشار آن‌ها در شرایط زنده، سرنوشت بیولوژیکی، مسمومیت و توانایی هدف قرار دادن آن‌ها، اندازه آن‌ها می‌باشد (۵). هر چه قطر نانوذرات کوچک تر باشد، نفوذ آن‌ها به سلول‌ها و اثرات مولکولی آن‌ها بر ساز و کارهای داخل سلول افزایش می‌یابد (۹ و ۱۰) که در مطالعه‌ی فوکوآ و همکاران نیز این موضوع به اثبات رسیده است (۱۱). نانوذرات نقره با قطر بسیار کوچک خود، ممکن است بعد از اینکه جذب پوست شدند، بر روی بافت‌های مختلف بدن مانند مغز، کلیه و کبد اثر بگذارند (۱۲). البته ورود این نانوذرات به این اندام‌ها نیز گزارش شده است (۱۳). در میان این بافت‌ها، ظاهراً کبد، به علت سطح بالای پروتئین‌های غنی از تیول مانند گلوتاتیون می‌تواند نقره را در خود ذخیره کند (۱۴) و عمده‌تأ نانوذرات نقره وارد شده به گردش خون در آن انباشته می‌شوند (۱۵). در یک مطالعه بعد از تزریق درون وریدی نانوذرات نقره، متوجه شدند که نقره به طور عمده در کبد و طحال انباشته می‌شود (۱۶). گزارش شده است که برخی از نانوذرات با تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، سمیت ایجاد می‌کنند و باعث آسیب درون سلولی می‌شوند (۷). در تحقیقی که در سال ۲۰۰۵، بر روی اثر نانوذرات نقره، با اندازه و غلظت‌های مختلف، بر روی سلول‌های کبدی موش صحرایی، صورت گرفت مشخص شد که این نانوذرات با کاهش قابل توجهی از آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون، کاهش عملکرد میتوکندری و افزایش ROS سبب سمیت سلولی می‌گردند (۱۰). مطالعات اخیر نیز نشان می‌دهند که تجمع نانوذرات نقره در کبد می‌تواند سمیت سلولی را از طریق آسیب اکسیداتیو سلولی القا نماید (۱۷). مطالعات نشان می‌دهند که نانوذرات نقره موجود در پمادهای

حاوی نانوذرات نقره بعد از وارد شده به جریان خون (۱۸) می‌توانند با پروتئین‌های پلاسما و سلول‌های خونی از جمله گلبول‌های قرمز ارتباط برقرار کنند (۱۲). همچنین گزارش شده است که نانوذرات نقره می‌توانند سبب آسیب غشای گلبول‌های قرمز انسان از جمله همولیز، انتشار پتاسیم به خارج، نشت پروتئین، تغییر شکل سلول و شکنندگی غشا شوند (۱۹) که در صورت آسیب دیدن غشا گلبول‌های قرمز، ممکن است همولیز رخ دهد و هموگلوبین آزاد شود (۲۰). پس با توجه به اهمیت بررسی سمیت نانو ذرات نقره، به دلیل کاربرد فراوان آن به‌خصوص جهت درمان زخم‌های مختلف، در مطالعه‌ی حاضر بعد از مجاورت زخم‌ها با دوز مشخصی از نانوذرات نقره، اثر این ذرات بر روی میزان آنزیم‌های کبدی و مقدار هموگلوبین خون مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

تهیه و آماده سازی محلول نانونقره: نانوذرات نقره‌ی مصرفی به صورت کلئیدی ppm ۴۰۰۰ با اندازه‌ی کمتر از ۳۰ نانومتر و ساخت شرکت نانوایزر پارس می‌باشد. به علت اینکه نانوذرات نقره دارای اثر باکتری‌کشی قوی در محدوده غلظت ۱۰ تا ۵۰ ppm می‌باشند (۲۱). پس در این مطالعه از غلظت ۱۰ ppm به علت اثر بیشتر بر روی باکتری‌های زخم استفاده شد و برای تیمار حیوانات محلول ppm ۱۰ با رقیق سازی توسط آب مقطر تهیه شد.

حیوانات مورد آزمایش: در این مطالعه‌ی تجربی، ۵۰ سر موش سفید سوری نژاد بальب سی (Balb/c) با وزن ۲۴/۲±۳ گرم، تهیه شده از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، در قفس‌های مناسب در خانه‌ی حیوانات در شرایط دمایی و رطوبت مناسب و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. تغذیه‌ی حیوانات از طریق پلیت‌های مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت و در این مدت آب کافی در دسترس حیوانات قرار داشت.

صورت گرفت و پس از خون‌گیری هر نمونه به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید تا سرم از لخته جدا شود. سپس غلظت سرمی آنزیم‌های AST، ALT با استفاده از کیت پارس آزمون تعیین گردید. همچنین نمونه‌هایی به صورت خون کامل تهیه شد و مقدار هموگلوبین توسط دستگاه آنالایزر هماتولوژی (سل کانتر) ساخت کمپانی *sysmex* مدل *KX-21N* اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری: تمامی داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد (Standard Deviation) نمایش داده شدند. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون T مستقل استفاده گردید. سطح $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بعد از تهیه‌ی سرم و تشخیص آزمایشگاهی، غلظت آنزیم‌های ترانس آمیناز مشخص گردید، که بر اساس آزمون T تفاوت معنی‌داری میان آنزیم‌های AST و ALT در گروه تیمار و گروه کنترل در روزهای دوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم وجود نداشت ($P > 0.05$) (شکل ۲ و ۱). بر اساس آزمون T، مقدار هموگلوبین در روزهای دوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم در گروه‌های کنترل و تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

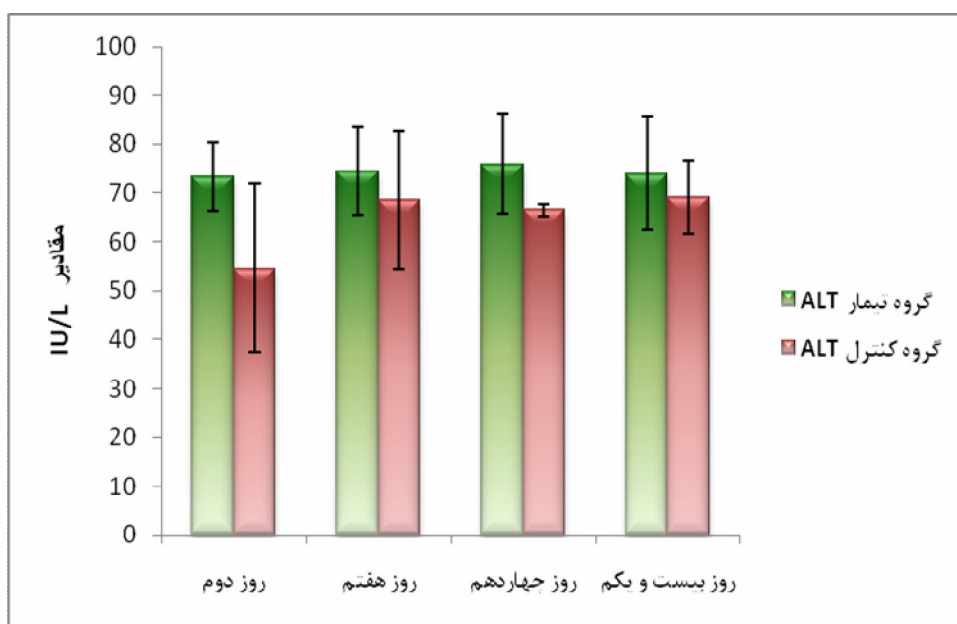
ایجاد زخم و تیمار حیوانات: برای ایجاد زخم، حیوانات را با ماده‌ی بی‌هوشی که ترکیبی از داروهای کتامین، آسپارامازین، دیازپام و زایلازین می‌باشد، به مقدار کمتر از ۰/۰۱ میلی‌لیتر به کمک سرنگ انسولین با تزریق عضلانی بی‌هوش کرده، پس از تراشیدن موهای سطح پشتی حیوان در سطح 2×2 سانتی‌متر مربع در نزدیکی ستون فقرات و ضدعفونی کردن، به کمک مهر و استامپ در قسمت تراشیده شده، دایره‌ای به قطر 10 ± 2 میلی‌متر علامت زده شد سپس با پنس پوست بلند با قیچی بریده شد. حیوانات به صورت تصادفی در دو گروه ۲۵ تایی قرار داده شدند. حیوانات گروه کنترل، از روز بعد از ایجاد زخم تا روز چهاردهم به‌طور موضعی یک بار در صبح هر روز میزان ۵۰ میکرولیتر آب مقطر بر روی زخم آن‌ها به‌وسیله‌ی سمپلر ریخته شد و در گروه تیمار، میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول 10 ppm نانوذرات نقره بر روی زخم آن‌ها به‌وسیله‌ی 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.

خون‌گیری و بررسی فاکتورهای خونی: پس از گذشت ۲، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز، از هر گروه شش حیوان به‌طور تصادفی انتخاب شد و تحت بیهوشی مختصری با ماده بیهوشی ذکر شده قرار گرفتند و به‌طور مستقیم از قلب آن‌ها خون‌گیری

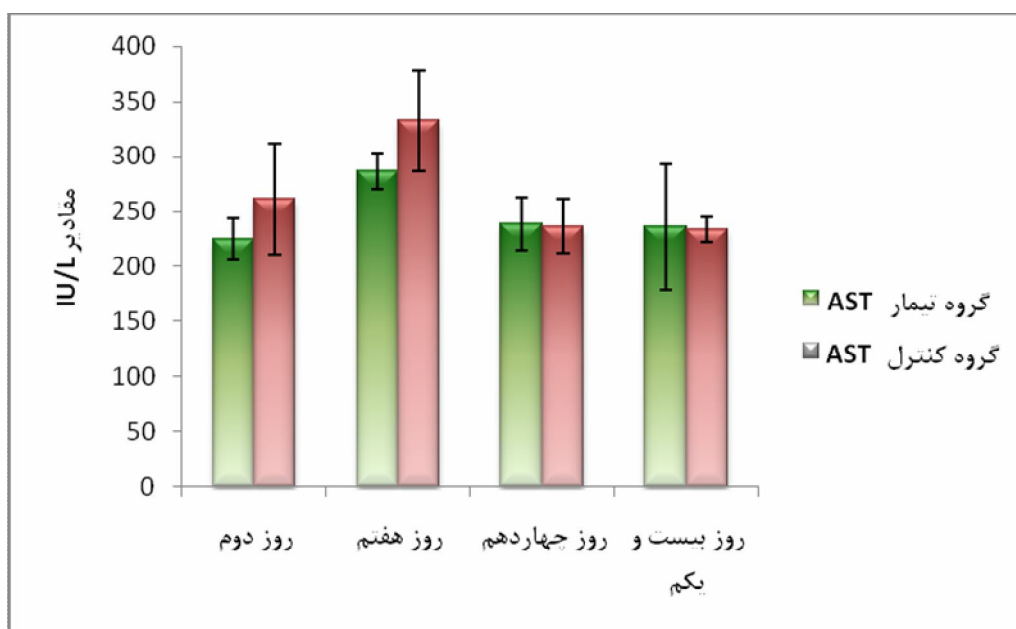
جدول ۱: مقدار هموگلوبین در روزهای دوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم در گروه‌های کنترل و تیمار

گروه‌ها	روز دوم	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
کنترل	$0.32 \pm 11/7$	$0.16 \pm 11/5$	$0.54 \pm 10/66$	$1/81 \pm 10/06$
تیمار	$0.59 \pm 11/35$	$0.08 \pm 12/1$	$0.53 \pm 10/42$	$0.28 \pm 10/15$

هر داده نشانگر میانگین $\pm$ انحراف استاندارد است و واحد اندازه‌گیری بر اساس g/dl می‌باشد. بر اساس آزمون T، تغییر معنی‌داری در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۱: تغییرات آنزیم ALT در گروه های کنترل و بیمار در روزهای دوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم. هر داده نشانگر میانگین $\pm$ انحراف استاندارد است و بر اساس آزمون T ، تغییر معنی داری در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۲: تغییرات آنزیم AST در گروه های کنترل و بیمار در روزهای دوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم. هر داده نشانگر میانگین $\pm$ انحراف استاندارد است و بر اساس آزمون T ، تغییر معنی داری در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($P > 0.05$).

بحث

در این مطالعه غلظت مشخصی از نانوذرات نقره جهت ترمیم زخم به کار برده شد و با توجه به اینکه بر اساس مطالعات زیادی اثر نانوذرات نقره در سرعت ترمیم زخم به اثبات رسیده است (۲۲-۲۴) پس تنها سمیت این نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که تغییر قابل توجهی در مقدار آنزیم‌های کبدی (ALT و AST) و مقدار هموگلوبین خون، در روزهای دوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم در گروه تیمار صورت نگرفته است.

زمانی که از پمادهای زخم حاوی نانو ذرات نقره برای زخم‌های پوستی استفاده می‌شود، می‌توان انتظار داشت که نانوذرات راحت‌تر به درون بدن وارد شوند. در واقع نقره‌ای که به داخل بستر زخم نفوذ کرده است توسط سلول‌های اپی درمال حاشیه‌ی زخم جذب می‌شود و در باقیمانده‌های زخم تجمع پیدا کرده و سپس به داخل گردش خون محیطی وارد شده و در کبد و کلیه رسوب می‌کند (۲۵). کورانی و همکاران (۲۰۱۱) سمیت نانوذرات نقره کلوییدی در اندازه‌ی کمتر از ۱۰۰ نانومتر را با تزریق زیر پوستی غلظت‌های مختلف آن در حالت حاد و تحت مزمن بر روی خوکچه‌ی هندی بررسی کردند و گزارش دادند که این نانوذرات در دراز مدت و بر اساس وابستگی به میزان دوز، موجب تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد جانوران خواهند شد (۱) کوهی و همکاران نیز پس از بررسی سمیت احتمالی نانوذرات نقره جذب شده از طریق پوست خرگوش، تغییرات هیستوپاتولوژیک در اندام‌هایی مانند کبد را در حیواناتی که به مدت ۴ ساعت در معرض نانوذرات نقره کوچکتر (با اندازه‌های ۱۰ و ۲۰ نانومتر) قرار گرفته بودند، مشاهده کردند (۲۶). البته در مطالعه‌ی حاضر پارامترهای شاخص عملکردی کبد مورد بررسی قرار گرفته است و لازم به ذکر

است که اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون (۲۷، ۲۸) و استفاده از چندین آزمون بیوشیمیایی می‌باشد. مهم‌ترین این آزمون‌ها، تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز (ALT و AST) می‌باشد (۲۹). در شرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند، اما با آسیب دیدن کبد، این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند (۲۷ و ۲۸). مطالعات نشان می‌دهد که رادیکال‌های آزاد ناشی از نانوذرات نقره نیز می‌توانند به سلول‌های کبدی حمله نموده و باعث آزاد شدن ALT ذخیره‌ای در آن‌ها و ورود آن‌ها به داخل سرم شوند (۹). پس در تحقیق حاضر احتمالاً به علت اینکه پوست زخمی حیوانات در مدت زمان کم، در معرض مقدار کمی از نانوذرات نقره، قرار داده شده است، تغییر معنی‌داری در مقدار آنزیم‌های کبدی گروه تیمار نسبت به کنترل مشاهده نشده است. البته در مطالعات بعدی می‌توان بافت کبد را نیز مورد بررسی قرار داد. مطالعات دیگری نیز به بررسی اثرات سمی نانوذرات نقره پرداخته اند. اما اکثر این مطالعات به بررسی سمیت احتمالی ایجاد شده بعد از مصرف خوراکی (۳۰) یا استنشاق این نانوذرات (۳۱) پرداخته‌اند. در مطالعه‌ی هندی در سال ۲۰۱۱ اثر مصرف خوراکی نانوذرات نقره با دوز ۵ گرم در کیلوگرم، بر روی بهبود زخم موش‌های صحرایی و همچنین سمیت آن، در ارتباط با کبد مورد بررسی قرار گرفت که این محقق با اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی و فاکتورهای شیمیایی متوجه شد که نانوذرات نقره بدون هیچ علامت مسمومیتی، بهبود زخم را سرعت می‌بخشند (۳۲). در مطالعه‌ای دیگر نیز با مصرف خوراکی نانوذرات نقره با دوز ۵۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، تفاوت معنی‌داری در آنزیم‌های ALT و AST و مقدار هموگلوبین موش‌ها، مشاهده نگردید (۳۳). در مطالعه‌ی کیم و همکاران (۲۰۰۸) نیز با مصرف خوراکی ۲۸ روزه نانوذرات نقره (۳۴)، همچنین در مطالعه‌ی دیگری در سال

۲۰۱۰، بعد از مصرف خوراکی ۱۲۵ میلی گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره (با اندازه ۵۶ نانومتر) به مدت ۱۳ هفته (۹۰ روز)، تغییر معنی داری در مقدار هموگلوبین موش های صحرایی دیده نشد (۳۰). در مطالعه ی سانگ و همکاران (۲۰۰۹) بر روی مسمومیت مزمن ناشی از استنشاق نانوذرات نقره با دوزهای مختلف و در زمان های در معرض قرار گرفتن متفاوت، در موش های صحرایی نر و ماده، تفاوت وابسته به دوز در میزان هموگلوبین در گروه های مورد مطالعه مشاهده نشد (۳۵). نتایج این تحقیقات با مطالعه ی حاضر همخوانی دارند. البته در مطالعه ی تیواری و همکارانش در سال ۲۰۱۱، با بررسی آنزیم های عملکردی کبدی و پارامترهای خونی، بعد از تزریق درون وریدی غلظت های مختلفی از نانوذرات نقره، متوجه شدند که در غلظت های بیشتر از ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم، تغییرات قابل توجهی در پارامترهای خونی مانند مقدار هموگلوبین و در بیشترین غلظت (۴۰ میلی گرم در کیلوگرم) افزایش معنی داری در آنزیم های کبدی (ALT و AST) قابل مشاهده است (۳۶). جتتر و همکارانش اخیراً گزارش دادند که بعد از ورود غلظت های مختلفی از نانوذرات نقره (با اندازه ی ۲۵ نانومتر) به درون بینی موش های نر بالغ C57BL/6J، این نانوذرات در اندام های مختلفی از جمله طحال تجمع یافته و تخریب گلبول های قرمز، توسط ماکروفاژها را به طور خفیفی افزایش می دهند (۳۷). مشخص شده است که در محیط مایع، نانوذرات نقره به طور مداوم یون های نقره را آزاد می کنند (۳۸) و بر اساس فرضیه ی ویجهوون و همکاران، سمیت نقره عمدتاً به علت یون های نقره آزاد شده از سطح نانوذرات نقره می باشد (۳۹). همچنین مطالعات نشان می دهد که یون های نقره با غلظت های کم

می تواند در شرایط آزمایشگاهی سبب همولیز گلبول های قرمز شوند (۴۰). در سال ۲۰۱۱ در مطالعه ی چویی و همکاران مشخص شد که اندازه و مساحت سطح نانوذرات فاکتورهای مهمی هستند که بر روی همولیز گلبول های قرمز اثر می گذارند و نانوذرات نقره نسبت به ذراتی با اندازه میکرو به طور معنی داری یون های نقره بیشتری آزاد می کنند که سبب افزایش همولیز می گردد (۴۱). البته برخی مطالعات نیز عملکرد نانوذرات نقره را، علت سمیت ایجاد شده می دانند. به طوری که در مطالعه ی کیم و همکاران بر روی سمیت القاء شده توسط نانوذرات نقره در سلول های توموری کبد انسان (HepG2)، مشاهده شد که نانوذرات نقره انباشته شده در سیتوپلاسم و هسته سلول های تیمار شده، سبب استرس اکسیداتیو داخل سلولی می شوند که مستقل از سمیت یون های نقره می باشد (۴۲ و ۱۷). همچنین مشخص شده است که ترکیبی از نانوذرات نقره و یون های نقره ممکن است به سمیت کمک نمایند (۴۳). پس علت نتیجه ی حاصل از مطالعه ی حاضر، احتمالاً ورود کمتر یون های نقره و یا نانوذرات نقره به داخل خون و اندام کبد می باشد.

نتیجه گیری

با توجه به یافته های مطالعه ی حاضر درمان زخم با نانوذراتی با این مشخصات و غلظت، احتمالاً بر روی عملکرد کبد و نیز گلبول های قرمز در موش سوری (موش سفید کوچک آزمایشگاهی) اثر سمی ندارند. البته با بررسی سطح نقره در خون و اندام ها و نیز بررسی بافت کبد می توان اثرات این نانوذرات را بهتر توجیه کرد، پس این موضوع تحقیقات بیشتری را می طلبد.

References

- 1- Korani M, Rezayat SM, Gilani K, ArbabiBidgoli S, Adeli S. Acute and subchronic

- dermal toxicity of nanosilver in guinea pig. *Int J Nanomedicine*. 2011; 6: 855-62.
- 2- 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.* 2008; 7: 75-80.
- 3- 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; 4: 28-35.
- 4- Song HY, Ko KK, Oh LH, Lee BT. Fabrication of silver nano-particles and their antimicrobial mechanisms. *J Eur Cells Mater.* 2006; 11: 58.
- 5- Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and genedelivery to cells and tissue. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003; 55: 329-47.
- 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: 310-8.
- 7- Rastogi ID. Nanotechnology: safety paradigms. *J Toxi- col Environ Health.* 2012; 4: 1-12.
- 8- Susan WP, Williw GM, Maaik VJ. Nanosilver- a review of avelable data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicol.* 2009; 3: 109-38.
- 9- Portney NG, Ozkan M. Nano-oncology: drug delivery, imaging, and sensing. *Anal Bioanal Chem.* 2006; 384: 620-30.
- 10- Hussain SM, Hess KL, Gearhart JM, Geiss KT, Schlager JJ. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro.* 2005; 19: 975-83.
- 11- Fukuoka A, Sakamoto Y, Guan S, et al. Novel templating synthesis of necklace shaped mono- and bimetallic nanowires in hybrid organic-inorganic mesoporous material. *J Am Chem Soc.* 2001; 123: 3373-4.
- 12- Pronk MEJ, Wijnhoven SWP, Bleeker EAJ, et al. Nanomaterials under REACH. Nanosilver as a case study. *RIVM report.* 2009.
- 13- Park EJ, Bae E, Yi J, et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2010; 30: 162-8.
- 14- Knetsch MLW, Koole LH. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. *Polymers.* 2011; 3: 340-66.
- 15- Takenaka S, Karg E, Roth C, et al. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats. *Environ Health Perspect.* 2001; 109: 547-51.
- 16- Lee Y, Kim P, Yoon J, et al. Serum kinetics, distribution and excretion of silver in rabbits following 28 days after a single intravenous injection of silver nanoparticles. *Nanotoxicol.* 2012; 1-11.
- 17- Kim S, Choi JE, Choi J, et al. Oxidative stress dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatomacells. *Toxicol In vitro.* 2009; 23: 1076-84.
- 18- 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: 648-52.
- 19- Kwon T, Woo HJ, Kim YH, et al. Optimizing hemocompatibility of surfactant-coated silver nanoparticles in human erythrocytes. *J Nanosci Nanotechnol*. 2012; 12: 6168-75.
- 20- Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA*. 2005; 293:1653-62.
- 21- Kvitek L, Vanickova M, Panacek A, et al. Initial study on the toxicity of silver nanoparticles (NPs) against paramecium caudatum. *J Phys Chem*. 2009; 113: 4296-300.
- 22- Furno F, Morley KS, Wong B, et al. Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection? *J Antimicrob Chemother*. 2004; 54: 1019-24.
- 23- Li Y, Leung P, Yao L, Song QW, Newton E. Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles. *J Hosp Infect*. 2006; 62: 58-63.
- 24- Tian J, Wong KKY, Ho CM, et al. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *Chem Med Chem*. 2007; 2: 129-136.
- 25- Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns*. 2007; 33: 139-48.
- 26- Koochi MK, Hejazy M, Asadi F, Asadian P. Assessment of dermal exposure and histopathologic changes of different sized nano-silver in healthy adult rabbits. *J Phys Conf Ser*. 2011; 304: 1-9.
- 27- Christoforidis GA, Frank JA, Lindau M, et al. Nanoparticles: potential biomarker harvesters. *Curr Opin Chem Biol*. 2006; 10: 56-61.
- 28- Moudgil BM, Roberts SM. Designing a strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part nano-interface in a microfluidic chip to probe living VI. Characterization of nanoscale particles for cells: challenges and perspectives. *Toxicol Sci USA*. 2006; 103: 6419-24.
- 29- Reitman S, Frankel SA. Colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin. Path*. 1957; 28: 59-63.
- 30- Kim YS, Song MY, Park JD, et al. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2010; 7: 20.
- 31- Stebounova L, Adamcakova-Dodd A, Kim J, et al. Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model. *Part Fibre Toxicol*. 2011; 8: 5.
- 32- Hendi A. Silver nanoparticles mediate differential responses in some of liver and kidney functions during skin wound healing. *J King Saud Uni*. 2011; 23: 47-52.
- 33- 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: 1417-23.
- 34- Kim YS, Kim JS, Cho HS, et al. Twenty eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles

- in sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol.* 2008; 20: 575-83.
- 35- Sung JH, Ji JH, Park JD, et al. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles. *Toxicol Sci.* 2009; 108: 452-61.
- 36- Tiwari DK, Jin T, Behari J. Dose-dependent in-vivo toxicity assessment of silver nanoparticle in wistar rats. *Toxicol Mech Methods.* 2011; 21: 13-24.
- 37- Genter MB, Newman NC, Shertzer HG, Ali SF, Bolon B. Distribution and systemic effects of intranasally administered 25 nm silver nanoparticles in adult mice. *Toxicol Pathol.* 2012; 40: 1004-13.
- 38- Lok C, Ho C, Chen R, et al. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem.* 2007; 12: 527-34.
- 39- Wijnhoven SWP, Peijnenburg WJGM, Herberts CA, et al. Nano-silver a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicol.* 2009; 3: 109-38.
- 40- Ballinger PM, Brown BS, Griffin MM, Steven FS. Evidence for carriage of silver by sulphadimidine: haemolysis of human erythrocytes. *Br J Pharmacol.* 1982; 77: 141-5.
- 41- Choi J, Reipa V, Hitchins VM, Goering PL, Malinauskas RA. Physicochemical characterization and in vitro hemolysis evaluation of silver nanoparticles. *Toxicol Sci.* 2011; 123: 133-43.
- 42- Kim JS, Kuk E, Yu KN. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine.* 2007; 3: 95-101.
- 43- Foldbjerg R, Olesen P, Hougaard M, Dang DA, Hoffmann HJ, Autrup H. PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. *Toxicol Lett.* 2009; 190: 156-62.

The influence of Topical Treatment of Dermal Wounds with Silver Nanoparticles on ALT and AST Enzymes and Hemoglobin in Mice (*Mus Musculus*)

Heydarnejad MS¹, Yarmohammadi-Samani P¹, Mobini- Dehkordi M¹, Rahnama S¹

¹Faculty of Sciences, University of Shahr-e-kord, Shahr-e-kord, Iran

Corresponding Author: Yarmohammadi-Samani P, Faculty of Sciences, University of Shahr-e-kord, Shahr-e-kord, Iran.

Email: P_yarmohamadi@yahoo.com

Received: 31 Jan 2013 **Accepted:** 29 Apr 2013

Background and Objective: Silver nanoparticles (Ag-NPs) have long been used to treat acute and chronic wounds. Very little attention has been paid to the toxicity of this nanoparticle. In this study, the possible toxicological effects of nanosilver particles, was assessed by determining the enzyme levels of liver along with hemoglobin over the period of skin wound healing in mice.

Materials and Methods: A group of 50 Balb/c mice of about 8 weeks (weighting 24.2±3.0 g) were randomly divided into two groups: Ag-NPs and control groups, each with 25 mice. After creating the equal wound on the back of all animals, the wound bed was treated in the Ag-NPs group with a volume of 50 microliters from the nanosilver solution (10ppm), and in the control group with the same amount of distilled water. The experiment lasted for 21 days. On days 2, 7, 14 and 21 of the experiment the serum concentrations of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and hemoglobin were measured. Statistical analysis was performed using independent t-test.

Results: Results showed that AST, ALT and hemoglobin levels were not significantly different between Ag-NPs and the control groups.

Conclusion: The study suggests that treatment of wounds with silver nanoparticles may not produce toxicological effects on hemoglobin and liver function in mice (*Mus musculus*) as indicated by measurment of serum levels of AST and ALT enzymes.

Keywords: Wound healing, Silver nanoparticles, ALT, AST, Hemoglobin