مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v14i2.2257

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات تزریق نانوذرات بیولوژیک نقره تولید شده توسط قارچ فوزاریوم به همراه دو نوع پیش‌آمادگی تمرینی بر تغییرات مورفولوژیک بافت مغز رت‌های نر ویستار

افروز متحدی[۱]، سیدجواد ضیاءالحق[*۲]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی- دانشکده علوم پایه- واحد شاهرود- دانشگاه آزاد اسلامی شاهرود- شاهرود- ایران.

۲- مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی- واحد شاهرود- دانشگاه آزاد اسلامی شاهرود- شاهرود- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۸، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۶/۴

چکیده

مقدمه: *امروزه تولید نانوذرات بیولوژیک به‌واسطه اثرگذاری بهتر در صنایع مختلف بسیار گسترش‌یافته است. اگرچه هنوز به‌طور کامل عوارض جانبی آنها بر بافت مغز مورد بررسی قرار نگرفته است. به‌علاوه از طریق اعمال محرک استرس‌زایی کمتر از آستانه آسیب به بافت (پیش‌آمادگی)، نظیر فعالیت بدنی، می‌توان مقاومت آن بافت را به محرک‌های آتی قدرتمندتر افزایش داد. لذا هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تزریق دوزهای بالای نانوذرات بیولوژیک به‌همراه دو نوع پیش‌آمادگی تمرینی متفاوت بر تغییرات ساختاری بافت مغز رت‌های نر ویستار بود.*

مواد و روش‌ها: *پژوهش بر روی ۳۰ رت نر نژاد ویستار در ۶ گروه که شامل کنترل سالم، نانو ذرات بیولوژیک نقره، پروتکل تمرین ۱ (هوازی)، پروتکل تمرین ۲ (بی‌هوازی)، نانو ذرات بیولوژیک نقره + پروتکل تمرین ۱، نانو ذرات بیولوژیک نقره + پروتکل تمرین ۲ بود، انجام شد. تزریق درون صفاقی نانو ذرات نقره پس از اجرای ۱۰ هفته پروتکل هوازی و بی‌هوازی به ازای ۱۰ درصد وزن بدن هر رت در ۵ نوبت انجام شد و پس از ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق، رت‌ها بی‌هوش شده و نمونه‌گیری صورت پذیرفت. سپس نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و توسط میکروسکوپ نوری عکس‌برداری و مورد مطالعه قرار گرفتند.*

نتایج: *نتایج پژوهش حاضر نشان داد ۱۰ هفته پیش‌آمادگی تمرین هوازی و بی‌هوازی به‌صورت معنی‌داری بر میزان مسافت طی شده در آزمون استقامتی پیشرونده بر روی تردمیل جوندگان ($P<۰/۰۰۰$) و وزن بدن رت‌های نر ($P<۰/۰۰۰$) اثرگذار بود. همچنین تزریق درون صفاقی نانوذرات بیولوژیک نقره با دوز بالا موجب التهاب و پرخونی خفیف سلول‌های عصبی بافت مغز در رت‌های بدون تمرین شد و ماده سفید و خاکستری سلول‌های عصبی تغییری نداشت. از طرفی در گروه‌های تمرینی التهاب و پرخونی تقلیل‌یافته بود و در گروه پیش‌آمادگی هوازی نسبت‌به بی‌هوازی این کاهش معنی‌دارتر بود.*

نتیجه‌گیری: *به‌نظر می‌رسد پیش‌آماده‌سازی تمرینی مخصوصاً هوازی می‌تواند در کاهش درجه تخریب بافت مغزی ناشی از تزریق نانو ذرات بیولوژیک نقره با دوز بالا مؤثر باشد.*

واژه‌های کلیدی: نانو ذرات بیولوژیک نقره، پروتکل تمرین هوازی، پروتکل تمرین بی‌هوازی، پیش‌آماده‌سازی، بافت مغز.

[*] **نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی، بیمارستان خاتم‌الانبیاء، دانشگاه آزاد اسلامی شاهرود، شاهرود واحد شاهرود، استان سمنان، **تلفن:** ۰۹۲۱۵۱۲۱۲۴۲، **نمابر:** ۰۲۳-۳۲۳۹۰۵۳۷، **Email:** Javadzia@gmail.com

ارجاع: متحدی افروز، ضیاءالحق سیدجواد. بررسی اثرات تزریق نانوذرات بیولوژیک نقره تولید شده توسط قارچ فوزاریوم به همراه دو نوع پیش‌آمادگی تمرینی بر تغییرات مورفولوژیک بافت مغز رت‌های نر ویستار. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۸؛۱۴(۲):۳-۱۴.

مقدمه

نانو ذرات نقره دارای خواص وسیعی هستند که به‌واسطه خاصیت آنتی‌باکتریالی آنها در تهیه غذا به‌طور عمده و بسیاری از محصولات مصرفی از این ماده استفاده می‌شود. همچنین اغلب از آنها برای درمان زخم‌ها و سوختگی‌ها استفاده می‌شود. در طول پیشرفت سریع نانو تکنولوژی کاربرد نانو ذرات نقره بیشترین توسعه را پیدا کرده است. در حال حاضر نقره یکی از رایج‌ترین نانو موادی است که در زمینه‌های مختلف مثل تصویربرداری، اهداف درمانی، ایمپلنت‌ها، ساخت وسایل جراحی و تهیه پارچه و لوازم ورزشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). در فناوری نانو، به‌دنبال کاهش اندازه و حجم ذرات، افزایش سطح آن‌ها صورت می‌گیرد و این موجب می‌شود که اتم‌های واقع در سطح بر خواص فیزیکی ذرات تأثیر بیشتری داشته باشند و واکنش‌پذیری نانو ذرات افزایش یابد. از طرف دیگر با افزایش سطح نانو ذرات، فشار سطحی نیز تغییر می‌کند و منجر به تغییر فاصله بین ذرات و یا فاصله بین اتم‌های ذرات می‌شود (۷-۶-۵). نانو ذرات نقره یک نام تجاری برای یون‌های خالص آب پوشیده و بسیار کوچک نقره در سوسپانسیون آن است اندازه این نانو ذرات ۵ تا ۵۰ نانومتر می‌باشد. اغلب نانو ذرات نقره از فلز نقره توسط باقیمانده‌های آن به اندازه یون تهیه می‌شود چرا که تمام قطعات کوچک نقره تهیه شده از سطح بخشی از فلز نقره در محلول آن به میزان زیادی ظهور پیدا می‌کند در نتیجه هر واحد آن با بالاترین امکان، اثرگذار خواهد بود (۸). در حال حاضر در سنتز نانوذرات از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و به‌ویژه زیستی استفاده می‌شود. در این میان به تولید زیستی نانوذرات توسط موجودات زنده توجه شده و به‌عنوان روشی سازگار با محیط زیست شناخته شده است. توانایی تولید نانو ذرات در موجودات پرسلولی مانند گیاهان تا موجودات تک سلولی مانند باکتری‌ها وجود دارد. سنتز میکروبی نانوذرات فلزی می‌تواند به‌صورت درون سلولی و یا برون سلولی انجام شود. سنتز نانوذرات به‌صورت داخل سلولی، به روش‌های مناسب برای تجزیه سلولی نیازمند است در صورتی‌که بیوسنتز با روش برون سلولی، ارزان‌تر و ساده‌تر است به همین دلیل در بسیاری از مطالعات، بیوسنتز نانوذرات به‌صورت برون سلولی انجام شده است، به‌طوری‌که محققین توانستند با استفاده از مایع رویی کشت باکتری‌های مختلف مانند اشتریشیاکلی و اسپوروسارسینا کرینسیس نانوذرات فلزی نقره و طلا را تولید کنند همچنین از مایع رویی کشت باسیلوس مگاتریوم برای تولید نانوذرات نقره به‌صورت برون سلولی بهره برده‌اند. به تازگی نشان داده شده است که علاوه‌بر باکتری‌ها و قارچ‌ها، نانو نقره توانایی از بین بردن ویروس‌های خطرناکی مثل ویروس نقص ایمنی انسان (Human Immunodeficiency Virus(HIV)) را دارا می‌باشد (۹). در تحقیقات اخیر که نانو ذرات نقره توسط قارچ فیوزاریم آکسیسپورم (Fusarium oxysporum) به روش احیای یون نقره و تجمع برون سلولی جمع‌آوری و بررسی شد بیان گردید که نانو ذرات تولید شده توسط قارچ قرار داده شده در اتو کلاو با وجود مردن و غیرفعال شدن بیشترین خواص آنتی‌باکتریال را بر روی سه نوع باکتری موجود در آزمایش اعمال نموده است (۱۰). بنابر تحقیق انجام شده نانوذرات نقرهٔ تولیدشده توسط باکتری‌ها با روش برون سلولی، دارای طیف اثر ضدمیکروبی گسترده بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی هستند. همچنین تأثیر نانوذرات تولیدشده بر میکروارگانیسم‌ها، وابسته‌به سویهٔ میکروبی تولیدکننده است. از طرفی سمیت نانو ذرات نقره می‌تواند به عوامل متعددی از جمله شکل، اندازه و مهم‌تر از همه مکانیسم این مواد وابسته باشد و با تغییر هر کدام از این فاکتورها میزان سمیت تغییر قابل توجهی پیدا خواهد کرد (۲ و ۳). در تحقیقات انجام شده بر روی مصرف نانو ذرات نقره به‌صورت استنشاقی در رت‌ها کاهش عملکرد شش‌ها، التهاب و تخریب آنها در طی ۹۰ روز دیده شده در صورتی که مصرف خوراکی نانو ذرات نقره با قطر ۶۰ نانو متر طی ۲۸ روز بر روی رت‌ها موجب تجمع این مواد در مغز و لب پیشانی شد (۱۴). بنابراین نانو ذرات نقره موجب مسمومیت‌های عصبی در انسان‌ها و حیوانات می‌شود. در واقع وظیفه سد خونی مغز بقای هموستاز مغز و ایجاد محیطی بی‌همتا برای مایع خارج سلولی سیستم اعصاب مرکزی است و قادر است تا ترکیبات آن را به‌طور بسیار دقیقی کنترل نماید (۴). باتوجه به اینکه بسیاری از مواد با مولکول‌های درشت نمی‌توانند از خون به مایع مغزی نخاعی یا به مایعات بینابینی مغز بروند و علت این نفوذپذیری اندک سد خونی- مایع مغزی نخاعی، سد- خونی مغز و روش اتصال سلول‌های آندوتلیال مویرگ‌ها به همدیگر می‌باشد. این سلول‌ها به‌وسیله اتصالاتی موصوم به اتصالات محکم به یکدیگر متصل می‌شوند به این معنا که غشاء آندوتلیال مجاور به جای اینکه مانند اکثر مویرگ‌های دیگر بدن منافذ شکافی گسترده‌ای بین خود داشته باشند به‌صورت محکم به یکدیگر جوش خورده‌اند (۱۱). وظیفه سد خونی مغز بقای هموستاز مغز و ایجاد محیط بی‌همتا برای مایع خارج سلولی سیستم اعصاب مرکزی است و قادر است تا ترکیبات آن را به‌طور بسیار دقیقی کنترل نماید.

از زمانی‌که موری و همکاران برای اولین بار مفهوم پیش‌آماده‌سازی (Pre conditioning) را مطرح کردند، مطالعات متعددی در این زمینه صورت گرفت که بیان می‌کردند القاء برخی شرایط می‌تواند مقاومت بافت‌ها و سلول‌های مختلف را تحت تأثیر قرار دهد. به‌طور کلی پیش‌آماده‌سازی به وضعیتی است که با القاء یک محرک استرس‌زا با شدت پایین‌تر از آستانه آسیب، موجب بروز سازگاری‌های متعددی از قبیل افزایش ظرفیت بافت در برابر آسیب‌های ثانویه و حتی کاهش میزان آسیب‌دیدگی بهنگام بروز محرک شدیدتر می‌باشد (۳۵-۳۴). اگرچه در ابتدا بسیاری از مطالعات بر روی سازگاری‌های قلبی-عروقی

متمرکز شده بود اما تا به امروز این مفهوم در مورد سایر اندام‌ها و بافت‌ها مخصوصاً بافت عصبی گسترش‌یافته است. پژوهش‌های متعددی فعالیت‌های بدنی را به‌عنوان عاملی استرس‌زا و بر هم زننده هموستاز مطرح می‌کنند که اثرات حادی بر شرایط فیزیولوژیک بدن در کوتاه مدت به همراه دارد اما زمانی که فعالیت بدنی به‌صورت مزمن و طولانی مدت انجام شود، حالت پایدار بدن و شرایط فیزیولوژیک بدن کاملاً ارتقاء پیدا کرده و شرایط جدیدی را تجربه می‌کند. این استرس مقطعی به‌عنوان یک حالت پیش‌آماده‌سازی با تحریک و حتی تخریب اولیه موجب افزایش مقاومت محیطی و سازگاری‌های مختلف می‌شود. اگرچه مطالعات متعدد شدت و مدت و نسخه متفاوتی را در این زمینه مطرح کرده‌اند اما تأثیر فارماکینتیک فعالیت بدنی غیرقابل انکار است (۱۲).

نوروتروفین‌ها خانواده‌ای از عوامل رشد هستند که اساساً به واسطه‌ی توانایی شان در حفاظت بقای عصبی شناسایی می‌شوند. علاوه بر حفاظت از بقای عصبی، شکل‌پذیری عصبی، حفظ و تمایز نورون‌ها و همچنین سرنوشت تقسیمات و مرگ سلول عصبی را نوروتروفین‌ها تنظیم می‌کنند. این عوامل رشدی به‌طور عمده فعالیت‌های دستگاه عصبی را شکل داده و دستگاه‌های عصبی محیطی و مرکزی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تمرین استقامتی و مقاومتی دایره‌ای باعث افزایش فاکتورهای نوروتروفیک می‌شود که ممکن است بدین طریق باعث ایجاد سازگاری‌های ساختاری و عملکردی در دستگاه عصبی شود (۱۳). همان‌طور که ذکر شد یکی از مهم‌ترین اثرات پیش‌آماده‌سازی، مربوط‌به سازگاری‌های عصبی ناشی از القاء محرک فعالیت بدنی است. از نظر تئوریک واحدهای عصبی–عروقی متشکل از ساختاری‌های متعددی از قبیل اندوتلیوم عروق ریز، آستروسیت‌ها، نورون‌ها و آکسون‌های آنها و ماتریکس برون سلولی و .... هستند که با بروز این محرک‌ها به شرایط جدید براساس بیان ژن‌های مختلف سازگار می‌شوند که در نهایت یکپارچگی این اجزاء در کنار سایر ساختارهای بافتی مانند لامینای پایه، پایک‌های انتهایی آستروسیت‌ها و نورون‌ها، ساختار حمایتی و نفوذپذیری مناسبی را برای سد خونی –مغزی فراهم می‌کند (۳۶ و ۳۷). این سد واسط تنظیمی بین جریان خون محیطی و دستگاه عصبی مرکزی است و عملکرد اصلی این واحد کنترل عبور ترکیبات پلاسمایی و اجزای سلولی از عروق خونی به درون مغز است (۳۸). یکپارچگی سد خونی–مغزی نقش مهمی در مقاومت ساختاری و حفظ نفوذپذیری مناسب عروق مغزی دارد. این غشاء نفوذپذیر به‌طور عمده از دیواره سلول‌های اندوتلیال و لامینای پایه ماتریکس خارج سلولی و آستروسیت‌ها تشکیل شده است. تیغه پایه، از پروتئین‌های مختلف ماتریکس خارج سلولی شامل کلاژن نوع IV، لامینین، هپارین سولفات، پروتئوگلیکان و فیبرونکتین تشکیل شده و نفوذپذیری انتخابی آن نقشی محوری در حفظ محیط مغزی، سلامتی و حیات نورون‌ها دارد (۳۹–۳۷). از این‌رو افزایش مقاومت سد خونی –مغزی به‌طور بالقوه می‌تواند موجب کاهش میزان آسیب بر نورون‌های عصبی شود.

براساس مطالعات به نظر می‌رسد، پیش آماده‌سازی با فعالیت ورزشی می‌تواند موجب ایجاد مقاومت عصبی یا حفاظت عصبی اندوژن شود که به نوبه خود می‌تواند موجب کاهش آسیب مغزی ناشی آسیب‌های مغزی شود. حفاظت عصبی بر اثر مکانیسم‌های متعددی از جمله افزایش یکپارچگی واحد عصبی –عروقی از طریق تقویت سد خونی –مغزی، افزایش بیان پروتئین‌های نوروتروفیک، افزایش تعداد آستروسیت‌ها و توسعه شبکه عروقی بر اثر عروق‌زایی و آرتریوژنز ایجاد می‌شود که این عوامل در کنار هم موجب تقویت شبکه نورونی مغز و افزایش مقاومت در برابر آسیب ناشی از تزریق می‌شوند. علاوه‌بر آن، تعدیل هجوم لکوسیت‌ها و بهبود پاسخ التهابی مشاهده شده در کنار تعدیل مثبت عوامل و مسیرهای سلولی درگیر در مرگ و بقاء نورونی بر اثر پیش آماده‌سازی با فعالیت ورزشی موجب کاهش آپوپتوز نورونی و حجم انفارکت شده، بنابراین سبب کاهش آسیب ثانویه پس از بروز آسیب می‌شود. همچنین بهبود مشاهده شده در عوامل درگیر در فراهم کردن سوبسترا و عوامل مؤثر در متابولیزه کردن سوبسترا در درون سلول و تولید ATP بر اثر پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی می‌تواند موجب کاهش اختلالات متابولیکی و بیوانرژتیکی در نورون‌ها پس از آسیب شود و به کاهش آپوپتوز نورونی پس از آسیب منجر شود. این تغییرات اندوژن مشاهده شده بر اثر فعالیت ورزشی در مجموع ممکن است موجب کاهش شدت آسیب شود (۴۶).

از این‌رو مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیرات ناشی از تزریق درون صفاقی نانو ذرات بیولوژیک نقره تولید شده به‌وسیله قارچ فوزاریوم همراه با ده هفته پیش آماده‌سازی تمرین هوازی و بی‌هوازی بر بافت مغزی موش‌های نر نژاد ویستار به‌منظور شناخت هر چه بهتر آسیب‌های ساختاری نورون‌های مغزی و تغییرات سلول‌های ماده خاکستری و سفید قشر مخ و التهاب و پر خونی و همچنین بررسی اثر فعالیت ورزشی در دو نوع هوازی و بی‌هوازی بر این آسیب‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود با کد اخلاق مصوب به شماره IR.IAU.SHAHROOD.REC.1396.40 به انجام رسید. در این تحقیق از ۳۰ سر رت اسفاده شده که با سن ۱۲ هفته و میانگین وزن ۱۸۰ تا۲۲۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی شاهرود خریداری و به مدت یک هفته شرایط سازگاری با محیط نگهداری شدند. شرایط استاندارد آزمایشگاهی شامل غذای استاندارد، آب سالم، دمای ۲±۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد، چرخه نور متناوب ۱۲ ساعت روشنی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا در قفس‌های مخصوص

رعایت شد. نمونه‌های آماری این تحقیق به روش نمونه‌گیری انتخابی هدفدار و باتوجه به شرایط وزنی و سنی انجام شد سپس به طور تصادفی در ۶ گروه با ۵ سر موش در هر گروه شامل کنترل سالم، نانو ذرات بیولوژیک نقره، پروتکل تمرین۱ (هوازی)، پروتکل تمرین ۲ (بی‌هوازی)، نانو ذرات بیولوژیک نقره + پروتکل تمرین ۱، نانو ذرات بیولوژیک نقره + پروتکل تمرین ۲ تقسیم شدند. این رت‌ها پس از ۱۰ هفته تمرین هوازی و بی‌هوازی (۱۸) (جدول ۱ و ۲)، به اندازه ۱۰ وزن بدن، تزریق درون صفاقی نانو ذرات بیولوژیک نقره با دوز بالا در ۵ نوبت انجام شد (۳۳). نانوذرات نقره بیولوژیک توسط عصاره قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم با استفاده از محلول نیترات نقره در مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی واحد شاهرود سنتز و توسط آزمون میکروسکوپ الکترونی عبوری، اسپکتوفوتومتری و روش پراش اشعه ایکس مورد تأیید قرار گرفت. ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق، رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین بی‌هوش و قربانی شدند. سپس بافت مغز نمونه‌ها پس از جداسازی در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد و پس از آن برای روش‌های معمول بافت‌شناسی آماده شد. پس از ۲۴ ساعت اولیه فرمالین جدید جایگزین شد بعد از فیکساسیون، آب‌گیری و شفاف‌سازی و قالب‌گیری با پارافین انجام شد. بعد از این مراحل، توسط میکروتوم مقاطع با ضخامت ۵ میکرون به‌صورت نمونه‌گیری تصادفی و با فواصل منظم و یکنواخت تهیه شد. مقاطع میکروسکوپیک انتخاب شده، توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین رنگ و سپس توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰، ۴۰۰ مطالعه و عکس‌برداری شد.

جهت اثبات داده‌های کمی در گروه‌ها بعد از تعیین طبیعی بودن جامعه توسط آزمون کلوموگروف–اسمیرنوف (K-S) و همچنین آزمون برابری واریانس‌ها (لوین)، از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) و آزمون تعقیبی بونفرونی جهت تعیین اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. جهت داده‌های کیفی از آزمون کروسکال والیس و سطح معنی‌داری در این پژوهش ۵ درصد (P<۰/۰۵) درنظر گرفته شد.

جدول ۱- پروتکل تمرین هوازی

هفته	مدت تمرین (دقیقه)	سرعت تمرین (متر/دقیقه)
۱	۱۵	۱۵
۲	۱۵	۱۵
۳	۲۰	۲۰
۴	۲۵	۲۰
۵	۳۰	۲۵
۶	۴۰	۲۵
۷	۵۰	۳۰
۸	۶۰	۳۰
۹	۶۰	۳۰
۱۰	۶۰	۳۰

جدول ۲- پروتکل تمرین بی‌هوازی

هفته	تعداد تکرارها (ثانیه)	تعداد ست‌ها	شیب تردمیل (درجه)	سرعت تمرین (متر/دقیقه)
۱	۴۰	۳	۵	۳۵
۲	۴۰	۴	۵	۴۰
۳	۴۰	۵	۵	۴۵
۴	۴۰	۶	۵	۵۰
۵	۴۰	۶	۵	۵۵
۶	۴۰	۶	۱۰	۵۵
۷	۴۰	۷	۱۰	۵۵
۸	۴۰	۸	۱۰	۶۰
۹	۴۰	۸	۱۵	۶۰
۱۰	۴۰	۸	۱۵	۶۰

نتایج

جدول ۳ تغییرات کمی ناشی از پیش‌آمادگی ۱۰ هفته‌ای هوازی و بی‌هوازی را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. باتوجه به هدف اصلی این پژوهش مبنی‌بر مقایسه اثرگذاری نانوذرات نقره بر بافت مغز رت‌های تمرین کرده و بدون تمرین و همچنین مطالعه سازگاری‌های عصبی ناشی از این تمرینات، براساس دو متغیر وزن رت‌ها و همچنین میزان مسافت طی شده در آزمون دویدن بر روی تردمیل جوندگان (استقامت پیشرونده)، میزان سازگاری رت‌ها بعد از ۱۰ هفته مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. براساس آزمون ANOVA یکطرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی، وزن رت‌ها در گروه‌های تمرین به‌صورت معنی‌داری نسبت‌به گروه کنترل کمتر بود (P=۰/۰۰۰) به‌علاوه میزان مسافت طی شده در آزمون دویدن استقامتی پیشرونده بر روی تردمیل جوندگان، در گروه‌های تمرین به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود (P=۰/۰۰۰) (جدول ۴).

باتوجه به نتایج تحلیل واریانس یک طرفه در گروه‌ها، اختلاف معنی‌داری میان رت‌ها در متغیر وزن وجود دارد که بیانگر تأثیر پیش آمادگی بدنی بی‌هوازی بر وزن رت‌ها دارد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود گروه تمرین بی‌هوازی به تنهایی و همچنین گروه تمرین بی‌هوازی و نانو بیولوژیک وزن کمتری نسبت‌به گروه کنترل داشتند. به‌علاوه نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد پیش‌آمادگی تمرینی چه در گروه هوازی و چه در گروه بی‌هوازی موجب تغییرات عملکردی و سازگاری‌های قلبی تنفسی شدند. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود رت‌ها درگروه‌های تمرین مخصوصاً بدون دریافت نانو نسبت‌به گروه کنترل و نانو به تنهایی، مسافت بیشتری را بر روی تردمیل تا سرحد خستگی دویده بودند.

در رابطه با نتایج هیستوپاتولوژیک، میزان آسیب‌های بافت مغز از قبیل پرخونی و التهاب در گروه دریافت‌کننده نانوذرات نقره بدون تمرین از همه گروه‌ها بیشتر بود. به‌علاوه گروه‌های تمرینی آسیب کمتری نسبت‌به گروه‌های دیگر تجربه کردند. همچنین در سلول‌های سفید و خاکستری مغز تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها مشاهده نشد. تغییرات ساختاری گروه‌ها با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ برابر در شکل ۳ نشان داده شده است.

در نمونه‌های گروه کنترل، مغز دارای ویژگی‌های نرمال بافتی بوده و لایه‌های موجود در آن مشخصات سالم همراه با نظم و آرایش دقیق بافتی را نشان می‌دهند (شکل ۳). ماده خاکستری که در سطح و قشر مخ می‌باشد و در تصویر زیر با فلش سفید دوطرفه قابل مشاهده هست و همچنین سطحی‌ترین لایه آن که مولکولار نامیده می‌شود و با فلش سیاه دوطرفه قابل مشاهده است و مشخصات طبیعی دارد. مشخصات نورون‌ها (فلش سفید) و سلول‌های بافت نوروگلی (فلش زرد) طبیعی بوده و هسته آنها روشن و مشخص است. درون سیتوپلاسم سلول‌ها اجزا و گنجیدگی‌های غیرطبیعی وجود نداشته و ریبوزوم‌های نورونی نیز قابل رؤیت هستند. سلول‌های میکروگلیا (فلش سیاه) با هسته‌های طویل و تیره رنگ مشاهده می‌شوند. عروق خونی (فلش قرمز) و پرده مننژ با ساختار مناسب در فضای داخل و اطراف بافت مغز دیده می‌شوند.

در نمونه‌های گروه بیولوژیک اتساع عروق همراه با احتباس و پرخونی (فلش قرمز) و افزایش اندک فضای اطراف عروقی دیده می‌شود (شکل ۴). نورون‌های هرمی (فلش سفید) گرچه سیتوپلاسم پر رنگ دارند اما تعداد و شکل آنها مناسب می‌باشد. سلول‌های میکروگلیا (فلش سیاه) با هسته کشیده و تیره در نواحی مختلف قشری دیده می‌شوند. سلول‌های بافت نوروگلی(فلش زرد) نیز به تعداد مناسب همراه با پراکندگی مناسب و هسته روشن و گرد قابل مشاهده هستند. نظم و انسجام بافتی کامل و طبیعی بوده و از همگسیختگی در بافت وجود ندارد.

در نمونه‌های گروه هوازی در مقایسه با گروه کنترل مقداری اتساع و افزایش حجم سلول‌های خونی (فلش قرمز) دیده می‌شود (شکل ۵). پرده مننژ (فلش آبی) در اطراف قشر مخ با ضخامت و شکل منا سبی قابل مشاهده است. نورون‌ها (فلش سفید) و سلول‌های نوروگلی با هسته‌های گرد و واضح و سلول‌های میکروگلیا (فلش سیاه) با هسته‌های کشیده و طویل و تعداد منا سبی دیده می شوند. بافت دارای نظم و انسجام بوده و هیچگونه تغییر و تحلیل در آن مشهود نیست.

در نمونه‌های گروه بی‌هوازی نیز در مقایسه با گروه کنترل هیچگونه تغییر خاصی در بافت مغز وجود ندارد (شکل ۶). نورون‌ها (فلش سفید) و سلول‌های بافت گلیال (فلش زرد) دارای هسته گرد و روشن و سیتوپلاسم طبیعی و منظم بوده و تعداد و پراکندگی آنها در بافت شکلی طبیعی دارد. سلول‌های میکروگلیا (فلش سیاه) با تعداد و شکل مناسب رؤیت می‌شوند. پرخونی و احتقان غیرطبیعی نیز در بافت وجود ندارد.

در گروه نانوذرات بیولوژیک و پیش‌آمادگی هوازی مقداری بر فضای اطراف مویرگی افزوده شده است (فلش قرمز). نورون‌ها (فلش سفید) دارای ظاهر طبیعی با سیتوپلاسم پررنگ می‌باشند. سلول‌های نوروگلی(فلش زرد) دارای هسته‌های روشن و بزرگ و کاملاً گرد بوده و تعداد آنها مناسب ارزیابی می‌گردد (شکل ۷). سلول‌های مکیکروگلیا (فلش سیاه) دارای پراکندگی و تعداد طبیعی و هسته مشخص هستند. نظم و انسجام بافت مناسب و طبیعی مشاهده می‌گردد.

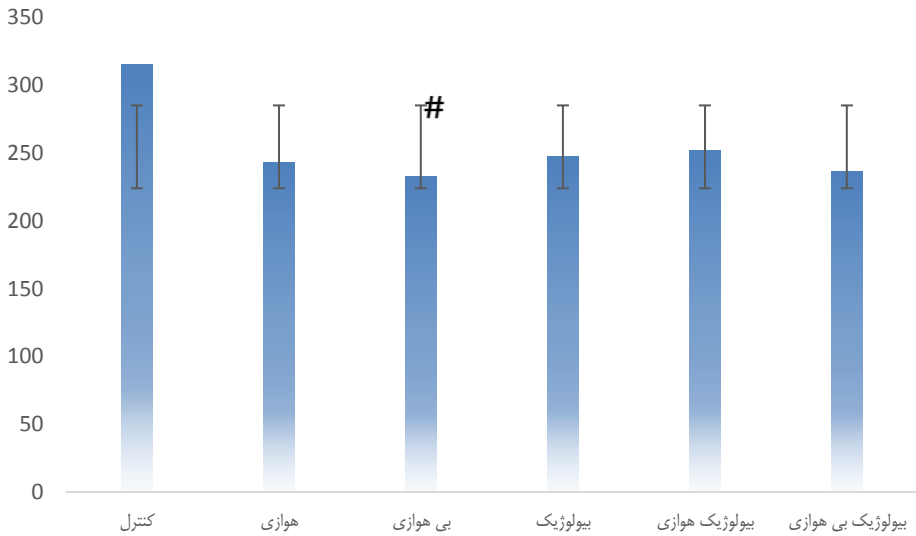
در گروه نانوذرات بیولوژیک و بی‌هوازی میزان کمی پرخونی (فلش قرمز) در برخی نواحی وجود دارد. نورون‌ها (فلش سفید) دارای شکل ظاهری مناسب و اندازه طبیعی هستند (شکل ۸). سلول‌های نوروگلی (فلش زرد) تعداد و شکل سلولی و هسته طبیعی داشته اما برخی از آنها سیتوپلاسم تیره و پررنگ دارند. سلول‌های میکروگلیا (فلش سیاه) دارای پراکندگی و ظاهر طبیعی هستند.

جدول ۳- تغییرات وزن و مسافت طی شده در دوره پیش‌آمادگی

گروه	وزن(گرم)	مسافت (متر)
کنترل	۳۱۵/۲۵	۹۲۵
نانو ذرات بیولوژیک نقره	۲۴۵/۷۵	۱۱۷
پروتکل تمرین هوازی	۲۴۳	۴۵۳۹
پروتکل تمرین بی‌هوازی	۲۳۳	۴۷۸۲
نانوذرات بیولوژیک نقره+ هوازی	۲۵۲	۲۰۷۹
نانوذرات بیولوژیک نقره+ بی‌هوازی	۲۳۶	۳۲۹۱

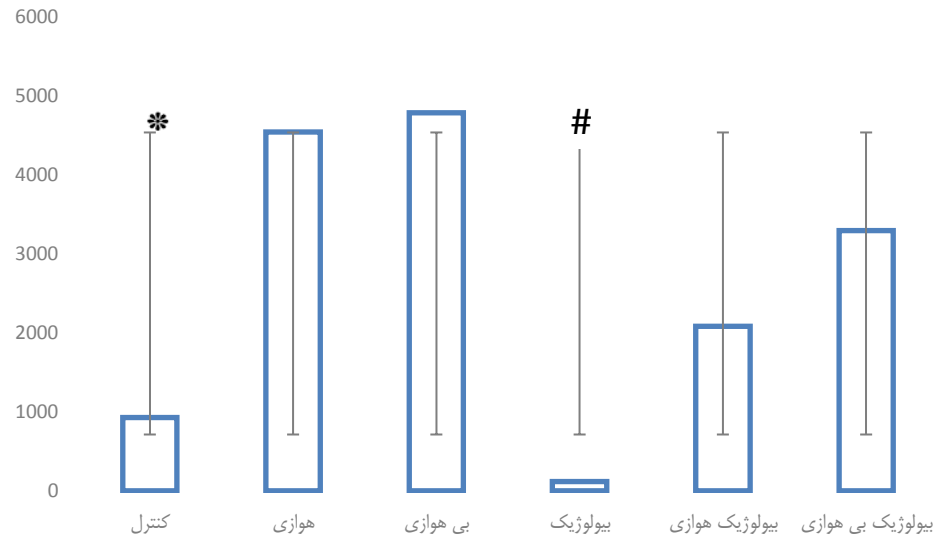
جدول ٤- نتایج تحلیل واریانس متغیرهای وزن و مسافت طی شده در آزمون استقامت پیش‌رونده

ANOVA						
		مجموع مربعات	درجه آزادی	Mean Square	F	Sig.
وزن (گرم)	بین‌گروهی	۲۳۳۹۵/۶۲۵	۵	۴۶۷۹/۱۲۵	۱۲۴۷/۱۶۷	۰/۰۰۰
	درون‌گروهی	۹۰۰۰۰۰	۲۴	۳/۷۵۰		
	مجموع	۲۳۴۸۵/۳۲۵	۲۹			
مسافت (متر)	بین‌گروهی	۹۱۱۸۸۶۶۴	۵	۱۸۲۳۷۷۳۲/۱۸۷	۴۸۶۳۳۹۵/۴۲۲	۰/۰۰۰
	درون‌گروهی	۹۰۰۰۰	۲۴	۳/۷۵۰		
	مجموع	۹۱۱۸۸۶۷۵/۱۶۷	۲۹			



شکل ۱- اختلاف میان گروه‌ها در متغیر وزن

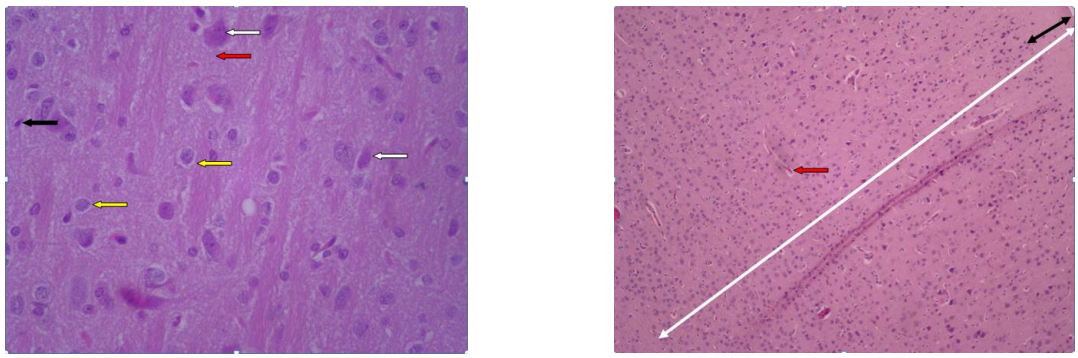
اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های تمرین و گروه کنترل براساس آزمون تعقیبی بونفرونی (P=۰/۰۲۸).



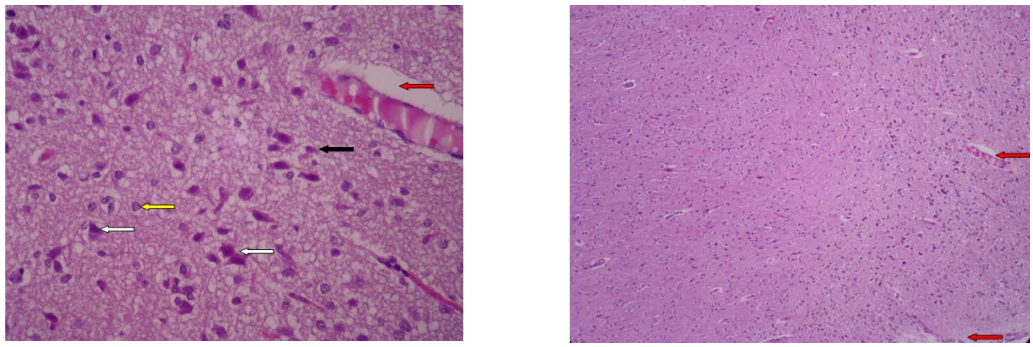
شکل ۲- اختلاف میان گروه‌ها در متغیر مسافت طی شده در آزمون پیشرونده استقامتی

اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های تمرین هوازی و بیهوازی و گروه بیولوژیک براساس آزمون تعقیبی بونفرونی (P=۰/۰۰).

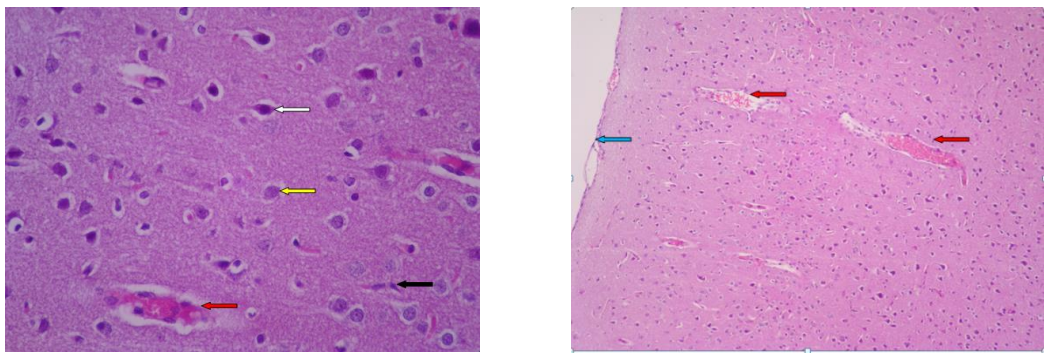
*اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های تمرین هوازی و بیهوازی و گروه کنترل براساس آزمون تعقیبی بونفرونی (P=۰/۰۰).



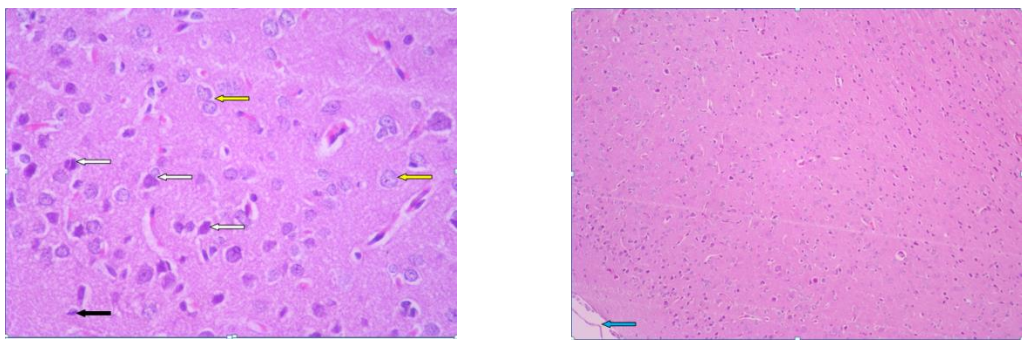
شکل ۳- فتومیکروگراف تهیه شده از مغز موش صحرایی در گروه کنترل با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ٤۰۰ برابر



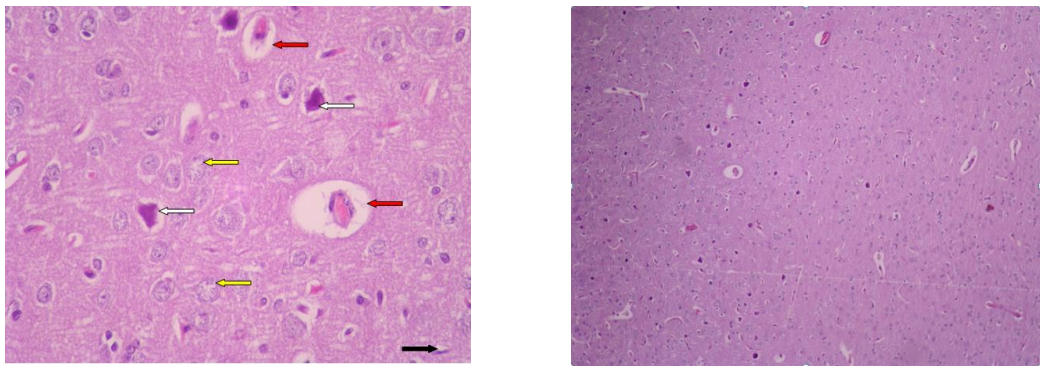
شکل ٤- فتومیکروگراف تهیه شده از مغز موش صحرایی در گروه نانوذرات بیولوژیک با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ٤۰۰ برابر



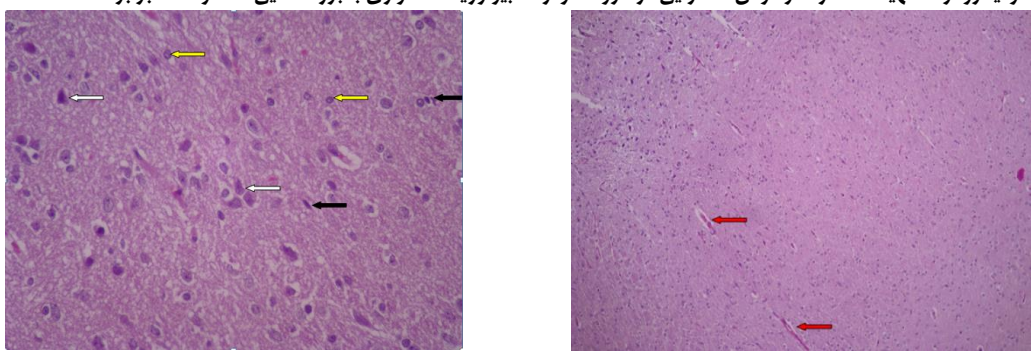
شکل ٥- فتومیکروگراف تهیه شده از مغز موش صحرایی در گروه پیش‌آمادگی هوازی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ٤۰۰ برابر



شکل ٦- فتومیکروگراف تهیه شده از مغز موش صحرایی در گروه پیش‌آمادگی بی‌هوازی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ٤۰۰ برابر



شکل ۷- فتومیکروگراف تهیه شده از مغز موش صحرایی در گروه نانوذرات بیولوژیک + هوازی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ برابر



شکل ۸- فتومیکروگراف تهیه شده از مغز موش صحرایی در گروه نانوذرات بیولوژیک + بی‌هوازی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ برابر

بحث

به‌طور خلاصه نتایج این پژوهش نشان داد مقدار مسافت طی شده در آزمون استقامتی پیشرونده بر روی تردمیل جوندگان در گروه‌های تمرینی به‌طور معنی‌داری افزایش چشمگیری دارد که بیانگر افزایش سازگاری‌های مختلف فیزیولوژیک نظیر سازگاری‌های قلبی-تنفسی، هورمونی و عصبی- عضلانی است. به‌علاوه وزن این حیوانات در گروه‌های تمرینی به‌طور معنی‌داری نسبت‌به گروه کنترل کمتر است که نشان‌دهنده تغییرات متابولیکی در این حیوانات می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد تزریق درون صفاقی نانوذرات نقره به‌طور معنی‌داری موجب بروز نارسایی‌های ساختاری مثل پرخونی و التهاب نورون‌های عصبی در گروه بدون پیش‌آماده‌سازی شده بود. به‌علاوه در مقایسه دو نوع پروتکل تمرینی نتایج نشان داد در هر دو گروه اثرات نامطلوب تزریق نانو ذرات نقره تقلیل پیدا کرده است اگرچه به‌نظر می‌رسد تمرین بی‌هوازی به نسبت اثربخشی بیشتری داشت اما این اثربخشی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد می‌بایست برای نسخه پیش‌آماده‌سازی محافظه‌کارانه تصمیم‌گیری شود. نکته قابل ملاحظه در نتایج این پژوهش عدم‌تأثیرپذیری بخش سفید و خاکستری نرون‌های عصبی در همه گروه‌ها حتی دریافت‌کننده نانو بدون پیش‌آماده‌سازی بود که نشان می‌دهد این سلول‌ها بسیار در مقابل آسیب‌های قابل انتشار سازماندهی شده‌اند.

باتوجه به اینکه مطالعه مستقیمی تاکنون در ارتباط با افزایش مقاومت سلول‌های عصبی به‌وسیله پیش آمادگی تمرینی صورت نگرفته است، بسیاری از مطالعات به بررسی اثربخشی نانوذرات شیمیایی و بیولوژیک نقره بر جنبه‌های مختلف سیستم عصبی پرداخته‌اند. به‌عنوان مثال هولتینگ و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند نانوذرات نقره بر ساقه مغز جنین موش‌های صحرایی موجب تغییر شکل و التهاب سلول‌های عصبی در فرآیند تکامل مغز می‌شوند (۱۵). به‌علاوه لیو و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند هم دوز بالا و هم دوز پایین نانوذرات نقره موجب التهاب و دگرگونی سلول‌های عصبی مغز می‌شوند که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت (۱۶). در کنار این موارد می‌بایست بیان کرد اکثر مطالعات بروز پرخونی و دژنراسیون بافت عصبی را گزارش کردند و بیشتر این تحقیقات بیان می‌کنند این تخریب بیشتر به‌واسطه یون نقره آزاد شده سد خونی- مغزی روی می‌دهد (۱۷، ۲۲ و ۲۴) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. سد خونی مغزی جداکننده بین مایع برون‌سلولی مغز در سیستم اعصاب مرکزی و جریان خون گردشی در بدن است به‌طوری‌که اگر مواد رنگی به‌درون خون تزریق شود می‌توان مشاهده کرد که از این ماده درون مغز اثری دیده نمی‌شود. این پرده یا سد از مویرگ‌های ویژه تشکیل شده که بر خلاف ساختار عادی در مویرگ‌ها دارای منافذ معمول نبوده و اتصال بین سلولی در آن‌ها از نوع اتصال محکم است و در نتیجه بسیاری از ملکول‌ها و ریز ملکول‌ها و همچنین باکتری‌ها قادر به گذشتن از آن‌ها (از طریق انتشار) و رسیدن

به مایع مغزی نخاعی در مغز نیستند. متقابلاً سطح اندوتلیال این مویرگ‌ها از پروتئین‌های ویژه پوشیده شده که توسط آن‌ها ورود گلوکز به مغز به‌عنوان تغذیه امکان‌پذیر می‌گردد. همچنین تبادل گازی (اکسیژن- دی‌اکسید کربن) بین خون گردشی و مغز از این سد بدون مشکل قابل انجام است. باتوجه به این‌که سد خونی- مغزی محافظی بسیار قوی در برابر عفونت‌های شایع باکتریایی است، شیوع عفونت در مغز بسیار نادر است با این‌حال، از آنجا که آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها قادر به عبور از سد خونی مغزی نمی‌باشند، در صورت بروز عفونت مغزی آسیب وارده اغلب بسیار جدی و درمان نیز دشوار خواهد بود. با این حال، سد خونی مغزی در هنگام التهاب‌های مغزی تا اندازه‌ای نفوذپذیر شده و برخی آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند به مغز راه پیدا کنند. نانو ذرات به‌دلیل اندازه بسیار کوچک خود قابلیت عبور از سد خونی مغز و تجمع در بخش‌های مختلف مغز را دارند زیرا نانو ذرات می‌توانند از سد خونی مغز عبور کنند (۱۹). بنابراین می‌توانند در مناطق مختلفی از مغز تجمع پیدا کنند (۲۱-۲۰). همچنین از آنجا که نانو ذرات نقره نسبت سطح به حجم بیشتری نسبت‌به اندازه‌های بزرگتر آن دارند، بنابراین از نظر شیمیایی فعال‌تر بوده و به میزان بیشتری به فرم یونیزه آن تبدیل می‌شوند. نانو ذرات نقره می‌توانند با بافت‌های دیگر باند شده و اثرات سمی و مخرب به‌دلیل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن داشته باشند و باعث مرگ سلولی شوند. به علاوه نانو ذرات نقره در اندام‌های مختلف ازجمله مغز، ریه‌ها، کبد، کلیه‌ها و بیضه‌ها تجمع می‌یابند و تغییرات بافتی و التهاب را در این اندام‌ها به وجود می‌آورند (۲۷). اگرچه در پژوهشی که اخیراً توسط گونزالو-کارتر و همکاران در سال ۲۰۱۷ منتشر شد، کاهش تخریب سلول و التهاب در سلول‌های مغزی به‌واسطه دریافت نانوذرات نقره گزارش گردید (۲۶). نشان داده شده است آزاد شدن یون نقره در مرز خون و مغز موجب از بین رفتن یکپاچگی غشاء سلول‌های میکروگلیا حتی بعد از یک ساعت دریافت نانو نقره می‌شود. این از بین رفتن یکپارچگی موجب برهم‌خوردن نفوذپذیری انتخابی شده و در نهایت با اثر بر آبشارهای درون سلولی و فعال شدن آنزیم‌های آپوپتوزی و کاسپازی، تخریب DNA را به‌همراه خواهد داشت اگرچه نشان داده شده است که به‌دلیل تبدیل نقره ورودی به نقره محلول، این نوع نقره سمیت خود را در سلول‌های میکروگلیا بسیار از دست می‌دهد اما همین مقدار موجب بروز پرخونی و التهاب می‌شود (۲۸).

در این بین بیان شده است فعالیت‌های ورزشی بلند مدت با افزایش مقاومت غشاء پلاسمایی و همچنین فعال کردن آبشارهای درون سلولی، سایتواسکلتون غشاء و سلول‌ها را تقویت کرده و به‌نظر می‌رسد بتواند در کاهش سمیت نقره آزاد شده در سلول‌های میکروگلیا مؤثر باشد. نشان داده شده است که فعالیت بدنی طولانی مدت و پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی موجب سازگاری‌های بسیاری در سیستم عصبی مرکزی می‌شود. افزایش ضخامت و یکپارچگی تیغه پایه و سد خونی- مغزی (۲۳ و ۲۵)، کاهش مارکرهای استرس اکسایشی تولید شده از میتوکندری نورون‌ها و لکوسیت‌های فعال شده و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسایشی (۴۵-۴۴)، افزایش بیان اینتگرین‌ها که در اتصال سلول‌های اندوتلیال به آستروسیت‌ها نقش به‌سزایی دارند (۲۷)، کاهش آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ که توسط سلول‌های اندوتلیال، میکروگلیا و آستروسیت‌ها تولید شده و نقش اصلی آن تجزیه پروتئین‌های ماتریکس برون سلولی و پروتئین‌های تیغه پایه می‌باشد (۴۰) و بسیاری سازگاری‌های متابولیکی و فیزیولوژیک دیگر می‌شوند (۳۷، ۴۳-۴۱). محققان یافته‌های آزمایش‌ها و تحقیقات خود را به‌عنوان شواهدی که نشان می‌دهد در بزرگسالان جوان و سالم، ورزش‌های هوازی با شدت متوسط تأثیر قابل توجهی در برخی از سیستم‌های خاص از مغز نسبت‌به افراد دیگر در پی دارد بیان کردند. براساس یافته‌های آن‌ها تمرینات هوازی که در آن‌ها ساختمان اسکلتی بدن هم فعال می‌شود به شکلی که شدت متوسطی داشته باشد، به جای حرکت منفعلانه، بر فرآیندهای حافظه کاری و برخی دیگر از قسمت‌های مغز و بهبود عملکرد آن‌ها تأثیر به سزایی دارد. در مطالعه آن‌ها، این تغییرات بعد از تنها دو جلسه ورزشی دیده شد. در نهایت، آن‌ها پیش‌بینی نمودند که پیشبرد چنین دانشی برای ایجاد توصیه‌های ورزشی مبتنی‌بر شواهد علمی برای بهبود سلامت شناختی و مغز سرعت بهبود آن را بیشتر خواهد کرد. از طرفی نوروتروفین‌ها خانواده‌ای از عوامل رشد هستند که اساساً به واسطه توانایی‌شان در حفاظت بقای عصبی شناسایی می‌شوند. علاوه بر حفاظت بقای عصبی، شکل‌پذیری عصبی، حفظ و تمایز نورون‌ها و همچنین سرنوشت سلول‌ها و مرگ سلول عصبی را نوروتروفین‌ها تنظیم می‌کنند (۳۰-۲۹). همچنین بنا بر تحقیق وارگس و همکاران بیان شد که تأثیرات فعالیت ورزشی بر دستگاه عصبی مرکزی ممکن است به علت تغییرات بیان و سطوح فاکتورهای نوروتروفیک باشد و همچنین بررسی علمی عصبی شواهدی مطمئن ارایه کرده است که ورزش سبب تحریک تولید بیشتر فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز می‌شود که باعث تولید دریافت‌کننده‌ها و اعصاب بیشتری در مغز می‌گردد (۳۱). بیان شده است تمرین‌های استقامتی و مقاومتی دایره‌ای باعث افزایش فاکتورهای نوروتروفیک می‌شود و به این طریق باعث سازگاری‌های ساختاری و عملکردی در دستگاه عصبی می‌شود (۳۲).

با وجودی که تزریق نانو ذرات نقره باعث ایجاد التهاب و پر خونی و تخریب بافت مغزی در گروه بدون پیش‌آمادگی می‌شود اما احتمالاً فعالیت ورزشی در هر دو نوع هوازی و بی‌هوازی طی ۱۰ هفته می‌تواند از شدت تخریب بافتی و ایجاد التهاب و پر خونی در بافت بکاهد اگرچه تفاوتی در میزان این کاهش در میان این دو پروتکل پیش‌آمادگی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل پایان‌نامه خانم افروز متحدی با عنوان "بررسی اثر تزریق درون صفاقی نانو ذرات بیولوژیک و شیمیایی نقره پس از ۱۰ هفته تمرین هوازی و بی‌هوازی بر میزان تغیرات بافت قشر مخ رت‌های نر ویستار" در مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود با کد اخلاق مصوب به شماره IR.IAU.SHAHROOD.REC.1396.40 می‌باشد.

References

1. Win-Shwe TT, Fujimaki H. Nanoparticles and Neurotoxicity. Int J Mol Sci 2011;12:6267-80. doi:10.3390/ijms12096267
2. Locht L J, Pedersen M Ø, Markholt S, Bibby BM, Larsen A, Penkowa M, et al. Metallic silver fragments cause massive tissue loss in the mouse brain. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011;109:1-10. doi:10.1111/j.1742-7843.2010.00668.x
3. Hadrup N, Loeschner K, Mortensena A, Sharmaa A.K, Qvortrupc K, Larsen E.H, et al. The similar neurotoxic effects of nanoparticulate and ionic silver in vivo and in vitro. Neurotoxicology 2012;33:416-23. doi:10.1016/j.neuro.2012.04.008
4. Panayala NR, Pena-Mendez ME, Havel J. Silver or silver nanoparticles. J Appl Biomed 2008;6:117-29. doi:10.32725/jab.2008.015
5. Borm P, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Fissan H, Donaldson K, et al. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. Particle and Fibre Toxicology 2006;3:1-35. doi:10.1186/1743-8977-3-11
6. Prasad K, Jha AK, Kulkarni A. Lactobacillus assisted synthesis of titanium nanoparticles. Nanoscale Res Lett 2007;2:248-50. doi:10.1007/s11671-007-9060-x
7. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv 2009;27:76-83. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.09.002
8. Prucek R, Ranc V, Balzerová O, Panáček A, Zboïil R, Kvítek L. Preparation of silver particles and its application for surface enhanced Raman scattering with near-infrared excitation. Materials Research Bulletin 2014;50:63-7. doi: 10.1016/j.materresbull.2013.10.014
9. Elechiguerra J, Burt J, Morones J, Camacho – Bragado A, Gao X, Lara H, Yacaman M. Interactionof silver nanoparticles with HIV–1. J Nanobiotechnology 2005;3:1-10. doi:10.1186/1477-3155-3-6
10. Azami F, S A Manafi, P Pourali. Production of silver nanoparticles by the fungus fusarium oxysporum that was cultured in different environmental conditions and comparision of their antibacterial efficiency whith each other. Jornal of Nanomaterials I.A.U Shahroud Branch 2018;10:178-187.
11. William J, Trickler Susan M, Lantz Richard C, Murdock Amanda M, Schrand Bonnie L, Robinson Glenn D, et al. Silver nanoparticle induced blood-brain barrier inflammation and increased permeability in primary rat brain microvessel endothelial cells. Toxicological Sciences 2010;118:160-170. doi:10.1093/toxsci/kfq244
12. Warburton Darren ER, Bredin Shannon SD. Health benefits of physical activity: a systematic review of current systematic reviews. Curr Opin Cardiol 2017;32:541-56. doi:10.1097/hco0000000000000437
13. Bothwell M. Recent advances in understanding neurotrophin signaling. F1000Res 2016;5:1-9. doi:10.12688/f1000research.8434.1.ecollection 2016
14. Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM. Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies. Toxicol Lett 2008; 179:93-100. doi:10.1016/j.toxlet.2008.04.009
15. Hoelting L, Scheinhardt B, Bondarenko O, Schildknecht S, Kapitza M, Tanavde V, et al. A 3-dimensional human embryonic stem cell (hESC)-derived model to detect developmental neurotoxicity of nanoparticles. Arch Toxicol 2013;87:721-33. doi:10.1007/s00204-012-012-0984-2
16. Liu Y, Guan W, Ren G, Yang Z. The possible mechanism of silver nanoparticle impact on hippocampal synaptic plasticity and spatial cognition in rats. Toxicol Lett 2012; 209:227-31. doi:10.1016/j.toxlet.2012.01.001
17. Wu J, Wang C, Sun J, Xue Y. Neurotoxicity of silica nanoparticles: brain localization and dopaminergic neurons damage pathways. ACS Nano 2011;5:4476-89. doi:10.1021/nn103530b
18. Mogharnasi M, Bayat J, Foaddini M, Salehinia A, Hosseini M, Shhamat Nashtifani F.The effect of colostrum along whith aerobic and anaerobic exercise on lipid peroxidation and total antioxidant capacity of male wistar rats. Armaghan-e-Danesh 2016;21:265-277.
19. Ahamed M, Siddiqui MA, Akhtar MJ, Ahmad I, Pant AB, Alhadlaq HA. Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun 2010;396:578-83. doi:10.1016/j.bbrc.2010.04.156
20. Ishida K, Cipriano TF, Rocha GM, Weissmuller G, Gomes F, Miranda K, et al. Silver nanoparticle production by the fungus Fusarium oxysporum: nanoparticle characterisation and analysis of antifungal activity against pathogenic yeasts. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 2014;109:220. doi:10.1590/0074-0276130269
21. Nasrollahzade H, Khodarahmi P, Nasrabadi M. Evaluation of necrotic effects of intraperitoneal administration of nano-silve on rat hippocampal cells. Journal of Animal Physiology and Development 2015;28:23-31.
22. Xu L, Shao A, Zhao Y, Wang Z, Zhang C, Sun Y, et al. Neurotoxicity of silver nanoparticles in rat brain after intragastric exposure. Journal of Nanoscience and Nanotechnology 2015;15:4215-23. doi:10.1166/jnn.2015.9612
23. Cramer S, Tacke S, Bornhorst J, Klingauf G, Schwerdtle T, Galla HJ. The influence of silver nanoparticles on the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barrier in vitro. J Nanomed Nanotech 2014;5:1-12.
24. Joanna Skalska, Małgorzata Frontczak-Baniewicz, Lidia Strużyńska. Synaptic degeneration in rat brain after prolonged oral exposure to silver nanoparticles. NeuroToxicology 2015;46:145-54. doi:10.1016/J.NEURO.2014.11.002
25. Nithya R, Ragunathan R. Synthesis of silver nanoparticle using Pleurotus sajor caju and its antimicrobial study. Dig J nanomater biostruct 2009;4:9-623.
26. Gonzalez-Carter DA, Leo BF, Ruenraroengsak P, Chen SE, Goode A, Theodorou LG, et al. Silver nanoparticles reduce brain inflammation and related neurotoxicity through induction of H2S-synthesizing enzymes. Sci Rep 2017;7. doi:10.1038/srep42871
27. Park EJ, Bae E, Yi J, Kim Y, Choi K, Lee SH, et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. Environ Toxicol Pharmacol 2010;30:162-8. doi:10.1016/j.etap.2010.05.004
28. Nagender Reddy Panyala, Eladia Maria Pena-Mendez, Josef Havel. Silver or silver nano-particles: a hazardous threat to the environments and human healyh?. Journal of applied medicine 2008;6:117-129. doi:10.32725/jab.2008.015
29. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. Annu Rev Neurosci 2001;24:677-736. doi:10.1146/annurev.neuro.24.1.677
30. Miller FD, Kaplan DR. Neurotrophin signalling pathways regulating neuronal apoptosis. Cell Mol Life Sci 2001;58:1045-53. doi: 10.1007/pl00000919

31. Vollert C, Zagaar M, Hovatta I, Taneja M, Vu A, Dao A, et al. Exercise prevents sleep deprivationassociated anxiety-like behavior in rats: potential role of oxidative stress mechanisms. Behav Brain Res 2011;224:233-240. doi:10.1016/j.bbr.2011.05.010

32. Barari AR, Bashiri J, Rahimi AR, Mokhtari E. The effect of endurance and circuit resistance training on serum brain-deriveved neurotrophic factor and cortisol in inactive male students: A randomized clinical trial. J Shahrekord Univ Med Sci 2015;17:43-53.

33. Del Bonis-O Donnell JT, Chio L, Dorlhiac GF, MCfarilane IR, Landry MP. Advances in nanomaterials for brain microscopy. Nano Research 2018;11:1-29. doi:10.1007/s12274-018-2145-2

34. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986;74:1124-36. doi:10.1161/01.cir.74.5.1124

35. Dirnagl U, Meisel A. Endogenous neuroprotection: mitochondria as gateways to cerebral preconditioning? Neuropharmacology 2008;55: 433-44. doi:10.1016/j.neuropharm.2008.02.017

36. Del Zoppo GJ. The neurovascular unit in the setting of stroke. J Intern Med 2010;267:156-71.

37. Kochanski R, Dornbos III D, Ding Y. Neuroprotection and Physical Preconditioning: Exercise, Hypothermia, and Hyperthermia. Innate Tolerance in the CNS: Springer 2013; p. 105-31.

38. Wang X, Zhang M, Feng R, Li WB, Ren SQ, Zhang J, et al. Physical exercise training and neurovascular unit in ischemic stroke. Neuroscience 2014;271:99-107. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.04.030

39. Dornbos III D, Ding Y. Mechanisms of neuroprotection underlying physical exercise in ischemia-reperfusion injury. In Tech 2012; p. 299-326. doi:10.5772/32119

40. Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. Nat Rev Neurosci 2003;4:399-414. doi:10.1038/nrn1106

41. Zhang F, Wu Y, Jia J. Exercise preconditioning and brain ischemic tolerance. Neuroscience 2011; 177: 170-76. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.01.018

42. Ding Y, Li J, Luan X, Ding YH, Lai Q, Rafols J, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. Neuroscience 2004;124:583-591. doi: 10.1016/j.neuroscience.2003.12.029

43. Bullitt E, Rahman F, Smith J, Kim E, Zeng D, Katz L, et al. The effect of exercise on the cerebral vasculature of healthy aged subjects as visualized by MR angiography. Am J Neuroradiol 2009;30:1857-63. doi:10.3174/ajnr.A1695

44. Obrenovitch TP. Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia. Physiol Rev 2008;88:211-47. doi:10.1152/physrev.00039.2006

45. Hamakawa M, Ishida A, Tamakoshi K, Shimada H, Nakashima H, Noguchi T, et al. Repeated short-term daily exercise ameliorates oxidative cerebral damage and the resultant motor dysfunction after transient ischemia in rats. J Clin Biochem Nutr 2013;53:8-14.

46. Samadi A, Exercise Preconditioning and Neuroprotection: A Review of Mechanisms. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam 2015;3:115-130. doi:10.18869/acadpub.shefa.3.1.115

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2019; Vol 14, No 2

DOI: 10.22100/jkh.v14i2.2257

Original Article

Effects of Biological Nanoparticles of Silver Produced by Fusarium Fungus with Two Types of Pre-Conditioning on Morphological Changes in Brain Tissue of Male Wistar Rats

Afrooz Mottahedi (M.Sc.)[1], Sayyed-Javad Ziaolhagh (Ph.D.)[2*]

1- Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.
2- Biological Nanoparticles in Medicine Research Center, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

Received: 18 June 2019**, Accepted:** 26 August 2019

Abstract:

Introduction*: Today, the production of biological nanoparticles has expanded significantly in different industries. Although their side effects have not yet been fully evaluated on brain tissue. In addition, by applying a stressor stimulus less than the threshold for injury to the tissue (pre-preparation), such as physical activity, it can increase the resistance of the tissue to more powerful stimuli. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of high dose doses of biological nanoparticles with two different types of training prediction on structural changes in brain tissue of male Wistar rats.*
Methods*: A total of 30 male Wistar rats were divided into 6 groups including healthy control, silver biological nanoparticles, aerobic exercise protocols, training protocols 2 (anaerobes), biological biological nanoparticles + exercise protocols 1, biological nanoparticles Silver + Practice Protocol 2 was done. Intraperitoneal injection of silver nanoparticles after 10 weeks of aerobic and anaerobic treatments was performed on 10% of body weight of each rat in 5 times. After 48 hours after the last injection, rats were indifferent and sample was taken. The specimens were then photographed and stained with Hematoxylin-Eosin stained with optical microscopy.*
Results*: The results of this study showed that aerobic training and anaerobic exercise training had a significant effect on the distance traveled in the progressive endurance test on rodent treadmill (P=0.000) and body weight (P=0.000). Intraperitoneal injection of high-dose silver nanoparticles also caused inflammation and mild inflammation of brain tissue in untreated rats, and the white matter and gray matter of nerve cells did not change. On the other hand, it was reduced trained groups and in the aerobic training group it was more significant than anaerobic.*
Conclusion*: Pre-conditioning of aerobic training can be effective in reducing the degree of brain tissue damage caused by the injection of silver biologic nanoparticles.*

Keyword: Silver biological nanoparticles, Aerobic exercise protocol, Anaerobic training protocols, Pre-conditioning, Brain tissue.

Conflict of Interest: No
***Corresponding author:** S.J. Ziaolhagh, **Email**: javadzia@gmail.com*

Citation: Mottahedi A, Ziaolhagh SJ. Effects of biological nanoparticles of silver produced by fusarium fungus with two types of pre-conditioning on morphological changes in brain tissue of male Wistar rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2019;14(2):3-14.