

تأثير التراكيز المختلفة لأنابيب الكربون النانوية مفردة ومتعددة الجدار في نسج وأنزيمات الكبد في الأرانب البيض النيوزلندية

فرح محمد غزال الحياي¹، منى حسين جانكير²، حافظ ابراهيم السعدي³

¹ فرع العلوم التمريضية الأساسية ، كلية التمريض ، جامعة الموصل

² قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة الموصل

³ فرع الأمراض ، كلية طب الأسنان ، جامعة الموصل

الملخص

هدف هذا البحث إلى التعرف على مدى تأثير التراكيز المختلفة لكل من أنابيب الكربون النانوية مفردة الجدار Single Walled Carbon Nanotubes (SWCNTs) ومتعددة الجدار Multi Walled Carbon Nanotubes (MWCNTs) المحقونة داخل القصب الهوائية Intratracheally في فعالية أنزيمات الكبد (أنزيم ناقل أمين الالين ALT وأنزيم ناقل أمين الاسبارتيت AST) والتغيرات النسيجية المرضية في كبد ذكور الأرانب النيوزلندية البيض المجرعة، إذ استخدم في هذه الدراسة 70 ذكراً من الأرانب النيوزلندية البيض تراوحت أعمارها ما بين (12-18) شهراً، وزعت عشوائياً إلى سبعة مجاميع وواقع 10 أرانب لكل مجموعة. وتم حقنها بالمادة النانوية، وجمعت عينات الدم ونسج الكبد بعد مرور 7 و 90 يوماً من التجريع ولكل مجموعة.

إذ أشارت النتائج إلى حدوث زيادة معنوية في فعالية كل من أنزيمي ALT و AST في مصل دم الأرانب المجرعة بأنابيب الكربون النانوية مفردة ومتعددة الجدار مقارنة مع مجموعة السيطرة بزيادة الجرعة وفترة التجريع. كما سجل في هذه الدراسة تغيير موضع أنابيب الكربون النانوية من الرئتين إلى الكبد.

ومما تقدم يتضح بأن أنابيب الكربون النانوية مفردة ومتعددة الجدار أحدثت أضراراً كبدية من خلال تأثيرها في فعالية أنزيمات الكبد وكذلك انتقالها من الرئتين إلى الكبد وحيز الجنب.

المقدمة

ball والملابس الرياضية، أجزاء السيارات، أجهزة التلفاز و البطاريات، دروع الحماية من الرصاص، الصناعات الفضائية والدارات الكهربائية. إن اتساع تطبيقات التقنية النانوية عامة وأنابيب الكربون خاصة قد يشكل خطراً على صحة الإنسان وبيئته، فالخصائص الفريدة لهذه المواد التي جعلتها موضع اهتمام هي ذاتها يمكن أن تحدث ضرراً للخلايا والنسج، فكير المساحة السطحية للمواد النانوية تزيد من القابلية للتفاعلات الكيميائية والنشاطات الحيوية وبالتالي زيادة قابلية التأكسد وتكوين الجذور الحرة Free radicals، فضلا عن أن صغر حجم هذه المواد يسمح لها باختراق الأغشية الحية والدخول إلى الخلايا والوصول إلى الأعضاء الأخرى مؤدية بذلك إلى زيادة الكرب التأكسدي Oxidative stress ، وإنتاج الساييتوكاينين Cytokine [3]، التهاب وتحطيم البروتين والأغشية والحامض النووي DNA وبالتالي موت الخلية [4,5].

وأشارت معظم الدراسات التي تناولت سمية المواد النانوية عن طريق الاستنشاق، الجلد، الفم والحقن بالوريد إلى إمكانية انتقال المواد النانوية إلى الأعضاء الأخرى ومن ضمنها الكبد عن طريق الدورة الدموية [6,7,8]، وترسبها داخل خلايا الكبد [9,10]، وكما هو الحال مع بقية مجالات المعرفة الخاصة بالتقانات النانوية فان الدراسات حول سمية أنابيب الكربون النانوية لا زالت في مراحلها المبكرة ولا زال الغموض يكتنف بعض جوانب إمراضية وأمراض هذه الأنابيب في الجسم بشكل عام والكبد بشكل خاص. ولذا تم التخطيط لإجراء هذه

عرفت التقنية النانوية من قبل العديد من الباحثين بانها تدرس وتعمل على تطويع وتصنيع تراكيب فائقة الصغر كل منها على يعمل كوحدة واحدة أو كجزئية واحدة بمستوى النانو لتصنيع مواد نانوية Nanomateriales ذات خصائص وتطبيقات فريدة [1].

ومن المواد المرتبطة ببدء وتطور تقنية النانو، الفوليرينات Fullerenes وأنابيب الكربون النانوية Carbon Nanotubes (CNTs) وللذان يعدان من اهم المواد الشائعة الاستخدام والتطبيقات التي تدخل فيها هاتين المادتين ساعدت في تطوير أبحاث تقنية النانو [2]. وتعد أنابيب الكربون النانوية أشكال متأصلة من الكربون، إذ يمكن تخيلها بشكل صفيحة مفردة من الكرافيت ملتفة لتكون أسطوانة بدون درز Seamless cylinders، وهناك نوعان من هذه الأنابيب CNTs : أنابيب كاربون نانوية مفردة الجدار Single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) وأنابيب كاربون متعددة الجدار Multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs)، والأخيرة هي الأكبر وتتألف من العديد من الأنابيب المفردة المكسدة بعضها بداخل البعض الآخر. وبشكل عام تمتلك أنابيب الكربون النانوية مواصفات فريدة تجعلها ذات مزايا وتطبيقات متعددة في التقنيات النانوية والبصريات والالكترونيات وعلوم المواد، إضافة إلى الفنون المعمارية ومجالاتها، ولها خصائص قوة لا متناهية، وخصائص كهربائية فريدة وموصلات فعالة للحرارة. إذ تستخدم في صناعة مضارب لعبة كرة القاعدة Base ball، مضارب التنس Rockets

1- المجموعة الأولى (مجموعة سيطرة):

تم تجريع هذه المجموعة بجرعة 1مل/كغم من وزن الجسم من محلول الفوسفات المنظم PBS+1% Tween80 وعدت كمجموعة سيطرة.

2- المجموعة الثانية:

تم تجريع هذه المجموعة بجرعة 1مل/كغم من وزن الجسم من أنابيب الكربون النانوية بتركيز 1ملغم/مل.

3- المجموعة الثالثة:

تم تجريع هذه المجموعة بجرعة 1مل/كغم من وزن الجسم من أنابيب الكربون النانوية بتركيز 5 ملغم/مل.

المحور الثاني: تأثير أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدر في**الأرانب**

تم في هذا المحور استخدام 40 أرنباً قسمت إلى 4 مجاميع عشوائياً وبواقع 10 أرانب لكل مجموعة، وبعد انتهاء المدة التمهيدية تم البدء بتجريع الأرانب بمادة أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدار وعلى النحو التالي:

1- المجموعة الأولى (مجموعة سيطرة):

تم تجريع هذه المجموعة بجرعة 1مل/كغم من وزن الجسم من محلول الفوسفات المنظم PBS+1% Tween80 وعدت كمجموعة سيطرة.

2- المجموعة الثانية:

تم تجريع هذه المجموعة بجرعة 1مل/كغم من وزن الجسم من أنابيب الكربون النانوية بتركيز 1ملغم/مل.

3- المجموعة الثالثة:

تم تجريع هذه المجموعة بجرعة 1مل/كغم من وزن الجسم من أنابيب الكربون النانوية بتركيز 3 ملغم/مل.

4- المجموعة الرابعة:

تم تجريع هذه المجموعة بجرعة 1مل/كغم من وزن الجسم من أنابيب الكربون النانوية بتركيز 5 ملغم/مل.

وأجريت عملية حقن الأرانب بمادة أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدار بعد تخديرها بمادة الكتامين Ketamine بجرعة 1مل داخل عضلة الفخذ [13]، وتم تثبيت القصبية الهوائية وحقن بداخلها 1مل من تراكيز المادة النانوية المحضرة مسبقاً، وتم جمع عينات الدم ونسج الكبد بعد مرور فترة على التجريع 7 أيام و 90 يوماً كل على حدى، وحفظ الدم في أنابيب بلاستيكية نظيفة ذات أغشية محكمة جافة وخالية من أية مواد مانعة للتخثر، وتركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة لحين تخثر الدم، ومن ثم اجري لها عملية طرد مركزي على السرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على مصلى الدم، وحفظ مصلى الدم بالتجميد عند درجة -20 م° لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية، ووضعت النماذج النسيجية في مثبت الفورمالين بتركيز 10% لمدة ثلاث ساعات ثم اجريت عليها الخطوات التالية: الغسل، الانكاز، الترويق، التشريب والظمر، التشذيب والقطع بسمك 4-5 مايكروميتر، ثم صبغت باستخدام صبغة الهيماتوكسيلين

الدراسة والتي تهدف إلى معرفة إمكانية انتقال أنابيب الكربون بنوعها SWCNTs و MWCNTs إلى الكبد بعد حقنها داخل القصبية الهوائية والتغيرات المرضية في وظيفة الكبد من يتم تشخيص الضرر الذي يلحق بالكبد من خلال تقدير فعالية بعض الأنزيمات في مصلى الدم، منها أنزيم ناقل امين الانين ALT وناقل امين الاسبارتيت AST، لذا ركزت الدراسة الحالية على فعالية هذين الأنزيمين لأنهما يعدان مؤشر للضرر الذي تحدثه السموم في خلايا الكبد [11].

المواد وطرائق العمل**الحيوانات المستخدمة**

استخدم في هذه الدراسة 70 ذكراً من الأرانب *Oryctolagus cuniculus* من النوع النيوزلندي الأبيض، بوزن (1500-2000) غم، وبعمر (12-18) شهراً، تم الحصول عليها من الأسواق المحلية، ووضعت في أقفاص معدنية صنعت خصيصاً لهذا الغرض، وتحت ظروف ملائمة من درجة حرارة (25-28) م°، فترة إضاءة بمعدل 14 ساعة يومياً و تهوية جيدة، وقدمت العليقة القياسية والماء للأرانب باستخدام أواني مصنوعة من الألمنيوم بكميات متساوية ويتسلسل ثابت لجميع المعاملات.

أنابيب الكربون النانوية

جهزت مادة أنابيب الكربون النانوية مفردة SWCNTs و متعددة الجدار MWCNTs من شركة (Sigma-Aldrich) المملكة المتحدة) عن طريق الشركة العراقية للتقنيات الحياتية IRAQ *Biotech- Leading the Laboratory revolution* وحضر المحلول القياسي لأنابيب الكربون النانوية متعددة الجدر بتركيز 10ملغم/مل، وذلك بإذابة 70ملغم من المادة في 7مل من محلول الفوسفات المنظم PBS-1% Tween80، وأجري عليها عملية سحن ومجانسة باستخدام جهاز السحن الذاتي والمجانسة الكهربائية Hemogenizer والمصنع من شركة IKA-T10 Ultra Turrax الألمانية لمدة 30 دقيقة وبسرعة 400 دورة/دقيقة مع فترات توقف لمدة دقيقتين كل 5 دقائق، وكانت أنبوية الجهاز مغمورة في الثلج المبروش أثناء عملية المجانسة، ثم تم تعريضها إلى الترددات فوق الصوتية باستخدام جهاز الترددات فوق الصوتية [12]، وبعدها تم تحضير التراكيز 1 و 5 ملغم/مل من SWCNTs، والتراكيز 1 و 3 و 5 ملغم/مل من MWCNTs لغرض استخدامها في البحث.

تصميم التجربة**المحور الأول: تأثير أنابيب الكربون النانوية مفردة الجدار في الأرانب**

تم في هذا المحور استخدام 30 أرنباً قسمت إلى ثلاثة مجاميع عشوائياً وبواقع 10 أرانب لكل مجموعة، وبعد انتهاء المدة التمهيدية تم البدء بتجريع الأرانب بمادة أنابيب الكربون النانوية مفرد الجدار وعلى النحو التالي:

يوضح الجدول (2) فعالية أنزيم AST في مصل دم الأرانب النيوزلندية البيض لمجموعة السيطرة والمجاميع المجرعة بأنابيب الكاربون النانوية، إذ أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية في فعالية الأنزيم بطريقة معتمدة على الجرعة وفترة التجريب مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال ($P < 0.05$)، إذ بلغت أعلى نسبة زيادة في مصل دم الأرانب المجرعة بأنابيب SWCNTs بجرعة 5 ملغم/مل/كغم من وزن الجسم بعد مرور 90 يوماً من التجريب مساوية لـ 49%، بينما بلغت أعلى نسبة زيادة في مصل دم الأرانب المجرعة بأنابيب MWCNTs بجرعة 5 ملغم/مل/كغم من وزن الجسم وبعد مرور 90 يوماً من التجريب مساوية لـ 36%.

تعد تقدير فعالية أنزيمي ALT و AST مؤشرات مهمة لتقييم وظيفة خلايا بعض النسيج وخاصة الكبد، إذ يتواجد كليهما طبيعياً داخل الخلايا الكبدية والكولية والعضلية وغيرها، ويستدل من ارتفاع فعاليتها خارج الخلية على وجود اعتلال وظيفي أو وجود أذى لخلايا النسيج [15]، إذ تزداد فعالية أنزيم الـ ALT في الحالات الحادة ويكون متواجداً في ساييتوبلازم الخلايا، وهذا الأنزيم هو الأكثر تخصصاً للكبد، أما أنزيم الـ AST فيوجد بصورة رئيسية في المقدرات للخلايا، ففي حالة وصول الضرر لمقدرات الخلايا الكبدية فإن نسبة الـ AST تتجاوز نسبة الـ ALT [16] وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج العديد من الدراسات [16,17,18] إذ أشاروا إلى ارتفاع فعالية هذين الأنزيمين بزيادة تركيز أنابيب الكاربون النانوية، وان تجمع الدقائق النانوية في النسيج يؤدي إلى امتصاصها إلى داخل الخلايا واستقرارها في الاجسام الحالة للخلايا Lysosomes أو ساييتوبلازم الخلايا معتمداً على خصائص الدقائق النانوية [19]، فتأثير الدقائق النانوية يعتمد على الشكل والحجم والقطر [20]، وان تضرر خلايا الكبد وليس بالضرورة موت الخلايا يؤدي إلى تحرر هذه الأنزيمات إلى الدورة الدموية وبالتالي زيادة مستواها في الدم [21,22].

الجدول(1): تأثير جرع مختلفة من أنابيب الكاربون المفردة الجدار(SWCNTs) والمتعددة الجدار(MWCNTs) في فعالية أنزيم ALT (وحدة دولية / لتر) في مصل دم الأرانب المجرعة بعد مرور (7) و(90) يوماً.

90			** 7			فترة المعاملة (باليوم)	مجاميع المعاملة
% التغيير	% التركيز	الخطأ القياسي المعدل ±	% التغيير	% التركيز	الخطأ القياسي المعدل ±		
-	100	^a 1.40±30.18	-	100	^{bc} 0.91±42.52	مجموعة السيطرة	جرعة
34	134	^b 1.83±40.32	7	107	^{bc} 1.21±45.58	1	SWCNTs ملغم/مل/كغم من وزن الجسم
57	157	^c 3.63±47.40	35	135	^d 2.06±57.44	5	
-	100	^{ab} 2.65±39.08	-	100	^a 0.61±34.10	مجموعة السيطرة	جرعة
1	101	^{ab} 2.80±39.40	7	107	^a 0.43±36.48	1	MWCNTs ملغم/مل/كغم من وزن الجسم
23	123	^c 0.94±48.10	16	116	^{ab} 0.59±39.46	3	
47	147	^d 3.78±57.38	32	132	^{bc} 1.23±45.04	5	

* المعدل والخطأ القياسي هو لخمسة مكررات .

** الأرقام المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بينها عند مستوى احتمال ($P < 0.05$) والعكس صحيح بحسب اختبار دنكن (Duncan Test) .

والايوسين [14]، وأجري الفحص المجهرى باستخدام المجهر الضوئي ثنائي العدسات وتصويرها بكاميرا رقمية .

تقدير فعالية أنزيمي ALT و AST في مصل الدم

تم تقدير فعالية أنزيم ناقل أمين الالنين ALT وناقل امين الاسبارتيت AST باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية المنشأ، اعتماداً على الطريقة اللونية المتبعة من قبل [15]، وقيست شدة اللون عند الطول الموجي 505 نانومتر، وحددت فعالية الأنزيم مقدرة بالوحدة العالمية/ لتر بالاعتماد على المنحنى القياسي الخاص بعبدة التحليل الجاهزة المستخدمة لتقدير فعالية أنزيمي ALT و AST.

وتم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام اختبار دنكن Duncan عند مستوى معنوية ($p < 0.05$).

النتائج والمناقشة

تأثير أنابيب الكاربون النانوية في فعالية الأنزيمات الناقلة للأمين في مصل الدم

أنزيم ناقل الأمين الأالنين ALT

يبين الجدول(1) فعالية أنزيم ALT في مصل دم الأرانب النيوزلندية البيض المجرعة بأنابيب الكاربون النانوية ومجموعة السيطرة، أظهرت النتائج حدوث زيادة معنوية في فعالية أنزيم الـ ALT بطريقة معتمدة على الجرعة وفترة التجريب مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال $P < 0.05$ ، إذ كانت أعلى نسبة زيادة في دم الأرانب المجرعة بأنابيب SWCNTs بجرعة 5 ملغم/مل/كغم من وزن الجسم بعد مرور 90 يوماً من التجريب تساوي 57%، في حين بلغت أعلى نسبة زيادة في دم الأرانب المجرعة بأنابيب MWCNTs بجرعة 5 ملغم/مل/كغم من وزن الجسم بعد مرور 90 يوماً من التجريب تساوي 47%.

أنزيم ناقل الأمين الأسبارتيت AST:

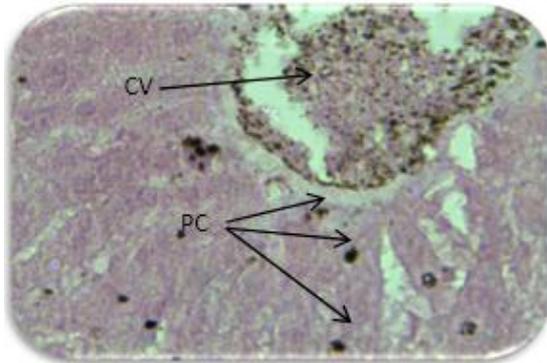
الجدول(2): تأثير جرعة مختلفة من أنابيب الكربون المفردة الجدار(SWCNTs) والمتعددة الجدار(MWCNTs) في فعالية أنزيم AST (وحدة دولية / لتر) في مصلى دم الأرناب المجرعة بعد مرور (7) و(90) يوماً

90			** 7			فترة المعاملة (باليوم)	مجاميع المعاملة
% التغير	% التركيز	المعدل ± الخطأ القياسي	% التغير	% التركيز	المعدل ± * الخطأ القياسي		
-	100	^b 1.17±24.88	-	100	^a 0.86±20.62	مجموعة السيطرة	جرعة SWCNTs
29	129	^c 0.68±32.08	5	105	^a 0.59±21.58	1	ملغم/مل/كغم من وزن الجسم
49	149	^d 1.03±37.00	32	132	^b 0.76±27.30	5	
-	100	^{ab} 0.43±30.84	-	100	^a 2.57±30.42	مجموعة السيطرة	جرعة MWCNTs
17	117	^{cd} 1.60±36.12	9	109	^{abc} 0.57±33.06	1	ملغم/مل/كغم من وزن الجسم
27	127	^{dc} 1.86 ±39.06	16	116	^{bcd} 0.39±35.16	3	
36	136	^e 2.14±41.92	26	126	^{de} 0.55±38.18	5	

* المعدل والخطأ القياسي هو لخمسة تكرارات .

** الأرقام المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بينها عند مستوى احتمال ($P < 0.05$) والعكس صحيح بحسب اختبار دنكن (Duncan Test).

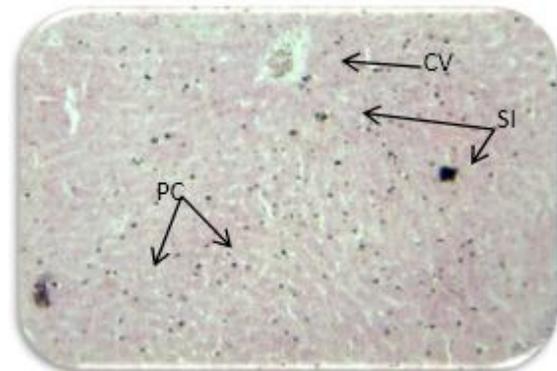
(MWCNTs) في الجيبانيات (SI) وخلايا كوفر(KC). صبغة الهيماتوكسيلين و الايوسين . قوة التكبير X400.



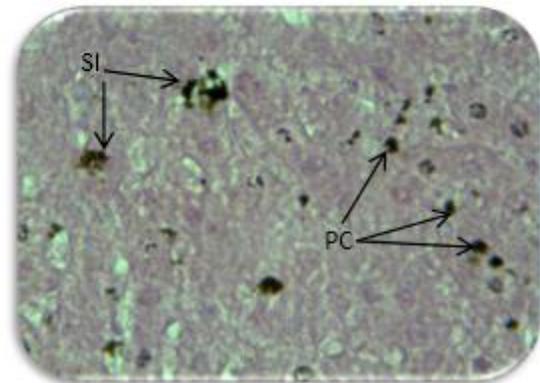
الشكل (3): مقطع عرضي في كبد أرنب مجرع بأنابيب MWCNTs بجرعة 1 ملغم/مل/كغم من وزن الجسم بعد 7 أيام، يظهر تجمعات للأنابيب على شكل كتل داكنة بداخل الوريد المركزي (CV) وخلايا كوفر (KC). صبغة الهيماتوكسيلين والايوسين . قوة التكبير X400.

ويمكن الافتراض بأن هذا التغيير في الموضع قد حدث عن طريق وصول الأنابيب إلى الدم ومنه إلى الكبد، علماً بأن هذه الدراسة لم تتضمن فحص الدم لوجود أنابيب الكربون النانوية. إن ألياف زبرجد الذهب Chrysotile fibers والتي يقع ضمن مدى سمك أنابيب MWCNT (20 نانوميتر) قد تم العثور عليها في الدم بعد تناولها عن طريق الفم [23]. يضاف إلى هذا فقد تم تسجيل كون الألياف تغير موضعها إلى حيز الجنبية Pleural space ويرتبط وجودها في هذا الموضع مع نمو وتطور ورم الطبقة المتوسطة [24,25] ولا توجد معلومات عن مدى تغيير موضع أنابيب الكربون النانوية بعد وصولها وترسيبها في الرئتين [26]. لذا فإن الدراسة الحالية يمكن أن تكون الأولى التي تسجل تغيير موضع أنابيب الكربون النانوية من الرئتين إلى حيز الجنبية. أما تغيير موضع أنابيب الكربون

كما تم في هذه الدراسة أيضاً تسجيل تغيير موضع أنابيب الكربون النانوية من الرئتين إلى الكبد كما في الأشكال (1 و 2 و 3).



الشكل(1): مقطع عرضي في كبد أرنب مجرع بأنابيب MWCNTs بجرعة 1 ملغم/مل/كغم من وزن الجسم بعد 7 أيام، يظهر ترسب الأنابيب على شكل كتل سوداء اللون في الوريد المركزي (CV) والجيبانيات (SI) وفي خلايا كوفر (KC). صبغة الهيماتوكسيلين والايوسين . قوة التكبير X400.



الشكل(2): مقطع عرضي في كبد أرنب مجرع بأنابيب MWCNTs بجرعة 1 ملغم/مل/كغم من وزن الجسم بعد 7 أيام، يوضح ترسبات سوداء اللون

[27] شكل الكبد الموضع الرئيس للترسب (80% من جرعة أنابيب MWCNT) وقيمت الأنابيب بدون تغير لمدة 28 يوم بعد التعريض. وفي الكبد فقد احدث وجود أنابيب الكاربون النانوية تنكس فجوي Vacuolar degeneration ونخر Necrosis الخلايا الكبدية . هذا الأذى الكبدي تم تسجيله أيضاً في بحوث أخرى [16,28].

- 1- Bakand, S.H.; Hayes, A. and Dechsakulthorn, F. (2012). Nanoparticles: a review of particle toxicology following inhalation exposure. *Inhalation Toxicol.*, 24(2): 125-135.
- 2- Lam, C-W; James, J.T.; McCluskey, R.; Arepalli, S. and Hunter, R.L. (2006). A review of carbon nanotube toxicity assessment of potential occupational and environmental health risks. *Crit Rev. Toxicol.*, 36: 189 -217.
- 3- Joo, J.; Lee, M.; Bae, S. and An.S.S.(2013). Blood biomarkers: from nontoxicity to neurodegeneration. *SPIE Newsroom 12 DOI: 10. 1117/2. 120/30/. 004544.*
- 4- العبيدي، ايداد محمد علي فاضل. (2012). التقنية الحياتية النانوية وتطبيقاتها المتقدمة في الطب والهندسة الوراثية وعلم الاحياء الجزيئي. الطبعة الأولى، دار الكتب والوثائق، بغداد، 224.
- 5- Shinde, S.K.; Gramparohit, N.D.; Gaikwad, D.D.; Jadhav, S.L.; Gadhave, M.W. and Shelke, P.K. (2012). Toxicity induced by nanoparticles. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* (2012) 331-334.
- 6- Chen, Z.; Meng, H.; Xing,G.; Zhao, Y.; Jia, G.; Yuan, H.; Ye, C.; Chai,Z.; Zhu, C.; Fang, X.; Ma, B. and Wan, L. (2006). Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. *Toxicol. Lett.*, **163**: 1090-1120.
- 7- Geze, A.; Chau, L.T.; Choisnard, L.; Mathieu, J.P.; Marti-Batle, D.; Riou, L.; Putaux, J.L. and Wouessidjewe, D. (2007). Biodistribution of intravenously administered amphiphilic β -cyclodextrin nanospheres. *International J. pharma.*, 344:135-142.
- 8- Jain, T.K.; Reddy, M.K.; Morales, M.A.; Leslie-Pelecky, D.L. and Labhasetwar, V.(2008). Biodistribution, clearance and biocompatibility of iron oxide magnetic nanoparticles in rats. *ASAP Mol. Pharma.*, 10:1021.
- 9- Kamruzzaman, S.K.M.; Ha, Y.S.; Kim, S.J.; Chang, Y.; Kim, T.J.; Ho-Lee, G. and Kang, I.K. (2007). Surface modification of magnetite nanoparticles using lactobionic acid and their interaction with hepatocytes. *Biomaterials*, 28:710-716.
- 10-Sadauskas, E.; Wallin, H.; Stoltenberg, M.; Vogel, U.; Doering, P.; Larsen, A. and Danscher, G. (2007). Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. *Part. Fiber. Toxicol.*, 4(10):1-7.
- 11-Chopra, S.(2002)Pattern of plasm aspartate and alanine aminotransferase levels with and without liver disease. Website: [Http://www.wptodate.com](http://www.wptodate.com)

النانوية من الرنتين إلى الكبد، والذي تم تسجيله في الدراسة الحالية فهو نتيجة مماثلة لتلك المسجلة من قبل الباحثين [27] والذين سجلوا تجمع MWCNT في الكبد والقلب والرنتين بعد عشر دقائق من إعطائها بثلاثة طرائق: الحقن بداخل الوريد والتقطير بداخل الرغامي والتغذية الأنبوبية (عن طريق الفم) gavage. في دراسة الباحثين

المصادر

- 12-Warheit, D.B.; Laurence, B.; Reed, K.L.; K.L. ; Roach, D.; Reynolds, G.; and Webb. T. (2004). Comparative pulmonary toxicity assessment of single – wall carbon nanotubes in rats . *Toxicol. Sci.*, 77 (1): 117.
- 13-Tkach, A.V.; Shurin, G.V.; Shurin , M.R.; Kisin, E.R.; Murray , A.R.; Young, S-H; Star, A.; Fadeel , B.; Kagan, V.E. and Shvedova, A.A. (2011). Direct effects of carbon nanotubes on dendritic cells induce immune suppression upon pulmonary exposure . *ACS Nano.*, 5(7): 5755-5762.
- 14- الحاج، حميد احمد (2010). التحضيرات المجهرية الضوئية(النظرية والتطبيق). دار المسيرة للطباعة، عمان، الاردن.
- 15-Reitman, S. and Frankel, S.(1957). A colorimetric method for the determination of serum GoT and GPT, *Amer. J. clin. Path.*, 28:56-63.
- 16-Patlolla , A.K.; Berry , A. and Tchounwou, P.B. (2011). Study of hepatotoxicity and oxidative stress in male Swiss-Webster mice exposed to functionalized multi-walled carbon nanotubes . *Mol. Cell Biochem.*, 358: 189-199.
- 17-Lacerda, L.; Ali_ Boucetta, H.; Herrero, M.A.; Pastor in, G; Bianco, A.; Prato, M. and Kostarelos, K. (2008). Tissue histology and physiology following intravenous administration of different types of functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Nanomedicine*, 3(2):149-161.
- 18-Ji, z.; zhang, D.; Li, L.; Shen, X.; Deng, X.; Dong, L.; Wu, M. and Liu, Y.(2009). The hepatotoxicity of multi- walled carbon nanotubes in mice. *Nanotechnology*. 20:445101-445109.
- 19-Fazilati, M. (2013). Investigation toxicity properties of Zinc oxide nanoparticles on liver enzymes in male rat. *Euro. J. Exp. Bio.*, 3(1): 97-103.
- 20-Moudgi, B.M. and Robert, S.M. (2006). Designing a strategies for safety evaluation of nanomaterials. Partnano-interface in a microfluidic chip to probe living VI. Characterization of nanoscale particles for cells: challenges and perspectives. *Toxicol. Scie. USA*, 103:6419-6424.
- 21-Limdi, J.K and Hyde, G.M (2003). Evaluation of abnormal liver functions tests postgrad Med. J, 79: 307-312.
- 22-Gavanji, S.; Sayedipour, S.S.; Doostmohammadi, M. and Larki, B. (2014). The effect of different concentrations of silver nanoparticles on enzyme activity and liver tissue of adult male wistar rats *In vivo* condition. *IJSRPUB*, 2(4):182-188.
- 23-Weinzwieg, M. and Richards, R.J. (1983). Quantitative assessment of chrysotile fibrils in the

bloodstream of rats which have ingested the mineral under different dietary conditions. *Environ. Res.*, 31(2): 254-255.

24- Viallat, J-R; Raybuad, F.; Passarel, M. (1986). Pleural migration of chrysolite fibers after intratracheal injection in rats. *Arch. Environ. Hlth.*, 5: 282 – 286.

25- Gelzleichter, T.R.; Bermudez, E.; Mangum, H.B.; Wong, B.A.; Janzen, D.B. Moss, O.R. and Everitt, J.I. (1999). Comparison pulmonary and pleural responses of rats and hamsters to inhaled refractory ceramic fibers. *Toxicol. Sci.*, 49: 93-101.

26- Donaldson, K.; Aitken, R.; Tran, L. Stone, V.; Duffin, R.; Forrest, G. and Alexander, A. (2006). Carbon nanotubes: a review of their properties in

relation to pulmonary toxicology and workplace safety *Toxicol. Sci.*, 92 (1): 5-22.

27- Deng, X.; Jia, G.; Wang, H.; Sun, H.; Wang, X.; Yang, S. (2007). Translocation and fate of multi-walled carbon nanotubes in vivo. *Carbon*, 45: 1419-1424.

28- Poulsen, S.; Saber, A.t.; Mortensen, A.; szarek, J.; Wu, D.; Williams, A.; Andersen, O.; Jacobsen, N.R.; Yauk, G.L.; Wallin, H., Halappanavar, S. and Vogel, U. (2015). Changes in cholesterol homeostasis and acute phase response link pulmonary exposure to multi-walled carbon nanotubes to risk of cardiovascular disease. *Toxicol. Appl. Pharma.*, 283:210-222.

Effect of different concentration of Single and Multi -Walled Carbon Nanotubes in liver texture and hepatic enzymes in the New Zealand white rabbit

Farah M. Ghazal¹, Muna H. Jankeer², Hafidh I. Al-Sadi³

¹Basic Science of Nursing, College of Nursing, Mosul University, Mosul, Iraq

²Biology Department, College of Science, Mosul University, Mosul, Iraq

³Pathology Department, College of Dentist, Mousl University, Mousl, Iraq

Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of variable doses of single and multiwalled carbon nanotubes (SWCNTs and MWCNTs) instilled intratracheally on texture of liver and hepatic enzymes ,alanine amino transferase (ALT) and aspartate amino transferase (AST) in New Zealand white rabbits. In this study was used 70 males New Zealand white rabbits, their ages range between (12-18 months) divided into seven groups, ten for each group which instilled with Nanoparticles, At days 7 and 90 post exposure, The blood and tissue samples were collected for each group.

Instillation of SWCNTs (1 or 5 mg/ml/kg (b.w) or MWCNTs (1,3or 5 mg/ml/kg b.w) in the trachea of rabbits induced a significant increase in activity of ALT and AST.

Translocation of carbon nanotubes was seen from the lungs to the liver. It was concluded that: SWCNTs and MWCNTs induced hepatic injuries through its effect in activity of hepatic enzyme and the nanotubes translocated from the lung to the liver and pleura.