

## تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک قلب جنین موش سوری

مریم قاسمی همای<sup>۱</sup>، غلامرضا شریفی<sup>۱، ۲</sup>، فرزانه تقیان<sup>۲</sup>، مهرداد مدرس<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** با توجه به شیوع بیماری‌های قلبی مادرزادی، مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی تأثیر تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک جنین موش سوری انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۰ سر موش سوری ماده با میانگین وزنی  $30 \pm 5$  گرم به طور تصادفی در چهار گروه ۱۰ تایی (تمرین استقامتی، تزریق نانوذره نقره، تمرین استقامتی همراه تزریق نانوذره نقره و شاهد) قرار گرفتند. گروه تمرین استقامتی، قبل از بارداری به مدت ۱۱ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین با شدت ۳۰-۶۵ درصد بیشینه‌ی توان، بین ۵-۵۰ دقیقه به دویدن روی تردمیل پرداختند. سپس، بارداری انجام و سه هفته‌ی دیگر، موش‌های باردار با شدت ۲۰-۶۰ درصد بیشینه‌ی توان روی تردمیل دویدند. گروه دوم، از روز دوم بارداری به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدنشان به صورت درون صفاقی، نانوذره نقره را دریافت نمودند. گروه سوم، تمرین و تزریق را همانند دو گروه دیگر دریافت کردند. گروه شاهد فعالیت‌ی نداشتند. در روز نوزدهم بارداری، خون‌گیری از مادر انجام و میزان تروپونین T سرمی خون مادر، اندازه‌گیری شد و برای ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژی، قلب جنین استخراج و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد.

**یافته‌ها:** سطح تروپونین T در گروه‌های تجربی کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). در گروه نانوذره نقره و گروه تمرین استقامتی، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد دیده شد. کمترین میزان آسیب بافتی قلب جنین در گروه تمرین استقامتی و بیشترین میزان آسیب در گروه شاهد وجود داشت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این مطالعه، تمرین استقامتی باعث کاهش سطح تروپونین T سرمی و کمترین میزان آسیب بافتی قلب جنین موش سوری می‌شود. همچنین، نانوذره نقره، باعث کاهش تروپونین و آسیب بافت قلبی جنین موش سوری می‌شود.

**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی، نانوذره نقره، تروپونین T، هیستوپاتولوژی، جنین

**ارجاع:** قاسمی همای، شریفی غلامرضا، تقیان فرزانه، مدرس مهرداد. تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک قلب جنین موش سوری. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۹): ۹۸۱-۹۷۳

### مقدمه

طوری که از هر ۱۰۰۰ جنین، حدود ۱۲ نفر آن‌ها به نقص مادرزادی قلبی مبتلا می‌باشند (۲).

قلب، یکی از مهم‌ترین دستگاه‌های بدن جنین است. تشکیل این عضو، تحت تأثیر عوامل محیطی مانند آب و هوا، تغذیه و فعالیت روزانه‌ی مادر می‌باشد (۳). از مواردی که تشکیل قلب جنین را تهدید می‌کند، افزایش آلاینده‌ها، ذرات معلق در هوا و مواد آرایشی است که مادر استفاده می‌کند (۴). نتایج مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد

دوران بارداری، دوران خاصی از زندگی یک زن به شمار می‌رود؛ چرا که سلامتی و بهداشت مادر در این دوران، موجب تولد نوزاد سالم می‌شود (۱). از جمله مشکلات بارداری، افزایش فشار خون و دیابت است که در نهایت، منجر به بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود. در حال حاضر، تعداد بیماران مبتلا به مشکلات قلبی در طول دوره‌ی حاملگی و همچنین، نقص مادرزادی قلبی در حال افزایش می‌باشد؛ به

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: غلامرضا شریفی

Email: gre\_sharifi@yahoo.com

که قرار گرفتن در معرض آلاینده‌ها، به احتمال زیاد، موجب تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۵).

از جمله ذرات معلق در هوا نیز می‌توان به نانوذرات اشاره نمود. این ذرات، با اندازه‌ی تقریبی ۱۰۰-۱ نانومتر هستند و بخشی از آن، از طریق استنشاق وارد دستگاه تنفس و سپس وارد دستگاه قلبی-عروقی می‌شود (۶). نانوذرات نقره، یکی از پرکاربردترین و معروف‌ترین محصولات نانوفن‌آوری به شمار می‌رود (۷). علاوه بر این، ویژگی ضد میکروبی نانوذره‌ی نقره نیز باعث ورود این محصول در بخش بهداشت و مواردی نظیر تولید صابون‌ها، مواد آرایشی، خمیر دندان، دئودورانت و حتی تولیدات غذایی شده است (۸). اگر چه نانوذرات نقره دارای مزایا و کاربردهای فراوانی هستند، اما آثار مخرب آن‌ها نیز گزارش شده است؛ به طوری که مطالعات انجام شده در سال ۲۰۱۳، نشان داد که قرارگیری در معرض ذرات کمتر از ۲/۵ میکرون، باعث مرگ ۲/۹ میلیون نفر در سال شده است (۹). مطالعات منتشر شده درباره‌ی اثرات سمی نانوذرات نقره در سیستم‌های زیستی نظیر ویروس‌ها، باکتری‌ها و سلول‌های بنیادی، نتایج مختلف و حتی متناقضی را گزارش می‌دهند (۱۰). شایان ذکر است که به دلیل وجود نانوذرات نقره در صنعت و لوازم آرایشی و بهداشتی، مادران باردار در معرض خطرات احتمالی آن می‌باشند. نانوذرات با افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن داخل سلولی و افزایش احتمالی عوامل پیش التهابی نظیر Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )، اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۱، باعث ایجاد سمیت سلولی می‌شوند (۱۱).

اثرات سمیت نانوذرات، باعث آلرژی، فیبروز، رسوب در اندام‌ها (ایجاد نقص و نارسایی در اعضا)، التهاب، اختلال در میتوکندری، آسیب بافتی و آسیب DNA می‌شود (۱۲). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که نانوذرات خیلی کوچک، قادرند به میتوکندری وارد شوند، نفوذپذیری غشای آن‌ها را تغییر دهند و با تولید گونه‌های اکسیژن آزاد، آنزیم‌های سلولی را غیر فعال کنند. این ویژگی‌ها، ممکن است تأثیرات منفی بر سلامتی و محیط داشته باشد و منجر به سمیت بالای نانوذره شود. برخی شواهد، نشان می‌دهد که فشار استرس اکسیداتیو، اثر تخریبی خود بر سلول‌ها را از طریق ایجاد اختلال در مسیرهای پیام‌رسانی (Signaling) درون سلولی آپوتوز ایجاد می‌نماید (۱۳). در حالت عادی، سیستم دفاعی بدن توان خنثی کردن این رادیکال‌های آزاد شده را دارد، اما عوامل مخرب محیطی نظیر آلودگی هوا و مواد شیمیایی، باعث می‌شوند بدن نتواند با این رادیکال‌های آزاد مبارزه کند. از سوی دیگر، نوع سوخت و ساز جنین به شکلی است که این رادیکال‌های آزاد را تولید می‌کند. بنابراین، وضعیت تغذیه و شرایط محیطی بر روی رشد و تشکیل اعضای جنین نقش مهمی دارد (۱۴). به عقیده‌ی بیشتر محققان، تشکیل کامل جنین به سبک زندگی و

شرایط محیطی نظیر کالری دریافتی، نوع آن، فعالیت بدنی مادر و محیطی که مادر در آن فعالیت می‌کند، بستگی دارد (۱۵). همچنین، فعالیت‌های جسمانی از طریق افزایش حجم پلاسمای مادر و جنین و برون‌ده قلبی و افزایش جریان خون رحمی-جفتی-جنینی، می‌تواند بر رشد دستگاه‌های جنین مؤثر باشد (۱۶).

امروزه، با شناسایی نشانگرهای زیستی جدید که نشانگر آسیب عروقی، نکروز بافتی و التهاب هستند، می‌توان از آسیب‌های شدید قلبی جلوگیری کرد. در مطالعه‌ی انجام شده توسط کاردیولوژیست‌های امریکا، نشان داده شد که وضعیت بیماری‌های قلبی در زنان باردار روی سلامت جنین آن‌ها تأثیرگذار است (۱۷).

بهترین نشانگر زیستی برای آسیب‌های قلب در بزرگسالان، تروپونین قلبی (I یا T) است که دارای ویژگی به طور تقریبی مطلق برای بافت قلب و حساسیت بالا حتی در مناطق میکروسکوپی نکروز قلب است (۱۸). مجموعه‌ی تروپونین، شامل سه زیر واحد تروپونین است؛ تروپونین T که به تروپومیزین متصل می‌شود و به انقباض عضله‌ی قلب کمک می‌کند، تروپونین I که به آکتین متصل می‌شود و تروپونین C که به یون‌های کلسیم پیوند می‌دهد. تروپونین‌های قلبی (I یا T)، به علت آسیب سلول‌های قلب ایجاد می‌شوند و حساسیت خاصی به آسیب میوکارد دارند. از آن جای که تروپونین I از گردش خون سریع‌تر از تروپونین T پاک‌سازی می‌شود، بنابراین به عنوان یک نشانگر زیستی برای آسیب‌های قلبی کمتر مورد پژوهش قرار می‌گیرد (۱۹).

این شاخص، به دنبال فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز طولانی مدت در نمونه‌های انسانی و حیوانی مانند مقادیر سرمی این شاخص پس از سکنه‌های قلبی، افزایش می‌یابد (۲۰). اگر چه ساز و کارهای دخیل در ره‌ایش تروپونین T قلبی به سرم پس از فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز طولانی مدت به طور دقیق مشخص نیستند، اما بدون شک، یکی از عوامل اصلی این رخداد، بروز فشار اکسایشی ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی بیش از ظرفیت دفاع ضد اکسایشی سلول‌های عضلانی قلب به دلیل افزایش جریان خون قلب (بیش از ۴ برابر وضعیت استراحت)، افزایش استخراج اکسیژن سلول‌های قلبی از مویرگ‌ها، هیپوکسی، کاهش منابع گلیکوژن، تغییرات درجه‌ی حرارت و pH و در انتها، بر هم خوردن هم‌مستاز یون کلسیم سلول‌های قلبی می‌باشد (۲۱).

بنابراین، جهت درک بهتر تأثیر فعالیت‌های بدنی بلند مدت و قرار گرفتن مادر در معرض نانوذره‌ی نقره در دوره‌ی بارداری و پی بردن به این که آن‌ها چگونه تأثیرات زیستی زیان‌بار خود را القا می‌کنند، در پژوهش حاضر، اثر سمیت نانوذرات نقره‌ی ۲۰ نانومتری بر تغییرات ساختاری و پساتوبیولوژیکی قلب بررسی شد. همچنین، محقق به دنبال پاسخ به این پرسش بود که

برای بارداری قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت، پلاک واژنی جهت بارداری بررسی شد و روز یک بارداری اعلام گردید. گروه‌های تمرین پس از انجام مراحل بارداری، به مدت ۱۹ روز دیگر و هر هفته ۵ روز با شدت ۶۰-۲۰ درصد بیشینه‌ی توان موش‌ها، ۴۰-۵ دقیقه بر روی تردمیل به تمرین پرداختند (۲۲). در طول مدت پژوهش، موش‌های گروه شاهد در هیچ فعالیتی شرکت نداشتند. گروه‌های مصرف نانوذره، از روز ۱۹-۲ بارداری، به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم نانوذره‌ی نقره (uS1038 Silver Nanopowder) ساخت امریکا (Ag, 99.99%, 20nm, metal basis) stok#:us1038,cas#:7440-22-4 Nanopowder به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با آب مقطر مخلوط و به صورت درون صفافی با سوزن انسولین نانوذره تزریق شد (۲۳). جهت محلول‌سازی و همگن نمودن نانوذره‌ی نقره با آب مقطر، از مگنت برقی مدل Stirrer 110 ساخت شرکت Alfa کشور آلمان و برای حل شدن بهتر در آب و به دست آمدن محلول همگن از تلاطم مغناطیسی با شتاب ۹۰۰ دور در دقیقه استفاده شد.

در روز ۱۹ بارداری، خون‌گیری از مادر انجام شد. سطح تروپونین T سرمی، توسط کیت آزمایشگاهی CK-E30019 ساخت کشور امریکا با توجه به دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده اندازه‌گیری شد. خون گرفته شده، بدون ماده‌ی ضد انعقاد درون لوله‌ی آزمایش ریخته و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور مدل Germany, Memmert (INB400) در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله‌ها در دستگاه سانتریفیوژ مدل EBA280 (Germany, Hettich) به مدت ۱۲ دقیقه با شتاب ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس، سرم خون با استفاده از سمپلر جدا و به لوله‌ی آزمایش دیگری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد و سطح تروپونین T سرمی با توجه به دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده اندازه‌گیری شد.

همچنین، برای ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژی، ابتدا موش‌ها با کلروفورم بیهوش شدند و با شکاف در ناحیه‌ی شکمی، جنین‌ها خارج شدند. آن‌گاه، در زیر میکروسکوپ شکافی در قفسه‌ی سینه جنین ایجاد گردید و قلب جنین آن استخراج شد. قلب جنین‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد و پس از طی مراحل آماده‌سازی بافتی، با استفاده از دستگاه اتونکنیکون، بلوک‌های پارافینی تهیه و به وسیله‌ی دستگاه میکروتوم مقطعی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و روی لام قرار گرفت. لام‌های به دست آمده، به روش همتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی و در نهایت توسط لامل Nikon مجهز به دوربین عکس برداری دیجیتال با بزرگ‌نمایی  $\times 400$  عکس برداری شد و تغییرات ایجاد شده در اثر القای نانوذره‌ی نقره

«آیا با بررسی سطح تروپونین T سرمی خون مادر می‌توان به آسیب قلب جنین پی برد؟». بنابراین، سطوح تروپونین T سرمی، در راستای تأیید هیستوپاتولوژی جنین موش سوری باردار مورد مطالعه قرار گرفت.

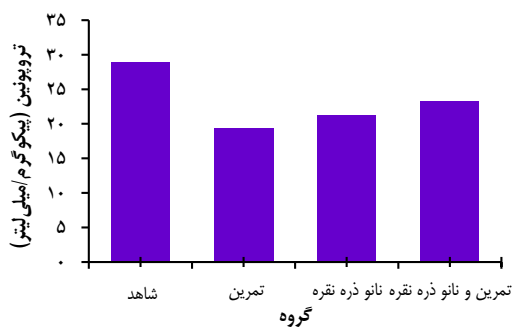
## روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۰ سر موش سوری ماده با میانگین وزنی  $5 \pm 30$  گرم از مرکز انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. موش‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه حیوانات، به منظور سازگاری با شرایط و محیط جدید، به مدت یک هفته در قفس‌های مخصوص نگهداری حیوانات، در محیطی با دمای ۲۴-۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵-۴۵ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. شایان ذکر است که طرح تحقیق بر اساس دستورالعمل‌های نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی آکادمی ملی علوم اجرا شد. موش‌های آزمایشگاهی با غذاهای تولید انستیتو پاستور کرج به صورت پلت تغذیه شدند؛ به طوری که روزانه به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، ۱۰ گرم پلت مصرف کردند. حیوانات در پایان هر هفته وزن‌کشی می‌شدند. میزان غذای حیوانات با توجه به وزن‌کشی هفتگی در هر قفس قرار داده شد. همچنین، موش‌ها روزانه به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، به ۱۲-۱۰ میلی‌لیتر آب نیاز داشتند. در این پژوهش، آب مورد نیاز هر حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آن‌ها قرار داده شد. پس از سازگاری اولیه با محیط آزمایشگاه، حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه ۱۰ تایی (تمرین استقامتی، تزریق نانوذره‌ی نقره، تمرین استقامتی همراه با تزریق نانوذره‌ی نقره و گروه شاهد) قرار گرفتند.

جهت سنجش سرعت بیشینه‌ی دویدن موش سوری بر روی تردمیل، ابتدا سرعت تردمیل به روی ۱۸ متر/دقیقه تنظیم و هر یک دقیقه به مقدار ۱ متر/دقیقه افزایش داشت، تا آن جایی که دیگر موش سوری قادر به دویدن نبود. این شیوه‌نامه، سه مرتبه انجام شد و میانگین سرعت به دست آمده، به عنوان سرعت دویدن بیشینه (۳۲ متر/دقیقه)، مد نظر قرار گرفت. در انتهای تردمیل، یک شوکر برای جلوگیری از توقف موش‌ها تعبیه شده بود. البته، این شوکر برای قبل از دوران بارداری بود و در دوران بارداری از شوکر برای توقف موش‌ها استفاده نشد.

پس از آشنایی با تردمیل، حیوانات در گروه‌های تمرین به مدت ۱۱ هفته، هر هفته ۵ جلسه با شدت ۶۵-۳۰ درصد بیشینه‌ی توان موش‌ها، ۵۰-۵ دقیقه به تمرین روی تردمیل پرداختند. در ابتدای هفته‌ی دوازدهم، هر موش ماده همراه با یک موش نر در یک قفس

بود و در مقایسه با سایر گروه‌ها، کمترین میزان آسیب بافتی در گروه تمرین استقامتی مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۱. میزان متغیر تروپونین T در چهار گروه مورد مطالعه (پیکوگرم/میلی‌لیتر)

همچنین، نتایج مطالعه‌ی هیستوپاتولوژی نشان داد که تزریق درون صفاقی نانوذره نقره با اندازه‌ی ۲۰ نانومتر به موش سفید آزمایشگاهی، بر روی بافت قلبی اثر گذاشت و باعث پرخونی، نکروز، اینفیلتریشن سلول‌های آماسی و دژنراسانس واکوئلی آپوپتوز و هموراژی یا خونریزی بین بافتی شد و از بین جنین‌ها، تنها یک عدد جنین باقی ماند و بقیه سقط شدند (شکل ۳). گروه تمرین استقامتی همراه با نانوذره نقره، با تغییرات پاتولوژیک نظیر پرخونی، نکروز و اینفیلتریشن سلول‌های آماسی و آپوپتوز سلولی و هموراژی یا خونریزی بین بافتی همراه بود (شکل ۴). آسیب‌شناسی بافتی قلب در موش‌های گروه شاهد با بیشترین میزان تغییر پاتولوژیک نظیر فیبروز، فیلتراسیون لنگوسیتی، آپوپتوز سلولی و هموراژی یا خونریزی بین بافتی همراه بود (شکل ۵).

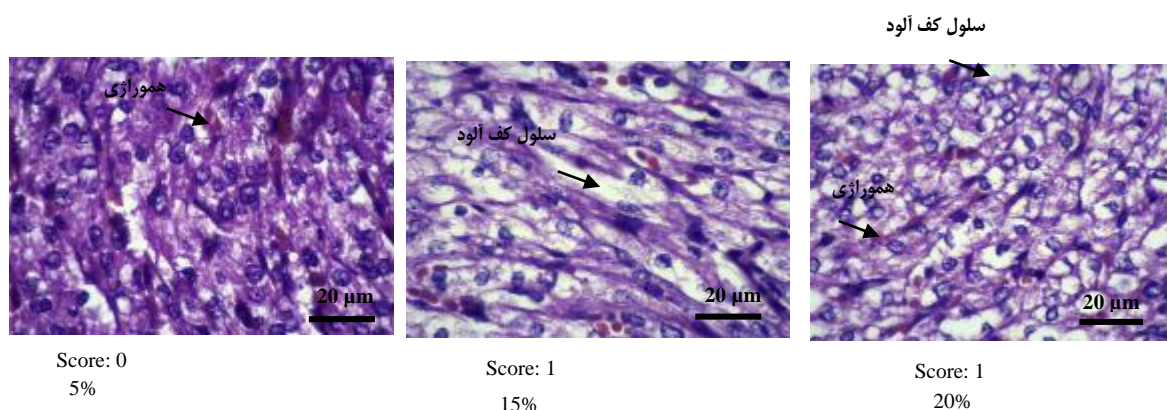
در بافت قلب جنین‌ها شامل تغییر شکل کاردیوسیت‌ها، تغییرات صفحات بینابینی و رشته‌های پورکنز، التهاب و پرخونی در عروق مورد بررسی بافتی در مقایسه با گروه کنترل قرار گرفت.

در این مطالعه، کلیه‌ی موارد اخلاقی در پژوهش رعایت شده است و تمامی اعمال جراحی و نمونه‌گیری‌ها تحت بیهوشی کامل انجام شد. همچنین، سعی شده است از کمترین تعداد نمونه‌ی قابل قبول استفاده شود. لازم به ذکر است ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1397.253 در سال ۱۳۹۷ مورد تصویب قرار گرفت.

**تجزیه و تحلیل آماری:** در ابتدا، به منظور بررسی توزیع طبیعی داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد و برای مقایسه‌ی متغیرهای تروپونین T سرمی و در بین گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون ANCOVA و least significant difference (LSD) استفاده گردید. نتایج به دست آمده به همراه محاسبات آماری مربوط، به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شدند. تمام آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) و در سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  انجام شد.

#### یافته‌ها

نتایج این پژوهش در شکل ۱ نشان داد که سطح تروپونین T در گروه‌های تجربی کاهش یافت؛ به طوری که سطح تروپونین T در گروه نانوذره نقره و گروه تمرین استقامتی، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد دیده شد ( $P < 0/05$ ). نتایج بررسی در گروه تمرین استقامتی، با آپوپتوز سلولی و هموراژی یا خونریزی بین بافتی همراه



شکل ۲. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه تمرین استقامتی

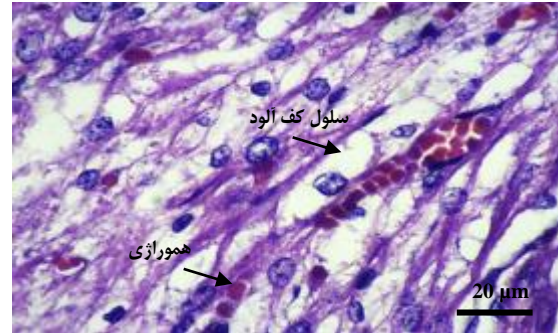
در نظر گرفته می‌شود.

### بحث

در سال‌های اخیر، با پیشرفت فن‌آوری نانو و علم مواد، نانوذرات به طور گسترده تولید شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند. هم‌زمان با افزایش استفاده از نانوذرات، مردم به طور روزافزونی در معرض خطر انواع نانوذرات تولید شده قرار می‌گیرند. در پژوهش حاضر، تأثیر چهارده هفته تمرین استقامتی و تزریق نانوذره نقره در دوران بارداری بر سطح تروپونین T سرمی مادر و شاخص هیستوپاتولوژیک جنین موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، سطح تروپونین T در گروه‌های تجربی کاهش یافت که در مقایسه‌ی بین گروهی اختلاف معنی‌داری بین گروه نانوذره نقره و گروه تمرین استقامتی با گروه شاهد دیده شد ( $P < 0/05$ ).

Legaz-Arrese و همکاران، تأثیر شدت‌های متفاوت تمرین را بر نشانگرهای زیستی قلبی ۱۴ دهنده‌ی ماراتن بررسی کردند. پس از دویدن با ۸۵ درصد آستانه‌ی بی‌هوایی، تروپونین تفاوت معنی‌داری نداشت، اما پس از دویدن با ۹۵ درصد آستانه‌ی بی‌هوایی، میزان تروپونین افزایش یافت. افزایش تروپونین می‌تواند نشانه‌ی تجزیه‌ی بافت قلبی باشد. این افزایش‌ها، نوعی پیش‌آگهی منفی به شمار می‌روند (۲۴). نتایج تحقیق حاضر، با یافته‌های پژوهش Williams و همکاران همسو نمی‌باشد (۲۵).

افزایش کار قلب، می‌تواند به طور موقت فرایند یکنواخت آپوپتوز و بازسازی میوکارد را تسریع کند. میزان خیلی کم آسیب قلبی و بازسازی به دنبال آن، بخشی از فرایند طبیعی میوکارد است و سبب افزایش موقت سطوح تروپونین T سرم پس از فعالیت می‌شود که این افزایش را می‌توان به اختلال کلیه‌ها در پاک‌سازی تروپونین گردش خون نسبت داد؛ چرا که در هنگام انجام فعالیت، جریان خون در ناحیه‌ی شکم و کلیه‌ها به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۶).



Score: 3  
55%

شکل ۳. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه نانوذره نقره

به منظور ارزیابی بافت‌های مورد بررسی، معیارهای ارزیابی دسته‌بندی شدند. بر این اساس و مطابق با معیارهای موجود، درجه‌بندی بافتی انجام شد. درجه‌بندی به صورت ۴-۰ با تعاریف زیر در نظر گرفته شد:

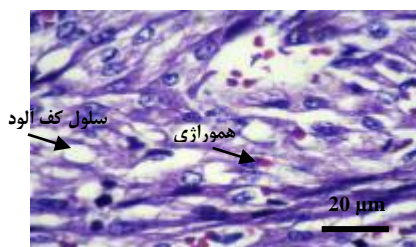
۰- بدون فیبروز، بدون فیلتراسیون لنفوسیتی، بدون سلول‌های کف‌آلود که نشان دهنده‌ی سلول آپوپتوز شده است، بدون هموراژی یا خونریزی بین بافتی

۱- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۲۵ درصد از بافت. در صورت وجود دو عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۲۵-۰ درصد در نظر گرفته می‌شود.

۲- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۵۰ درصد از بافت. در صورت وجود دو عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۵۰-۲۵ درصد در نظر گرفته می‌شود.

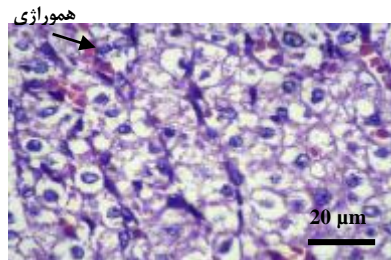
۳- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۷۵ درصد از بافت. در صورت وجود ۳ عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۷۵-۵۰ درصد در نظر گرفته می‌شود.

۴- داشتن هر یک از موارد تا حدود ۱۰۰ درصد از بافت. در صورت وجود هر عامل از موارد پیش‌گفته، درجه بین ۱۰۰-۷۵ درصد



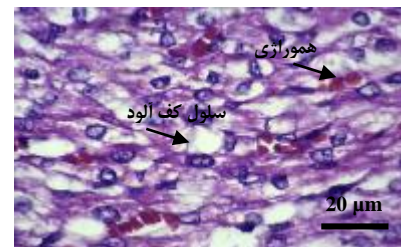
Score: 3  
50%

نمونه‌ی ۳



Score: 4  
70%

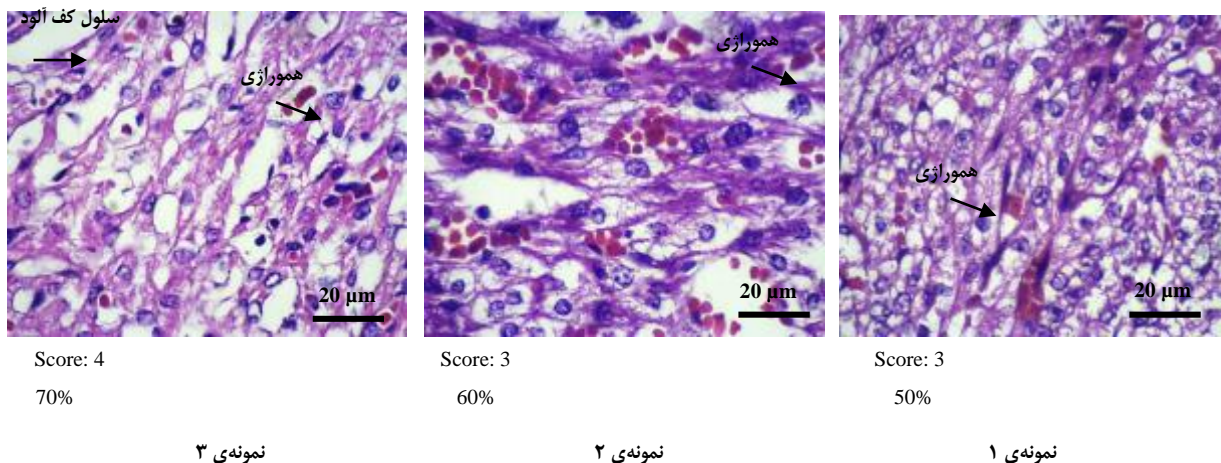
نمونه‌ی ۲



Score: 3  
50%

نمونه‌ی ۱

شکل ۴. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه تمرین استقامتی و نانوذره نقره



شکل ۵. تصاویر هیستوپاتولوژیک بافت قلب در گروه شاهد

Songstad و همکاران، تحقیق دیگری به منظور بررسی تأثیر تمرینات ورزشی با شدت بالا بر روی قلب مادر و جنین موش صحرایی، انجام دادند. موش‌های صحرایی به طور تصادفی به گروه‌های مورد (تمرین) و شاهد تقسیم شدند. گروه مورد، به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته با ۱۰ دوره‌ی تمرین با شدت بالا بر روی یک تردمیل به مدت ۴ دقیقه (در حد ۹۰-۸۵ درصد بیشینه‌ی مصرف اکسیژن) به تمرین پرداختند. نتایج حاکی از آن بود که تمرین شدت بالا بر روی یک تردمیل به مدت ۴ دقیقه (در حد ۹۰-۸۵ درصد بیشینه‌ی مصرف اکسیژن) بر روی عملکرد قلبی مادر و بهبود کارایی قلب تأثیری نداشت، اما برخی از ژن‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو در قلب جنینی را تغییر می‌داد. این موضوع، نشان می‌دهد که مکانیزم‌های حفاظتی ممکن است در بافت قلب فعال شوند (۲۲).

فتحی و قراخانو، در پژوهشی به بررسی تأثیر فعالیت استقامتی بر تشکیل قلب جنین پرداختند. نتایج نشان داد تشکیل قلب در گروه‌های تمرینی به طور معنی‌داری بیشتر بود (۳۰). با توجه به نتایج مشاهده شده در گروه شاهد، بیشترین میزان آسیب هیستوپاتولوژیک قلبی جنین مشاهده شد. بر این اساس، این یافته مشخص می‌کند که استراحت مطلق در دوران بارداری، می‌تواند با آسیب‌های بافتی همراه باشد.

نتیجه‌گیری نهایی این که میزان تغییرات تروپونین خون مادر با میزان آسیب هیستوپاتولوژیک قلب جنین در گروه‌های تمرین استقامتی، نانوذره نقره، تمرین استقامتی همراه با نانوذره نقره و کنترل یکسان است. با توجه به شباهت مکانیسم‌های داخل سلولی موش و انسان، احتمال تغییرات مشابهی در این زمینه برای انسان نیز وجود دارد. با توجه به کاربرد وسیع نانوذرات نقره در صنایع و محصولات مختلف در کل دنیا و در کشور ما، مطالعه‌ی دقیق فیزیولوژیک در غلظت‌ها و دزهای متفاوت از نانوذرات و تأثیر آن بر

با این وجود، مکانیسم انتشار تروپونین T تا کنون ناشناخته است، اما پژوهش‌های پیشین مکانیسم‌های مختلف نظیر افزایش نفوذپذیری غشای میوکارد به دلیل افزایش ضربان قلب و فشار بر میوسیت‌های قلبی، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد یا تغییر تعادل اسید-بازی را عنوان کرده‌اند (۲۴). فشار اکسایشی، غلظت محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب یعنی مالون دی‌آلدئید و سایر شاخص‌های مرتبط با پراکسیداسیون اجزای ساختاری سلول‌های قلبی را افزایش می‌دهد و منجر به از هم گسیختگی و یا آسیب به سلول و غشای سلول‌های عضلانی و در نتیجه، تسریع رهایش تروپونین T قلبی به سرم می‌شود (۲۰).

در پژوهش حاضر، آسیب بافت قلبی در گروه مصرف نانوذره نقره مشاهده شد و همچنین، در گروه مصرف نانوذره نقره، تنها یک جنین باقی ماند و بقیه سقط شدند. بسیاری از نانوذرات نظیر نانوذرات نقره، وارد جریان خون می‌شوند و از سد خونی-مغزی عبور می‌کنند. انتشار نانو ذرات در کبد، طحال، مغز و قلب و تجمع زیستی آن‌ها در اعضای بدن روی می‌دهد. بنابراین، هنوز روشن نیست که بدن می‌تواند نانوذرات را از طریق ادرار دفع کند و یا باقی‌مانده‌ی این مواد، در اندام‌های بدن تجمع زیستی پیدا می‌کنند یا حتی سیستم‌های دفعی را بلوک می‌نمایند (۲۷).

در مطالعه‌ی، تزریق درون صفاقی نانوذره نقره با قطر کمتر از ۳۰ نانومتر به موش نژاد آلبینو، آسیب‌های کلیوی شامل تغییرات دژنراتیو کلیوی به صورت تورم سلولی، واکونله شدن سیتوپلاسم، تخریب میتوکندری، هیپرتروفی هستک، ضخیم شدن غشای پایه و کاهش فضای بومن مشاهده شد (۲۸).

مطالعه‌ی Tian و همکاران، نشان داد که توانایی انتقال نانوذره از طریق جفت، وابسته به اندازه و سطح نانوذرات می‌باشد (۲۹).

بافت‌های مختلف بدن، پیشنهاد می‌شود.

با کد پژوهشی ۹۵۰۳۱۳۴۱۳ است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) به تصویب رسید. بدین وسیله، از زحمات استادان محترم دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی این دانشگاه قدردانی و تشکر به عمل می‌آید.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزش

### References

- Regitz-Zagrosek V, Blomstrom LC, Borghi C, Cifkova R, Ferreira R, Foidart JM, et al. ESC Guidelines on the management of cardiovascular diseases during pregnancy: The Task Force on the Management of Cardiovascular Diseases during Pregnancy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011; 32(24): 3147-97.
- Hoffman JI, Kaplan S, Liberthson RR. Prevalence of congenital heart disease. *Am Heart J* 2004; 147(3): 425-39.
- Marcadante K, Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB. *Nelson essentials of pediatrics*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2011. p 537-46.
- Lodovici M, Bigagli E. Oxidative stress and air pollution exposure. *J Toxicol* 2011; 2011: 487074.
- Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A. Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail? *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 427318.
- Hutchison JE. Greener nanoscience: A proactive approach to advancing applications and reducing implications of nanotechnology. *ACS Nano* 2008; 2(3): 395-402.
- Nowack B, Krug HF, Height M. 120 years of nanosilver history: Implications for policy makers. *Environ Sci Technol* 2011; 45(4): 1177-83.
- Tran QH, Nguyen VQ, Le AT. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology* 2013; 4(3): 033001.
- Forouzanfar MH, Afshin A, Alexander LT, Anderson HR, Bhutta ZA, Biryukov S, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388(10053): 1659-724.
- Holden PA, Schimel JP, Godwin HA. Five reasons to use bacteria when assessing manufactured nanomaterial environmental hazards and fates. *Curr Opin Biotechnol* 2014; 27: 73-8.
- Sadi G, Bozan D, Yildiz HB. Redox regulation of antioxidant enzymes: Post-translational modulation of catalase and glutathione peroxidase activity by resveratrol in diabetic rat liver. *Mol Cell Biochem* 2014; 393(1-2): 111-22.
- Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 2006; 311(5761): 622-7.
- Roy S, Nicholson DW. Cross-talk in cell death signaling. *J Exp Med* 2000; 192(8): F21-F25.
- George LA, Zhang L, Tuersunjiang N, Ma Y, Long NM, Uthlaut AB, et al. Early maternal undernutrition programs increased feed intake, altered glucose metabolism and insulin secretion, and liver function in aged female offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 302(7): R795-R804.
- Lindstrom J, Peltonen M, Tuomilehto J. Lifestyle strategies for weight control: experience from the Finnish Diabetes Prevention Study. *Proc Nutr Soc* 2005; 64(1): 81-8.
- Demissie Z, Siega-Riz AM, Evenson KR, Herring AH, Dole N, Gaynes BN. Physical activity during pregnancy and postpartum depressive symptoms. *Midwifery* 2013; 29(2): 139-47.
- Hellings WE, Peeters W, Moll FL, Pasterkamp G. From vulnerable plaque to vulnerable patient: the search for biomarkers of plaque destabilization. *Trends Cardiovasc Med* 2007; 17(5): 162-71.
- El-Khuffash A, Davis PG, Walsh K, Molloy EJ. Cardiac troponin T and N-terminal-pro-B type natriuretic peptide reflect myocardial function in preterm infants. *J Perinatol* 2008; 28(7): 482-6.
- Domico M, Checchia PA. Biomarkers of cardiac injury and performance: B-type natriuretic peptide and troponin as monitors of hemodynamics and oxygen transport balance. *Pediatr Crit Care Med* 2011; 12(4 Suppl): S33-S42.
- Tian Y, Nie J, George KP, Huang C. Reproducibility of cardiac biomarkers response to prolonged treadmill exercise. *Biomarkers* 2014; 19(2): 114-20.
- Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, et al. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2006; 143(2): 239-45.
- Songstad NT, Kaspersen KH, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of High Intensity Interval Training on Pregnant Rats, and the Placenta, Heart and Liver of Their Fetuses. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143095.
- Kim YS, Kim JS, Cho HS, Rha DS, Kim JM, Park JD, et al. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 2008; 20(6): 575-83.
- Legaz-Arrese A, George K, Carranza-Garcia LE, Munguia-Izquierdo D, Moros-Garcia T, Serrano-Ostariz E. The impact of exercise intensity on the release of cardiac biomarkers in marathon runners. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111(12): 2961-7.
- Williams K, Gregson W, Robertson C, Datson N, Whyte G, Murrell C, et al. Alterations in left ventricular function and cardiac biomarkers as a consequence of repetitive endurance cycling. *European Journal of Sport Science* 2009; 9(2): 97-105.

26. Legaz-Arrese A, Lopez-Laval I, George K, Puente-Lanzarote JJ, Moliner-Urdiales D, Ayala-Tajuelo VJ, et al. Individual variability in cardiac biomarker release after 30 min of high-intensity rowing in elite and amateur athletes. *Appl Physiol Nutr Metab* 2015; 40(9): 951-8.
27. Oberdorster G, Stone V, Donaldson K. Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicology* 2007; 1(1): 2-25.
28. Sarhan OM, Hussein RM. Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological structures and blood parameters in the albino rat. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 1505-17.
29. Tian F, Razansky D, Estrada GG, Semmler-Behnke M, Beyerle A, Kreyling W, et al. Surface modification and size dependence in particle translocation during early embryonic development. *Inhal Toxicol* 2009; 21 Suppl 1: 92-6.
30. Fathi M, Gharakhanlou R. The effect of endurance activity on left ventricle Hand2 gene expression in wistar male rat. *Sport Physiology* 2015; 7(25): 57-68. [In Persian].



## The Effect of 14-Week Endurance Training and Injection of Silver Nanoparticles during Pregnancy on Maternal Serum Troponin T Level and Fetal Heart Histopathological Index of Laboratory Mice

Maryam Ghasemihemami<sup>1</sup>, Gholamreza Sharifi<sup>2</sup>, Farzaneh Taghian<sup>2</sup>, Mehrdad Modarsi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Due to the prevalence of congenital heart diseases, this study was performed to evaluate the effect of endurance training and silver nanoparticle injection on maternal serum troponin T level and fetal histopathological index in the mice.

**Methods:** In this experimental study, 40 female laboratory mice with the average weight of  $30 \pm 5$  g were randomly divided in four equal groups of endurance training, silver nanoparticle injection, endurance training together with silver nanoparticle injection, and the control. The endurance-training group did exercises by running on a treadmill before pregnancy for 11 weeks, 5 sessions per week (with the intensity of 30-65 percent of the maximum capability of the mice) from 5 to 50 minutes. After becoming pregnant, these mice continued exercising by running on the treadmill for 3 more weeks with the intensity of 20 to 60 percent of the maximum capability of the mice. The second group received silver nanoparticles intraperitoneally from the second day of pregnancy at a dose of 400 mg per kilogram body weight. The third group had the exercise and received the injections similar to the other two groups. The control group had no activities. Maternal blood sampling was taken on the 19<sup>th</sup> day of pregnancy, as well as the evaluation of histopathological changes and staining with hematoxylin-eosin. Then, the maternal serum troponin T levels were measured.

**Findings:** Troponin T levels decreased in the experimental groups ( $P < 0.05$ ). There was a significant difference between silver nanoparticles and endurance training group. The least amount of fetal heart tissue damage was seen in endurance training group, and the highest damage was observed in the control group.

**Conclusion:** Endurance training reduces the serum troponin T level, and minimizes the tissue damage to fetal heart tissue in laboratory mice. Silver nanoparticles also reduce troponin T level and the damage to fetal heart tissue of mice.

**Keywords:** Endurance training, Nanoparticles, Silver, Troponin T, Histopathology, Fetus

**Citation:** Ghasemihemami M, Sharifi G, Taghian F, Modarsi M. **Effect of 14-Week Endurance Training and Injection of Silver Nanoparticles during Pregnancy on Maternal Serum Troponin T Level and the Fetal Heart Histopathological Index of Laboratory Mice.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(539): 973-81.

1- PhD student, Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Physiology, School of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Gholamreza Sharifi, Email: gre\_sharifi@yahoo.com?