بررسی میزان رسوب دوزهای مختلف نانوذرات اکسید روی بر روی طحال موش‌های سوری ماده

رامونا کسری کرمانشاهی، عبدالحسین شیروی*، ویدا حجتی

گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

*مسئول مکاتبات: shiravi738@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۱۷

چکیده

با توجه به تولید روزافزون نانوذرات اکسیدروی و کاربردهای مفید آن در سیستم های بیولوژیک، تاکنون مطالعات کمتری در زمینه اثـرات جانبی این مواد بر بدن جانداران صورت گرفته است، بدین منظور در این تحقیق به بررسی میزان رسوب نانوذرات اکسـید روی بـر روی طحال در موش‌های سوری ماده نژاد NMRI پرداخته شده است. در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش سوری ماده نژاد NMRI در گـروه-های تجربی و کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. نانوذرات اکسید روی با غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت آشامیدنی به مدت ۲۸ روز خورانده شد و پس از طی زمان ۲۸ روزه موش‌ها تشریح شدند و بافت طحال جدا و در اسید حل گردید و میزان اکسید روی رسوب کرده در بافت به روش جذب اتمی اندازه گیری شد. با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که گروه‌هـای مصـرف کننده نانوذرات اکسید روی نسبت به گروه کنترل دارای تاثیرات معنی‌دار شده‌اند. رسوب نانوذرات اکسید روی که به صورت آشامیدنی به مدت ۲۸ روز در گروه‌های تجربی مذکور مورد بررسی قرار گرفت، اثرات معنی‌دار بر طحال داشته است.

کلمات کلیدی: نانوذرات، اکسید روی، طحال، موش سوری.

مقدمه

فن‌آوری نانو (نانوتکنولوژی) واژه‌ای است که به تمام فناوری‌های پیشرفته در عرصه کار با مقیاس نانو اطلاق می‌شود. معمولاً منظور از مقیاس نانو ابعادی در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد (۱نانومتر یک میلیاردم متر است). در این دهه، نانوتکنولوژی به روش امیدوارکننده‌ای برای پژوهش‌های تکوینی و درمانی تبدیل شده است. به همین دلیل، دانشمندان زیادی را بر آن داشته تا از ویژگی‌های منحصر به فرد نانو مواد برای تحقیقات مختلفی بهره گیرند. نانو، فناوری ریزسازی مواد می‌باشد. این مواد، در اندازه‌های نانو، دارای خواصی بسیار متفاوت از خواص همان مواد به صورت معمول یا توده هستند. بنابراین امید زیادی برای حل مشکلات اساسی تشخیص و درمان بیماری ها به وجود آمده است. امروزه پیشرفت‌های علمی و صنعتی علاوه بر جنبه‌های مفیدی که برای بشر ایجاد کرده است جنبه‌های غیر مفیدی را نیز به همراه داشته است اکسید روی یک ترکیب غیر آلی با فرمول ZnO است. این ماده معمولا به شکل یک پودر سفید رنگی بوده که به طور گستردهای به عنوان افزودنی به مواد و محصولات متعدد ازجمله پلاستیک، سرامیک، شیشه، سیمان، لاستیک‌ها مثل لاستیک ماشین، روان کننده‌ها، رنگ‌ها، پمادهای ضد آفتاب، چسب، مهر و موم، رنگدانه-ها، مواد غذایی، باتری، حریق، نوارهای کمک‌های اولیه و غیره استفاده می‌شود [۱۰]. ساخت و به کارگیری مواد مختلف سنتتیک، سلامت موجودات زیادی را تحت تاثیر خود قرار داده است. ورود نانو ذرات اکسیدروی به بدن موجودات، از طرق مختلفی مانند پوست،استنشاق و خوراک انجام می‌شود [۱۳]. این نانوذرات می‌توانند از جداره رگ‌های خونی و همچنین جفت عبور کنند در

نتیجه، به راحتی می‌توانند با ملکول‌های مستقر بر روی سطح یا داخل سلول‌ها تعامل داشته باشند .این مسئله باعث می‌شود سلامتی موجودات زنده زیادی تحت تاثیر قرار گیرد [۷، ١٤]. نانوذرات دارای ویژگی‌های بسیار خاص شیمیایی و فیزیکی از نظر اندازه، شکل و نسبت بالای سطح به حجم می‌باشند. این صفات کاربرد آنها را در بسیاری از موارد پزشکی و بیولوژیک مناسب ساخته است. گاهی اندازه آنها کوچکتر و یا در حد ساختارهای سلولی، ویروس، پروتئین و یا یک ژن می‌باشد [٤، ٨].
این مواد پس از تزریق به جانوران به سرعت در اکثر اندام‌ها و بافت‌ها توزیع شده و پدیده جذب سلولی آن ها بسیار شدید می‌باشد. امروزه به منظور کاربرد مفید و موثر نانوذرات در سیستم‌های بیولوژیک، پوشش‌های مختلفی نظیر آلبومین، دکستران، پلی‌اتیلن گلایکول، پلی اتیلن اکسید، آسپارتیک‌اسید و غیره بر سطح آن ها ایجاد می‌گردد. حضور چنین پوشش‌هایی به پایداری نانوذرات در محلول‌های بیولوژیک و گردش خون، توزیع بافتی و همچنین به ورود این مواد به سلول‌ها و کاهش اثر سمی آنها کمک می‌کند. در این میان نانوذرات اکسید روی منافع زیادی برای کاربرد در زمینه‌های مختلف دارند. ازجمله کاربردهای آن در کرم‌های پوستی برای جلوگیری از آفتاب‌زدگی، بیوسنسور، افزودنی‌های غذایی، پیگمان‌ها، تولید رزین و مواد الکترونیک است [٦]. .علاوه براین، به علت خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات روی، امکان کاربرد آن در داروهای پیشگیری کننده. بر علیه میکروب‌های مرتبط با بیماری‌ها و عفونت‌ها وجود دارد [١٥]. تحقیقات بسیاری در رابطه با تأثیر سمی نانوذرات اکسید روی بر روی میکروارگانیسم‌ها انجام شده است. که نشان می‌دهد نانوذرات اکسید روی باعث مهار رشد چشمگیرباکتری و محافظت از سلول‌های روده ای در مقابل آسیب ناشی از سمیت روده E.coli [٩]. مطالعه‌ای که توسط سهرابی و همکارانش در سال ۱۳۸۸ بر روی اثرات مزمن فلز روی بر بافت‌های کبد، کلیه و طحال در موش صحرائی نر صورت گرفت، در این مطالعه دوز ۱۰میلی‌گرم/کیلوگرم یه صورت تزریقی به مدت سی روز به موش‌های صحرائی تزریق گردید.بعد از اتمام دوره و مشاهده‌ی نتایج به این نتیجه رسیدند که اکثر تغییرات در اثر فلز روی بر روی کبد، کلیه و طحال برگشت‌پذیر یوده است [۳]. طحال بزرگترین عضو لنفاوی است که در انسان خون را تصفیه می‌کند و به علت داشتن تعداد زیاد سلول فاگوسیتی نقش دفاعی مهمی در مقابل آنتی‌ژن‌هایی که در جریان خون می‌رسند یازی می‌کند. در تحقیق حاضر، اثرات جانبی دوزهای مختلف ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسیدروی از طریق آشامیدنی با بررسی میزان رسوب این ذرات به مدت ۲۸ روز در طحال مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار

موش‌های سوری نژاد ویستار از انیستیتو پاستور ایران تهیه گردید موش‌ها حدود ۱ماه و وزن‌های ۳۲ تا ٤٠گرم وزن تقریبی و از هر موش فقط یک‌بار استفاده می‌شد. محل نگهداری و انجام تحقیق در بخش نگهداری حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان که دارای شرایط استاندارد، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، دمای نسبی ۲±۲۳ درجه ی سانتیگراد ورطوبت نسبی ٦٠ تا ٤٠ نگهداری شدند. روزانه غذا و شیشه‌های آب آنها کنترل گردید. روش کار به چند مرحله تقسیم می‌شود: در مرحله‌ی اول که ۲۸روز طول می‌کشد، برای هر غلظت تعریف شده، ۱۰ سر موش نیاز است. از هر موش فقط یک‌بار استفاده شده است. موش‌ها از انستیتوپاستور تهران تهیه گردید. حیوانات در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده و در اتاق حیوانات در دمای ۲±۲۳ درجه، رطوبت نسبی ٦٠ تا ٤٠ درصد وتناوب روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری حیوانات از غذای خشک استاندارد استفاده شد. جهت انجام کار عملی ابتدا موش‌ها وزن شده و به سه گروه تقسیم شدند. در مرحله‌ی بعد هر یک موش در داخل یک قفس pvc قرار گرفت. سپس در مرحله‌ی

بعدی حیوانات محلول را به شرح زیر به مدت ۲۸ روز به صورت آشامیدنی دریافت کردند.

۱- گروه تجربی I: موش‌های دریافت کننده نانوذرات روی به میزان ۱۰۰mg/kg

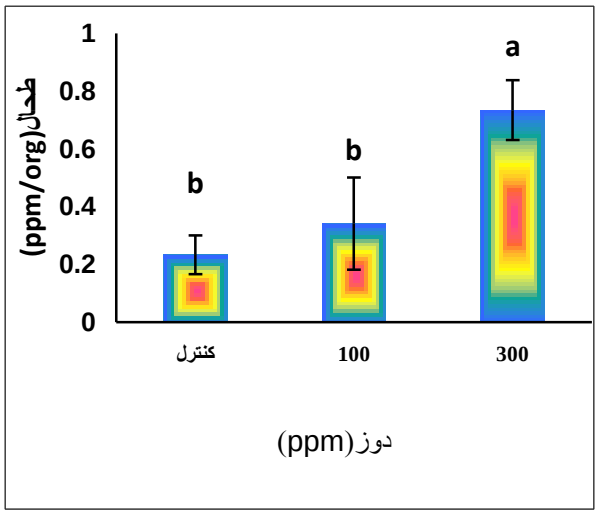
۲- گروه تجربیII: موش‌های دریافت کننده نانوذرات روی و به میزان ۳۰۰mg/kg

۳- گروه کنترل: موش‌های دریافت کننده آب معمولی (آب مقطر).

پس از ۲۸ روز موش‌ها توسط اتر بیهوش و کالبدشکافی شدند. طحال موش‌ها از بدن جدا و سپس وزن تر طحال اندازه‌گیری شد و طحال‌ها در آون به مدت ۲ ساعت در دمای ٦٠ درجه قرار گرفتند جهت خشک شدن نمونه‌ها، سپس نمونه‌ها در لوله‌های آزمایش قرار گرفتند و اسیدنیتریک مرک آلمان به میزان ۳ سی‌سی به آنها اضافه گردید و به مدت ۳ روز در اسیدنیتریک قرار گرفتند سپس بعد از گذشت ۳ روز با بن‌ماری در ۹۰ درجه - سانتی‌گراد به مدت ٤٥ دقیقه حرارت دیدند و ۲ سی سی آب اکسیژنه به آن‌ها اضافه گردید و توسط کاغذ صافی، صاف شدند و با دستگاه جذب اتمی، میزان رسوب نانواکسید روی اندازه‌گیری شد.

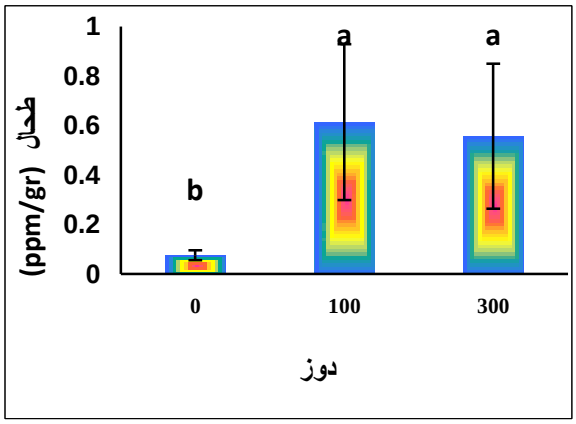
نتایج

بر اساس بررسی‌های انجام شده بر روی بافت طحال و میزان رسوب نانوذرات اکسید روی در طحال موش سوری ماده که به مدت ۲۸ روز به صورت آشامیدنی در معرض نانواکسید روی قرار گرفته بودند نشان داد که در گروه‌های مختلف تجربی اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است. نتایج را در نمودارهای ۱، ۲ و ۳ مشاهده می‌باشد. نتایج نمودار ۱ نشان می‌دهد که در گروه های تجربی ۲ افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) در جذب نانواکسید روی در بافت طحال نسبت به گروه کنترل دیده می‌شود. نتایج نمودار ۲ نشان می‌دهد که در گروه های تجربی ۱ و ۲ افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) در جذب نانواکسید روی در بافت طحال نسبت به گروه کنترل دیده می‌شود. نتایج نمودار ۳ نشان می‌دهد که در گروه تجربی ۲ افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) در جذب نانواکسید روی در بافت طحال نسبت به گروه کنترل دیده می‌شود.

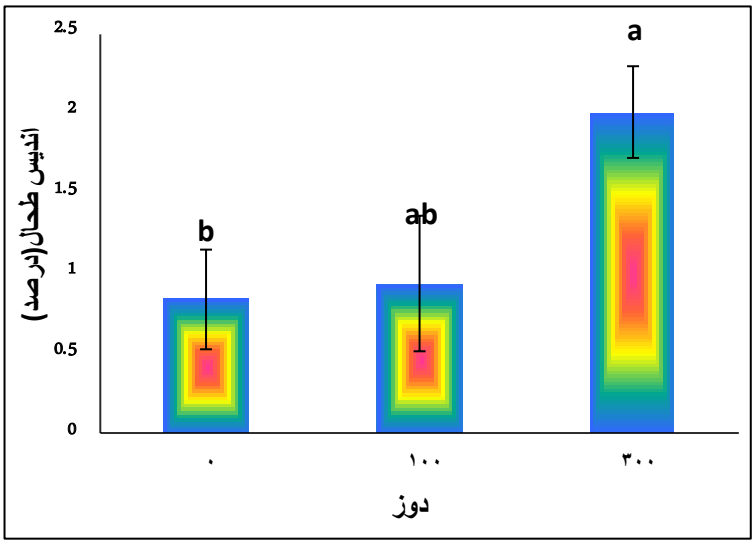


نمودار ۱ـ میانگین± انحراف معیار نانواکسید روی در بافت طحال

a: اختلاف معنی‌دار در سطح $p< ۰/۰۱$ و b: اختلاف معنی‌دار در سطح $p< ۰/۰۵$.



نمودار ۲ـ میانگین± انحراف معیار نانواکسید روی در یک گرم بافت طحال. a: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ >p و b: اختلاف معنی-دار در سطح ۰/۰۵>p.



نمودار ۳ـ میانگین± انحراف معیار اندیس طحال. a: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ >p و b: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵>p.

بحث

مطالعه‌ی مواد در مقیاس نانو در علوم مختلف، از جمله پزشکی، داروسازی، صنعت و غیره از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.نانوتکنولوژی راه را برای به دست آوردن مزایای بیشتر این علم برای تمام علوم کاربردی و مهندسی یا استفاده در پزشکی از قبیل معالجه و درمان، تشخیص و اثر داروها باز می‌کند. پیشرفت در نانوتکنولوژی در تمام موارد مهم و تأثیرگذار است. با وجود چشم‌اندازهای روشن برای آینده نانوتکنولوژی بسیاری از تلاش‌های انسان ممکن است به طور عمدی یا غیر عمدی سلامت انسان و محیط را به خطر بیندازد، به ویژه گروهی از جمعیت که مستعد بیماری‌ها و نارسایی‌های ژنتیکی هستند بیشتر در معرض خطر قرار دارند. این‌ها تأثیراتی است که در علم اپیدمیولوژی و در بحث ذرات که در بیماری‌های قلبی و عروقی و تنفسی نقش دارند. تحقیقات امروزی بیشتر بر روی اثرات نانوذرات‌ها بر روی زندگی انسان و محیط متمرکز شده است. سیستم ایمنی بدن نقش تعیین‌کننده در توزیع نانوذرات در بدن دارد. مانند بقیه سیستم‌های کلوئیدی، نانوذراتی که به بدن تزریق می‌شوند سریعا شیء خارجی تلقی شده و به وسیله سیستم MPS حذف می‌شوند. سیستم MPS یک نام کلی برای سلول‌های فاگوسیتیک مونوکلار است که در تمام بدن یا بافت‌های مشخص

(ماکروفاژهای بافتی) یا به صورت آزاد (مونوسیت‌های در حال چرخش) در بدن یافت می‌شوند. سیستم ایمنی بدن شامل کبد، طحال، شش و مغز استخوان است و لذا ذرات پس از تزریق در این عضوها توزیع می‌شوند. به عنوان مثال از آنجا که ماکروفاژهای زیادی در کبد وجود دارند (سلول‌های کوپفر) پس از تزریق نانوذرات، ۹۰-۶۰ درصد دز تزریقی در کبد جذب می شود و ۳ تا ۲۰ درصد در شش و ۲ تا ۱۰ درصد هم در طحال و مقدار کمی هم در مغز استخوان تجمع می‌یابد [۲]. بسیاری از مواد به آسانی جذب بدن نمی‌شوند، برای مثال قطبی بودن مولکول موجب می‌شود که به سادگی از غشاء سلول‌ها عبور نکند. توانایی جذب، اغلب تحت عنوان دسترسی زیستی از راه خوراکی توصیف می‌شود. نسبت حداکثر غلظت ترکیب وقتی از طریق خوراکی گرفته می-شود به حداکثر غلظت همان دوز که به طور مستقیم به جریان خون تزریق شده است، تعیین کننده‌ی دسترسی زیستی از راه خوراکی است [٤]. با توجه به کاربردهای فراوان نانوذرات اکسید روی در زمینه بیولوژیک و پزشکی، نظیر درمان تومور، انتقال ژن و دارو و نشاندار کردن سلول‌ها و ماکرومولکول‌ها [۵]، قبل از هر چیز، بررسی اثرات احتمالی سمی و نامطلوب این مواد بر روند رشد، تکثیر و بقای سلول‌ها و جانداران اهمیت بسیار زیادی دارد [۸]، که نتایج این تحقیقات می‌تواند ضمن آگاه کردن پژوهشگران در زمینه های کاربردی نانوذرات از اثرات مضر آن ها، اطلاعاتی را در اختیار افراد و مؤسساتی که در حیطه ساخت و تولید این مواد فعالیت می‌کنند قرار دهد تا اقدامات مؤثری را در جهت تغییر روش ساخت و اتخاذ روش‌هایی که بتواند از اثرات منفی و سمی نانوذرات بکاهد، انجام دهند [۱۱ و ١٦]. با توجه به تحقیقات مختلف می‌توان نتیجه گرفت که ورود نانوذرات اکسیدروی به بافت طحال به این دلیل است که طحال دارای سینوزئیدهایی می‌باشد که این سینوزوئیدها موئینه‌های ویژه منظمی هستند که معمولاً در فاصله‌ی بین دو رگ بزرگتر قرار دارند. در طحال سینوزئید، رابط بین وریدچه و شریانچه می‌باشد. یکی از ویژگی‌های سینوزئیدها این است که رگ‌های موج دار نامنظمی‌اند که فضای درونی آن‌ها وسیع است و تا ٤٠ میکرومتر ممکن است وسعت داشته باشد، لذا در این رگ‌ها جریان خون آهسته و زمان ارتباط بافت و خون به دلیل همین آهسته بودن جریان خون افزایش خواهد داشت که می‌تواند جذب ر ا تحت اثر خود در طحال افزایش دهد [۱]. همچنین علت کاهش وزن طحال نسبت به وزن بدن را می‌توان اینگونه توجیح کرد که احتمالاً در بافت طحال نکروز صورت گرفته است. همانطور که در نتایج حاصل مشاهده می‌شود جذب موثری در طحال صورت گرفته است.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که مصرف آشامیدنی دوزهای مختلف نانوذرات اکسید روی (۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قادر است در مدت زمان ۲۸ روز بر عملکرد طحال اثر بگذارد و همچنین باعث افزایش وزن اندام طحال و بزرگ شدن این اندام شود. در نهایت با توجه به شباهت فیزیولوژیک موش و انسان از تعمیم نتایج این مطالعه می‌توان در زمینه جلوگیری از آسیب‌های طحال در حین استفاده از نانوذرات اکسید روی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان می‌باشد و از خانم زهرا رمضانی برای همکاری بی‌دریغ و صمیمانه تشکر و قدردانی می-شود.

منابع

۱- برترام، ج. کاتزونگ. ۱۳۸۱. فارماکولوژی پایه و بالینی کاتزونگ، موسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده- نشر طبیب.

۲- رمضانی، ز. ۱۳۹۲. بررسی میزان رسوب نانوذرات نقره ونیترات نقره در بافت‌های مختلف کبد، کلیه، بیضه، طحال، و بررسی هیستوپاتولوژی بافت‌های کبد، کلیه، بیضه، پایان نامه

کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاداسلامی دامغان.

۳- سهرابی، د. غلامی، م. ۱۳۸۸. بررسی اثرات مزمن فلز روی (کلرید روی) بر بافت‌های کبد، کلیه، طحال، در موش صحرائی نر، فصلنامه زیست‌شناسی تکوینی، سال اول شماره ۲، صفحات ۱۴-۹.

٤- مشتاقی، ع. ۱۳۷۸. بیوشیمی نوین پزشکی: همراه با سوالات استاندارد ویژه دانشجویان رشته‌های علوم پزشکی و داوطلبان تحصیلات تکمیلی، جهاد دانشگاهی اصفهان، ۳۲۷ صفحه.

5. Bing W., Weiyue, F., Meng, W., Tiancheng, W., Yiqun, G., Motao, Z., Hong, O., Junwen, S., Fang, Z., Yuliang, Z., Zhifang,C., Haifang, W. and Jing, W., (2008), Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *Journal of Nanoparticles Research*, 10: 263–276.

6. Catherine C.B., Adam S.G., Curtis G. (2003), Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine**.** *Journal of Physics, D: Applied Physics*, 36: R198–R2.

7. Cheraghi A. Bohrani N. Malekfar R. (2004), Technology office of the presidential committee on nanotechnology policy. *Applications of Nanotechnology in the Diagnosis and Treatment of Diseases*, 5: 85-94.

8. De Jong W.H., Roszek B., Geertsma R.E. (), Nanotechnology in medical applications: possible risks for human health. RIVM report 265001002/2005.

9- Deng X, Luan Q, Chen W, Wang Y, Wu M, Zhang H, Jiao Z .2009. Nanosized zinc oxide particles induce neural stem cell apoptosis8. *Nanotechnology*, 20: 115101.

10- Hernandezbattez A., Gonzalez R., Viesca J., Fernandez J., Diazfernandez J., Machado A. (2008), CuO, ZrO2 and ZnO nanoparticles as antiwear additive in oil lubricants. *Wear*, 265: 422-28.

11- Ingrid H., Sylvia F., Werner L., Robert H., Wilfried A., Rudolf H., Werner A.K. (2003), Cytotoxicity of selected magnetic fluids on human adenocarcinoma cells. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 261: 7-12.

12- Jong W.H., Roszek B., Geertsma R.E. (2005), Nanotechnology in medical applications: possible risks for human health. RIVM report 265001002/2005.

13- Lin D., Xing B. (2007), Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150: 243-50.

14- Rafiei Tabar H. (2004), Nanotechnology and its applications in medicine and pharmacy. *Research Journal of Shahid Beheshti University of Medical Sciences*, 2: 111-115.

15- Serpone N., Dondi D., Albini A. (2007), Inorganic and organic UV filters:Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. *Journal of Inorganic Chemistry*, 360:794-802

16- Tetley T.D. (2007), Health effects of nanomaterials. *Biochemical Society Transactions*, Volume 35, part 3.