



بررسی اثر دوزهای مختلف نانوذرات نقره بر روی ریه‌ی موش صحرایی نر نژاد ویستار

نرگس رضانی، عبدالحسین شیروی*، ویدا حجتی

گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
*مسئول مکاتبات: shiravi738@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۱۱

چکیده

نانوذرات در بسیاری از جنبه‌های کاربردی در سلامتی انسان اهمیت دارند با توجه به نبود مستندات دقیق درباره سمیت نانوذرات نقره، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر نانو ذرات نقره بر تغییرات بافتی ریه انجام شد. در این مطالعه، ۳۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار در سه گروه ۱۰ تایی کنترل و تجربی ۱ و تجربی ۲ مورد مطالعه قرار گرفتند. برای گروه کنترل از آب مقطر و برای گروه تجربی ۱ از نانوذرات ۲۰ نانومتری با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و برای گروه تجربی ۲ از نانوذرات ۲۰ نانومتری با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق استنشاق استفاده شد به مدت ۱۰ روز مورد بررسی قرار گرفتند. پس از گذشت ۱۰ روز موش‌ها تشریح شدند و بافت ریه از آنها جدا شد و در اسید حل گردید و میزان رسوب نقره در بافت ریه به روش جذب اتمی اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری نشان داد که نانونقره در بافت‌های ریه به طور قابل ملاحظه‌ای در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل دارای تغییرات معنی‌داری است و اثر نانوذرات نقره بر بافت ریه قابل ملاحظه بود و تغییرات حاصله نشانگر آسیب‌های سلولی و بافتی می‌باشد. ریه به عنوان یکی از اندام‌های مهم در سیستم تنفسی بدن می‌تواند مکان رسوب نانوذرات نقره باشد.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، ریه، موش صحرایی.

مقدمه

تشخیص و درمان بیماری‌ها به وجود آمده است. منظور از مقیاس نانو ابعادی در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد (یک نانو یک میلیاردم یک متر می‌باشد) (۱۶).

نقره یکی از مواد کاربردی در نانو تکنولوژی است در زمان‌های قدیم نقره کاربرد وسیعی داشت و در تمدن‌های باستان از خاصیت ضدباکتریایی نقره استفاده می‌شد (۸، ۱۲). همچنین از نقره به عنوان عکاسی و تجهیزات پزشکی استفاده می‌شد و مقدمه‌ی آنتی-بیوتیک‌هایی که در فعالیت ضد عفونی‌کنندگی به خصوص در کنترل زخم‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت (۲۰). نانونقره ماده‌ای با سمیت زیاد است که با تولید گونه‌های آزاد اکسیژن همراه است. بسیاری از

در این دهه، نانو تکنولوژی به زمینه‌ی امیدوارکننده‌ای برای پژوهش‌های تکوینی و درمانی تبدیل شده است به همین دلیل دانشمندان زیادی را بر آن داشته تا از ویژگی‌های منحصر به فرد نانومواد برای تحقیقات مختلفی بهره گیرند. نانو تکنولوژی در حوزه‌های متنوعی از قبیل سلامت، بهداشت، غذا و تغذیه، سلامت محیطی و کشاورزی استفاده می‌شود (۱۹).

فناوری نانو واژه‌ای است کلی که به تمام فناوری‌های پیشرفته در عرصه کار با مقیاس نانو اطلاق می‌شود. نانو، فناوری ریزسازی مواد می‌باشد. این مواد در اندازه‌های نانو، دارای خواص بسیار متفاوت از خواص همان مواد به صورت معمولی یا توده هستند، بنابراین امید زیادی برای حل مشکلات اساسی

مطالعات آزمایشگاهی وابسته به دوز بودن آن را تاکید کرده‌اند (۱۷). اثر مهاری یون نقره طی چندین رویداد بیولوژیک مثل اتصالات غشای سلولی با جذب به دیواره‌ی سلولی باکتری‌های گرم منفی، نفوذپذیری غشای آن‌ها را تغییر داده و با تولید گونه‌های اکسیژن آزاد آنزیم‌های سلولی را غیرفعال می‌کند. این ویژگی‌ها ممکن است تأثیرات منفی بر سلامتی و محیط داشته باشد و منجر به سمیت بالای نقره شوند که مکانیسم سمیت آنها روشن نیست (۳).

نظر به این که نانوذرات نقره می‌توانند بر روی فعالیت طبیعی بدن تأثیر بگذارند و باعث اختلال در عملکرد اندام‌های بدن شوند لذا تعیین سمیت آنها در محیط زنده از اهمیت خاصی برخوردار است (۲).

نانونقره محلولی است که سوسپانسیون کلویدی یون نقره تشکیل شده است. اندازه ذره می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی نانومواد را تغییر دهد و احتمال جذب و تعامل با بافت‌های بیولوژی را افزایش دهد (۱۵). امروزه نتیجه بررسی‌ها نشان می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی مواد با کاهش ذره افزایش می‌یابد (۹، ۱۳).

استنشاق یکی از راه‌های ساده و شاید کمتر قابل کنترل ورود نانوذرات به بدن باشد در حالی که مصرف خوراکی و پوست عمدتاً از دیگر مسیرهای ورود به بدن می‌باشد. تنفس عمیق نانوذرات ممکن است موجب فرار این ذرات از فاگوسیت‌ها و غشاهای سلولی ریه شده و به دیگر بخش‌های بدن انتشار یافته و باعث اثرات سیستمیک می‌گردد (۱۰). ریه اندام هدف برای ذرات آلاینده‌ی هواست و ارتباط بین افزایش آلودگی هوا و اثرات مضر برای سلامتی در بچه‌ها مبتلایان آسم و سالخوردگان ثابت شده است (۴).

جذب نانوذرات اکسیدسیدیم (۵۰-۲۵) نانومتر (۲۵۰-۵۰۰) نانومتر در فیبروبلاست‌های ریوی انسانی در

محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت (۱۰۰) نانوگرم بر گرم تا ۱۰۰ میکروگرم بر گرم). لیمباخ و همکاران جذب نانو ذرات را توسط فیبروبلاست‌ها مشاهده کردند (۱۱).

در آزمایش تنفس موش‌ها افزایش قابل توجهی را در علائم یا پارامترهای التهابی در طول ورود ذرات ۲۰ نانومتری اکسید تیتانیوم در مقایسه با همان جرم از ذرات ۲۵۰ نانومتری مشاهده کردند. این نتایج نشان می‌دهند که اگر ذرات در مقیاس نانو قرارگیرند از لحاظ بیولوژیکی فعال می‌شوند. گزارش دادند که اشکال نانوذره ۵۰ نانومتر اکسید تیتانیوم، اکسید آلومینیوم و کربن سیاه، پارامترهای التهاب تنفسی را افزایش می‌دهند (۲۱، ۱۴). تحقیقات آزمایشگاهی با قاطعیت ثابت کرده‌اند که قرار گرفتن در معرض نانو ذرات، باعث التهاب ریه می‌شود، که به اندازه‌ی ذره، ویژگی‌های شیمیایی و ویژگی‌های سطح بستگی دارد (۶).

در این تحقیق سمیت نانوذرات نقره در دوزهای مختلف در بافت ریه موش‌های رت نر، پس از ۱۰ روز مصرف استنشاقی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

به منظور انجام این مطالعه تجربی از ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ در سه گروه شامل یک گروه کنترل و دو گروه تجربی ۱ و ۲ که هر گروه شامل ۱۰ سر موش، نژاد ویستار و از انستیتو پاستور خریداری شد استفاده گردید. گروه کنترل آب یک بار تقطیر استنشاق کردند. گروه‌های تجربی یک و دو به ترتیب دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو نقره به مدت ۱۰ روز استنشاق کردند. جهت انجام کار عملی ابتدا موش‌ها وزن شده و به سه گروه تقسیم شدند و هرروز به مدت ۳۰ دقیقه موش‌ها درون دستگاه نبولایزر قرار می‌گیرند. نبولایزر وسیله‌ای برای

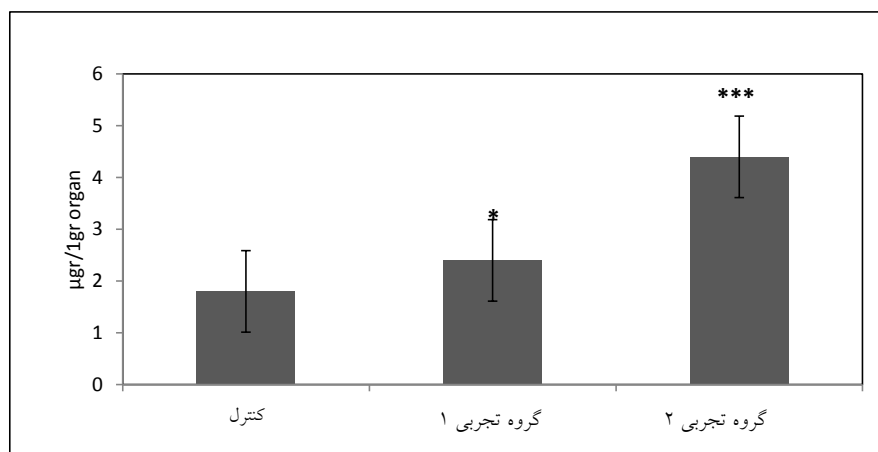
موش‌ها پس از ۱۰ روز توسط اتر بیهوش و کالبدشکافی شدند. ریه موش‌ها از بدن جدا و سپس وزن تر ریه اندازه‌گیری شد و جهت خشک شدن نمونه‌ها ریه به مدت دو ساعت و در دمای ۶۰ درجه قرار گرفتند در آن به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه قرار گرفتند جهت خشک شدن نمونه‌ها، سپس نمونه‌ها در لوله‌های آزمایش قرار گرفتند و اسید نیتریک به میزان ۳ سی‌سی به آنها اضافه گردید و به مدت ۳ روز در اسیدنیتریک قرار گرفتند. سپس با بن-ماری در ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه حرارت دیدند و ۲ سی‌سی آب اکسیژنه به آنها اضافه گردید و توسط کاغذ صافی، صاف شدند و با دستگاه جذب اتمی، میزان رسوب نانوقره اندازه‌گیری شد.

نتایج

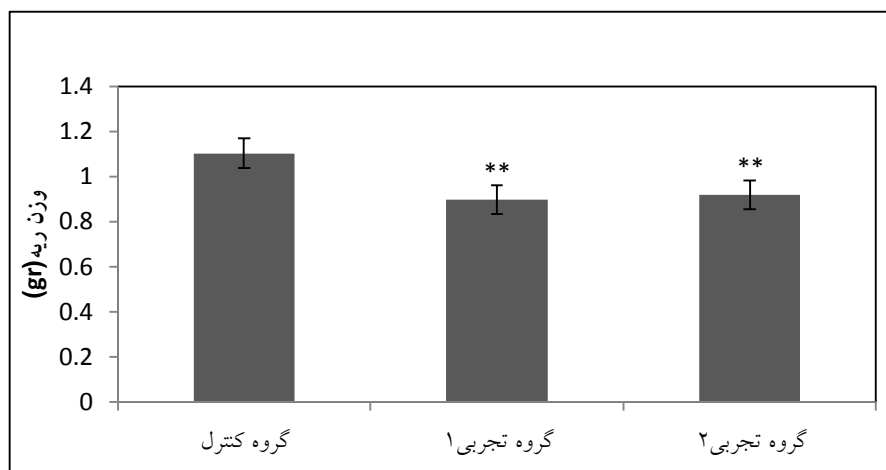
نتایج نشان می‌دهد که میزان رسوب در گروه تجربی ۱ و ۲ افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است (نمودار ۱). همچنین نتایج نشان می‌دهد که وزن ریه در گروه تجربی ۱ و ۲ کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است (نمودار ۲).

رساندن دارو به قسمت‌های مختلف دستگاه تنفس از طریق استنشاق می‌باشد.

اصول عملکرد نبولایزرها به این صورت است که نبولایزر آب یا داروی مصرفی را که به صورت محلول است، به ذرات ریز تقسیم می‌کند. این کار توسط اکسیژن فشرده یا هوای فشرده که توسط یک سیلندر یا پمپ هوا برای کمپرس کردن هوا در داخل دستگاه تعبیه شده تأمین می‌شود، صورت می‌گیرد. گاز از طریق یک روزنه خارج شده، که از بالای یک لوله مؤین حاوی محلول دارو عبور می‌کند. بعلت فشار منفی ایجاد شده از حرکت هوای فشرده شده، دارو از دیواره مؤین محفظه به بالا کشیده شده و از قسمت انتهایی نبولایزر خارج می‌شود. این قسمت را شیر ورجوال می‌نامند. این ذرات پس از عبور از یک قسمت که برای جداسازی هوای دم و بازدم است به حیوان داده می‌شود که این فرآیند استنشاقی در برای حیوانات به مدت ۱۰ روز متوالی انجام شد. نانوذرات با اندازه‌ی ۸ تا ۲۰ نانومتر از شرکت نانو ساو تهران تهیه گردید.



نمودار ۱- مقایسه‌ی میزان جذب نانوذرات نقره در گروه‌های مورد مطالعه * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$



نمودار ۲- مقایسه‌ی وزن بافت ریه در گروه‌های مورد مطالعه * $p < 0/05$, ** $p < 0/01$, *** $p < 0/001$

بحث

نانوذره نقره که به صورت استنشاقی در دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش صحرائی داده شد در مقایسه با کنترل مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاصل از آن نشان داد که با افزایش دوز، اثر سمیت بیشتری را در حیوان ایجاد می‌کند. ثابت شده است که سمیت نانو ذرات، بستگی به فاکتورهای زیادی دارد که شامل اندازه، شکل، ترکیب شیمیایی، مساحت، سطح و بار سطحی می‌باشد (۱).

ذرات ریز سطح فعال وسیعی نسبت به ذرات درشت-تر دارند برای ایجاد پاسخ‌های بیولوژیکی یا توکسیکولوژی فعال‌تر هستند. این نتایج به این معناست که نانوذرات نقره روکش‌دار میزان جذب در مجرای معدی- روده‌ای را کاهش می‌دهند. زمانی که نانوذرات وارد مجاری تنفسی می‌شوند، ذره‌های درشت‌تر در قسمت‌های بالاتر مجاری تنفسی ته‌نشین می‌شوند و ذره‌های کوچک‌تر که قابلیت عبور بیشتری به داخل فضای آلوئولی دارند به قسمت‌های عمیق‌تر دستگاه تنفسی رفته که این مسأله باعث جذب ریوی نانوذرات می‌شود. با توجه به مکانیسم‌های مولکولی مربوط به تعامل نانوذرات تنفس شده با اندازه‌گیری

اگرچه نانوذرات نقره به صورت گسترده در محصولات مصرفی بکار می‌رود، اطلاعات سم‌شناسی کافی در مورد آنها در دسترس نمی‌باشد. مسیرهای ورود نانوذرات به بدن تنفسی، دهانی، پوستی و انتقال آنها به دلیل اندازه کوچک نانوذرات در مقاله‌های فراوان مورد بحث قرار گرفته است (۵). در آزمایش انجام شده در دو دوز مختلف ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت استنشاقی به موش‌ها داده شد. پس از کالبدشکافی و بررسی بافت‌های گروه کنترل و گروه‌های دریافت کننده نقره نشان دادند که نانوذره ۲۰ نانومتری با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در بافت ریه دیده شده است. موش‌هایی که نانو نقره با دوزهای متفاوت از طریق استنشاق دریافت کرده بودند نانوذرات وارد خون شده و در بافت ریه انباشته شده بود (۱۸).

بسیاری از مواد به آسانی جذب نمی‌شوند برای مثال قطبی بودن مولکول موجب می‌شود که به سادگی از غشای سلول‌ها عبور نکند. مطالعه‌ی مواد در مقیاس نانو در علوم مختلف، از جمله پزشکی، داروسازی و صنعت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. سمیت



Blood Parameters in Broiler Chicks. *Pakistan Veterinary Journal*, 32(3): 325-328.

3. Akradi L., SohrabiHaghdoost I., Djeddi A.N., 2012. Histopathologic and apoptotic effect of nanosilver in liver of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 11(22): 6207-6211.

4. Borm P.J., Cakmak G., Jermann E., Weishaupt C., Kempers P., Van Schooten F.J., 2005. Formation of PAHDNA adducts after in vivo and vitro exposure of rats and lung cells to different commercial carbon blacks. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 205(2): 157-167.

5. Carlson C., Hussain S.M., Schrand A.M., Braydich-Stolle L.K., Hess K.L., Jones R.L., 2002. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: sizedependent generation of reactive oxygen species. *Journal of Physics and Chemistry B*, 114(63): 13402-13412.

6. Edwards-Jones V., 2009. The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare. *Letters in Applied Microbiology*, 49(2): 147-152.

7. Folkmann J.K., Risom L., Jacobsen N.R., Wallin H., Loft S., Mluler P., 2009. Oxidatively damaged DNA in rats exposed by oral gavage to C60 fullerenes and single-walled carbon nanotubes. *Environment and Health Perspective*, 117(5): 703-708.

8. Hassan S.F., Abdel-Fattah S.A., Elsalmony A.E., 2009. Relationship between some serum enzyme activities, liver functions and body weight in growing local chickens. *International Journal of Poultry Science*, 8(7): 700-705.

9. Johnston H.J., Hutchison G., Christensen FM, Peters S., Hankin S., Stone V., 2010. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Critical Review of Toxicology*, 60(6): 342-364.

غشای سلول در مقایسه با ذرات دانه‌درشت باعث کاهش پاکسازی ریوی می‌شود (۵).

در نتیجه پاسخ التهابی بافت نیز کاهش می‌یابد با این حال اندازه و زمان ماندگاری نانو ذرات در فضای آلوئولی ممکن است چالشی بزرگ در سلول‌های هدف ایجاد کند از جمله آمفیزم که ریه‌های حجیم همراه بزرگ شدن کیسه‌های هوایی با نازک شده و تخریب دیواره‌های آلوئولی است که در اثر دو عدم تعادل پروتئاز - آنتی‌پروتئاز و اکسیدان - آنتی‌اکسیدان بوجود می‌آید که نتیجه‌ی این عمل افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد (۷). همانطور که در نتایج مشاهده گردید و بر اساس مطالعات انجام شده‌ی قبلی انتظار می‌رفت که جذب موثری در ریه مشاهده شود که این فرآیند در پژوهش حاضر به دلیل ذکر شده اتفاق افتاده است.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که مصرف استنشاقی دوزهای مختلف نانو ذرات نقره ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قادر است در مدت زمان ۱۰ روز بر عملکرد ریه تاثیر بگذارد و هم چنین در وزن اندام ریه تغییر ایجاد کند. در نهایت با توجه به شباهت فیزیولوژیک موش و انسان از تعمیم نتایج این مطالعه می‌توان در زمینه‌ی جلوگیری از آسیب‌های ریه در حین استفاده از نانو ذرات نقره استفاده نمود.

منابع

۱. رمضانی، ز.، ۱۳۹۲. بررسی میزان رسوب نانو ذرات نقره و نیترات نقره در بافت‌های کبد، کلیه، بیضه، طحال و بررسی هیستوپاتولوژی بافت‌های کبد، کلیه، بیضه، پانان نامه کارشناسی ارشد تکوینی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان.

2. Ahmadi F., 2011. Impact of Different Levels of Silver Nanoparticles (Ag-NPs) on Performance, Oxidative Enzymes, and



16. Rafiei Tabar H., 2006. Nanotechnology and its applications in medicine and pharmacy. *Shahid Beheshti University Research Journal of Medical Sciences and Health Services*, 4: 111-121.
17. Stebounova L., Adamcakova-Dodd A., Sung Kim J., 2011. Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model. *Particle and Fiber Toxicology*, 8(5):1-12.
18. Tang J, Xi T., 2008. Status of biological evaluation on silver nanoparticles. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 25(4):958-61.
19. Wijnhoven S., Peijneburg W., Herberts C., 2009. Nano-silver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 3(2):109-138.
20. Yeo M.K., Kang M., 2008. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebra fish embryogenesis. *Bulletin of Korean Chemistry Society*, 29(6):1179-1184.
21. Zhang Z., Kleinstreuer C., Donohue J.F., Kim C.S., 2005. Comparison of micro- and nano-size particle depositions in a human upper airway model. *Journal of Aerosol Science*, 36(2): 211-233.
10. Kim W.Y., Kim J., Park J.D., Ryu H.Y., Yu I.J., 2009. Histological study of gender differences in accumulation of silver nanoparticles in kidneys of fischer 344 rats. *J Toxicol Environ*, 72(21-22): 1279-1284.
11. Limbach L.K., Wick P., Manser P., Grass R.N., Bruinink A., Stark W.J., 2007. Exposure of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress. *Environmental Science and Technology*, 41(11): 4158-4163.
12. Moaddab S., Ahari H., Shahabzadeh D., 2011. Toxicity study of nanosilver on osteoblast cancer cell line. *International Nano Letters*, 1(1):11-16
13. Nel A., Xia T., Madler L., Li N., 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761): 622-627.
14. Ostiguy C., Soucy B., Lapointe G., Woods C., Menard L., Trottier M., 2008. Health effects of nanoparticles. In: Chemical substances and biological agents studies and research projects. 2 end Report, R-589.
15. Parka E., Bae E., Yi J., Kim Y., Choi K., Lee S.H., 2010. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(4): 144-142.