



تغییرات مورفولوژیک بافت کلیه پس از تزریق نانوذرات طلائی بیولوژیک در موش‌های صحرائی نژاد ویستار

بهروز یحیایی^{۱*}، پرستو پورعلی^{۲،۱}، مریم حسنی^۱

۱- گروه پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

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

* مسئول مکاتبات: behroozyahyaei@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۴

چکیده

نانوذرات طلا در زمینه‌ی پزشکی دارای کاربردهای متفاوتی هستند. اگرچه خصوصیات نانوذرات تولید شده به روش شیمیایی مورد بررسی قرار گرفته است، با این وجود خصوصیات نانوذراتی که به روش زیستی تولید شده‌اند، هنوز به خوبی مورد ارزیابی و پژوهش قرار گرفته نشده است. بنابراین، مطالعه اخیر بر روی ارزیابی اثرات سمیت سلولی نانوذرات طلائی تولید شده به روش زیستی بر روی کلیه موش صحرائی انجام شد. پس از تهیه نانوذره طلائی زیستی از باکتری *Bacillus subtilis* و استریلیزاسیون محلول، نانوذرات در دوزهای سمی و غیر سمی محاسبه شده و به روش درون صفاقی در دو دوز به فاصله ۴۸ ساعت به موش-های صحرائی تزریق شد. سپس بعد از ۲۴ ساعت نمونه‌گیری بافتی انجام و بررسی بافت شناسی صورت گرفت. تزریق نانوذرات در دوز غیر سمی سبب کوچک شدگی و فشردگی در تعداد اندکی از گلوبول‌ها شد. اما سایر یافته‌ها نرمال می‌باشند. تزریق نانوذرات در دوز سمی سبب کاهش تعداد گلوبول‌ها در بعضی از نواحی شد. در فضای ادراری بزرگ شدگی و اتساع دیده شد. همچنین برخی گلوبول‌ها دارای اندازه کوچکتر و جمع‌شدگی می‌باشند. لوله‌های کلیوی مشکل خاصی را نشان نداده ولی میزانی پرخونی در فضای بینابینی آنها قابل رویت است. استفاده از نانوذرات زیستی طلا در مقایسه با انواع غیرزیستی سمیت کمتری داشته و سمیت آنها وابسته به دوز می‌باشد.

کلمات کلیدی: نانو ذره طلا، کلیه، باکتری، سمیت سلولی.

مقدمه

به معنای کوتوله و در سیستم متریک به معنای 10^{-9} می‌باشد، امروزه این واژه در فناوری نانو استفاده می‌گردد. از کاربردهای نانوذرات می‌توان به مواد کامپوزیت، کاتا لیزور، بسته‌بندی روکش‌ها، افزودنی-های سوخت، ساینده‌ها، باتری‌ها، روان‌کننده‌ها، پزشکی و داروسازی، دارورسانی و تشخیص پزشکی اشاره نمود (۲). نانوتکنولوژی یک رشته گسترده در

نگاه به فرآیندهای شیمیایی و بیولوژیکی از دید نانومتری در ابعاد اتمی اطلاعاتی به دست می‌دهد که بسیار راحت‌تر می‌توان مسیر حرکتی آن را مشخص و خواسته‌ها و نظرهای شخصی را در آن اعمال کرد. آنچه که امروز تحت عنوان نانوتکنولوژی مطرح است آشنا شدن و کنترل کردن بسیاری از پدیده‌ها در ابعاد اتمی و آنگسترومی می‌باشد (۵). نانو پیشوندی یونانی

های فرآوری بخار جهت تولید نانوذرات بلوری مورد استفاده قرار گرفته شد (۱۴).

تولید زیستی روندی است که توسط فرآیندهای زیستی آنزیمی و غیرآنزیمی رخ می‌دهد. این نوع از تولید به دلیل عدم تولید مواد سمی در محیط، به نام تکنولوژی سبز نیز خوانده می‌شود که در طی آن نانوذرات فلزی بهتری نسبت به انواع دیگر تولید می‌شود (۱۰).

در حقیقت میکروارگانیسم‌ها می‌توانند بر روی غلظت‌های بالایی از یون‌های فلزی رشد نموده و زنده بمانند که بدلیل توانایی آنها در برخورد با شرایط استرس است. روش‌هایی که میکروب‌ها در این شرایط می‌توانند مورد استفاده قرار دهند، شامل سیستم‌های جریان یونی، تغییر در حالیت و سمیت یون‌ها از طریق اکسیداسیون و احیاء، ایجاد کمپلکس‌های خارج سلولی یا رسوب فلزات و یا نداشتن سیستم‌های انتقال یون فلزی به درون سلول می‌باشد (۸).

تولید زیستی نانوذرات فلزی قابلیت تجاری بالاتری داشته و در مصرف انرژی کم‌هزینه‌تر عمل مینماید. همچنین این روش، سرعت تولید بالاتری در مقایسه با روش‌های معمول دیگر دارد.

تولید در سطح بالا در روش‌های فیزیکی و شیمیایی معمولاً سبب افزایش اندازه ذرات شده که از میکرومتر تجاوز می‌نماید، در حالی‌که روش زیستی می‌تواند به صورت موثری در تولید نانوذرات با اندازه کوچک ولی در حجم بزرگ عمل نماید. همچنین روش فوق روشی کم‌هزینه، تمیز، غیر سمی و دوستدار طبیعت می‌باشد. روش‌های فیزیکی نیاز به دماهای بالا داشته و روش‌های شیمیایی نیاز به فشارهایی بالا دارند که ایجاد این شرایط در مقایسه با روش زیستی معمولاً پرهزینه و مشکل می‌باشد (۹).

حوزه علوم کاربردی است که کاربردهای فراوانی در علوم پزشکی داراست. روش‌های مختلفی برای تولید نانوذرات وجود دارد که دو تا از آنها شامل روش فیزیکی و شیمیایی می‌باشند. مشخص شده که روش فیزیکی تولید نانو ذرات آثار مخربی از قبیل کاهش میزان تولید و مقاومت و انتشار دارد. در روش شیمیایی تولید نانو ذرات مسایلی از قبیل باقی ماندن اثرات سمی واکنش گرشیمیایی در سطح نانو ذره تولیدی منجر به نگرانی در مورد استفاده از این ذرات در محیط سلولی شده است. همچنین این دو روش تولید نانو ذرات انرژی زیاد، فشار و درجه حرارت بالایی نیاز دارند و علاوه بر اینها، تولید مواد سمی در محیط از دیگر آثار زیان بار آنها می‌باشد (۳).

فناوری نانو یا نانو تکنولوژی رشته‌ای از دانش کاربردی است که موضوع اصلی آن مهار ماده یا دستگاه‌هایی در ابعاد کمتر از یک میکرومتر، معمولاً حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است. در واقع نانو تکنولوژی فهم و به کارگیری خواص جدیدی از مواد و سیستم‌هایی در این ابعاد است که اثرات فیزیکی جدیدی، عمدتاً متأثر از غلبه خواص کوانتومی بر خواص کلاسیک، از خود نشان می‌دهند. نانو فناوری یک دانش به شدت میان رشته‌ای است و به رشته‌هایی چون فیزیک کاربردی، مهندسی مواد، مهندسی مکانیک، مهندسی برق، مهندسی شیمی و رشته‌های مرتبط با زیست‌شناسی نیز مربوط می‌شود (۷).

اولین استفاده از نانوذرات در حدود قرن ۴ و ۵ در لعاب‌های چینی و سرامیک‌های تزئینی سلسله‌های ابتدایی چین بوده است. در یک جام رومی از نانوذرات طلا استفاده شده است تا رنگ‌های متفاوتی از جامبر حسب نحوه تابش نور پدید آید، البته علت چنین اثراتی برای سازندگان آنها ناشناخته بوده است (۶). گذشته از آن در دهه ۱۹۳۰ برای اولین بار روش-

تا به حال بسیاری از میکروبیوم‌ها، قارچ‌ها، دیاتوم‌ها، آکتینومیست‌ها و مخمرها جهت تولید نانوذرات فلزی درون و برون‌سلولی استفاده شده‌اند و مطالعات بسیاری بر روی کنترل شکل، اندازه و ترکیب نانوذرات نیز انجام شده است (۱۷).

نانوذرات طلا به دلیل خواص الکترونی و نوریشان می‌توانند در تشخیص‌های طبی، درمان بیماری‌ها و ساخت سنسورها به کار روند که در ادامه به تفصیل توضیح داده می‌شود. طلا از زمان‌های قدیم مورد استفاده قرار گرفته است زیرا دارای خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی قوی می‌باشد. در این حوزه نانوذرات طلا بدلیل سطح بالای پذیرش آنها در سامانه‌های زیستی و همچنین توانایی بالای آنها در ایجاد ترکیب با مولکول‌های عملکردی توجه زیادی را در تحقیقات نانوزیست فناوری به خود جلب کرده است. بعلاوه این نانوذرات در حوزه‌های تحقیقاتی متفاوتی مانند پزشکی، تحقیقات مولکولی زیستی و نانوالکترونیک سودمند می‌باشند (۱۵).

در گزارش تحقیقات در سال ۲۰۱۳ دیده می‌شود که تزریق نانوذرات ۱۰ و ۵۰ نانومتر برای دوره‌های کوتاه ۳ روزه فقط منجر به تغییر قابل ملاحظه در آنزیم‌های کبدی می‌شود در حالی که بر روی مقادیر کلیوی اثر قابل توجهی ندارد (۱۱).

سایر مطالعات نشان دادند که در صورت تزریق درون صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نانوذره با غلظت‌های ۵ و ۱۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام، در گروه ۵ و ۱۰۰ تخریب کامل توبول پروگزیمال و قسمت کورتیکال توبول دیستال وجود داشته و در گروه ۲ تخریب تقریباً کامل در توبول دیستال و پروگزیمال بوجود می‌آید در نتیجه این یافته‌ها می‌تواند منعکس‌کننده‌ی آسیب توبول‌های کلیوی به دلیل سمیت نانوذرات طلا باشد (۴).

مطالعات گذشته نشان داده است که تزریق درون صفاقی نانوذرات طلا با سایز ۱۰ نانومتر سمیت بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگتر دارد اما اثرات مدت زمان مواجهه به طور بارز قابل اثبات نیست و با افزایش مدت زمان مواجهه، سمیت نانوذرات افزایش یافته که دلیل آن را افزایش توزیع و تجمع این ذرات در ارگان‌ها ذکر کردند (۱).

با توجه به اهمیت کلیه به عنوان یکی از اعضا حیاتی و امکان استفاده از نانو ذرات طلا در بدن انسان در جهت موارد تشخیصی و درمانی از جمله رساندن دارو به بدن، در تحقیق حاضر به بررسی اثر و سمیت نانو ذرات طلا تولیدی با روش زیستی بر روی بافت کلیه موش صحرایی پرداخته شده است تا به وسیله نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر بتوان در آینده از نانوذرات طلا با اطمینان بیشتر از عدم سمیت آن در بدن استفاده نمود.

مود و روش‌ها

مطالعه کنونی در ادامه تحقیقات قبلی و پیرامون بررسی اثرات سمیت سلولی نانوذرات طلا تولید شده به روش بیولوژیک و بصورت آزمایشات برون تنی و درون تنی می‌باشد. در مطالعه انجام شده توسط رضایی و همکاران در سال ۱۳۹۵ انجام شد، ابتدا نانوذرات طلا توسط باکتری *Bacillus cereus* (PTCC 1015) تولید و اثرات سمیت سلولی آن بر رده سلولی هپاتوسیت HepG2 بررسی گردید. جهت تولید بیولوژیک نانوذرات طلا، ابتدا باکتری *Bacillus cereus* در محیط نوترینت براث، کشت داده شد و سپس باکتری‌ها توسط سانتریفیوژ از محیط رشد میکروبی جداسازی و سوپرناتانت به دست آمده در معرض کلرواوریک اسید با غلظت نهایی ۱ میلی‌مولار قرار گرفت. محلول تولید شده در دور ۲۰۰ rpm در دمای 37 °C به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و تولید

دوره آزمایش از خوراک مخصوص و فشرده جوندگان (۲۵ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) و آب سالم شهری (روزانه ۵۰ میلی‌لیتر)، در ظرف آب خوری از جنس PVC برای تغذیه آن‌ها استفاده شد و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و میزان رطوبت محیط ۴۰ تا ۶۰ درصد و دما ۲۰C تا ۲۵ بود. موش‌های صحرائی تا زمان تزریق به صورت هفتگی وزن‌کشی شدند. این مطالعه بر طبق راهنمای استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی اجرا گردید و کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات همراه با کد اخلاق دریافت شد.

گروه‌بندی حیوانات به شکل زیر بود و در هر گروه ۵ سر موش استفاده شد:

(۱) گروه موش‌های نر سالم دریافت‌کننده نانو ذرات با دوز غیر سمی.

(۲) گروه موش‌های نر سالم دریافت‌کننده نانو ذرات با دوز سمی.

(۳) گروه موش‌های نر سالم (گروه کنترل) (N=۵) بعد از گروه بندی موش‌های صحرائی و اطمینان از استریلیزاسیون محلول نانو ذرات به روش تیندالیزاسیون، بر اساس مداخله‌ها تزریق نانو ذره بیولوژیک طلا به صورت درون صفاقی و به مقادیر ثبت شده در جدول ۱ انجام شد.

دوره آزمایشی دو هفته بود و گروه دوم نر سالم هیچ داروی بیهوشی دریافت نکردند.

به موش‌های صحرائی نر در گروه اول، نانو ذره با دوز غیر سمی، دوبارو به فاصله ۴۸ ساعت تزریق شد. به موش‌های صحرائی نر در گروه سوم نانو ذره با دوز سمی، دو بار و به فاصله ۴۸ ساعت تزریق شد.

در انتهای دوره آزمایش تمامی موش‌های صحرائی شب قبل از نمونه برداری به مدت ۱۰ ساعت ناشتا بودند. به منظور نمونه‌گیری بافتی، موش‌های صحرائی قربانی و نمونه‌گیری بافتی انجام گردید. نمونه‌های

نانوذرات طلا با بررسی تغییر رنگ محلول از زرد به قرمز و نیز روش‌های اسپکتروفوتومتری، میکروسکوپ الکترونی عبوری و تکنیک پراش اشعه ایکس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تولید نانو ذرات طلا با ابعاد ۱۰-۷۰ نانومتر و به صورت گرد و چند وجهی را نشان داد. با توجه به اینکه نانو ذرات طلا به صورت وابسته به دوز دارای سمیت سلولی بر روی سلول‌های هیاتوسیت بوده‌اند، ابتدا غلظت‌های سمی و غیر سمی آن‌ها بر اساس IC پنجاه، تهیه شد. برای این منظور به دلیل اینکه IC پنجاه در چاهک شماره ۵ پلیت کشت سلولی بود محاسبات نشان داد که نانو ذرات در این چاهک رقتی معادل ۱/۳۲ محلول اولیه داشتند. در نتیجه از رقت ۱/۶۴ به بعد به عنوان دوز غیر سمی نانو ذرات طلا در نظر گرفته شد (۱۲).

بر همین اساس در مطالعه حاضر از رقت ۱/۱۲۸ بعنوان دوز غیر سمی و از رقت ۱/۳۲ بعنوان دوز سمی استفاده گردید. بدین منظور جهت ایجاد دوز غیر سمی باید ۱ سی‌سی از نانو ذرات، با ۱۲۷ سی‌سی از خون موش مخلوط شود. از آنجا که حجم خون موجود در بدن هر موش ۱۰٪ وزن کل بدن را شامل می‌شود جهت تزریق با دوز غیر سمی در موش صحرائی به وزن ۲۰۰ گرم که حجم خونی حدود ۲۰ سی‌سی خواهد داشت ۰/۱۵ سی‌سی از نانو ذرات تزریق شد.

به منظور بررسی اثر نانو ذره طلا بر بافت کلیه، ۱۵ سر موش صحرائی با سن ۸-۱۲ هفته و میانگین وزن مشابه، خریداری و به مدت یک هفته شرایط قرنطینه و تطابق اعمال شد تا حیوانات با شرایط محیط جدید عادت کنند. سپس حیوانات وزن‌کشی و به طور تصادفی انتخاب و گروه‌بندی و نگهداری شدند. حیوانات در گروه‌های مورد بررسی در قفس‌های استاندارد مخصوص از جنس PVC، هر قفس ۳ سر، با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، نگهداری شدند. در طی

جدا شده از تمامی موش‌های صحرایی، بلافاصله درون ظروف حاوی محلول فرمالین ۱۰٪ جهت ثبوت بافت قرار داده شده و پس از ۲۴ ساعت محلول فرمالین تعویض گردید. نمونه‌های اخذ شده جهت تهیه مقاطع هیستوپاتولوژیک به آزمایشگاه ارسال گردید. بعد از آماده‌سازی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) نمونه‌ها جهت تفسیر به لحاظ متغیرهایی که به طور معمول و قراردادی جهت بررسی روند تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کلیه مطالعه می‌شوند، به کمک میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی بافت شناختی قرار گرفتند.

کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تحقیق حاضر با کد اخلاق IR.IAU.SHAHROOD. REC.1395.10 رعایت گردید.

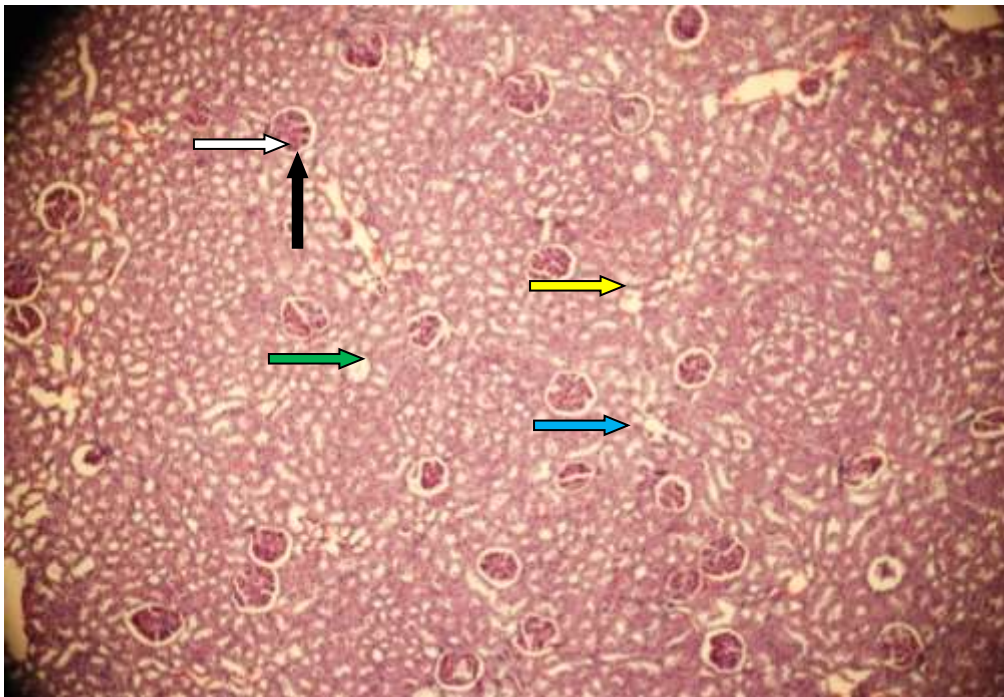
نتایج

با توجه به جدول ۱ آزمایشات بیوشیمیایی فوق میتوان نتیجه گرفت تزریق دوز سمی نانوذرات در مقایسه با دوز غیر سمی منجر به تغییر در میزان عملکرد کلیوی و افزایش میزان کراتینین نشده است. در بافت کلیه نمونه‌های گروه کنترل مشخصات نواحی قشری و مرکزی کلیه کاملاً طبیعی و سالم است. در ناحیه قشری گلومرول‌ها (فلش سفید)، دارای اندازه و تعداد طبیعی بوده و کپسول بومن (فلش سیاه) نیز دارای سلول‌های طبیعی می‌باشد. فضای ادراری (فلش زرد) دارای اندازه نرمال و لوله‌های پیچیده دیستال (فلش سبز) و لوله‌های پیچیده پروگزیمال (فلش آبی) شکل،

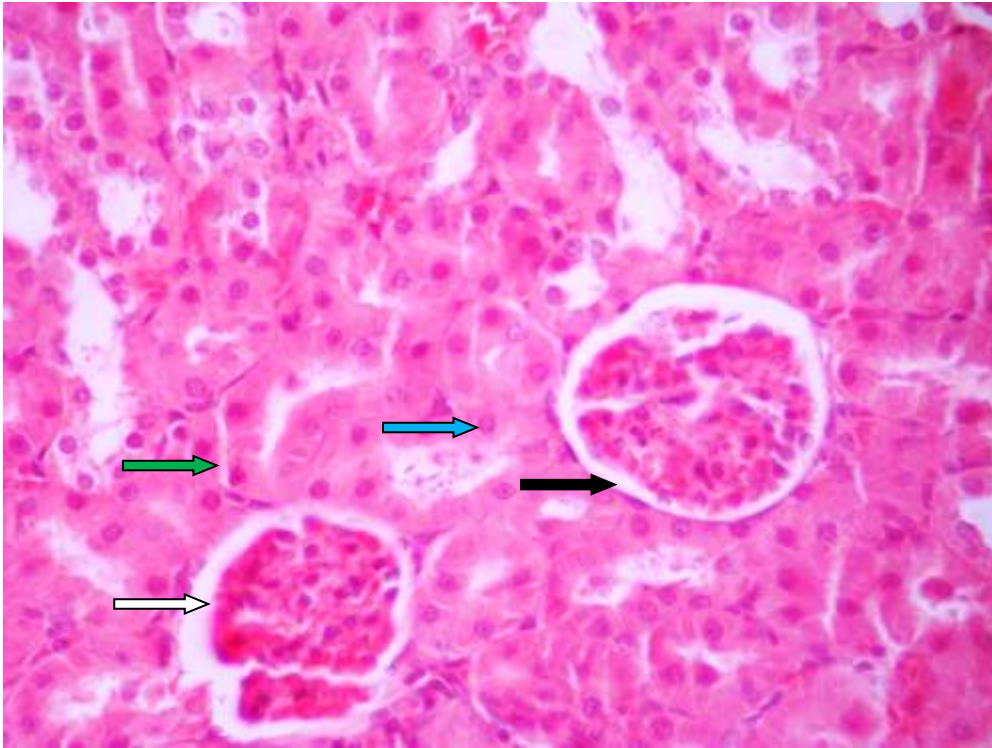
اندازه و ویژگی‌های نرمالی را نشان می‌دهند. در قسمت مرکزی نیز لوله‌های کلیوی کاملاً سالم به نظر می‌رسند و هیچگونه اثری از پرخونی، التهاب یا کست دیده نمی‌شود (شکل ۱). در نمونه‌های میکروسکوپی یک گروه دوز غیرسمی نانوذرات پلازمیزان و نسبت قرارگیری گلومرول‌ها دارای شرایط مناسب و نرمالی می‌باشد اما تعداد اندکی گلومرول مشاهده می‌گردد (فلش سفید) که دارای روند کوچک شدگی و فشردگی هستند. فضای ادراری دارای ویژگی مناسب بوده و محیط و اتساع غیر طبیعی در آن دیده نمی‌شود. لوله‌های کلیوی (فلش سبز و آبی) نیز اندازه و فضای لومن طبیعی را نشان می‌دهند کپسول بومن (فلش سیاه) نیز کاملاً فضا و شکل مناسب دارد و سلول‌های مزانشیمی تشکیل دهنده آن شکل طبیعی خود را با فاصله و اندازه مناسب نشان می‌دهند (شکل ۲). در نمونه‌های بافت شناسی کلیه گروه نانوذرات طلای دوز سمی دیده شد که در برخی نواحی تعداد گلومرول‌ها کاهش یافته و فضای ادراری (فلش زرد) دارای بزرگ شدگی و اتساع می‌باشد. همچنین برخی گلومرول‌ها دارای اندازه کوچکتر و جمع شدگی می‌باشند. لوله‌های کلیوی مشکل خاصی را نشان نداده ولی میزانی پرخونی (فلش قرمز) در فضای بینابینی آنها قابل رویت است. کپسول بومن (فلش سیاه) کاملاً سالم بوده و سلول‌های سازنده آن مشخصات طبیعی خود را دارند (شکل ۳).

جدول ۱- آزمایشات بیوشیمیایی

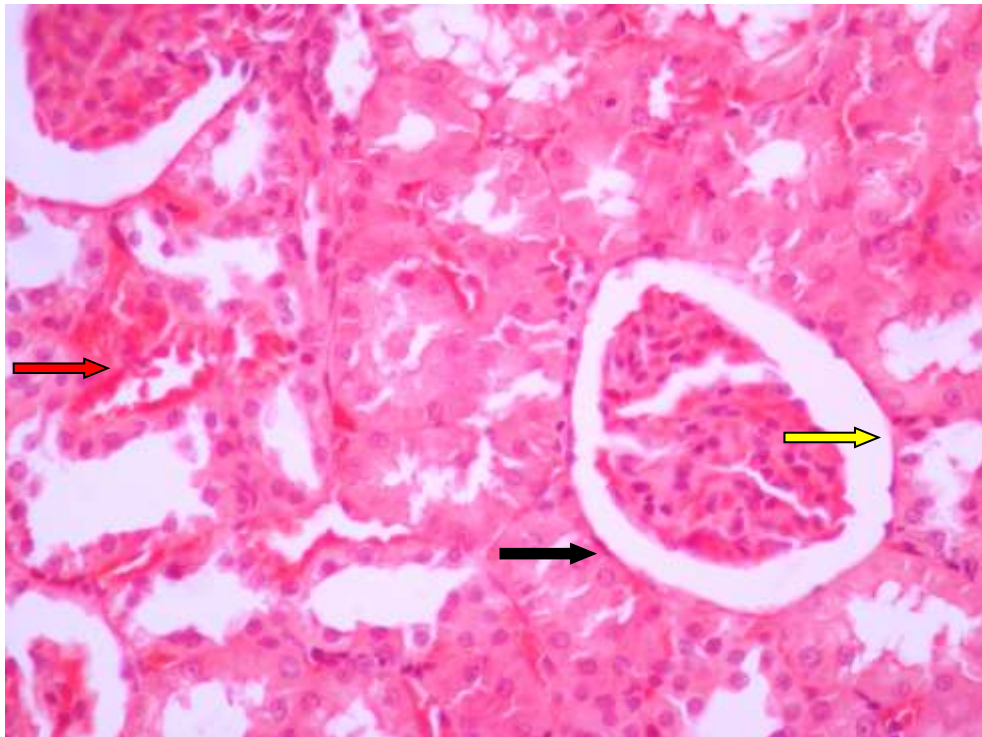
NA	UREA	CR	Rat	
۱۴۳	۴۰	۰/۷	۱	گروه ۱
۱۴۳	۴۸	۰/۸	۲	
۱۴۲	۴۳	۰/۷	۳	
۱۴۱/۵	۵۲	۰/۷	۴	
۱۴۰	۴۷	۰/۶	۵	
۱۴۱	۳۴	۰/۷	۱	گروه ۳
۱۴۲	۳۶	۰/۸	۲	
۱۴۲	۴۴	۰/۶	۳	
۱۴۲	۲۹	۰/۶	۴	
۱۳۹	۳۵	۰/۷	۵	



شکل ۱- مقطع بافت کلیه موش صحرائی گروه کنترل (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین×۱۰۰).



شکل ۲- مقطع بافت کلیه موش صحرائی گروه دوز غیر سمی نانوذرات طلا. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین $\times 400$).



شکل ۳- مقطع بافت کلیه موش صحرائی گروه دوز سمی نانوذرات طلا. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین $\times 400$).

بحث

و فشرده‌گی تعداد اندکی از گلومرول‌ها نسبت به گروه کنترل شده اما هیچ تغییر پاتولوژیک بافتی در نحوه قرارگیری گلومرول‌ها، فضای ادراری، لوله‌های کلیوی و کپسول بومن و ساختار سلول‌های مزانژیال رخ نداده است و این ساختارها شکل طبیعی و اندازه مناسب دارند. تزریق نانوذرات طلازیستی در دوز سمی سبب کاهش تعداد گلومرول‌ها در بعضی نواحی شده و برخی از آنها اندازه کوچکتر و جمع شدگی پیدا کردند، فضای ادراری اتساع یافته و در فضای بینابینی لوله‌های کلیوی پرخونی رویت می‌شود اما ساختار کپسول بومن کاملاً سالم و طبیعی می‌باشد.

در سال ۲۰۱۳، اثرات مدت زمان مواجهه و سایز نانوذرات طلا غیرزیستی بر روی کبد و کلیه موش صحرایی در محیط بافتی بررسی شد. در این مطالعه از ۳۰ موش ویستار سالم هم سن (۱۲ هفته) و وزن حدودی ۲۲۰-۲۴۰ گرم استفاده شد که به طور تصادفی به گروه‌هایی تقسیم شدند. (دو گروه از موش‌ها تحت درمان با نانوذره طلا و یک گروه کنترل). ۵۰ میکروگرم از نانوذرات ۱۰ و ۵۰ نانومتر به روش داخل صفاقی به موش‌ها برای ۳ روز تزریق شد سپس چندین پارامتر بیوشیمیایی (ALT، AST، GGT، ALP، Urea، Cr) ارزیابی شد. در نتیجه این مطالعه ثابت کرد افزایش AST و کاهش ALP در مواجهه با نانو ذرات کوچکتر برای دوره ۳ روزه وجود دارد در حالیکه کاهش GGT و ALT در تزریق نانوذرات بزرگتر مشاهده می‌شود. در گزارش نتیجه کلی این پژوهش ذکر شد تزریق نانوذرات ۱۰ و ۵۰ نانومتر برای دوره‌های کوتاه ۳ روزه فقط منجر به تغییر قابل ملاحظه در آنزیم‌های کبدی می‌شود در حالی‌که بر روی مقادیر کلیوی اثر قابل توجهی ندارد و ذکر شد محافظت از کبد در مقابل سنتز و متابولیسم نانوذرات مهمترین مشکل برای به کارگیری نانوذرات

تا به امروز نانوذرات به صورت قابل ملاحظه‌ای در بسیاری از زمینه‌ها در زندگی انسان وارد شده‌اند. نفوذ بالای این ذرات در زندگی انسان منجر به این شد که دانشمندان پیوسته به دنبال راه‌های کم‌هزینه‌تر و کم‌خطرتر برای تولید نانوذرات باشند (۱۰).

روش‌های متنوعی جهت تولید نانوذرات وجود دارد که به سه روش کلی فیزیکی، شیمیایی و زیستی طبقه بندی شده‌اند. تولید به روش شیمیایی ساده است ولی احتمال اینکه مواد سمی حاصل از واکنش بر روی نانوذرات تولیدی باقی بمانند وجود دارد. در روش فیزیکی نانوذرات دارای سمیت کمی می‌باشند ولی تولید زمان‌بر می‌باشد. با توجه به این معایب و مشکلات استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی امروزه روش تولید زیستی معرفی گردیده است که روشی آسان و ارزان بوده و دارای سمیت کم می‌باشد و سازگاری بالا با بدن انسان را دارا می‌باشد (۸).

تولید زیستی نانوذرات یکی از روش‌های کم‌خطر و کم‌هزینه برای تولید نانوذرات می‌باشد. نانوذرات به دلیل داشتن ابعاد بسیار کوچک و نسبت سطح به حجم بالا دارای خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی می‌باشند (۱۰).

با توجه به اینکه تا کنون مطالعه‌ای مبنی بر اثرات سمیت سلولی در شرایط آزمایشگاهی و نیز واکنش نانوذرات طلا تولید شده به وسیله میکروارگانیزم‌ها در بدن وجود ندارد و اکثر مطالعات موجود بر روی نانوذرات طلا تولید شده به روش شیمیایی بوده و کمتر به نانوذرات تولیدی به روش زیستی پرداخته شده است، در مطالعه حاضر، نانوذرات طلا تولیدی توسط *Bacillus subtilis* و سمیت آن بر سلول‌های کلیه مورد بحث قرار گرفت.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تزریق نانو ذرات زیستی طلا در دوز غیرسمی فقط سبب کاهش اندازه

در حوزه‌های سلامت در آینده خواهد بود (۱۱). مطالعه حاضر نیز تزریق نانوذرات زیستی طلا در سایز ۷۰-۵۰ نانومتر اثر قابل ملاحظه‌ای بر پارامترهای کلیوی نشان نداد و از نظر سایز نانوذرات با مطالعه مقایسه شده هم خوانی نسبی دارد. در مطالعه‌ای که توسط دودی و همکارانش در سال ۲۰۱۳، با هدف بررسی اثر میزان دوز نانوذرات طلا غیرزیستی و مدت زمان مواجهه با آن بر کلیه انجام شد. سر موش صحرایی ویستار نر به ۴ گروه (۳ گروه مواجه یافته و ۱ گروه کنترل) تقسیم شدند. به گروه ۱، ۲، ۳ به ترتیب ۰/۵ از محلول نانوذرات با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۰۰ به روش درون‌صفافی تزریق شد. به گروه کنترل، ۰/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین تزریق شد. پارامترهای بیوشیمیایی کراتینین، اوریک اسید و اوره خون در روزهای ۷ و ۱۴ گرفته شد و در روز ۱۴ بافت کلیه خارج و تحت مطالعات بافت‌شناسی قرار گرفتن تایج ذیل اعلام شد: هیچ تفاوت بارزی در پارامترهای بیوشیمیایی بین گروه کنترل و سه گروه تحت مداخله دیده نشد اما میزان این پارامترها در هر سه گروه (به جز کراتینین گروه ۱ و اوریک اسید گروه ۲) در روز ۷ و ۱۴ بعد از تزریق نسبت به گروه کنترل افزایش داشت اما باز هم این تفاوت‌ها بارز نبود. در گروه ۱ و ۳ تخریب کامل توبول پروگزیمال و قسمت کورتیکال توبول دیستال وجود داشت و در گروه ۲ تخریب تقریباً کامل در توبول دیستال و پروگزیمال وجود داشت در نتیجه این یافته‌ها می‌تواند منعکس کننده آسیب توبول‌های کلیوی به دلیل سمیت نانوذرات طلا باشد (۴).

با توجه به روش انجام این مطالعه و مقایسه با مطالعه ما می‌توان نتیجه گرفت نانوذرات طلای زیستی سمیت خیلی کمتری داشته و برای کاربردهای پزشکی مناسب‌تر می‌باشد. Bashir و همکارانش در سال ۲۰۱۴ تغییرات هیستولوژیک بافت کلیه در اثر مواجهه

با نانو ذرات طلای ۱۰ نانومتری و اثر مدت زمان مواجهه با آنها را بررسی کرده و ۴۰ سر نر ویستار را به ۴ گروه تقسیم کردند. در نهایت مطالعه هیستولوژیک بافت کلیه موش‌ها نتایج زیر را نشان داد که ادم ابری توبول‌ها، دژنراسیون هیدروپیک، کست هیالن، تغییرات هسته و نکروز توبولار دیلاتاسیون عروق خونی بین لوبولی همراه با خونریزی در بعضی نقاط، ارتشاح سلول‌های التهابی و احتقان گلوبولوی، همچنین کورتکس و توبول پروگزیمال نسبت به مدولا و توبول دیستال آسیب بیشتری داشتند اما هیچ گونه فیروز یا افزایش ضخامت در غشای بازال کپسول بومن یا رسوب هموسیدرین دیده نشد. آنها ازین مطالعه نتیجه گرفتند تزریق درون‌صفافی نانو ذرات با سایز ۱۰ نانومتر سمیت بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگتر دارد اما اثرات مدت زمان مواجهه به طور بارز قابل اثبات نیست اما با افزایش مدت زمان مواجهه سمیت نانوذرات افزایش یافته و دلیل آن را افزایش توزیع و تجمع این ذرات در ارگان‌ها ذکر کردند (۱۲).

در سال ۲۰۱۵، Reznikov و همکارانش به ارزیابی اثر نانو ذره طلا بر روی سلول‌های رده LNCaP سرطان پروستات پرداختند. طی این مطالعه اثر نانوذره طلا بر روی رشد سلول‌های حساس به آندروژن سرطان پروستات بررسی شد بعد از دوره کمون ۴ روزه در حضور نانو ذرات طلا تاخیر مشخصی در رشد سلول-های LNCaP در هر دو محیط سلولی (تحریک شده با ۵ آلفا دهیدروتستوسترون و غیر تحریکی) مشاهده شد. هیچ تغییر مورفولوژیکی در سلول‌های LNCaP زنده در هیچ یک از آزمایشات مشاهده نشد. در نتیجه در غیاب تغییرات مورفولوژیک در سلول‌های زنده و ثبات نسبی تعداد سلول‌های مرده نتیجه گرفته شد که اثرات مهارى نانوذرات طلا روی رشد سلول-های LNCaP به دلیل تغییر در تکثیر سلولی انجام

4. Doudi M., Setorki M., 2014. The effect of gold nanoparticle on renal function in rats. *Nanomedicine Journal*, 1(3):171-179.
5. Farahnak zarabi M., Saffari Z., Akbarzadeh A., 2014. Synthesis and Applications toward Biology, Catalysis, and medicine Gold Nanoparticles. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 4(13): 9-20.
6. Freestone I., Meeks N., Sax M., Higgitt C., 2007. The lycurgus cup a Roman nanotechnology. *Gold Bulletin*, 40: 270-277.
7. Gericke M., Pinches A., 2006. Biological synthesis of metal nanoparticles, Hydrometallurgy. *Journal Nanoparticles*, 83: 132-140.
8. Harrison R., 2002. Measurement of number mass and size distribution of particles in the atmosphere. *Land*, 2567-2580.
9. Kathiresan K., Manivannan S., Nabeel M., Dhivya B., 2009. Studies on silver nanoparticles synthesized by a marine fungus, *Penicillium fellutanum* isolated from coastal mangrove sediment. *Colloids Surfaces*, 71: 133-137.
10. Kumar S., Abyaneh M., Gosavi S., Kulkarni S., Ahmad A., Khan M., 2007. Sulfite reductase-mediated synthesis of gold nanoparticles capped with phytochelatin. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 47: 191-195.
11. Mohamed Anwar K., Abdelhalim a., Sherif A., Abdelmottaleb Moussa., 2013. The gold nanoparticle size and exposure duration effect on the liver and kidney function of rats: In vivo. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2): 177-181.
12. Rezaei A., Purali P., Yahyaei B., 2016. Assessment of the cytotoxicity of gold nanoparticles produced by *Bacillus cereus* on hepatocyte and fibroblast cell lines. *Journal of Cellular and Molecular Researches*, 29(3): 291-301.

می‌شود (۱۳). بر اساس نتایج مطالعه یحیایی و همکاران در سال ۹۷ مشخص گردید، نانوذرات طلا خواص سمیت سلولی کمی بر بافت کبد دارند که این سمیت وابسته به دوز نانوذرات بوده و می‌توان از نانوذرات مذکور با دوزهای غیر سمی در بدن استفاده نمود (۱۶).

مطالعه ما اثر تزریق نانو ذرات طلا را در دو دوز سمی و غیرسمی بررسی کرده است که نتایج نشان داد، نانوذرات طلای زیستی با اندازه ۵۰-۷۰ در دوز غیر سمی هیچگونه اثر مخربی بر روی معیارهای هیستوپاتولوژیک کلیه نگذاشته و در دوز سمی نیز در اندازه گلو مریول تغییرات اندکی همراه با پرخونی ایجاد نموده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، پیشنهاد می‌گردد، جهت بررسی دقیق‌تر عملکرد نانوذرات طلای زیستی در کلیه، در پژوهش‌های آتی میزان تاثیر نانوذرات زیستی لینک شده به داروهای موثر بر عملکرد کلیوی در حیواناتی با اختلال عملکرد کلیوی سنجیده شود و نتایج از لحاظ هیستوپاتولوژی و مقادیر بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1. Bashir M Jarrar., Mosaid A. Alferah., 2014. Renal Histological Alterations Induced by 10 nm Gold Nanoparticles Toxicity in Relation with the Time of Exposure. *Latin American Journal of Pharmacy*, 33(5):725-30.
2. Bruins R., Kapil S., Oehme S., 2000. Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45(3):198-207.
3. Burdick, G., 1963. Energy Band Structure of Copper. *Physical Review*, 129: 138.

16. Yahyaei B., Pourali P., Bakherad S., 2019. Study of the possible effects of the biologically produced gold nanoparticles by *Bacillus cereus* on the function and structure of the rat's liver. *Journal of Knowledge and Health in Basic Medical Sciences*, 13(4): 3-10.
17. Zhang X., Yan S., Tyagi R., Surampalli R., 2011. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*, 82: 489-494.
13. Reznikov A.G., Salivonyk O.A., Sotki, A.G., Shuba Y. M., 2015. Assessment of gold nanoparticle effect on prostate cancer LNCaP cell. *Experimenta Oncology*, 37(2): 100-104.
14. Tullo A., 2009. Stretching Tires' Magic Triangle. *Chemical and Engineering News*. 46:10-14.
15. Wang Y., He X., Wang K., Zhang X., Tan W., 2009. Barbated Skullcup herb extract-mediated biosynthesis of gold nanoparticles and its primary application in electrochemistry. *Biointerfaces*, 73(1):75-79.

