



بررسی میزان جذب نانو اکسید روی در ریه‌ی موش سوری ماده نژاد NMRI

پروانه خلیلیان، عبدالحسین شیروی*، حسین عباسپور

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

*مسئول مکاتبات: shiravi738@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲

چکیده

فناوری نانو واژه‌ای است که به تمام فناوری‌های پیشرفته در عرصه‌ی کار با مقیاس نانو اطلاق می‌شود و معمولاً منظور از مقیاس نانو ابعادی در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. نانو اکسید روی یکی از مهمترین نانومواد است که امروزه در صنعت و تجارت به صورت وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد و این سبب نگرانی‌هایی در مورد تاثیر آن بر محیط‌زیست و سلامت انسان شده است. همچنین مطالعات زیادی در زمینه‌ی آسیب رساندن این ماده به بدن انجام نشده است. این مطالعه به منظور بررسی نقش نانو اکسید روی و میزان رسوب این ماده در بافت ریه صورت گرفت. موش‌های سوری ماده‌ی نژاد NMRI به ۳ گروه ۱۰ تایی شامل دو گروه تجربی و یک گروه کنترل تقسیم‌بندی شدند. طی دوره‌ی ۱۰ روزه گروه‌های تجربی دوزهای ۱۰۰۰ ppm/kg و ۲۰۰۰ ppm/kg نانو اکسید روی و گروه کنترل آب مقطر را از طریق استنشاق دریافت کردند. پس از طی دوره‌ی تیمار موش‌ها تشریح شدند و ریه جهت بررسی میزان رسوب نانو اکسید روی توسط دستگاه جذب اتمی آماده شد. آنالیز آماری نشان داد که رسوب نانو اکسید روی در بافت ریه‌ی گروه‌های دریافت کننده‌ی دوزهای ۱۰۰۰ ppm/kg و ۲۰۰۰ ppm/kg نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان داده است. با مصرف نانو اکسید روی در دوزهای ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm/kg رسوب این ماده به طور قابل توجهی در بافت ریه مشاهده شده است.

کلمات کلیدی: نانو اکسید روی، نانوذرات، ریه، استنشاق، موش سوری ماده.

مقدمه

محصولات موجود را مؤثرتر و کارآمدتر می‌نماید، اندازه-ی این ذرات می‌تواند سلامتی و محیط‌زیست را تهدید نماید. این ذرات از گرده‌های گل گیاهان و مواد حساسیت‌زای معمولی نیز کوچک‌تر هستند و می‌توانند سبب واکنش‌های ازدیاد حساسیت شوند [۴]. فناوری نانو واژه‌ای کلی است که به تمام فناوری‌های پیشرفته در عرصه‌ی کار با مقیاس نانو اطلاق می‌شود. همواره منظور از مقیاس نانو ابعادی در حدود ۱-۱۰۰ nm می‌باشد که این ذرات کوچک می‌توانند منجر به سمیت ریوی در افراد شوند [۱۳]. در تحقیقات نشان داده شده است که برخی از نانوذرات منجر به بروز فیروز، التهاب و تومور گردیده‌اند [۱۲]. در استفاده از نانوذرات باید به سمیت آن‌ها توجه نمود زیرا استنشاق این ترکیبات می‌تواند با پاسخ‌هایی هم‌چون التهاب مزمن و تولید رادیکال‌های آزاد

فناوری نانو نه تنها در صنعت بلکه در پزشکی نیز کاربردهای فراوانی دارد، اگرچه در اغلب موارد سمیت این نانوذره‌های قوی نادیده گرفته می‌شود. با توجه به خصوصیات منحصر به فرد فیزیوشیمیایی نانوذرات، ممکن است نوع سمیت آن‌ها با موادی که از نظر ساختمان شیمیایی با آن‌ها یکسان، اما اندازه‌ی متفاوتی دارند، فرق داشته باشند؛ حتی امکان دارد که نانوذره‌ها سمیت بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگ‌تر ایجاد کنند [۶]. ذرات نانو اگرچه فواید زیادی دارند، اما می‌توانند دارای خطرات احتمالی نیز باشند، بنابراین باید مسائل مرتبط با ایمنی و خطرات احتمالی همراه با آن‌ها را نیز در نظر گرفت. ذرات نانو ممکن است سرعت جهش باکتری‌ها را افزایش دهند و تهدیدی بالقوه برای محیط زیست و سلامت انسان باشند. علی‌رغم این‌که فناوری نانو



اکسیژن همراه باشد [۱۶]. بنابراین بررسی اثر نانوذرات بر سلامت ریوی افراد ضروری به نظر می‌رسد. نانوذرات ممکن است از مسیرهای متفاوت وارد بدن شوند و این موضوع تعیین خطرات مربوط به هر ماده را با دشواری روبرو می‌کند. نانوذرات می‌توانند مستقیماً از طریق آب، غذا، مواد آرایشی، داروها، وسایل انتقال دارو و غیره وارد سیستم گوارش شوند [۱۲]. افزایش ذراتی با اندازه‌های مختلف در سیستم گوارش می‌تواند منجر به تأثیرات سمی گوناگون گردد [۲]. در نانومواد اندازه‌ی هر ذره بسیار با اهمیت است و نقش کلیدی در تعیین ویژگی‌های نهایی نانوذره دارد. اندازه‌ی ذره می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانومواد را تغییر دهد و احتمال جذب و تعامل با بافت‌های بیولوژیکی را افزایش دهد [۱۵، ۱۷]. در حقیقت اندازه‌ی ذره در مقایسه با دیگر ویژگی‌های نانومواد بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است [۹]. نتیجه‌ی بررسی‌ها نشان می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی نانومواد با کاهش اندازه‌ی ذره افزایش می‌یابد [۱۱]. قابل توجه‌ترین روش قرار گرفتن در معرض نانوذرات، روش تنفسی است در حالی که مصرف خوراکی و تماس پوستی، عمدتاً از دیگر مسیرهای ورود به بدن می‌باشد. تنفس عمیق نانوذرات، ممکن است سبب فرار این ذرات از فاگوسیت‌ها و غشاهای سلولی ریه شده و به این ترتیب به دیگر بخش‌های بدن انتشار یافته و باعث اثرات سیستماتیک گردند [۸]. ریه، اندام هدف برای ذرات آلاینده‌ی هوا است و ارتباط بین افزایش آلودگی هوا و اثرات مضر بر سلامتی کودکان، مبتلایان به آسم و سالخوردگان ثابت شده است [۳]. در یک تحقیق فیروبولاست‌های ریوی انسانی در محیط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت و جذب نانوذرات توسط فیروبولاست‌ها مشاهده شد [۱۰]. محققین 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 قرار گیرند از لحاظ بیولوژیکی فعال می‌شوند و

گزارش شد که شکل‌های نانوذره‌ی ۵۰ نانومتری اکسید تیتانیوم، اکسید آلومینیوم و کربن سیاه، پارامترهای التهاب سیستم تنفسی را افزایش می‌دهند [۱۴، ۱۹]. تحقیقات آزمایشگاهی با قاطعیت ثابت کرده‌اند که قرار گرفتن در معرض نانوذرات، باعث التهاب ریه می‌شود که به اندازه‌ی ذره، ویژگی‌های شیمیایی و ویژگی‌های سطح بستگی دارد [۷].

در این تحقیق میزان جذب نانوذرات اکسید روی در دوزهای مختلف در بافت ریه‌ی موش‌های سوری ماده پس از ۱۰ روز مصرف استنشاقی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

موش‌های سوری ماده نژاد NMRI از انیستیتو پاستور آمل تهیه گردید موش‌ها حدود ۲ ماهه و دارای وزن تقریبی ۳۲ تا ۳۸ گرم بودند و از هر موش فقط یک‌بار استفاده می‌شد. موش‌ها در بخش نگهداری حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان که دارای شرایط استاندارد، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، دمای نسبی 23 ± 2 درجه‌ی سانتیگراد و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ بود، نگهداری شدند. روزانه غذا و شیشه‌های آب آنها کنترل گردید و برای تغذیه‌ی موش‌ها از غذای خشک استاندارد استفاده شد. جهت انجام کار عملی ابتدا موش‌ها وزن شده و به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. در مرحله‌ی بعدی حیوانات محلول را به شرح زیر به مدت ۱۰ روز به صورت استنشاقی دریافت کردند.

گروه تجربی I: موش‌های دریافت کننده‌ی نانوذرات اکسید روی به میزان ppm/kg ۱۰۰۰.

گروه تجربی II: موش‌های دریافت کننده‌ی نانوذرات اکسید روی به میزان ppm/kg ۲۰۰۰.

گروه کنترل: موش‌های دریافت کننده‌ی آب مقطر.

جهت تهیه‌ی محلول‌های مورد استفاده به ۰/۲ گرم از پودر نانو اکسید روی ۵۰ cc آب مقطر اضافه گردید و ارلن محتوی آن جهت انحلال کامل پودر نانو اکسید روی به مدت ده دقیقه روی دستگاه شیکر قرار گرفت. بدین

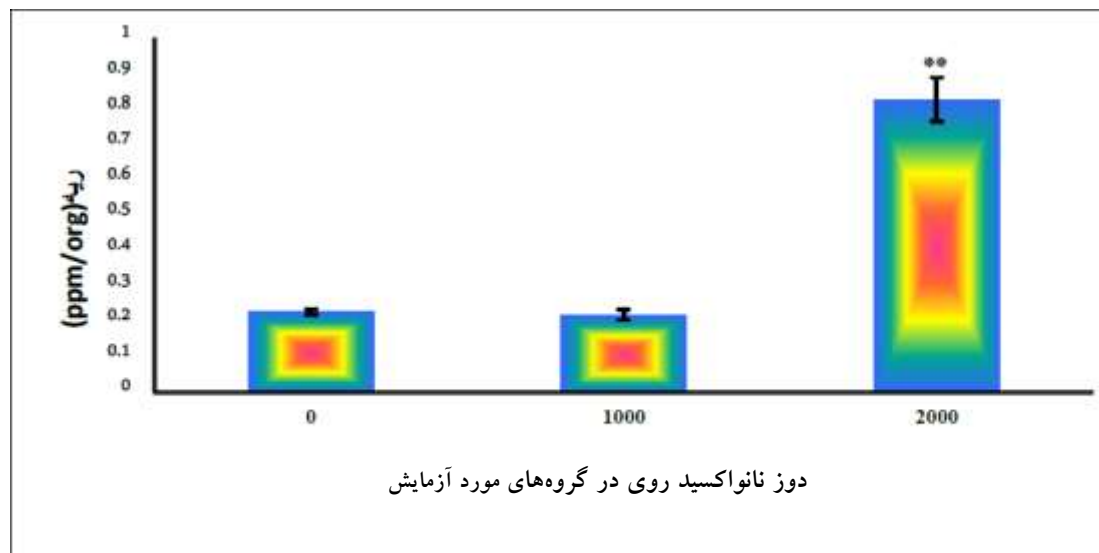
نتایج

بر اساس بررسی‌های انجام شده بر روی بافت ریه و میزان رسوب نانو اکسید روی در ریه‌ی موش‌ها مشخص گردید که در گروه‌های تجربی اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل وجود دارد. نتایج در نمودارهای ۱ و ۲ و ۳ قابل مشاهده می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که در گروه تجربی ۲ افزایش معنی‌داری در سطح $p < 0/01$ در جذب نانو اکسید روی در بافت ریه نسبت به گروه کنترل وجود دارد (نمودار ۱). نتایج نشان می‌دهد که در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ افزایش معنی‌داری در سطح $p < 0/05$ در جذب نانو اکسید روی در یک گرم از بافت ریه نسبت به گروه کنترل وجود دارد (نمودار ۲). نتایج نشان می‌دهد که در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری در جذب نانو اکسید روی در اندیس ریه نسبت به گروه کنترل مشاهده نشده است (نمودار ۳).

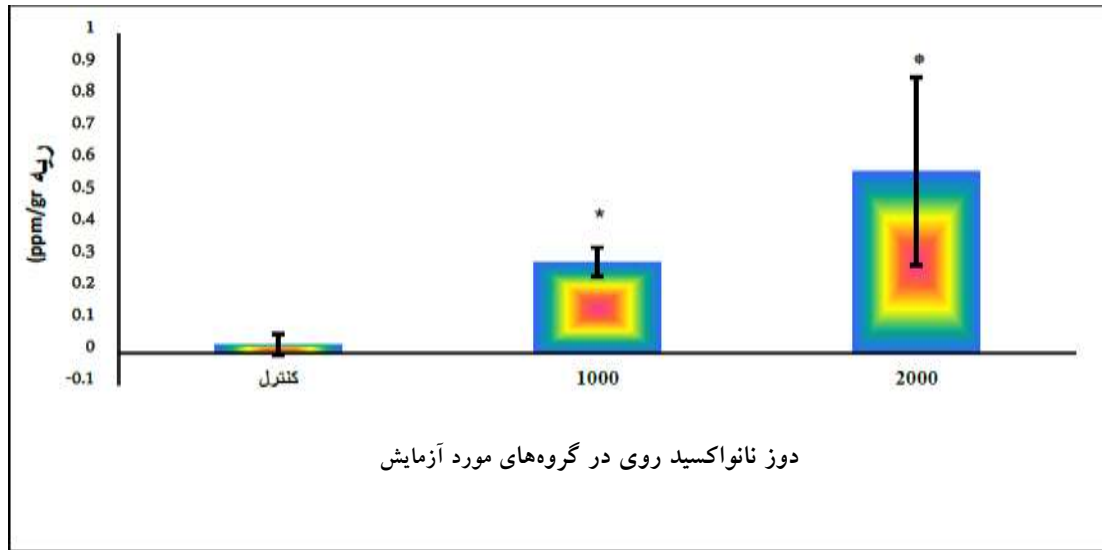
ترتیب محلول استوک غلیظی به دست آمد که از این محلول دوزهای مورد نظر (۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ ppm/kg) تهیه گردید. برای تهیه‌ی دوزهای مختلف از آب مقطر استفاده شد.

پس از طی دوره‌ی تیمار موش‌ها توسط اتر بیهوش و کالبدشکافی شدند. ریه‌ی موش‌ها از بدن خارج و وزن تر ریه اندازه‌گیری شد و ریه‌ها جهت خشک شدن، در آون به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه قرار گرفتند، سپس نمونه‌ها از آون خارج و به لوله‌های آزمایش منتقل شدند و اسیدنیتریک مرک آلمان به میزان ۳ سی‌سی به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۳ روز به منظور حل شدن؛ نمونه‌ها در اسیدنیتریک باقی ماندند، پس از گذشت ۳ روز با بن‌ماری

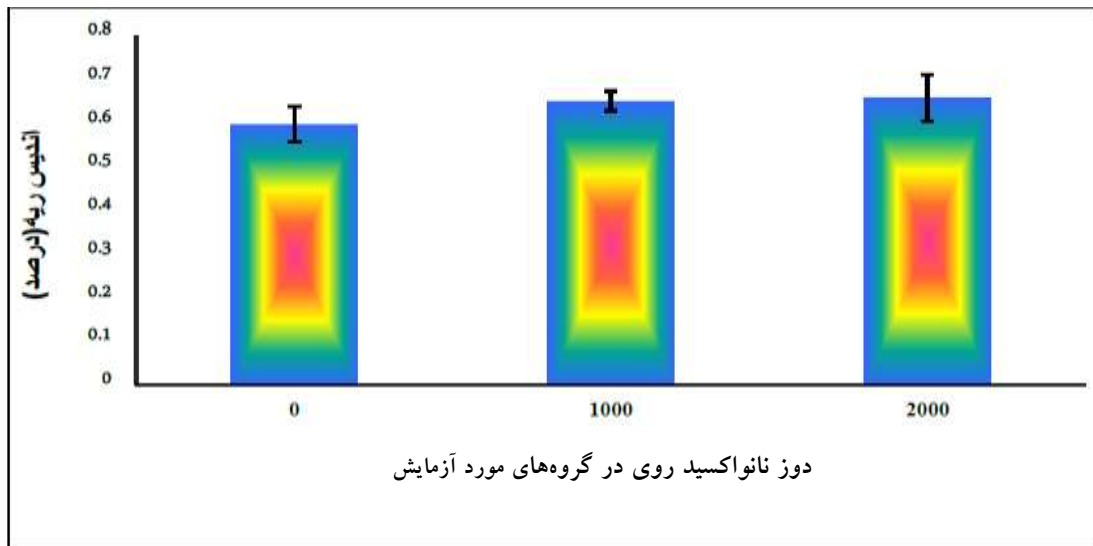
در ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه حرارت دیدند و سپس توسط کاغذ صافی، صاف شدند و با دستگاه جذب اتمی، میزان رسوب نانو اکسید روی اندازه‌گیری شد.



نمودار ۱- میانگین \pm انحراف معیار غلظت نانو اکسید روی در بافت ریه [** : $p < 0/01$]



نمودار ۲- میانگین \pm انحراف معیار غلظت نانو اکسید روی در یک گرم بافت ریه [*]: ($p < 0/05$)



نمودار ۳- میانگین \pm انحراف معیار اندیس ریه

بحث

بحث قرار گرفته است [۵]. بر اساس مطالعات گزارش شده‌ی آزمایشگاهی هیچ‌گونه تغییر قابل توجه توکسیکولوژیکی در موش‌هایی که ۲۸ روز در معرض نانوذرات بصورت استنشاقی بودند دیده نشد. مقایسه‌ی اثرات توکسیکی ذرات کوچک با ذرات بزرگ و تجمع و انتشار ذره در بافت‌های مغز، ریه، کبد، کلیه و بیضه به نحوه‌ی مصرف از راه دهانی یا تزریق بستگی دارد. در موش‌هایی که نانوذرات نقره را با سایزهای متفاوت از

پزشکی نانو در واقع کاربرد فناوری نانو در جهت پیش-گیری و درمان بیماری‌ها است. این دانش در حالت تکامل این ظرفیت بالقوه را دارد که علم پزشکی را کاملاً دگرگون کند [۱۸]. اگرچه نانوذرات اکسید روی بصورت 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 اندازه‌ی کوچک نانوذرات در مقاله‌های فراوان مورد



نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق مصرف استنشاقی دوزهای مختلف نانوذرات اکسید روی در مدت زمان ۱۰ روز سبب جذب این نانوذرات توسط ریه می‌شود و احتمالاً بر عملکرد ریه اثر می‌گذارد اما تغییری در وزن ریه ایجاد نمی‌شود. 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 نانوذرات اکسید روی استفاده نمود.

منابع

۱. رضانی، ز. ۱۳۹۲. بررسی میزان رسوب نانوذرات نقره و نیترات نقره در بافت‌های کبد، کلیه، بیضه، طحال و بررسی هیستوپاتولوژی بافت‌های کبد، کلیه، بیضه، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان، صفحات ۳۳-۳۰.

2. Bockmann J., Lahl H., Eckert T., Unterhalt B. (2000), Titan-Blutspiegel vor und nach elastungsversuchen mit Titandioxid. *Pharmazie*, 55(2): 140-143.

3. 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.

4. Borm P.J., Kreyling W. (2004), Toxicological hazards of inhaled nanoparticles: Potential implications for drug delivery. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 4(5): 521-531.

5. Carlson C., Hussain S.M., Schrand A.M., Braydich-Stolle L.K., Hess K.L., Jones R.L. (2008), Unique cellular interaction of silver nanoparticles: sizedependent generation of reactive oxygen species. *Journal of Physics and Chemistry B*, 112(43): 13608-13619.

6. Donaldson K., Stone V., A. Clouter, L. enwick, W. MacNee (2001), Ultrafine particles. *Occupational and Environmental Medicine*, 58(3): 211-216.

طریق تزریقی دریافت کرده بودند نانوذرات وارد جریان خون شده و در بافت‌ها مخصوصاً کلیه، کبد، طحال، مغز و ریه انباشته شده بودند. ریه‌ی گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل حجیم و بی‌رنگ بود که از نشانه‌های مرفولوژیکی آمفیژم ریه است و در بررسی‌های پاتولوژیکی مشخص گردید آسیب‌های ایجاد شده به مقدار دوز نانوذره بستگی دارد. ثابت شده است که سمیت نانوذرات، بستگی به فاکتورهای زیادی دارد که شامل اندازه، شکل، ترکیب شیمیایی، حلالیت، مساحت سطح و بار سطحی می‌باشند [۱]. ذرات ریز، سطح فعال وسیع‌تری نسبت به ذرات درشت‌تر دارند و برای ایجاد پاسخ‌های بیولوژیکی یا توکسیکولوژیکی، فعال‌تر هستند. زمانی که نانو ذرات وارد مجاری تنفسی می‌شوند، ذره‌های درشت‌تر در قسمت‌های بالاتر مجاری تنفسی ته‌نشین می‌شوند و ذره‌های کوچک‌تر که قابلیت عبور بیشتری به داخل فضاهای آلوئولی دارند به قسمت‌های عمیق‌تر دستگاه تنفسی رفته، که این مسئله باعث جذب ریوی نانوذرات می‌شود. با توجه به مکانیسم‌های مولکولی مربوط به تعامل نانوذرات تنفس شده با اندازه‌گیری غشای سلول در مقایسه با ذرات دانه درشت‌تر باعث کاهش پاک‌سازی ریوی می‌شود [۵]. در نتیجه پاسخ التهابی بافت نیز کاهش می‌یابد با این حال اندازه و زمان ماندگاری نانوذرات در فضای آلوئولی ممکن است چالشی بزرگ در سلول‌های هدف ایجاد کند، از جمله آمفیژم که ریه‌های حجیم همراه بزرگی شدید کیسه‌های هوایی با نازک شدن و تخریب دیواره‌های آلوئولی است که در اثر دو عدم تعادل پروتئاز- آنتی‌پروتئاز و اکسیدان- آنتی- اکسیدان به وجود می‌آید که نتیجه‌ی این عمل افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد. همان‌طور که در نتایج مشاهده گردید و بر اساس مطالعات انجام شده‌ی قبلی انتظار می‌رفت در گروه‌های تیمار که نانوذرات اکسید روی را به صورت استنشاقی دریافت کردند جذب موثری در ریه وجود داشت که این فرآیند به دلایل ذکر شده اتفاق افتاده است.



- inhaled particles. *Inhalation Toxicology*, 8 Suppl: 73-89.
14. Ostiguy C., Soucy B., Lapointe G., Woods C., Menard L., M. Trottier (2008), Health effects of nanoparticles. In: Chemical substances and biological agents studies and research projects. 2nd edition 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(2): 162-168.
16. Sun D., Meng T.T., Loong T.H., Hwa T.J. (2004), Removal of natural organic matter from water using a nano-structured photocatalyst coupled with filtration membrane. *Water Science and Technology*, 49(1):103-110.
17. Tang J., Xi T. (2008), Status of biological evaluation on silver nanoparticles. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 25(4): 958-961.
18. Warheit D.B., Webb T.R., Reed K.L., Frerichs S., Sayes C.M. (2007), Pulmonary toxicity study in rats with tree forms of ultra fine titanium dioxide particles. *Toxicology*, 230(1): 90-104.
19. 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.
7. Edwards-Jones V. (2009), The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare. *Letters in Applied Microbiology*, 49(2): 147-152.
8. Johnston H.J., Hutchison G., Christensen F.M., 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 Reviews in Toxicology*, 40(4): 328-346.
9. 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. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 72(21-22): 1279-1284.
10. 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.
11. Nel A., Xia T., Madler L., Li N. (2006), Toxic potential of materials at the nanolevel. *Review of Scientific Instruments*, 311(5761): 622-627.
12. Oberdorster G., Oberdorster E., Oberdorster J. (2005), Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7): 823-839.
13. Oberdorster G. (1996), Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of