

بررسی تأثیر نانوسیلور آشامیدنی بر روی میزان مرگ و میر جنین در رت

وجیهه قربان زاده^۱، عبدالغفار عبادی^{۲*}

۱- دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، اصفهان، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جویبار، گروه زیست‌شناسی، جویبار، ایران

مسئول مکاتبات: dr_ebadi2000@yahoo.com

چکیده

نانوسیلور یکی از دستاوردهای شگرف در نانو تکنولوژی است که در عرصه های مختلف پزشکی، داروسازی، دامپزشکی و دامپروری کاربرد دارد. نقره در ابعاد بزرگتر، فلزی با خاصیت واکنش‌دهی کم می‌باشد اما هنگامی که به ابعاد کوچکتر در حد نانومتر تبدیل می‌شود خواص ویژه آن افزایش می‌یابد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر نانوسیلور آشامیدنی بر روی میزان مرگ و میر جنین رت می‌باشد. این تحقیق یک مطالعه تجربی است که در آن از ۱۲ سر رت ماده باردار استفاده شد. رت‌ها به ۳ گروه ۴ تایی تقسیم شدند. گروه اول: کنترل، گروه دوم: رت-هایی که نانوسیلور با دوز بالا (10ppm) به صورت آشامیدنی دریافت می‌کردند، گروه دوم: رت‌هایی که نانوسیلور با دوز پایین (1ppm) به صورت آشامیدنی دریافت می‌کردند. تیمار رت‌ها از روز شانزدهم بارداری شروع و تا روز بیست و سوم بارداری، پس از تولد نوزادان ادامه داشت. بعد از این مدت تعداد نوزادان بدنیا آمده و مرده شمارش شدند و نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS 15 و آنالیز آماری یک طرفه ANOVA بررسی شد که تفاوت معنی‌داری از لحاظ تعداد جنین مرده بین گروه‌های کنترل و آشامیدنی با دوز بالا وجود داشت. این نتایج گویای آن است که نانوسیلور آشامیدنی اثرات سیتوتوکسی بر روی جنین گذاشته و منجر به مرگ آن می‌شود.

کلمات کلیدی: نانوسیلور، رت، اثرات سیتوتوکسی

مقدمه

HIV، را دارد [۵]. در ارتباط با ورود ذرات نانو به بدن سه مسیر عمده وجود دارد که شامل مسیر پوستی، تنفسی و گوارشی می‌باشد. در مسیر پوستی، ذرات نانو می‌توانند از لایه شاخی پوست که متشکل از سلول‌های کراتینه‌زده است، عبور کرده و به اپیدرمیس و متناوباً به درمیس برسند، ذرات می‌توانند از این لایه نفوذ کرده و به گره‌های لنفاوی راه پیدا کنند [۱۰]. در مسیر تنفسی، ذرات نانو از طریق حفره بینی وارد راه‌های هوایی هدایتی می‌شوند، ذرات بزرگ تنفس شده بعد از این که در این مسیر ته نشین شدند، از طریق به دام افتادن در موکوس و یا هضم شدن توسط ماکروفاژها حذف شده و به حلق منتقل می‌شوند. ذرات ریز به واحدهای کوچکتر دستگاه تنفسی رسیده که ممکن است توسط ماکروفاژها فاگوسیته شوند، یا اگر خیلی ریز باشند (کمتر از ۱۰۰ نانومتر) از فاگوسیته شدن گریخته و با اپیتلیوم

فناوری نانو، تولید و استفاده از موادی با ویژگی خاص، که این ویژگی مرتبط با مقیاس آنها در حد اتم، مولکولی و فرامولکولی است [۷]. نقره یکی از عناصری است که در فناوری نانو از اهمیت بالایی برخوردار است. نقره از هزاران سال قبل به عنوان ماده متده ضد میکروبی شناخته شده است که امروزه با استفاده از فناوری نانو با کمک روش‌های بسیار پیشرفته، نقره را به ابعاد بسیار کوچکتر در حد نانومتر در می‌آورند. با این ریز شدن تا این حد، سطح تماس آن یا محیط و در نتیجه فعالیت ضد میکروبی آن افزایش می‌یابد. به همین دلیل نانوسیلور در مقادیر بسیار اندک در حد PPM، فعالیت ضد میکروبی قوی‌ای از خود نشان می‌دهد. به تازگی نشان داده‌اند که علاوه بر باکتری‌ها و قارچ‌ها، نانوسیلور توانایی از بین بردن ویروس‌های خطرناکی مثل

دانشکده علوم اصفهان نگهداری شدند. به منظور تطبیق با شرایط محیط جدید، حیوانات به مدت ۲ هفته در دما، نور و حرارت مناسب لانه نگهداری شدند. تغذیه رت‌ها با استفاده از مواد غذایی آماده استاندارد شامل ۲۰٪ پروتئین، ۵۰٪ نشاسته، ۱۰٪ سلولز، ۱۵٪ چربی و ویتامین‌ها می‌باشد. بعد از این مدت، همجواری بین رت‌های نروماده جهت ایجاد بارداری به مدت ۲ روز در نظر گرفته شد و سپس رت‌های باردار ماده جدا شدند.

۲- گروه‌بندی حیوانات: مطالعه به روش تجربی بوده و ۱۲ رت ماده باردار طبق جدول ۱ به ۳ گروه ۴ تایی تقسیم شدند.

تیمار رت‌ها از روز شانزدهم بارداری شروع و تا روز بیست و سوم بارداری، پس از تولد نوزادان ادامه داشت که نانوسیلور با دوزهای بالا و پایین در بطری‌های آب مخصوص قفس ریخته و در مدت تیمار در اختیار رت‌ها قرار داده شده است. در طی این دوره آزمایش رت‌های باردار در تمام گروه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذای کافی داشتند. بعد از این مدت تعداد نوزادان به دنیا آمده و تعداد نوزادان مرده شمارش شدند.

کنش می‌یابند. ارتباط نزدیک اپیتلیوم آلئولی با اندوتلیوم مویرگی باعث انتقال این ذرات نانو به گردش خون می‌شود (۱۲). ذرات نانو همچنین به طور مستقیم برای مثال از طریق غذا، آب یا اگر در وسایل آرایشی یا به عنوان دارو استفاده می‌شوند وارد دستگاه گوارشی شوند که ذرات نانو کمتر از ۵۰ نانومتر به راحتی می‌توانند به راحتی می‌توانند به درون لنف مزاتریک منتقل شوند و سپس به اندام‌هایی مثل کبد، طحال، مغز استخوان و کلیه راه یابند (۸). بهرحال اطلاع کمی در خصوص تأثیر این نانوذره بر روی اندام‌های بدن در دسترس است و چون ایران یکی از کشورهای تولیدکننده این نانوذره می‌باشد، در این تحقیق بران شدیم تا اثرات آن بر روی میزان مرگ و میر نوزادان را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش کار

۱- حیوانات آزمایشگاهی: به منظور انجام آزمایشات از موش صحرایی (Rat) با نام علمی *Rattus norvegicus* و جنس ماده بالغ با وزن حدود ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات از موسسه تحقیقاتی لانه حیوانات دانشگاه آزاد شهرکرد خریداری و در لانه حیوانات گروه زیست‌شناسی

جدول ۱- گروه‌بندی رت‌های باردار

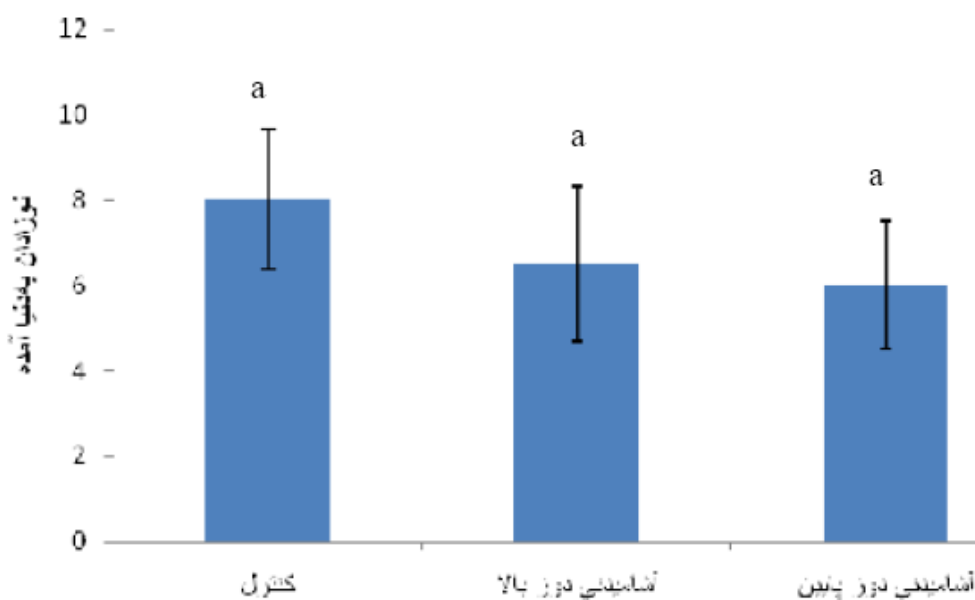
رژیم غذایی	گروه‌های مورد مطالعه
آب و غذا	۱- کنترل
آب و غذا + نانوسیلور 10ppm	۲- آشامیدنی دوز بالا
آب و غذا + نانوسیلور 1ppm	۳- آشامیدنی دوز پایین



نتایج

واریانس نشان می‌دهد که بین گروه‌های کنترل و آشامیدنی با دوز بالا تفاوت معنی‌داری از لحاظ تعداد نوزادان مرده وجود دارد ($p < 0.05$)، علاوه بر این، تفاوت بین گروه آشامیدنی با دوز بالا و آشامیدنی با دوز پایین معنی‌دار است ولی بین گروه کنترل و آشامیدنی با دوز پایین تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد نوزادان مرده وجود ندارد (شکل ۲)

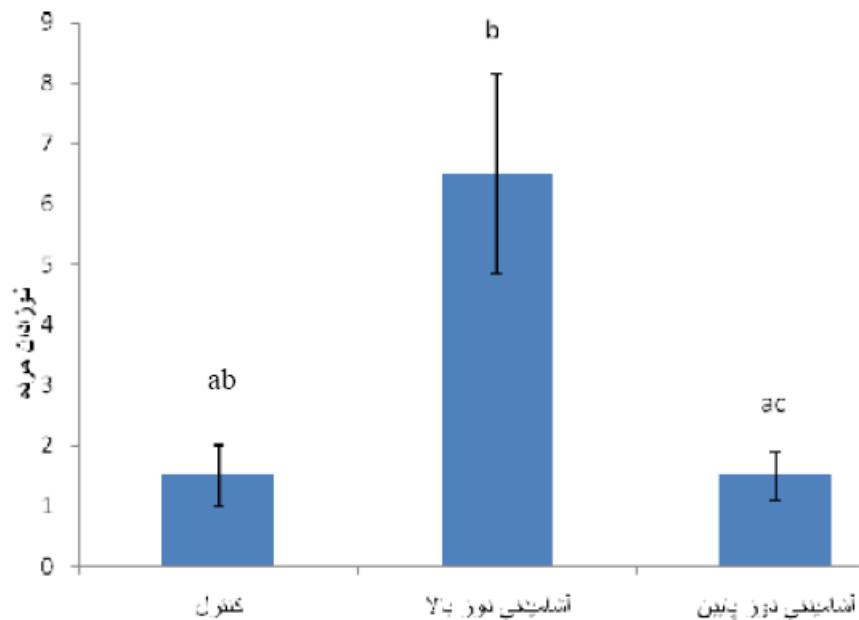
کلید داده‌های این مطالعه مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفته است. برای مقایسه آماری اختلاف بین داده‌های گروه کنترل نسبت به گروه‌های تیمار از نرم افزار SPSS15 و از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA استفاده شده است. آزمون آنالیز واریانس نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری از لحاظ تعداد نوزادان به دنیا آمده در گروه‌های کنترل و تیمار وجود ندارد ($p > 0.05$) (شکل ۱). همچنین آزمون



شکل ۱- تأثیر نانوسیلور بر تعداد نوزادان به دنیا آمده در گروه‌های کنترل و تیمار

باشد که تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمار وجود ندارد ($P > 0.05$)

مقادیر بیانگر ۴ تکرار $\pm SD$ می‌باشد، مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و توکی در سطح ۵٪ انجام گرفته، مقادیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار نبودن میانگین می-



شکل ۲- تأثیر نانوسیلور بر مرگ و میر جنین در گروه‌های کنترل و تیمار

مقادیر بیانگر ۴ تکرار \pm SD می باشد، مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و توکی در سطح ۰.۰۵٪ انجام گرفته، مقادیر مشترک بیانگر تفاوت معنی دار نبودن میانگین می باشد که تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و آشامیدنی با دوز بالا و بین گروه آشامیدنی بالا و آشامیدنی با دوز پایین معنی دار است ($P < 0.05$)

تماس نانوسیلور با سلول‌هایی مثل ماکروفاژها، سلول‌های اپیتلیال و نوتروفیل‌های دانه‌دار باعث تولید ROS/RNS می‌شود که در نتیجه منجر به پاسخ التهابی شدید در سلول‌های ریوی می‌شود. این پاسخ با آزادسازی سیتوکین‌ها (اینتروکین-۶ و فاکتور نکروز تومور آلفا)، NF-kB و AP-1 همراه است [۴]. بعد از ورود نانوسیلور به خون، این ذرات می‌توانند به اندام‌های دیگری مثل طحال، کبد، قلب و کلیه برسند و منجر به اثرات هیستوپاتولوژیک در این اندام‌ها شوند [۱، ۲، ۳]. نتایج تحقیقات ما تفاوت معنی‌داری را از لحاظ میزان مرگ و میر نوزادان در گروه‌های کنترل و آشامیدنی با دوز بالا نشان داد که بین گروه‌های تیمار تفاوت معنی‌داری در لحاظ تعداد نوزادان مرده وجود

بحث

نانوسیلور اثرات متفاوتی بر اندام‌های مختلف بدن می‌گذارد. Fung و Bowen (۱۹۹۶) در گزارشات خود بیان کردند هنگام در معرض قرارگیری مداوم پوست با این ذرات نانو، پیگمان‌های آبی - خاکستری در پوست ظاهر می‌شود که به Argryria معروف است، این رنگ‌زدایی در نتیجه ورود کمپلکس پروتئین - نانوسیلور به داخل سلول و باند شدن با گروه‌های فسفات، کربوکسیل و آمین DNA و RNA می‌باشد [۶]. Donaldson و همکارانش (۲۰۰۳) گزارش کردند که در حین تنفس، ذرات نانو با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر در نواحی کیسه‌های هوایی ته نشست می‌یابند.



4. Donaldson, K., Stone, V., Boem, P., Jimense, L., Gilmour, P., Knaapen, A., Rahman, I., Faux, S., Brown, D., macnee, W. 2003. Serial Review: Role of reactive Oxygen and Nitrogen species (ROS/RNS) in Lung Injury and Disease. *Free Radical Biology & Medicine*. 34(11), 1369-1382.
5. Elechiguerra, J., Burt, J., Morons, J., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H., Yacaman, M. 2005. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of Nanobiotechnology*. 3(6).
6. Fung, M.C., Bowen, D. 1996. Silver products for medical indications: risk-benefit assessment. *Clinical Toxicology*. 34(1), 119-126.
7. Ge, Z., Gao, Z. 2008. Application of nanotechnology and nanomaterials in construction. *Advance and Integrating Construction Education, Research & Partice*.
8. Jani, P., Halbert, G.W., Langrabe, J., Florence, A.T. 1990. Nanoparticle uptake by the gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 42(12): 821-826.
9. Karina, R.V., Takemoto, J.K., Yanez, J.A., Remsberg, C.M., Laird Forrest, M., Davies, N. 2008. Clinical toxicities of nanocarrier systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 60, 929-938.
10. Oberdorster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D., Yang, H. 2005. Principles for characterizing the potential human health effects from

دارد که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که با افزایش دوز مصرفی نانوسیلور به میزان ۱۰ برابر، آمار تعداد نوزادان مرده متولد شده نیز بالا می‌رود. بین گروه کنترل و آشامیدنی با دوز پایین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که نشان دهنده این است، نانوسیلور در غلظت 1ppm تأثیر چندانی روی مادران باردار از نظر افزایش میزان مرگ و میر نوزادان ندارد. افزایش میزان مرگ و میر نوزادان در گروه‌های تیمار می‌تواند ناشی از این امر باشد که طبق گزارشات Semmler- Behnke و همکارانش (۲۰۰۷)، Warheit و همکارانش (۲۰۰۴) که جذب ذرات نانو طلا را به درون جفت رت‌های باردار مشاهده کردند [۱۱ و ۱۳]، نانوسیلور احتمالاً می‌تواند از جفت عبور کرده و به جنین برسد و منجر به اثرات تخریبی سلول‌های در حال رشد و نمو شوند. بنابراین ذرات نانویی که از غشا جفت عبور کرده و به جنین می‌رسند می‌توانند بر رشد و توسعه جمجمه جنین تأثیر گذاشته و منجر به مرگ نوزادان شوند [۹].

منابع

1. Baldi, C., Minoia, C., Di Nucci, A., Capodaglio, E., Manzo. 1988. Effects of silver in isolated rat hepatocytes. *Toxicology Letters*. 41(3), 261-8.
2. Campen, M.J., McDonald, J.D., Gigliotti, A.P., Seilkop, S.K., Reed, M.D., Benson, J.M. 2003. Cardiovascular effects of inhaled diesel exhaust in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovascular Toxicology*. 3(4), 353-61.
3. Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G., Wan, F., T., Yuan, H., Ye, C., Zhao, F., Chai, Z., Zhu, C., Fang, X., Ma, B., Wan, L. 2006. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters*. 163, 109-120.



12. Tetley, t.D. 2007. Health effects of nanomaterials. *Biochemical Society Transactions*. 35(3), 527-531.
13. Warheit, D.B., Laurence, B.R., Reed, K.L., Roach, D.H., Reynold, G.A.M., Webb, T.R. 2004. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotube in rats. *Toxicological science*. 77, 117-125.
11. Semmler-behneke, M., Fertsch, S., Schmid, G., Wenk, A., Kreyling, W.G. 2007. Uptake of 1.4 nm versus 18nm gold nanoparticles in secondary target organs in size dependent in control and pregnant rats intratracheal or intravenous application. *Environmental, health and safety aspects*.