فصلنامه علمی تخصصی طب کار
دوره پنجم/ شماره چهارم/ زمستان ۹۲/ صفحات ۳۲- ۲٤

مقایسه اثر سایتوتوکسیک نانوذرات سیلیکا در شکل‌ها و اندازه‌های مختلف بر سلول ریه موش صحرایی در محیط کشت

علی جبالی[۱]، سید حسین حکمتی مقدم[۲]، غلامحسین حلوانی[۳]، احمد عبدالملکی[٤*]

۱. دانشجوی دکترای نانو فناوری پزشکی، آزمایشگاه پژوهش، یزد
۲. عضو هیأت علمی گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۳. عضو هیأت علمی گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
٤. دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت حرفه‌ای، دانشکده پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰٤/۲۸

چکیده

مقدمه: نانوذرات سیلیکا به صورت استنشاقی، خوراکی، تزریقی و پوستی وارد بدن موجودات زنده از جمله انسان شده و می‌توانند تاثیرات بالقوه سوء بر سلامت انسان و محیط زیست داشته باشند. هدف از این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، بررسی اثر سمیت نانوذره سیلیکا در شکل‌های سیمی (Wire)، میله‌ای (Rod)، کروی (Spherical) و در اندازه‌های مختلف (۲۰ و ۵۰ و ۱۰۰ نانومتر) بر سلول ریه رت در دو زمان مواجهه ٦ و ۲٤ ساعته با استفاده از دو تست سایتوتوکسیسیتیMTT و MTS بود.

روش بررسی: دو موش صحرایی نر نژاد Wistar بیهوش شده و خون آنها کاملاً با محلول کربس جایگزین شد، سپس ریه‌ها جدا گشته و پس از هضم، سوسپانسیون تک سلولی از آن در محیط کشت سلولی تهیه گردید. در مرحله بعد سوسپانسیون سلولی به طور جداگانه در مجاورت با نانوذرات مذکور در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار گرفت و سپس در ۳۷ درجه انکوبه و میزان حیات سلولی پس از مدت ٦ و ۲٤ ساعت تعیین گردید.

یافته‌ها: این مطالعه نشان داد نانوذرات با سایز کوچکتر (۲۰ نانومتر) دارای تاثیر سمی بیشتری نسبت به سایزهای بزرگتر بودند. همچنین نانوذرات سیلیکا به شکل کروی اثرات سایتوتوکسیک بالاتری نسبت به دو شکل دیگر نانوذره داشتند. از طرفی زمان انکوباسیون ۲٤ ساعته نسبت به زمان انکوباسیون ٦ ساعته باعث اندکی افزایش در مرگ سلولی شد.

نتیجه‌گیری: میزان سایتوتوکسیسیتی نانوذرات سیلیکا وابسته به شکل و سایز و زمان مواجهه آنها با سلول است.

کلید واژه‌ها: نانو ذرات، سیلیکا، ریه، سمیت، سایتوتوکسیک

[*] نویسنده مسئول: دانشکده پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. تلفن: ۰۹۳۸۵۳۰٤۰۹۱
پست الکترونیکی: ahmad.abdolmaleki@gmail.com

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

مقدمه

در دهه‌های اخیر نانوذرات به علت پتانسیل کاربردشان در علوم مختلف مثل علوم زیستی و پزشکی توجه رو به رشدی را به خود جلب کرده‌اند، ولی مخاطراتی نیز دارند، به عنوان نمونه مشخص شده است نانوذرات خروجی اگزوز وسایل نقلیه دیزلی دارای اثرات زیان‌آوری از قبیل آثار سیستمیک و قلبی– عروقی بر سلامت انسان هستند. اخیراً به منظور پیشبرد ایمن نانوتکنولوژی، آگاهی از اینکه باید بر هم کنش بین سلول‌ها و نانومواد پا به پای توسعه کاربرد نانومواد روشن شود، رو به رشد می‌باشد. این موضوع در سال‌های اخیر به طور فزاینده‌ای از سوی گروه بسیاری از محققان در تعداد زیادی از مقالات مورد توجه و تاکید قرار گرفته است (۱).

نانوذرات ساختارهایی هستند که خواص آنها از اندازه کوچک، ترکیب شیمیایی، بار سطحی، حلالیت و شکل آنها نشات می‌گیرد. علیرغم کاربرد وسیع نانو مواد، کمبود جدی اطلاعات در خصوص اثر نانومواد روی سلامت انسان و محیط زیست وجود دارد.

نانوذرات از راه‌های مختلف (استنشاق، خوراکی، تزریقی و پوستی) به داخل بافت‌ها و سلول‌های انسان و دیگر جانداران نفوذ کرده و به دلیل اینکه می‌توانند از غشاهای زیستی عبور کنند، توان آن را دارند که بر فیزیولوژی اکثر سلول‌ها مثل مغز و قلب و ریه اثر بگذارند(۲). عوامل متعددی در میزان سمیت نانوذرات دخیل هستند که شامل خواص فیزیکی- شیمیایی مثل اندازه، حالت انباشتگی (اشباع)، ساختار کریستالی، ترکیب شیمیایی، شکل و حالت آنها می‌باشد(۳).

بعضی ازخصوصیات ویژه نانوذرات مانند اندازه خیلی کوچک آنها، مساحت بزرگ سطح و واکنش پذیری آنها به طور بالقوه‌ای انسان‌ها را در معرض خطرات جدید و رو به رشد قرار داده است.

با کوچک شدن ماده، خواص فیزیکی و شیمیایی جدیدی در ماده ظاهر می‌شود که مهمترین آنها افزایش نسبت سطح به حجم است که این امر باعث غلبه یافتن رفتار سطح ذره به رفتارهای درونی می‌گردد و افزایش واکنش‌پذیری ذرات نانو را سبب می‌شود. این خاصیت نانوذرات در بیولوژی سلولی امکان افزیش نفوذپذیری نانوذرات را از بین حصارهای بیولوژیکی مثل غشای سلولی و سد مغزی خونی فراهم می‌کند که البته این خاصیت نانوذرات پتانسیل زیادی را برای درمان بیمارهای سیستم اعصاب مرکزی با استفاده از آنها به عنوان حامل دارو به وجود آورده است (٤).

در سال‌های اخیر تعداد مطالعاتی که اثرات زیان‌آور نانوذرات را بر سلامت انسان بررسی کرده‌اند به طور چشمگیری افزایش یافته است ولی به هر حال نگرانی مربوط به اثرات بالقوه بیولوژیک و سمیت انسانی این ذرات وجود دارد. بسیاری از مطالعات علوم پایه نشان‌دهنده کمبود دانش ما نسبت به این موضوع می‌باشد. یک تلاش همه جانبه و بین رشته‌ای نیاز خواهد بود تا تحقیقات ضروری برای کمک به تدوین مدل‌های منظم رفتار با هرگونه خطر جدید، صورت بگیرد(٦-٥).

از جمله نانوذرات می‌توان به نانوذرات سیلیکا اشاره کرد که به طور گسترده‌ای در علوم زیستی و پزشکی مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده در بیوسنسورها، بیومارکرهای زیستی، حامل دارو، حامل DNA و درمان سرطان از موارد کاربرد این نانوذرات می‌باشد. به هرحال اثرات بیولوژیک بالقوه مواجهه با این نانوذرات و مکانیسم سمیت آن هنوز روشن نشده است.

تغییرات اندازه‌ای و شکلی احتمالاً می‌تواند تاثیری بر روی خواص سمی این نانوذره اعمال کند. در حال حاضر تحقیقات اندکی وجود دارد که نشان می‌دهد نانوذرات سیلیکا دارای تاثیرات سمی بر سلول‌های مختلف می‌باشد(۷،۸) ولی تحقیقی که نشان دهد شکل‌ها و اندازه‌های مختلف این نانوذره بر حیات سلولی تاثیرگذار هست یا نه وجود ندارد. هدف از این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، بررسی اثر سمیت نانوذره سیلیکا در

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

شکل‌های سیمی (Wire)، میله‌ای (Rod)، کروی (Spherical) و در اندازه‌های مختلف (۲۰ و ۵۰ و ۱۰۰ نانومتر) بر سلول ریه رت در دو زمان مواجهه ٦ و ٢٤ ساعته با استفاده از دو تست سایتوتوکسیسیتی زیر بود(MTT, MTS).

3-(4,5-Dimethylthiazol-2-y1)-2,5diphenyltetrazolium bromide (MTT)

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-tetrazolium (MTS)

روش بررسی

در این تحقیق نانوذرات سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف از شرکت Zyst Fanavar Shargh Co. (ZFS Co, Iran) تهیه شد. همچنین مایع کربس و بافر سالین فسفات از گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تهیه گردید. مابقی مواد که شامل محیط کشت RPMI-1640، Fetal bovine serum (FBS)، Hanks buffered saline solution (HBSS)، ایزوپروپانول، آنزیم تریپسین، تریپان بلو و اسید کلریدریک بودند از کمپانی مرک (آلمان) تهیه گردید.

تهیه نانوذرات سیلیکا و مشخصه‌یابی آنها

نانوذرات سیلیکا مورد استفاده در این تحقیق شامل نانوذرات سیلیکا به فرم سیمی به قطر ۵۰ و طول ۵۰۰ نانومتر، نانوذرات سیلیکا به فرم میله‌ای در طول‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ نانومتر و نانوذرات سیلیکا به فرم کروی در قطرهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ نانومتر بودند. همه نانوذرات قبل از بررسی سمیت توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Hitachi S-2400 مشخصه‌یابی گردیدند. در مرحله بعد غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات مذکور در آب مقطر تهیه گردید و به خوبی همزده شد تا سوسپانسیون یکنواختی شکل گرفت.

تهیه سلول‌های ریه از رت

در این مطالعه از ۲ موش صحرایی نر (نژاد Wistar) با وزن تقریبی ۳۰۰ گرم که از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تهیه شده بود، استفاده گردید.

جهت جداسازی بافت ریه، ابتدا رت را با داروی تیوپنتال سدیم (Sodium thiopental) به صورت تزریق داخل صفاقی با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش نموده و سپس روی پد حرارتی (صفحه warmer) فیکس نموده و درجه حرارت بدن حیوان از طریق دمای رکتال کنترل گردید. سپس ورید دُمی برای تزریق محلول کربس و شریان کاروتید برای خروج خون کانوله شد. محلول کربس اکسیژنه شده را که از قبل آماده ساخته بودیم به آهستگی و به تدریج از طریق ورید دُمی تزریق نموده و به آهستگی خون را از شریان کاروتید خارج می‌نمودیم. با این کار تمام سلول‌های خونی از بدن خارج می‌شد. این عمل را آنقدر انجام دادیم تا مایع خروجی با مایع ورودی تقریباً همرنگ شود که در این حالت تمام خون داخل بدن موش با مایع کربس شسته شده و مایع کربس جایگزین خون می‌شد. بعد از باز کردن قفسه سینه، ریه را از ناحیه نای برداشته و چندین بار لاواژ نمودیم تا محتوای موکوسی مجاری تنفسی به طور کامل خارج شود. سپس ریه را داخل محلول محیط کشت قرار داده و وارد مرحله جداسازی سلول شدیم. پس از جداسازی ریه، برونش‌ها را توسط بافر سالین فسفات استریل لاواژ نمودیم. سپس ریه را داخل محیط کشت سلولی (RPMI-1640 with 10% FBS) قرار دادیم.

برای جداسازی سلول از بافت ۵ سی‌سی آنزیم تریپسین ۵٪ به بافت ریه اضافه نمودیم تا استحکام بافت ریه کاهش یابد. پس از این مرحله، با کمک هاون استریل بافت را به آرامی له نمودیم تا سلول‌ها به صورت مکانیکی جدا شود. سپس بافت خرد شده را با قدرت ٤٠٠ گرم به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ نمودیم تا بافت‌هایی که هنوز کاملاً تفکیک نشده‌اند از سلول‌های دیگر جدا گردند. حال بافت‌های اضافی را از سلول‌های تفکیک شده جدا نموده و دوباره عمل سانتریفیوژ را این بار با

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

قدرت ۱۵۰۰ گرم به مدت ۱۵ دقیقه تکرار نمودیم تا آنزیم تریپسین اضافه شده و محلول محیط کشت از سلول‌ها جدا شود. محیط کشت حاوی سلول را از دستگاه سانتریفیوژ خارج کرده و ته ظرف که حاوی سلول‌های جدا شده بود را داخل محیط کشت جدید اضافه نمودیم.

پس از اتمام عملیات جداسازی سلول، محیط کشت حاوی سلول را داخل انکوباتور ۳۷ درجه قرار دادیم. جهت اطمینان از سالم بودن سلول‌ها، از رنگ‌آمیزی تریپان بلو استفاده گردید و درصد سلول‌های سالم تعیین گردید.

مواجهه سلول ریه رت با نانوذرات سیلیکا و انجام دو تست MTT & MTS

پس از تهیه سوسپانسیون سلولی و سوسپانسیون نانوذرات سیلیکا، در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ تایی استریل، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های ریوی با غلظت ۲×۱۰^{٤} سلول در میلی‌لیتر را به طور جداگانه ریخته و نیز ۱۰۰ میکرولیتر از نانوذرات به طور جداگانه اضافه شد و این مجموعه به مدت ٦ و ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه گشت. سپس سلول‌ها با بافر HBSS شستشو داده شد و دوباره ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت به چاهک‌ها اضافه گردید و این بار ۲۵ میکرولیتر از محلول نمکی MTT و MTS در غلظت ٥ mg/mL به طور جداگانه به چاهک‌ها افزوده شد. سپس ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گشته، و آنگاه ۵۰ میکرولیتر از محلول ایزوپروپانول ۷۰٪ به هر چاهک اضافه شد و جذب نوری آن در طول موج ٤٩٢ نانومتر قرائت گردید و درصد حیات سلولی با توجه به میزان جذب نوری گروه تست و کنترل منفی تعیین گردید.

لازم به ذکر است در این تحقیق کنترل مثبت (با مواجهه اسید کلریدریک ۰/۱ مولار) و منفی (نرمال سالین بدون نانوذرات) نیز لحاظ گردید و آزمایشات به صورت دو بار تکرار انجام شد. سپس آزمون Mann-Whitney سطح معنی‌داری قلمداد گردید.

یافته‌ها

نتایج سمیت نانوذره سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف در جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. در ارائه نتایج از مخفف اسامی نانوذرات استفاده خواهد شد که در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات مورد استفاده، قابل مشاهده است.

بر اساس یافته‌های این مطالعه نانوذرات با اندازه کوچکتر دارای سایتوتوکسیسیتی بیشتری نسبت به اندازه‌های بزرگتر می‌باشند به طریقی که اندازه ۲۰ نانومتر در هر دو شکل میله‌ای و کروی دارای سمیت بیشتری نسبت به نانوذرات ۵۰ نانومتر و ۱۰۰نانومتر بودند. این یافته در هر دو زمان مواجهه ٦ و ٢٤ ساعته و در هر دو تست MTT & MTS مشاهده شد. همچنین میزان سمیت نانوذره‌سیلیکا به شکل سیمی در اندازه ۵۰ نانومتر تقریباً با نانوذره سلیکا به شکل میله‌ای و با اندازه ۱۰۰ نانومتر برابر می‌باشد. نتایج تست MTS نشان داد که نانوذرات کروی در اندازه ۲۰ نانومتر دارای بیشترین اثر توکسیک بر روی سلول‌های ریه رت نسبت به نانوذرات میله‌ای و سیمی بود ولی در آزمون MTT نانوذرات میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر بیشترین سمیت را داشتند. از جمله نتایج این تحقیق که حائز اهمیت است، اثر وابستگی زمان مواجهه با میزان سمیت است به نحوی که زمان انکوباسیون ٢٤ ساعته باعث اندکی افزایش مرگ سلولی در همه اندازه‌ها و شکل‌ها شده است، ولی این میزان افزایش نسبت به تاثیر اندازه و شکل بسیار اندک می‌باشد. در آزمون MTT از نظر آماری تفاوت معناداری بین میزان سمیت نانوذره سیلیکای میله‌ای در اندازه‌های ۲۰ نانومتر و ۱۰۰ نانومتر وجود داشت. چنین رابطه‌ای در مورد نانوذرات سیلیکای کروی نیز دیده شد($P<۰/۰۵$).

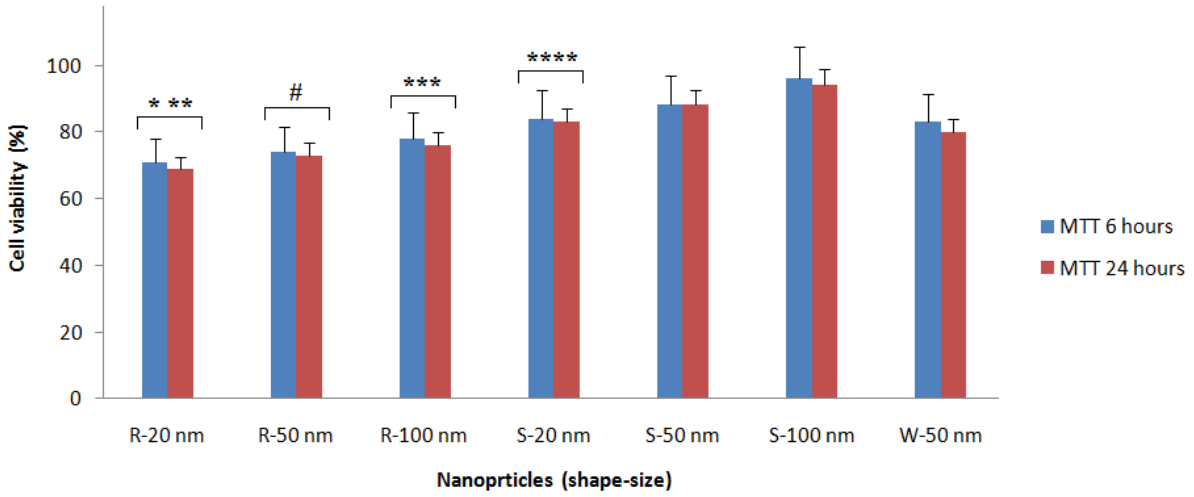
از نظر شکل تفاوت معناداری بین میزان سمیت نانوذره سیلیکای میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر و میزان سمیت نانوذره سیلیکای کروی در همان اندازه دیده شد. همچنین چنین رابطه‌ای در مورد اندازه‌های ۵۰ و ۱۰۰ نیز

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

وجود داشت(P<۰/۰۵). در آزمون MTS نیز از نظر آماری تفاوت معناداری بین میزان سمیت نانوذره سیلیکای میله‌ای در اندازه‌های ۲۰ نانومتر و ۱۰۰ نانومتر مشاهده شد. چنین رابطه‌ای در مورد نانوذرات سیلیکای کروی نیز موجود بود(P<۰/۰۵). مشابه تست MTT در آزمون MTS نیز از نظر شکل تفاوت معناداری بین میزان سمیت نانوذره سیلیکای میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر و میزان سمیت نانوذره سیلیکای کروی در همان اندازه وجود داشت و چنین رابطه‌ای در مورد اندازه‌های ۵۰ و ۱۰۰ نیز دیده شد(P<۰/۰۵).

جدول ۱- درصد سلول‌های زنده پس از تاثیر نانوذره سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف با استفاده از دو تست MTT & MTS در دو بازه زمانی ٦ و ٢٤ ساعت

نانوذرات	تست MTS (Mean±SD)		تست MTT (Mean±SD)	
	٢٤ ساعت	٦ ساعت	٢٤ ساعت	٦ ساعت
R -٢٠nm	±٢٧٠	±٢٧١	±٢٦٩	±٢٧١
R -٥٠nm	±٢٧٢	±٢٧٤	±١٧٣	±٣٧٤
R -١٠٠nm	±١٨٠	±٢٧٩	±٢٨٠	±٣٧٧
S -٢٠nm	±١٦٤	±٣٦٦	±٢٨٥	±٣٨٤
S -٥٠nm	±٢٨٨	±٣٨٩	±٢٨٨	±٢٨٨
S -١٠٠nm	±٢٩٤	±٢٩٦	±١٩٤	±٢٩٦
W -٥٠ nm	±١٨١	±٣٨٣	±١٨٠	±٣٨٣



نمودار ۱- درصد سلول‌های زنده پس از تاثیر نانوذره سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف با استفاده از تستMTT در دو بازه زمانی ٦ و ٢٤ ساعت

* دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات میله‌ای ۱۰۰ نانومتر.

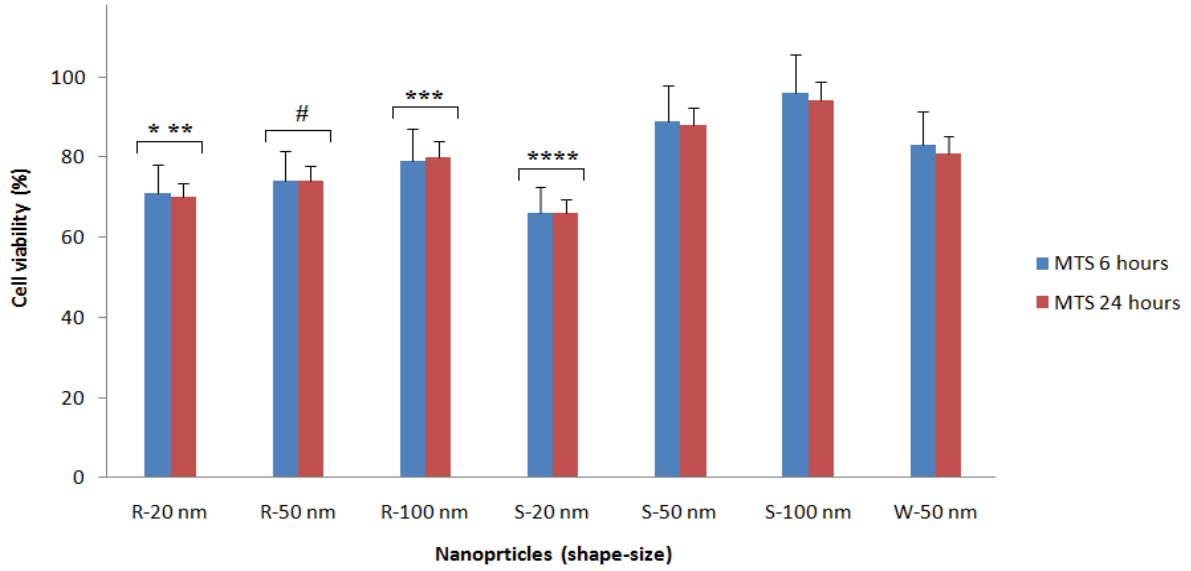
** دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۲۰ نانومتر

*** دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۱۰۰ نانومتری

**** دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۱۰۰ نانومتری

دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۵۰ نانومتری

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]



نمودار ۲– درصد سلول‌های زنده پس از تاثیر نانوذره سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف با استفاده از تست MTS در دو بازه زمانی ٦ و ٢٤ ساعت

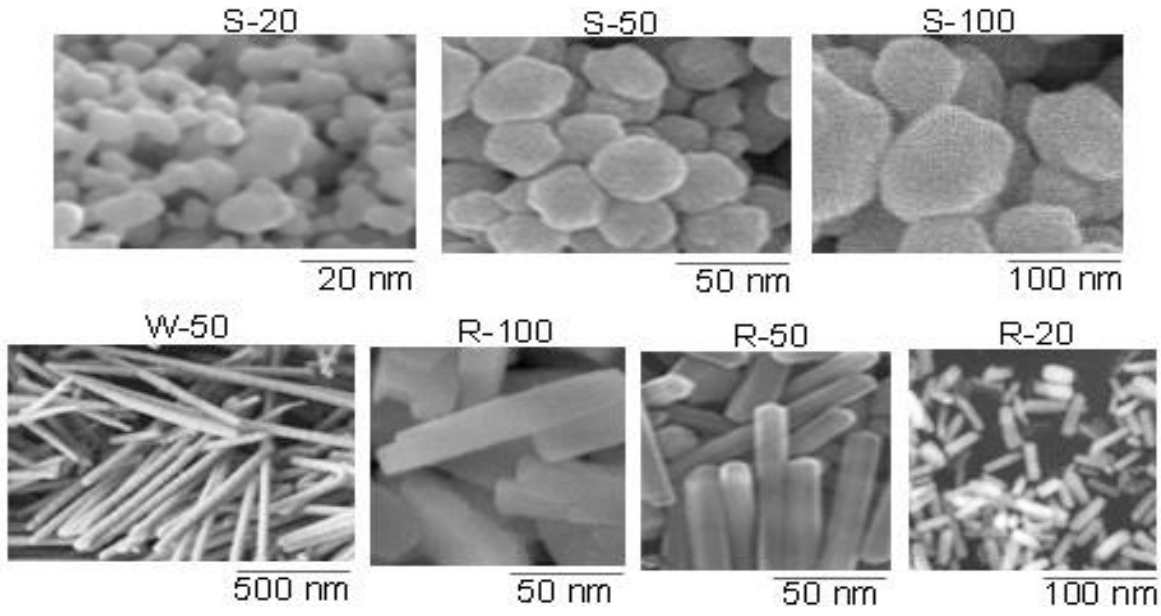
*دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات میله‌ای ۱۰۰ نانومتر.

** دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۲۰ نانومتر

*** دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۱۰۰ نانومتری

**** دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۱۰۰ نانومتری

دارای اختلاف معنی‌دار با نانوذرات کروی ۵۰ نانومتری



شکل ۱–تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نانوذرات مورد استفاده در این تحقیق

R-20: نانوذرات سیلیکا به شکل میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر، **R-50**: نانوذرات سیلیکا به شکل میله‌ای در اندازه ۵۰ نانومتر، **R-100**: نانوذرات سیلیکا به شکل میله‌ای در اندازه ۱۰۰ نانومتر، **S-20**: نانوذرات سیلیکا به شکل کروی در اندازه ۲۰ نانومتر، **S-50**: نانوذرات سیلیکا به شکل کروی در اندازه ۵۰ نانومتر،**S-100**: نانوذرات سیلیکا به شکل کروی در اندازه ۱۰۰ نانومتر، **W-50**: نانوذرات سیلیکا به شکل سیمی در اندازه ۵۰ نانومتر

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

بحث

بر اساس گزارش آژانس محافظت محیطی آمریکا Environmental protection agency (EPA) مواجهه با نانوذرات می‌تواند در طول فرایند ساخت و تولید انبوه در محیط‌های شغلی رخ دهد(۹). همچنین امکان آلودگی محیط زیست نیز وجود دارد.

سیلیکا در اندازه‌های معمول (ماکرو) به عنوان یک ماده غیرسمی تلقی می‌شود؛ به همین منظور در صنایع مختلف بسیاری از جمله داروسازی، لوازم آرایشی و مواد غذایی به طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد.

بررسی سمیت نانوذرات و اثرات تخریبی آنها بر سلول‌ها مورد توجه دانشمندان است(۱). اخیراً نانوذرات سیلیکا در بسیاری صنایع و زمینه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است(٤،٥).

در این مطالعه سمیت نانوذرات سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف روی بافت ریه رت در دو زمان مواجهه ٦ و ٢٤ ساعت بررسی شد. این مطالعه به خوبی نشان داد که اثر سمی نانوذرات سیلیکا وابسته به اندازه و زمان مواجهه است که مطابق با نتایج سایر محققین نیز می‌باشد(۷،۸).

تحقیقات نشان می‌دهد که نانوذره سیلیکا باعث کاهش طول عمر رده سلول‌های U_{87} در یک رفتار و الگوی وابسته به دوز می‌گردد. عقیده برآن است که نانوذرات سیلیکا باعث اختلال در کدبرداری از DNA میتوکندریایی گشته و منجر به کاهش تولید انرژی میتوکندری و طول عمر سلول و سیگنال‌دهی می‌شوند(۷).

در تحقیقی دیگر که با هدف بررسی اثرات نانوذره بی‌شکل سیلیکا بر طول عمر سلول، آپوپتوزیس و پروتئین‌ها در رده سلول‌های HaCat و از طریق آنالیز مورفولوژیکی و بیوشیمیایی صورت گرفت مشخص شد مواجهه با نانوذرات سیلیکا آپوپتوزیس سلول‌های HaCat را نیز در یک رفتار وابسته به دوز افزایش می‌دهد(۸).

اثر اندازه و زمان را اینگونه می‌توان توجیه کرد که نانوذرات در اندازه‌های کوچک و زمان‌های مواجهه بالا امکان بیشتری برای نفوذ به داخل سلول و تخریب اجزای داخل سلولی خواهند داشت.

مطالعات نشان می‌دهد عمده تاثیر نانوذرات بر سلول شامل اتصال به اجزای غشای سلولی و آنزیم‌های داخل سلولی است(۱۰). البته مکانیسم‌های دیگری نیز برای توجیه سمیت نانوذرات ذکر گردیده است. تخریب و غیر فعال‌سازی آنزیم‌های مهم سلولی، تاثیر بر روی ژنوم سلول‌ها و از بین بردن سیستم تولید انرژی سلولی از جمله مکانیسم‌های دخیل در سمیت نانوذرات است. نانوذرات می‌توانند به تنهایی یا به کمک اشعه‌های پر انرژی تولید رادیکال آزاد کنند که این خود باعث کشتن سلول‌های مختلف می‌شود. از طرفی نانوذرات می‌توانند از خود یون‌ها یا اتم‌های پرانرژی آزاد کنند که منجر به تخریب سلول‌ها می‌گردد (۱۷-۱۱).

این مطالعه برای اولین بار نشان داد که اثرات سمی نانوذرات سیلیکا وابسته به شکل نیز می‌باشند به نحوی که نتایج تست MTS نشان داد نانوذرات کروی در اندازه ۲۰ نانومتردارای بیشترین تاثیر بر سلول‌های ریه رت نسبت به نانوذرات میله‌ای و سیمی هستند ولی در آزمون MTT نانوذرات میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر بیشترین سمیت را داشتند.

هر چند اطلاعاتی در مورد اثر شکل نانوذرات سیلیکا در منابع اطلاعاتی وجود نداشت ولی اثر شکل سایر نانوذرات بر روی سمیت آنها در مطالعات گذشته اشاره شده بود. به عنوان مثال Pal و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که نانوذرات مثلثی نقره اثرات قوی‌تری نسبت به نانوذرات کروی نقره بر سلول‌های باکتری اشریشیاکلی داشتند(۱۱). از طرفی Stoehr و همکاران نشان دادند که نانو سیم‌های نقره دارای اثرات به مراتب بالاتر نسبت به نانوذرات کروی نقره بر روی سلول‌های ریه(A_{549} cells) هستند(۱۲).

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

همچنین نانوذرات کروی طلا نیز اثرات سمی بالاتری نسبت به نانوذرات مکعبی طلا در شرایط داخل بدنی (in vivo) داشتند (۱۳).

توجیه اینکه چرا نانوذرات در اشکال مختلف سمیت متفاوتی دارند دشوار است و مطالعات زیادی روی مکانیسم‌های درگیر وجود ندارد ولی احتمالاً شکل نانوذرات می‌تواند در خصوصیات شیمیایی و واکنش‌پذیری آنها و ورود آنها به داخل سلول دخیل باشد. از طرفی شکل نانوذرات می‌تواند در نسبت سطح به حجم نانوذرات تاثیرگذار باشد که به طور غیرمستقیم خواص فیزیکی و شیمیایی آنها را متاثر می‌سازد. مطالعات بیشتر و گسترده‌تری لازم می‌باشد تا همه آثار سمی نانوذرات سیلیکا در اشکال مختلف مشخص گردد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که اثرات سمی نانوذرات سیلیکا وابستگی کاملی به اندازه نانوذره، شکل نانوذره و زمان مواجهه دارد، به نحوی که اندازه کوچکتر دارای تاثیر توکسیک بیشتری نسبت به اندازه‌های بزرگتر است. همچنین نتایج تست MTS برای اولین بار نشان داد نانوذرات کروی در اندازه ۲۰ نانومتر بیشترین تاثیر سمی را بر سلول‌های ریه رت نسبت به نانوذرات میله‌ای و سیمی داشتند ولی در آزمون MTT نانوذرات میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر بیشترین اثر سایتوتوکسیک را داشتند. از طرفی زمان انکوباسیون ۲٤ ساعته نسبت به زمان ٦ ساعته اندکی باعث افزایش مرگ سلولی شد.

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، محققین پیشنهادات ذیل را ارائه می‌کنند: ۱- بررسی اثرات اندازه‌ها و اشکال مختلف نانوذرات سیلیکا بر سایر بافت‌های حیوان آزمایشگاهی ۲- بررسی اثرات اندازه‌ها و اشکال مختلف نانوذرات سیلیکا بر بافت‌های انسانی ۳- بررسی اثرات اندازه‌ها و اشکال مختلف نانوذرات سیلیکا در شرایط درون تنی (In vivo).

منابع

1. Mohamed BM, Verma NK, Prina-Mello A, Williams Y, Davies AM, Bakos G, et al. Activation of stress-related signalling pathway in human cells upon SiO_2 nanoparticles exposure as an early indicator of cytotoxicity. J Nanobiotechnology. 2011; 29(9): 29.
2. Liu X, Qin D, Cui Y, Chen L, Li H, Chen Z, et al. The effect of calcium phosphate nanoparticles on hormone production and apoptosis in human granulosa cells. Reprod Biol Endocrinol 2010; 2(8): 32.
3. Holsapple MP, Farland WH, Landry TD, Monteiro-Riviere NA, Carter JM, Walker NJ, Thomas KV. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part II: toxicological and safety evaluation of nanomaterials, current challenges and data needs. Toxicol Sci 2005; 8(1): 12-7.
4. Cui Z, Lockman PR, Atwood CS, Hsu CH, Gupte A, Allen DD, Mumper RJ. Novel D-penicillamine carrying nanoparticles for metal chelation therapy in Alzheimer's and other CNS diseases. Eur J Pharm Biopharm 2005; 59(2): 263-72.
5. Hydzik P. Risks associated with nanotechnology based on European Union legislation. Przegl Lek 2012; 69(8): 490-1.
6. Hydzik P. Nanoparticles toxicity-selective examples. Przegl Lek 2012; 69(8): 486-9.
7. Lai JC, Ananthakrishnan G, Jandhyam S, Dukhande VV, Bhushan A, Gokhale M, et al. Treatment of human astrocytoma U87 cells with silicon dioxide nanoparticles lowers their survival and alters their expression of mitochondrial and cell signaling proteins. Int J Nanomedicine 2010; 5(5): 715-23.
8. Yang X, Liu J, He H, Zhou L, Gong C, Wang X, et al. SiO2 nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells. Part Fibre Toxicol. 2010; 19(7): 1.

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

9. US-EPA, 2005. Environmanetal Protection Agency, Draft Nanotechnology Elite Paper. nanotechnology.
10. Yang X, Gondikas AP, Marinakos SM, Auffan M, Liu J, Hsu-Kim H, Meyer JN. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in Caenorhabditis elegans. Environ Sci Technol 2012; 46(2): 1119-27.
11. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium Escherichia coli. Appl Environ Microbiol 2007; 73(6): 1712-20.
12. Stoehr LC, Gonzalez E, Stampfl A, Casals E, Duschl A, Puntes V, Oostingh GJ. Shape matters: effects of silver nanospheres and wires on human alveolar epithelial cells. Part Fibre Toxicol 2011; 30(8): 36.
13. Tarantola M, Pietuch A, Schneider D, Rother J, Sunnick E, Rosman C, et al. Toxicity of gold-nanoparticles: synergistic effects of shape and surface functionalization on micromotility of epithelial cells. Nanotoxicology 2011; 5(2): 254-68.
14. Zheng J, Wu X, Wang M, Ran D, Xu W, Yang J. Study on the interaction between silver nanoparticles and nucleic acids in the presence of cetyltrimethylammonium bromide and its analytical application. Talanta. 2008; 74(4): 526-32.
15. Xia T, Kovochich M, Brant J. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. Nano Lett. 2006;6(8):1794-807.
16. Thurman RB, Gerba CP, Bitton G. The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. CRC Crit Rev Environ Contr. 1989; 18(4): 295-315.
17. Oka H, Tomioka T, Tomita K, Nishino A, Ueda S. Inactivation of enveloped viruses by a silver thiosulfate complex. Met Based Drugs 1994; 1(5-6): 511.

[Downloaded from tkj.ssu.ac.ir on 2024-04-26]