

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^{۴*}

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
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت حرفه‌ای، دانشکده پرديس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۴/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۱/۲۲

چکیده

مقدمه: نانوذرات سیلیکا به صورت استنشاقی، خوراکی، تزریقی و پوستی وارد بدن موجودات زنده از جمله انسان شده و می‌توانند تأثیرات 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 ۶ و ۲۴ ساعته با استفاده از دو تست سایتوتوکسیسیتی MTT 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 ۶ و ۲۴ ساعت تعیین گردید.

یافته‌ها: این مطالعه نشان داد نانوذرات با سایز کوچکتر (۲۰ نانومتر) دارای تأثیر 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 ۲۴ ساعته نسبت به زمان انکوباسیون ۶ 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 پرديس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. تلفن: ۰۹۳۸۵۳۰۴۰۹۱

پست الکترونیکی: ahmad.abdolmaleki@gmail.com

مقدمه

در دهه‌های اخیر نانوذرات به علت پتانسیل کاربریشان 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 آگروز وسایل نقلیه دیزلی دارای اثرات زیان‌آوری از قبیل آثار سیستمیک و قلبی- عروقی بر سلامت انسان هستند. اخیراً به منظور پیشبرد ایمن نانو تکنولوژی، 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 نشأت 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 از خصوصیات 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 افزایش 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 بیماری‌های سیستم اعصاب مرکزی با استفاده از آنها به عنوان حامل دارو به وجود آورده است (۴).

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 (۵-۶).

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 هر حال اثرات بیولوژیک بالقوه مواجهه با این نانوذرات و مکانیسم سمیت آن هنوز روشن نشده است.

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

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 ذمی برای تزریق محلول کربس و شریان کاروتید برای خروج خون کانونه شد. محلول کربس اکسیژنه شده را که از قبل آماده ساخته بودیم به آهستگی و به تدریج از طریق ورید ذمی 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 ۰.۵٪ 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 ۴۰۰ گرم به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ نمودیم تا بافت‌هایی که هنوز کاملاً تفکیک نشده‌اند از سلول‌های دیگر جدا کردند. حال بافت‌های اضافی را از سلول‌های تفکیک شده جدا نموده و دوباره عمل سانتریفیوژ را این بار با

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 ۶ و ۲۴ ساعته با استفاده از دو تست سایتوتوکسیسیته زیر بود (MTT, MTS).

3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-
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 (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 Fetal RPMI-1640، Hanks buffered saline، bovine serum (FBS) 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

یافته‌ها

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

بر اساس یافته‌های این مطالعه نانو ذرات با اندازه کوچکتر دارای سایتوتوکسیسیته بیشتری نسبت به اندازه‌های بزرگتر می‌باشند به طریقی که اندازه ۲۰ نانومتر در هر دو شکل میله‌ای و کروی دارای سمیت بیشتری نسبت به نانو ذرات ۵۰ نانومتر و ۱۰۰ نانومتر بودند. این یافته در هر دو زمان مواجهه ۶ و ۲۴ ساعته و در هر دو تست MTT & MTS مشاهده شد. همچنین میزان سمیت نانو ذره سیلیکا به شکل سیمی در اندازه ۵۰ نانومتر تقریباً با نانو ذره سیلیکا به شکل میله‌ای و با اندازه ۱۰۰ نانومتر برابر می‌باشد. نتایج تست MTS نشان داد که نانو ذرات کروی در اندازه ۲۰ نانومتر دارای بیشترین اثر توکسیک بر روی سلول‌های ریه رت نسبت به نانو ذرات میله‌ای و سیمی بود ولی در آزمون MTT نانو ذرات 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 ۲۴ 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 نانو ذره سیلیکای میله‌ای در اندازه‌های ۲۰ نانومتر و ۱۰۰ نانومتر وجود داشت. چنین رابطه‌ای در مورد نانو ذرات سیلیکای کروی نیز دیده شد ($P < 0.05$).

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

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 نانو ذرات سیلیکا و انجام دو

تست MTT & MTS

پس از تهیه سوسپانسیون سلولی و سوسپانسیون نانو ذرات سیلیکا، در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ تایی استریل، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های ریوی با غلظت $10^4 \times 2$ سلول در میلی‌لیتر را به طور جداگانه ریخته و نیز ۱۰۰ میکرولیتر از نانو ذرات به طور جداگانه اضافه شد و این مجموعه به مدت ۶ و ۲۴ 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 ۵ 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 ۴۹۲ 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 نانو ذرات) نیز لحاظ گردید و آزمایشات به صورت دو بار تکرار انجام شد. سپس آزمون Mann-Whitney سطح معنی‌داری قلمداد گردید.

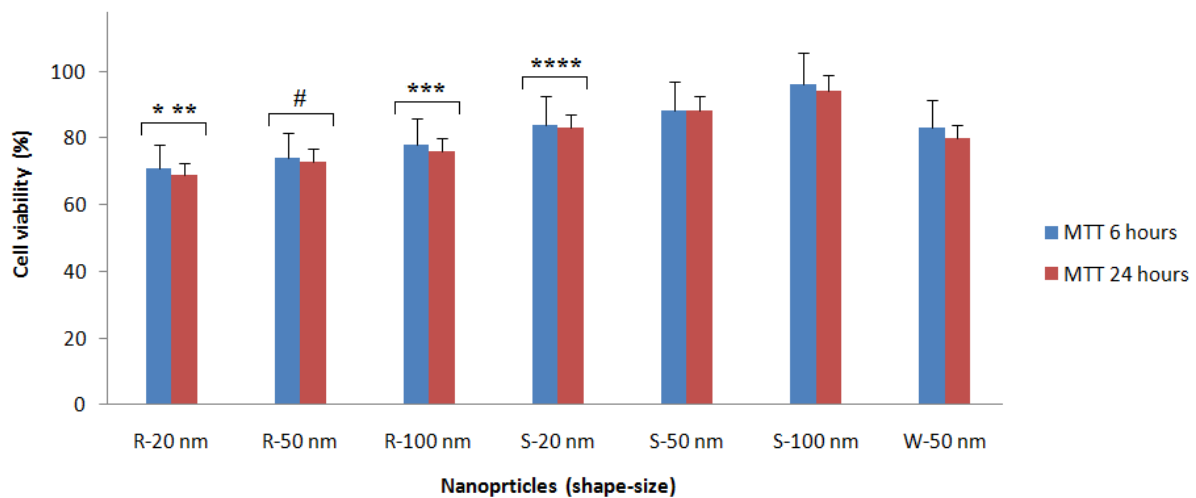
MTS نیز از نظر شکل تفاوت معناداری بین میزان سمیت نانوذره سیلیکای میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر و میزان سمیت نانوذره سیلیکای کروی در همان اندازه وجود داشت و چنین رابطه‌ای در مورد اندازه‌های ۵۰ و ۱۰۰ نیز دیده شد ($P < 0/05$).

وجود داشت ($P < 0/05$). 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 ($P < 0/05$). مشابه تست MTT در آزمون

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 ۶ و ۲۴ ساعت

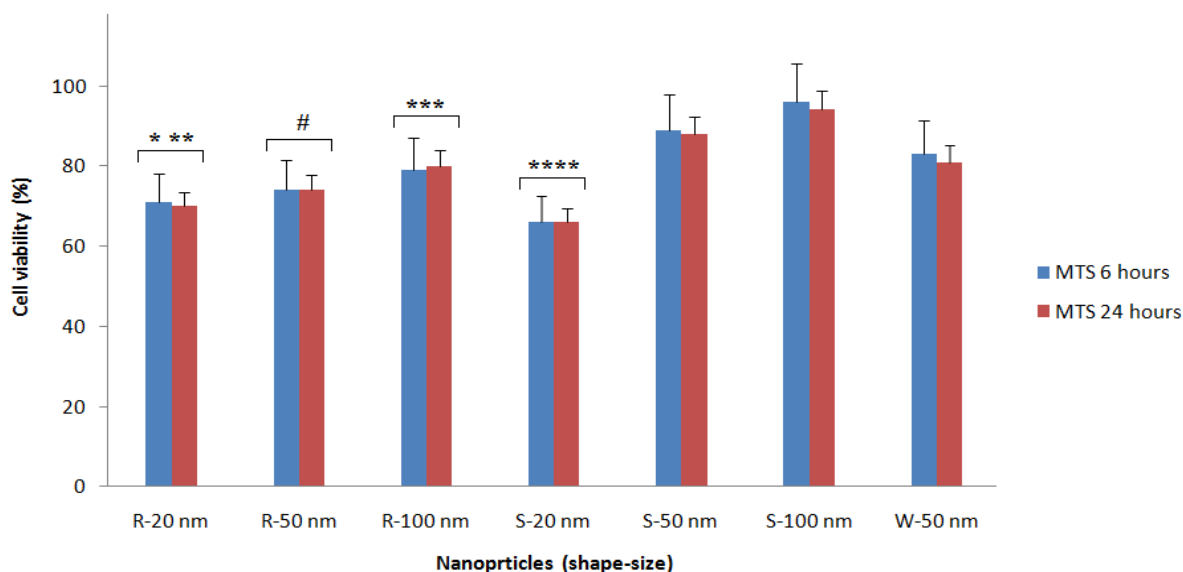
نانوذرات	تست MTT (Mean±SD)		تست MTS (Mean±SD)	
	۶ ساعت	۲۴ ساعت	۶ ساعت	۲۴ ساعت
R-۲۰nm	±۲۷۱	±۲۶۹	±۲۷۱	±۲۷۰
R-۵۰nm	±۳۷۴	±۱۷۳	±۲۷۴	±۲۷۲
R-۱۰۰nm	±۳۷۷	±۲۸۰	±۲۷۹	±۱۸۰
S-۲۰nm	±۳۸۴	±۲۸۵	±۳۶۶	±۱۶۴
S-۵۰nm	±۲۸۸	±۲۸۸	±۳۸۹	±۲۸۸
S-۱۰۰nm	±۲۹۶	±۱۹۴	±۲۹۶	±۲۹۴
W-۵۰nm	±۳۸۳	±۱۸۰	±۳۸۳	±۱۸۱



نمودار ۱- درصد سلول‌های زنده پس از تاثیر نانوذره سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف با استفاده از تست MTT در دو بازه زمانی

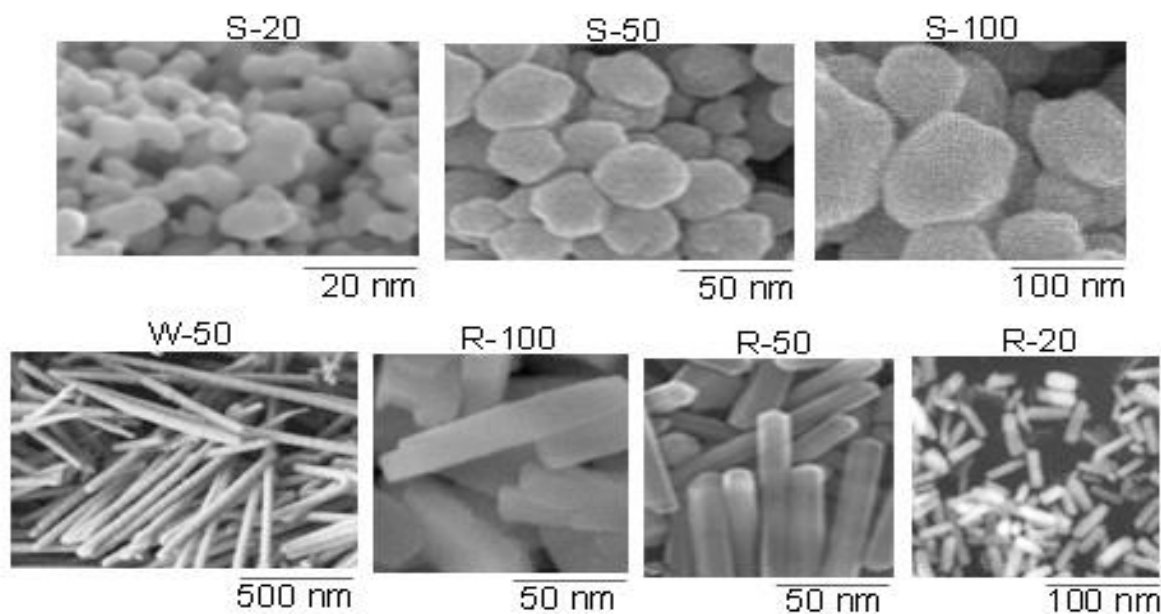
۶ و ۲۴ ساعت

- * 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



نمودار ۲- درصد سلول های زنده پس از تاثیر نانو ذره سیلیکا در اشکال و اندازه های مختلف با استفاده از تست MTS در دو بازه زمانی ۶ و ۲۴ ساعت

- * دارای اختلاف معنی دار با نانو ذرات میله ای ۱۰۰ نانومتر.
- ** دارای اختلاف معنی دار با نانو ذرات کروی ۲۰ نانومتر
- *** دارای اختلاف معنی دار با نانو ذرات کروی ۱۰۰ نانومتری
- **** دارای اختلاف معنی دار با نانو ذرات کروی ۱۰۰ نانومتری
- # دارای اختلاف معنی دار با نانو ذرات کروی ۵۰ نانومتری



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نانو ذرات مورد استفاده در این تحقیق

R-20: نانو ذرات سیلیکا به شکل میله ای در اندازه ۲۰ نانومتر، R-50: نانو ذرات سیلیکا به شکل میله ای در اندازه ۵۰ نانومتر، R-100: نانو ذرات سیلیکا به شکل میله ای در اندازه ۱۰۰ نانومتر، S-20: نانو ذرات سیلیکا به شکل کروی در اندازه ۲۰ نانومتر، S-50: نانو ذرات سیلیکا به شکل کروی در اندازه ۵۰ نانومتر، S-100: نانو ذرات سیلیکا به شکل کروی در اندازه ۱۰۰ نانومتر، W-50: نانو ذرات سیلیکا به شکل سیمی در اندازه ۵۰ نانومتر

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 (۵، ۴).

در این مطالعه سمیت نانوذرات سیلیکا در اشکال و اندازه‌های مختلف روی بافت ریه در دو زمان مواجهه ۶ و ۲۴ 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 (۸، ۷).

تحقیقات نشان می‌دهد که نانوذره سیلیکا باعث کاهش طول عمر رده سلول‌های U87 در یک رفتار و الگوی وابسته به دوز می‌گردد. عقیده بر آن 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 پرنرژی تولید رادیکال آزاد کنند که این خود باعث کشتن سلول‌های مختلف می‌شود. از طرفی نانوذرات می‌توانند از خود یون‌ها یا اتم‌های پرنرژی 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 نانومتر دارای 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 (A549 cells) هستند (۱۲).

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 نانو ذرات کروی در اندازه ۲۰ نانومتر بیشترین تاثیر سمی را بر سلول‌های ریه رت نسبت به نانو ذرات میله‌ای و سیمی داشتند ولی در آزمون MTT نانو ذرات میله‌ای در اندازه ۲۰ نانومتر بیشترین اثر سایتوتوکسیک را داشتند. از طرفی زمان انکوباسیون ۲۴ ساعته نسبت به زمان ۶ 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 نانو ذرات سیلیکا بر سایر بافت‌های حیوان آزمایشگاهی ۲- بررسی اثرات اندازه‌ها و اشکال مختلف نانو ذرات سیلیکا بر بافت‌های انسانی ۳- بررسی اثرات اندازه‌ها و اشکال مختلف نانو ذرات سیلیکا در شرایط درون تنی (In vivo).

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

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

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که اثرات سمی نانو ذرات سیلیکا وابستگی کاملی به اندازه نانو ذره، شکل نانو ذره و زمان

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 SiO₂ 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.

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, Puentes 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, Kovichich 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.