مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۰ ، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱
صفحه: ۱۸-۱۰

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 20, No. 1, Mar-Apr 2012
Pages: 10-18

ارزیابی اثرات سایتوتوکسیک نانوذره SiO2 بر سلول‌های تک هسته‌ای خون انسان

ابوالفضل برخورداری[۱]، سجاد برزگر[*۲]، سید حسین حکمتی مقدم[۳]، علی جبالی[۴]، حسین فلاح زاده[۵]

۱- دانشیار گروه بهداشت حرفه ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۲- کارشناس ارشد بهداشت حرفه ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۳- استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۴- دانشجوی دکترای نانو تکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۵- دانشیار گروه آمار، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۱۹

چکیده

مقدمه: با توجه به استفاده ی روزافزون نانو ذره اکسید سیلیسیوم(SiO2) در زیست فناوری، این مطالعه به منظور بررسی اثرات سمی نانو ذره SiO2 در غلظت‌های مختلف بر سلول‌های تک هسته‌ای خون با روش MTT طراحی و اجرا گردید.

روش بررسی: در یک بررسی خود آزمایی آزمایشگاهی laboratory trial ابتدا سوسپانسیون سلول‌های تک هسته‌ای ۱۰ مرد جوان سالم تهیه و با غلظت های مختلف نانو ذره (۱۵۰۰،۱۰،۱،۱۰۰،۵۰۰،۱۰۰۰ میکروگرم برمیلی لیتر) به مدت۶ و ۲۴ ساعته مواجهه داده و سپس در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. در پایان در صد مرگ سلول با استفاده از کیت MTT و دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۹۰ نانومتر تعیین گردیدند در این مطالعه از کنترل‌های مثبت، منفی و بلانک نیز استفاده شد.

نتایج: یافته‌های مطالعه بیانگر اختلاف معنی‌دار مرگ سلول در غلظت‌های مختلف نانو ذره و همچنین گروه مورد و کنترل می‌باشد($p<۰/۰۵$). همچنین با افزایش غلظت نانو ذره در مواجهه ۶ و ۲۴ ساعته، میزان مرگ سلول به صورت تدریجی افزایش می‌یابد، بطوری که در مواجهه ۲۴ ساعته، میزان مرگ و میر سلول در غلظت ۱۰ نسبت به ۱ میکرو گرم بر میلی لیتر حدود ۶ برابر افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه برای اولین بار مشخص گردید که نانو ذره SiO2 دارای کشندگی ۱ میکروگرم بر میلی لیتر برای سلول‌های تک هسته‌ای خون می‌باشد. از طرفی اثرات سایتوتوکسیک به غلظت و مدت زمان مواجهه بستگی دارد.

واژه‌های کلیدی: دی اکسید سیلیکون، نانوذرات، سایتوتوکسیسیتی، MTT، لکوسیت‌های تک هسته‌ای

[*] (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۳۵۱-۶۲۴۰۶۹۱، پست الکترونیکی: sajjad.barzegar@gmail.com

- این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می‌باشد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

مقدمه

نانو مواد به موادی اطلاق می شود که اندازه آنها کمتر از یک صد نانومتر(nm ۱۰۰-۱) باشد. از نظر شیمیایی، نانو مواد به چند دسته نانو ذرات بر مبنای کربن (مانند فلورین و نانوتیوب کربنی)، نانوذرات اکسید فلزی(مثل اکسید الومینیوم)، نانو ذرات اکسید غیر فلزی(مانند SiO2)، نانو ذرات فلزی (مثل طلا، نقره) و کوانتوم دات‌ها(مانند سولفید کادمیم و سولفید روی) تقسیم می‌شوند(۱). با توجه به اندازه و نسبت سطح به حجم نانو مواد، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آنها نیز منحصربه فرد می‌باشد و به همین علت اثرات بیولوژیکی آنها می‌تواند کاملاً متفاوت از ذرات معمولی باشد(۲). استفاده از نانو ذرات در سال‌های اخیر در زیست فناوری، پزشکی، داروسازی، صنایع غذایی، انرژی و صنایع شمیایی بطور سریع افزایش یافته است(۳). نانوذره سیلیس(SiO2) در پزشکی عمدتا در تشخیص و درمان سرطان، طراحی و ساخت نسل جدید نانو داروها به عنوان حامل نانویی با هدف انتقال دارو یا ژن و همچنین عکس‌برداری استفاده می‌شود(۴،۵).

علاوه بر کاربرد نانوذرات سیلیکاتی در سیستم رهایش DNA، از نانومواد اکسید سیلیسیوم در اهداف تشخیص، عکس‌برداری و دارو رسانی و حتی صنایع غذایی و مواد آرایشی استفاده می‌شود(۷،۶). این نانو ذره می‌تواند از طریق پوست، ریه و گوارش به بدن وارد و به راحتی جذب و سریعا در قسمت‌های مختلف بدن پخش و در ارگان‌های هدف مستقر و حتی از غشای سلولی نیز عبور می‌کنند(۸). نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که مواجهه با نانو ذرات می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلف در کبد، ریه، کلیه و خون انسان گردد(۷،۹). همچنین بیماری‌های لوپوس، نارسایی مزمن کلیوی، آرتریت روماتوئید و اسکلروزیس سیستمیک نیز به علت مواجهه با نانو ذره SiO2 گزارش شده است، در حالی که سیلیس چند وجهی می‌تواند منجر به سیلیکوزیس و سرطان ریه گردد(۱۰،۱۱).

نانو ذرات SiO2 می‌توانند باعث تجمع و خوشه‌ای شکل شدن نا بجای آنزیم توپوایزومراز۱(topo I) در نوکلئوپلاسم سلول‌ها شده و زمینه تحریک سلول‌های اندوتلیال و فیبروز را فراهم نمایند(۲).

بنابراین کاربرد وسیع نانو ذرات در صنعت، کشاورزی و پزشکی مستلزم انجام تحقیقات گسترده و جامع‌تر در خصوص اثرات سوء احتمالی آنها بر انسان می‌باشد. گرچه تا کنون تحقیقاتی روی حیوانات انجام شده است ولی آشنایی با مکانیسم اثرات سمی نانو ذرات بر سلامت انسان نیازمند انجام بررسی‌های بیشتر می‌باشد. به نظر می‌رسد در حال حاضر اطلاعات موجود برای درک کامل سمیت بالقوهی نانو ذرات کافی نمی‌باشد. علیرغم مطالعات محدود انجام شده در رابطه با SiO2 و اثرات آن بر روی انسان، تا کنون اثرات نانو ذره SiO2 بر روی سلول‌های تک هسته‌ای خون مورد مطالعه قرار نگرفته است. به همین منظور این مطالعه طراحی شد تا اثرات سمی نانو ذره SiO2 در غلظت‌های مختلف بر سلول‌های تک هسته‌ای خون با روش MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-y1)-2,5diphenyltetrazolium bromide) مورد بررسی قرار گیرد.

روش بررسی

تهیه سلول‌های تک هسته‌ای (MNC)

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی که در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد طی سال ۱۳۹۰انجام شد، تعداد ۱۰ مرد بالغ و سالم با میانگین سنی ۲۵ سال (که طبق بررسی و معاینه توسط پزشک فاقد هرگونه بیماری مشخص و فعال بوده و دارویی مصرف نمی‌کردند) مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور، ۵ میلی لیتر خون وریدی با ضد انعقاد هپارین گرفته شد و به مدت ۵ دقیقه روی میکسر هماتولوژی (لابترون، ایران) بصورت دورانی مخلوط گردید. پس از آن ۵ میلی لیتر فایکول (مرک، آلمان) داخل لوله آزمایش شیشه‌ای ریخته و به آرامی به خون هپارینه اضافه گردید. مخلوط فایکول و خون تهیه شده به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ بر دقیقه سانتریفوژ(سهند، ایران) شد و سپس سلول‌های تک هسته‌ای با پیپت جدا گشته و پس از سه بار شستشو با سرم فیزیولوژی در لوله‌های آزمایشگاهی دیگر ریخته شدند. در ادامه تعداد ۵×۱۰۳ سلول

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

در محیط کشت مایع RPMI 1640 با حجم نهایی یک میکرولیتر تهیه شدند. در نهایت تعداد سلول‌ها با استفاده از دستگاه سل کانتر(France-Japan،ABX Micros 60) شمارش شد تا از صحت تعداد سلول‌ها اطمینان حاصل شود.

تهیه نانوذرات مورد استفاده در این تحقیق

پس از خریداری نانوذره سیلیس SiO2 (10nm, 600m2/g) از شرکت لولیتک آلمان (Lolitech, Germany) به آزمایشگاه انتقال و با آب دیونیزه به غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسانده و از این محلول اولیه غلظت‌های مختلف ۲، ۲۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه گردید.

مجاورت نانو ذرات و سلول‌های مونونوکلئر(MNC)

در ادامه کار، ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون سلول‌های تک هسته‌ای(MNCs) را در میکرو پلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از غلظت‌های مختلف نانو ذره به هر چاهک حاوی سلول MNCs افزوده و غلظت نهایی نانو ذره در هر چاهک به ترتیب ۱۵۰۰،۱۰۰۰،۵۰۰،۱۰۰،۱۰،۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر گردید و به مدت ۶ و ۲۴ ساعت درانکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد(Fater electronic، ایران) انکوبه شدند.

در این مطالعه از کنترل‌های مثبت، منفی و بلانک نیز استفاده شد به طوری که در چاهک کنترل مثبت آب مقطر و در چاهک مربوط به کنترل منفی فقط نرمال سالین اضافه و همچنین نمونه بلانک هم فقط حاوی نانو ذره بود. ضمنا کلیه آزمایشات دو بار تکرار گردیدند.

ارزیابی میزان سایتوتوکسیسیتی نانو ذرات با روش MTT

به منظور بررسی اثرات نانو ذره روی سلول‌های تک هسته‌ای از روش MTT استفاده گردید(۱۲). برای این منظور ۲۵ میکرولیتر از محلولMTT (مرک، آلمان) با غلظت ۵mg/mL به هر چاهک اضافه گردید و ۳ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شدند، سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول ایزوپروپانول ۷۰٪ (مرک، آلمان) به هر چاهک اضافه شده و پس از آن جذب نوری(Optical Density) هرچاهک در طول موج ۴۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر(ELICO spectrophotometers, India) قرائت و در پایان میزان مرگ سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\frac{A-B}{A}\times 100$$

A- میزان جذب نوری گروه کنترل (بدون نانو ذره)

B- میزان جذب نوری نمونه اصلی، پس از مواجهه با نانو ذرات

در نهایت میزان مهار کنندگی رشد ۵۰ درصد (IC50) (غلظتی که باعث مرگ ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌شود) و همچنین غلظت بدون اثر مشاهده شده No observed adverse effect concentration(NOAEC)(غلظتی که در آن غلظت هیچ اثر سمی بر سلول مشاهده نشده است)، که هر دو مستقیما با آزمایش غلظت‌های مختلف نانوذره بر روی سلول‌ها بدست آمده اند نیز تفسیر گردیدند. تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS-16 انجام و نتایج به صورت میانگین، انحراف معیار، گزارش گردیدند. ولی با توجه به نرمال نبودن داده‌ها از میانه و دامنه میان چارکی جهت تجزیه و تحلیل استفاده گردید همچنین P<۰/۰۵ به عنوان مرز معنی‌دار شدن نتایج در نظر گرفته شد.

نتایج

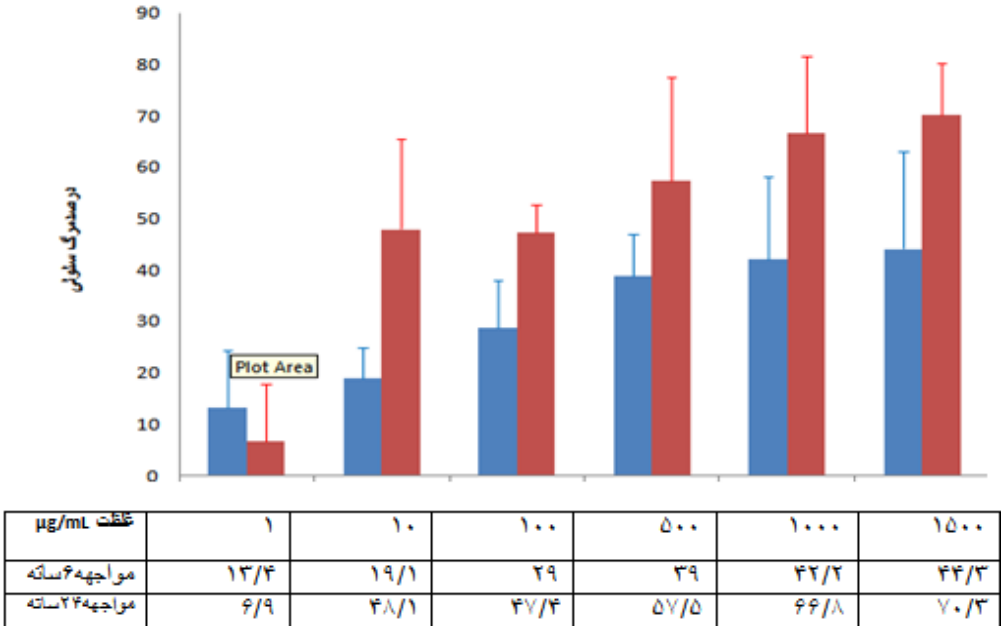
سمیت سلولی وابسته به زمان مواجهه و دوز نانو ذره SiO2

در این مطالعه پس از مواجهه سلول‌های تک هسته‌ای خون با غلظت‌های مختلف نانو ذره SiO2 به مدت ۶ و ۲۴ ساعت، نتایج مربوط به درصد مرگ سلول با استفاده از روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. رابطه‌ی بین مرگ سلولی (درصد) و غلظت نانو ذره SiO2 (میکرو گرم بر میلی لیتر) در نمودار ۱ آمده است. نتایج نشان داده شده میانگین نتایج دو بار تکرار می‌باشد.

تحلیل Kruskal-Wallis بیانگر اختلاف معنی‌دار مرگ سلول در غلظت‌های مختلف نانو ذره و همچنین افراد مورد مطالعه با گروه مورد و کنترل می‌باشد(p<۰/۰۱). حداقل و حداکثر مرگ سلول در مواجهه ۶ ساعته به ترتیب ۴/ ۱۳و ۴۴/۳ درصد ولی این میزان در مواجهه ۲۴ ساعته به ترتیب ۶/۹ و ۷۰/۳ درصد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

می‌باشد. با افزایش غلظت نانو ذره در مواجهه ۶ ساعته، میزان مرگ سلول به صورت تدریجی افزایش می‌یابد ولی مرگ سلولی در مواجهه ۲۴ ساعته تا غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر به صورت جهشی و بعد از آن بصورت تدریجی است، بطوری که میزان مرگ و میر سلول در غلظت ۱۰ نسبت به ۱ میکرو گرم بر میلی‌لیتر حدود ۶ برابر افزایش یافته است گرچه افزایش غلظت منجر به افزایش مرگ سلولی گردید ولی اختلاف آن در غلظت‌های مختلف معنی‌دار نمی‌باشد بطوریکه در مواجهه ۶ ساعته، بین غلظت ۱µg/ml و ۱۰µg/ml و در صد مرگ سلولی رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید($P>0/05$) ولی در مواجهه ۲۴ ساعته در غلظت‌های فوق اختلاف معنی‌دار بود($P<0/01$).



غلظت µg/mL	۱	۱۰	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۵۰۰
مواجهه۶ساعته	۱۳/۴	۱۹/۱	۲۹	۳۹	۴۲/۲	۴۴/۳
مواجهه۲۴ساعته	۶/۹	۴۸/۱	۴۷/۴	۵۷/۵	۶۶/۸	۷۰/۳

نمودار۱: میانه درصد مرگ سلولی بر حسب غلظت نانو ذره SiO2 و زمان مواجهه

جدول ۱: میانه و میان چارکی Interquartile Range میزان مرگ سلولی در مواجهه ۶ ساعته

SiO2	میانه	۱۳/۴	۱۹/۱	۲۹	۳۹	۴۲/۲	۴۴/۳
	میان چارکی	۱۱/۵	۶	۹/۷	۸/۵	۱۶/۲۵	۱۹/۲۵

جدول۲: میانه و Interquartile Range میزان مرگ سلولی در مواجهه ۲۴ ساعته

SiO2	میانه	۶/۹	۴۸/۱	۴۷/۴	۵۷/۵	۶۶/۸	۷۰/۳
	Interquartile Range	۱۱/۲	۱۷/۵	۵/۵	۲۰	۱۵/۲	۱۰/۵

نتایج مربوط به غلظت IC50 و NOAEC در جدول ۳ آمده است. همانطور که ملاحظه می‌شود غلظت IC50 پس از ۲۴ ساعت مواجهه ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتربود، ولی غلظت IC50 در مواجهه ۶ ساعته قابل تعیین نبود زیرا در هیچ غلظتی کشندگی بالاتر از پنجاه درصد دیده نشد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

جدول۳: میزان سمیت نانو ذره SiO2 در زمان‌های مختلف

سمیت	مواجهه ۶ ساعته	مواجهه ۲۴ ساعته
میزان مهارکنندگی رشد ۵۰ درصد (IC50)	نامشخص	۲۰۰
غلظت بدون اثر مشاهده شدهNOAEC	۱	۱

بحث

در این مطالعه مشخص گردید که روش MTT سریع، با صرفه و قابل اعتماد بوده و می‌توان از آن به عنوان یک ابزار حساس و موثر برای تحقیقات بعدی استفاده نمود(۱۷-۱۳). در صورت جذب نانو ذره توسط پوست، گوارش و به ویژه ریه به راحتی وارد جریان خون شده و با سلول‌های خون از جمله سلول‌های تک هسته‌ای تماس یافته و می‌تواند منجر به بروز عوارض مختلف از جمله همولیز و ترومبوز و احتمالا مرگ سلول‌های خونی گردد(۱۲،۱۳). مرگ و میر سلول‌ها می‌تواند به علت قابلیت نفوذپذیری زیاد دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی به نانو ذره از طریق اتصال به لیپیدها و پروتئین‌ها، مهار آنزیم‌های مختلف و تخریب آنها و در نتیجه مرگ سلول باشد. افزایش اثرات سایتوتوکسیک به مرور زمان نیز ممکن است به علت اتصال بیشتر نانوذرات به پروتئین‌های سطح سلولی یا داخل سلولی باشد، چون این خاصیت وابسته به زمان است. همچنین در مطالعات قبلی مشخص شده است که نانو ذره SiO2 می‌تواند باعث فعالیت تمایز سلولی و تحریک التهاب و یا باعث تغییر بیان پروتئین شود(۱۸،۱۹).

نتایج حاصل از مطالعه بیانگر افزایش میزان سمیت نانو ذره سیلیس برای سلول‌های تک هسته‌ای خون با افزایش غلظت و زمان مواجهه می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود با افزایش غلظت(به استثنای غلظت ۱µg/ml) میزان سمیت نانو ذره نیز افزایش می‌یابد. عدم افزایش سمیت در غلظت یک میکروگرم بر میلی لیتر احتمالا به این علت است که غلظت نانو ذره در هر دو مواجهه خیلی کم بوده و سلول در اوایل مواجهه با شوک سمی حاصل از نانوذرات روبرو می‌شود ولی بعد از ۲۴ ساعت سلول خود را تطابق داده و اثر سمیت نانوذره را با مکانیسم‌های آنزیمی جبران نموده است. ضمنا از آنجا که میزان سیتوتوکسیسیتی غلظت فوق در مواجهه ۶ و ۲۴ ساعت معنی‌دار نمی باشد لذا این موضوع اهمیت زیادی ندارد ولی در مواجهه ۲۴ ساعته میزان افزایش سمیت در غلظت ۱۰ میلی لیتر به شدت افزایش می‌یابد($p<۰/۰۵$). این مطالعه نشان داد که نانو ذره SiO2 بطور کلی دارای اثرات سمی بر سلول‌های تک هسته‌ای خون می‌باشد. لذا نتایج مطالعات قبلی منتشر شده در رابطه با سمیت نانو ذرات و مرگ سلول‌های اپی‌تلیال برونش و فیبروبلاست پوست با نتایج این مطالعه تقویت می‌شود. Gurr و همکاران در سال ۲۰۰۵ میزان صدمه‌ی سلول‌های اپی تلیال برونش را در مواجهه با اکسید تیتانیوم به روش MTT مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که در مواجهه طولانی مدت سه روز، میزان سمیت افزایش پیدا کرده است(۲۰). همچنین Dechsakulthorn و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ میزان سمیت سلول‌های فیبروبلاست پوست در مواجهه با نانو ذرات اکسید روی ZnO و اکسید تیتانیوم TiO2 در مواجهه ۴ و ۲۴ ساعت با روش MTS مورد بررسی قرار داده و نتیجه گرفتند که سمیت نانو ذرات مورد مطالعه در مواجهه ۲۴ ساعته نسبت به ۴ ساعته به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است(۳). مقدار NOAEC نانو ذره دی اکسید تیتانیوم در سلول‌های تخمدان موش چینی ۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر(۲۱) و سلول‌های فیبروبلاست در مواجهه ۴ و ۲۴ ساعته با اکسید روی به ترتیب ۱۸ و ۲۸۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر و این مقدار برای نانو ذره اکسید تیتانیوم به ترتیب ۱/۱۳ و ۸۰/۳۸ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش گردیده است(۳). همچنین نتایج این مطالعه با مشاهدات Ye Y در سال ۲۰۰۹ مبنی بر سمی بودن نانو ذره SiO2 مطابقت دارد(۴) در صورتی که نتایج این مطالعه با نتایج Veranth JM و همکاران در سال ۲۰۰۶ در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

خصوص تاثیر نانو ذره SiO2 بر سلول‌های ریه سازگاری کامل ندارد که این تفاوت ممکن است به علت تفاوت در روش مطالعه باشد(۲۲). در مطالعه‌ای که توسط Bashir و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت، مشخص شد که نانو ذره SiO2 در دروزهای بالا بر غشای سلول اثر سمیت دارد. لذا افزایش فعال‌سازی کمی از فاکتورهای رونویسی مانند ATF-2, تابعی از رده سلولی به خصوص اکسیداتیو استرس، اندازه و غلظت نانو ذره SiO2 می‌باشد. لذا نتایج مطالعه فوق با نتایج این مطالعه که حاکی از اثر سمی نانو ذره SiO2 در غلظت‌های بالا بر سلول‌های تک هسته‌ای خون می‌باشد. مطابقت دارد بنابراین میزان سمیت تابعی از غلظت و زمان مواجهه می‌باشد(۲۳). همچنین نتایج این مطالعه با مطالعه Hyun-Jeong در خصوص تشکیل رادیکال آزاد اکسیژن ROS در سلول‌های اپیتلیال برونش از طریق اکسیداتیو استرس مطابقت داشته و تقویت می‌شود(۲۴). در مطالعه‌ای که Sopova در سال ۲۰۱۰ در خصوص اثر نانو ذرات SiO2 در غلظت ۱ - ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر ویروس هرپس انجام داد مشخص شد که لایه سلول monolayer به طور کامل نابود می‌شود(۲۵).

با توجه به اینکه در تست MTT واکنش توسط میتوکندری صورت می‌پذیرد لذا از نتایج این مطالعه می‌توان حدس زد که مکانیسم سمیت سلول احتمالا از طریق تداخل عملکرد میتوکندری در سلول‌های تک هسته‌ای خون انجام شود(۲۶). گرچه نتایج حاصله از این مطالعه نشان می‌دهد که افزایش غلظت و بویژه افزایش زمان مواجهه بر میزان سمیت نانوذره موثر می‌باشد و از طرفی این نتایج می‌تواند در ارزیابی خطرات ناشی از مواجهه با نانو ذرات مورد استفاده قرار گیرد ولی کاربرد وسیع نانو ذرات در صنایع داروسازی، پزشکی وسایر بخش‌های کشاورزی و صنعت توجه بیشتر به ایمنی و سلامت انسان، و بررسی اثرات سمی نانو ذره بر روی سلول به ویژه در سطح سلولی- میکروسکوپی را بیش از پیش می‌طلبد. همچنین در مطالعات بعدی لازم است تا مکانیسم سمیت زایی نانو ذره SiO2 بر روی سلول‌های تک هسته‌ای با استفاده از تکنیک‌های پیشرفته مانند میکروسکوپ الکترونی طراحی و اجرا گردد. مطالعه روی حیوان هم در آینده بایستی لحاظ گردد. همچنین بررسی دقیق‌تر ابعاد و سایر غلظت‌های نانوذره در مطالعات بعدی ضروری می‌باشد.

References:

1- Ju-Nam Y, Lead JR. ***Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry interactions and potential environmental implications.*** Sci Total Environ 2008; 400(1-3): 396-414.

2- Lin W, Huang Y, Zhou XD, Ma Y. ***In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells.*** Toxicol Appl Pharmacol 2006; 217(3): 252-9.

3- Dechsakulthorn FB, Hayes A, Bakand S, Joeng L, Winder C. ***In vitro cytotoxicity assessment of selected nanoparticles using human skin fibroblasts.*** AATEX 2006; 14: 397-400.

4- Ye Y, Liu J, Xu J, Sun L, Chen M, Lan M. ***Nano-SiO2 induces apoptosis via activation of p53 and Bax mediated by oxidative stress in human hepatic cell line.*** Toxicol In Vitro 2010; 24(3): 751-8.

5- Bottini M, Annibale FD, Magrini A, Cerignoli F, Arimura Y, Dawson MI, et al. ***Quantum dot-doped silica nanoparticles as probes for targeting of T-lymphocytes***. Int J Nanomedicine 2007; 2(2): 227-33.

6- Bottini M, Annibale FD, Magrini A, Cerignoli F, Arimura Y, Dawson MI. ***Quantum dot-doped silica nanoparticles as probes for targeting of T-lymphocytes.*** Int J Nanomedicine 2007; 2(2): 227-33.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

7- Abe S, Yonezawa T, Akasaka T, Uo M, Uchida F, Watari F. ***Observation of biodistribution of indium-tin oxide nanoparticles in mice.*** Nano Biomed 2009; 1(1): 70-4.

8- Won Kim H, Ahn E-K, Jee BK, Yoon HK, Lee KH, Lim Y. ***Nanoparticulate-induced toxicity and related mechanism in vitro and in vivo.*** J Nanopart Res 2008; 11(1): 55-65.

9- Shin SH, Ye MK, Kim HS, Kangb HS. ***The effects of nano-silver on the proliferation and cytokine expression by peripheral blood mononuclear cells.*** Int Immunopharmacol 2007; 7(13): 1813-18.

10- Donaldson K, Borm PJ. ***The quartz hazard: a variable entity.*** Ann Occup Hyg 1998; 42(5): 287-94.

11- Shi X, Castranova V, Halliwell B, Vallyathan V. ***Reactive oxygenAnn. species and silica-induced carcinogenesis.*** J Toxicol Environ Health B Crit Rev 1998; 1(3): 181-97.

12- Aillon KL, XieY, Gendy NEl, Berkland CJ, Forrest ML. ***Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity.*** Adv Drug Deliv Rev 2009; 61(6): 457-66.

13- Brunner TJ, Wick P, Manser P, Grass RN, Limbach LK. ***In vitro cytotoxicity of oxid nanoparticles: comparison to Asbestos silica, and the effect of particle solubility.*** Environ Sci Technol 2006; 40(14): 4374-81.

14- Kroll A, Pillukat MH, Hahn D, Schnekenburger J. ***Current in vitro methods in nanoparticle risk assessment: Limitations and challenges.*** Eur J Pharm Biopharm 2008; 72(2): 370-7.

15- Kim SC, Chen DR, Qi C, Gelein RM, Finkelstein JN, Elder A, et al. ***A nanoparticle dispersion method for in vitro and in vivo nanotoxicity study.*** Nanotoxicology 2010; 4(1): 42-51.

16- Kalmodia S, Molla AR, Basu B. ***In vitro cellular adhesion and antimicrobial property of SiO2-MgO-Al2O3-K2O-B2O3-F glass ceramic.*** J Mater Sci 2010; 21(4): 1297-309

17- Shi Y, Yadav S, Wang F, Wang H. ***Endotoxin promotes adverse effects of amorphous silica nanoparticles on lung epithelial cells in vitro.*** J Toxicol Environ Health 2010; 73(11): 748-56.

18- Pters K, Unger RE, Kirkpatrick CJ. ***Effects of nano_scaled particle endothelial cell function in vitro: studies on viability, proliferation and inflammation.*** J Mater Sci Mater Med 2004; 15(4): 321-5.

19- 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; 7:1.

20- Gurr JR, Wangb ASS, Chenb CH, Janb KY. ***Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells.*** Toxicology 2005; 213(1-2): 66-73.

21- Dunforda R, Salinarob A, Caib L, Serponeb N, Horikoshic S, Hidakac H, et al. ***Chemical oxidation and DNA damage catalysed by inorganic sunscreen ingredients***. FEBS Lett 1997; 418(1-2):87-90.

22- Veranth JM, Kaser EG, Veranth MM, Koch M, Yost GS. ***Cytokine responses of human lung cells (BEAS-2B) treated with micron-sized and nanoparticles of metal oxides compared to soil dusts.*** Part Fibre Toxicol 2006; 4: 2.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

23- 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; 9:29.

24- Eom HJ, Choi J. ***SiO(2) nanoparticles induced cytotoxicity by oxidative stress in human bronchial epithelial cell, beas-2B.*** Environ Health Toxicol 2011; 26: e2011013.

25- Sopova EA, Baranov VI, Gankovskaia OA, Lavrov VF, Zverev VV. ***Effects of silver and silicon dioxide nanopowders on the development of herpesvirus infection in vitro.*** Gig Sanit 2010;(4):89-91.

26- Keams RC. ***In vitro toxicity of silver nanoparticles human lung epithelial cells.*** MSc [Thesis]. Air force ins titute of Technology, USA; 2009

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

The Cytotoxic Effects of Sio2 Nanoparticles on Human Blood Mononuclear Cells

Barkhordari A(PhD)[1], Barzegar S(MSc)[*2], Hekmatimoghaddam H(MD)[3], Jebali A(MSc)[4], Fallahzadeh H(PhD)[5]

[1,2]*Department of Occupational Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*
[3]*Department of Pathology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*
[4]*Department of Nanotechnology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*
[5]*Department of Vita Statistics, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*

Received: 11 Sep 2011 ***Accepted:*** 10 Nov 2011

Abstract

Introduction: Regarding the increasing use of silicon dioxide nanoparticles in medical biotechnology and probable side effects and diseases resulting from its usage, this study was performed to assess the toxic effects of different concentrations of SiO2 nanoparticles on human blood mononuclear leukocytes using the MTT assay.

***Methods*:** In this laboratory trial study, we prepared suspensions of blood mononuclear cells from 10 young healthy men and also different concentrations of the nanoparticles (1, 10, 100, 500, 1000 and 1500µg/mL). The cells were then incubated with these nanoparticles for 24 hours at 37 °c, and finally the percent of dead cells were measured by MTT assay kit using spectrophotometer reading at 490 nm after 6 and 24 hours of incubation. Positive and negative controls and blanking were applied, too.

Results: A significant difference was found in percent of dead cells between the different concentrations of SiO2 nanoparticles and also between the exposed cells and control group ($p<0.05$). There was increasing cytotoxicity in 6 hours as well as 24 hours exposure with higher concentrations of the nanoparticles. Cytotoxicity after 24 hours exposure to 10 µg/mL of nanoparticles was about 6 times that of the 1 µg/mL.

Conclusion: This study showed for the first time that SiO2 with a concentration of 1 µg/mL has cytotoxicity on human blood mononuclear cells. Cytotoxic effects of this nanoparticle are time- and concentration-dependent.

Keywords: Silicon Dioxide, Nanoparticles, Cytotoxicity, MTT, Mononuclear Leukocytes

This paper should be cited as:
Barkhordari A, Barzegar S, Hekmatimoghaddam H, Jebali A, Fallahzadeh H. ***The cytotoxic effects of sio2 nanoparticles on human blood mononuclear cells***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci; 20(1): 10-18.

Corresponding author: Tel: +98 351 6240691, Email: sajjad.Barzegar@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]