

اثرات سایتوتوکسیک و تغییرات مورفولوژیک ناشی از نانوذرات نقره در سلول‌های CHO-K1

معصومه حشمتی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

سپیده اربابی بیدگلی*

گروه سم‌شناسی داروشناسی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

سمیده خوبی

گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

سید مهدی رضایت

گروه سم‌شناسی داروشناسی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

کاظم پرویز

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

*عهده‌دار مکاتبات: دانشکده داروسازی،

واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی،

تهران، ایران، تلفن: 021-22640051-55

Email: Sepideharbabi@yahoo.com

دریافت: 1394/2/14

پذیرش: 1394/7/14

زمینه: گرچه مصرف نانوذرات نقره به دلیل برخورداری از ویژگی‌های اختصاصی آنتی‌باکتریال به‌عنوان ماده اصلی در تولید محصولات سلامت‌محور مبتنی بر فناوری نانو در حال افزایش است، با این وجود اطلاعات سم‌شناسی و ایسته به هر نمونه از نانو ذرات نقره با توجه به ویژگی‌های کاملاً اختصاصی آن‌ها با محوریت ارزیابی ریسک این نانومواد در انسان و محیط زیست محدود است. لذا این مطالعه در نظر دارد تا سمیت سلولی و تغییرات مورفولوژیکی ناشی از غلظت‌های مختلف دو نمونه مختلف نانوذرات نقره موجود در بازار کشور (A, B) با قطرهای مختلف را با آزمون MTT assay بر روی سلول CHO-K1 ارزیابی نماید.

روش‌ها: اثرات سمیت سلولی نانوذرات نقره AgNP-A با قطر 19/6 نانومتر و نانوذرات نقره AgNP-B با قطر 15 نانومتر بر روی سلول‌های CHO-K1 در محدوده غلظتی 500-0/005 $\mu\text{g/ml}$ بعد از مدت 24 ساعت تیمار به روش MTT assay ارزیابی گردید. تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های تیمار شده با مشاهدات میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در بررسی سمیت سلولی با روش MTT assay، کاهش درصد زنده ماندن سلول‌ها و القاء سمیت سلولی مشاهده شد. IC50 نانوذرات AgNP-A در غلظت 100 $\mu\text{g/ml}$ و نانوذرات AgNP-B در غلظت 10 $\mu\text{g/ml}$ گزارش گردید و مشاهدات میکروسکوپی تغییرات واضحی را در مورفولوژی سلول‌ها نمایش داد.

نتیجه‌گیری: غلظت و خواص فیزیکوشیمیایی نانوذرات نقره شامل اندازه ذرات، شکل ذرات، نوع پوشش، سطح زمینه و پتانسیل زتا، بر روی القاء سمیت سلولی و ایجاد تغییرات مورفولوژیک در سلول‌های تیمار شده نقش دارند.

کلیدواژه‌ها: نانوذرات نقره، سمیت سلولی، CHO-K1، خواص فیزیکوشیمیایی، MTT Assay

Cytotoxic effects and morphological changes of silver nanoparticles in CHO-K1 cells

Background: Silver nanoparticles are of interest to be used as antimicrobial agents in medical care, wound dressings and cosmetics. Despite the fact that AgNPs are among the most commercialized nano materials owing to their specific antimicrobial properties, there is limited information about their risk assessment and possible hazards to human health and environment. Thus, this study was carried out to evaluate the cytotoxicity and morphological changes of different concentrations of two samples of commercialized silver nanoparticles (A and B) in CHO-K1 cells using MTT assay.

Methods: The cytotoxicity effect of silver nanoparticles AgNP-A (19.6 nm in diameter) and AgNP-B (15 nm in diameter) on CHO-K1 was evaluated in the range of 0.005-500 $\mu\text{g/ml}$ after 24 hours of treatment using MTT assay. The morphological changes of treated cells were examined by light microscopy.

Results: Based on the results of cytotoxicity by MTT assay, reduced viability of cells and cytotoxicity were observed. The 50% inhibitory concentration (IC50) of silver nanoparticles was recorded at 100 and 10 $\mu\text{g/ml}$ for AgNP-A and AgNP-B, respectively. Moreover, microscopic observations indicated clear morphological changes of treated cells.

Conclusion: Concentration and physicochemical properties of silver nanoparticles like size, shape, surface area, coating and zeta potential play a role in cytotoxicity and morphological changes of treated cells.

Keywords: Silver nanoparticles, cytotoxicity, , CHO-K1, physicochemical properties, MTT assay

Masoumeh Heshmati

Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Sepideh Arbabi Bidgoli*

Dept. of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Samideh Khoei

Medical Physics Department, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Seyed Mahdi Rezayat

Dept. of Pharmacology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Kazem Parivar

Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author:

Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: Sepideharbabi@yahoo.com
Tel: +982122640051-55

Received: 4 May 2015

Accepted: 6 October 2015

مقدمه

نانوذرات نقره به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد ویروسی از پرکاربردترین نانو ذرات در زمینه مصارف پزشکی، دارویی، چسب‌های زخم، ضد عفونی کننده‌ها، لوازم آرایشی و بهداشتی، صنایع غذایی، نساجی و چرم‌سازی هستند. در حال حاضر بالغ بر 100 قلم از این محصولات به کمیته فناوری نانو سازمان غذا و داروی ایران جهت ارزیابی سمیت و صدور مجوز ارایه شده است (1). با توجه به خواص ویژه نانو ذرات و افزایش روز افزون محصولات وابسته به نانو ذرات، مواجهه انسان و محیط زیست با نانو مواد روز به روز در حال افزایش است و این مواجهه روز افزون بر ضرورت ارزیابی ریسک نانو مواد در انسان و محیط زیست تأکید می‌کند (2). مطالعات متعددی بر روی سمیت سلولی و ژنتیکی نانو ذرات صورت گرفته است اما این اطلاعات به موازات توسعه چشمگیر محصولات وابسته به نانو نیست (3). گرچه مکانیسم‌های سمیت سلولی نانو ذرات هنوز به درستی شناخته نشده است اما مطالعات نشان می‌دهند که خواص فیزیکوشیمیایی نانو ذرات مانند اندازه ذره (4)، پوشش (5)، شکل، سطح زمینه، آگلو میریزاسیون، بار سطحی، پتانسیل زتا و سایر عوامل ناشناخته نقش مهمی در سمیت سلولی و ژنتیکی این نانو ذرات ایفا می‌کنند (6).

با توجه به محدودیت روش‌های اختصاصی ارزیابی سمیت نانو ذرات و ناکافی بودن مطالعات و روش‌های استاندارد ارزیابی و نظارت بر ایمنی نانو ذرات نقره تولید شده، این مطالعه در نظر دارد به ارزیابی سمیت سلولی و تغییرات مورفولوژیکی نانو ذرات نقره با توجه به اندازه، مورفولوژی، پوشش و سایر خواص فیزیکوشیمیایی از طریق آزمون MTT assay و مطالعات تکمیلی با استفاده از میکروسکوپ نوری بر روی مورفولوژی سلول‌های CHO-K1 تیمار شده با غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره بپردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه نانو ذرات نقره

در این پژوهش از یک نمونه نانو ذره نقره رایج در بازار تولید شرکت داخلی (AgNP-A) و یک نمونه خارجی (AgNP-B) خریداری شده از شرکت US Research Nanomaterials co., Ltd (TX, USA) استفاده شد. غلظت نانو ذرات نقره مورد آزمایش با دستگاه جذب اتمی، قطر هیدروداینامیک، پتانسیل زتا، شاخص توزیع یا پراکندگی با دستگاه زتا سائزر (model ZEN3600; Molvern instrument Ltd., Tokyo, Japan) شکل و قطر متوسط با TEM (Transmission Electron Microscopy) (Zeiss 906) و خلوص و کریستاله بودن نانو ذرات با تفرق اشعه X (SNMX0402 - KEFA Company) بررسی شد.

تهیه غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره

محلول‌های نانو ذرات کلئیدی نقره با غلظت‌های استوک AgNP-B: 1000 $\mu\text{g/ml}$ و AgNP-A: 4000 $\mu\text{g/ml}$ در محدوده غلظتی 0/1، 0/05، 0/01، 0/005 به روش رقت‌های سریال با آب مقطر دیونیزه برای تیمار سلولی تهیه گردید.

کشت سلولی

رده سلولی CHO-K1 از Department of Toxicogenetics, Leiden University Medical Center تهیه شد. بر اساس استاندارد ISO 10993، CHO-K1 مدل سلولی مناسب برای بررسی‌های سمیت سلولی و ژنتیکی می‌باشد. این سلول‌ها در محیط کشت RPMI-1640 دارای سرم جنین گاوی (FBS) 10٪ و پنی‌سیلین و استرپتومایسین 100 $\mu\text{g/ml}$ در انکوباتور با دمای 37°C و 5% CO₂ و رطوبت 96 درصد کشت و پاساژ داده شدند.

جذب اتمی نانو ذرات نقره

در ابتدا سلول‌های CHO-K1 به تعداد 1×10^6 سلول در فلاسک T 75 کشت داده شدند. بعد از 24 ساعت که سلول‌ها به کف فلاسک چسبیدند تیمار سلولی با غلظت مورد نظر AgNP-A: 100 $\mu\text{g/ml}$ و AgNP-B: 10 $\mu\text{g/ml}$

خانه پلیت میزان 100 میکرولیتر محلول DMSO جهت حل کردن فورمازان ارغوانی رنگ اضافه شد. پس از 15 دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج 570 نانومتر خوانده شد. نتایج حاصله به صورت درصد بقاء سلولی در برابر غلظت‌های مورد آزمایش محاسبه و گزارش شد. درصد بقای سلولی اینگونه محاسبه شد:

$$100 \times (\text{جذب نوری کنترل} / \text{جذب نوری تست}) = \text{میزان بقاء سلولی}$$

در این مطالعه، اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS 20 مورد آزمون قرار گرفت و نتایج حاصله با آزمون (ANOVA (LSD و t مستقل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و به صورت دوسویه تفسیر گردید. سطح معنادار روی $P < 0/05$ قرار داده شد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت گرفت.

یافته‌ها

ویژگی‌های نانوذرات نقره

ویژگی‌های نانوذرات مورد آزمایش مانند اندازه متوسط و شکل با میکروسکوپ الکترونی گذاره TEM، پتانسیل زتا با دستگاه زتاسایزر، غلظت با دستگاه Atomic absorption و نوع پوشش مشخص شده است. ویژگی‌های ذکر شده در رابطه با نانوذرات در مقایسه با یکدیگر از تفاوت معناداری ($P < 0/05$) برخوردار بودند (جدول 1). در تصاویر میکروسکوپی الکترونی TEM شکل و قطر متوسط نانوذرات مورد آزمایش نشان داده شده است (شکل 1 A-B). در محلول کلونیدی نانوذرات AgNP-A اشکال متفاوتی از نانوذرات و در محلول کلونیدی AgNP-B اشکال کروی مشاهده گردید. جذب اتمی جهت تأیید ورود نانوذرات نقره در سلول‌های CHO-K1

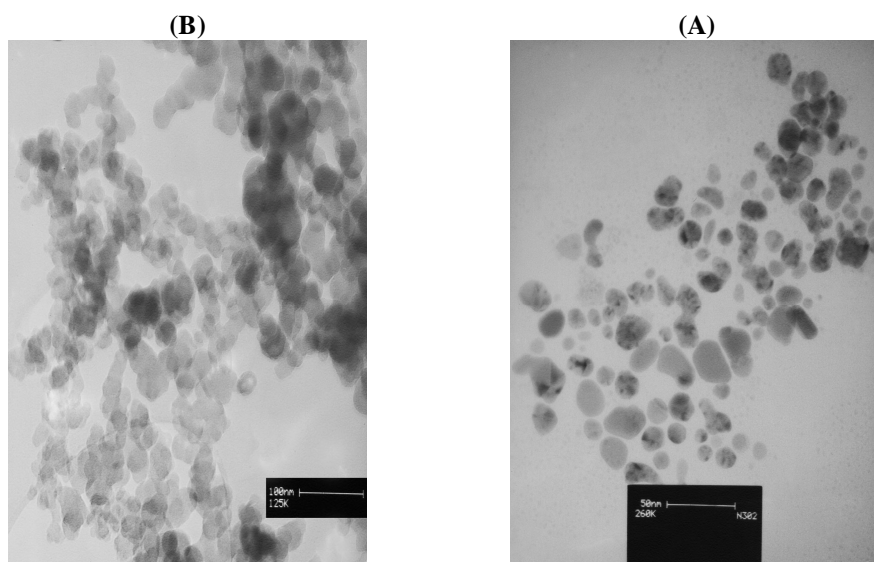
برای اطمینان از ورود نانوذرات به سلول‌های CHO-K1 با توجه به نتایج IC_{50} تیمار سلول‌ها با نانوذرات نقره AgNP-A در غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ و AgNP-B

صورت گرفت. سپس بعد از 72 ساعت از کشت سلولی نانوذرات آزاد در محیط کشت با PBS شستشو داده شدند و سلول‌ها ترپسینه شدند. بعد از سانتریفوژ سلول‌ها به حجم $0/5 \text{cc}$ رسانده و همگن شدند. سپس 5ml تیزاب سلطانی (نسبت 1 به 3 از اسید نیتریک و اسید کلریدریک غلیظ) به جهت لیز نمودن سلول‌ها اضافه شد. میزان نانوذرات موجود در محلول با دستگاه طیف سنجی اتمی مرکز متالوژی رازی مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی تغییرات مورفولوژیکی سلولی

در پلیت‌های 24 خانه در هر چاهک 20000 سلول کشت داده شد و پس از 48 ساعت، تیمار سلولی با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره به مدت 24 ساعت در انکوباتور با دمای 37°C و $5\% \text{CO}_2$ صورت گرفت. بعد از بررسی تغییرات مورفولوژیکی سلولی با میکروسکوپ نوری، شمارش سلولی با رنگ‌آمیزی تریپان بلو و لام هموسایتومتر انجام شد.

بررسی سمیت سلولی نانوذرات نقره با روش MTT assay سمیت سلولی نانوذرات نقره مورد آزمایش با استفاده از روش رنگ‌سنجی MTT assay مورد بررسی قرار گرفت. این روش یک آزمون متابولیک رقابتی میتوکندریایی است و بر اساس احیای ماده زرد رنگ 3-4، 5 دی میتیل تیزازول - 2 (ایل) 2، 5- دی فینیل تترازولیوم بر مایید توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز به فورمازون آبی مایل به ارغوانی در سلول‌های زنده استوار است. در این روش 10^4 سلول در هر چاهک پلیت 96 خانه با 200 میکرولیتر محیط RPMI-1640 کشت داده شد. بعد از 48 ساعت تیمار سلولی با غلظت‌های مورد نظر از نانوذرات نقره مورد آزمایش به صورت تریپلیکیته انجام شد و سه چاهک بدون تیمار به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. پس از 72 ساعت انکوباسیون از کشت سلول محیط کشت تخلیه و 200 میکرولیتر رنگ تترازولیوم $5 \mu\text{g/ml}$ اضافه شد و به مدت 4 ساعت در تاریکی نگهداری شد. پس از طی زمان لازم محیط کشت حاوی MTT به دقت خارج شد و به هر



شکل 1- تصویر میکروسکوپ الکترونی نانو ذرات (A) AgNP-A , (B) AgNP-B

جدول 1- نمایش خواص فیزیکی شیمیایی نانو ذرات مورد آزمایش

نوع پوشش	پتانسیل زتا mV(pH)	سایز هیدروداینامیک (nm)	سایز TEM (nm)	شکل	غلظت ($\mu\text{g/ml}$)	نمونه
بدون پوشش	- 12 \pm 0/5	83/7 \pm 0/4	19/6 \pm 0/2	متفاوت	4000	AgNP-A
بدون پوشش	-11/29 \pm 0/02	62/4 \pm 0/2	15	کروی	1000	AgNP-B
	0/001	0/001	0/001	0/001	0/001	Sig

B به ترتیب 43 و 20 درصد مشاهده شد. IC_{50} نانو ذرات AgNP-A در غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ به میزان 55 درصد و نانو ذرات AgNP-B در غلظت $10 \mu\text{g/ml}$ به میزان 54 درصد گزارش شد.

القاء سمیت سلولی نانو ذرات AgNP-B نسبت به نانو ذرات AgNP-A در غلظت های بالاتر با شدت بیشتری مشاهده شد. بر اساس شواهد میکروسکوپی نوری 40X سلول های تیمار نشده با نانو ذرات نقره پس از 24 ساعت واجد شکل دوکی با هسته مشخص و غشایی بدون چین خوردگی بود اما سلول های تیمار شده با غلظت های متفاوت نانو ذرات نقره ($AgNP-A: 500 \mu\text{g/ml}$ ، $AgNP-B: 100 \mu\text{g/ml}$) تغییرات مشخصی را در مورفولوژی نشان دادند (شکل 2 A-B-C). به طوری که به تدریج و با افزایش غلظت تغییر شکل سلولی واضح تر بود. مهار رشد

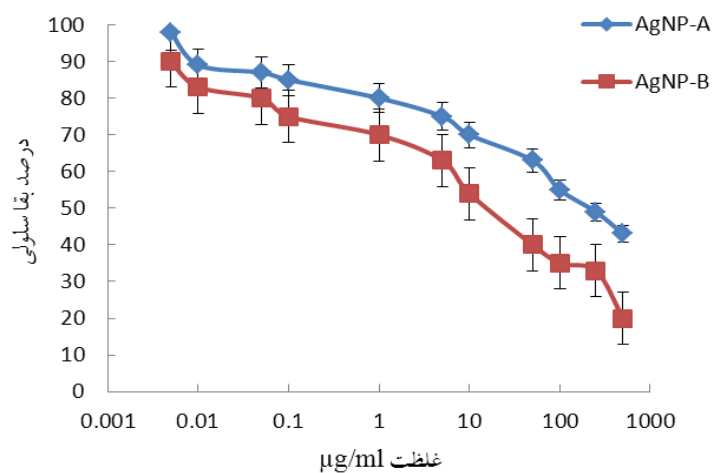
در غلظت $10 \mu\text{g/ml}$ به مدت 24 ساعت از تکنیک طیفسنجی جذب اتمی صورت گرفت. در این مطالعه میزان نانو ذرات AgNP-A و AgNP-B وارد شده در سلول به میزان $14/4 \mu\text{g/ml}$ و $17 \mu\text{g/ml}$ گزارش شد.

بررسی سمیت سلولی

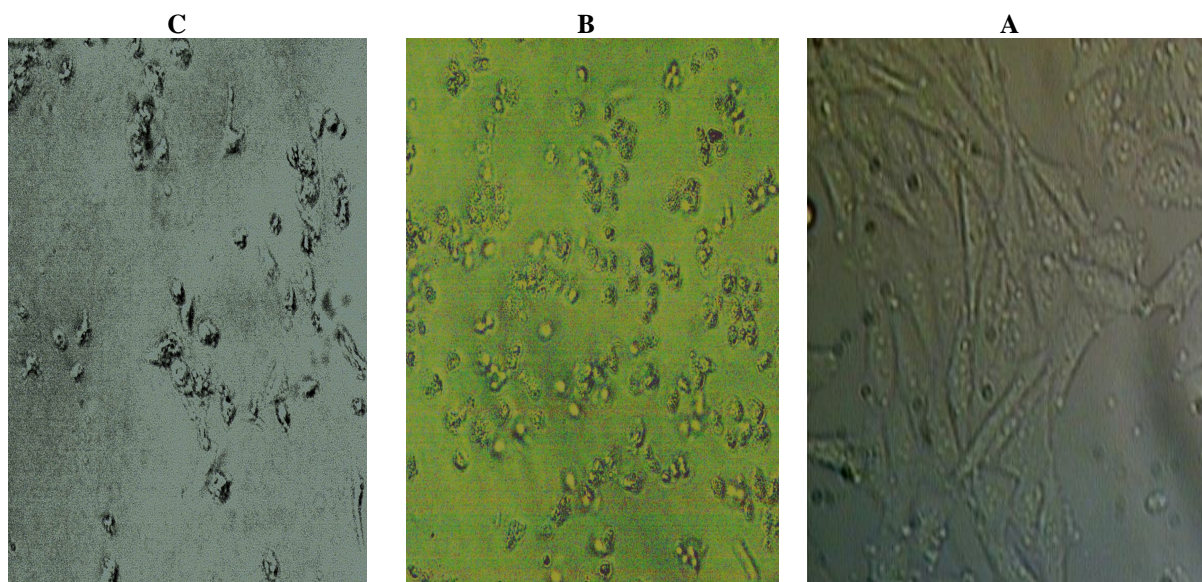
نتایج سمیت سلولی با روش رنگ سنجی MTT assay با اندازه گیری جذب نوری بر اساس غلظت نانو ذرات مورد استفاده در مقایسه با میزان بقاء سلولی محاسبه شد. درصد بقاء سلول های تیمار شده با نانو ذرات نقره نسبت به سلول های تیمار نشده در محدوده غلظتی $0/005-500 \mu\text{g/ml}$ محاسبه گردید (نمودار 1). کاهش درصد زنده ماندن سلول ها با افزایش غلظت مشاهده شد. در بالاترین غلظت $500 \mu\text{g/ml}$ میزان درصد بقاء سلولی در سلول های تیمار شده با نانو ذرات AgNP-A و AgNP-B

ژنتیکی باشد که تنها با روش‌های مولکولی و سیتوژنتیک در سلول‌های تیمار شده با نانوذرات نقره قابل بررسی است.

سلولی به صورت مورفولوژی چروکیده سلول، تحلیل رفتگی و کاهش سیتوپلاسم، پیگمانته شدن هسته و مضررس بودن غشاء مشاهده شد. این تغییرات می‌تواند بازتاب تغییرات متابولیکی ناشی از سمیت سلولی و



نمودار 1- تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره پس از 24 ساعت با روش MTT assay بر روی سلولهای CHO-k1



شکل 2 - تغییرات مورفولوژیکی سلول‌ها.

A: سلولهای CHO-K1 تیمار نشده بعد از 48 ساعت.

B: سلولهای CHO-K1 تیمار شده با نانوذرات نقره AgNP-A با غلظت 500 µg/ml بعد از 48 ساعت (24 ساعت تیمار).

C: سلولهای CHO-K1 تیمار شده با نانوذرات نقره AgNP-B با غلظت 100 µg/ml بعد از 48 ساعت (24 ساعت تیمار).

بحث

نانوذرات با خصوصیات فیزیکوشیمیایی متفاوت در زمینه‌های صنعتی پزشکی و وسایل خانگی کاربرد دارند. با این وجود اطلاعات جامعی در رابطه با اثرات سوء خواص فیزیکوشیمیایی آن‌ها در دسترس نمی‌باشد.

اندازه نانو ذرات یک ریسک فاکتور مهم و تأثیرگذار بر روی مکانیسم‌های سلولی مانند جذب، پراکندگی سلولی، فرایندهای متابولسمی و ترشحی است (7 و 8). فاکتور وابسته دیگر در رابطه با اثرات جانبی نانو ذرات بر روی مکانیسم‌های سلولی شکل یا مورفولوژی است. بر اساس مطالعات مشخص شده که شکل نانو ذرات در جذب تأثیر چشمگیری دارد، به‌عنوان مثال نانو ذرات کروی از نانو ذرات طنابی جذب بالاتری دارند (7 و 8). علاوه بر این اندازه و شکل، دو فاکتور کلیدی در تعیین سطح زمینه می‌باشند. با کاهش اندازه، تعداد ذرات در واحد جرم و سطح زمینه افزایش می‌یابد. افزایش سطح زمینه فعالیت‌های کاتالیتیکی آنزیمی را در سلول افزایش می‌دهد زیرا سطح اتم‌ها تمایل به شکل‌گیری باندهای پراثری نامناسب دارند. به این ترتیب جهت رسیدن به پایداری به آسانی با مولکول‌های دیگر واکنش داده و پیوندهای سطحی تشکیل می‌دهند. در نتیجه با افزایش سطح زمینه، واکنش با مواد دیگر نیز افزایش می‌یابد (8). همچنین در برخی از مطالعات گزارش شده است که با افزایش سطح زمینه میزان آزادسازی یون‌های نقره از نانو ذرات افزایش می‌یابد که در القاء سایتوتوکسیسیتی تأثیرگذار است (9 و 10).

بار سطحی نیز نقش مهمی در جذب سلولی دارد. غشاء پلاسمایی به‌دلیل فسفولیپیدهای سطح خارجی در مقایسه با محیط داخل سلولی دارای بار منفی است. بنابراین نانومواد آنیونیک (بار سطحی منفی) با سرعت کم‌تری نسبت به نانومواد کاتیونیک (بار سطحی مثبت) اندوسیتوز می‌شوند (11 و 12).

بر اساس نتایج بررسی سمیت سلولی با روش MTT assay در محدوده غلظتی 0/005-500 µg/ml، القاء سمیت

سلولی در سلول‌های تیمار شده با AgNP-B با شدت بیشتری نسبت به AgNP-A مشاهده شد. نانو ذرات AgNP-B با قطر متوسط 15 نانومتر نسبت به AgNP-A با قطر متوسط 19/6 از اندازه کم‌تری برخوردار است، بنابراین تعداد نانو ذره در واحد جرم و در نتیجه سطح زمینه نانو ذره در مقایسه با نانو ذره دیگر افزایش می‌یابد. همچنین شکل کروی نانو ذرات AgNP-B جذب بالاتری را در مقایسه با نانو ذرات AgNP-A در غلظت‌های متفاوت مورد آزمایش موجب می‌شود. به این ترتیب القاء سایتوتوکسیسیتی با شدت بیشتری در مقایسه با نانو ذرات AgNP-A صورت می‌گیرد.

بر اساس نتایج بسته به خواص فیزیکوشیمیایی و پتانسیل سمیت نانو ذرات در بعضی از غلظت‌ها، سلول کمی تغییر شکل داده و از حالت دوکی خارج می‌شود. در غلظت‌های بالاتر سلول‌های دوکی کاملاً شکل خود را از دست می‌دهند. میزان بالای سلول‌های مرده آزاد در محیط کشت و درصد پایین زنده ماندن سلولی مؤید القاء شدید سمیت سلولی می‌باشد.

مکانیسم کلیدی مسئول اثرات سایتوتوکسیک ناشی از نانو ذرات، استرس‌های اکسیداتیو می‌باشد که یک ناهماهنگی درون‌سلولی در نتیجه افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها است. Reactive oxygen species (ROS) مولکول‌های بسیار فعال هستند که موجب برهم‌زدن هموستازی درون سلولی و برهم‌کنش با ماکرومولکول‌های سلولی مانند DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شوند. آسیب‌های DNA القاشده با ROS شامل شکست‌های تکرار شده‌ای و دورشته‌ای، تغییرات بازها (شکل‌گیری 8- هیدروکسی دئوکسی گوانوزین) و اتصالات متقاطع DNA است که در صورت فقدان تعمیر سلولی منجر به شکل‌گیری و پیشرفت سرطان می‌شود (8). استرس‌های اکسیداتیو مسیرهای پیام‌رسانی ویژه‌ای مانند MAPK و NF-KB را فعال می‌سازد. مسیرهای فعال‌شده باعث کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانت‌ها و آزادسازی سایتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود و التهاب ایجاد شده

نانوذرات نقره مشابه گزارش دادند (20). پاسخ‌های سلولی مشابه نانووذرات نقره و یون‌های نقره توسط محققین دیگر نیز مورد حمایت قرار گرفته است (21). Navarro و همکارانش میزان فتوستیز جلبک تیمار شده با نانووذرات نقره و یون‌های نقره را در حضور و غیاب سیستمین بررسی کردند. سیستمین یک شلاتور برای یون‌های نقره می‌باشد. در این مطالعه گزارش شده است که نانووذرات نقره سمی‌تر از یون‌های نقره می‌باشند (22).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، سمیت سلولی نانووذرات نقره وابسته به افزایش غلظت می‌باشد و با افزایش غلظت میزان بقاء سلولی کاهش می‌یابد. همچنین خواص فیزیکوشیمیایی مانند اندازه، شکل و سطح زمینه از فاکتورهای مهم تأثیرگذار بر سمیت سلولی هستند. نانووذرات با اندازه کوچک‌تر به‌دلیل حلالیت و سطح زمینه بالاتر و شکل کروی از سمیت بالاتری برخوردارند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه همکاران در دانشگاه آزاد واحد علوم دارویی و ستاد ویژه توسعه فناوری نانو که در این طرح پژوهشی ما را یاری نمودند سپاسگزار می‌گردم.

منتهی به افزایش آزادسازی ROS از سلول‌های التهابی (مانند نوتروفیل‌ها) می‌شود. این چرخه معیوب به واسطه مواجهه با نانووذرات فعال می‌شود (7 و 8).

در شرایط فیزیولوژیکی نرمال ROS در غلظت پایین در حین تنفس سلولی در زنجیر انتقال الکترون میتوکندری تولید می‌شود و نقش مهمی را در مسیر پیام‌رسانی سلولی ایفا می‌کند. نانووذرات نقره می‌توانند تولید ROS را به‌واسطه تأثیر بر عملکرد میتوکندری یا آنزیم‌های تولیدکننده ROS مثل NADPH-اکسیداز افزایش دهند (13). علاوه بر این خصوصیات سطحی نانووذرات نیز در تولید ROS دخالت دارد (14). همچنین خصوصیات ذاتی تعداد زیادی از نانووذرات در اتصال به فلزات انتقالی منجر به افزایش سمیت القاشده به‌وسیله ROS می‌شود (15 و 16).

نانوذرات نقره، یون‌های نقره Ag^+ را در محیط آبی آزاد می‌کنند (17). تشخیص بین اثرات سمی نانووذرات نقره و یون‌های حل‌شده از اهمیت بالایی برخوردار است (18). مطالعات صورت گرفته در این رابطه نتایج متناقض دانسته‌اند. در مطالعات اخیر پیشنهاد شده است که نانووذرات نقره از سدهای معمول عبور کرده و سپس با آزادسازی یون‌های نقره موجب آسیب سلولی می‌شوند (19). Miura و همکارش سمیت سلولی، اپوپتوز و القاء ژن‌های پاسخ‌دهنده استرس را برای یون‌های نقره و

References

1. Wijnhoven S, Peijnen W, Herberts C, Hagens W, Oomeng A, Heugens E, Rozec B, et al. Nano-silver- a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology* 2009; 3(2): 109-38.
2. Korani M, Rezayat SM, Arbabi Bidgoli S. [Sub-chronic Dermal Toxicity of Silver Nanoparticles in Guinea Pig: Special Emphasis to Heart, Bone and Kidney Toxicities(persian)]. *Iran J Pharm Res* 2013;12(3):511-519.
3. Dhawan A, Shanker R, Laffon B, Tajés JF, Fuchs D, van der Laan G, et al. NanoLinen: nanotoxicology link between India and European Nations. *J Biomed Nanotechnol* 2011;7(1):203-204.
4. Gliga AR, Skoglund S, Wallinder IO, Fadeel B, Karlsson HL. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. *Particle and fibre toxicology* 2014;11(3):11-19.
5. Sharma VK, Siskova KM, Zboril R, Gardea-Torresdey JL. Organic-coated silver nanoparticles in biological and environmental conditions: fate, stability and toxicity. *Adv Colloid Interface Sci* 2014 ;204(5):15-34
6. Heshmati M, Arbabi bidgoli S, Khoie S, Rezayat s, Parivar K. [Mutagenic Effects of Nanosilver Consumer Products: a new Approach to Physicochemical Properties(persian)]. *Iran J Pharm Res* 2015; 14 (4): 1171-1180
7. Li Y1, Chen DH, Yan J, Chen Y, Mittelstaedt RA, Zhang Y, Biris AS, Heflich RH, Chen T. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro micronucleus assay. *Mutat Res.* 2012; 14 (2):4-10.

8. Singh N, Manshian B, Jenkins GJ, Griffiths SM, Williams PM, Maffei TG, et al. NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials* 2009; 30(23):3891-3914.
9. Ashkarran ES, Hormozi Nezhad MR, Eshghid S. Controlling the Geometry of Silver Nanostructures. *Biological Applications. Physics Procedia* 2013; 40 (5) :76-83.
10. Matzke M, Jurkschat K, Backhaus T. Toxicity of differently sized and coated silver nanoparticles to the bacterium *Pseudomonas putida*: risks for the aquatic environment? *Ecotoxicology* 2014; 23(5):818-829.
11. Gratton SE, Ropp PA, Pohlhaus PD, Luft JC, Madden VJ, Napier ME, et al. The effect of particle design on cellular internalization pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(33):11613-8.
12. Xu S, Olenyuk BZ, Okamoto CT, Hamm-Alvarez SF. Targeting receptor-mediated endocytotic pathways with nanoparticles: rationale and advances. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65(1):121-138.
13. Mo Y, Wan R, Chien S, Tollerud DJ, Zhang Q. Activation of endothelial cells after exposure to ambient ultrafine particles: the role of NADPH oxidase. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 15;236(2):183-193.
14. Oberdorster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol.* 2005; 6(3) 2:8.
15. Carlson C, Hussain SM, Schrand AM, Braydich-Stolle LK, Hess KL, Jones RL, et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *J Phys Chem B.* 2008; 112(43):13608-19.
16. Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 2006; ;(5761)311:622-627.
17. Kim S, Choi JE, Choi J, Chung KH, Park K, Yi J, et al. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol In Vitro.* 2009; 6(2): 1076-1084.
18. Johnston HJ, Hutchison G, Christensen FM, Peters S, Hankin S, Stone V. 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. *Crit Rev Toxicol* 2010; 40(4):328-346.
19. Park EJ, Yi J, Kim Y, Choi K, Park K. Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicol In Vitro* 2010; 24(3):872-878.
20. Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 236(3):10-8.
21. Foldbjerg R, Olesen P, Hougaard M, Dang DA, Hoffmann HJ, Autrup H. PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. *Toxicology letters* 2009; 190(2):156-62.
22. Navarro E, Piccapietra F, Wagner B, Marconi F, Kaegi R, Odzak N, et al. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ Sci Technol* 2008; 42(23):8959-64.