مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم، شماره بیست و چهارم- پائیز۱۳۹۵

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر بافت تخمدان و محور هیپوفیز – گناد در موش صحرایی ماده

مینا رمضانی[1*]، سعید رضایی زارچی[2]، سیما نصری[3]، لیلا هوشیار[3]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکز، تهران، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تفت، یزد، ایران

۳- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به مصرف گسترده نانو ذرات نقره، تحقیق حاضر به منظور بررسی اثرات احتمالی آن بر روی هورمون های محور هیپوفیز–گناد و بافت تخمدان انجام شد.

مواد و روش ها: موش های صحرایی ماده بالغ به پنج گروه تقسیم شدند. گروه های تیمار به ترتیب غلظت های۲۵، ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم نانو ذره نقره را به صورت خوراکی به مدت ۳۰ روز دریافت کردند. سپس وزن شده، میزان هورمون های FSH، LH، استروژن و پروژسترون سرم، مورد سنجش قرار گرفت و بررسی بافتی تخمدان انجام شد.

یافته ها: وزن موش ها، وزن تخمدان، میزان استروژن، LH و FSH سرم در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافت ولی پروژسترون تغییری نشان نداد. بررسی بافتی تخمدان نشان داد که بافت تخمدان در مقایسه با گروه کنترل بسیار پر خون شده است و هم چنین تعداد فولیکول ها کاهش یافته است.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشانگر اثر سمیتی و وابسته به دوز نانو ذره نقره بر محور هیپوفیز-گناد و بافت تخمدان است. بنابراین باید در مورد تماس طولانی مدت با این ذرات بویژه در زنان احتیاط لازم را به عمل آورد.

کلمات کلیدی: نانو ذرات نقره، محور هیپوفیز – گناد، تخمدان، موش صحرایی

مقدمه

نانوتکنولوژی، تولید و استفاده از موادی با ویژگی خاص است که این ویژگی مرتبط با مقیاس آن ها در حد اتم ، مولکولی و فرامولکولی می باشد. پیشوند نانو به معنی یک میلیاردیم است. به عبارت دیگر نانوتکنولوژی، طراحی، تعیین خصوصیت، تولید و کاربرد ساختارها، وسایل و سیستم هایی با کنترل اندازه و شکل آن ها در مقیاس نانو می باشد (۱۲) . مواد در مقیاس نانو از اهمیت بالایی برخوردارند که از مهم ترین آن می توان به افزایش سطح در این مقیاس اشاره کرد که ترکیبات نانومتری دارای نسبت سطح به حجم بالایی هستند که استفاده از آن ها را در زمینه های مختلف پزشکی ایده آل می سازد (۱۴،۲).

شکوفایی بسیاری از فناوری های مهم از جمله فناوری اطلاعات و بیوتکنولوژی، به عنوان دو دستاورد عظیم قرن بیستم، بدون بهره گیری از فناوری نانو دچار اختلال خواهد شد. در این میان نانوتکنولوژی مرطوب حوزه فعالیت تحقیقات نانو در زمینه پزشکی، دارویی و علوم زیستی است. نانوتکنولوژی به بررسی سیستم های زیست محیطی پرداخته و در مقیاس نانومتری ساختمان مواد ژنتیکی، غشاها و سایر ترکیبات سلولی را مورد بررسی قرار می دهد. با استفاده از علم نانو می توان به اصلاح و کنترل بیماری های ژنتیکی و سرطان پرداخت و از انتقال آن ها به نسل آینده جلوگیری کرد (۱۵). حاملین نانویی مناسب باعث انتقال هدفمند داروها، واکسن ها و اسید های نوکلئیک به محل مناسب و با دوز مناسب می شوند. امروزه این فناوری در صنایع مختلف کاربرد دارد. از جمله می توان به ساخت محصولات ورزشی مانند چوب بیس بال، در صنایع غذایی مثل تولید آدامس با طعم شکلات و در صنعت پوشاک برای تولید لباس های ضد عرق و محافظ سرما و یا ضد میکروب اشاره کرد(۱۳).

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکز، تهران، ایران
پست الکترونیکی: m.ramezani@iauctb.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۵

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.6.5]

نقره یکی از عناصری است که در فناوری نانو از اهمیت بالایی برخوردار است که با استفاده از این فناوری نقره را به ابعاد بسیار کوچک در حد نانو متر در می آورند. با ریز شدن تا این حد، سطح تماس نقره با محیط و در نتیجه فعالیت آن افزایش می یابد. به همین دلیل، در مقیاس بسیار اندک در حد ppm فعالیت ضد میکروبی بسیار مناسب از خود نشان می دهد. به تازگی نشان داده شده که علاوه بر باکتری ها و قارچ ها، نانو نقره توانایی از بین بردن ویروس های خطرناکی مثل HIV را دارا می باشد (۵).

ایران یکی از کشورهای تولید کننده نانو ذره نقره می باشد که نانو تولیدی در آن به منظور ضد عفونی کردن دامداری ها، مرغداری ها، ضدعفونی کردن آب آشامیدنی و البسه و جلوگیری از شیوع بیماری ها استفاده می شود. بررسی در موش ها نشان داده که نانوذرات می توانند از طریق مسیر تنفسی وارد سیستم گردش خون شده و به دیگر اندام ها منتقل شوند. اما امکان عبور آن ها از سدهای بیولوژیکی هنوز مشخص نیست (۶). اما در کابردهای پزشکی و درمانی به طور مستقیم نانو ذرات را وارد بدن می کنند که اثرات آن هنوز مشخص نیست. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر نانو ذره نقره بر هورمون های جنسی ماده و تخمدان می باشد.

روش کار

در این تحقیق تجربی از ۴۵ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم (تهیه شده از دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد) استفاده شد. موش ها در شرایط آزمایشگاهی ثابت با دمای $21 \pm 2^{\circ}C$ سانتی گراد و دوره های نوری ۱۲ ساعته قرار گرفتند. نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام شد. موش ها برای تطابق با شرایط محیطی به مدت دو هفته دست نخورده باقی ماندند. با تهیه اسمیر واژن موش ها و رنگ آمیزی آن ها با رنگ گیمسا، فقط نمونه هایی وارد آزمایش شد که هم سیکل بوده و در فاز پرو استروس قرار داشتند. حیوانات به طور تصادفی به گروه های ۹ تایی شامل گروه کنترل، گروه های دریافت کننده نانو ذرات نقره با دوزهای۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. نانو ذرات نقره (۷۰ نانومتر) از پژوهشکده علوم و فناوری نانو دانشگاه پیام نور استان یزد تهیه شده و با غلظت های مورد نظر در سرم فیزیولوژی حل شد و به میزان هر ۱۲ ساعت ۳ میلی لیتر برای هر موش به مدت ۳۰ روز گاواژ شد. گروه کنترل هیچ گونه دارویی دریافت نکرد. بعد از طی ۳۰ روز موش ها پس از وزن کشی، توسط اتر بی هوش شده و خون گیری از سینوس اوربیتال گوشه داخلی چشم با روش استون انجام شد. خون تهیه شده در لوله های آزمایش مخصوص به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و سرم های تهیه شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان سنجش میزان هورمون ها نگهداری شدند. سپس با روش رادیو ایمونو اسی (RIA) و دستگاه گاما کانتر میزان هورمون های FSH، LH، استروژن و پروژسترون خون اندازه گیری شد. به منظور بررسی بافت تخمدان، موش ها تشریح شدند، تخمدان ها خارج شده و پس از توزین در فرمالین ۱۰٪ فیکس شد. سپس مراحل آماده سازی، قالب گیری، برش گیری انجام شد و نمونه ها با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شده و جهت مشاهده با میکروسکوپ نوری آماده شدند.

داده ها توسط آنووای یک طرفه و تست متعاقب تررذذوکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و به صورت میانگین± انحراف معیار بیان گردیدند. سطح معنی داری $p<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

کلیه موش هایی که در معرض نانوذرات نقره قرار گرفتند، تغییر رنگ مو از سفید به برنزه را نشان دادند و در دوزهای بالا گوژپشتی مختصر مشاهده شد. رنگ فضله از قهوه ای به سیاه تغییر یافت و در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش وزن موش ها و کاهش وزن تخمدان آن ها نسبت به کنترل معنی دار بود (جدول ۱).

تیمار	وزن بدن (g)	وزن تخمدان(g)
کنترل	۲۱۸/۵ ±۱۴ /۲	۰/۰۳۴ ±۰ /۰۶
mg/kg ۲۵	۲۱۵/۵ ±۷ /۴	۰/۰۳۳ ±۰ /۰۵
mg/kg ۵۰	۲۰۲/۷ ±۳ /۲	۰/۰۳۱ ±۰ /۰۴
mg/kg ۱۰۰	۱۷۹/۸ ±۱۸ /۳*	۰/۰۲۳ ±۰ /۰۴*
mg/kg ۲۰۰	۲۱۶۰ ±۱۰ /۳*	۰/۰۲ ±۰ /۰۴*

جدول ۱: مقایسه میانگین وزن بدن و وزن تخمدان در دوزهای مختلف نانوذرات نقره نسبت به کنترل (m ± S.E.M.).

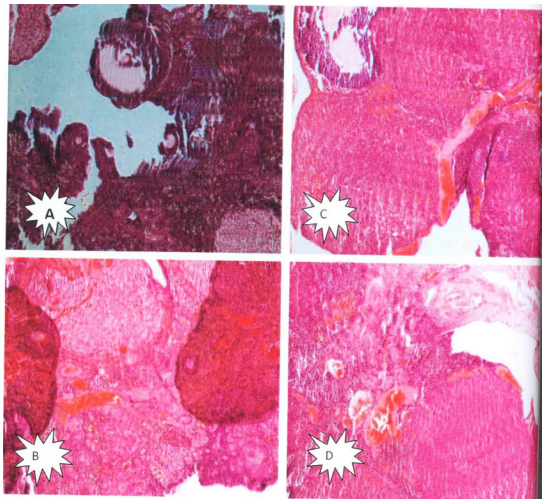
P<0.05 *

علاوه بر آتروفی و کاهش وزن شدید تخمدان، بررسی مورفولوژیکی تخمدان و رحم، پرخونی وسیع را در همه دوزها به جز دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد. بررسی برش های بافتی تخمدان نشان داد که نانوذرات نقره در دوزهای بالای ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم موجب تغییرات بافتی شدید در تخمدان شده به طوری که تعداد فولیکول های ثانویه و گراف کاهش

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

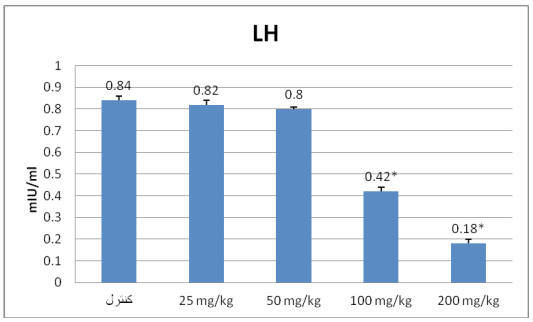
[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.6.5]

یافته و اکثر فولیکول ها در مرحله اولیه مشاهده شدند و بافت تخمدان بسیار پرخون بود. با افزایش دوز این اثرات تشدید شده فولیکوژنز کاهش یافته و فولیکول ها اغلب در مراحل آترتیک مشاهده شدند (شکل ۱).

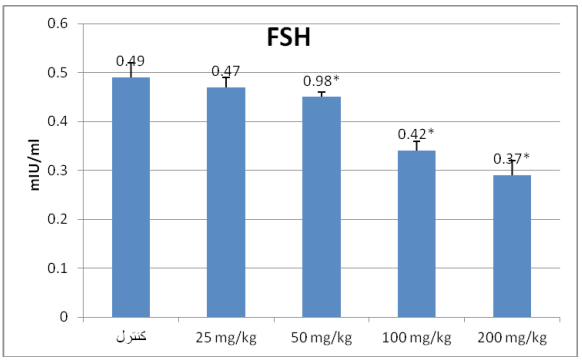


شکل ۱: A- بافت تخمدان همراه با فولیکول ها در گروه کنترل. B- کاهش تعداد فولیکول های ثانویه، گراف و مقداری پرخونی در بافت تخمدان گروه تیمار با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم. C - کاهش فولیکول و پرخونی در بافت تخمدان در گروه تیمار با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم D- پرخونی شدید در بافت تخمدان در گروه تیمار با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم. درشت نمایی X ۱۰

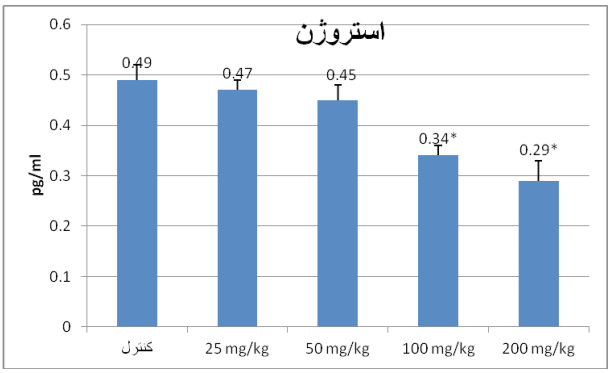
بررسی نتایج هورمونی نشان داد که میزان LH سرم در پاسخ به تجویز دوزهای ۱۰۰و ۲۰۰میلی گرم بر کیلوگرم نانو ذره نقره نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد (نمودار ۱). هم چنین میزان FSH سرم در پاسخ به تجویز دوزهای ۵۰،۱۰۰و ۲۰۰میلی گرم بر کیلوگرم نانو ذره نقره نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافت (نمودار ۲). مقدار استروژن در دو دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به کنترل کاهش معنی داری نشان داد (نمودار ۳) در حالی که پروژسترون سرم تغییرات معنی داری را در مقایسه با کنترل نشان نداد (نمودار ۴).



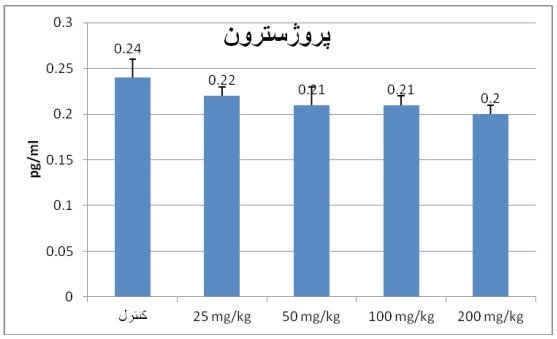
نمودار ۱: اثر نانو ذرات نقره بر میزان هورمون LH سرم. * $P<0.05$ کاهش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل.



نمودار ۲: اثر نانو ذرات نقره بر میزان هورمون FSH سرم. *$P<0.05$ کاهش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل.



نمودار ۳: اثر نانو ذرات نقره بر میزان هورمون استروژن سرم. *$P<0.05$ کاهش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل.



نمودار ۴: اثر نانو ذرات نقره بر میزان هورمون پروژسترون سرم. * $P<0.05$ کاهش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.6.5]

بحث

نانو ذرات نقره یک دسته از نانو ذرات ساخت انسان هستند که در پزشکی تجاری به طور وسیع استفاده می شوند و در ساخت محصولات مختلفی مانند اسپری های ضد عفونی کننده و باندژهای ضد میکروبی به دلیل خواص ضد میکروبی شان به کار می روند. علی رغم استفاده گسترده از این مواد، هنوز اطلاعات کمی در مورد اثر آن ها بر سلامتی وجود دارد و به دلیل تنوع زیاد اندازه، نوع پوشش و یا شکل ذرات نتایج به دست آمده از مطالعه های مختلف متفاوت است. گرچه یون های نقره که از نانو ذرات نقره آزاد می شوند بدون شک سمی هستند ولی هنوز شواهد تایید کننده ای نیست که آیا خود نانو ذرات نقره فلزی سمیت ویژه-ذره ای دارند یا خیر؟ نقره فلزی در محلول های مایع اسیدی در معرض هوا، به آسانی اکسید شده و یون های سمی نقره را تولید می کند. در حقیقت، سمیت بستگی به غلظت یون های نقره ای دارد که در شرائط هوازی آزاد می شود (۸،۱۵). بررسی ها نشان داده که حتی دوزهای پائین نانو ذرات نقره، اثرات شدیدی بر ماکروفاژهای انسان دارند (۸). در مطالعه Gilga در سال ۲۰۱۴ مشخص شد که ذرات کوچک نانو ذره نقره (۱۰ نانومتری) برای سلول های ریه انسان سمی هستند که میزان سمیت با میزان رهایی ذرات نقره به درون سلول مرتبط است (۷). مطالعه های نل و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان می دهد که نانو ذرات نقره موجب تغییرات هیستو پاتولوژیک و بی نظمی در سیستم عصبی می شود(۱۰). نانو ذرات نقره به علت ایجاد رادیکال های آزاد می تواند تغییراتی در DNA سلولی ایجاد کند. استرس اکسیداتیو با تشکیل رادیکال های آزاد در محل این ذرات، موجب ایجاد التهاب در بافت می شوند(۴ ،۱۱). از آنجا که نانو ذرات نقره سطح به حجم بیش تری نسبت به اندازه های بزرگتر نقره دارند، بنابراین از نظر شیمیایی فعال تر بوده و به میزان بیش تری به فرم یونیزه آن تبدیل می شوند. نانو ذرات نقره می توانند با بافت های مختلف باند شده و اثرات سمی و مخرب به دلیل تولید رادیکال های آزاد اکسیژن داشته باشند و باعث مرگ سلولی شوند. نانو ذرات نقره به راحتی از سد خونی مغزی عبور کرده و در مغز تجمع می یابند (۳).

در مورد اثرات نانو ذرات از جمله نانو ذرات نقره بر بافت های بدن بویژه غدد تناسلی اطلاعات کمی در دست می باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، نانوذرات نقره موجب کاهش هورمون های هیپوفیز یعنی FSH, LH و هورمون جنسی استروژن شد. همان طور که می دانیم عمل کرد تولیدمثلی ماده با تعامل هورمون های هیپوتالاموس، هیپوفیز قدامی و تخمدان ها تنظیم می شود. FSH در پاسخ به هورمون های آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) از سلول های بازوفیلی غده هیپوفیز قدامی ترشح شده و با ایجاد استروژن، فولیکول ها را تحریک می کند. بنابراین منطقی است که کاهشFSH موجب کاهش استروژن شود و به طبع آن رشد فولیکول ها به تاخیر بیفتد. مطالعه برش های بافتی نیز نشان داد که در دوزهای بالای نانو ذرات نقره، بیش تر فولیکول ها در مرحله اولیه و یا آترتیک بودند و فولیکوژنز کاهش یافته بود. نتایج نشان داد که میزان پروژسترون سرم چندان تحت تاثیر قرار نگرفته و کاهش معنی داری نداشت که به طور احتمال علت آن جمع آوری نمونه های خونی در مرحله پرواستروس رت ها بوده که در این مرحله ترشح هورمون پروژسترون کم است.

کاهش شدید وزن بدن و وزن تخمدان، پرخونی شدید تخمدان و کاهش فولیکولوژنز نشانگر اثر سمیتی شدید نانو ذرات نقره است. نشان داده که نانو ذرات نقره موجب بر هم خوردن تعادل میان تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن و سیستم های ضد اکسایشی بدن می شوند. رادیکالهای آزاد می توانند بر روی سنتز هورمون ها موثر باشند و از طرفی تقسیم سلولی را مختل کنند. این فرضیه محتمل است که این ماده شیمیایی اثرات تخریبی مستقیم بر بافت تخمدان داشته و یا اثرات خود را به صورت غیر مستقیم از طریق گنادوتروپین ها معطوف نموده است (۹، ۱۰)

یکی از عواملی که ترشح GnRH از نورون های نوروسکرتوری هیپوتالاموسی را افزایش می دهد غلظت یون پتاسیم می باشد .آرمیتاج و همکاران (سال ۱۹۹۶) نشان دادند که نقره باعث تغییر نفوذ پذیری غشاء سلول به پتاسیم و سپس سدیم شده و فعالیت پمپ Na-K ATP ase و میتوکندری را مختل می کند. در نتیجه این عمل، غلظت یون پتاسیم در خون کاهش یافته و این یون نمی تواند کانال های کلسیمی وابسته به لیگاند پتاسیمی را تحریک کند در نهایت باعث کاهش رهاسازی GnRH می گردد (۱).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف خوراکی نانو ذرات نقره باعث کاهش هورمون های محور هیپوفیز و هورمون استروژن در دوزهای بالا (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی متر) می شود. هم چنین کاهش وزن موشها، کاهش وزن تخمدان و تغییرات هیستوپاتولوژیکی شدید تخمدان نشان دهنده اثرات مخرب و سمی آن علی الخصوص در دوزهای بالا می باشد. لذا با توجه به گسترش مصرف نانوذره نقره در پزشکی، صنعت و پوشاک، باید آگاهی های لازم در این مورد داده شود و پیشنهاد می شود،

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.6.5]

افراد به ویژه زنان در سن باروری کم تر در معرض این ذرات قرار گیرند و یا مطالعه هایی جهت یافتن پوشش مناسب برای نانو ذرات نقره انجام شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از سرکار خانم ها روشن رضایی و آرزو خرادمهر به خاطر همکاری های ارزنده خود در انجام این پژوهش تشکر و قدر دانی می شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.6.5]

منابع

1. Armitage SA, White MA, Wilson HK. The determination of silver in whole blood and its application to biological monitoring of occupationally exposed groups. *Ann Occup Hyg*. 1996; 4:331–38.
2. Borm P, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Fissan H, Donaldson K. et al. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology*. 2006; 3(11):1-35.
3. Cramer S, Tacke S, Bornhorst J, Klingauf G, Schwerdtle T, Galla HJ. The Influence of Silver Nanoparticles on the Blood-Brain and the Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier in vitro. *J Nanomed & Nanotech*. 2014; 5(5):1-12.
4. Ebabe Elle R, Gaillet S, Vidé J, Romain C, Lauret C, Rugani N, et al. Dietary exposure to silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats: effects on oxidative stress and inflammation. *Food Chem Toxicol*. 2013; 60:297-301.
5. Elechiguerra J, Burt J, Morones J, Camacho – Bragado, A, Gao, X , Lara, H., Yacaman M. Interaction of silver nanoparticles with HIV – 1. *J Nanobiotechnology*. 2005; 3(6):1-10.
6. Fung MC, Bowen D. Silver products for medical indications:risk-benefit assessment. *Clinical Toxicology*. 1996; 34(1):119-26.
7. Gilga A, Skoglund S, Wallinder IO, Fadeel B, Karlsson H. 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(11):2-17.
8. Haase A, Tentscherty J, Jungnickel H, Graft P, Mantion A, Draude F. et al. Toxicity of silver nanoparticles in human macrophages: uptake, intracellular distribution and cellular responses. *Nanosafe*. 2010; 304: 1-14.
9. Jianling S, Qiu Z, Wang Z, Yan B. Effects of nanotoxicity on female reproductivity and fetal development in animal models. *Int Mol Sci*. 2013; 14(5):9319-9337.
10. Lavicoli L, Fontana L, Leso V, Bergamasch A. The effect of nanomaterials as endocrine disrupters. *Int Mol Sci*. 2013; 14(8):16732-801.
11. Nel A. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science*. 2006; 311(5761):622 – 27.
12. Nemmar A, Vanbilloen H, Hoylaerts MF, Hoet PH, Verbruggen A, Nemery B. Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster. *Am J Respir crit care Med* 2001; 164:1665 –68 .
13. Pitkethly M. Nanotechnology: past, present, and future. Nano Today. 2008; 3:6.
14. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 2009; 27:76-83.
15. Whitman AG, Lambert PJ, Dyson OF. Akula SM. Applications of nanotechnology in the biomedical sciences: small materials, big impacts, and unknown consequences. *Philosophy and Medicine*, 2008; 101:117-130.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.6.5]