مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره ۷، تیر ۱۳۹۴، صفحه ۵۰-۴۴

مطالعه هیستوپاتولوژی بافت کلیه و قلب بعد از مواجهه با نانوذرات اکسید مس در موش سفید آزمایشگاهی (Mus musculus)

باقر سیدعلیپور (PhD)*[۱]، نجمه بریمانی(MSc)[۲]، عباسعلی دهپور جویباری(PhD)[۲]، سید محمد حسینی(PhD)[۳]، معصومه عشریه (MSc)[۱]

۱-گروه زیست سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران
۲-گروه زیست سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر
۳-گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل

دریافت: ۹۳/۷/۱۵، اصلاح: ۹۳/۱۱/۱۵ ، پذیرش: ۹۴/۲/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: نانوذرات مس در پزشکی، مکمل های غذایی و زمینه های صنعتی استفاده می شوند، اما سمیت بالقوه آنها برای سلامتی انسان و محیط زیست همچنان نامشخص است. هدف از این مطالعه بررسی اثر سمیت نانو ذره اکسید مس بر کلیه و قلب موش می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی،۴۲ موش سوری ماده بالغ ۳±۳۰ گرم به طور تصادفی به شش گروه کنترل، یک گروه شم و چهار گروه تجربی تقسیم شدند. موشهای گروه تجربی نانوذرات اکسید مس با غلظت های ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. بعد از کالبد شکافی، قلب و کلیه از موش جدا گردید و وزن آنها اندازه گیری شد. جهت بررسی هیستوپاتولوژی، بافت قلب و کلیه با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند.

یافته‌ها: وزن کلیه در گروههای کنترل و شم در مقایسه با گروههای تیمار با غلظت ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به ترتیب ۰/۰۲±۲۱، ۰/۰۲±۱۹، ۰/۰۲±۲۰ و ۰/۰۱±۲۲ کاهش یافت. در حالیکه هیچ تغییر معنی داری در وزن قلب مشاهده نشد. بررسی هیستوپاتولوژی کلیه و قلب پس از تزریق درون صفاقی نانوذره اکسید مس علائم سمیت سلولی شامل پرخونی، نکروز و ارتشاح سلولهای التهابی را نسبت به گروه کنترل نشان داد.

نتیجه گیری: یافته های این مطالعه نشان داد که نانو ذره اکسید مس سبب آسیب به بافت کلیه و قلب در مسیر وابسته به دوز می گردد.

واژه‌های کلیدی: نانو ذره اکسید مس، سمیت سلولی، موش سفید آزمایشگاهی، هیستوپاتولوژی، نکروز، ارتشاح سلولهای التهابی.

مقدمه

پیشرفتهای اخیر در زمینه نانوتکنولوژی بیان کننده آن است که نانوذرات اکسید فلز می توانند در زمینه های مختلف از کاتالیز و مواد نوری- الکترونیکی گرفته تا حسگرها، پاکسازی محیط و زیست پزشکی مورد استفاده قرار گیرند(۱). نانوذرات طبقه ای از مواد با ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارای ویژگی های خاص شیمیایی و فیزیکی از نظر اندازه، شکل، نسبت بالای سطح به حجم، انحلال پذیری و فعالیت بیشتر و توانایی نفوذ به غشا سلولی می باشند (۲). گاهی اندازه آنها کوچکتر و یا در حد ساختارهای سلولی، ویروس، پروتئین و یا یک ژن می باشد. ذرات نانو اگرچه فواید زیادی دارند، اما می توانند دارای خطرات احتمالی نیز باشند، بنابراین باید مسائل مرتبط با ایمنی و خطرات احتمالی همراه با آنها را نیز در نظرگرفت. این ذرات از گرده های گل گیاهان و مواد حساسیت زای معمولی نیز کوچک تر هستند و می توانند سبب واکنش های ازدیاد حساسیت شوند (۳). برخی نانوذرات ممکن است به سادگی همراه با تنفس به بافت حساس ریه وارد شوند و آسیب‌هایی را باعث شوند که می تواند منجر به مشکلات مزمن تنفسی گردد (۴و۵). از این رو در استفاده از نانوذره ها باید به سمیت آنها توجه نمود زیرا استنشاق این ترکیبات می تواند با پاسخ هایی هم چون التهاب مزمن و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن همراه باشد (۳). تحقیقات نشان داده شده که برخی از نانو ذرات منجر به بروز فیبروز، التهاب و تومور می شوند (۶و۳). نانوذرات دارای قابلیت و توانایی ورود، جابجایی در درون و آسیب به موجودات زنده می باشد (۷). این توانایی، عمدتا نتیجه اندازه کوچک آنهاست، که به آنها به منظور نفوذ به موانع فیزیولوژیک و سیر در داخل سیستم گردش خون میزبان اجازه می دهد (۸). برخی از نانوذرات همانند ویروسها می توانند به ریه و یا موانع پوستی (پوست) نفوذ کنند و به گردش خون و سیستم لنفاوی انسان و حیوانات وارد شوند، به بیشتر بافتهای بدن و اندام ها برسند، و به طور بالقوه در فرآیندهای سلولی اختلال ایجاد کنند و موجب بیماری شوند (۱۰و۹). مس سومین عنصر کمیاب فراوان بعد از روی و آهن در بدن انسان می باشد. یک کاتیون بسیار موثر در واکنشهای انتقال الکترون و اتصال به مولکولهای آلی می باشد مس برای تنفس سلولی، تنظیم نوروترانسمیتر، سنتز کلاژن، متابولیسم مواد تغذیه ای به ویژه آهن ضروری است و همچنین به عنوان آنتی اکسیدان علیه رادیکال های

▣ این مقاله حاصل پایان نامه نجمه بریمانی دانشجوی کارشناسی ارشد تکوین جانوری دانشگاه آزاد واحد قائم شهر می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر باقر سید علیپور
آدرس: بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست سلولی و مولکولی. تلفن:۳۵۲۰۲۴۵۰ -۰۱۱
E-mail: b.alipour81@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.6.5]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.44]

آزاد عمل می نماید. مس در تمام سلولهای زنده وجود دارد واکثراً به عنوان یک جزو آنزیم های مس دار و پروتئینهای مس دار عمل می نماید. در سنتز کلاژن والاستین در بافت پیوندی به آنزیم های حاوی مس از جمله لیزیل اکسیداز نیازاست (۱۱). در مورد نانوذرات اکسید مس به عنوان نماینده کاربرد صنعتی نشان داده شده است که تأثیرات منفی بر بقاء و رشد موجودات زنده دارند (۱۲). مطالعات ارزیابی سمیت نانوذرات CuO نشان داد که تزریق درون نائی در دوز های بالا تغییرات التهابی بسیار حاد و در دوز های پایین به دنبال تزریق مکرر تغییرات مزمن را در ریه موش صحرائی القاء می کند (۱۳). سمیت نانوذره اکسید مس مرتبط با انحلال پذیری می باشد که وابسته به دما و pH محلول می باشد. نانو ذره اکسید مس در pH ۹ تا ۱۱ تاثیر کمی در انحلال پذیری در دمای محیط دارد و حداقل سمیت را نشان می دهد در حالیکه تغییر یک واحد pH باعث افزایش شدید سمیت می شود (۱۴). نانوذرات با تولید ROS و القاء استرس اکسیداتیو باعث ایجاد سمیت می شوند که مهمترین مکانیزم ایجاد سمیت بوسیله نانوذرات می باشد. در موجودات زنده، Cu یکی از عناصر ضروری برای حفظ هموستاز می باشد. یونهای Cu زمانی که از آستانه تحمل فیزیولوژیکی موجود زنده تجاوز کنند، ممکن است باعث سمیت شوند. بنابراین، تأثیر در سلامتی و سمیت احتمالی نانوذرات CuO باعث نگرانی شدید عموم مردم و محققان شده است (۱۶و۱۵). از این رو با توجه به اینکه پژوهشها در مورد اثرات نانوذرات بر بافت های بدن به دلیل تفاوت در توزیع، نفوذ، آسیب بافتی و اندازه نانوذره اندک و متناقص است. با بررسی مطالعات گذشته به نظر می رسد تاکنون مطالعه اثر نانوذره اکسید مس با اندازه ۲۰ نانومتر بر قلب و کلیه موش سفید آزمایشگاهی صورت نگرفته است. لذا این مطالعه با هدف بررسی تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بافت کلیه و قلب موش انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی موش های سفید آزمایشگاهی که از انیستیتو پاستور آمل خریداری شد، انجام گردید و حیوانات به حیوان خانه منتقل و نگهداری شدند. نانوذره اکسید مس مورد استفاده در این آزمایش از شرکت نانوسونی (Company, Mashhad, Iran Nanosany) تهیه شد که به شکل پودر سیاه رنگی با ذراتی به ابعاد ۲۰ نانومتر، درصد خلوص ۹۹ ٪، سطح ویژه ۲۵ m^2/g و چگالی واقعی ۶/۴ g/m^3 می باشد. در این آزمایش از موشهای بالغ نر و ماده با دامنه وزنی ۳±۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۲±۲۳ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. ۴۲ سرموش سوری ماده با میانگین سنی ۸-۷ هفته جهت شروع مراحل اصلی آزمایش انتخاب شدند و در ۶ گروه ۷ تایی به صورت تصادفی قرار گرفتند.

گروه ها شامل یک گروه کنترل، یک گروه شم و چهار گروه تجربی بودند. مقدار مورد نیاز از پودر نانو اکسید مس در درون ویال با مقدار معینی از آب مقطر استریل دوبار تقطیر مخلوط شد و سپس ویال به مدت چند دقیقه ورتکس شد تا محتویات آن به خوبی حل شود. سپس محلول سیاه رنگ را با سرنگ انسولینی کشیده و به حیوان تزریق گردید. برای مشخص کردن اینکه چه مقدار از نانو اکسید مس باید مورد استفاده قرار گیرد LD_{50} باید تعیین شود که در ابتدای آزمایش ضروری می باشد زیرا باید از کمترین حد کشندگی برای تزریق به جانور استفاده شود (۱۷). بر اساس پایلوت های انجام گرفته قبل از شروع کار و بررسی های دوز- پاسخ به عمل آمده، LD_{50} برای نانواکسید مس با اندازه ۲۰ نانومتر به میزان ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم محاسبه گردید. در این مطالعه از زیر حد دوز خطرناک شامل دوز های ۳۰۰،۴۰۰،۵۰۰ و۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. به گروه های تیمار، نانو ذره اکسید مس با غلظتهای ۳۰۰،۴۰۰،۵۰۰ و۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با حجم ۰/۴ میلی لیتر و با سرنگ انسولین تزریق گردید و به گروه شم ۰/۴ میلی لیترآب مقطر تزریق گردید.

بررسی هیستوپاتولوژی: جهت بررسی هیستوپاتولوژی موشها با روش جابجایی مهره گردنی کشته و کالبد شکافی شدند. سپس قلب و کلیه از موشها خارج گردید و قبل از فیکس کردن وزن قلب و کلیه توسط ترازوی دیجیتال اندازه گیری شد. برای ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژی، قلب و کلیه در درون شیشه های محتوی محلول بوئن تثبیت شدند. سپس مراحل پاساژ بافتی، تهیه بلوکه پارافینی و تهیه برشهای ۵ میکرونی توسط میکروتوم (Leitz,Germany ۱۵۱۲) انجام شد و با روش هماتوکسیلین_ائوزین رنگ آمیزی شدند. سپس نمونه های بافتی تحت مطالعات میکروسکوپی و هیستوپاتولوژیکی قرار گرفتند.

آنالیز آماری: نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آماری Anova و تست تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج بررسی اثر نانوذره اکسید مس با اندازه۲۰ نانومتر بصورت تزریق درون صفاقی به موش سفید آزمایشگاهی نشان داد که میانگین تغییرات وزن قلب گروه کنترل، شم و گروه های تیمار معنی دار نبوده است. بطوریکه میانگین وزن قلب در گروه های تیمار با غلظت های ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ به ترتیب برابر ۰/۲۶±۰/۰۹، ۰/۲۶±۰/۰۴ و ۰/۲۵±۰/۰۵ بوده که نسبت به کنترل افزایش یافت. (جدول ۱). میانگین تغییرات وزن کلیه گروه کنترل و شم در مقایسه با گروه‌های تیمار معنی دار می باشد. میانگین وزن کلیه در گروه‌های تیمار با غلظتهای ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ به ترتیب برابر۰/۲۱±۰/۰۲، ۰/۱۹±۰/۰۲ و ۰/۲۰±۰/۰۲ و ۰/۲۲±۰/۰۱ می باشد که نسبت به کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($p<۰/۰۱$).

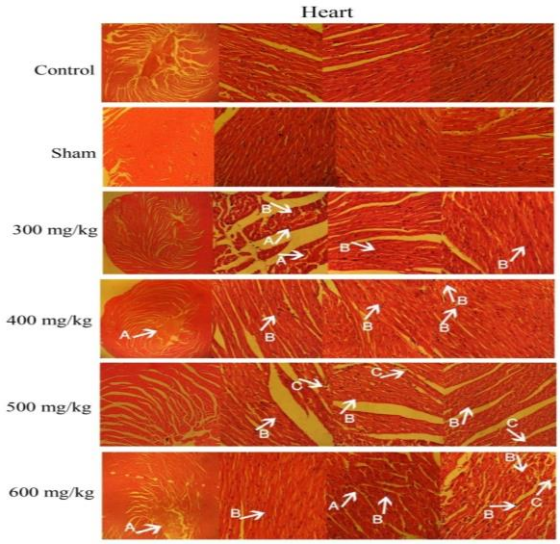
جدول ۱. مقایسه میانگین وزن قلب و کلیه موشهای سفید آزمایشگاهی پس از تیمار با غلظت های مختلف نانوذره اکسید مس

وزن (گرم) / گروه ها	قلب	کلیه
کنترل	۰/۲۳±۰/۰۴[a]	۰/۲۴±۰/۰۱ [a]
گروه شم	۰/۲۴±۰/۰۴ [a]	۰/۲۳±۰/۰۲ [a]
۳۰۰ mg/kg	۰/۲۶±۰/۰۹ [a]	۰/۲۱±۰/۰۲ [b]
۴۰۰ mg/kg	۰/۲۶±۰/۰۴ [a]	۰/۱۹±۰/۰۲ [b]
۵۰۰ mg/kg	۰/۲۵±۰/۰۵ [a]	۰/۲۰±۰/۰۲ [b]
۶۰۰mg/kg	۰/۲۱±۰/۰۵ [a]	۰/۲۲±۰/۰۱ [b]

میانگین‌ها با کد حرف‌های متفاوت در هر ردیف، دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن می باشند

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.6.5]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.44]

آسیب شناسی بافتی قلب در موشهای گروه شاهد و شم هیچ گونه تغییر پاتولوژیک قابل ملاحظه ای را نشان نداد. آسیب شناسی بافت قلب در گروه تیمار با دوز ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نانوذره، طیفی از تغییرات پاتولوژیک از جمله پرخونی، نکروز و اینفیلترشن سلولهای آماسی بصورت خفیف (mild) نشان داد (شکل۱ و جدول۲). آسیب شناسی بافتی قلب در گروه تیمار با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تغییرات پاتولوژی بصورت خفیف برای پر خونی مشاهده شد در حالیکه برای نکروز و اینفیلتریشن سلول های آماسی بصورت ملایم (moderate) مشاهده شد. در دوز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نانوذره اکسید مس، تغییرات پاتولوژیک بافت قلب با افزایش دوز بیشتر شده بطوریکه آسیب ها با شدت بیشتری دیده شد (خفیف به ملایم) (شکل۱ و جدول ۲). نتایج مطالعه هیستوپاتولوژی بر روی موش سفید آزمایشگاهی نشان داد که نانوذره اکسید مس با غلظتهای مختلف بر روی کلیه اثر گذاشت و باعث پر خونی، نکروز، اینفیلتریشن سلولهای آماسی و دژنرسانس واکوئلی شد (شکل۲).



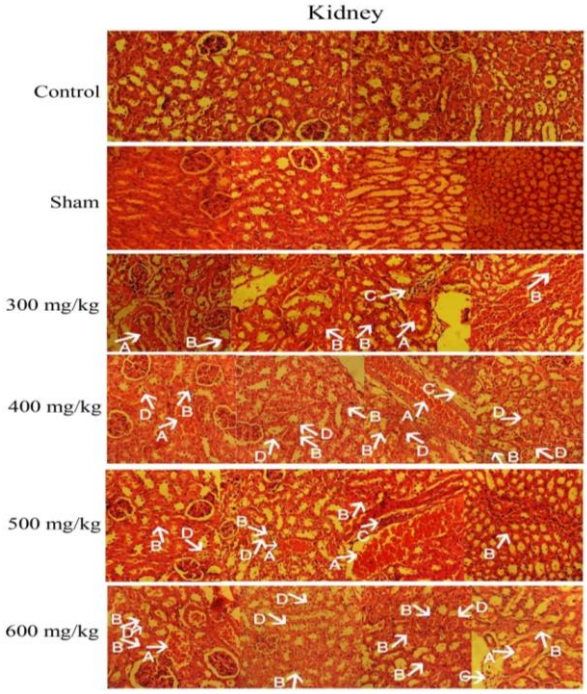
شکل۱. مقاطع بافتی قلب موش سفید آزمایشگاهی بعد از مواجهه با غلظتهای مختلف نانوذره اکسید مس. رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین. بزرگنمایی 4X, 40X. A: پرخونی، B: نکروز، C: اینفیلتریشن سلول های آماسی

جدول ۲. مقایسه شدت تغییرات هیستوپاتولوژیک قلب بعد از مواجهه با دوز های مختلف نانوذره اکسید مس

غلظتها / گروه ها	نکروز	پرخونی	اینفیلتریشن سلولهای آماسی
گروه کنترل	–	–	–
گروه شم	–	–	–
mg/kg۳۰۰	+	+	+
mg/kg۴۰۰	+	+	+
mg/kg۵۰۰	++	+	++
mg/kg۶۰۰	++	++	++

– عدم مشاهده تغییرات بافتی(ساختار طبیعی)، + آسیب خفیف (mild)، ++ آسیب ملایم (moderate)،+++ آسیب شدید (severe)

درگروه شاهد و شم هیچگونه تغییر پاتولوژیک قابل ملاحظه ای دیده نشد. در دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نکروزه شدن بافت کلیه بصورت خفیف مشاهده شد ولی پرخونی و ارتشاح سلول های آماسی بصورت ملایم مشاهده گردید. در دوز ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پرخونی، نکروز و ارتشاح سلولهای آماسی بصورت ملایم و دژنرسانس واکوئلی بصورت خفیف مشاهده شد. با افزایش غلظت نانوذره اکسید مس تغییرات پاتولوژیک بافت کلیه بیشتر شده بطوریکه در دوز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم علاوه بر پرخونی و ارتشاح سلول های آماسی بصورت خفیف، نکروز شدید و همچنین آسیب ها ی دیگری شامل کست هیالین و دژنرسانس واکوئلی هم مشاهده شد(جدول ۳).



شکل ۲. مقاطع بافتی کلیه موش سفید آزمایشگاهی بعد از مواجهه با غلظتای مختلف نانوذره اکسید مس. رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی4X, 40X. A: پرخونی، B: نکروز، C: اینفیلتریشن سلول های آماسی D: دژنرسانس واکوئلی

جدول ۳. مقایسه شدت تغییرات هیستوپاتولوژیک کلیه بعد از مواجهه با دوز های مختلف نانوذره اکسید مس

غلظت ها / گروه ها	اینفیلتریشن سلولهای آماسی	نکروز	پرخونی	کست هیالین	دژنرسانس واکوئلی
گروه کنترل	–	–	–	–	–
گروه شم	–	–	–	–	–
mg/kg۳۰۰	++	+	++	-	–
mg/kg۴۰۰	++	++	++	–	+
mg/kg۵۰۰	++	++	++	–	+
mg/kg۶۰۰	++	+++	++	+	++

– عدم مشاهده تغییرات بافتی(ساختار طبیعی)، + آسیب خفیف (mild)، ++ آسیب ملایم (moderate)،+++ آسیب شدید (severe)

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.6.5]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.44]

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از بررسی آسیب های هیستوپاتولوژیک بافت قلب و کلیه با تزریق نانوذره اکسید مس، طیف متفاوتی از آسیب های بافتی را با افزایش غلظت نشان داد. نتایج مطالعه هیستولوژی نشان داد که قرار گرفتن در معرض نانوذره اکسید مس در غلظت های مختلف منجر به تغییرات شدید پاتولوژیکی قلب شامل پرخونی عروق، نکروز و ارتشاح سلولهای آماسی می شود و در غلظتهای ۴۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عروق خونی حجیم و پر از گلبول قرمز شده و فضای زیادی را اشغال می کند، همچنین پر خونی، نکروز و ارتشاح سلولهای آماسی در مقایسه با گروه کنترل و شم بصورت خفیف (mild) مشاهده شد. با افزایش غلظت این آسیبهای بافتی بیشتر شده (خفیف به ملایم) که بیانگر آن است که سمیت نانو اکسید مس در غلظتهای بالا بیشتر و در نتیجه آسیبهای بافتی شدیدتر می باشد. اندازه نانوذرات ارتباط مستقیم با بسیاری از ویژگی ها از جمله ویژگی سطح، انحلال پذیری و واکنش پذیری دارند که می توانند رفتارهای سمیت نانو ذره را در موجود زنده تحت تأثیر قرار دهند(۱۸). بنابراین کاهش اندازه منجر به افزایش مساحت سطح ویژه نانوذرات می شود که نه تنها تجمع نانوذرات را افزایش می دهد، بلکه باعث افزایش واکنش پذیری و میانکنشهای بین نانوذرات و زیست مولکولها می شود. بررسی ما نشان داد نانو اکسید مس در دوز های بالا با تجمع خود باعث ممانعت از رشد و تکثیر سلولها و با اثرات سمی منجر به پرخونی، اینفیلتریشن و نکروزه شدن بافت قلب می گردد. در راستای نتایج حاصل از مطالعه ما، Naghsh و همکاران سمیت نانوذره نقره بر بافت قلب مو ش نژاد ویستار مورد ارزیابی قرار دادند و تغییرات بافتی و شروع آپوپتوز را در بافت قلب گزارش کردند (۱۹). مطالعه ما نشان داد میانگین وزن قلب در گروه های تیمار نسبت به کنترل افزایش پیدا کرد اما این تغییرات معنی دار نبود. میانگین وزن کلیه در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل و شم کاهش پیدا کرد. این تغییرات نشان دهنده اثر نانوذره اکسید مس در غلظتهای مختلف بر وزن کلیه می باشد. در همین راستا، Lasagnn-Reeves و همکاران نشان دادند عمده نانوذرات به دنبال تجویز و ورود به گردش خون توسط کبد و طحال برداشته می شوند و بافت‌های کلیه و قلب در مراحل بعدی از نظر تجمع بافتی نانوذرات قرار دارند(۲۰). Liu و همکاران گزارش کردند تجویز نانوذره اکسید مس با قطر ۲۵ نانومتر ی باعث افزایش وزن قلب و کاهش وزن کلیه گردید که با نتا یج ما همخونی دارد(۲۱). ارزیابی آسیب و ضایعات هیستوپاتولوژیک نشان داد که نانو ذره اکسید مس در غلظتهای مختلف باعث آسیب های متفاوتی به بافت کلیه شده بطوریکه در غلظتهای مختلف نانوذره اکسید مس پرخونی عروق، نکروز، اینفیلتریشن سلولهای آماسی، کست هیالین و دژنرسانس واکوئلی مشاهده شد. در این مطالعه در تمام غلظتها نانوذره اکسید مس پرخونی در کلیه نسبت به کنترل و شم بصورت ملایم مشاهده شد. قرار گرفتن در معرض نانوذرات اکسید مس باعث نکروز بافتی شد بطوریکه در غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم نکروزه شدن بصورت خفیف بوده ولی با افزایش غلظت تخریب و نکروزه شدن بیشتری در مقایسه با کنترل در بافت کلیه مشاهده شد.

در بررسی آسیب و ضایعات هیستوپاتولوژیک کلیه وجود ساختارهای واکوئل مانند که به صورت حفره حفره درآمده اند دیده شد که نشان دهنده دژنرسانس واکوئلی می باشد. به صورتیکه در غلظت ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با کنترل آین آسیب بصورت خفیف می باشد و با افزایش غلظت این آسیب بیشتر شده بطوریکه در غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تغییرات پاتوبیولوژیکی بیشتری مشاهده شد که نشان دهنده سمیت نانواکسید مس و ضایعات وارده وابسته به دوز می باشد. Chen و همکارانش گزارش کردند نانو ذره اکسید مس در دوزهای مختلف باعث تغییرات ساختاری و پاتوبیولوژیکی بر روی کلیه و می گردد که با یافته های ما در این پژوهش همخوانی و مطابقت دارد و هچنین سمیت نانوذرات مس برای بافتهای معده و کلیه از طریق افزایش H^+ و تولید زیاد HCO_3^- به وجود می آید (۲۲). بنابراین در مورد نانوذرات اکسیدفلز، مویرگهای خونی و بافت لنفی نقشهای مهمی را در قابلیت جذب ایفا می کنند و نانو ذرات وارد شده به مویرگهای خونی یا بافت لنفی ممکن است به دیگر اندامهائی که در آنها تجمع می یابند، حمل شوند. Meena و همکارانش نشان دادند که نانوذرات به واسطه استرس اکسیداتیو باعث آپوپتوز سلول در کلیه می شود (۲۳).

همچنین بررسی ما نشان داد در غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم علاوه بر آسیبهای ذکر شده کست هیالین (وجود ترکیبات پروتئینی در لومن یا وسط لوله های ادراری، عدم فیلتراسیون صحیح و دفع پروتئین) در ساختار ادراری نیز مشاهده می شود که این نشانه نا کارآمدی ساختار ادراری (گلومرو لی و لوله ادراری) می باشد. نتایج ما نشان داد بعد از دو بار تزریق غلظت های مختلف نانوذره اکسید مس به صورت درون صفاقی تغییرات هیستولوژی عمده ای درقلب و کلیه موش مشاهده شد. این یافته ها نشان دهنده عبور نانوذرات از غشاء سلولی مختلف، ورود آن به جریان خون و در نهایت ورود به قلب و کلیه می باشد. در ضمن تغییرات وزن کلیه و قلب و همچنین اختلالات بافتی در این اندام ها می تواند بیانگر اثر سمی نانوذرات اکسید مس در مدت زمان آزمایش با غلظت های فوق باشد. با توجه به مکانیزم سمیت نانوذره اکسید مس که وابسته با میانکنش نانوذره با زیست مولکولها، تولید ROS و القاء استرس اکسیداتیو می باشد. با افزایش تولید ROS، نانوذرات می تواند باعث تخریب DNA، افزایش بیان ژن گیرنده مرگ، جهش های نقطه ای DNA یا القاء شکست تک یا دو زنجیره ای DNA و اختلال عملکرد میتوکندری و مرگ سلول شوند (۲۷-۲۴). همچنین دوز های بالا نانو ذره اکسید مس باعث نکروزه شدن بافت کبد و کلیه نسبت به دوز پایین می شود که این نتایج یافته های ما را در ارتباط با نکروزه شدن بافت کلیه در غلظت بالا با شدت بیشتر حمایت می کند. بنابراین مطالعات هیستوپاتولوژی بررسی حاضر، آسیب های قابل توجهی را در بافت قلب و کلیه های موشهای تیمار شده با نانوذره اکسید مس ۲۰ نانومتری نشان داد و این نتایج می تواند زمینه ای برای بررسی ها و مطالعات جامع تر با غلظت ها و زمانهای متفاوت باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقای افخمی که در آنالیز آماری و کارشناس آزمایشگاه آقای مجید قاسمی و خانم پورقلی که در تهیه نمونه ها و بافت ها ما را یاری نمودند تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.6.5]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.44]

Histopathological Evaluation of Kidney and Heart Tissues after Exposure to Copper Oxide Nanoparticles in Mus musculus

B. Seyedalipour (PhD) *[1], N. Barimani (MSc)[2], A. Dehpour Jooybari (PhD)[2], S.M. Hoseini (PhD)[3], M. Oshrieh (MSc)[1]

1.Department of Cellular and Molecular Biology, faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R.Iran
2.Department of Cellular and Molecular Biology, Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Qaemshahr, I.R.Iran
3.Department of veterinary pathobiology, faculty of veterinary medicine, Islamic Azad University, Babol branch, Babol, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(7); Jul 2015; PP: 44-50
Received: Oct 7th 2014, Revised: Feb 4th 2015, Accepted: May 6th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Copper nanoparticles are being extensively used in medical sciences, food supplements and industrial fields. However, their potential toxic effects on human health and the environment remain undetermined. The purpose of this study was to evaluate the toxic effects of copper oxide nanoparticles on kidney and heart tissues of mice.

METHODS: In this experimental study, 42 adult female mice, weighing 30±3 g, were randomly divided into control, sham and four experimental groups. The mice in the experimental groups intraperitoneally received copper oxide nanoparticles with doses of 300, 400, 500 and 600 mg/kg. After autopsy, the hearts and kidneys of mice were separated and weighed. For histopathological examinations, heart and kidney tissues were stained with hematoxylin and eosin.

FINDINGS: Kidney weight in control and sham groups, compared to experimental groups receiving nanoparticle doses of 300, 400, 500 and 600 mg/kg, reduced to 21±0.02, 19±0.02, 20±0.02 and 22±0.01 g, respectively, while no significant changes were observed in the heart weight. Histopathological examination of kidney and heart after the intraperitoneal injection of copper oxide nanoparticles showed signs of cytotoxicity including congestion, necrosis and inflammatory cell infiltration, compared to the control group.

CONCLUSION: The findings of this study showed that copper oxide nanoparticles cause damage to the kidney and heart in a dose-dependent way.

KEY WORDS: *Copper Oxide Nanoparticles, Cytotoxicity, Mus musculus, Histopathology, Necrosis, Inflammatory Cell Infiltration.*

Please cite this article as follows:

Seyedalipour B, Barimani N, Dehpour Jooybari A, Hoseini SM, Oshrieh M. Histopathological Evaluation of Kidney and Heart Tissues after Exposure to Copper Oxide Nanoparticles in Mus musculus. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(7):44-50.

***Corresponding Author: B. Seyedalipour (PhD)**
Address: Department of Cellular and Molecular Biology, faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R.Iran
Tel: +98 11 35202450
Email: b.alipour81@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.6.5]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.44]

References

1. Chang YN, Zhang M, Xia L, Zhang J, Xing G. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. Materials. 2012; 5(12):2850-71.

2. De Jong WH, Hagens WI, Krystek P, Burger MC, Sips AJ, Geertsma RE. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. Biomaterials. 2008;29(12):1912-9.

3. Borm PJ, Kreyling W. Toxicological hazards of inhaled nanoparticles: Potential implications for drug delivery. J Nanosci Nanotechnol. 2004;4(5):521-31.

4. Scheringer M. Nanoecotoxicology: environmental risks of nanomaterials. Nat Nanotechnol. 2008;3(6):322-3.

5. Martin C R, Kohli P. The emerging field of nanotube biotechnology. Natu Rev Drug Discov. 2003;2(1):29-37.

6. Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environ Health Perspect. 2005;113(7):823-39.

7.Laberty-Robert C, Long JW, Lucas EM, Pettigrew KA, Stroud RM, Doescher MS, et al. Sol-gel-derived ceria nanoarchitectures: synthesis, characterization and electrical. Chem Mater. 2006;18(1):50-8.

8. Sampson EJ, Whitner VS, Burtis CA, McKneally SS, Fast DM, Bayse DD. An interlaboratory evaluation of the IFCC method for aspartate aminotransferase with use of purified enzyme materials. Clin Chem. 1980;26(8):1156-64.

9. Jani P, Halbert GW, Langridge J, Florence AT. Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. J Pharm Pharmacol. 1990;42(12):821-6.

10.Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. Science. 2006;311(5761):622-7.

11. Harris EP, Rayton JK, Balthrop JE, DiSilvestro RA, Garcia-de-Quevedo M. Copper and the ellastin and collagen. Ciba Found Symp. 1980;79:163-82.

12. Nations S, Wages M, Canas J, Maul JD, Theodorakis C, Cobb GP. Acute effects of Fe2O3, TiO_2, ZnO and CuO nanomaterials on Xenopus laevis. Chemosphere. 2011;83(8):1053-61.

13.Chakrabarti S, Dutta BK. Photocatalytic degradation of model textile dyes in wastewater using ZnO as semiconductor catalyst. J Hazard Mater. 2004;112(3):269-78.

14. Palmer DA, Bénézeth P, Simonson JM. Solubility of copper oxides in water and steam. 14th International Conference on the Properties of Water and Steam, Kyoto, Japan; 2004.p.491-6.

15. Kwon JT, Hwang SK, Jin H, Kim DS, Minai-Tehrani A, Yoon HJ, et al. Body distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice. J Occup Health. 2008;50(1):1-6.

16. Warheit DB, Hoke RA, Finlay C, Donner EM, Reed KL, Sayes CM. Development of a base set of toxicity tests using ultrafine tio2 as a component of nanoparticle risk management. Toxicol Lett. 2007;171(3):99-110.

17. Colvin VL. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. Nat Biotechnol. 2003;21(10):1166-70.

18.Zhao Y, Meng H, Chen Z, Feng Z, Chai Z. Dependence of nanotoxicity on nanoscale characteristics and strategies for reducing and eliminating nanotoxicity. In Nanotoxicology; Zhao Y, Singh, NH, Eds. USA: Valencia, CA :Am Sci Pub; 2007.p.265-80.

19. Naghsh N, Mashayekh AM, Khodadadi S. Effects of silver nanoparticle on lactate dehydrogenase activity and histological changes of heart tissue in male wistar rats. J Fasa Univ Med Sci. 2013;2(4):303-7. [In Persian]

20. Lasagna- Reeves C, Gonzalez-Romero D, Barria MA, Olmedo I, Clos A, Sadagopa Ramanuiam VM, et al. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. Biochem Biophys Res Commun. 2010;393(4):649-55.

21. Liu Y, Gao Y, Zhang L, Wang T, Wang J, Jiao F, et al. Potential health impact on mice after nasal instillation of nano-sized copper particles and their translocation in mice. J Nanosci Nanotechnol. 2009;9(11):6335-43

22. Chen Z, Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G, et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. Toxicol Lett. 2006;163(2):109-20.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.6.5]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.44]

23. Meena R, Paulraja R. Oxidative stress mediated cytotoxicity of TiO2 nano anatase in liver and kidney of Wistar rat. Toxicol Environ Chem. 2012:94(1);146-63.
24. Toduka Y, Toyooka T, Ibuki Y. Flow cytometric evaluation of nanoparticles using side-scattered light and reactive oxygen species mediated fluorescence correlation with genotoxicity. Environ Sci Technol. 2012:46(14);7629-36.
25. Nohl H, Gille L. Lysosomal ROS formation. Redox Rep. 2005:10(4); 199-205.
26. Zhang DX. Gutterman DD. Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007:292(5); H2023-31.
27. Yang H, Liu C, Yang DF, Zhang HS, Xi Z. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: The role of particle size, shape and composition. J Appl Toxicol. 2009:29(1);69-78.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.6.5]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.44]