

بررسی اثر سمی نانونقره بر گلبول قرمز خون و بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- **سمانه معصومی**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- **شهبلا جمیلی**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- **حسن نیک‌نژاد**: مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی پزشکی و مهندسی بافت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
- **علی ماشینیان**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۲

چکیده

تحقیق فعلی با هدف اثر سمی نانونقره بر گلبول قرمز خون و بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از نانونقره با اندازه‌های ۱۰-۵۰ نانومتر و با غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر استفاده شد. در روش Neutral Red Retention Assay (NRR)، تغییرات سلولی با استفاده از میکروسکوپ نوری در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از افزودن (NR) Neutral Red به گلبول قرمز و هم‌چنین تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کبد با استفاده از میکروسکوپ مجهز به دوربین فیلم‌برداری و رایانه در مقایسه با گروه شاهد انجام شد و نتایج ثبت گردید. نتایج به‌دست آمده از آزمایشات نشان داد که در غلظت ۱۰ میکروگرم بر لیتر، اثر سمی نانونقره پس از افزودن NR بر گلبول قرمز خون مشاهده نشد اما در غلظت ۲۵ میکروگرم بر لیتر، تغییراتی مبنی بر تخریب سلولی دیده شد که با تغییر غلظت از ۲۵ به ۵۰ میکروگرم بر لیتر تخریب سلول گلبول قرمز خون افزایش یافت به طوری که در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر، لیز کامل سلولی دیده شد. در بررسی اثر نانونقره با غلظت ۱۰ میکروگرم بر لیتر بر بافت کبد ماهی کپور معمولی اثر سمی نسبتاً خفیفی دیده شد و با تغییر غلظت نانونقره از ۱۰ به ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر، منجر به افزایش نسبی ضایعات سلولی در کبد شد. براساس یافته‌های این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت، شدت اثرات سمی نانونقره بر گلبول قرمز خون و بافت کبد ماهی کپور معمولی رابطه مستقیم با افزایش غلظت نانونقره و مدت زمان مواجهه با آن دارد.

کلمات کلیدی: (NR) Neutral Red، NRR، نانونقره، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)



مقدمه

می‌توان به غلظت نقره موجود در محیط، سن، میزان اکسیژن محلول و ... اشاره کرد (Presley و همکاران، ۱۹۹۰).

Kim و همکاران جذب نانو ذرات نقره را در موش پس از وارد شدن از طریق دهان مورد بررسی قرار دادند که بیشترین میزان انباشت نانو ذرات نقره را به ترتیب در معده، کبد، کلیه، شش، مغز و خون مشاهده کردند (kim و همکاران، ۲۰۰۸). از اثرات مسمومیت نانونقره می‌توان به تغییرات فیزیولوژیکی مانند Degeneration اعضاء بدن و افزایش مرگ و میر و قدرت کم در تخم‌گذاری و تاخیر در hatching هم‌چنین نواقص فنوتایپیک زیر سطح کشنده، اختلال عملکرد فیزیولوژیک در جنین مهره‌داران، اثرات سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک اشاره کرد (Farkas و همکاران، ۲۰۱۱؛ Farkas و همکاران، ۲۰۱۰؛ Laban و همکاران، ۲۰۱۰؛ Ringwood و همکاران، ۲۰۱۰؛ Wu و همکاران، ۲۰۱۰؛ Arora و همکاران، ۲۰۰۹؛ Arora و همکاران، ۲۰۰۸؛ Asharani و همکاران، ۲۰۰۸؛ Carlson و همکاران، ۲۰۰۸؛ lee و همکاران، ۲۰۰۷؛ Hussain و همکاران، ۲۰۰۵).

در تحقیقی که روی Nereis انجام شد محققان اثر سمیت نانو نقره را روی Nereis بررسی کردند و نتایج به این صورت بوده که این اثر سمیت در بعضی از آن‌ها باعث مرگ شده اما نکته قابل توجه این است که این اثر concentrated-dependent (وابسته به غلظت) نبوده اما آسیب به DNA وابسته به غلظت بوده پس نتیجه گرفتند که ژنوتوکسیسیته و افزایش سوخت و ساز وابسته به غلظت بوده است (Yi و همکاران، ۲۰۱۱).

مواد و روش‌ها

براساس در این تحقیق که در سال ۱۳۹۲ صورت گرفت، تعداد ۳۰۰ عدد بچه‌ماهی کپور معمولی به طول تقریبی ۸ سانتی‌متر و وزن ۱۲ گرم از مرکز پرورش ماهی شهید انصاری واقع در شهر رشت خریداری و به آزمایشگاه ذکریای رازی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل شد. تعداد ۳ عدد سطل‌های درب‌دار ۷۰ لیتری به‌همراه ۱ سطل شاهد، از آب پر و بعد سنگ هوا در آن قرار داده شد. در این آزمایش، نانونقره با اندازه تقریبی ۱۰-۵۰ نانومتر از شرکت سیگما خریداری شد. غلظت‌های به‌کار رفته در این تحقیق ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر بود که برای این غلظت‌ها از سطل ۷۰ لیتری استفاده شد که در هر برنامه کاری تعداد ۳۰ عدد از ماهی‌های مورد بررسی برای مدت زمان ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت در مخزن آب مجهز به پمپ هوا (برای

نانو نقره یکی از موادی است که از طریق فناوری نانو تولید می‌شود و دارای خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای است و در صنایعی از قبیل فیلترهای آب، لوازم بهداشتی و پزشکی و ... کاربرد دارد که به سهولت به محیط آبی وارد می‌شود و در صورت داشتن خواص مضر به‌علت اندازه کوچکی که دارند ممکن است قادر به عبور از طریق غشای سلولی و یا سد خونی مغزی باشند و در صورت راه یافتن به بافت‌ها و اندام‌های بدن می‌توانند تهدیدی برای محیط زیست و به‌خصوص انسان به‌شمار آیند (Susan و همکاران، ۲۰۰۹؛ Lee و همکاران، ۲۰۰۷). هم‌چنین ماهیان از این نظر که واکنش آن‌ها به عوامل استرس‌زای بیوشیمیایی موجود در محیط آبی شبیه به پستانداران است به‌عنوان نشانگر زیستی و شاخص خوب آلودگی آب مطرح می‌باشد (Mishra، ۲۰۰۴). لذا مطالعه فعلی با هدف بررسی اثر سمی نانونقره بر روی گلبول قرمز خون و بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام گرفت.

لیزوزوم‌ها، وزیکول‌های سلولی حاوی آنزیم‌اند که خارج شدن آنزیم‌های این وزیکول‌ها منجر به نابودی سلول می‌شود و از طرفی میزان پایداری دیواره لیزوزومی تحت تأثیر استرس‌های محیطی متغیر است پس می‌توان پایداری دیواره لیزوزومی را یک نشانگر زیستی مفید برای سنجش سلامت موجودات دانست. (NRR) Neutral Red Retention Assay یکی از روش‌های مرسوم است که به‌طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد و در این تکنیک آزمایشگاهی محتوای لیزوزوم که به‌طور طبیعی اسیدی است به‌راحتی توسط رنگ Neutral Red (NR) جذب آن می‌شود و سپس با استفاده از میکروسکوپ در نقطه‌ای که رنگ NR از لیزوزوم سیتوزول سلول خارج شده، مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که در نتیجه هر قدر خارج شدن رنگ بیش‌تر باشد به همان نسبت لایه لیزوزوم آسیب بیش‌تری می‌بیند (Lowe و Pipe، ۱۹۹۴؛ Lowe و همکاران، ۱۹۹۲).

غلظت نانو مواد معلق می‌تواند تا مقدار ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر برسد اما به‌طور معمول در محدوده ۱۰ تا ۵۰ میکروگرم بر لیتر است. اما نانو موادی که اندازه کم‌تر از ۷۰ نانومتر دارند می‌توانند به‌وسیله سلول جذب شوند و حتی باعث آسیب‌های شدیدتری شوند. با توجه به این نکته، این اتفاق ممکن است به‌عنوان یک ویژگی مفید برای استفاده از نانو مواد به‌عنوان دارو و درمان بیماری‌های دیگر شود (CBEN، ۲۰۰۵؛ Li و همکاران، ۲۰۰۳). از عوامل مؤثر در جذب و تجمع نانونقره



نتایج

در مطالعه فعلی، با استفاده از نانوقره با غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر، در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت مواجهه ماهی‌ها با نانوقره و گرفتن خون از ماهی و اضافه کردن NR به خون، همه سلول‌های RBC پس از مدت زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه از نظر ظاهر سالم بودند و هیچ تغییرات مرفولوژیکی که حاکی از اثر سمی نانوقره باشد، مشاهده نشد (شکل ۱).

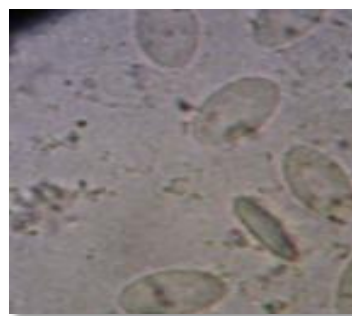
در غلظت ۲۵ میکروگرم در لیتر، در ۲۴ ساعت مواجهه ماهی‌ها با نانوقره، تا ۱۲۰ دقیقه پس از اضافه کردن NR به RBC سلول‌ها سالم بودند ولی از زمان ۱۵۰ تا ۱۸۰ دقیقه پس از اضافه کردن NR به RBC، تغییرات سلولی مبنی بر تخریب سلولی مشاهده گردید (شکل ۲a). در ۴۸ ساعت تخریب سلولی بیش‌تر و شدیدتر بوده است و در ۹۶ ساعت شدت تخریب سلولی همانند ۴۸ ساعت بوده است (شکل ۲b).



شکل ۱: در غلظت ۱۰ در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از مواجهه ماهی با نانوقره همه سلول‌ها سالم بودند.



b



A

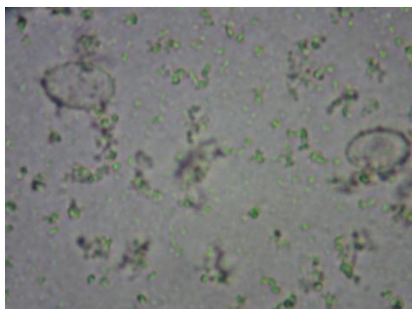
شکل ۲: تخریب سلولی در غلظت ۲۵ PPM در ۲۴ ساعت پس از مواجهه ماهی با نانوقره از زمان ۱۵۰-۱۸۰ دقیقه پس از اضافه شدن NR به RBC را نشان می‌دهد (a). افزایش تخریب سلولی در غلظت ۲۵ PPM در ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از مواجهه ماهی با نانوقره را نشان می‌دهد (b).



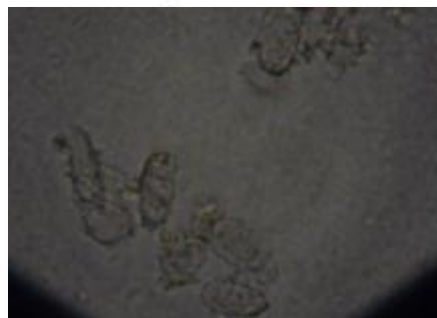
مشاهده شد. در زمان ۹۶ ساعت افزایش شدت لیز سلولی مشاهده شده است (شکل ۳d).

در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیتر، در ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از مواجهه با نانونقره لیز کامل سلول RBC دیده شد (شکل ۴).

در غلظت ۵۰ میکروگرم در لیتر، در زمان ۲۴ ساعت پس از مواجهه ماهی‌ها با نانونقره، افزایش زیاد تخریب سلولی مشاهده شد. همین‌طور پس از ۴۸ ساعت از مواجهه با نانونقره در زمان ۶۰ تا ۱۲۰ دقیقه بعد از اضافه کردن Neutral Red شدت تخریب سلولی رو به افزایش بوده (شکل ۳c) و در زمان ۱۵۰ تا ۱۸۰ دقیقه پس از اضافه شدن Neutral Red لیز

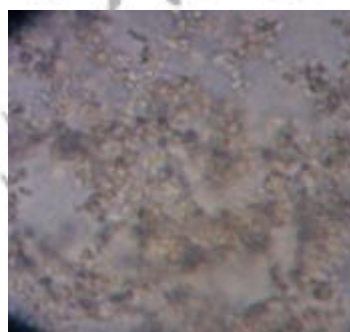


d



c

شکل ۳: افزایش زیاد تخریب سلولی در غلظت ۵۰ PPM در ۴۸ ساعت پس از مواجهه ماهی با نانونقره از زمان ۶۰-۱۲۰ دقیقه پس از اضافه شدن NR به RBC را نشان می‌دهد (c). لیز سلولی در غلظت ۵۰ PPM در ۴۸ ساعت پس از مواجهه ماهی با نانونقره از زمان ۱۵۰-۱۸۰ دقیقه پس از اضافه شدن NR به RBC را نشان می‌دهد (d).

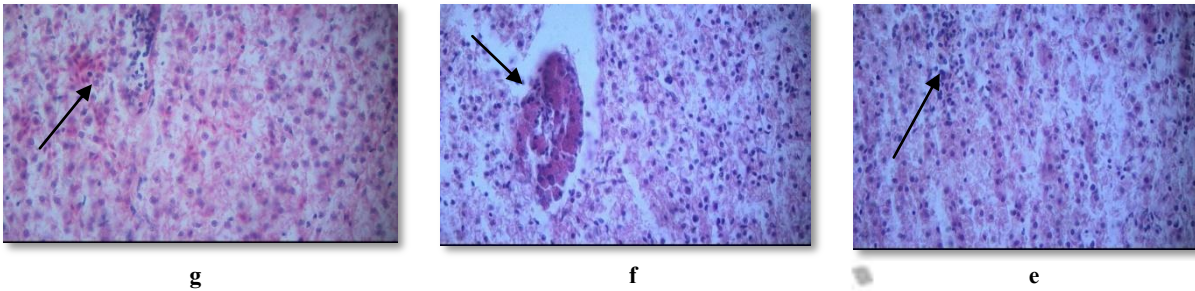


شکل ۴: لیز سلولی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیتر را نشان می‌دهد

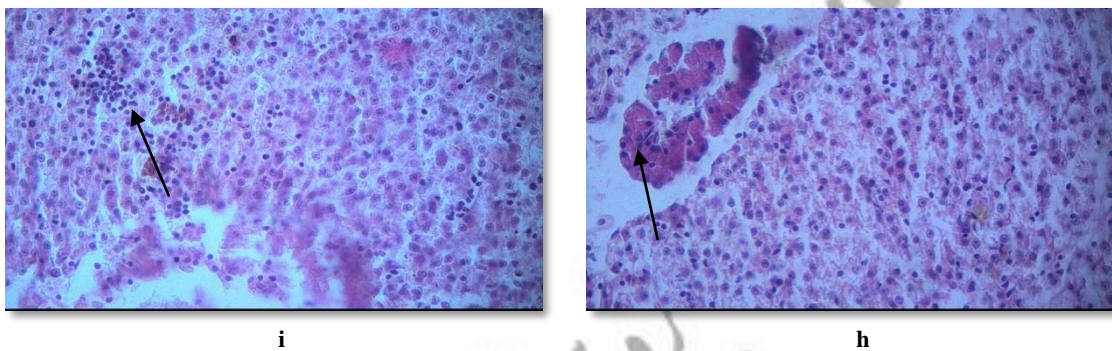
پارانشیم دیده شده اما التهاب در فضای port تغییری نداشته است (شکل ۵g).

در غلظت ۲۵ میکروگرم در لیتر از نانونقره بر روی کبد ماهیان کپور معمولی در ۲۴ ساعت، هم در پارانشیم و هم در فضای port وجود داشته است قابل ذکر است که شدت التهاب آن بیشتر از غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر بوده است. التهابات در ۴۸ ساعت در پارانشیم و فضای port تغییری نداشته است. شدت التهابات در پارانشیم و فضای port در غلظت ۲۵ میکروگرم در لیتر، پس از ۹۶ ساعت مواجهه با نانونقره بیشتر از ۲۴ و ۴۸ ساعت مشاهده شده است (شکل‌های ۶h و ۶i).

در بررسی اثر نانونقره با غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر بر بافت کبد ماهی کپور معمولی پس از مدت ۲۴ ساعت مواجهه ماهی با نانونقره، التهاب در فضای پارانشیم و port دیده شد اما شدت آن کم بوده و این مقدار التهاب خفیف اکثراً در پارانشیم بوده است. شدت التهاب در بافت کبد ناشی از اثر نانونقره با غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر پس از مدت ۴۸ ساعت مواجهه ماهی با نانونقره تغییری نداشته است (شکل‌های ۵e و ۵f). شدت التهاب پس از ۹۶ ساعت مواجهه با نانونقره در غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر کمی بیشتر شده و شدت التهابات اکثراً در



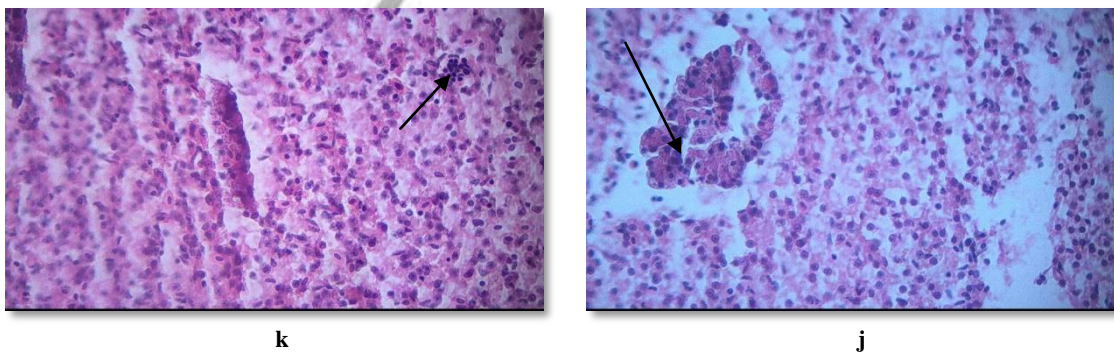
شکل ۵: التهاب در پارانشیم و فضای port ناشی از اثر نانونقره با غلظت ۱۰ PPM بر بافت کبد ماهی کیپور معمولی پس از مدت ۲۴ ساعت مواجهه ماهی با نانونقره را نشان می‌دهد (e و f). شدت التهاب پس از ۹۶ ساعت مواجهه ماهی با نانونقره کمی بیش‌تر شده و اکثراً در پارانشیم دیده شده است (g)



شکل ۶: شدت التهاب در پارانشیم و فضای port با غلظت ۲۵ PPM در ۹۶ ساعت مواجهه ماهی با نانونقره نسبت به ۲۴ و ۴۸ ساعت در این غلظت بیش‌تر مشاهده شده است (i و h)

است (شکل ۷j). در غلظت ۵۰ میکروگرم در لیتر از نانونقره در زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت التهاب در پارانشیم به صورت منطقه‌ای و تجمعی بوده است و در فضای port شدت التهاب تقریباً بیش‌تر از ۲۴ ساعت مشاهده شده است (شکل ۷k).

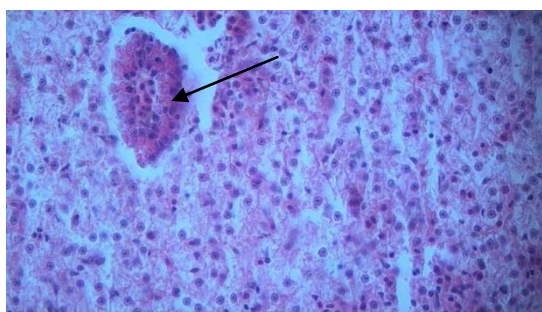
در غلظت ۵۰ میکروگرم در لیتر از نانونقره در زمان ۲۴ ساعت التهاب در پارانشیم و فضای port وجود داشته است با این تفاوت که این التهاب موجود در پارانشیم به صورت تجمعی در یک منطقه نسبت به سایر نقاط بوده است و این التهاب بیش‌تر در پارانشیم نسبت به فضای port به چشم می‌خورد.



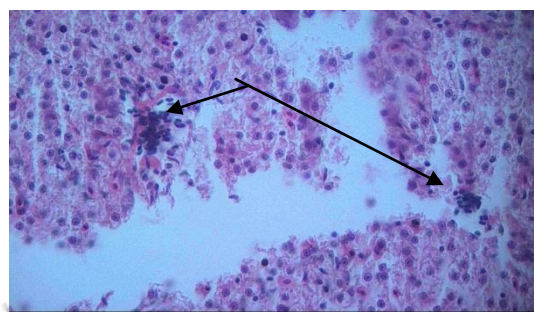
شکل ۷: التهاب تجمعی و منطقه‌ای در یک نقطه نسبت به سایر نقاط در پارانشیم در غلظت ۵۰ PPM از نانونقره در زمان ۲۴ ساعت پس از مواجهه با آن را نشان می‌دهد (j). التهاب بیش‌تر در فضای port در غلظت ۵۰ PPM از نانونقره در زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از مواجهه ماهی با آن را نشان می‌دهد (k)

پارانشیم و فضای port نسبت به ۲۴ ساعت در این غلظت بسیار بیش‌تر بوده است (شکل‌های ۸l و ۸m).

در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیتر از نانونقره در زمان ۲۴ ساعت التهاب در پارانشیم و فضای port نسبت به غلظت‌های دیگر شدیدتر مشاهده شد. در زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت مواجهه با نانونقره در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیتر، شدت التهاب در



شکل m



شکل l

شکل ۸: التهاب بسیار شدید در پارانشیم و فضای port بافت کبد را در غلظت ۱۰۰ PPM پس از مواجهه نانونقره با ماهی نشان می‌دهد (l و m)

بحث

اثر نانونقره بر RBC در غلظت ۲۵ میکروگرم در لیتر منجر به تخریب سلولی شده است به طوری که با افزودن NR به لام خون باعث خارج شدن مقدار کمی از رنگ NR از دیواره لیزوزوم شده و پارگی دیواره لیزوزومی منجر به خارج شدن آنزیم‌های آن به درون سلول و در نهایت منجر به تخریب پروتئین‌ها و اجزاء سلول شده است و همچنین این مطالعات در راستای محققان فوق (kim و همکاران، ۲۰۰۸) است که کم‌ترین اثر سمی نانونقره در خون مشاهده شده است و کبد جزو اصلی‌ترین اندام تجمع نانونقره است پس می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که در غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر، به‌علت میزان کم نانونقره در آب ماهیان، ابتدا این دوز در کبد تجمع یافته و کبد قادر به جلوگیری انتشار آن به سایر بافت‌ها بوده اما در غلظت ۲۵ میکروگرم در لیتر، به‌علت افزایش مقدار نانونقره در آب، کبد به‌طور کامل نتوانسته از انتشار آن به بافت‌ها و اندام‌های دیگر جلوگیری کند و در نتیجه باعث اثراتی از تخریب سلولی که ناشی از سمیت نانونقره می‌باشد را در زمان ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از اضافه شدن Neutral Red به RBC ایجاد کردند که با توجه به زمان‌های ذکر شده در فوق، سمیت مشاهده شده را می‌توان به این مسئله نسبت داد که مشاهده سمیت در RBC با افزایش غلظت و گذشت مدت زمان مواجهه با نانونقره و همین‌طور پس از اضافه کردن Neutral Red رابطه مستقیم دارد.

با توجه به این‌که میزان پایداری دیواره لیزوزوم تحت تاثیر استرس محیطی متغییر است می‌توان پایداری دیواره لیزوزوم را یک نشانگر زیستی برای سنجش سلامت موجودات به‌ویژه ماهیان دانست که روش NRR بر همین پایه استوار است که محتوای لیزوزوم که به‌طور طبیعی اسیدی است توسط رنگ NR جذب آن می‌شود و هرچه خارج شدن رنگ بیش‌تر باشد به همان نسبت لایه لیزوزوم آسیب بیش‌تری می‌بیند (Lowe و pipe، ۱۹۹۴؛ Lowe و همکاران، ۱۹۹۲). نتایج به‌دست آمده از اثر نانونقره بر RBC ماهی کپور معمولی در غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر نشان داد که همه سلول‌های RBC سالم بودند که با توجه به تحقیق دانشمندان فوق می‌توان گفت که در این غلظت، میزان نانونقره موجود در محیط بسیار کم بوده که تاثیری روی دیواره لیزوزوم نداشته است و همچنین مطالعات فعلی در راستای تحقیق محققانی چون Kim و همکاران (۲۰۰۸) است که جذب نانوذرات نقره را در موش پس از وارد شدن از طریق دهان مورد بررسی قرار دادند که بیش‌ترین میزان انباشت نانوذرات نقره را به ترتیب در معده، کبد، ریه، مغز و خون مشاهده کردند می‌توان گفت که خون آخرین ارگانی است که اثرات سمی نانونقره را نشان می‌دهد و با توجه به این‌که غلظت به‌کار رفته بسیار کم بوده است پس در غلظت کم اثرات سمی نانونقره دیده نمی‌شود.

به همان نسبت شدت اثرات بیش تر است. این یافته‌ها تقریباً هم‌سو با نتایج سایر دانشمندان است از جمله این که Bryan و Langston (۱۹۹۲) و همچنین Wood و همکاران (۱۹۹۴) به این نکته پی بردند که غلظت آبی ۱-۵ میکروگرم در دسی‌لیتر از نقره می‌تواند موجب مرگ موجودات و حشرات آبی و ماهی قزل‌آلا شود. Hussain و همکاران (۲۰۰۵) در خصوص اثر سمی فلزات روی سلول‌های کبدی به صورت *In vitro* تحقیقاتی انجام دادند و در این مطالعه در میان این فلزات، نانوذرات نقره با اندازه‌های ۱۵-۱۰۰ نانومتر روی سلول‌های پوششی کبدی (Epithelial cells BRL 3A liver) با غلظت بین ۲/۵-۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای مدت ۶-۲۴ ساعت به کار برده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که در میان فلزات بکار برده شده نانونقره بیش‌ترین سمیت را از خود نشان می‌دهد. هم‌چنان‌که در تحقیق Hussain و همکاران (۲۰۰۵) که به آن اشاره شد غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به کار برده شد که معادل ۵۰ میلی‌گرم در لیتر (۵۰۰۰۰ میکروگرم در لیتر) است در حالی‌که در تحقیق فعلی ۱۰۰ میکروگرم در لیتر از نانونقره استفاده شد که اثرات سمی زیادی از خود بروز داد، که بیان‌گر نقش بارز اندازه نانونقره در قدرت اثر سمی آن می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیقات که از نانونقره با اندازه‌های ۱۰-۵۰ نانومتر و غلظت‌های کم‌تر به کار برده شد، اثرات سمیت مشابه تحقیق فوق را از خود نشان داد که خود نشان‌دهنده این مطلب است که نانوذرات نقره با اندازه‌های کوچک‌تر نسبت به نانونقره در اندازه‌های بزرگ‌تر، در غلظت‌های پایین‌تری اثرات سمی برای ماهیان از خود نشان می‌دهند.

نانونقره با غلظت کم‌تر از ۲۵ میکروگرم در لیتر بر RBC ماهی کپور معمولی اثر سمی ندارد اما با غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر به بالا بر کبد ماهی کپور معمولی اثر هیستوپاتولوژیکی دارد. هم‌چنین شدت اثر هیستوپاتولوژیکی نانونقره بر RBC و بافت کبد ماهی کپور معمولی با افزایش و مدت زمان مواجهه ماهی با نانونقره رابطه مستقیم دارد و کبد ماهی کپور معمولی نسبت به خون آن، بیش‌تر در معرض خطر آلودگی محیطی ناشی از نانونقره قرار دارد.

با در نظر گرفتن استفاده زیاد نانونقره در بسیاری از صنایع و محصولات، ورود آن به محیط زیست و بدن آبزیان و ایجاد اثرات زیان‌بار لذا پیشنهاد می‌گردد: (۱) استفاده صحیح و کنترل شده از نانونقره در صنایع مدنظر قرار گیرد. (۲) استخرهای پرورش ماهی در مکان‌های عاری از پساب‌های حاوی نقره یا نانونقره ساخته شوند. (۳) تعیین غلظتی از نانونقره به‌عنوان دارو

در غلظت ۵۰ میکروگرم در لیتر، به‌علت افزایش مقدار نانو نقره‌ای که در محیط است بعد از اضافه کردن NR پروسه تخریب سلولی در مدت زمان کوتاهی مشاهده شد به‌صورتی‌که در مدت زمان ۹۶ ساعت پس از مواجهه با نانونقره، لیز سلولی هم دیده شد، ولی با تغییر غلظت از ۵۰ به ۱۰۰ میکروگرم در لیتر، مقدار نانونقره‌ای که در محیط بوده منجر به پارگی بخش اعظم از دیواره لیزوزوم و در نتیجه خارج شدن آنزیم‌های لیزوزومی و لیز کامل سلولی شده است. پس می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت نانونقره، مدت زمان تاثیر سمی نانونقره بر RBC پس از افزودن NR کاهش یافته و لذا رابطه معکوس دارد. در این خصوص مقالاتی مبنی بر رابطه‌ای بین غلظت نانونقره و مدت زمان مواجهه ماهی با آن و هم‌چنین مدت زمان مواجهه ماهی با نانونقره و اثر سمی نانونقره پس از افزودن Neutral Red به RBC یافت نشده است. محققان بیان داشتند که سمیت ذرات وابسته به غلظت ذرات، نوع مواد و اندازه آن‌ها می‌باشد. اما یافته‌های فعلی نشان داد که علاوه بر فاکتورهای ذکر شده، مدت زمان مواجهه با نانونقره نیز در شدت اثر سمی آن دخیل می‌باشد (Birgit و همکاران، ۲۰۱۰).

در رابطه با اثر نانونقره بر بافت کبد نتایج نشان داد که غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر، در این بررسی تا حدی هم‌سو با یافته‌های پژوهشی محققان دیگر است که نشان داد شدت التهاب در بافت کبد در کم‌تر از ۹۶ ساعت مواجهه ماهی با نانونقره خفیف، ولی بعد از ۹۶ ساعت شدید شده است (Sander و Abbe، ۱۹۸۷)، این نکته را روشن می‌سازد که میزان انباشت نانونقره با غلظت پایین در بدن آبزیان نسبت مستقیم با مدت زمان مواجهه آبی با نانونقره دارد. با تغییر غلظت نانونقره از ۱۰ به ۲۵ میکروگرم در لیتر منجر به افزایش ضایعات سلولی در کبد شده است. لذا یافته‌های فعلی نیز تا حدی در راستای نتایج بررسی‌های دیگری می‌باشد که نشان دادند که هرچه مقدار نانونقره موجود در محیط بیش‌تر باشد (۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) غلظت آن در بافت نیز بیش‌تر است و لذا عامل غلظت می‌تواند نقش مهمی در افزایش انباشت نانونقره در اندام‌های بدن موجودات از جمله ماهی و در نتیجه افزایش تاثیر زیان‌بار و سمی بر آن‌ها داشته باشد (Birgit و همکاران، ۲۰۱۰).

یافته‌های این تحقیق هم‌چنین نشان داد که نانونقره با غلظت ۵۰ و یا ۱۰۰ میکروگرم در لیتر در مدت زمان‌های مختلف (۲۴ و ۹۶ ساعت) مواجهه ماهی با نانونقره، آثار نسبی زیان‌بار بر بافت کبد ماهی کپور معمولی می‌گذارد و هرچه غلظت نانونقره و مدت زمان مواجهه ماهی با آن بیش‌تر باشد،



- cells. *Aquat. Toxicol.* Vol. 101, No. 1, pp: 117–125.
10. **Gaiser, B.K.; Fernandes, T.F.; Jepson, M.A.; Lead, J.R.; Tyler, C.R.; Baalousha, M.; Biswas, A.; Britton, G.J.; Cole, P.A.; Johnston, B.D.; Ju-nam, Y.; Rosenkranz, P.; Scown, T.M. and Stone, V., 2010.** Interspecies comparisons on the uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles. *Environmental toxicology and chemistry.* Vol. 31, No. 1, pp: 144–154.
 11. **Hussain, S.M.; Hess, K.L.; Gearhart, J.M.; Geiss, K.T. and Schlager, J.J., 2005.** In vitro toxicity of nanoparticles in brl 3a rat liver cells. *Toxicol in vitro.* Vol. 19, pp: 975-983.
 12. **Kim, Y.S.; Kim, J.S.; Cho, H.S.; Rha, D.S.; Kim, J.M.; Park, J.D.; Choi, B.S.; Lim, R.; Chnag, H.K.; Chung, Y.K.; Kwon, J.H.; Joong, J.; Han, B.S. and Yu, I.J., 2008.** Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity and gender-related issue distribution of silver nanoparticles in sprague-dawley rats. *Inhal toxicol.* Vol. 20, pp: 575-583.
 13. **Laban, G.; Nies, L.F.; Turco, R.F.; Bickham, J.W. and Seplved, M.S., 2010.** The effects of silver nanoparticles on fathead min-now (*pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology.* Vol. 19, pp: 185–195.
 14. **Lee, K.J.; Nallathamby, P.D.; Browning, L.M.; Osgood, C.J. and Xu, X.N., 2007.** In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. *Am chem soc.* Vol. 1, No. 2, pp: 133-143.
 15. **Lee, K.J.; Nallathamby, P.D.; Browning, L.M.; Osgood, C.J. and Xu, X.H., 2007b.** In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebra fish embryos. *Acs nano.* Vol. 1, pp: 133–143.
 16. **Li, N.; Sioutas, C.; Cho, A.; Schmitz, D.; Misra, C.; Semp, F.J.; Wang, M.; Oberley, T.; Froines, J. and Nel, A., 2003.** Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environmental health perspectives.* Vol. 111, No. 4, pp: 455-460.
 17. **Lowe, D.M.; Moore, M.N. and Evans, B.M., 1992.** Contaminant impact on interactions of molecular probes with lysosomes in living hepatocytes from dab limanda limanda. *Marine ecology progress*
- برای درمان بعضی بیماری‌ها که فاقد عوارض یا دارای کم‌ترین عوارض باشد.
- ### منابع
1. **Asharani, P.V.; Wu, Y.L.; Gong, Z.Y. and Valiyaveettil, S., 2008.** Toxicity of silver nanoparticles in zebra fish models. *Nanotechnology.* Vol. 19, pp: 255102–2255107.
 2. **Arora, S; Jain, J.; Rajwade, J.M. and Paknikar, K.M., 2008.** Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies. *Toxicol. Lett.* Vol. 179, pp: 93–100.
 3. **Arora, S; Jain, J.; Rajwade, J.M. and Paknikar, K.M., 2009.** Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* Vol. 236, pp: 310–318.
 4. **Bryan, G. and Langston, W., 1992.** Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environ pollut.* Vol. 76, pp: 89-131.
 5. **Carlson, C.; Hussain, S.M.; Schrand, A.M.K.; Braydich-stolle, L.; Hess, K.L.; Jones, R.L. and Schlager, J.J., 2008.** Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *J. Phys. Chem.* Vol. 112, pp: 13608–13619.
 6. **Center for biological and environmental nanotechnology, Rice University. 2005.** Information about the center and current research summaries are available online: <http://cohesion.rice.edu/centersandinst/cben/>.
 7. **Cong, Y.; Banta, G.T.; Selck, H.; Berhanu, D. and Valsami-jones, E., 2011.** Toxic effects and bioaccumulation of nano-, micron- and ionic-ag in the polychaete, nereis diversicolor. Published in aquatic toxicology. Vol. 105, No. 3-4, pp: 403–411.
 8. **Farkas, J.; Christian, P.; Gallego-urrea, J.A; Roos, N.; Hassellv, M.; Tollefsen, K.E. and Thomas, K.V., 2010.** Effects of silver and gold nanoparticles on rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquat. Toxicol.* Vol. 961, pp: 44–52.
 9. **Farkas, J.; Christian, P.; Gallego-urrea, J.A; Roos, N.; Hassellv, M.; Tollefsen, K.E. and Thomas, K.V., 2011.** Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) gill



- series. Vol. 91, pp: 135-140.
18. **Lowe, D.M. and Pipe, R.K., 1994.** Contaminant induced lysosomal membrane damage in marine mussel digestive cells an in vitro study. *Aquatic toxicology*. Vol. 30, pp: 357-365.
 19. **Mishra, R. and Shukla, S.P., 2003.** Endosulfan effects on muscle malate dehydrogenase of the freshwater catfish *claria batrachus*. *Ecotox. Environ. Safe*. Vol. 56, pp: 425-433.
 20. **Presley, b.; Taylor, R. and Boohe, p., 1990.** Trace metals in Gulf of Mexico oysters. *Sci total environ*. Vol. 97/98, pp: 551-593.
 21. **Ringwood, A.H.; Mccarthy, M.; Bates, T.C.; and Carroll, D.L., 2010.** The effects of silver nanoparticles on oyster embryos. *Mar. Environ. Res*. Vol. 69, pp: 49-51.
 22. **Sanders, J. and Abbe, G., 1987.** The role of suspended sediments and phytoplankton in the partitioning and transport of silver in estuaries. *Continental shelf res*. Vol. 7, pp: 1357-1361.
 23. **Wijnhoven, S.W.P.; Peijnenburg, W.J.G.M.; Herbert, C.A.; Hagens, W.I.; Oomen, A.G.; Heugens, E.H.W.; Roszek, B.; Bisschops, J.; Gosens, I.; Meet, D.V.D.; Dekkers, S.; Jong, W.H.D.; Zijverden, M.V.; Sips, A.N.J.A.M. and Geertsma, R.E., 2009.** Nano-silver, a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*. Vol. 3, No. 2, pp: 109-138.
 24. **Wood, C.; Munger, S.; Galvez, F. and Hogstrand, C., 1994.** The physiology of silver toxicity in freshwater fish. In: andren a, bober t, editors. *Transport, fate, and effects of silver in the environment*. Proceedings of the 2nd international conference. Madison, WI, University of Wisconsin Sea grant institute. pp: 109-114.
 25. **Wu, Y.; Zhou, Q.F.; Li, H.C.; Liu, W.; Wang, T. and Jiang, G.B., 2010.** Effects of silver nanoparticles on the development and histopathology biomarkers of Japanese medaka (*oryzias latipes*) using the partial-life test. *Aquat. Toxicol*. Vol. 100, pp: 160-167.

