مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا | سال دهم | شماره ۱ | بهار ۱۳۹۹

مقاله مروری

مکانیسم اثرات نانوساختارهای اکسید روی در سلول‌های زنده

اعظم جوادی[۱]، مریم فرزانه[۲]، سعادت مختاری[۳]، روح الله عظیمی‌راد[۴]، فرشته اسفندیاری[۵*]، حمید گورابی[۶*]

۱- گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه و فن‌آوری‌های زیستی، دانشگاه علم و فرهنگ، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه و فن‌آوری‌های زیستی، دانشگاه علم و فرهنگ، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

۳- گروه فیزیک، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- گروه فیزیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

۵- گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی تکوینی، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

۶- گروه ژنتیک، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولیدمثل جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۰۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۸/۲۸

چکیده

نانوتکنولوژی و نانوساختارها که ذراتی در سایز کوچک‌تر از ۱۰۰ نانومتر حداقل دریکی از ابعاد هستند، در صنایع مختلف، محصولات مصرفی و کاربردهای زیست پزشکی شاهد مصارف روزافزون آن‌ها هستیم. نانوساختارهای اکسیدروی به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فردی که دارند، برای بهبود اثرات روی، جایگزین آن می‌شوند و به‌عنوان عامل ضد باکتری در بسته‌بندی مواد غذایی و همچنین جاذب اشعه UV در مواد آرایشی و کرم‌های ضد آفتاب مورداستفاده قرار می‌گیرند. باوجود ویژگی‌های مفید، این نانوساختارها در غلظت‌های بالا می‌توانند برای موجودات زنده سمی باشند. مطالعاتی که در این زمینه انجام‌شده نشان می‌دهد که عوامل و فاکتورهای مختلفی در ایجاد سمیت و میزان آن مؤثرند، ازجمله: نوع سلول هدف، سایز و ساختار و ویژگی‌های سطحی نانوساختارها و همچنین راه‌های مواجهه موجودات زنده با آن‌ها. طبق مطالعات انجام‌شده مکانیسم‌های پیشنهادی ایجاد سمیت توسط نانوساختارها شامل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو ناشی از آن، سمیت ژنومی و تغییر در بیان ژن‌های مختلف و تغییر در تولید پروتئین‌های مرتبط با آن، همچنین تغییرات اپی ژنتیک و ایجاد پاسخ‌های التهابی و درنهایت ایجاد آپوپتوز است که در این مطالعه مکانیسم‌های ایجاد سمیت نانوساختار اکسیدروی موردبحث و بررسی قرار می‌گیرد و همچنین به آثار *in vivo* این نانوذرات در موجودات زنده اشاره می‌شود.

کلمات کلیدی: نانوتکنولوژی، اکسیدروی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سمیت، آپوپتوز

مقدمه

فناوری نانو (Nanotechnology)، بهره‌برداری از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی مواد در اندازه‌های کمتر از ۱۰۰ نانومتر در علوم و صنایع مختلف است. مطالعات اخیر نشان داده است اگر ذرات یک ماده در حد نانومتر کوچک شوند این ذرات ویژگی‌های متفاوتی با ذرات اولیه خواهند داشت که ازجمله می‌توان به افزایش نسبت سطح به حجم، افزایش انحلال‌پذیری و افزایش تحرک اشاره نمود (۱-۳). ایجاد این خواص جدید منجر به کاربردهای گسترده آن‌ها به‌ویژه نانوساختارهای اکسید-روی در صنایع مختلف ازجمله نساجی، نقاشی، الکتریکی و سلول‌های خورشیدی، آشکارسازهای نوری و اشعه ماوراءبنفش

* **نویسنده مسئول اول: حمید گورابی**، گروه ژنتیک، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولیدمثل جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
Email: gourabi@royaninstitute.org
https://orcid.org/0000-0001-7277-4898

* **نویسنده مسئول دوم: فرشته اسکندری**، گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی تکوینی، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
Email: esfandiari65f@gmail.com
https://orcid.org/ 0000-0003-3785-3149

(۴) و همچنین کاربردهای پزشکی ازجمله در فرآیندهایی نظیر انتقال داروها، واکسن، تشخیص یا درمان انواعی از بیماری‌ها گردیده است (۵). از مهم‌ترین کاربردهای نانوساختارها می‌توان به استفاده از آن‌ها در درمان سرطان اشاره کرد به‌طوری‌که برای افزایش اختصاصیت دارو و هدف قرار دادن بافت توموری و عدم آسیب به سلول‌های سالم از این نانوساختارها به همراه داروی اصلی استفاده می‌شود (۶, ۷).

همچنین از نانوساختارهای اکسید روی برای انتقال ژن جهت درمان سرطان استفاده‌شده است (۸). مطالعات نشان داده است که این نانوساختارها موجب تولید سایتوکاین‌های التهابی نظیر: TNF-α، IFN-γ و IL12- در داخل بدن موجود زنده (*In vivo*) و هم در محیط آزمایشگاه (*In vitro*) می‌گردند و در نسل جدید داروهای ضد سرطان از غلظت مناسب این نانوساختارها برای ایجاد TNF-α جهت از بین بردن سلول‌های سرطانی می‌توان استفاده کرد (۹). یکی دیگر از ویژگی‌های مهم نانوساختارهای اکسید روی توانایی محافظت در برابر اشعه فرابنفش و جذب آن است، به همین دلیل از آن‌ها در محصولات آرایشی و کرم‌های صورت و ضد آفتاب استفاده می‌شود (۱۰). نانوساختارهای اکسید روی به دلیل نسبت بالای سطح به حجم آن‌ها در مقایسه با ذرات بزرگ‌تر، دارای واکنش‌پذیری بیشتری هستند و بنابراین امکان برهم‌کنش آن‌ها با سلول‌ها افزایش می‌یابد. با توجه به اثر نانوساختار اکسید روی بر کاهش رشد سلول‌های باکتریایی پیشرفت‌های اخیر درزمینهٔ فناوری نانو به‌ویژه کاربرد این نانوساختار در نسل جدید آنتی‌بیوتیک‌ها تولید طیف گسترده‌ای از عوامل ضد میکروبی را فراهم کرده است (۱۱, ۱۲).

بررسی اثر نانوساختارهای اکسید روی بر موجودات زنده

نانوساختارها پس از ورود به داخل سلول، ممکن است موجب پاسخ‌های بیولوژیکی متفاوتی گردند، ازجمله: تغییر در چرخه سلولی، تغییر در یکپارچگی غشاهای پلاسمایی سلول و تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) و رفتارهای غیرعادی در سلول، مانند تغییر در چسبندگی سلول، مهاجرت (۱۳). بررسی سمیت نانوساختارها هم به‌صورت *in vitro* روی سلول‌های مختلف و هم به‌صورت *in vivo* انجام می‌گیرد ولی انجام این آزمایش‌ها به‌صورت *in vitro* به جهت تجدید پذیر بودن و صرف هزینه کمتر و استفاده از حیوانات کمتر روشی مناسب است (۱۴). اثرات سمی نانوساختارهای اکسید روی در سلول‌های موجودات زنده مختلف ازجمله باکتری، قارچ، جلبک، کرم، مخمر و پستانداران به‌صورت *in vitro* بررسی‌شده است و طی مقایسه مطالعات انجام‌شده درزمینهٔ اثر نانوساختارهای مختلف ازجمله اکسید روی، اکسید نقره و اکسید مس بر موجودات مختلف، نانوساختارهای اکسید روی به‌عنوان ذراتی بسیار سمی دسته‌بندی‌شده‌اند (۱۵). با توجه به مصرف بالا و افزایش کاربرد این نانوساختارها در زندگی روزمره، اطلاعات درزمینه‌ی سمیت آن‌ها بر موجودات زنده، به‌ویژه بر سیستم تولیدمثل که در حفظ بقاء موجودات حائز اهمیت است، کافی نبوده و نیاز به مطالعه و بررسی بیشتر است.

برهمکنش با سلول و ایجاد سمیت

نانوساختارها از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند انتشار از غشاء سلولی، فرایند اندوسیتوز و فاگوسیتوز، یا از طریق کانال‌های یونی و منافذ می‌تواند وارد سلول شوند. سه مکانیسم اصلی شناخته‌شده برای ورود نانوساختارها به سلول شامل:

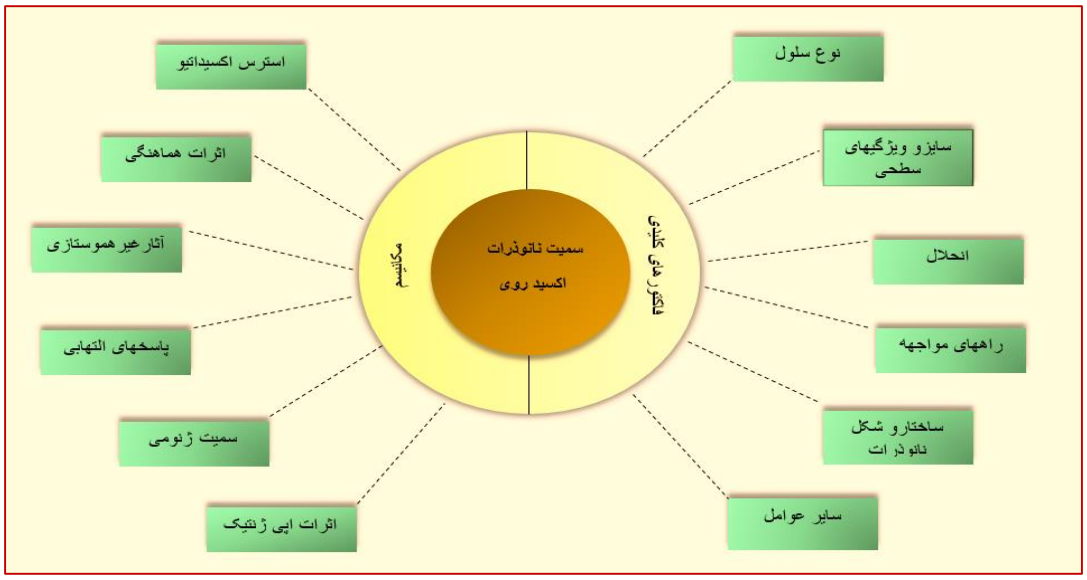
۱_ راه وابسته به کلاترین: که در این مسیر لیگاند متصل به گیرنده، وارد وزیکولی پوشیده از کلاترین شده و وارد سلول می‌شود، این وزیکول کم‌کم متلاشی‌شده و به اندوزوم تبدیل می‌گردد.

۲_ کاوئولا: ساختارهای غشایی غنی از اسفنگولیپد و کلسترول هستند که در ورود گیرنده‌هایی که دارای گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول و یا متصل به G-protein باشند، نقش دارند.

۳_ ماکروپینوسیتوز: فرایندی است که در آن سلول‌ها با کمک ماشین انقباض اکتین و میوزین خود، برجستگی‌های غشایی را بزرگ‌تر کرده و سپس با کمک همین ساختار اندوزومی ایجادشده، حجم بالایی از مایعات خارج سلولی را وارد خود می‌کنند (۱۶).

نحوه ورود و جذب سلولی نانوساختارها و پردازش درون‌سلولی آن‌ها به عوامل مختلفی ازجمله اندازه ذرات و نوع سلول هدف بستگی دارد. علاوه بر آن سایز آن‌ها در ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیکی، توزیع و حذف مواد نقش کلیدی را دارا هستند (۱۷). ازآنجاکه نانوساختارهای اکسید روی در کرم‌های ضد آفتاب و لوازم‌آرایشی مورداستفاده قرار می‌گیرند، یکی از راه‌های مواجهه با آن‌ها از طریق پوست است که این مسیر و مسیرهای ورود از طریق دستگاه گوارش و استنشاق و راه‌های هوایی نیز بررسی‌شده و ایجاد سمیت از تمامی این مسیرها مورد تائید قرارگرفته است. در این مطالعه، بررسی اجمالی در خصوص سمیت نانوساختارهای اکسید روی و آثار سمی آن بر سلول و

سمیت ژنومی صورت می‌گیرد و همچنین مکانیسم‌های ایجاد سمیت نانوساختارهای اکسید روی موردبحث و بررسی قرار می‌گیرد (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر شماتیک اثرات سمی نانوساختارها اکسیدروی

فاکتورهای کلیدی که موجب سمیت می‌شوند شامل: سایز نانوساختارها، انحلال و راه‌های مواجهه بوده و مکانیسم‌های اثر آن‌ها شامل: استرس اکسیداتیو، اثرات هماهنگی، اثر سمی بر ژنوم، التهاب و هموستازی و... است.

۱- فاکتورهای کلیدی مؤثر در سمیت نانوساختارهای اکسید روی

۱-۱- نوع سلول

ویژگی سلول‌های مختلف در ایجاد سمیت نانوساختارها حائز اهمیت است. در مطالعه‌ای که درزمینه اثر نانوساختارهای اکسید روی بر فاکتورها و سلول‌های خونی انجام شد نشان داده شد که در غلظت بالا موجب افزایش گلبول‌های سفید و هموگلوبین و کاهش گلبول‌های قرمز، پلاکت و هماتوکریت گردید (۱۸). نانوساختارها بعد از ورود به سلول‌ها بسته به نوع سلول با مکانیسم‌های متفاوتی موجب ایجاد سمیت می‌شوند. به‌عنوان‌مثال نانوساختارهای اکسید روی در سلول‌های کبد از طریق القا استرس اکسیداتیو باعث آسیب به این سلول‌ها شده و در سلول‌های عصبی با آزادسازی یون روی باعث برهم زدن تعادل یونی و اختلال در عملکرد کانال‌های یونی می‌شوند. در سلول‌های کلیه موجب تغییر در متابولیسم شده و در فیبروبلاست ریه جنین، نانوساختارهای اکسید روی موجب نقص عملکرد میتوکندری و آپوپتوز می‌شوند. در سلول‌های موکوسی بینی می‌توانند موجب سمیت ژنومی، سمیت سلولی و اثرات پیش التهابی شوند (۱۳) (جدول ۱). غلظت سمی نانوساختارهای

جدول ۱- سمیت انتخابی نانوساختارهای اکسید روی در سلول‌های مختلف

نوع سلول	اثرات فیزیولوژیکی نانوساختارهای اکسید روی
سلول کبدی	آسیب به DNA و آپوپتوز ناشی از ROS تولیدشده توسط میتوکندری
سلول کلیوی	تغییرات متابولیسم سلول
سلول عصبی	اختلال در تعادل یونی و تغییر عملکرد فیزیولوژی نورون‌ها
فیبروبلاست ریوی جنینی	اختلال در عملکرد میتوکندری، تغییر مورفولوژی و آپوپتوز
لنفوسیت	القا تولید سایتوکاین

اکسید روی در سلول‌های مختلف متفاوت است برای مثال در سلول‌های TR146 از غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و در سلول‌های نوروبلاستوما از غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر،

استرس اکسیداتیو دیده می‌شود. همچنین در سلول‌های ماکروفاژی THP-1، آزادسازی سایتوکاین‌های پیش التهابی از غلظت ۱۷/۶۹ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده شد و در سلول‌های سرطانی خونی انسانی از غلظت ۶/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر آسیب به DNA گزارش‌شده است (۱۹). در کنار نوع سلول، ویژگی‌های فیزیکی نانوساختارها نظیر سایز و شکل آن و محیطی که نانوساختارها در آن حل و یکنواخت شده ممکن است در نتایج ایجاد سمیت آن مؤثر باشد.

۱-۲- سایز و ویژگی‌های سطحی

از ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوساختارها سایز کوچک آن‌ها است که موجب افزایش نسبت سطح به حجم آن‌ها می‌گردد. درواقع با قرارگیری اتم‌ها و مولکول‌های بیشتری در سطح موجب افزایش واکنش‌پذیری آن‌ها می‌شود. مطالعات نشان داده که سایز نانوساختارها با میزان سمیت ایجادشده توسط آن‌ها نسبت عکس دارد. نانوساختارها با سایز کمتر از ۱۰۰ نانومتر توانایی عبور از غشاء سلول و با سایز کمتر از ۴۰ نانومتر توانایی عبور از هسته و با سایز کمتر از ۳۵ نانومتر توانایی عبور از سدهای خونی- مغزی را دارند بنابراین به‌طور مؤثر از طریق جریان سیستم عروقی در بافت‌های بدن توزیع می‌گردند (۲۰). از سوی دیگر نانوساختارها به دلیل سایز کوچک از طریق روده کوچک جذب‌شده و بعد از ورود به خون به بافت‌های مختلف نظیر مغز، کلیه و کبد انتشار می‌یابند. به‌طورکلی سایز نانوساختارها با میزان جذب سلولی آن‌ها رابطه مستقیم داشته و کاهش سایز آن‌ها موجب افزایش تجمع آن‌ها در سلول می‌گردد، درنتیجه تعامل بین نانوساختارها و بیومولکول‌ها اثرات مختلف نظیر سمیت سلولی و یا سمیت ژنومی را سبب می‌شوند. بنا بر گزارش‌ها، ذرات بزرگ‌تر موجب آسیب دائمی به غشای سلول از طریق اتصال به پروتئین‌های غشا می‌گردد درحالی‌که ذرات کوچک‌تر می‌تواند با عبور از غشا به اندامک‌های داخل سلولی آسیب وارد کند (۲۰). در مطالعه‌ای که Shalini و همکاران بروی لنفوسیت‌های انسانی انجام دادند نشان داده شد که هرقدر سایز نانوذرات کوچک‌تر باشد راحت‌تر وارد هسته شده و قدرت آسیب‌زایی بیشتری در DNAی سلول دارند (۲۱).

علاوه بر سایز، ویژگی‌های سطحی نانوساختارها از فاکتورهای کلیدی در ایجاد سمیت آن‌هاست. به‌طور عمده نانوساختارها با بار سطحی مثبت به دلیل تعامل بیشتر با بار منفی غشای پلاسمایی، نفوذپذیری بیشتری دارند. همچنین نانوساختارها با بار سطحی مثبت می‌توانند توسط پروتئین‌های با بار منفی نظیر آلبومین، به‌طور مستقیم جذب گردند (۲۲). اگر ویژگی‌های سطحی نانوساختارها کنترل نشود ممکن است سریعاً تجمع یافته و ذرات بزرگ‌تری تشکیل دهند که به‌راحتی با مولکول‌ها و اندامک‌ها تعامل برقرار کرده و موجب افزایش سمیت آن‌ها می‌گردد (۲۳). همچنین نوع پوشش سطحی نانوذرات در ایجاد سمیت و شدت آن تأثیرگذار است. در این خصوص Yung و همکاران در مطالعه‌ای که درزمینه اثر نانوذرات اکسید روی بر یک نوع جلبک دریایی انجام دادند نشان داده شد که با تغییر در نوع پوشش سطحی این نانوساختار بیان ژن‌های متفاوتی دچار تغییر شد و این می‌تواند بیانگر مکانیسم متفاوت در ایجاد سمیت توسط آن‌ها گردد (۲۴) به‌این‌ترتیب به‌منظور کاهش سمیت و اثرات نانوساختارها بر انسان و محیط‌زیست نیاز به مطالعات گسترده در این زمینه است.

۱-۳- انحلال‌پذیری

از فاکتورهای کلیدی دیگر در ایجاد سمیت، انحلال‌پذیری یون‌های فلزی است. حلالیت یک ویژگی مهم است که از دلایل اثرات سمی نانوساختارها به‌ویژه نانوساختارهای اکسید روی، در موجودات زنده محسوب می‌شود که به دلیل آزادسازی یون‌های فلزی اثر سمی خود را اعمال می‌کنند. در مطالعه‌ای که Saptarshi و همکاران درزمینه اثر این نانوساختار در سلول‌های اپی‌تلیال ریوی انسان انجام دادند، نشان داده شد که دلیل ایجاد سمیت این نانوذره در این نوع سلول، انحلال‌پذیری نانوذرات اکسید روی و آزادسازی یون روی است (۲۵). همچنین لازم به ذکر است که pH اسیدی اندامک‌هایی نظیر لیزوزوم و اندوزوم در آزادسازی یون‌ها مؤثر است. هر چه نانوساختارها کوچک‌تر باشند انحلال‌پذیری بیشتری داشته و درنتیجه سمیت آن‌ها افزایش می‌یابد (۲۶).

۱-۴- راه‌های مواجهه

مسیرهای مختلف مواجهه می‌توانند منجر به اثرات متفاوتی گردند. نانوساختارهای اکسید فلزی از طریق مسیرهای هوایی، دهانی، پوست و راه‌های دیگر می‌توانند وارد بدن شوند. یکی از راه‌های ورود این نانوذره به بدن انسان راه‌های هوایی است که به‌ویژه در شاغلین صنایع مرتبط ازجمله نساجی، نقاشی،

الکترونیکی و تولید محصولات آرایشی که با این نانوساختار در ارتباط هستند، می‌تواند با عبور از سد خونی-مغزی باعث ایجاد پاسخ‌های التهابی و آسیب به سیستم عصبی مرکزی شوند. این ذرات می‌توانند از طریق پیاز بویایی وارد نورون‌ها شده و مستقیماً به سلول‌های مغزی دسترسی پیدا کنند (۲۷-۲۹). همچنین این نانوساختارها به‌صورت افزودنی در مواد غذایی یا در بسته‌بندی آن‌ها مورداستفاده قرارگرفته و به‌این‌ترتیب از راه دهان وارد بدن شده و در سیستم گوارش از طریق اپی تلیوم پرزهای روده کوچک وارد گردش خون شده و می‌توانند به اندام‌های مختلف بدن دسترسی پیدا کنند. محیط اسیدی شیره معده انحلال‌پذیری و آزادسازی یون روی را افزایش می‌دهد. درنتیجه راه‌های مواجهه به‌عنوان یکی از فاکتورهای کلیدی دیگر در ایجاد سمیت محسوب می‌شود (۲۷, ۳۰). یکی دیگر از راه‌های ورود این نانوساختار به بدن انسان از طریق پوست است که می‌تواند به دنبال مصرف کرم‌های ضد آفتاب و سایر محصولات پوستی از طریق منافذ و جراحات پوستی و غدد عرق وارد بدن و جریان خون شده و به اندام‌های مختلف دسترسی پیداکرده و عوارض خاصی را ایجاد کند (۲۷, ۳۱).

۱-۵-ساختار و شکل نانو ساختارهای اکسید روی

نانوساختارهای اکسید روی با مورفولوژی‌های مختلفی مانند نانوذره (۳۲)، نانومیله (۳۳) و نانولوله (۳۴) و نانوصفحه (۳۵) سنتز شده است. شکل نانو ساختار اکسید روی ممکن است در میزان سمیت آن تأثیر داشته باشد. برای مثال نانوذره اکسید روی کروی (۱۰-۳۰ نانومتر) در سلول‌های Ana-1 در مقایسه با ساختار نانو میله‌ای اثر سمی بیشتری دارد (۳۶)، درصورتی‌که اثر سمی نانو صفحه‌ای و کروی اکسید روی در سلول‌های ماکروفاژ موشی یکسان گزارش‌شده است. تحقیقات نشان داده که مکانیسم ورود و به دنبال آن سمیت نانو ساختارها به‌طور چشمگیری تحت تأثیر موفولوژی آن قرار دارد. به‌عنوان‌مثال اکسید روی نانو میله‌ای نسبت به کروی بر دیواره باکتری بیشتر رسوب می‌کنند (۳۷, ۳۸).

۲- مکانیسم اثر نانوساختارهای اکسید روی

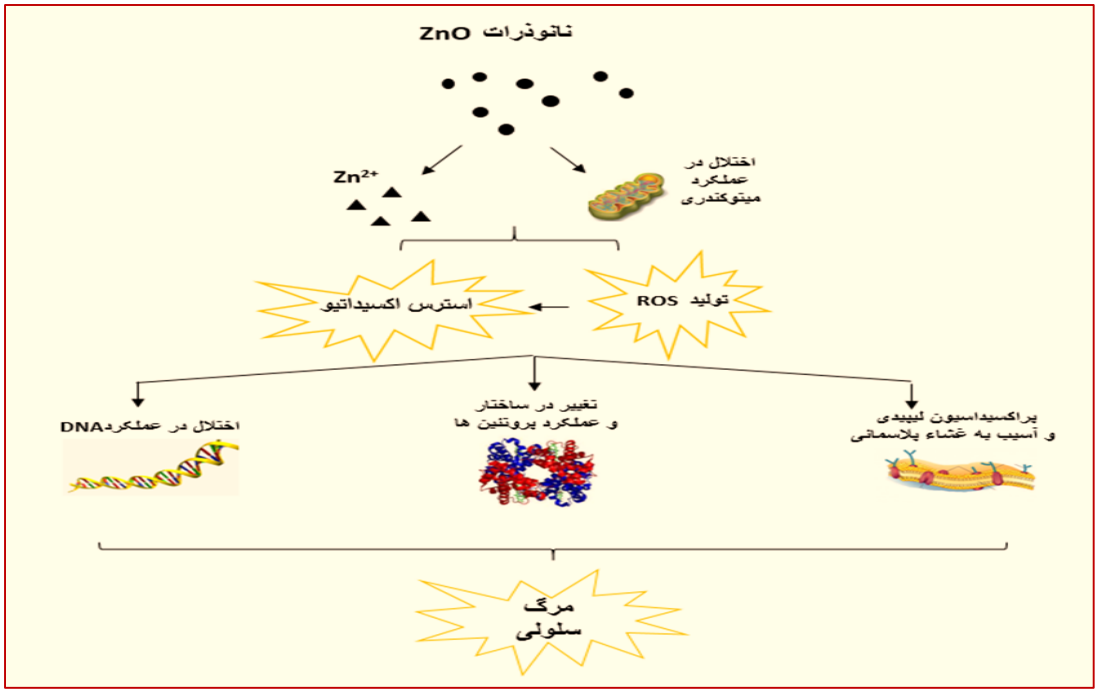
۲-۱- استرس اکسیداتیو

مکانیسم اصلی عملکرد نانوساختارها هنوز شناخته‌نشده است؛ اما مطالعات مختلف در محیط‌های *in vitro* و *in vivo* مهم‌ترین اثر سمی نانوساختارها را به ایجاد استرس اکسیداتیو ارتباط داده‌اند. هر رادیکال اکساینده مانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) یک عامل بالقوه برای استرس اکسیداتیو است. استرس اکسیداتیو ناشی از اثر نانوساختار اکسیدروی در سلول هدف می‌تواند موجب فعال شدن مسیرهای آپوپتوزی گردد (۳۹). ROS حاصل از نانوذرات اکسیدروی می‌تواند موجب آسیب میتوکندری و فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوزی مربوطه و مرگ سلول هدف شود (۴۰). He و همکاران نیز در مطالعه‌ای که درزمینه اثر نانوساختار اکسیدروی بر سلول استئوسارکوما انجام دادند نشان دادند که یون‌های روی آزادشده در داخل و خارج سلول منجر به آسیب میتوکندری سلول شده و موجب فعال شدن مسیرهای آپوپتوزی می‌شوند (۴۱).

نانوساختارها یا به‌طور مستقیم از طریق تحریک اندامک‌های اکسیداتیو نظیر میتوکندری موجب القاء تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند و یا از طریق یون‌های تولیدشده حاصل از نانوساختارها القاء تولید ROS اتفاق می‌افتد (۴۲). مهم‌ترین منبع تولید ROS زنجیره انتقال الکترون میتوکندری است، نانوساختارها به دلیل سایز بسیار کوچک به میتوکندری دسترسی پیدا می‌کنند و باعث آسیب به میتوکندری می‌شوند. این آسیب می‌تواند منجر به نقص زنجیره انتقال الکترون و درنتیجه تحریک تشکیل ROS شود (۴۳). همچنین یکی از منابع تولید ROS در سلول‌های تولیدکننده اسپرم، آنزیم گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز سیتوپلاسمی است که برای بلوغ سلول ضروری است. این آنزیم با احیا $NADP^+ \leftarrow NADPH$ می‌تواند باعث تحریک NADPH اکسیداز (NOX) و درنتیجه تولید ROS شود (۴۳). ROSها ترکیباتی هستند که ازلحاظ فیزیولوژیکی برای بدن موجودات زنده موردنیاز و ضروری بوده و از سوی دیگر پتانسیل ایجاد آسیب به سلول را دارند. ROS در سطوح متوسط نقش‌های مهم و خاصی در اتفاقات داخل سلولی مانند سیگنال‌های سلولی، تکثیر، بیان ژن و تنظیم فرایند اکسیداسیون لیپیدی و احیاء دارند. سطوح بالای ROS باعث آسیب سلولی از طریق پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات پروتئینی و اختلال در DNA و تداخل در عملکردهای سیگنالینگ و تنظیم ژن‌های رونویسی گشته که درنهایت منجر به سرطان، بیماری‌های کلیوی، آسیب‌های عصبی، بیماری‌های قلبی-عروقی و ریوی و پیری می‌گردند (۲۷). ROS می‌تواند با جذب الکترون‌های

لیپیدهای غشاء باعث آسیب به غشاء و کاهش عملکرد فیزیولوژیک آن گردد (شکل ۲).

Zn^{2+} حاصل از نانوساختارها نیز پس از تعامل با بیومولکول‌ها و یا حذف یون‌های فلزی از متالوپروتئین‌های خاص باعث



شکل ۲- ایجاد استرس اکسیداتیو به دنبال ورود نانوذرات اکسید روی به سلول و عوارض ایجادشده ناشی از آن

نانوذرات اکسید روی بعد از ورود به سلول توانائی ایجاد اختلال در عملکرد ماکرو مولکول‌های سلول را دارا بوده و می‌توانند درنهایت موجب مرگ سلولی شوند.

رادیکال OH به‌عنوان یکی از سمی‌ترین گونه‌های ROS است که توانایی اکسید کردن تقریباً تمامی اجزای سلولی را داراست. $OH^{\cdot}$ تولیدشده در خارج سلول توسط نانوذرات اکسید فلزی، توانایی آسیب به غشاء سلول را دارد. علاوه بر این‌ها افزایش میزان ROS می‌تواند باعث آسیب mtDNA (DNA میتوکندریایی) گردد (۴۴). به‌طورکلی ROS حاصل از نانوذرات در ایجاد آپوپتوز و کاهش بیان پروتئین‌های سیستم ترمیم و همچنین ایجاد آنیوپلوئیدی در سلول‌ها نقش دارد (۳۷). Wang و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند نانوساختارهای اکسید روی با تولید ROS، مسیر سیگنالینگ JNK را فعال کرده که منجر به فعال شدن آپوپتوز می‌شوند (۴۵). نانوساختارها از طریق تولید ROS بر چرخه تولید انرژی، کنترل‌کننده‌های تجمعی دوکی Spindle assembly checkpoint (SAC)، سانتروزوم‌ها، کینه توکورها و دینامیک میکروتوبول‌ها تأثیر گذاشته و می‌توانند منجر به آنیوپلوئیدی شوند (۱۵).

غیرفعال شدن پروتئین‌های عملکردی می‌گردد. از سوی دیگر Zn^{2+} آزادشده از نانوذرات با بر هم زدن تعادل کاتیون‌های فلزی سلول می‌تواند باعث ایجاد سمیت گردد. به‌منظور دستیابی به نانوساختارهای ایمن و کاهش عوارض و سمیت آن‌ها بر بدن موجودات زنده، مطالعات زیادی درزمینه مکانیسم اثر و عملکرد آن‌ها بر بدن موجودات زنده انجام‌شده است (۲۳).

لیپید پراکسیداسیون یکی از عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو است که به دنبال مواجهه با نانوساختارهای اکسید روی ایجاد می‌گردد و موجب آسیب به غشا سلولی می‌گردد. برای مثال به دلیل وجود میزان بالای چربی اشباع در سیستم عصبی مرکزی میزان پراکسیداسیون لیپیدی در این سلول‌ها زیاد بوده و درنتیجه سمیت ایجادشده توسط ROS ناشی از نانوساختارهای اکسیدروی در این سلول‌ها بیشتر است (۴۶) و به این دلیل برای بررسی سمیت این نانوساختارها، با سنجش میزان ترشح LDH میزان آسیب به غشا را اندازه‌گیری می‌کنند.

۲-۲- اثرات هماهنگی

نانوساختارها ساختمان پروتئین‌ها را بر هم زده و باعث تغییر در تاخوردگی آن‌ها می‌شوند. کاتیون‌های فلزی در تاخوردگی

پروتئین‌ها مؤثرند و بااتصال به پروتئین‌های تاخورده موجب بهبود، تنوع و کاهش عملکرد آن‌ها می‌گردند (۴۷). تعداد زیادی از بیومولکول‌ها در موجودات زنده دارای اتم‌های coordination هستند (عمدتاً اتم‌های O و N) که در جایگاه فعال بیومولکول‌ها قرار دارند که با اهداء الکترون به Zn^{2+} آزادشده از نانوساختارهای اکسیدروی، موجب غیرفعال شدن بیومولکول‌ها می‌گردند که درنتیجه سمیت سلولی ایجاد می‌شود. اثرات هماهنگی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم منجر به آسیب به DNA نیز می‌شوند. نانوساختارها می‌توانند یا مستقیماً از طریق منافذ هسته و یا در زمان تقسیم میتوز که غشاء هسته از بین رفته به ژنوم دسترسی پیداکرده و با DNA یا پروتئین‌های مرتبط با آن واکنش داده و در فرایند ترجمه و رونویسی اختلال ایجاد کنند. همچنین یون‌های فلزی آزادشده از نانوساختارها به دنبال واکنش با پروتئین‌های پایدارکننده mRNA در سیتوپلاسم، می‌توانند منجر به تخریب mRNA شوند (۴۸). علاوه بر این، آن‌ها به دنبال تعامل با مولکول‌های سیگنالینگ، باعث فعال شدن مسیرهای آسیب به DNA یا مرگ سلولی می‌گردند (۴۹).

۲-۳- اثرات غیر هموستازی

یون‌های روی نقش مهمی در حفظ تعادل هموستازی بدن دارند که تغییر در میزان غلظت آن‌ها تعادل هموستازی را در بدن به هم میزند. اگر تغییرات هموستازی بیش از تحمل فیزیولوژیکی باشد سمیت ایجاد می‌گردد. از سوی دیگر استرس اکسیداتیو ایجادشده توسط نانوذرات اکسید روی می‌تواند با افزایش غلظت Ca^{+2} داخل سلولی در بر هم زدن تعادل هموستازی بدن مؤثر باشد (۵۰).

۲-۴-پاسخ‌های التهابی

نانوساختارها می‌توانند باعث سمیت در سلول‌های ایمنی و تحریک آن‌ها برای ترشح سایتوکاین‌ها گردند که تولید آن‌ها منجر به پاسخ‌های التهابی می‌گردد. نوع نانوساختارها و ترکیبات آن نقش مهمی در آغاز مسیرهای سیگنالینگ التهابی دارد. مطالعات اخیر نشان داده که افزایش بیان TNF-α در کراتینوسیت‌ها پس از مواجهه با نانوساختارهای اکسید روی از طریق مسیر ROS-Erk-Egr-1 صورت گرفته است (۵۱). مطالعه دیگر نشان داده است که به دنبال مواجهه سلول‌های اندوتلیال انسانی (HUVEC) با این نانوساختارها، نه‌تنها سایتوکاین التهابی نظیر TNF-α بلکه مارکر التهابی ICAM-1 افزایش بیان داشته که موجب تشدید التهاب به دنبال مواجهه با این نانوساختارها می‌شود (۵۲). همچنین WU و همکاران نشان دادند که بیان IL-8 القاشده توسط نانوساختارهای اکسیدروی در سلول‌های اپی تلیال ریوی، مسیر سیگنالینگ NF-κB را فعال کرده که باعث ایجاد پاسخ التهابی می‌شوند (۵۳). Palomäki و همکاران در بررسی آثار سمی نانوذرات اکسیدروی در سلول ماکروفاژ موشی افزایش بیان سایتوکاین التهابیIL-1β را نشان دادند (۵۴). همچنین Hu و همکاران در مطالعه‌ای که به‌صورت *in vivo* روی مدل موش آزمایشگاهی انجام دادند افزایش تولید ROS و در پی آن فعال شدن مسیر سیگنالینگ NF-κB و ایجاد پاسخ‌های التهابی را گزارش کردند (۵۵). Song و همکاران نیز در بررسی اثر این نانوذره در سلول آستروسیت افزایش بیان سایتوکاین‌های TNF-α و IL-6 را گزارش کردند (۳۹). نانوساختارها با افزایش پاسخ‌های التهابی منجر به تضعیف سد خونی بیضه Blood–testis barrier (BTB) شده و همچنین موجب کاهش بیان ژن‌های مربوط به اتصالات محکم در سلول‌های سرتولی می‌شوند که برای تشکیل BTB ضروری هستند درنتیجه به دنبال این مواجهه، منافذ BTB وسیع‌تر شده و ورود نانوساختارها تسهیل می‌یابد و منجر به تجمع نانوذرات در بافت‌های تولیدکننده‌ی اسپرم می‌شوند (۴۳). همچنین فعال شدن مسیر ROS- TNF-α -Erk توسط نانوساختارهای اکسید روی موجب آسیب BTB می‌شوند (۱۹).

۲-۵- سمیت ژنومی

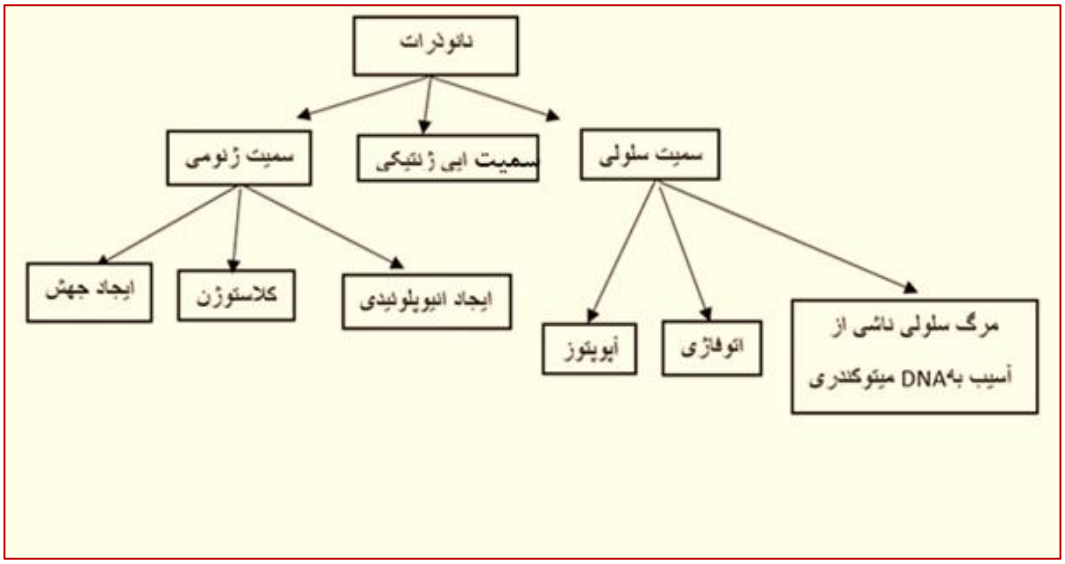
سمیت ژنومی درواقع آسیب به DNAی سلول است که یا به‌صورت مستقیم به دنبال واکنش نانوذرات با اجزا هسته اتفاق می‌افتد یا به‌صورت غیرمستقیم درنتیجه تولید ROS، یون‌های فعال دیگر و یا آسیب‌های مکانیکی حاصل می‌شود. مطالعات نشان داده که نانوساختارهای اکسید روی منجر به آسیب DNA می‌گردد که با تست comet assay به‌صورت افزایش در Olive tail moment نشان داده می‌شود. در رده سلولی اپیدرمال انسانی حتی با غلظت‌های پایین در حد ۵ میکروگرم و همچنین در سلول‌های پروکسیمال اپیتلیال کلیوی HK-2، این آسیب به اثبات رسیده است (۵۶). در سلول‌های ماکروفاژ تحت تیمار با نانوساختارهای اکسید روی، آسیب اکسیداتیو DNA وابسته به غلظت، منجر به القا فشردگی هسته، قطعه‌قطعه شدن DNA و تشکیل اجسام آپوپتوتیک می‌شود (۵۷). Vallabani و همکاران در مطالعه‌ای که روی نوعی کراتینوسیت انجام دادند نشان دادند ROS تولیدشده ناشی از سمیت با نانوساختار اکسیدروی

تغییراتی در DNA ازجمله قطعه‌قطعه شدن و شکست دو رشته ایجاد می‌کند که درنهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود (۵۸). از سوی دیگر نانوساختارها به‌صورت مستقیم (در اثر تعامل با فاکتورهای رونویسی) و یا غیرمستقیم (در پی آسیب DNA) بر میزان بیان ژن‌های ترمیم مؤثر هستند و یا بااتصال به پروتئین‌های ترمیم باعث غیرفعال شدن آن‌ها می‌شوند و به‌این‌ترتیب نانوساختارهای اکسید روی می‌توانند سیستم ترمیم را نیز تحت تأثیر قرار دهند (۵۹).

به دنبال آسیب ناشی از نانوساختارهای اکسیدروی، تعدادی از ژن‌های مسیرهای آپوپتوزی سلول فعال می‌شوند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، ژن p53 است. طی مطالعه‌ای که kee woei و همکاران انجام دادند نشان داده شد زمانی که p53 فاقد عملکرد باشد آسیب DNA ناشی از نانوساختارهای اکسید روی نمی‌تواند به‌طور مؤثر باعث مرگ سلولی گردد و در مطالعه سلول‌های HepG2 و سلول‌های فیبروبلاست پوستی انسانی به دنبال مواجهه با نانوساختارهای اکسیدروی، قطعه‌قطعه شدن DNA و به دنبال آن فعال شدن ژن‌های پیش آپوپتوزی شامل کاسپاز ۳، bax و P53 مشاهده شد (۶۰).

۲-۶- سمیت اپی ژنتیکی نانوساختارها

نانوساختارها با ورود به هسته می‌توانند باعث تغییر در DNA شوند که نوع این تغییر به نوع کروماتین وابسته است. نانوساختارها با تغییر هتروکروماتین‌ها باعث انقباض و چروک DNA می‌شوند درحالی‌که بر یوکروماتین‌ها اثرات خفیفی دارند. اختلال در هتروکروماتین‌ها می‌تواند باعث ایجاد ساختار ناپایدار و نامناسبی در هسته شود به همین دلیل نانوساختارها به‌عنوان عوامل مؤثر بر اپی ژنتیک معرفی می‌شوند. نانوساختارها همچنین الگوی متیلاسیون DNA را تحت تأثیر قرار داده و همچنین تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌های هیستونی را دچار اختلال می‌کنند (۲۰). در مطالعه‌ای که Gao و همکاران درزمینه اثر نانوساختار اکسید روی بر سلول‌های کراتینوسیت انسانی انجام دادند نشان دادند که این نانوذره موجب افزایش بیان ژن‌های متیل ترانسفراز در سلول‌های تیمار شده و تغییرات اپی ژنتیک می‌شود (۶۱). به‌طورکلی خلاصه‌ای از اثرات سمی نانوساختارها در شکل ۳ آورده شده است.



شکل ۳- اثرات سمی نانوساختارها بر سلول زنده

پس از ورود نانوساختارها به سلول‌ها و مواجهه با اندامک‌ها و ماکرو مولکول‌ها می‌توانند باعث سمیت و مرگ سلولی شوند. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که نانو ساختارها می‌توانند با تغییرات اپی ژنتیکی و ژنومی محرک سرطان باشند.

مطالعات *in vivo*

نانوذرات اکسیدروی به‌صورت مکمل و افزودنی مواد غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرند بنابراین ارزیابی سمیت زایی آن‌ها به‌صورت *in vivo* ضروری است. خوراندن این نانوساختارها به حیوانات آزمایشگاهی، سمیت کلیوی و تجمع در بافت پستانی را نشان داده است (۶۲). همچنین در مطالعه‌ای که بر روی Rat انجام شد پس از گاواژ دهانی این نانوساختارها با سایز ۳۰ - ۲۰

نانومتر به میزان ۳۳۳/۳۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۵ روز انجام شد سمیت خود را به‌صورت آسیب کبد و کلیه نشان داد (۶۳). به نظر می‌رسد که مکانیسم سمیت زایی نانوساختارها در سیستم *in vivo* مشابه *in vitro* بوده و شامل تولید ROS و در پی آن آسیب DNA است. Sharma و همکاران طی ۱۴ روز تیمار موش‌ها با نانوساختارهای اکسیدروی، آسیب DNA و آپوپتوز سلول‌های کبد و کلیه را گزارش کردند. در مطالعه دیگر نشان داده شد که به دنبال تزریق دهانی نانوساختارهای اکسیدروی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آسیب کبد و کلیه صورت گرفت. Cho و همکاران نشان دادند که بعد از خوراندن نانوساختارهای اکسید روی به موش، دفع آن از طریق ادرار صورت می‌گیرد درحالی‌که مطالعات دیگر نشان دادند که دفع آن از طریق مدفوع بیشتر از ادرار است (۶۴). در مطالعه‌ای دیگری که Shen و همکاران بروی موش آزمایشگاهی به‌صورت تزریق دهانی با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۸ روز انجام دادند اختلال در مورفولوژی سلول‌های اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه و کاهش غلظت اسپرم در این لوله‌ها را گزارش دادند و همچنین نشان دادند سطح غلظت هورمون تستوسترون در سرم موش‌های تحت تیمار به‌صورت قابل‌توجهی کاهش پیدا کرد (۶۵).

نانوساختارهای اکسید روی در محیط اسیدی حلالیت بالایی دارد بنابراین امکان جذب آن به‌صورت Zn^{+2} پس از مصرف خوراکی افزایش می‌یابد. یکی دیگر از راه‌های مواجهه با نانوساختارهای اکسیدروی در محیط *in vivo* تزریق داخل وریدی است. مطالعاتی که در این زمینه انجام شد نشان داد که نانوساختارها به‌سرعت از سیستم گردش خون به کمک سلول‌های کوپفر کبد و ماکروفاژهای طحال حذف می‌شوند (۱۴). همچنین برخی از مطالعات مبنی بر این است که بعد از تزریق ریوی نانوساختارها در Rat، تصفیه آن از طریق کلیه به‌سرعت انجام می‌گیرد و موجب افزایش آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند لیپید پراکسید و آلفاتوکفرول در ریه می‌شود. همچنین این مطالعه نشان داده که تجویز استنشاقی این ماده در Rat، منجر به افزایش میزان یون Zn^{+2} شده و اما به مدت طولانی در سطح بالا نمی‌ماند و بعد از چند هفته به میزان اولیه بازمی‌گردد (۶۶). در مطالعه‌ای که Kao و همکاران درزمینه اثر این نانوساختار در سلول‌های ریوی (BAL) و گلبول‌های سفید خون انجام دادند افزایش سطح سیتوزولی و میتوکندریایی Zinc گزارش‌شده است که افزایش Zinc موجب بر هم زدن تعادل آن در سلول شده و باعث ایجاد سمیت ریوی می‌شود. همچنین استنشاق نانوساختارهای اکسیدروی می‌تواند باعث انتقال آن‌ها از طریق پیاز بویایی_ مغزی به سلول‌های سیستم عصبی مرکزی شود (۶۷). پژوهشی که توسط Talebi و همکاران انجام شد سی‌ودو موش نر بالغ NMRI در ۴ گروه آزمایشی (ZNP1-ZNP3) به مدت ۳۵ روز غلظت‌های ۵، ۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوساختار اکسید روی را به‌طور روزانه دریافت کردند (برای گروه کنترل فقط از آب مقطر استفاده شد). نتایج بررسی‌ها، واکوئل دار شدن سلول‌های اپی تلیال و کاهش اندازه این سلول‌ها در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه و همچنین کاهش قطر این لوله‌ها و توقف بلوغ اسپرم‌ها را نشان داد (۴). تحقیق دیگری در سال ۲۰۱۶، در مورد اثر سمی نانوساختارهای اکسید روی که بروی موش آزمایشگاهی انجام شد. نتیجه این تحقیق نشان داد که نانو ساختارها، پس از نفوذ به سلول‌های لایدیگ و سلول‌های سرتولی، (با توجه به غلظت نانوساختارها و زمان انکوباسیون) آپوپتوز را القا می‌کنند و تزریق نانوساختار اکسید روی به موش‌های نر نیز باعث کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش ارتفاع اپی تلیوم این لوله‌ها و واکوئل دار شدن آن‌ها و توقف بلوغ اسپرم می‌شود (۶۸). مطالعات مروری که به‌صورت *in vivo* درزمینه اثرات مواجهه با نانوساختار اکسید روی انجام‌شده، تولید ROS را به‌عنوان مهم‌ترین مسیر سمیت زایی تائید می‌کند (۲۷, ۶۹).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به کاربرد فراوان نانوساختار اکسید روی بررسی سمیت آن ضروری است و مطالعات *in vivo* و *in vitro* اثرات سمی این نانوساختار را در هر دو شرایط تائید می‌کند. از سوی دیگر برای طراحی نانوساختارهای کارآمدتر و با عوارض کمتر، اطلاعات مربوط به مکانیسم اثر آن‌ها موردنیاز است. نانوذره اکسید روی از طریق پوست، استنشاق و گوارش وارد بدن شده و با مکانیسم‌های مختلفی می‌تواند به سلول آسیب وارد کند. نوع مکانیسم اثر به‌طور عمده وابسته به راه ورود آن به بدن، شرایط و ویژگی‌های نانوساختار، نوع سلول هدف و همین‌طور غلظت و زمان مواجهه با آن است. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوساختار شامل پوشش سطحی، ناخالصی‌های یونی و همراهی مولکول‌های خاص مانند پروتئین فسفات می‌تواند به‌طورکلی پتانسیل سمیت زایی آن را تحت تأثیر قرار دهد. انحلال نانوساختار اکسیدروی به‌صورت

خارج سلولی یا داخل سلولی به‌ویژه درون لیزوزوم، موجب بر هم زدن تعادل یونی سلول شده و با تولید ROS می‌تواند در سلول هدف، آثار سمی ایجاد کند. Chang و همکاران با بررسی مطالعات انجام‌شده گزارش دادند که استرس اکسیداتیو ناشی از سمیت نانوذرات اکسیدروی و ROS تولیدشده می‌تواند ماکرومولکول‌های سلول را هدف قرار دهد و به‌صورت لیپیدپراکسیداسیون و اختلال در عملکرد پروتئین‌ها و یا اختلالات و آسیب‌ها و جهش‌هایی که در DNA ایجاد می‌کند، موجب آسیب به سلول هدف شود (۲۷). از دیگر مکانیسم‌های ایجاد سمیت توسط این نانوساختار، ایجاد آپوپتوز در سلول هدف است که در سلول‌های مختلف از مسیرهای متفاوتی فعال می‌شود. در این زمینه مطالعه Ahamed و همکاران که در آدنوکارسینومای آلوئولی انسانی انجام دادند و همین‌طور مطالعه kee woei و همکاران که در سلول‌های فیبروبلاست پوست انسان انجام شد، نشان داد که این نانوذره با فعال کردن و افزایش بیان ژن‌های پیش آپوپتوزی و کاهش بیان ژن‌های آنتی آپوپتوزی موجب آپوپتوز در سلول هدف می‌شود (۶۰, ۷۰). درحالی‌که در مطالعه‌ای که Wang و همکاران در سلول آستروسیت انجام دادند و همچنین مطالعه He و همکاران که در سلول استئوسارکوما انجام دادند نشان داد این نانوساختار در اثر آسیب به میتوکندری سلول هدف، مسیرهای آپوپتوزی مرتبط به آن را فعال می‌نماید (۴۰, ۴۱). در مطالعاتی که Dudev و همکاران و Soenen و همکاران درزمینه نحوه اثر این نانوذره در سلول‌های تحت بررسی انجام دادند اثرات هماهنگی را به‌عنوان مکانیسم تأثیر آن در سلول مطرح نمودند که در اثر تعامل یون روی آزادشده از نانوذرات اکسیدروی با بیومولکول‌های سلول ازجمله DNA و پروتئین‌ها، اختلال در عملکرد آن‌ها ایجاد می‌شود (۴۷, ۴۸). از سوی دیگر این نانوساختار می‌تواند موجب افزایش غلظت Ca^{2+} داخل سلولی و بر هم زدن تعادل هموستازی بدن شده و ایجاد سمیت کند (۵۰). از دیگر راه‌های اعمال اثر و ایجاد سمیت توسط نانوساختار اکسیدروی، فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ التهاب است که به دنبال واکنش نانوذرات با گیرنده‌های مولکولی خاص در سطح سلول، رونویسی ژن‌های سایتوکاین‌های پیش التهابی در سلول هدف صورت گرفته و بیان آن‌ها افزایش می‌یابد. در این زمینه Jeong و همکاران در سلول‌های کراتینوسیت و Tsou و همکاران در سلول‌های اندوتلیال عروق، ترشح TNF-α را گزارش کردند (۵۱, ۵۲) و در مطالعات دیگر ترشح سایتوکاین‌های دیگر نظیر IL-8 (۵۳)، IL-1β (۵۴) و IL-6 (۷۱) در سلول‌های تحت بررسی گزارش‌شده است. آثار سمی این نانوذره در برخی از سلول‌های هدف منجر به سمیت ژنومی و اپی‌ژنتیکی می‌شود که در این زمینه Sharma و همکاران (۵۶) و Wilhelmi و همکاران (۵۷) آسیبی نظیر قطعه‌قطعه شدن DNA که مستقیماً توسط نانوذره ایجاد می‌شود را نشان دادند. Vallabani و همکاران نیز شکست دو رشته DNA را توسط ROS گزارش کردند (۵۸). البته نانوساختار اکسیدروی می‌تواند با آسیب به DNA و ایجاد جهش، بر بیان ژن‌ها، اعمال اثر کند. در این رابطه Carriere و همکاران نشان دادند که این نانوساختار می‌تواند سیستم ترمیم و پروتئین‌های مربوطه را تحت اثر قرار دهد (۵۹). درزمینه آثار اپی‌ژنتیکی Jennifer و همکاران نشان دادند که نانوذره، الگوی متیلاسیون DNA را در سلول هدف تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۰) و Gao و همکاران نشان دادند که نانوساختار اکسیدروی در سلول‌های کراتینوسیت انسانی بیان ژن‌های متیل ترانسفراز را افزایش می‌دهد (۶۱). به‌این‌ترتیب نانوساختار اکسید روی از طریق مکانیسم‌های احتمالی ذیل موجب آسیب در سلول هدف می‌شود: تولید ROS و ایجاد استرس اکسیداتیو، تغییر در فاکتورهای رونویسی، ایجاد پاسخ‌های التهابی، تغییر در ساختار ماکرومولکول‌ها ازجمله پروتئین‌ها و لیپیدهای غشا و همچنین تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی و آپوپتوز. باید توجه داشت که برای تعیین مکانیسم دقیق اثر نانوساختارهای مختلف در سلول‌های هدف نیاز به مطالعات جامع‌تر و دقیق‌تر در این زمینه هست.

تشکر و قدردانی

این طرح توسط پژوهشگاه رویان در قالب طرح‌های پژوهشی شماره ۹۶۰۰۰۰۱۵ و ۹۶۰۰۰۰۱۶ موردحمایت مالی قرارگرفته است. نویسندگان مقاله از کلیه افرادی که به هر نحو در تهیه این مقاله مروری همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1. Warheit DB. How Meaningful are the Results of Nanotoxicity Studies in the Absence of Adequate Material Characterization? Toxicological Sciences. 2008;101(2):183-5.
2. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. Biointerphases. 2007;2(4):MR17-MR71.
3. Safa S, Mokhtari S, Khayatian A, Azimirad R. Improving ultraviolet photodetection of ZnO nanorods by Cr doped ZnO encapsulation process. Optics Communications. 2018;413:131-5.
4. Azimirad R, Khayatian A, Safa S, Kashi MA. Enhancing photoresponsivity of ultra violet photodetectors based on Fe doped ZnO/ZnO shell/core nanorods. Journal of Alloys and Compounds. 2014;615:227-33.
5. Chen X, Schluesener HJ. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. Toxicology letters. 2008;176(1):1-12.
6. Hanley C, Layne J, Punnoose A, Reddy K, Coombs I, Coombs A, et al. Preferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles. Nanotechnology. 2008;19(29):295103.
7. Ruenraroengsak P, Kiryushko D, Theodorou IG, Klosowski MM, Taylor ER, Niriella T, et al. Frizzled-7-targeted delivery of zinc oxide nanoparticles to drug-resistant breast cancer cells. Nanoscale. 2019;11(27):12858-70.
8. Zhang P, Liu W. ZnO QD@ PMAA-co-PDMAEMA nonviral vector for plasmid DNA delivery and bioimaging. Biomaterials. 2010;31(11):3087-94.
9. Hanley C, Thurber A, Hanna C, Punnoose A, Zhang J, Wingett DG. The Influences of Cell Type and ZnO Nanoparticle Size on Immune Cell Cytotoxicity and Cytokine Induction. Nanoscale Research Letters. 2009;4(12):1409.
10. Bonfanti P, Moschini E, Saibene M, Bacchetta R, Rettighieri L, Calabri L, et al. Do nanoparticle physico-chemical properties and developmental exposure window influence nano ZnO embryotoxicity in Xenopus laevis? International journal of environmental research and public health. 2015;12(8):8828-48.
11. Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DCC, Martínez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén AdJP, et al. The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver ,zinc oxide, and gold. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2008;4(3):237-40.
12. Gupta J, Bahadur D. Defect-mediated reactive oxygen species generation in Mg-substituted ZnO nanoparticles: efficient nanomaterials for bacterial inhibition and cancer therapy. ACS omega. 2018;3(3):2956-65.
13. Yu D, Zhang Y, Zhou X, Mao Z, Gao C. Influence of surface coating of PLGA particles on the internalization and functions of human endothelial cells. Biomacromolecules. 2012;13(10):3272-82.
14. Sharifi S, Behzadi S, Laurent S, Forrest ML, Stroeve P, Mahmoudi M. Toxicity of nanomaterials. Chemical Society Reviews. 2012;41(6):2323-43.
15. Ivask A, Juganson K, Bondarenko O, Mortimer M, Aruoja V, Kasemets K, et al. Mechanisms of toxic action of Ag, ZnO and CuO nanoparticles to selected ecotoxicological test organisms and mammalian cells in vitro: a comparative review. Nanotoxicology. 2014;8(sup1):57-71.
16. Shang L, Nienhaus K, Jiang X, Yang L, Landfester K, Mailänder V, et al. Nanoparticle interactions with live cells: quantitative fluorescence microscopy of nanoparticle size effects. Beilstein journal of nanotechnology. 2014;5:2388.
17. Powers KW, Palazuelos M, Moudgil BM, Roberts SM. Characterization of the size, shape, and state of dispersion of nanoparticles for toxicological studies. Nanotoxicology. 2007;1(1):42-51.
18. Sheydaei P, Bayrami A, Azizian Y, Parvinroo S. Study on the toxicity effects of zinc oxide nanoparticles on hematological and serum parameters in mice. Majallah-i dānishgāh-i ʻulūm-i pizishkī-i Arāk. 2017;19(10):39-47.
19. Liu Q, Xu C, Ji G, Liu H, Mo Y, Tollerud DJ, et al. Sublethal effects of zinc oxide nanoparticles on male reproductive cells. Toxicology in Vitro. 2016;35:131-8.
20. Jennifer M, Maciej W. Nanoparticle technology as a double-edged sword: cytotoxic, genotoxic and epigenetic effects on living cells. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 2013;4(01):53.
21. Shalini D, Senthilkumar S, Rajaguru P. Effect of size and shape on toxicity of zinc oxide (ZnO) nanomaterials in human peripheral blood lymphocytes. Toxicology mechanisms and methods. 2018;28(2):87-94.
22. Horie M, Nishio K, Fujita K, Endoh S, Miyauchi A, Saito Y, et al. Protein adsorption of ultrafine metal oxide and its influence on cytotoxicity toward cultured cells. Chemical research in toxicology. 2009;22(3):543-53.
23. Borm PJ, 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(1):11.
24. Yung MM, Fougères P-A, Leung YH, Liu F, Djurišić AB, Giesy JP, et al. Physicochemical characteristics and toxicity of surface-modified zinc oxide nanoparticles to freshwater and marine microalgae. Scientific reports. 2017;7(1):15909.

25. Saptarshi SR, Duschl A, Lopata AL. Biological reactivity of zinc oxide nanoparticles with mammalian test systems: an overview. Nanomedicine. 2015;10(13):2075-92.
26. Borm P, Klaessig FC, Landry TD, Moudgil B, Pauluhn Jr, Thomas K, et al. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. Toxicological Sciences. 2006;90(1):23-32.
27. Chang Y-N, Zhang M, Xia L, Zhang J, Xing G. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. Materials. 2012;5(12):2850-71.
28. Cheng Q, Feng J, Chen J, Zhu X, Li F. Brain transport of neurotoxin-I with PLA nanoparticles through intranasal administration in rats: a microdialysis study. Biopharmaceutics & drug disposition. 2008;29(8):.۹-۴۳۱
29. Liu J, Feng X, Wei L, Chen L, Song B, Shao L. The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles. Critical reviews in toxicology. 2016;46(4):348-84.
30. Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran AA, de Aberasturi DJ, de Larramendi IR, Rojo T, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. Trends in biotechnology. 2012;30(10):499-511.
31. Spisni E, Seo S, Joo SH, Su C. Release and toxicity comparison between industrial-and sunscreen-derived nano-ZnO particles. International journal of environmental science and technology. 2016;13(10):2485-94.
32. Brayner R, Dahoumane SA, Yéprémian C, Djediat C, Meyer M, Couté A, et al. ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. Langmuir. 2010;26(9):6522-8.
33. Mokhtari S, Safa S ,Khayatian A, Azimirad R. Effects of Chromium Dopant on Ultraviolet Photoresponsivity of ZnO Nanorods. Journal of Electronic Materials. 2017;46(7):4250-5.
34. Zare M, Safa S, Azimirad R, Mokhtari S. Graphene oxide incorporated ZnO nanostructures as a powerful ultraviolet composite detector. Journal of Materials Science: Materials in Electronics. 2017;28(9):6919-27.
35. Chen S, Liu Y, Shao C, Mu R, Lu Y, Zhang J, et al. Structural and optical properties of uniform ZnO nanosheets. Advanced Materials. 2005;.۹۰-۵۸۶:(۵)۱۷
36. Song W, Zhang J, Guo J, Zhang J, Ding F, Li L, et al. Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. Toxicology letters. 2010;199(3):389-97.
37. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. Fertility and sterility. 2003;79(4):829-43.
38. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, et al. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. Nano-Micro Letters. 2015;7(3):219-42.
39. Song W-J, Jeong M-S, Choi D-M, Kim K-N, Wie M-B. Zinc Oxide Nanoparticles Induce Autophagy and Apoptosis via Oxidative Injury and Pro-Inflammatory Cytokines in Primary Astrocyte Cultures. Nanomaterials. 2019;9(7):1043.
40. Wang J, Deng X, Zhang F, Chen D, Ding W. ZnO nanoparticle-induced oxidative stress triggers apoptosis by activating JNK signaling pathway in cultured primary astrocytes. Nanoscale research letters. 2014;9(1):117.
41. He G, Ma Y, Zhu Y, Yong L, Liu X, Wang P, et al. Cross talk between autophagy and apoptosis contributes to ZnO nanoparticle-induced human osteosarcoma cell death. Advanced healthcare materials. 2018;7(17):1800332.
42. Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement ,and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. 2005.
43. Das J, Choi Y-J, Song H, Kim J-H. Potential toxicity of engineered nanoparticles in mammalian germ cells and developing embryos: treatment strategies and anticipated applications of nanoparticles in gene delivery. Human reproduction update. 2016;22(5):588-619.
44. Kirkinezos IG, Moraes CT, editors. Reactive oxygen species and mitochondrial diseases. Seminars in cell & developmental biology; 2001: Elsevier.
45. Saliani M, Jalal R, Goharshadi EK. Mechanism of oxidative stress involved in the toxicity of ZnO nanoparticles against eukaryotic cells. Nanomedicine Journal. 2016;3(1):1-14.
46. Adibhatla RM, Hatcher JF. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. Antioxidants & redox signaling. 2010;12(1):125-69.
47. Dudev T, Lim C. Metal binding affinity and selectivity in metalloproteins: insights from computational studies. Annu Rev Biophys. 2008;37:97-116.
48. Soenen SJ, Himmelreich U, Nuytten N, Pisanic TR, Ferrari A, De Cuyper M. Intracellular nanoparticle coating stability determines nanoparticle diagnostics efficacy and cell functionality. Small. 2010;6(19):2136-45.
49. Miller IS, Lynch I, Dowling D, Dawson KA, Gallagher WM. Surface-induced cell signaling events control actin rearrangements and motility. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2010;93(2):493-504.
50. Brown D, Donaldson K, Borm P, Schins R, Dehnhardt M, Gilmour P, et al. Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF-α cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 2004;286(2):L344-L53.

51. Jeong SH, Kim HJ, Ryu HJ, Ryu WI, Park Y-H, Bae HC, et al. ZnO nanoparticles induce TNF-α expression via ROS-ERK-Egr-1 pathway in human keratinocytes. Journal of dermatological science. 2013;72(3):263-73.
52. Tsou T-C, Yeh S-C, Tsai F-Y, Lin H-J, Cheng T-J, Chao H-R, et al. Zinc oxide particles induce inflammatory responses in vascular endothelial cells via NF-κB signaling. Journal of hazardous materials. 2010;183(1-3):182-8.
53. Wu W, Samet JM, Peden DB, Bromberg PA. Phosphorylation of p65 is required for zinc oxide nanoparticle–induced interleukin 8 expression in human bronchial epithelial cells. Environmental health perspectives. 2010;118(7):982.
54. Palomäki J, Karisola P, Pylkkänen L, Savolainen K, Alenius H. Engineered nanomaterials cause cytotoxicity and activation on mouse antigen presenting cells. Toxicology. 2010;267(1-3):125-31.
55. Hu H, Guo Q, Fan X, Wei X, Yang D, Zhang B, et al. Molecular mechanisms underlying zinc oxide nanoparticle induced insulin resistance in mice. Nanotoxicology. 2019:1-18.
56. Sharma V, Shukla RK, Saxena N, Parmar D, Das M, Dhawan A. DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. Toxicology letters. 2009;185(3):211-8.
57. Wilhelmi V, Fischer U, Weighardt H, Schulze-Osthoff K, Nickel C, Stahlmecke B, et al. Zinc oxide nanoparticles induce necrosis and apoptosis in macrophages in a p47phox-and Nrf2-independent manner. PloS one. 2013;8(6):e65704.
58. Vallabani NS, Sengupta S, Shukla RK, Kumar A. ZnO nanoparticles-associated mitochondrial stress-induced apoptosis and G2/M arrest in HaCaT cells: a mechanistic approach. Mutagenesis. 2019;34(3):265-77.
59. Carriere M, Sauvaigo S, Douki T, Ravanat J-L. Impact of nanoparticles on DNA repair processes: current knowledge and working hypotheses. Mutagenesis. 2016;32(1):203-13.
60. Ng KW, Khoo SP, Heng BC, Setyawati MI, Tan EC, Zhao X, et al. The role of the tumor suppressor p53 pathway in the cellular DNA damage response to zinc oxide nanoparticles. Biomaterials. 2011;32(32):8218-25.
61. Gao F, Ma N, Zhou H, Wang Q, Zhang H, Wang P, et al. Zinc oxide nanoparticles-induced epigenetic change and G2/M arrest are associated with apoptosis in human epidermal keratinocytes. International journal of nanomedicine. 2016;11:3859.
62. Jo E, Seo G, Kwon J-T, Lee M, cheun Lee B, Eom I, et al. Exposure to zinc oxide nanoparticles affects reproductive development and biodistribution in offspring rats. The Journal of toxicological sciences. 2013;38(4):525-30.
63. Esmaeillou M, Moharamnejad M, Hsankhani R, Tehrani AA, Maadi H. Toxicity of ZnO nanoparticles in healthy adult mice. Environmental toxicology and pharmacology. 2013;35(1):67-71.
64. Sharma V, Singh P, Pandey AK, Dhawan A. Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2012;745(1):84-91.
65. Shen J, Yang D, Zhou X, Wang Y, Tang S, Yin H, et al. Role of Autophagy in Zinc Oxide Nanoparticles-Induced Apoptosis of Mouse LEYDIG Cells. International journal of molecular sciences. 2019;20(16):4042.
66. Fukui H, Horie M, Endoh S, Kato H, Fujita K, Nishio K, et al. Association of zinc ion release and oxidative stress induced by intratracheal instillation of ZnO nanoparticles to rat lung. Chemico-biological interactions. 2012;198(1-3):29-37.
67. Kao Y-Y, Cheng T-J, Yang D-M, Wang C-T, Chiung Y-M, Liu P-S. Demonstration of an olfactory bulb–brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent cells in vitro and in vivo. Journal of Molecular Neuroscience. 2012;48(2):464-71.
68. Han Z, Yan Q, Ge W, Liu Z-G, Gurunathan S, De Felici M, et al. Cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on mouse testicular cells. International journal of nanomedicine. 2016;11:5187.
69. Ma H, Williams PL, Diamond SA. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles–a review. Environmental Pollution. 2013;172:76-85.
70. Ahamed M, Akhtar MJ, Raja M, Ahmad I, Siddiqui MKJ, AlSalhi MS, et al. ZnO nanorod-induced apoptosis in human alveolar adenocarcinoma cells via p53, survivin and bax/bcl-2 pathways: role of oxidative stress. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2011;7(6):904-13.
71. Lenz A-G, Karg E, Brendel E, Hinze-Heyn H, Maier KL, Eickelberg O, et al. Inflammatory and oxidative stress responses of an alveolar epithelial cell line to airborne zinc oxide nanoparticles at the air-liquid interface: a comparison with conventional, submerged cell-culture conditions. BioMed research international. 2013;2013.

Review Article

Mechanisms of the Effects of Zinc Oxide Nanostructures on Living Cells

Javadi A[1], Farzaneh M[2], Mokhtari S [3], Azimirad R[4],Esfandiari F[5*], Gourabi H[6*]

1. Department of Genetic, Faculty of Basic Science and Advanced Technologies, University of Science and Culture, Royan Institute, Tehran, Iran
2. Department of Cell & Molecular Biology, Faculty of basic science and advanced technologies, University of Science and Culture, Royan Institute, Tehran, Iran
3. Department of Physics, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
4. Department of Physics, Sharif University of Technology, Tehran, Iran
5. Department of Cell & Molecular Biology, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran
6. Department of Genetics, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran

Received: 26 May 2019 Accepted: 19 Nov 2019

Abstract

Nowadays, nanotechnology and nanostructures, which are particles smaller than 100 nm in size at least in one dimension, are being widely used in various industries and consumer products, biomedical applications and environments. Unique properties of Zinc oxide (ZnO) nanostructures offer technological advantages for a variety of industrial and consumer products as well as show promise for biomedical application. They are used as an antibacterial agent in food packaging, such as UV absorbent in cosmetics and sunscreens. However, high concentrations of ZnO nanostructures have toxic effects on living organisms. The toxic effect of these nanostructures depends on target cell type, size, structure, and surface properties of nanostructures, as well as exposure routes. In this article, we discuss the toxic effect of ZnO nanostructures and different mechanisms including ROS production and the resulting oxidative stress, genomic toxicity, changes in gene expression and following protein production, epigenetic changes and inflammatory responses and apoptosis. Also, we will mention many *in vivo* studies about this nanoparticle.

Keywords: Nanotechnology, Zinc Oxide, Free radicals of Oxygen, Toxicity, Apoptosis

***Corresponding Author: Gourabi Hamid**, Department of Genetics, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran
Email: gourabi@royaninstitute.org
https://orcid.org/0000-0001-7277-4898
*** Corresponding Author: Esfandiari Fereshteh,** Department of Cell & Molecular Biology, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran
Email: esfandiari65f@gmail.com
https://orcid.org/ 0000-0003-3785-3149

Journal of Fasa University of Medical Sciences 10 (2020): 1998-2011