

## بررسی اثرات سمیتی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر پارامترهای خونی و سرمی موش سفید آزمایشگاهی



پروین شیدایی، ابوالفضل بایرامی\* و سمیرا اربابی

ایران، اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۴

### چکیده

با پیشرفت فناوری نانو و کاربردهای گسترده نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در صنایع مختلف، نگرانی در مورد اثرات سمیتی آن‌ها بر محیط‌زیست و سلامتی انسان وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سمیتی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر پارامترهای خونی و سرمی در موش است. در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش سوری نر نژاد بلب سی، به چهار گروه شامل یک گروه شاهد و سه گروه آزمایشی تقسیم شدند. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بمدت ۱۴ روز بصورت دهانی به موش‌ها خوراندند. در پایان دوره، میزان پارامترهای خونی و سرمی اندازه‌گیری شدند. نتایج حاصل افزایش قابل توجهی در میزان سلول‌های سفید خون در گروه دریافت‌کننده از تمام غلظت‌های نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ولی در تعداد گلبول‌های قرمز کاهش مشاهده گردید. میزان هموگلوبین، MCV و نوتروفیل‌ها در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری را نشان داد ولی میزان پلاکت‌ها، هماتوکریت، لنفوسیت‌ها، گلوکز و کراتینین بصورت معنی‌داری کاهش یافتند ( $P < 0.05$ ). یافته‌ها نشان داد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب اثرات مضر در پارامترهای خونی و سرمی بصورت وابسته به دوز می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، پارامترهای خونی، پارامترهای سرمی، موش

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۴۵۵۹۹۵۴، پست الکترونیکی: abolfazlbayrami@gmail.com

### مقدمه

نانوذرات باتوجه به عملکرد نوری و الکتریکی خاص خود، دارای طیف گسترده‌ای از برنامه‌های کاربردی در زمینه‌های بسیاری از ابزار تشخیصی و درمانی هستند (۱۰). تیتانیوم از جمله فلزاتی هستند که بطور گسترده‌ای استفاده می‌شوند و نهمین عنصر فراوان روی پوسته زمین می‌باشد که می‌تواند وارد زنجیره غذایی بعنوان سفیدکننده در محصولات لبنی، شکلات، پودر شیر، محصولات سویا، سوسیس و سایر مواد شده است. برآورد شده که روزانه حدود ۳۰۰ میلی‌گرم تیتانیوم در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۳). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در حال حاضر به‌صورت صنعتی در

فناوری‌های نانو با ایجاد مواد جدید، امید جدیدی برای مهندسی محیط‌زیست برای مقابله با آلودگی محیط‌زیست را فراهم نموده است (۲۲). با این حال قرارگرفتن مصرف‌کنندگان و گروه‌های حساس در معرض آن‌ها، نگرانی در مورد تولید و استفاده از آن‌ها را افزایش می‌دهد (۱۴). با گذر از میکروذرات به نانوذرات، برخی خواص فیزیکی از جمله نسبت سطح به حجم و رسیدن به قلمرو و اثرات کوانتومی تغییر خواهد کرد. افزایش سطح نسبت به حجم موجب برتری رفتار اتم‌های خارجی نسبت به اتم‌های داخلی می‌شود. این رفتار بر خواص شیمیایی ذرات تأثیر می‌گذارد (۱۹).

## مواد و روشها

**حيوانات:** اين مطالعه از نوع تجربي بود. تعداد ۲۸ سر موش سفيد نر نژاد بالب سي، با وزن ۳۵-۴۰ گرم از خانه حيوانات دانشكده دامپزشكي دانشگاه تهران خريداري شدند. حيوانات در قفس‌هاي مخصوص و بر بستري از پوشال در شرايط کنترل‌شده (درجه حرارت  $22 \pm 1$  درجه سلسيوس و رطوبت نسب  $60 \pm 10$ ، شرايط نوري ۱۲ ساعت روشنايي و ۱۲ ساعت تاريكي) با دسترسي آسان به آب و غذاي كافي نگهداري شدند. حقوق حيوانات براساس دستورالعمل‌هاي كميته‌هاي اخلاقي دانشگاه محقق اردبيلي رعايت گرديد.

جهت انجام اين مطالعه نانوذرات دي‌اكسيد تيتانيوم با ميانگين قطر ۲۰ نانومتر و با خلوص ۹۹٪ و به رنگ سفيد از پيش‌گامان نانومواد مشهد خريداري شد و در آب مقطر (۰/۳ ميلي‌ليتر) تحت امواج فراصوت بمدت ۲۰ دقيقه حل گرديد.

**گروه‌هاي آزمايشي:** حيوانات موردنظر بصورت تصادفي در چهار گروه ۷ سرى تقسيم شدند كه شامل گروه شاهد كه به ميزان ۰/۳ ميلي‌ليتر آب مقطر دريافت كردند. گروه دوم، سوم و چهارم بترتيب ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ ميلي‌گرم بر كيلوگرم نانوذرات دي‌اكسيد تيتانيوم به ازاي وزن بدن دريافت كردند. تزريقات بمدت ۱۴ روز پشت سر هم بصورت دهاني تكرر شد (۲۴). در پايان مطالعه حيوانات با كتامين و زايلازين بيهوش شدند. خونگيري از طريق قطع سر (بدون آسيب‌هاي متابوليكي صورت مي‌گيرد). انجام گرفت.

**آزمائش‌ات خوني:** نمونه خون در داخل لوله‌آزمائش حاوي هپارين جمع‌آوري شد. سپس فاكترهاي خوني شامل سلول‌هاي سفيد خون، درصد لنفوسيت‌ها، درصد مونوسيت‌ها، درصد نوتروفيل‌ها، تعداد سلول‌هاي قرمز، هموگلوبين، هماتوكريت، پلاكت، MCV، MCH و

محصولات متعدد مصرفي از جمله رنگ‌ها، مواد غذايي، مواد آرايشي و بهداشتي (۱۳)، خميردندان و ضدعفوني‌كننده‌هاي محيط‌زيست مورد استفاده قرار مي‌گيرد (۱۴) همچنين در درمان تومور، دارورساني و انتقال ژن به سلول‌ها و بافت‌ها استفاده مي‌شود (۲۷). شواهد زيادي در مورد خطرات بالقوه‌ي نانوذرات دي‌اكسيد تيتانيوم بر سلامتي و محيط‌زيست بدليل خواص فيزيكوشيميايي از جمله شكل، اندازه، ويژگي‌هاي سطحي و ساختار دروني آن‌ها وجود دارد (۲۰). اين ذرات از طرق مختلف از جمله استنشاق، نفوذ پوستي و خوراكي وارد بدن مي‌شوند (۸). در دستگاه گوارش توسط بافت لنفاوي روده جذب شده و وارد رگ خوني مي‌شود و براحتي در سراسر بدن توزيع شده و ممكن است به غشاي سلولي نفوذ كرده و وارد ميتوكندري شوند و در مسيرهاي انرژي ميتوكندري شامل فسفويلاسيون اكسيداتيو و گليكوليز اختلال ايجاد كرده و در نتيجه گونه‌هاي فعال اكسيژن ايجاد شده موجب آسيب اكسيداتيو در بدن مي‌شود (۱۰). خون يك شاخص مفيد در ارزيابي سلامت عمومي انسان است و شاخص‌هاي خون‌شناسي بعنوان ابزار تشخيص براي بررسي تغييرات فيزيولوژيكي، پاتولوژيكي و متابوليكي در سيستم‌هاي زنده استفاده مي‌شوند زيرا سيستم گردش خون در ارتباط با محيط خارجي قرار دارند (۲۳). در حال حاضر خطرات بالقوه غلظت‌هاي بالاي نانوذرات دي‌اكسيد تيتانيوم و اثرات آن بر فاكترهاي خوني كه نقش اصلي در ايمني، انتقال گازهاي تنفسي و اعمال متابوليكي در بدن دارند در فاصله زماني مختلف كمتر شناخته شده است. همچنين باتوجه به کاربردهاي زياد نانو مواد در صنايع مختلف و همچنين تاثيرات مخرب نانوذرات بر روي موجود زنده پژوهش در اين زمينه اهميت زيادي دارد. از اين رو در اين پژوهش اثرات نانوذرات دي‌اكسيد تيتانيوم بر فاكترهاي خوني و سرمي موش مورد ارزيابي قرار گرفت.

MCHC توسط سل کانت (SYSMEX KX-2, Japan) اندازه‌گیری شد.

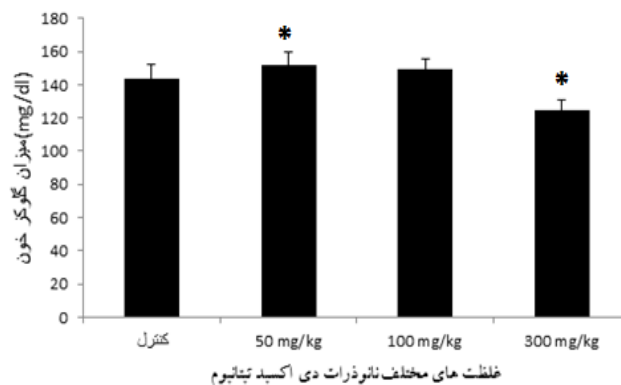
**آزمایشات سرمی:** نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شد. نمونه خون برای لخته شدن بمدت یک ساعت در دمای آزمایشگاهی قرار گرفت. سپس نمونه‌ها بمدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد. بعد از جداسازی سرم از لخته خون بوسیله سمپلر، میزان گلوکز و کراتینین با دستگاه اتوآنالایزر و کیت‌های گلوکز و کراتینین شرکت نوین آزما پژوهان اندازه‌گیری شدند.

**آنالیز آماری:** نتایج بدست آمده در این تحقیق بصورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد (Mean $\pm$ SEM) ارائه شده است. برای مقایسه داده‌های بدست آمده از نرم‌افزار آماری SPSS و آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون تعقیبی دانکن استفاده گردید (۲۸) و سطح  $P < 0.05$  از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

## نتایج

در مطالعه حاضر سمیت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر پارامترهای خونی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل تغییرات قابل‌ملاحظه‌ای را در میزان پارامترهای خونی نشان داد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، میزان سلول‌های سفید خون با افزایش غلظت نانوذرات، افزایش یافت. و این افزایش در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر

کیلوگرم نسبت به گروه کنترل معنادار است. میزان سلول‌های قرمز خون در تمامی گروه‌ها نسبت به گروه کنترل با افزایش غلظت نانوذرات کاهش یافت و این کاهش در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییرات معناداری را در سطح ( $P < 0.05$ ) نشان داد. میزان هموگلوبین و MCV با افزایش غلظت نانوذرات افزایش یافت و این افزایش در ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل معنادار است. میزان پلاکت در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معناداری را نشان می‌دهد. میزان هماتوکریت در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معناداری را در سطح ( $P < 0.05$ ) نشان داد. تعداد لنفوسیت‌ها در غلظت‌های بالا (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بصورت معنادار کاهش یافت. تعداد نوتروفیل‌ها در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معناداری را در سطح ( $P < 0.05$ ) نشان داد. (جدول ۱). بررسی تغییرات میزان گلوکز خون موش‌های در معرض نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در نمودار ۱ نشان می‌دهد که میزان گلوکز در غلظت‌های پایین افزایش یافته و این افزایش نسبت به گروه کنترل در سطح  $P < 0.05$  معنادار است. در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معناداری را در سطح  $P < 0.05$  نسبت به گروه کنترل نشان داد. (نمودار ۱)



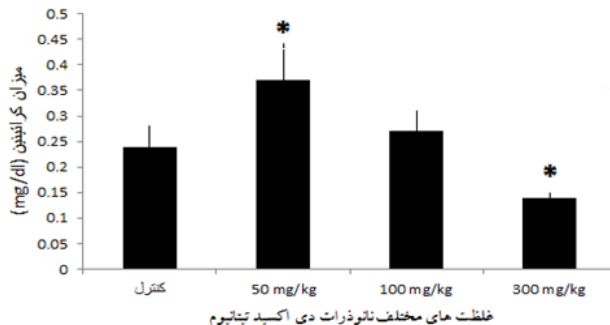
نمودار ۱- بررسی تغییرات میزان گلوکز خون در گروه‌های کنترلی و آزمایشی دریافت‌کننده نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

جدول ۱- غلظت فاکتورهای خونی در گروه شاهد و آزمایشی دریافت کننده نانوذرات دی اکسید تیتانیوم

پارامترهای خونی	کنترل	50 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg
WBC( $10^3/\mu$ )	4 ± 0.7	4.9 ± 0.7	6.7 ± 4.1*	7.8 ± 1.3
RBC( $10^6/\mu$ )	7.8 ± 0.2	7.2 ± 0.3	6.7 ± 0.3*	5.9 ± 0.5*
HGB(g/dl)	14.91 ± 1.26	14.26 ± 1.31	15.1 ± 1.21	15.5 ± 1.41*
PLT* $10^3$ ( $10^3/\mu$ )	820.3 ± 82.2	830.4 ± 120.3	771.1 ± 101.9	750.2 ± 131.9*
HCT(%)	34.8 ± 0.8	38.8 ± 0.6	29.9 ± 0.7*	26.1 ± 0.1*
MCV(fL)	42.3 ± 1.7	46.2 ± 0.8	49.3 ± 1.6	51.2 ± 0.7*
MCH(pg)	15 ± 0.4	14.7 ± 0.5	15.4 ± 0.6	16.1 ± 0.4
MCHC(g/dl)	31 ± 0.7	37 ± 0.8*	32.2 ± 0.6	30.9 ± 0.4
Lym(%)	58 ± 6.2	60 ± 3.1	56.45 ± 4.01	51 ± 3.32*
Mono(%)	2.21 ± 1.06	2.66 ± 2.09	3.1 ± 1.05	2.24 ± 1.09
Neutro(%)	39.71 ± 6.01	37.11 ± 5.24	40.23 ± 4.65	47.43 ± 2.54*

میانگین داده‌ها ± انحراف معیار. \* تفاوت معنادار بین گروه کنترل و تیمار (P < 0.05)

میزان کراتینین در غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معناداری و در غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معناداری را نسبت به گروه کنترل در سطح P < 0.05 نشان داد (نمودار ۲).



نمودار ۲- بررسی تغییرات میزان کراتینین خون در گروه‌های کنترلی و آزمایشی دریافت کننده نانوذرات دی اکسید تیتانیوم

## بحث

خون در بافت‌های بدن توزیع می‌شوند (۱). هنگامی که نانوذرات وارد جریان خون می‌شوند بلافاصله با پروتئین‌های پلاسما و سلول‌های ایمنی بدن، فاکتورهای انعقادی، پلاکت‌ها و سلول‌های خونی تعامل می‌کنند و موجب فعالیت‌های متعدد مانند کاهش یا افزایش تعداد سلول‌های خونی، خواص ضد میتوزی، تحریک استرس اکسیداتیو، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلول و افزایش تعداد سلول‌های درگیر در فرایندهای ایمنی می‌گردند

نانوذرات می‌توانند یکی از عوامل ایجادکننده سمیت در خون باشند. ورود نانوذرات اکسید فلزی در محیط‌زیست و زنجیره مواد غذایی قرارگرفتن در معرض آن‌ها را افزایش داده و ممکن است بر سلامتی تأثیر بگذارند (۶). نانوذرات بدلیل داشتن اندازه فوق‌العاده کوچک، مشکل چندانی برای عبور از سد‌های فیزیولوژیکی درون بدن نداشته باشند و به‌این‌ترتیب بطور موثر از راه رگ‌های

(۷ و ۱۱). جهت ارزیابی تغییرات میزان فاکتورهای خونی، در پژوهش حاضر اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با قطر ۲۰ نانومتر را بصورت دهانی و اندازه‌گیری میزان فاکتورهای خونی و سرمی مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نتایج حاصل میزان سلول‌های سفید خون، نوتروفیل و مونوسیت در مقایسه با گروه کنترل در غلظت بالای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت. ولی میزان لنفوسیت‌ها کاهش یافت. مطالعات نشان می‌دهد نانوذرات بدلیل سطح بزرگتر و در نتیجه نفوذ بیشتر به غشای سلول در غلظت‌های بالاتر، می‌توانند به میتوکندری سلول‌های سفید خون نفوذ کرده و در فعالیت آنزیمی آن‌ها اختلال ایجاد کنند (۷). همچنین این ذرات در مونوسیت‌های خون محیطی باعث تولید اینترلوکین ۱ شده و آن‌ها را فعال می‌کند و موجب فعال شدن فاکتورهای پیش التهابی می‌شوند. گونه‌های فعال اکسیژن تولیدشده توسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب شکست DNA در لنفوسیت‌ها شده و از رونویسی آن جلوگیری می‌کند (۲۰). نتایج مطالعات نشان داد که نانوذرات از طریق فاگوسیتوز وارد لنفوسیت‌ها می‌شوند و در سیتوپلاسم پراکنده شده و موجب ایجاد التهاب می‌گردند (۱۹). همچنین گونه‌های فعال اکسیژن که توسط نانوذرات تولید می‌شوند موجب مهار N-استیل سیستئین لنفوسیت‌ها شده و به DNA آسیب وارد می‌کند و حیات سلول را کاهش می‌دهد (۱۵). محققان دیگر گزارش کردند که نانوذرات موجب فعال شدن آنزیم‌های کاسپازی میتوکندریایی بخصوص کاسپاز ۳ در سلول‌های سرطانی لنفاوی می‌شود و باعث مرگ سلولی یا آپوپتوز در آن‌ها می‌گردند (۷). در تحقیقی که توسط داوون و همکاران انجام گرفته است، تجویز داخل معدی با دوز بالای نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم موجب کاهش تکثیر لنفوسیت‌ها می‌شود و در عملکرد ایمنی موش اختلال ایجاد کرده و پاسخ ایمنی را مهار می‌کند (۹). در بسیاری

از موارد تنش‌های فیزیولوژیک می‌تواند منجر به کاهش تعداد لنفوسیت‌ها و افزایش نسبت نوتروفیل‌ها شود. از طرف دیگر در اثر غلظت‌های بالای نانوذرات تعداد نوتروفیل‌ها بمنظور فاگوسیتوز ذرات ورودی به بدن افزایش می‌یابد (۲). واسانتاراجا و همکاران نشان دادند استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب کاهش میزان لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها در غلظت‌های بالا می‌شود (۲۳). یو و همکاران در پژوهشی در سال ۲۰۱۳ اثبات کردند که میزان گلبول‌های سفید خون در موش‌های دریافت‌کننده نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بدلیل ضایعات ایجادشده در طحال و کبد کاهش می‌یابد (۲۴). مطالعات صورت گرفته توسط حبیبیان و همکاران نشان داد که میزان سلول‌های سفید خون و لنفوسیت‌ها در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۱۵ روز کاهش یافته است (۱۲). در این مطالعه میزان سلول‌های قرمز، پلاکت، همتوکریت بصورت معناداری کاهش یافتند. همچنین نانوذرات می‌توانند به سیستم عروقی وارد شده و با سلول‌های خونی تعامل داشته باشند و اثرات منفی بر ساختار فیزیولوژیکی سلول‌ها ایجاد کنند در نتیجه می‌توانند سلول‌های خونی بخصوص سلول‌های قرمز خون را کاهش دهند. از طرف دیگر قطر بسیار کمتر نانوذرات باعث واکنش‌پذیری بیشتر آن‌ها شده و اثرات مولکولی را در سلول افزایش می‌دهد (۲۳). افزایش واکنش‌پذیری اکسیدکننده‌ها، اتم اکسیژن را از اسید چرب حذف کرده و منجر به پراکسیداسیون لیپیدی غشا می‌شود در نتیجه موجب تغییر در نفوذپذیری غشا و سیالیت آن‌ها می‌گردد (۲۵) این عوامل به غشای سلولی آسیب وارد کرده و سطح آنتی‌اکسیدانی گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌گردد (۱۷). رادیکال‌های اکسیژن باعث شکست زنجیره DNA و اکسیداسیون پروتئین می‌شود (۲۵). استرس اکسیداتیو ایجادشده توسط نانوذرات موجب تغییر شکل و از دست

دادن حالت ارتجاعی غشا و انعطاف‌پذیری، تورم و افزایش حجم و در نهایت آسیب به غشا می‌شود (۲۱). همچنین اثرات منفی بر ساختار فیزیولوژی سلول‌ها، متابولیسم اکسیداتیو، ساختار چربی غشا و عملکرد آن گذاشته و موجب همولیز می‌گردد (۷). مطالعات صورت گرفته بیانگر این است که افزایش غلظت هموگلوبین می‌تواند بدلیل کاهش حجم پلاسما باشد (۳). کاهش قابل‌توجه سلول‌های قرمز خون ناشی از نانوذرات در غلظت‌های بالای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش قابل‌توجهی در محتوای اکسیژن خون می‌شود پس از آن ممکن است متابولیسم و پاسخ‌های ایمنی را کاهش دهد. مطالعات محققان نشان داد، MCV بدلیل وقفه در دوره میتوزی و آسیب به DNA افزایش می‌یابد (۲۳). دوان و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که کاهش سلول‌های قرمز خون و افزایش MCV در اثر کم‌خونی ناشی از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ایجاد می‌شود (۹). رضایی زارچی بیان کرد که نانوقره باتوجه به غلظت استفاده‌شده از آن توانست بطور مؤثری در عملکرد انعقادی پلاکت‌ها از جمله تجمع پلاکت‌ها و چسبیدن پلاکت‌ها به همدیگر اختلال ایجاد کنند که مربوط به تغییر ساختمانی اینتگرین سطح پلاکت و فسفوپروتئین موجود در پلاکت‌ها است. نانوذرات نقره می‌توانند بداخل پلاکت‌ها نفوذ کرده و فضاهای واکوئولی و گرانول‌ها را اشغال نموده و مانع گسترش هیالوپلاسمیک و کاهش تجمع پلاکتی شوند (۱۹). همچنین محققان دیگر به این نتیجه رسیدند که نانولوله‌های کربنی موجب تجمع پلاکتی می‌شوند و ترومبوز را افزایش می‌دهند (۱۶). یو و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند که در اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در موش میزان سلول‌های قرمز خون کاهش یافت (۲۴). در مطالعه زو و همکاران تجویز خوراکی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به موش در طی ۹۰ روز و با غلظت‌های مختلف نشان داد که میزان و سلول‌های قرمز

خون کاهش یافته است که با نتایج ما مطابقت دارد (۲۶). واسانتاراجا در سال ۲۰۱۵ گزارش کرد که در اثر تجویز خوراکی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در ۱۴ روز بصورت خوراکی میزان سلول‌های قرمز خون کاهش یافته است و MCV افزایش یافته است (۲۳). رضایی و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که میزان سلول‌های قرمز خون و هماتوکریت در حضور نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاهش یافته است (۱۸). در بررسی ما میزان گلوکز در حضور نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، غلظت‌های پایین افزایش و در غلظت‌های بالا کاهش می‌یابد. که آلکالادی و همکاران به این نتیجه رسیدند به علت تأثیر نانوذرات بر بیان ژن انسولین است که موجب افزایش ترشح انسولین می‌شود (۴). همچنین محققان دیگر گزارش کردند که نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید تیتانیوم آسیب‌های جدی به کبد وارد کرده و در تعادل گلوکز در موش اختلال ایجاد می‌کند (۱۰). آمارا و همکاران در سال ۲۰۱۳ به این نتیجه رسید که سطح گلوکز در اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاهش می‌یابد (۵). بن‌سلاما و همکارانش در سال ۲۰۱۵ گزارش کرد که میزان گلوکز در حضور نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاهش یافته است (۹)، که با نتایج ما مطابقت دارد.

نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های بالا (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به علت ایجاد استرس اکسیداتیو زیاد در اثر تولید رادیکال‌های آزاد، اثر سمیتی بیشتری بر پارامتر خونی و سرمی در مقایسه با غلظت‌های پایین دارند. استفاده از نانوذرات که منجر به ورود آن به بدن انسان گردد در شرایط آزمایشگاهی امکان ندارد ولی اخیراً داروهای گیاهی و شیمیایی که با حامل‌های نانوذره وارد بدن انسان می‌گردند در حال بررسی است و کارهای آزمایشگاهی روی آن در حال انجام می‌باشد. لذا علاوه بر ورود ناخواسته نانوذرات از طریق لوازم بهداشتی، پوشاک و حتی محصولات کشاورزی امکان استفاده از داروهایی که بر پایه نانوذرات تهیه شدند نیز

وجود خواهد داشت. با این وجود، تعمیم نتایج در انسان به مطالعات بیش‌تری نیاز دارد.

## تشکر و قدردانی

## منابع

۱. حامدی، م.، فتاحیان دهکردی، ر.، حیدر نژاد، م.، و مبینی دهکردی، م.، ۱۳۹۵، اثر نانوذرات اکسید روی بر فاکتور التهابی TGF-B. میزان بیوشیمیایی LDH سرمی و تغییرات بافتی در کبد موش، مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۱، صفحات ۳۷-۴۵.
۲. رزم آرا، پ.، پیکان حیرتی، ف.، و درافشان، س.، ۱۳۹۳. اثر نانوذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی گربه‌ماهی رنگین‌کمان (*Pangasius hypophthalmus*)، مجله سلول و بافت، شماره ۵، صفحات ۲۶۳-۲۷۲.
3. مرشدی، و.، کوچین، پ.، بهمنی، م.، یزدانی، م.، پورعلی، ح.، عشوری، ق.، و عضدی، م.، ۱۳۹۳. مقایسه تغییرات در هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های سفید و قرمز در طول محرومیت غذایی بچه تاس ماهیان سیبری (*Acipenser baeri*) و بچه فیلم‌ماهیان (*Huso huso*) پرورشی، مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲، صفحات ۲۸۲-۲۹۰.
4. Alkaladi, A., Abdelazim, A. M., and Afifi, M., 2014. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats, *International journal of molecular sciences*, 15, PP: 2015-23.
5. Amara, S., Khemissi, W., Mrad, I., Rihane, N., Ben S. I., Mir, L. E., Jeljeli, M., Ben Rhouma, K., Abdelmelek, H., and Sakly, M., 2013. Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on emotional behavior and biochemical parameters in adult Wistar rats, *General physiology and biophysics*, 32, PP: 229-34.
6. Ben-Slama, I., Mrad, I., Rihane, N., Mir, L. E., Sakly, M., and Amara, S., 2015. Sub-acute oral toxicity of zinc oxide nanoparticles in male rats, *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 6, 1 p.
7. Cheraghi, J., Hosseini, E., Hoshmandfar, R., and Sahraei, R., 2013. Hematologic parameters study of male and female rats administrated with different concentrations of silver nanoparticles, *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5, 789 p.
8. Doudi, M., and Setorki, M., 2015. Influence of Titanium Dioxide Nanoparticles on Oxidative Stress and Pulmonary Dysfunction, *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 17 p.
9. Duan, Y., Liu, J., Ma, L., Li, N., Liu, H., Wang, J., Zheng, L., Liu, C., Wang, X., Zhao, X., Yan, J., Wang, S., Wang, H., Zhang, X., and Hong, F., 2010. Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice, *Biomaterials*, 31, PP: 894-9.
10. Faddah, L. M., Baky, N. A., Al-Rasheed, N. M., and Al-Rasheed, N. M., 2013. Biochemical responses of nanosize titanium dioxide in the heart of rats following administration of idepenone and quercetin, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7, PP: 2639-51.
11. Gaharwar, U. S., Paulraj, R., 2015. Iron oxide nanoparticles induced oxidative damage in peripheral blood cells of rat, *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 8, 274 p.
12. Habibian, S, Moshtaghian, J, Karimi, I, Hoseini, F, Imami, R, Sadeghi, H, and Nazarian Samani, Z, 2016, Pulmonary responses of rats exposed to titanium dioxide nanoparticles injected intratracheally, *J Shahrekord Univ Med Sci*, 18, PP: 19-30.
13. Hamzeh, M., and Sunahara, G. I., 2013. In vitro cytotoxicity and genotoxicity studies of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles in Chinese hamster lung fibroblast cells, *Toxicology in Vitro*, 27, PP: 864-73.
14. Hong, F., Wang, L., Yu, X., Zhou, Y., Hong, J., and Sheng, L., 2015. Toxicological effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticle-induced myocarditis in mice, *Nanoscale research letters*, 10, 326 p.
15. Kang, S. J., Kim, B. M., Lee, Y. J., and Chung, H. W., 2008. Titanium dioxide nanoparticles trigger p53-mediated damage response in peripheral blood lymphocytes,

- Environmental and molecular mutagenesis, 49, PP: 399-405.
16. Oosthuizen, M. A., 2010. Ultrastructural analyses of platelets and fibrin networks in BALB/c mice after inhalation of spherical and rod-shaped titanium nanoparticles, *Int. J. Morphol*, 28, PP: 1263-1271.
  17. Rad, J. S., Alfatemi, M. H., Rad, M. S., Rad, M. S., Sen, D. J., and Mohsenzadeh, S., 2013. In-vivo titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles effects on chromosomal abnormalities and lactate dehydrogenase activity, *Am. J. Advan. Drug. Deliv*, 1, PP: 232-7.
  18. Rezaei Zarchi, S., 2011. Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on the Amount of Blood Cells and Liver Enzymes in Wistar Rats, *SSU\_Journals*, 19, PP: 618-26.
  19. Rezaei-Zarchi, S., Taghavi-Foumani, M. H., Razavi Sheshdeh, S. A., and Negahdary, M., 2013. The effect of silver nanoparticles on blood cells in male rats, *Scientific Journal of Iranian Blood Transfusion Organization*, 10.
  20. Shi, H., Magaye, R., Castranova, V., and Zhao, J., 2013. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data, *Particle and fibre toxicology*, 10, 15 p.
  21. Simundic, M., Drasler, B., Sustar, V., Zupanc, J., Stukelj, R., Makovec, D., Erdogmus, D., Hagerstrand, H., Drobne, D., and Kralj-Iqlic, V., 2013. Effect of engineered TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on erythrocytes, platelet-rich plasma and giant unilamellar phospholipid vesicles, *BMC veterinary research*, 9, 7 p.
  22. Vasantharaja, D., Ramalingam, V., Aadinaath Reddy, G. G., 2015. Oral toxic exposure of titanium dioxide nanoparticles on serum biochemical changes in adult male Wistar rats, *Nanomedicine Journal*, 2, PP: 46-53.
  23. Vasantharaja, D., Ramalingam, V., Aadinaath Reddy, G. G., 2015. Titanium dioxide nanoparticles induced alteration in haematological indices of adult male Wistar rats, *J Acad Ind Res*, 3, PP: 632-5.
  24. Xu, J., Shi, H., Ruth, M., Yu, H., Lazar, L., Zou, B., Yang, C., Wu, A., and Zhao, J., et al, 2013. Acute toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in mice, *PloS one*, 8, e70618 p.
  25. Yazdi, M. H., Masoudifar, M., Varastehmoradi, B., Mohammadi, E., Kheradmand, E., Homayouni, S., and Shahverdi, A. R., 2013. Effect of oral supplementation of biogenic selenium nanoparticles on white blood cell profile of BALB/c mice and mice exposed to X-ray radiation, *Avicenna journal of medical biotechnology*, 5, PP: 158-67.
  26. Zhao, X., Ze, Y., Gao, G., Sang, X., Li, B., Gui, S., Sheng, L., Sun, Q., Cheng, J., Cheng, Z., Hu, R., Wang, L., and Hong, F., 2013. Nanosized TiO<sub>2</sub>-induced reproductive system dysfunction and its mechanism in female mice, *PLoS One*, 8, e59378 p.
  27. Zucker, R. M., Massaro, E. J., Sanders, K. M., Degn, L. L., and Boyes, W. K., 2010. Detection of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in cells by flow cytometry, *Cytometry Part A*, 77, PP: 677-85.
  28. Arvanag, FM., Bayrami, A., Habibi-Yangjeh, A., Pouran, SR., 2019. A comprehensive study on antidiabetic and antibacterial activities of ZnO nanoparticles biosynthesized using *Silybum marianum* L seed extract, *Materials Science and Engineering: C*, 97, PP: 397-405.



# Evaluation the toxicity of Titanium dioxide nanoparticles on hematological and biochemical parameters in *mice*

Sheydaei P., Bayrami A. and Arbabi S.

Dept. of Biology, Faculty of Basic Science, University of Mohageghe Ardabili, Ardabili, I.R. of Iran.

## Abstract

Considering the development of nanotechnology and extensive use of nanoparticles in different fields of industry, there are concerns about their toxic effects on the environment and human health. The objective of this study was to evaluate the toxicity of titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NP) on the hematological and serum parameters of mice. In the present study, 28 adult male mice BALB/c, were divided into four groups; includes a control group and three experimental groups. TiO<sub>2</sub> nanoparticles (in concentrations of 50, 100 and 300 mg/Kg) were administered orally to mice for 14 days. Hematological and serum parameters were studied in the collected blood samples. The results showed that all doses of TiO<sub>2</sub> nanoparticles increased significantly white blood cells level compared with the control group but the number of red blood cells decreased. Hemoglobin, MCV and neutrophils at concentration of 300 mg/kg showed significant increase but platelets, hematocrit, lymphocytes, glucose and creatinine significantly decreased ( $p < 0.05$ ). Findings showed that TiO<sub>2</sub> nanoparticles cause harmful effects on the hematological and serum parameters in mice in a dose-dependent manner.

**Key words:** Titanium dioxide nanoparticles, Blood factors, Serum factors, Mice