كلية الزراعة

تقييم السمية الوراثية والخلوية لبعض المواد النانوية في الفئران

مقدمة من

أمل جمال رمضان محمود

كجزء من متطلبات الحصول علي

درجة الماجستير في العلوم الزراعية

(وراثة)

قسم الوراثة

كلية الزراعة

جامعة الفيوم

٢٠٢٢

تقييم السمية الوراثية والخلوية لبعض المواد النانوية في الفئران

مقدمة من

أمل جمال رمضان محمود

للحصول علي درجة

الماجستير في العلوم الزراعية

(وراثة)

لجنة الاشراف العلمي:

١- ا.د/ جمال محمدين حسان

أستاذ ورئيس قسم الوراثة - كلية الزراعة - جامعة الفيوم

.....

٢- ا.د/ عيسي أحمد عيسي

أستاذ الوراثة المتفرغ - قسم الوراثة - كلية الزراعة - جامعة الفيوم

.....

٣- ا.د/ أحمد عبد الفتاح محمد يس

أستاذ الوراثة - قسم الوراثة - كلية الزراعة - جامعة الفيوم

.....

الملخص العربي

أجريت هذه الدراسة بقسم الوراثة بكلية الزراعة جامعة الفيوم، مصر. وتتلخص نتائج هذه الدراسة في الآتي:-

١. تأثير أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية على وزن الجسم وزيادة وزن الجسم الحي للفئران.

لوحظ زيادة طفيفة في وزن الجسم خلال الأسبوع الأول والثاني للفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية مقارنة مع المجموعة الضابطة. وبداية من الإسبوع السادس إلى الإسبوع العاشر لوحظ انخفاض ملحوظ في متوسط وزن الجسم الحي للفئران المعاملة مقارنة بالمجموعة الضابطة.

٢. تأثيرأكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية على الوزن النسبي لأعضاء الفئران.

بينت النتائج عدم وجود فرق معنوي في الوزن النسبي للقلب والرئة والطحال والخصيتين للفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية مقارنة بالمجموعة الضابطة. ومن ناحية اخري وجد إنخفاض معنوي في الوزن النسبي للكبد والكلى في جميع المجموعات المعاملة بشكل كبير مقارنة بالمجموعة الضابطة.

٣. تأثير أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية علي قياسات الدم المختلفة لدى الفئران.

أظهرت النتائج وجود إنخفاض معنوي في نسبة الهيماتوكريت وعدد كريات الدم الحمراء في الفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية مقارنة بالمجموعة الضابطة. من ناحية أخرى، أظهرت النتائج زيادة معنوية في

عدد كريات الدم البيضاء وقيم MCV، MCH و MCHC في فئران المجموعات المعاملة بعد ١٠ أسابيع.

٤. تأثير أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية على القياسات البيوكيميائية للفئران.

أظهرت النتائج زيادة معنوية في الكرياتينين واليوريا وحمض البوليك في جميع المجموعات المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية مقارنة بالمجموعة الضابطة. ومع ذلك فقد لوحظت زيادة في تركيز إنزيمات ALT و AST بشكل ملحوظ مقارنة بالمجموعة الضابطة خلال الأسابيع الخمسة الأولى بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية. أظهرت مجموعات الفئران المعاملة بتركيزات محتلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية بعد ١٠ أسابيع زيادة كبيرة في مستويات ALT و AST وحمض البوليك واليوريا مقارنة بالمجموعة الضابطة.

٥- تأثير السمية الوراثية لكل من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية قياس نسبة الإنحرافات الكروموسومية.

أظهرت النتائج أن الإنحرافات الكروموسومية التاتجة عن المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية تتضمن الكروموسوم الحلقي، إلتصاق أطراف الكروموسومات ببعضها، حدوث كسرللكروماتيد وحدوث كسر للكروموسوم. علاوة على ذلك لوجظ أن الكروموسوم الحلقي وإرتباط أطراف الكروموسومات ببعضها هما أكثر أنواع الإنحرافات االكروموسومية شيوعا في خلايا نخاع عظم الفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية. وجد أن تكرار الإنحرافات الكروموسومية التركيبية يزداد بشكل معتمد علي زيادة تركيز أكسيد الزنك و ثاني أكسيد التيتانيوم مقارنة مع المجموعة الضابطة.

فحص تكوين الأنوية الدقيقة في نخاع عظام الفئران.

أظهرت النتائج أن تكرار كريات الدم الحمراء ذات الأنوية الدقيقة في نخاع عظام الفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية. لوحظ إنخفاض النسبة المئوية لـ PCE/NCEs في الفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية مقارنة بالمجموعة الضابطة. كذلك أشارت النتائج إلى أن اعلي زيادة في نسبة PCE/NCE قد حدثت بعد ١٠ أسابيع من المعاملة بـ ٦٠٠ مجم/كجم من وزن الجسم لأكسيد الزنك النانوية و ٣٠٠ مجم/كجم من وزن الجسم لثاني أكسيد التيتانيوم

اختبار ال comet لخلايا نخاع عظام الفئران

أظهرت النتائج المتحصل عليها حدوث زيادة في طول ذيل الحمض النووي لخلايا كبد الفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية مقارنة بالمجموعة الضابطة. وأظهرت النتائج أن المعاملة بالتركيزات المختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية أدت الي حدوث زيادة في طول ذيل الDNA المتكون، النسبة المئوية لكثافة الذيل في الكبد والكلى للفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أوكسيد التيتانيوم في الصورة النانوية مقارنة بالمجموعة الضابطة.

٦-التضخيم العشوائي لقطع الحمض النووي للمجموعة الضابطة والفئران المعاملة.

تم التضخيم العشوائي لقطع ال DNA المعزول من خلايا الفئران الضابطة والمعاملة بتركيزات مختلفة من اكسيد الزنك زثاني اكسيد التيتانيوم في الصورة النانويه باستخدام تفاعل ال RAPD PCR وباستخدام ٦ بادئات عشوائية ومن خلال صور الجيل المتحصل عليها أظهرت وجود إختلافات في عدد الحزم الناتجة سواء بظهور حزم جديده في بروفايل ناتج تفاعل ال PCR للDNA المعزول من خلايا الفئران المعاملة مقارنةً بالمجموعة الضابطة. من ناحية اخري لوحظ إختفاء بعض حزم ال DNA من بروفايل الفئران المعاملة بتركيزات عالية من

اكسيد الزنك وثاني أكسيد التيتانيوم النانويه مقارنة ببروفايل المجموعة الضابطة. وبعمل شجرة القرابة من خلال نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل العشوائي لوحظ أن نسبة التشابه الوراثي (المسافة الوراثية) بين مجموعات الفئران المعاملة أقل وبينها مسافة أكبر مقارنة بالمجموعات الأخرى.

٧. فحص أنسجة الكبد والكلى للفئران.

أظهرت نتائج الفحص النسيجي لكبد الفئران الغير معاملة (المجموعة الضابطة) والفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أكسيد التيتانيوم النانوية أن الخلايا الكبدية للمجموعة الضابطة لا تظهر اي تغيرات غير طبيعية. بينما لوحظ ظهور الوريد المركزي متوسعًا قليلاً مع بنية سليمة ويحتوي على عدد قليل من خلايا الدم في خلايا كبد الفئران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أكسيد التيتانيوم . كذلك لوحظ عند فحص خلايا كبد الفئران المعاملة بتركيزات عالية من أكسيد الزنك وثاني أكسيد التيتانيوم النانوية وجود خلايا كبدية متدهورة بشكل ملحوظ وكان معظمها يعاني من فجوات وتحبيب السيتوبلازم. ومن ناحية أخري أظهرت خلايا كلي الفيران المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد الزنك وثاني أكسيد التيتانيوم النانوية انها خلايا طبيعية مع حدوث توسعة بسيطة لبعض الأنابيب الكلوية. كذلك وجد أن خلايا الكلي للفئران المعاملة بتركيزات عالية من أكسيد الزنك وثاني أكسيد التيتانيوم النانويه تحتوي علي تغيرات تنكسية ملحوظة في الخصلة الكبيبية وكبسولة بومان مقارنة بالمجموعة الضابطة .

الاستنتاجات والتوصيات:-

من الدراسة الحالية يمكن الإستنتاج أن التعرض المزمن للمواد في الصورة النانوية يمكن أن يؤدي إلى تغييرات كبيرة في القياسات المختلفة للدم في ذكور الفئران. علاوة على ذلك، فإن الجرعة التي أستخدمت في الدراسة تحفز حدوث السمية الجينية. ومع ذلك فإنه من المثير للإهتمام هو ملاحظة وجود علاقة طردية بين الجرعة المستخدمة والتغيرات التي تحدث في خلايا نخاع عظام الفئران وذلك عن طريق اختبار تكون الأنوية الدقيقة. نتائج الدراسة الحالية

تؤدي إلى زيادة التحذيرات حول المخاطر المحتملة على صحة الإنسان والتي قد تكون مرتبطة بتطبيقات عديدة وإستخدامات مختلفة للمواد النانوية. ويتطلب ذلك عمل المزيد من الجهد لإيضاح التهديدات المحتملة لهذه الجسيمات على الأعضاء المختلفة واسبابها.

ومن خلال تلك النتائج يمكن التوصية بما يلي:-

١- يجب ترشيد إستخدام المواد النانوية كإضافات غذائية ودوائية.

٢- يتطلب الإستخدام المكثف للتركيبات المختلفة للمواد النانوية الي دراسات أكثر دقة وكاملة حول تأثيرات هذه المواد على خلايا الدم.

٣- عدم التعرض لجرعات عالية من المواد النانوية حيث يمكن أن يتسبب عن ذلك حدوث السمية الجينية في البشر.

٤- في المستقبل، قد يكون من الضروري توفر الإختبارات البسيطة التي من خلالها يمكن معرفة المخاطر الناتجة عن المواد النانوية والبحث عن آلية لتصنيع تلك المواد النانوية بشكل وتصميم مناسب لضمان توفر الأمان الحيوي.