دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال نوزدهم، شماره ۲، صفحه ۱۹۳– ۱۸۵ (خرداد و تیر ۱۳۹۵)

ISMJ 2016;19(2): 185-193

بررسی بیان ژن‌های وابسته به آپوپتوز bcl-2 و bax در هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی به دنبال تزریق نانونقره به‌صورت درون صفاقی

مریم قوشچیان [۱]، پروین خدارحمی [۱*]، فرزانه تفویضی [۱]

[۱] گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

(دریافت مقاله: ۹۳/۱۱/۲۰- پذیرش مقاله: ۹۴/۳/۲۵)

چکیده

زمینه: نانو ذرات نقره، موادی در مقیاس کمتر از ۱۰۰ نانومتر بوده و کاربردهای زیادی در تکنولوژی مواد غذایی و پزشکی دارد. داده‌ها نشان داده است که اثرات نوروتوکسیکی نانو ذرات نقره، به علت استرس اکسیداتیو ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد، تغییر در بیان ژن‌های تولید کننده آپوپتوز و نوروتوکسیتوسیتی ایجاد می‌شود. در این مطالعه اثرات آپوپتوتیک نانوذرات نقره را بر بیان ژن‌های وابسته به آپوپتوز **bcl-2** و **bax** در هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی، که در حافظه و یادگیری درگیر است، بررسی شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۸ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار به ۴ گروه، کنترل و سه گروه تیمار تقسیم گردید. گروه اول، سالین و ۳ گروه تیمار نانوذرات نقره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ **ppm** به صورت درون صفاقی دریافت نمودند. ۱۰ روز بعد از آخرین تزریق، بافت هیپوکامپ خارج و بیان ژن‌های **bcl-2** و **bax** با روش **RT-PCR** نیمه کمی و دانسیتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بیان ژن آنتی آپوپتوتیک **bcl-2** در تمامی گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. در مقابل، بیان ژن پروآپوپتوتیک **bax** در تمامی گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. این اثرات آپوپتوتیک، در دوزهای بالاتر بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: داده‌ها نشان داد نانوذرات نقره ممکن است به وسیله تغییر در بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز در سلول‌های ناحیه هیپوکاهپ موش صحرایی، تولید آپوپتوز کند.

واژگان کلیدی: نانو ذرات نقره، ژن **bcl-2**، ژن **bax**، **RT-PCR** نیمه کمی، دانسیتومتر

*پرند، گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

Email: khodarahmiparvin@yahoo.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]

مقدمه

نانوتکنولوژی مجموعه‌ای از فناوری‌هایی است که به مطالعه‌ی ابعادی در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌پردازد. یکی از پرکاربردی‌ترین نانو مواد، نانو ذرات نقره می‌باشد که به علت اثرات مفید زیادی که دارد، بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد. نقره در ابعاد بزرگ فلزی با خاصیت واکنش‌دهی کم می‌باشد، ولی زمانی که به ابعاد کوچک‌تر در حد نانومتر تبدیل می‌شود اثرات متفاوتی دارد (۱).

به نظر می‌رسد در آینده از این تکنولوژی در حوزه‌ی پزشکی و سلامت استفاده‌ی بیشتری شود. بعضی از گزارشات ثابت کردند که بسیاری از وسایل پزشکی نقره‌ای، یون‌های Ag^+ را آزاد می‌کنند که این یون‌ها می‌توانند در گردش خون جای گیرند. از این رو، نگرانی‌هایی در مورد امنیت بیولوژیکی نانوذرات نقره وجود دارد (۲). بنابراین بررسی اثرات این نانو ذرات و مطالعه این اثرات در مدل‌های حیوانی و تعمیم این گونه پژوهش‌ها به انسان می‌تواند هشدار دهنده و استفاده کنترل شده از این نانو ذرات را مطرح کند. هیپوکامپ داخلی‌ترین بخش قشر تمپورال (کورتکس لوب گیجگاهی) است. هیپوکامپ به عنوان یک مرکز مهم در حافظه و یادگیری است (۳).

مرگ سلولی مرحله نهایی آسیب سلول است (۴). در صورت تداوم آسیب به سلول، آسیب غیرقابل برگشت می‌شود (۵). آپوپتوز یک نوع مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است. مسیرهای درگیر در تحریک فرایند آپوپتوز را به دو دسته تقسیم می‌کنند: ۱- مسیر بیرونی (رسپتورهای مرگ) (۶ و ۷). ۲- مسیر درونی (یا مسیر میتوکندریایی). مسیر درونی به وسیله‌ی اعضای خانواده‌ی bcl-2 کنترل می‌شود و با فعال‌سازی bak/bax منجر به نفوذپذیری غشای میتوکندری و آزاد شدن سیتوکروم C می‌گردند (۱۰-۸). از آنجایی که نانوذرات نقره قابلیت عبور از سد خونی مغزی را داشته و منجر به آپوپتوز در سلول‌های در معرض می‌شود (۱۱) و نانو ذرات نقره تأثیر منفی بر سلول‌های هیپوکامپ و بیان ژن‌ها داشته و منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی می‌شود (۱۲)، لذا در این مطالعه اثر نانو ذرات نقره بر بیان ژن‌های خانواده bcl-2 مورد بررسی قرار گرفت.

حیوانات آزمایشگاهی

این مطالعه به صورت تجربی بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن ۸ هفته و با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم تهیه شده از حیوان‌خانه دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است. موش‌ها در حیوان‌خانه دانشگاه آزاد واحد تهران مرکزی در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و با غذای تجاری مخصوص جوندگان تغذیه شدند. بعد از ۲ هفته سازش حیوانات با محیط جدید، به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی کنترل و گروه‌های تجربی تقسیم شدند. در این مطالعه تمامی نکات پروتکل بین‌المللی کار بر روی حیوانات رعایت گردید.

دارو و روش تزریق

نانو ذرات نقره با اندازه ۲۰ نانومتر از شرکت نانو مواد ایرانیان خریداری شد (US Research Nanomaterials). در ابتدا غلظت‌های مورد نظر از کلوئید نانونقره به وسیله آب مقطر دیونیزه و با روش سری رقت (Serial Dilution) تهیه شد (۱۳). سپس در شرایط استریل تزریق انجام شد. روش تزریق درون صفاقی و میزان تزریق با حجم هر دوز ۱سی سی بود. به گروه کنترل سالین، و به گروه‌های تجربی نانوذرات نقره با غلظت‌های ۴۰۰ppm، ۲۰۰، ۱۰۰ به مدت ۵ روز تزریق شد. سپس ۱۰ روز بعد از آخرین تزریق، موش‌ها در

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]

دسیکاتور با کلروفرم بیهوش شدند. با انجام جراحی، سر جدا شد و سپس خارج سازی مغز و به‌دنبال آن هیپوکامپ انجام گرفت. بافت مذکور تا انجام آزمایشات بعدی در فریزر ۷۰°C- نگهداری شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

برای بررسی بیان ژن‌های آپوپتوتیک از ۸ سر موش در هر گروه استفاده شد. مقدار ۰/۱۴ گرم از بافت هیپوکامپ جداسازی شده و با استفاده از محلول ترایزول RNX Plus شرکت سیناژن استخراج RNA انجام شد. با دستگاه نانو دراپ کیفیت و خلوص RNAهای استخراج شده تعیین و نسبت جذب نوری (Optical Density: OD) در طول موج‌های ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد. در این مطالعه از نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر آن‌ها بین ۱/۸ تا ۲ بود، برای سنتز cDNA استفاده گردید. سنتز cDNA، با استفاده از کیت مخصوص (Fermentas) و بر اساس دستورالعمل آن انجام گرفت. ابتدا ۱۶ ماکرولیتر RNA با ۲ ماکرولیتر از پرایمرهای random hexamer و oligo dT برای ۵ دقیقه با دمای ۷۰C در داخل ترموسایکلر قرار داده شد. بعد از آن مخلوطی از Revert ،dNTP ،Ribo Lock ،Reaction Buffer Aid را به محلول اولیه اضافه کرده و آن را برای ۵ دقیقه در دمای C ۲۵، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲C قرار داده در آخر یک گرمای ۷۰C برای ۵ دقیقه به محلول وارد شد.

واکنش RT-PCR نیمه کمی

برای تعیین میزان mRNA ژن‌های bcl-2 و bax، RT-PCR نیمه کمی به طور جداگانه برای هر ژن انجام شد. مخلوط RT-PCR برای هر ژن در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۵ میکرولیتر cDNA، ۱۲/۵ میکرولیتر Amplicon master mix red (شرکت ویراژن)، ۰/۴ میکرومولار (Forward و Reverse) ژن‌های bcl-2 و bax در نظر گرفته شد. از پرایمر ژن بتاگلوبین به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و PCR آن مشابه ژن‌های bcl-2 و bax انجام شد. پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق از شرکت تکاپو زیست تهیه شدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱) توالی، اندازه و دمای اتصال پرایمر ژن‌های بتا-گلوبین، bcl-2 و bax (۱۴)

ژن	پرایمر	اندازه	دمای اتصال
Beta-globin	F: GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC R: CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC	bp۲۶۸	C ۵۳
Bcl-2	F: CTG GTG GAC AAC ATC GCT CTG R: GGT CTG CTG ACC TCA CTT GTG	bp۲۲۸	C ۵۴
Bax	F: TTC ATC CAG GAT CGA GCA GA R: GCA AAG TAG AAG GCA CG	bp۲۶۳	˚C۴/۴۹

دستورالعمل حرارتی جهت انجام RT-PCR نیمه کمی به شرح زیر بهینه شد: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۳ دقیقه، ۴۵ سیکل تکثیری شامل مرحله دناتوراسیون در دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال برای پرایمر bcl-2، ۵۴°C به مدت ۴۰ ثانیه، پرایمر bax، ۴۹/۴°C به مدت ۴۰ ثانیه و پرایمر بتاگلوبین ۵۳°C مدت ۴۰ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲°C به مدت ۴۰ ثانیه در دستگاه ترموسایکلر (Biorad, USA) در نظر گرفته شد. الکتروفورز محصول در ژل آگارز ۱/۵ درصد انجام شد. سپس عکس برداری از ژل انجام گرفت. پس از تهیه

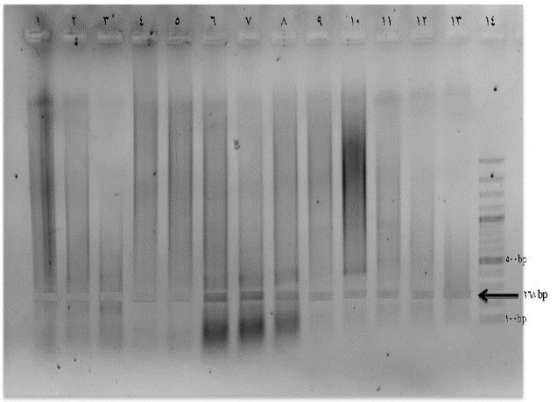
[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]

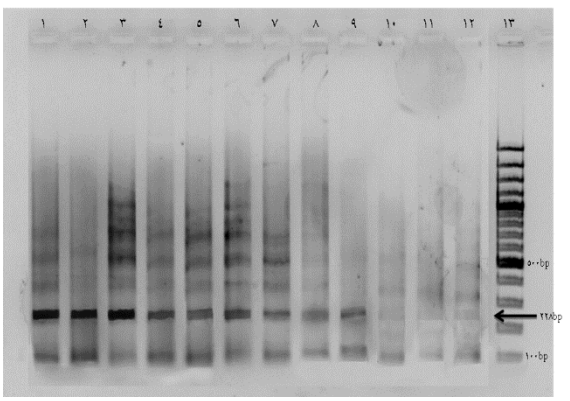
عکس از ژل، میزان تراکم و شدت باندها توسط نرم افزار Fire Reader Gel Doc، دانسیتومتری یا تراکم سنجی شدند و با استفاده از روشSemi quantity PCR (نیمه کمی) مقایسه بین گروه ها انجام گردید

یافته‌ها

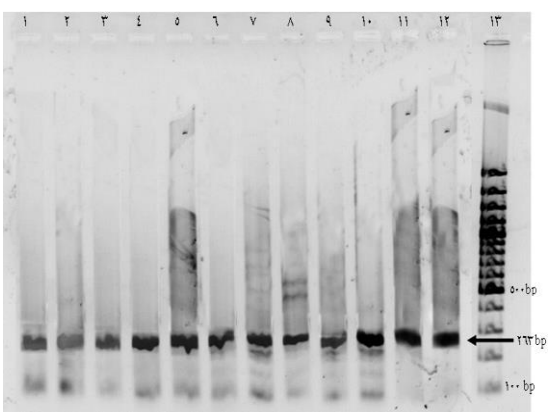
بررسی یافته‌های این مطالعه مشخص نمود که افزایش نانوذرات نقره تزریق شده روی بیان ژن‌های bcl-2 و bax تأثیرگذار است. پس از بهینه سازی واکنش PCR برای ژن بتا-گلوبین، تمامی نمونه‌ها از نظر PCR ژن بتا-گلوبین مورد آزمون قرار گرفتند و قطعه‌ی ۲۶۸bp در تمامی نمونه‌ها تکثیر شد که حاکی از صحت RNA استخراج شده و سنتز cDNA مربوط بوده است. تصویر الکتروفوز قطعه ۲۶۸bp مربوط به ژن بتا-گلوبین در شکل ۱ نمایش داده شده است. نتایج تحقیق، حاکی از بیان ژن‌های bcl-2 و bax در همه گروه‌ها ولی با نسبت‌های مختلف بود. الکتروفورز ژن bcl-2 در شکل ۲ نمایش داده شده است. با افزایش غلظت نانو ذرات نقره تزریقی، بیان ژن bcl-2 و شدت باند مربوط به قطعه‌ی ۲۲۸bp، به طور معناداری کاهش نشان داد (شکل ۲). تصویر قطعه‌ی ۲۶۳bp حاصل از تکثیر ژن bax در شکل ۳ نمایش داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود با افزایش دوز، شدت باند ۲۶۳bp حاصل از تکثیر ژن bax، افزایش چشمگیری داشته است. نتایج دانسیتومتری ژن‌های bcl-2 و bax نیز با نتایج RT-PCR نیمه کمی مطابقت کامل داشت (شکل ۴ و ۵). افزایش غلظت نانو ذرات نقره تزریق شده، منجر به کاهش تراکم باندها در ژن bcl-2 و افزایش تراکم باندها در ژن bax شد. تجزیه و تحلیل دقیق‌تر این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت نانو ذرات تزریقی موجب افزایش بیان ژن bax و جلوگیری از فعالیت طبیعی ژن bcl-2 و کاهش فعالیت آن شده است.



شکل ۱) تصویر الکتروفورز ژن بتا-گلوبین (ژن کنترل داخلی) بر روی ژل آگارز ۱/۲درصد که در آن به ترتیب از چپ به راست چاهک‌های۳-۱، گروه کنترل (تزریق سالین)، چاهک‌های ۶-۴ نانو ذرات نقره با دز ۱۰۰ppm، چاهک‌های ۹-۷ گروه با دز ۲۰۰ppm و چاهک‌های ۱۳-۱۰ گروه با دز ۴۰۰ppm می‌باشد. چاهک ۱۳، کنترل منفی. چاهک ۱۴، ۱۰۰bp DNA ladder می‌باشد.



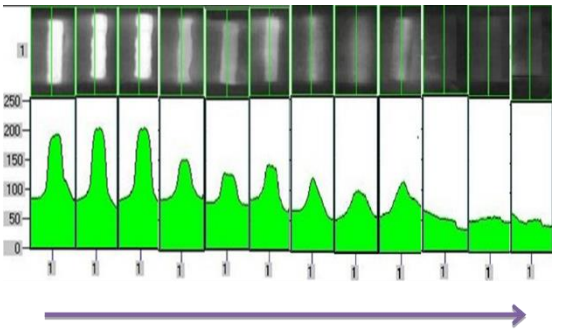
شکل ۲) تصویر الکتروفورز ژن bcl-2، بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد که در آن به ترتیب از چپ به راست چاهک‌های ۳-۱، گروه کنترل (تزریق سالین)، چاهک‌های ۶-۴ نانو ذرات نقره با دز ۱۰۰ppm، چاهک‌های ۹-۷ گروه با دز ۲۰۰ppm و چاهک‌های ۱۳-۱۰ گروه با دز ۴۰۰ppm، چاهک ۱۳، ۱۰۰bp DNA ladder می‌باشد.



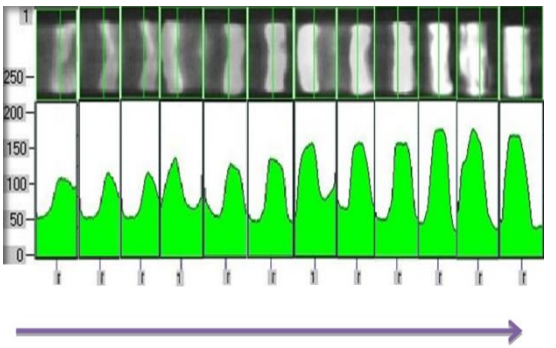
شکل ۳) تصویر الکتروفورز ژن bax، بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد که در آن به ترتیب از چپ به راست چاهک‌های ۳-۱، گروه کنترل (تزریق سالین)، چاهک‌های ۶-۴ نانو ذرات نقره با دز۱۰۰ppm، چاهک‌های ۹-۷ گروه با دز ۲۰۰ppm و چاهک‌های ۱۳-۱۰ گروه با دز ۴۰۰ppm، چاهک ۱۳، ۱۰۰bp DNA ladder می‌باشد.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]



شکل ۴) پیک‌های ایجاد شده در دانسیتومتری ژن bcl-2 (همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش دز روند کاهشی است(از چپ به راست).



شکل ۵) پیک‌های ایجاد شده در دانسیتومتری ژن bax (همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش دوز روند افزایشی است (از راست به چپ).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، نانو ذرات نقره منجر به تغییراتی در بیان ژن‌های آپوپتوتیک bcl-2 و bax می‌شود. مقایسه‌ی بیان ژن‌های bcl-2 و bax نشان داد که سطح بیان ژن bax در تیمار با دوزهای بالاتر نانو ذرات نقره افزایش می‌یابد، در حالی که سطح بیان ژن bcl-2 با افزایش دوز نانو ذرات تزریقی کاهش یافت. در راستای نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، در فرایند آپوپتوز، bax به عنوان یک ژن پیش برنده و bcl-2 به عنوان ژن متوقف کننده‌ی آپوپتوز شناخته می‌شود (۱۵).

در سال ۲۰۰۵ و ۲۰۰۸، سوتو (Soto) و همکاران بعد از انجام آزمایشات گسترده اعلام کردند که برخی نانو مواد (به ویژه نانوذرات نقره) و داروهایی که از آن ساخته می‌شوند چه به صورت خوراکی و چه به صورت تماس پوستی می‌توانند یک تهدید مهم برای سلامتی جوامع انسانی باشند. استفاده‌ی دراز مدت از این مواد بدون در نظر گرفتن عواقب آن می‌تواند زندگی موجودات زنده را تحت تأثیر قرار دهد (۱۶ و ۱۷). نل (Nel) و همکاران وی نشان دادند که بسیاری از پارامترها شامل یونیزاسیون، شکل، اندازه و ساختار کریستالی در توزیع سمیت نانو ذرات مؤثر می‌باشند (۱۸). تحقیقات گسترده‌ی دیگری نشان داده است که هر چه قطر نانو ذرات کمتر باشد، سطح آن‌ها بیشتر شده و قدرت نفوذ آن‌ها به سلول‌ها و اثرات مولکولی آن بر مکانیسم‌های داخل سلولی افزایش می‌یابد (۱۹ و ۲۰). تانگ (Tang) و همکاران وی گزارش کردند که نانو ذرات وارد جریان خون شده و در بافت‌هایی مانند مغز انباشته می‌شوند (۲۱) و تزریق زیر پوستی نانو نقره به رت، باعث عبور این ذرات از سد خونی مغزی و تجمع آن‌ها در مغز می‌شود (۱۱). المفتی (Almofti) و همکاران وی در سال ۲۰۰۳ بیان کردند که نانو ذرات نقره با تولید ROS از طریق اختلال یونی موجب جاری شدن الکترون در سراسر غشای میتوکندری شده که در نهایت منجر به اختلال در شیب الکتروشیمیایی می شود (۲۲). گروهی از محققان معتقدند که نانوذرات نقره موجب بهم خوردن تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های ضد اکسایشی بدن می‌شود. بیشترین اثر تخریبی رادیکال‌های آزاد متوجه‌ی غشا ارگانل‌های داخل سلولی نظیر غشاء میتوکندری‌هاست (۲۳). اکسیا (Xia) و همکاران وی نشان دادند که تولید بالای ROS، بر دفاع آنتی اکسیدانی سلولی غلبه می‌کند و سبب کاهش عملکرد میتوکندری می‌شود. این وقایع استرس اکسیداتیو را افزایش داده و منجر به آسیب سلولی از جمله آپوپتوز میتوکندریایی می‌شود(۲۴). همچنین نشان داده شد که نانو ذرات نقره تزریق شده تأثیر منفی بر سلول‌های هیپوکامپ و بیان ژن‌ها داشته و منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی می‌شود (۱۲).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]

در راستای نتایج به دست آمده در این مطالعه، گزارشات زیادی نشان داده است که افزایش بیان bax می‌تواند آپوپتوز را در سلول‌ها، هم در شرایط in vitro و هم در شرایط in vivo القا کند (۲۵). به‌علاوه، مطالعات دیگری نشان داده‌اند که در شرایط استرس اکسیداتیو مانند دیابت میزان بیان mRNA افزایش می‌یابد (۲۶ و ۲۷) که می‌تواند توسط افزایش بیان ژن bax و کاهش بیان bcl-2 باعث القای آپوپتوز در هیپوکامپ موش‌های دیابتی شود (۲۸).

تعدادی از آزمایشات، دخالت AgNPS را در اعمال سلولی که منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و القای استرس اکسیداتیو و در نهایت باعث سیتوتوکسیتی می‌شود نشان داده است (۲۹). تغییر در بیان ژن‌های مختلف تحت تأثیر نانو نقره در مناطق مختلف مغز توسط رحمان و همکاران مطرح شده است، به طوری‌که نانو ذرات نقره موجب تولید ROS و القای استرس اکسیداتیو و در نهایت منجر به آسیب اکسیداتیو DNA می‌شود (۲۰). کروسمیر (Korosmeyer) و همکاران معتقدند که به نظر نمی‌رسد bcl-2 تأثیری در تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن داشته باشد، اما این ژن سلول را از آسیب‌های اکسیداتیو سلولی محافظت می‌کند (۳۰). همچنین هیلدمن (Hildeman) و همکاران نشان دادند که بیان بالای bcl-2 می‌تواند سلول‌ها را از آپوپتوز حاصل از ROS محافظت کند. با این حال مکانیسمی که bcl-2 توسط آن سلول را از آپوپتوز به وجود آمده به وسیله‌ی ROS محافظت می‌کند را ناشناخته ارزیابی کردند. این محققان، معتقد بودند که bcl-2 خود فعالیت آنتی اکسیدانی انجام نمی‌دهد اما ممکن است که فعالیت غیرمستقیمی در افزایش سطوح و یا فعالیت‌های آنتی اکسیدانی در داخل سلول داشته باشد و بنابراین بیان بالای bcl-2 به سلول‌ها اجازه‌ی مقابله‌ی بهتر با اثرات ROS را می‌دهد و این اجازه به وسیله‌ی افزایش در آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به دست می‌آید (۳۱). پروتئین‌های خانواده‌ی Bcl-2 یکپارچگی غشا خارجی میتوکندری را حفظ می‌کند و از اعضاء آنتی آپوپتوتیک و پروآپوپتوتیک تشکیل شده‌اند. این خانواده آزاد شدن سیتوکروم C به درون سیتوزول و در نتیجه فعال شدن Caspase-3 را تنظیم می‌کنند (۳۲ و ۳۳). در این مطالعه نیز ممکن است با افزایش ژن bax و از طرفی کاهش بیان ژن bcl-2 بعد از تیمار با نانو ذرات نقره، ناپایداری غشاء میتوکندری افزایش یافته و در نتیجه نفوذپذیری آن نسبت به سیتوکروم C افزایش پیدا کرده است. لذا احتمال می‌رود که تزریق نانو ذرات نقره باعث آسیب غشا میتوکندری و در نتیجه ایجاد آپوپتوز از طریق مسیر داخلی در هیپوکامپ موش صحرایی شده است. هر چند که مطالعات بعدی برای یافتن مسیرهایی که نانو ذرات نقره در آن‌ها دخالت می‌کند، مورد نیاز است.

همچنین در این تحقیق بیان نیمه کمی ژن‌های Bcl-2 و bax در سطح mRNA بررسی شد. با توجه به اینکه عملکرد این ژن‌ها وقتی مشخص می‌شود که پروتئین آن‌ها تغییر یابد، بررسی و مقایسه پروتئین‌های مرتبط با آپوپتوز در گروه‌های مورد بررسی پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

روش مورد استفاده در این تحقیق، در جهت ارزیابی و اثبات اثرات منفی نانو ذرات نقره، کاملاً توانمند بوده و پیشرفت مناسب و قابل قبولی خصوصاً در نشان دادن اثرات سیتوتوکسیک آن بر روی بیان ژن‌های مورد بررسی، پس از تزریق نانو ذرات نقره داشته است. به طوری که، میزان بیان ژن آنتی اپوپتوتیک bcl-2 به صورت وابسته به دوز کاهش و برعکس بیان ژن پروآپوپتوتیک bax به صورت وابسته به دوز افزایش نشان داد.

سپاس و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه‌ی دانشجو مریم قوشچیان از دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند می‌باشد. بدین وسیله از

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]

مسئولین محترم دانشگاه‌های آزاد واحد تهران مرکزی و علوم تحقیقات و آقای دکتر خیری که در انجام این پروژه همکاری داشتند کمال تشکر را داریم.

References:

1.Kawata K, Osawa M, Okabe S. In vitro toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. Environ Sci Technol 2009; 43: 6046-51.

2.Foladband F. Health and nano-technology. Health Magazine 2008; 197: 16. (Persian)

3.Anderson P. Organization of hippocampal neurons and their connections: The hippocampus. 1th ed. New York: plenum press, 1975, 155-75.

4.Anderson P, Morris R, Amaral D, et al. The Hippocampus Book. Oxford university press, 2007, 3-853.

5.Sadoul R, Quiquerez AL, Martinou I, et al. p53 protein in sympathetic neurons: cytoplasmic localization and no apparent function in apoptosis. J Neurosci Res 1996; 43: 594-601.

6.Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. Science 1998; 281: 1305-8.

7.Bratton SB, MacFarlane M, Cain K, et al. Protein complexes activate distinct caspase cascades in death receptor and stress-activated apoptosis. Exp Cell Res 2000; 256: 27-33.

8.Ashkenazi A. Directing cancer cells to self-destruct with pro-apoptotic receptor agonist. Nat Rev Drug Discov 2008; 7: 1001-2.

9.D'Amelio M, Tino E, Cecconi F. The Apoptosome: Emerging Insights and New Potential Targets for Drug Design. Pharm Res 2008; 25: 740-51.

10.Placzek WJ, Wei J, Kitada S, et al. A survey of the anti-apoptotic Bcl-2 subfamily expression in cancer types provides a platform to predict the efficacy of Bcl-2 antagonists in cancer therapy. Cell Death Dis 2010; 1: e40.

11.Tang J, Xiong L, Wang S, et al. Distribution, translocation and accumulation of silver nanoparticles in rats. J Nanosci Nanotechnol 2009; 9: 4924-32.

12.Rahman MF, Wang J, Patterson TA, et al. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after expression to silver-25 nanoparticles. Toxicol Lett 2009; 187: 15-21.

13.Naghsh N, Safari M, Hajmehrabi P. Investing the effect of silver nanoparticles on E.coli growth. Qom Univ Med Sci 2012; 6: 65-8.

14.Jafari Anarkooli I, Sankian M, Ahmadpour S, et al. Evaluation of Bcl-2 Family Gene Expression and Caspase-3 Activity in Hippocampus STZ-Induced Diabetic Rats. Hindawi Publishing Corporation Exp Diabetes Res 2008; 2008: 638467.

15.Gustavsson M, Wilson MA, Mallard C, et al. Global gene expression in the developing rat brain after hypoxic preconditioning: involvement of apoptotic mechanisms. Pediatr Res 2007; 61: 444-50.

16.Soto KF, Carrasco A, Powell TG, et al. Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy. J Nanoparticle Res 2005; 7: 145-69.

17.Soto KF, Murr LE, Garza KM. Cytotoxic Responses and Potential Respiratory Health Effects of Carbon and Carbonaceous Na noparticulates in the Paso del Norte Airshed Environment. Int J Environ Res Public Health 2008; 5: 12-25.

18.Nel A, Xia T, Madler L, et al. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. Science 2006; 311: 622-7.

19.Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles-A Review. Tropic J Pharmaceutical Res 2006; 5: 561-573.

20.Buzea C, Pachec II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. Biointerphases 2007; 2: 17-71.

21.Tang J, Xi T. Status of biological evaluation on silver nanoparticles. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi 2008; 25: 958-61.

22.Almofti MR, Ichikawa T, Yamashita K, et al. Silver ion induces cyclosporine a-insensitive permeability transition in rat liver mitochondria and release of apoptogenic cytochrome c. J biochem 2003; 134: 43-9.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]

23.Foldbjerg R, Olesen P, Hougaard M, et al. PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. Toxicol Lett 2009; 190: 156-62.
24.Xia T, Kovochich M, Brant J, et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. Nano Lett 2006; 6: 1794-807.
25.Podesta F, Romeo G, Liu WH, et al. Bax is increased in the retina of diabetic subjects and is associated with pericyte apoptosis in vivo and in vitro. Am J Pathol 2000; 156: 1025-32.
26.Celik S, Erdogan S. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects brain against oxidative stress and inflammation induced by diabetes in rats. Mol Cell Biochem 2008; 312: 39-46.
27.Ischiropoulos H, Zhu L, Beckman JS. Peroxynitrite formation from macrophage-derived nitric oxide. Arch Biochem Biophys 1992; 298: 446-51.
28.Huang X, Wang F, Chen W, et al. Possible link between the cognitive dysfunction associated with diabetes mellitus and the neurotoxicity of methylglyoxal. Brain Res 2012; 1469: 82-91.
29.Christen V, Capelle M, Fent K. Silver nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress response in Zebrafish. Toxicol Appl Pharmacol 2013; 272: 519-28.
30.Korsmeyer SJ, Yin XM, Oltvai ZN, et al. Research oxygen species and the regulation of cell death by Bcl-2 gene family. Biochem Biologys Acta 1995; 1271: 63-6.
31.Hildeman A, Mitchell T, Aronow B, et al. Control of Bcl-2 expression by reactive oxygen species. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 15035-40.
32.Chen B, Peng X, Pentassuglia L, et al. Molecular and cellular mechanisms of anthracycline cardiotoxicity. Cardiovasc Toxicol 2007; 7:114-21.
33.Nicholson DW, Thornberry NA. Apoptosis. Life and death decisions. Science 2003; 299: 214-5.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]

ISMJ 2016; 19(2):185-193

Original Article

Expression of apoptosis-Related genes bcl-2 and bax in rat brain hippocampus, followed by intraperitoneal injection of nanosilver

M. Ghooshchian [1], P. Khodarahmi [1*], F. Tafvizi [1]

[1] ***Department of biology, Branch of Parand, Islamic Azad University, Parand, Iran***

(Received 9 Feb, 2015 Accepted 15 Jun, 2015)

Abstract

Background: Silver nanoparticles are small scale substance (<100 nm) used in food technology and medical industry. The data suggest that nanosilver may produce neurotoxicity by generating free radical-induced oxidative stress and by altering gene expression producing apoptosis and neurotoxicity. In this study, the apoptotic effects of Nano silver on apoptosis- related genes expression bcl-2 and bax on rat hippocampus, which is involved in memory and learning, was investigated.

Materials & Methods: 28 male Wistar rats were divided into four groups of control and three groups of the treatment. The control group received saline and the treatment groups received intraperitoneal injections of silver nanoparticles at doses of 100, 200 and 400ppm. Ten days after the last injection, the hippocampal region was dissected and removed and then the expression of bcl-2 and bax genes was evaluated using semi-qualitative RT-PCR and Densitometry assay.

Results: The expression of anti- apoptotic b-cl2 gene was reduced in the treatment groups compared to the control group. In comparison, the expression of pro- apoptotic bax gene was increased in the treatment groups compared to the control group. This apoptotic affects was increased at higher doses.

Conclusion: The data suggest that silver nanoparticles may produce apoptosis by altering apoptosis- related genes expression, in rat brain hippocampus cells.

Key words: silver nanoparticles, bcl-2 gene, bax gene, semi-qualitative RT-PCR, Densitometry

[*] *Address for correspondence*: Department of biology, Branch of Parand, Islamic Azad University, Parand, Iran, Email: khodarahmiparvin@yahoo.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.ismj.19.2.185]