ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٥
صفحه ٤٩٧ - ٤٩١

اثرات نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم و ویتامین E بر بیان ژن‌های *CYP1A4* و *TOJ3* در بلدرچین ژاپنی

Effects of titanium dioxide nanoparticles on the expression of *CYP1A4* and *TOJ3* genes of Japanese quail

جلال رستم زاده*[1]، هیوا جلالی[1]، زهرا حیدری[1]، اردشیر احمدی[1]

۱- به‌ترتیب استادیار، دانشجویان کارشناسی ارشد، استادیار، ژنتیک گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

Rostamzadeh J*[1], Jalali H[1], haydari Z[1], Sheikhahmadi A[1]

1- Assistant Professor, MSc Student, Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: j.rostamzadeh@uok.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۶)

چکیده

استفاده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2NP_s) به‌طور روز افزون در تغذیه دام و طیور در حال افزایش است. این ذرات می‌توانند سبب ایجاد آپپتوز، آسیب‌های اکسیداتیو، پاسخ‌های التهابی ایمنی، تغییرات هیستوپاتولوژیکی شوند و رونویسی، ترجمه، چرخه و تمایز سلولی را تحت تاثیر قرار دهند. سمیت‌زدایی موادسمی درون‌زا و خارجی به‌وسیله سیتوکروم 450s (CYPs) کاتالیز می‌شود. ژن *CYP1A* توسط بسیاری از آلاینده‌های زیست محیطی القا شده و در بسیاری از مطالعات پایش زیستی مورد استفاده قرار گرفته است. ژن *TOJ3* (هومولوگ ژن *MCRS1*) به عنوان یک انکوژن رفتار می‌نماید و در تراریختی و تومورزایی سلولی القایی توسط Jun نقش مهمی ایفا می‌کند. دراین پژوهش، تغییرات احتمالی بیان ژن‌های *CYP1A4* و *TOJ3* در بافت کبد بلدرچین ژاپنی بعد از قرار گرفتن در معرض TiO_2NP_s و ویتامین E موردبررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با استفاده از RT_PCR نیمه کمی نشان داد که در حیوانات تیمار شده با مقدار ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم نانوذره در کیلوگرم جیره سطح بیان ژن‌های *CYP1A4* و *TOJ3* در کبد، ۹۰ روز پس از قرار گرفتن در معرض TiO_2NP_s به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. همچنین ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E توانست میزان بیان هر دو ژن را در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم TiO_2NP_s در جیره، به‌صورت معنی‌داری کاهش دهد. در حالی‌که در تیمار۵۰۰ میلی‌گرم TiO_2NP_s همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E فقط بیان ژن *TOJ3* به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. بیان هردو ژن در تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E در جیره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تیمار با TiO_2NP_s می‌تواند موجب تغییر در بیان ژن شود.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن
کبد
نانو ذرات
CYP1A4
TOJ3

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.2.1]

مقدمه

توسعه صنعت نانوتکنولوژی منجر به تولید و کاربرد گسترده انواع مختلفی از نانوذرات شده‌است. در میان این نانوذرات، در چند سال گذشته TiO_2NP_s به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد از جمله نسبت بالای سطح به وزن و واکنش پذیری بالا به‌عنوان ذره زیست سازگار غیر سمی و خنثی از نظر شیمیایی یا یک فتوکاتالیست، به‌طور افزایشی درحذف بسیاری از آلاینده‌های محیطی (ضدعفونی هوا، تصفیه آب و فاضلاب)، داروسازی، صنایع آرایشی و گندزدایی در افزودنی‌های غذایی به‌طور وسیعی استفاده شده‌است (Ma et al. 2009; Gui et al. 2013). علی‌رغم این خواص جالب، اطلاعات منتشر شده اخیر دلالت بر سمیت این مواد دارد. میزان سمیت نانوذرات با خواص فیزیکی و شیمیایی آن ارتباط دارد. اندازه‌های کوچک‌تر، واکنش پذیرتر، مؤثرتر و دارای سمیت بیشتری هستند. تنش اکسیداتیو یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های ایجاد کننده سمیت در کبد، کلیه، ریه، مغز و طحال می‌باشد (Soliman et al. 2013). نشان داده شده که درجه آسیب سلولی و تنش اکسیداتیو ناشی از TiO_2NPs با اندازه و ترکیب شیمیایی این مواد در ارتباط می‌باشد (Hoet et al. 2004).

برخی از مطالعات گزارش داده‌اند که TiO_2NP_s از طریق گردش خون به بافت‌های مختلف منتقل می‌شود و اثرات مضری را اعمال می‌کند. محققان نشان داده‌اند که استفاده از TiO_2NP_s در موش‌های ماده منجر به آسیب به کبد، طحال، کلیه، مغز، بیضه‌ها و تخمدان‌ها شده‌است (Gao et al. 2012). با تجزیه وتحلیل ریز آرایه‌ای کلیه موش در معرض TiO_2NP_s تغییر بیان بیش از ۱۲۰۰ ژن نشان داده شد که در پاسخ‌های التهابی ایمنی، تنش اکسیداتیو، انتقال یون‌ها، فرایندهای متابولیکی، رونویسی و ترجمه، چرخه و تمایز سلولی دخالت داشتند (Gui et al. 2013).

سیتوکروم‌ها (CYP) پروتئین‌های آهن‌داری هستند که ناقل‌های اصلی الکترون محسوب می‌شوند (Cui et al. 2010). از نشانگرهای زیست‌محیطی برای نظارت بر اثرات بیولوژیکی گروه‌های اگزوبیوتیکی همچون فلزات سنگین، CYP1A است که در زیست دگرگونی و سم‌زدایی ترکیبات درون‌زا و برون‌زا نقش دارد. در کبد که اصلی‌ترین ارگان متابولیک بدن است این مواد شامل داروها، مواد سمی و همچنین محصولات متابولیک مثل بیلی‌روبین می‌باشند. سیتوکروم‌ها توسط آلاینده‌هایی که وارد بدن شده القا و پس از واکنش با آلاینده‌ها سبب افزایش حلالیت آن‌ها در آب و دفع از بدن می‌شوند (Cheraghi et al. 2013). در طیور دو نوع از CYP1Aها شامل CYP1A4 و CYP1A5 شناخته شده‌است که کاتالیست انتخابی برای متابولیسم ترکیبات درون‌زا و یا تغییر شکل زنوبیوتیک‌ها می‌باشد (Yang et al. 2013). ژن *TOJ3* (هومولوگ ژن *MCRS1*) به‌عنوان یک ژن سرطان‌زا در طی تغییر شکل فیبروبلاست رفتار می‌کند. افزایش بیان *MCRS1* در یک نوع از سرطان‌های انسانی به اثبات رسیده است و این افزایش بیان، منجر به تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود (Xu et al. 2012). ژن سرطان‌زای *v-jun* عامل تراریختی ویروسی تومور سارکومای پرندگان ۱۷ [1](ASV17) می‌باشد که رترو ویروسی جدا شده از فیبروسارکومای بدخیم مرغی است. آنکوپروتئین v-jun نمایانگر یک نسخه جهش‌یافته از همتای سلولی c-jun است که به‌عنوان یک جزء فعال‌کننده مجموعه فاکتور رونویسی AP-1[2] عمل می‌کند. AP-1 برای تنظیم تکثیر و تمایز سلولی ضروری می‌باشد (Bader et al. 2001). به هرحال تعداد کمی از اهداف AP-1 مثل TOJ3 شناسایی شده که پتانسیل سرطان‌زا بودن را نشان می‌دهد (Karagiannidis et al. 2008). افزایش پاسخ‌های ایمنی با استفاده از روش‌های جایگزین واکسن‌ها و آنتی بیوتیک‌ها مانند انتخاب برای افزایش مقاومت به بیماری‌ها یا با استفاده از رژیم‌های غذایی بر پایه تعدیل‌گرهای ایمنی (همچون ویتامین‌ها) مجموعه‌ای از استراتژی‌های اعمال مدیریت در صنعت بهداشت و درمان طیور را بوجود آورده است. فهم تنظیم ژنتیکی این فرآیندها منجر به بهبود ایمنی و اقتصادی شدن تولیدات مرغ و همچنین کاهش پتانسیل برای توسعه‌ی مقاومت به درمان ضد میکروبی شده‌است (Kumar et al. 2011). در این میان، استفاده از ترکیبات مختلف برای کاهش تنش اکسیداتیو همانند ویتامین E مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در پرندگان نیز استفاده از ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در موارد مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است (Kidd 2004). تاکنون پژوهشی در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی

[1] avian sarcoma virus 17
[2] activator protein 1

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.2.1]

ویتامین E بر کاهش عوارض سمی ذکر شده در مورد نانو ذرات گزارش نشده است. هدف از این پژوهش، بررسی میزان بیان ژن‌های *CYP1A4* و *TOJ3* به‌منظور درک اثرات TiO_2NP_s در بروز پاسخ‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو و تکثیر سلولی در بافت کبد و نیز به منظور بررسی نقش ویتامین E به‌عنوان یک آنتی اکسیدان در کاهش آسیب سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد است.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش ٢٤ قطعه بلدرچین ژاپنی (شش تیمار و هر تیمار شامل چهار تکرار) در طول مدت ۹۰ روز با جیره حاوی TiO_2NP_s پوشش‌دار شده با نانو ذره‌ی نقره در دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره به‌عنوان سطوح نهایی و ویتامین E در دو سطح صفر و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تغذیه شدند. تیمارها شامل جیره‌ی شاهد، جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E، جیره حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم TiO_2، جیره حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم TiO_2 همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E، جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم TiO_2 و جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم TiO_2 همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E بود. اندازه نانو ذرات مورد استفاده برای انجام این تحقیق کمتر از nm ۱۰ بود و این محصول از شرکت پارس نانو نصب خریداری شد. ویتامین E مورداستفاده از شرکت غرب دانه استان کردستان، شهرستان سنندج تهیه شد. در پایان دوره‌ی آزمایشی، از کبد بلدرچین‌ها نمونه برداری شد و نمونه‌ها در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج RNA نگهداری شدند.

استخراج RNA با استفاده ازکیت CinnaPure RNA، شرکت سیناژن انجام گرفت. برای از بین بردن DNA موجود در نمونه‌ها از کیت DNase شرکت سیناژن استفاده شد. کمیت RNAهای بدست آمده با استفاده از دستگاه بایوفتومتر کمپانی اپندورف اندازه گیری شد و نمونه‌ها بر اساس میزان غلظت RNA هم غلظت شدند و برای تعیین کیفیت RNA استخراج شده از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. پس از این مرحله، سنتز cDNA از نمونه‌های مورد تأیید صورت گرفت. برای تبدیل توالی‌های mRNA به رشته‌های cDNA ازآنزیم M-MuLV Reverse Transcriptase شرکت سیناژن استفاده شد.

طراحی آغازگرها با استفاده از نرم‌افزارهای Oligo7 و oligoanalayzer انجام شد (جدول ۱). آغازگرهای مورد استفاده در این بررسی توسط شرکت سیناژن سنتز شدند. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در دستگاه ترمال سایکلر ساخت شرکت Corbett به‌منظور تکثیر توالی‌های مورد نظر انجام شد. برای بررسی بیان ژن به‌صورت نیمه کمی (RT-PCR)، بیان ژن در چرخه‌های متفاوت بررسی و پس از ارزیابی نتایج روی ژل آگارز بهترین چرخه به تعداد ۲۸ برای بررسی بیان ژن مورد نظر و کنترل داخلی آن انتخاب شد. مبنای انتخاب بر اساس نرسیدن به وضعیت ثابت (قرار داشتن در فاز لگاریتمی) در نمودار تکثیر محصول PCR بود.

چرخه‌های PCR به‌ترتیب شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ٤ دقیقه و ۲۸ چرخه شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۵ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ژن *CYP1A4* و ٥٦ درجه سانتی‌گراد برای ژن *TOJ3* به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه به‌مدت ۳۵ ثانیه و در انتها به‌مدت ۷ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود.

جدول ۱- آغازگرهای استفاده شده وخصوصیات آن‌ها

ژن	آغازگر(5′→3′)	Tm	اندازه محصول(bp)
بتا اکتین	CAGGACTCCATACCCAAGAA TGCGTGACATCAAGGAGAAG	۵۷/٦ ٦۰	۱۹۰
CYP1A4	GTCAATACCCGTTTCGATGC CTCTGCCTGAATCTTCTTCTG	٥٤ ٥۳	۲۷۹
TOJ3	ATGAGCCAACCCACACTCGA CAGCACATCATCCCGTACATCC	۵۸/۹ ۵۷/۸	۱۳٦

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.2.1]

حجم نهایی PCR برای هر نمونه ۲۰ میکرولیتر بود که شامل ۱۰ میکرولیتر از Master Mix 2x، پرایمر Beta actin با غلظت ٤pmol، پرایمر اختصاصی با غلظت ۸۰pmol و cDNA در حجم دو میکرولیتر بود. سپس محصولات PCR برای بررسی، بر روی ژل آگارز دو درصد بارگذاری شدند. برای مقایسه داده‌ها، بعد از عکس‌برداری، مساحت باند با استفاده از نرم‌افزار Gel Qunt.NET به صورت کمی اندازه گیری شد. نسبت بیان هر ژن به ژن مرجع تعیین شد و با استفاده از نرم‌افزار SAS V8 تجزیه داده‌ها انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تأثیر بیان هر ژن در هر تیمار و در مقایسه با ژن مرجع بتا اکتین در شکل ۱ نشان داده شده‌است. جدول ۲ میزان بیان ژن‌های *CYP1A4* و *TOJ3* را تحت تأثیر TiO_2NP_s نشان می‌دهد. میزان بیان ژن *CYP1A4* تحت تأثیر TiO_2NP_s به‌صورت معنی‌داری در دوزهای ۵۰۰ میلی‌گرم ($p< 0.05$) و ۱۰۰۰ میلی‌گرم ($p< 0.01$) در کیلوگرم جیره افزایش یافت. ویتامین E موجود در تیمارها، میزان بیان *CYP1A4* را نسبت به گروه شاهد تغییر نداد. در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم TiO_2NP_s به همراه ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، میزان بیان ژن *CYP1A4* در مقایسه با تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم TiO_2 کاهش یافت، اما این کاهش معنی‌دار نبود. همچنین تحت تأثیر ویتامین E در تیمار حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم TiO_2 میزان بیان ژن *CYP1A4* به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

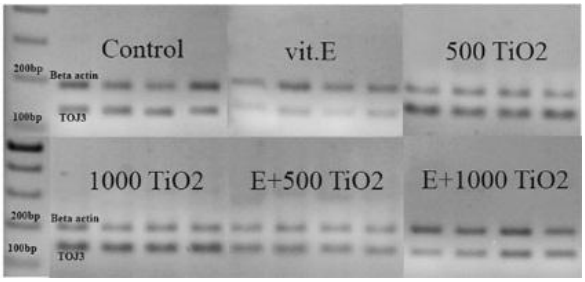
تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم TiO_2NP_s، بیان ژن *TOJ3* را در سطح پنج درصد و تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم TiO_2NP_s بیان این ژن را در سطح یک درصد به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. مقدار ویتامین E در تیمار با ۵۰۰ میلی‌گرم TiO_2NP_s، میزان بیان این ژن را به‌صورت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش داد و در تیمار با ۱۰۰۰ میلی گرم TiO_2NP_s این مقدار ویتامین E میزان بیان ژن را به صورت معنی‌داری در سطح پنج درصد کاهش داد.

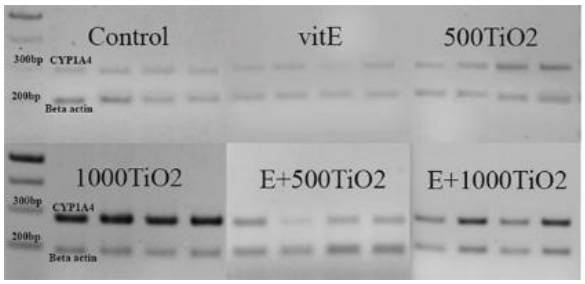
بنابراین با توجه به مطالب گفته شده می‌توان بیان کرد که در تیمارهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم TiO_2NP_s بیان هر دو ژن به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. هم‌چنین می‌توان گفت که ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E توانسته میزان بیان هر دو ژن را در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم TiO_2NP_s، به صورت معنی‌داری کاهش دهد. بررسی سمیت سلولی نانوذراتی نظیر SiO_2 نشان داده است که اثر این مواد وابسته به اندازه ذره، زمان در معرض بودن و دوز مورد استفاده می‌باشد (Lin et al. 2006). ذرات ریزتر به‌علت سطح واکنش دهندگی بالاتر دارای اثرات بیشتری هستند. TiO_2NP_s با اندازه ۲۵ نانومتر اثرات التهابی بیشتری نسبت به ذرات با اندازه ۲۵۰ نانومتر در موش ایجاد کردند (Oberdörste et al. 2005).

تنش اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های مهم آسیب‌های بیولوژیکی می‌باشد که از آن به عنوان یکی از چندین علت آسیب به عملکرد طیور یاد می‌شود. در طی تنش اکسیداتیو محصولات اکسیداتیوی و مواد حد واسطی تولید می‌شوند که می‌توانند موجب اکسیده شدن لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در بافت‌های حیوانی شوند (Lin et al. 2006). هنگامی که نانو ذرات وارد سلول می‌شوند، در داخل میتوکندری موجب اختلال در زنجیره انتقال الکترون، آسیب ساختاری و فعال کردن سیستم‌های آنزیمی همانند سیستم NADPH[1] و در نهایت موجب دپلاریزه شدن غشای میتوکندری شده و سبب تحریک تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌شود (Xia et al. 2006). آسیب‌های ژنتیکی ممکن است به طور مستقیم در اثر واکنش نانو ذرات با مواد ژنتیکی به وجود بیاید یا اثرات ثانویه حاصل از تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد (Xie et al. 2012). مکانیسم مولکولی آسیب اکسیداتیو توسط TiO_2NP_s در کبد بررسی شده‌است. گزارش‌های قبلی نشان داده که دوز بالای TiO_2NP_s می‌تواند سبب حمله اکسیداتیو و آسیب به عملکرد کبد در موش شود (Wang et al. 2008). میزان تولید ROS[2] در کبد ناشی از دی‌اکسید تیتانیوم به‌طور قابل توجهی بالا می‌رود و این نشان می‌دهد که کبد از تنش اکسیداتیو رنج می‌برد. برهمکنش بین H_2O_2 و O_2 تولید رادیکال‌های O_2 و OH می‌نماید که می‌تواند منتهی به پراکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع غشای سلولی شود (Cui et al. 2010).

[1] Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase
[2] Reactive oxygen species

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.2.1]





شکل ۱- بیان ژن *CYP1A4* در سمت چپ و ژن *TOJ3* در سمت راست در تیمارهای مختلف نسبت به ژن مرجع بتا اکتین نشان داده شده‌است.

جدول ۲- مقایسات میانگین نسبت بیان ژن مورد بررسی به ژن مرجع در هر تیمار

اثرات سطوح مختلف	*TOJ*-3± SEμ	*CYP1A4*± SEμ
اثر ویتامین E		
صفر میلی‌گرم ویتامین E	۱/۰۸۹^{a}± ۰/۰۸۹	۲/۲۷۷^{a}± ۰/۱۶۳
۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E	۰/۷۱٤^{b}± ۰/۰۸۵	۱/٦۸۲^{b}± ۰/۱۷۲
اثر دی‌اکسید تیتانیوم		
صفر میلی‌گرم دی‌اکسید تیتانیوم	۰/٤۸٦^{b}± ۰/۱۰٤	۰/۹۱۰^{c}± ۰/۱۹۹
۵۰۰ میلی‌گرم دی‌اکسید تیتانیوم	۱/۰۲۷^{a}± ۰/۱۱۲	۱/۸٦۳^{b}± ۰/۲۱۵
۱۰۰۰ میلی‌گرم دی‌اکسید تیتانیوم	۱/۱۹۱^{a}± ۰/۱۰٤	۳/۱٦٦^{a}± ۰/۱۹۹
ویتامین E × دی‌اکسید تیتانیوم		
شاهد	۰/۵۹۷^{cd}± ۰/۱٤۸	۰/۸٦۸^{d}± ۰/۲۸۲
۲۰۰ ویتامینE	۰/۳۷۵^{d}± ۰/۱٤۸	۰/۹۵۲^{cd}± ۰/۲۸۲
۵۰۰ دی‌اکسید تیتانیوم	۱/۲۳۷^{ab}± ۰/۱۷۱	۱/۸٦^{b}± ۰/۲۸۲
۵۰۰ دی‌اکسید تیتانیوم + ویتامینE	۰/۸۱۷^{bc}± ۰/۱٤۸	۱/۸٦۷^{bc}± ۰/۳۲٦
۱۰۰۰ دی‌اکسید تیتانیوم	۱/٤۳۲^{a}± ۰/۱٤۸	٤/۱۰۲^{a}± ۰/۲۸۲
۱۰۰۰ دی‌اکسید تیتانیوم + ویتامینE	۰/۹۵^{bc}± ۰/۱٤۸	۲/۲۳^{b}± ۰/۲۸۲

موجودات زنده سیستم‌های دفاعی مختلفی برای مواجه شدن با رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط سلول‌ها دارند. در طبیعت، هزاران ترکیب آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که می‌تواند توسط حیوانات علیه رادیکال‌های آزاد استفاده شود (Surai et al. 2002). ویتامین E یکی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شناخته شده است که می‌تواند از اکسیداسیون اسیدهای چرب بلند زنجیر در غشای سلولی جلوگیری کند (Lin et al. 2006). همچنین تأثیر مثبت ویتامین E بر عملکرد رشد، تنش اکسیداتیو و بهبود کیفیت گوشت نشان داده شده‌است (Lu et al. 2014).

همان‌طور که در مقدمه ذکر شد استفاده از TiO_2NPs باعث تغییر در بیان ژن‌های زیادی در سلول‌های کشت داده شده می‌شود. استفاده از این نانو ذرات در جیره بلدرچین‌های ژاپنی با و بدون ویتامین E و بررسی تغییرات احتمالی در بیان ژن‌های *CYP1A4* و *TOJ3* هدف تحقیق حاضر بود. این دو ژن به ترتیب در فرایندهای سم زدایی و ایجاد سرطان در بدن دخالت دارند. آنزیم CYP در سطح سیتوپلاسمی قرار گرفته و اتصال آن به غشا در چرخه‌های اکسید و ردوکتازی ضروری است. در یک بررسی، افزایش در بیان *CYP* تحت تأثیر نانو ذرات کربن گزارش شد که می‌تواند ناشی از اثر تنش اکسیداتیو القایی توسط نانو ذرات مذکور باشد (Alshatwiet al. 2013). با تزریق داخل صفاقی نانو ذرات در جوجه‌ها و بررسی میزان سمیت آن، بیان ژن *CYP1A4* در سلول‌های B کشت داده شده اندازه‌گیری شد و افزایش معنی-دار در سطح بیان *CYP1A4* پس از ٦-۱ ساعت نشان داده شد (Puebla-Osorio et al. 2004). نتایج این تحقیق نیز افزایش بیان

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.2.1]

این ژن را در کبد بلدرچین ژاپنی با استفاده از این ذرات در جیره تایید نمود. این افزایش بیان تا اندازه‌ای تحت تأثیر ویتامین E کنترل شد. ویتامین E بیان این ژن را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد که می تواند ناشی از خاصیت آنتی اکسیدانی آن و جلوگیری از ایجاد رادیکال‌های آزاد و عدم نیاز به بیان بالای سیتوکروم‌ها در حضور ویتامین E باشد. اثر ضد تنش اکسیداتیو این ویتامین قبلا نیز گزارش شده‌است (Jena et al. 2013). *TOJ3* (هومولوگ ژن *MCRS1* در بلدرچین) به‌عنوان یک ژن سرطان‌زا در طی تغییر شکل فیبروبلاست رفتار می‌کند و این فعالیت تغییر شکلی می-تواند توسط سرکوبگر تومور PTEN[1] سرکوب شود (Liuet al. 2014). نشان داده شده که افزایش بیان MCRS1 در سلول‌های NSCLC[2] اتفاق می‌افتد. MCRS1 نیز در همکاری با پروتئین‌های متعدد از جمله پروتئین‌های هسته‌ای، فاکتورهای رونویسی و پروتئین‌های متصل شده به RNA در تنظیم رونویسی ژن کمک می‌کند (Renet al. 1998). افزایش بیان MCRS1 در کارسینومای سلول مطبق مری (ESCC)[3] (Xu et al. 2012) و کارسینومای هپاتوسلولار انسانی (HCC)[4] (Zhong et al. 2013) دخالت دارد و منجر به تکثیر و پیشرفت سلول‌های سرطانی می‌شود. افزایش بیان مشاهده شده این ژن درتحقیق حاضر می‌تواند خطرات احتمالی ایجاد سرطان بر اثراستفاده از TiO_2NPs را نشان دهد و لزوم بررسی بیش‌تر تغییرات در بیان ژن‌های انکوژن و سرکوبگرتومور دیگر را ضروری می‌سازد.

در این مطالعه، القای بالای *CYP1A4* نشان دهنده این امر است که TiO_2NP_s سبب افزایش در میزان H_2O_2 و O_2 شده و میزان بیان *CYP1A4* را تحت تأثیر گونه‌های اکسیژن فعال افزایش داده است. در این بین، تیمارهای تحت درمان با ویتامین E نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد است و توانسته تا حدودی از افزایش بیان *CYP1A4* جلوگیری کند. همچنین میزان بیان ژن *TOJ3* تحت تأثیر مقدار TiO_2NP_s تیمارها افزایش یافت. با توجه به اینکه این افزایش منجر به تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود، می‌توان عنوان کرد که دوزهای بالای TiO_2NP_s سبب اختلال در تکثیر سلول‌ها و بیان بالای ژن *TOJ3* می‌شود.

[1] phosphatase and tensin homologue
[2] non-small cell lung cancer
[3] esophageal squamous cell carcinoma
[4] Hepatocellular carcinoma

منابع

Alshatwi AA, Periasamy VS, Subash-Babu P, Alsaif MA, Alwarthan AA, Lei KA (2013) CYP1A and POR gene mediated mitochondrial membrane damage induced by carbon nanoparticle in human mesenchymal stem cells. Environmental toxicology and pharmacology 36:215-222.

Bader AG, Schneider ML, Bister K, Hartl M (2001) TOJ3, a target of the v-Jun transcription factor, encodes a protein with transforming activity related to human microspherule protein 1 (MCRS1). Oncogene 20:7524-7535.

Cheraghi M, Espergham A, Zaboli A (2013) Cytochrome P450 and its role in detoxification. The First National Conference on Planning and Environmental Protection. Iran, Islamic Azad university Hamedan Branch, 1-18. (In Farsi).

Cui Y, Gong X, Duan Y, Li N, Hu R, Liu H, Hong M, Zhou M, Wang L, Wang H (2010) Hepatocyte apoptosis and its molecular mechanisms in mice caused by titanium dioxide nanoparticles. Journal of hazardous materials 183:874-880.

Gao G, Ze Y, Li B, Zhao X, Zhang T, Sheng L, Hu R, Gui S, Sang X, Sun Q (2012) Ovarian dysfunction and gene-expressed characteristics of female mice caused by long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles. Journal of hazardous materials 243:19-27.

Gui S, Sang X, Zheng L, Ze Y, Zhao X, Sheng L, Sun Q, Cheng Z, Cheng J, Hu R (2013) Intragastric exposure to titanium dioxide nanoparticles induced nephrotoxicity in mice, assessed by physiological and gene expression modifications. Part FibreToxicol 10:1-16.

Hoet PH, Brüske Hohlfeld I, Salata OV (2004) Nanoparticles known and unknown health risks. Journal of nanobiotechnology 2:12.

Jena B, Panda N, Patra R, Mishra P, Behura N, Panigrahi B (2013) Supplementation of vitamin e and c reduces oxidative stress in broiler breeder hens during summer. Food and Nutrition Sciences 4:33.

Karagiannidis AI, Bader AG, Hartl M, Bister K (2008) TOJ3, a v-jun target with intrinsic oncogenic potential, is directly regulated by Jun via a novel AP-1 binding motif. Virology 378:371-376.

Kidd M (2004) Nutritional modulation of immune function in broilers. Poultry Science 83:650-657.

Kumar S, Ciraci C, Redmond S, Chuammitri P, Andreasen C, Palić D, Lamont S (2011) Immune response gene expression in spleens of diverse chicken lines fed dietary immunomodulators. Poultry science 90:1009-1013.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.2.1]

Lin W, Huang Yw, Zhou XD, Ma Y (2006) In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. Toxicology and applied pharmacology 217:252-259.
Liu MX, Zhou KC, Cao Y (2014) MCRS1 overexpression, which is specifically inhibited by miR-129*, promotes the epithelial-mesenchymal transition and metastasis in non-small cell lung cancer. Molecular cancer 13:245.
Lu T, Harper A, Zhao J, Dalloul R (2014) Effects of a dietary antioxidant blend and vitamin E on growth performance, oxidative status, and meat quality in broiler chickens fed a diet high in oxidants. Poultry science 93:1649-1657.
Ma L, Zhao J, Wang J, Liu J, Duan Y, Liu H, Li N, Yan J, Ruan J, Wang H (2009) The acute liver injury in mice caused by nano-anatase TiO2. Nanoscale research letters 4:1275-1285.
Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J (2005) Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environ Health Perspect 113: 823-839.
Puebla Osorio N, Ramos K, Falahatpisheh M, Smith R, Berghman L (2004) 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin elicits aryl hydrocarbon receptor-mediated apoptosis in the avian DT40 pre-B-cell line through activation of caspases 9 and 3. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 138:461-468.
RenY, Busch RK, Perlaky L, Busch H (1998) The 58-kDa microspherule protein (MSP58), a nucleolar protein, interacts with nucleolar protein p120. European Journal of Biochemistry 253:734-742.
Soliman MM, Attia HF, Hussein MM, Mohamed EH, Ismail TA (2013) Protective effect of n-acetylcystiene against titanium dioxide nanoparticles modulated immune responses in male albino rats. American Journal of Immunology 9:148.
Surai PF (2003) Selenium-vitamin E interactions: Does 1+ 1 equal more than 2. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries (TP Lyons and KA Jacques, eds) Nottingham University Press, Nottingham, UK.
Wang J, Liu Y, Jiao F, Lao F, Li W, Gu Y, Li Y, Ge C, Zhou G, Li B (2008) Time dependent translocation and potential impairment on central nervous system by intranasally instilled TiO 2 nanoparticles. Toxicology 254:82-90.
Xia T, Kovochich M, Brant J, Hotze M, Sempf J, Oberley T, Sioutas C, Yeh JI, Wiesner MR, Nel AE (2006) Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. Nano letters 6:1794-1807.
Xie Y, Wang Y, Zhang T, Ren G, Yang Z (2012) Effects of nanoparticle zinc oxide on spatial cognition and synaptic plasticity in mice with depressive-like behaviors. Journal of Biomedical Science 19:1-11.
Xu CS, Zheng JY, Zhang HL, Zhao HD, Zhang J, Wu GQ, Wu L, Wang Q, Wang WZ, Zhang J (2012) MSP58 Knockdown inhibits the proliferation of esophageal squamous cell carcinoma in vitro and in vivo. Asian Pac J Cancer Prev 13:3233-3238.
Yang J, Liu Z, Li M, Qiu X (2013) Hydroxylation of quinocetone and carbadox is mediated by CYP1As in the chicken (Gallus gallus). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 158:84-90.
Zhong M, Zhang X, Li B, Chen Cs, Ji Gl, Li Sx, Bi Dq, Zhao Qc, Shi H (2013) Expression of MSP58 in hepatocellular carcinoma. Medical Oncology 30:1-10.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.2.1]