مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۳، اسفند ۱۳۹۴، صفحه ۵۳-۴۵

اثر نانوذرات اکسیدآهن و یون آهن بر کارآیی تولید مثلی موش‌های سوری باردار و رشد شناسی عصبی–رفتاری زاده‌ها

فرشته عنبریان (MSc)[۱]، سید رضا فاطمی طباطبایی (PhD) *[۱]، ایرج کاظمی نژاد (PhD)[۲]، صدیقه محمدیان (MSc)[۱]

۱-گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۲-دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

دریافت: ۹۴/۱/۲۰، اصلاح:۹۴/۵/۷، پذیرش:۹۴/۷/۶

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به حساسیت بالای رویان و جنین به عوامل سمی و افزایش استفاده از نانو مواد مختلف از جمله نانواکسید آهن در پزشکی، در این مطالعه اثرات نانواکسید آهن و یون آهن بر شاخص‌های تولیدمثلی موش‌های سوری باردار و تکامل بازتاب‌های عصبی–رفتاری نوزادان آنها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۹ سر موش سوری ماده در گروه‌های کنترل، نانواکسید آهن ۱۰۰، نانواکسید آهن ۱۰۰۰ و یون آهن ۱۰۰۰ از چهار روز قبل از جفت‌اندازی تا زمان زایمان یک روز درمیان به صورت زیرجلدی به ترتیب با دوزهای صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نانواکسید آهن و یون فریک (معادل با مقدار یون موجود در ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نانواکسید آهن) تیمار شدند. شاخص‌های تولیدمثلی مادران، رشدشناسی عصبی رفتاری و تکامل فیزیکی نوزادان به تفکیک جنسیت ارزیابی و زمان تکاملشان بر حسب روز مشخص شد.

یافته‌ها: تکامل بسیاری از بازتاب‌های عصبی رفتاری و شاخص‌های تکامل فیزیکی خصوصا در گروه نانواکسید آهن ۱۰۰۰ در مقایسه با گروه کنترل دچار تاخیر شد. به عنوان مثال امتناع از پرتگاه (۱/۳۵±۰/۱۳، ۲/۷۰±۰/۱۳؛ p<۰/۰۰۱)، چسبیدن به سطح (۲/۵۵±۰/۲۰، ۳/۴۵±۰/۲۰؛ p<۰/۰۱)، سطح شیبدار (۲/۶۰±۰/۲۲، ۳/۵۰±۰/۲۲؛ p<۰/۰۱)، گرفتن میله (۵/۸۵±۰/۴۴، ۷/۳۰±۰/۴۴؛ p<۰/۰۵)، دویدن (۷/۷۵±۰/۲۳، ۸/۷۰±۰/۲۳؛ p<۰/۰۱)، در آمدن کرک (۵/۹۰±۰/۱۸، ۶/۸۵±۰/۱۸؛ p<۰/۰۰۱)، باز شدن چشم (۱۴/۲۵±۰/۲۲، ۱۵/۲۵±۰/۲۲؛ p<۰/۰۱)، و نزول بیضه (۲۱/۲۰±۰/۱۸، ۲۲/۴۰±۰/۱۸؛ p<۰/۰۰۱) توسط دوز بالای نانواکسید آهن در قیاس با گروه کنترل دچار تاخیر شدند. شدت این تاخیرها در اکثر موارد به ترتیب در گروه‌های نانواکسید آهن ۱۰۰ و یون آهن کمتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه بیانگر عوارض شدید مواجهه با نانوذرات اکسیدآهن در دوران جنینی و سمی‌تر بودن آن در مقایسه با یون آهن می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نانواکسید آهن، دوران قبل از تولد، دوران نوزادی، رشدشناسی عصبی رفتاری.

مقدمه

فناوری نانو از جمله تکنولوژی‌های رو به گسترش و مورد توجه و از مهمترین دستاوردهای علمی بوده و تأثیر مثبتی در ارتقاء زندگی، تولیدات جدید و تولید محصولات ارزان‌تر دارد (۱). در دهه گذشته، فناوری نانو به طور گسترده برای استفاده در پزشکی از جمله کشفیات بیولوژیک، انتقال دارو، تصویربرداری تشخیصی و مهندسی بافت مطرح شده است (۳و۲). نانو داروها در قیاس با داروهای معمولی خلوص، جذب، و اثر بیشتری دارند، برای رسیدن به بافت هدف انتخابی‌تر عمل کرده، و بنابراین در مقادیر و دفعات کمتر استفاده می‌شوند. در واقع خصوصیت مهم نانو داروها بالاتر بودن نسبت سطح به حجم آنها در مقایسه با داروهای معمولی است که این افزایش نسبی، به افزایش حلالیت، سرعت جذب و عبور راحتتر آنها از سد خونی مغزی کمک می کند (۴). از جمله نانو مواد مهم می‌توان به نانو ذرات اکسید آهن اشاره کرد که دارای کاربردهای زیست پزشکی زیادی از قبیل بازسازی بافتی، ایمنی سنجی، رفع مسمومیت مایعات زیستی، گرمادرمانی سلول‌های سرطانی و غیره می‌باشند (۵). مطالعات متعددی انتقال نانوذرات از جفت را مورد بررسی قرار داده‌اند (۸-۶). به نظر می‌رسد نانوذرات به علت اندازه فوق العاده کوچک خود با مشکل چندانی برای عبور از سدهای فیزیولوژیک مواجه نیستند و بنابراین به طور موثر از طریق جریان خون در بافتهای بدن توزیع می‌گردند (۱۰و۹و۱). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که نانوذرات می توانند از جفت عبور کنند همچنین آنها در جفت، کبد و مغز جنین در پی تزریق

▣ این مقاله حاصل پایان نامه فرشته عنبریان دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه شهید چمران اهواز می باشد.
*مسئول مقاله: دکتر سید رضا فاطمی طباطبایی
آدرس: اهواز، دانشگاه شهید چمران، دانشکده دامپزشکی، گروه فیزیولوژی. تلفن: ۱۹-۳۳۳۳۰۰۱۰-۰۶۱
E-mail: fatemi_r@scu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

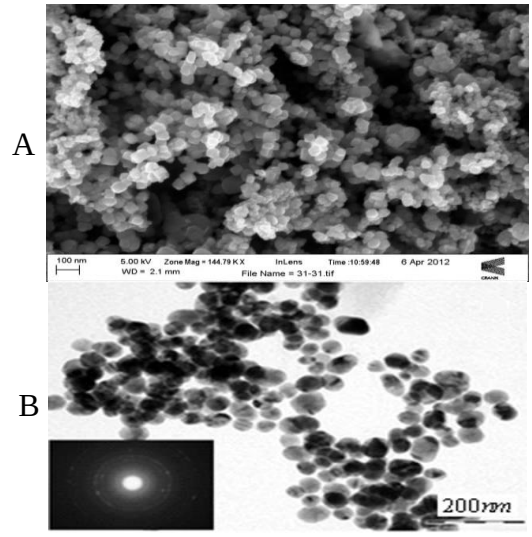
داخل رگی در موش‌های باردار پیدا شده‌اند (۱۱). مصرف موادی که توانایی عبور از جفت را در طی بارداری دارند می‌تواند بر بیان ژن‌هایی که نقش کلیدی در نمو عصبی دارند موثر بوده، که در نهایت منجر به اختلال ناقلین عصبی و به تبع آن رفتاری شوند (۱۲). نانوذرات اکسیدآهن توانایی عبور از سد خونی–جفتی و نفوذ به جنین در حال تکوین را دارند بنابراین ممکن است باعث بروز اختلالاتی پس از تولد شوند (۱۳). برخی از نانومواد اثرات زیان‌آوری بر تکامل جنینی می‌گذارند؛ و این اثرات زیان‌آور، متاثر از ترکیبات نانومواد، تغییرات سطح، دوز، راه‌های ورود و گونه‌های حیوانی هستند (۱۴). نانوذرات اکسیدآهن (Fe_3O_4) دارای اثرات سمی قابل توجهی از جمله، التهاب بافت، مرگ سلول، استرس اکسیداتیو (۱۵)، تخریب میتوکندری، تغییر پروتئین‌ها (۱۶)، تخریب DNA و تراکم کروموزوم (۱۷) هستند. نانوذرات اکسیدآهن دارای اثرات سیتوتوکسیک روی سلول‌های بنیادین جنین موش (۱۸)، سیستم تنفسی و ایمنی (۱۹) هستند.

همچنین گزارشاتی در مورد ایجاد استرس اکسیداتیو (۲۰) و تخریب حافظه احترازی غیرفعال (۲۱) توسط نانو ذرات اکسیدآهن وجود دارد. در مورد اثر نانوذرات اکسیدآهن بر تولید مثل مطالعات بسیار محدود است و هیچگونه مطالعه‌ای در خصوص تکامل عصبی–رفتاری زاده‌ها پس از مواجهه مادران باردار با نانوذرات آهن صورت نگرفته است. تجویز نانوذرات اکسید آهن در روز ۹ تا ۱۹ بارداری موش باعث افزایش بچه خواری و کاهش وزن مادران و تجمع نانوذرات در کبد جنین ها می شود (۲۲). بعلاوه، مواجه موش‌های باردار با این نانوذرات باعث کاهش تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت I و اسپرماتید در بیضه زاده‌های ۶۰ تا ۷۰ روزه آنها شد (۱۳). با توجه به استفاده روزافزون از نانوذرات اکسیدآهن و عدم دستیابی به گزارشی در مورد اثرات مواجهه جنینی با آن و تأثیر آن بر تولید مثل مادر و تکامل جنین، این مطالعه به منظور بررسی اثر تجویز مکرر زیرجلدی نانو ذرات اکسیدآهن و یون آهن بر شاخص‌های تولیدمثلی مادران باردار و تکامل بازتاب‌های عصبی رفتاری نوزادان آنها در دوران شیرخواری انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نانواکسید آهن: نانواکسید آهن (Fe_3O_4) به روش الکترواکسیداسیون در گروه فیزیک دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه و فاز و اندازه آنها به ترتیب با استفاده از آنالیز پراش پرتو X و میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد مطالعه قرار گرفت.

حیوانات: در این پژوهش تجربی ۴۹ سر موش سوری ماده نژاد NMRI (۳±۲۸ گرم) از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی اهواز تهیه و در قفس‌های پلکسی‌گلاس، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. دسترسی حیوانات به آب و غذای فشرده (شرکت خوراک دام پارس تهران) بدون محدودیت بود. پس از دو هفته تطابق، هر چهار موش ماده به همراه یک نر در یک قفس قرار گرفتند. موش‌های نر، بیش از دو دوره سیکل استروس موش‌های ماده یعنی بعد از ۱۴ روز از قفس موش‌های ماده جدا شدند. انتخاب دوره ۱۴ روزه به خاطر اطمینان از انجام جفت‌گیری موفق بود. موش‌های ماده در روز ۱۷ پس از جفت‌گیری به قفس‌های انفرادی مناسب موش سوری انتقال داده شدند. بررسی‌ها از ساعت ۸ صبح تا ۱۴ بعد از ظهر انجام شد.



شکل ۱. (A) تصویر SEM نانوذرات اکسید آهن تهیه شده به‌روش الکترواکسیداسیون، (B) تصویر TEM نانوذرات اکسید آهن تهیه شده به روش الکترواکسیداسیون

گروه‌بندی: موش‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه (حداقل ۱۰ موش در هر گروه) شامل گروه‌های کنترل، نانواکسیدآهن ۱۰۰، نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ و یون آهن ۱۰۰۰میکروگرم بر کیلوگرم قرار گرفتند و از چهار روز قبل از مجاور شدن با حیوان نر تا زمان زایمان یک روز در میان به ترتیب صفر، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نانو اکسید آهن و یون آهن فریک (ونوفر، شرکت دانا مد پارس، سوییس) را به مقداری که یون دریافتی در این گروه برابر با آهن موجود در ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نانواکسید آهن باشد به صورت زیر جلدی دریافت‌کردند. این دوزها بر اساس یک آزمایش مقدماتی انتخاب شد که در آن دوزهای ۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نانو اکسیدآهن به صورت زیر جلدی به موش‌های باردار تزریق و دوزهای ۱۰۰ و ۱۰۰۰ که باعث بروز ناهنجاری‌های ظاهری در زاده‌ها نشدند انتخاب شد. متغیرهای مورد بررسی در این مطالعه شامل سنجش‌ها و آزمون‌هایی بود که شاخص‌های تولیدمثلی مادر، تکامل عصبی رفتاری و تکامل فیزیکی زاده‌ها را مورد بررسی قرار داد. وزن موشهای ماده در طول دوره بارداری و دوره شیرواری و وزن کلنی نوزادان در روز های ۱، ۴، ۷، ۱۴ و روز ازشیرگیری (روز ۲۱) بعد از تولد ثبت شد. در دوره شیرواری آزمون‌هایی که معرف رشد و تکامل رفلکس‌ها و عملکرد عصبی– رفتاری زاده ها بودند، انجام شد تا اثر مواد تجویز شده بر رشد فیزیکی و رفتار زاده‌ها مشخص شود. در روز چهارم، قبل از توزین کلنی نوزادان، به منظور یکنواخت نمودن شرایط کلنی‌ها، حداکثر هشت نوزاد از هر کلنی باقی ماند و سایر نوزادان حذف شدند (۲۳). همچنین رفتار بچه‌خواری مادران با مقایسه تعداد نوزادان در روزهای متوالی ثبت شد. شاخص‌های تولیدمثلی شامل فاصله جفت‌اندازی تا زایمان (تعداد روزهای سپری شده از زمان مجاور شدن حیوان نر و ماده تا روز زایمان)، شاخص بارداری (تعداد ماده‌های باردار با نوزاد زنده در روز ۱ بخش بر تعداد کل ماده‌ها)، نسبت زنده‌مانی نوزادان (تعداد نوزادان زنده مانده در روز ۴ بخش برتعداد کل نوزادان زنده متولد شده)، نسبت جنسی نوزادان (نسبت تعداد نوزادان نر به کل نوزادان)، وزن کلنی و میانگین وزن هر نوزاد در روز اول و تعداد نوزاد متولد شده در هر کلنی مورد

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

سنجش قرار گرفتند (۲۵و۲۴). آزمون‌هایی که به عنوان شاخص‌های تکامل عصبی- رفتاری در نظر گرفته شدند، اکثرا بر اساس مدل باتری فاکس تنظیم گردیدند (جدول ۱) (۲۸-۲۶). روز درآمدن دندانهای ثنایا، جدا شدن گوش از بدن، باز شدن چشم ها، درآمدن کرک‌ها، باز شدن منفذ گوش و نزول بیضه (Descent testes) که معرفی از تکامل دستگاه عصبی و اسکلتی می باشد نیز ثبت شدند. شاخصهای عصبی–رفتاری و تکامل فیزیکی بر روی تمام نوزادان هر کلنی به تفکیک جنسیت مورد سنجش قرار گرفتند و روزهایی که در آنها نصف (۵۰٪) و تمام افراد کلنی (۱۰۰٪) نتیجه آزمونشان مثبت شد به ترتیب به عنوان روزهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ ثبت شدند.

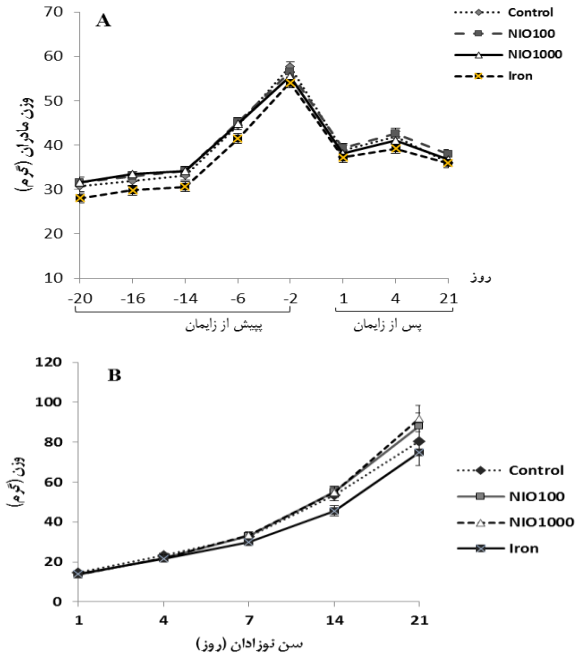
جدول ۱. شرح آزمون‌های عصبی–رفتاری استفاده شده برای ارزیابی تکامل فعالیت نوزادان

بازتاب	توضیح
قرار گرفتن روی اندام‌ها در سطح (Surface righting reflex)	نوزاد قرار گرفته به پهلو یا پشت حداکثر طی ۳۰ ثانیه با قرار دادن کف هر چهار پا بر سطح زمین، روی شکم (حالت طبیعی) قرار می گیرد
امتناع از پرتگاه (Cliff drop aversion reflex)	امتناع نوزاد از پرتگاه طی حداکثر ۳۰ ثانیه پس از قرار گرفتن بر لبه پرتگاه
حرکت مارپیچ (Pivoting)	عدم امکان حرکت زاده در مسیر مستقیم
چسبیدن به سطح (Level or vertical stick reflex)	ممانعت نوزاد از کشیده شدن روی صفحه مشبک
سطح شیب‌دار (Geotaxis test)	چرخش ۱۸۰ درجه‌ای نوزادی که روی سطح شیبدار ۴۵ درجه‌ای قرار گرفته است طی حداکثر ۳۰ ثانیه
گرفتن میله (Bar holding reflex)	نوزاد با اندام قدامی به مدت حداقل ۵ ثانیه به میله نازکی آویزان می ماند.
سبیلک (Vibrissae reflex)	تماس سبیلک‌های نوزاد آویزان با سطح جامد، باعث بالا رفتن سرو کشیده شدن اندام قدامی می‌شود
قرار گرفتن روی اندام‌ها پس از سقوط (Free-fall righting reflex)	نوزاد وارونه‌ای که از فاصله ۳۵ سانتی‌متری رها می‌شود قبل از تماس با سطح چرخیده و ابتدا پاهایش با سطح تماس می‌یابد
دویدن (Running)	توانایی دویدن حیوان با حفظ تعادل.

آنالیز آماری در تمام موارد ابتدا هموژنیتی داده‌ها با استفاده از آزمون Leven بررسی شد. برای مقایسه شاخص‌های تولیدمثلی بین گروه‌های مختلف از آزمون ANOVA استفاده شد. به منظور بررسی اثر تیمار و جنسیت بر آزمون‌های عصبی – رفتاری و تکامل فیزیکی از آزمون تک متغیره در مدل خطی عمومی (General Linear Model- Univariate) و برای مقایسه وزن مادران و فرزندان از ابتدا تا انتهای دوره مطالعه از آزمون اندازه‌گیری تکراری (Repeated measures) استفاده شد، و در هر دو آزمون نوع تیمار (گروه) و جنسیت به عنوان فاکتورهای ثابت در نظر گرفته شدند. در کلیه موارد در صورت وجود اختلاف بین گروه‌ها و هموژن بودن داده از پس آزمون LSD و در صورت عدم هموژن بودن از آزمون Games Howell استفاده شد. در تمام مراحل $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

مادران مواجه شده با نانوذرات اکسیدآهن و یون آهن در طی دوران آبستنی و شیردهی و فرزندان آنها در دوره شیرخواری در مقایسه با گروه کنترل تغییرات وزنی مشابهی را نشان دادند و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد ($p>0/05$؛ شکل ۲).



شکل۲. مقایسه اثر نانواکسیدآهن و یون آهن بر وزن مادران (A) و زاده‌ها (B). مقادیر به صورت میانگین±میانگین خطای معیار نشان داده شده‌اند. گروه‌های کنترل، نانواکسید آهن ۱۰۰، نانواکسید آهن۱۰۰۰ به ترتیب صفر، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسیدآهن و گروه آهن ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم یون آهن را هر دو روز یک بار در طی دوران جفت‌گیری و بارداری دریافت کردند.

هر چند بر روی شاخص بارداری آنالیز آماری انجام نشد ولی مقدار آن در گروه نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ کوچکتر از گروه کنترل بود (جدول ۲). نسبت زنده‌مانی در گروه نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ (۰/۸۹±۰/۰۳؛ $p<0/01$) نسبت به گروه‌های کنترل (۱±۰/۰۳؛ $p<0/01$)، نانواکسیدآهن ۱۰۰ (۰/۹۸±۰/۰۳؛ $p<0/05$)، و یون آهن (۰/۹۹±۰/۰۳؛ $p<0/01$) کاهش یافت (جدول ۲).

براساس مشاهدات ما کاهش زنده‌مانی نوزادان عمدتاً ناشی از تمایل بچه-خواری بیشتر در گروه نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ بود. سایر شاخص‌های تولید مثلی مورد بررسی از قبیل فاصله جفت‌اندازی تا زایمان، تعداد زاده‌ها و نسبت جنسی تفاوتی نداشت. گروه‌های دریافت کننده نانواکسیدآهن ۱۰۰ و ۱۰۰۰ در مقایسه با گروه کنترل در بازتاب‌های امتناع از پرتگاه به ترتیب با مقادیر (۵۰٪ (۰/۹±۰/۴۰، ۱/۶۰±۰/۰۹، ۱/۰۵±۰/۰۹؛ $p<0/05$)؛ ۱۰۰٪ (۲/۱۵±۰/۱۳، ۲/۷۰±۰/۱۳، ۱/۳۵±۰/۱۳؛ $p<0/001$)، سطح شیبدار (۵۰٪ (۱/۸۵±۰/۱۳، ۲/۳۰±۰/۱۳، ۱/۴۵±۰/۱۳؛ $p<0/05$)؛ ۱۰۰٪ (۳/۴۰±۰/۲۲، ۳/۵۰±۰/۲۲، ۲/۶۰±۰/۲۲؛ $p<0/05$))، گرفتن میله (۱۰۰٪ (۷/۸۵±۰/۴۴، ۷/۳۰±۰/۴۴، ۵/۸۵±۰/۴۴؛ $p<0/05$) دچار تاخیر شدند (جدول ۳). در بازتاب دویدن در ۵۰٪ زاده‌ها در هر دو

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

گروه دریافت کننده نانواکسید آهن ۱۰۰۰ و یون آهن به ترتیب با مقادیر (۷/۲۰±۰/۲۴، ۶/۹۰±۰/۲۴؛ p<۰/۰۱) و در ۱۰۰٪ همین بازتاب در هر سه گروه نانواکسیدآهن ۱۰۰ و ۱۰۰۰ و یون آهن به ترتیب با مقادیر (۸/۴۰±۰/۲۳، ۸/۷۰±۰/۲۳، ۸/۴۰±۰/۲۳؛ p<۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل (۵۰٪ (۵/۸۵±۰/۲۴؛ p<۰/۰۱)؛ ۱۰۰٪ (۷/۷۵±۰/۲۳؛ p<۰/۰۵)) تاخیر مشاهده شد (جدول ۳). تمام آزمون‌ها به تفکیک جنسیت انجام شد اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین حیوانات نر و ماده دیده نشد و جنسیت تأثیری بر بازتاب‌های رخ داده در گروه‌های مختلف نداشت.

در ۱۰۰٪ شاخص تکامل فیزیکی درآمدن کرک گروه دریافت کننده نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ با مقدار (۶/۸۵±۰/۱۸) در مقایسه با گروه کنترل (۵/۹۰±۰/۱۸) تاخیر مشاهده شد (p<۰/۰۰۱؛ جدول ۴). هر سه گروه دریافت کننده نانواکسیدآهن ۱۰۰ و ۱۰۰۰ و یون آهن در باز شدن چشم به ترتیب با مقادیر (۵۰٪ (۱۴/۴۰±۰/۱۸، ۱۴/۴۵±۰/۱۸، ۱۵/۲۰±۰/۱۸؛ p<۰/۰۵)؛۱۰۰٪ (۱۴/۹۵±۰/۲۲، ۱۵/۲۵±۰/۲۲، ۱۵/۸۵±۰/۲۲؛ p<۰/۰۵)) تاخیر نشان دادند (جدول ۴). همچنین گروه‌های نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ و یون آهن در هر دو سطح ۵۰٪ و ۱۰۰٪ نزول بیضه به ترتیب با مقادیر (۲۲/۴۰±۰/۱۸، ۲۱/۸۰±۰/۱۸؛ p<۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل (۲۱/۲۰±۰/۱۸؛ p<۰/۰۵) با تاخیر همراه بودند (جدول ۴). تمام این آزمونها نیز به تفکیک جنسیت انجام شد اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین حیوانات نر و ماده دیده نشد و جنسیت تأثیری بر تکامل شاخصهای فیزیکی در گروه‌های مختلف نداشت.

جدول ۲. مقایسه اثر نانواکسیدآهن و یون آهن بر شاخص‌های تولیدمثلی مادران

شاخص های تولیدمثلی	کنترل Mean±SD	نانواکسیدآهن ۱۰۰ Mean±SD	نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ Mean±SD	آهن ۱۰۰۰ Mean±SD
تعداد موش ماده مورد استفاده برای جفتگیری	۱۰	۱۴	۱۵	۱۰
فاصله جفت‌گیری تا زایمان	۲۳/۲±۰/۷۵	۲۳/۵±۰/۷۵	۲۴±۰/۷۵	۲۳/۹±۰/۷۵
$ شاخص بارداری	۱	۰/۷۱	۰/۶۷	۱
نسبت زنده مانی نوزادان	##۱±۰/۰۳	#۰/۹۸±۰/۰۳	**۰/۸۹±۰/۰۳	##۰/۹۹±۰/۰۳
نسبت جنسی نوزادان	۰/۵۳±۰/۰۳	۰/۵۴±۰/۰۳	۰/۴۴±۰/۰۳	۰/۵۲±۰/۰۳
وزن کلنی در یک روزگی	۱۹±۱/۲۲	۱۷/۵±۱/۲۲	۱۶/۹±۱/۲۲	۱۸/۵±۱/۲۲
میانگین وزن نوزادان در ۱ روزگی	۱/۸۳±۰/۰۷	۱/۷۷±۰/۰۷	۱/۷۱±۰/۰۷	۱/۸۳±۰/۰۷
تعداد زاده ها	۱۰/۳±۰/۵۶	۹/۹±۰/۵۶	۱۰±۰/۵۶	۱۰/۱±۰/۵۶

گروه‌های کنترل، نانواکسید آهن(۱۰۰ و ۱۰۰۰) به ترتیب صفر، (۱۰۰µg/kg، ۱۰۰۰)نانوذرات اکسید آهن و گروه آهن(۱۰۰۰µg/kg) یون آهن را یک روز در میان در طی دوران جفتگیری و بارداری دریافت کردند. *: اختلاف معنی دار با گروه کنترل (**: p<۰/۰۱) #: اختلاف معنی دار با گروه نانواکسید آهن ۱۰۰۰ (# p<۰/۰۵، ## p<۰/۰۱). $: از آنجاییکه این شاخص حاصل تقسیم تعداد مادران زایمان کرده بر کل مادران است، برای کل گروه فقط یک عدد به دست می‌آید و بنابراین امکان بررسی آماری ندارد.

جدول ۳. مقایسه اثر نانواکسیدآهن و یون آهن بر حسب روز در بر تکمیل بازتابهای عصبی-رفتاری در ۵۰٪ و ۱۰۰٪ درصد از نوزادان هر گروه

بازتاب	کنترل Mean±SD	نانواکسیدآهن ۱۰۰ Mean±SD	نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ Mean±SD	آهن ۱۰۰۰ Mean±SD
قرار گرفتن روی اندامها در سطح ۵۰٪	۲/۱۵±۰/۳۱	۲/۱۰±۰/۳۱	۲/۱۵±۰/۳۱	۱/۵۵±۰/۳۱
قرار گرفتن روی اندامها در سطح ۱۰۰٪	۴/۴±۰/۴۶	۳/۳۵±۰/۴۶	۳/۴۵±۰/۴۶	۲/۸±۰/۴۶
امتناع از پرتگاه ۵۰٪	##۱/۰۵±۰/۰۹	*۱/۴±۰/۰۹	**۱/۶±۰/۰۹	#۱/۱۵±۰/۰۹
امتناع از پرتگاه ۱۰۰٪	###۱/۳۵±۰/۱۳	***۲/۱۵±۰/۱۳	***۲/۷۰±۰/۱۳	###۱/۴۵±۰/۱۳
حرکت مارپیچ ۵۰٪	#۴/۰۵±۰/۳۰	#۴/۶۵±۰/۳۰	**۵/۵±۰/۳۰	#۴/۴۰±۰/۳۰
حرکت مارپیچ ۱۰۰٪	۶/۲۵±۰/۲۸	۶±۰/۲۸	۶/۹۵±۰/۲۸	۶/۴۵±۰/۲۸
چسبیدن به سطح ۵۰٪	۱/۴۵±۰/۱۲	۱/۵±۰/۱۲	۱/۴۵±۰/۱۲	۱/۲۵±۰/۱۲
چسبیدن به سطح ۱۰۰٪	##۲/۵۵±۰/۲۰	#۲/۷۵±۰/۲۰	**۳/۴۵±۰/۲۰	##۲/۵۵±۰/۲۰
سطح شیبدار ۵۰٪	##۱/۴۵±۰/۱۳	*۱/۸۵±۰/۱۳	**۲/۳۰±۰/۱۳	##۱/۴±۰/۱۳
سطح شیبدار ۱۰۰٪	##۲/۶۰±۰/۲۲	*۳/۴±۰/۲۲	**۳/۵±۰/۲۲	##۲/۶±۰/۲۲
گرفتن میله ۵۰٪	۵±۰/۳۴	۵/۶±۰/۳۴	۵/۷۵±۰/۳۴	۵/۶±۰/۳۴
گرفتن میله ۱۰۰٪	#۵/۸۵±۰/۴۴	**۷/۸۵±۰/۴۴	*۷/۳±۰/۴۴	۶/۲±۰/۴۴
بازتاب سبیلک ۵۰٪	۱/۱۵±۰/۰۹	۱/۱۵±۰/۰۹	۱/۲±۰/۰۹	۱/۱۵±۰/۰۹
بازتاب سبیلک ۱۰۰٪	۱/۷۵±۰/۱۵	۲/۱±۰/۱۵	۲/۲±۰/۱۵	۱/۹±۰/۱۵
قرار گرفتن روی اندامها پس از سقوط ۵۰٪	۹/۸۵±۰/۱۵	۹±۰/۱۵	۱۰/۴۵±۰/۱۵	۹/۶۵±۰/۱۵
قرار گرفتن روی اندامها پس از سقوط ۱۰۰٪	۱۱/۷±۰/۴۰	##۱۰/۹±۰/۴۰	۱۲/۵۵±۰/۴۰	#۱۱/۳±۰/۴۰
دویدن ۵۰٪	###۵/۸۵±۰/۲۴	#۶/۳۵±۰/۲۴	***۷/۲±۰/۲۴	**۶/۹±۰/۲۴
دویدن ۱۰۰٪	##۷/۷۵±۰/۲۳	*۸/۴±۰/۲۳	**۸/۷±۰/۲۳	*۸/۴±۰/۲۳

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

جدول ۴. مقایسه اثر نانواکسیدآهن و یون آهن بر تکامل شاخص‌های فیزیکی بر حسب روز در ۵۰٪ و ۱۰۰٪ از نوزادان هر گروه

شاخص تکامل فیزیکی	کنترل Mean(SD	نانواکسیدآهن ۱۰۰ Mean(SD	نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ Mean(SD	آهن ۱۰۰۰ Mean(SD
جداشدن لاله گوش از بدن۵۰٪	۳/۷±۰/۱۴	۴±۰/۱۴	۳/۷±۰/۱۴	۴/۱±۰/۱۴
جداشدن لاله گوش از بدن۱۰۰٪	۴/۳±۰/۱۶	۴/۱۵±۰/۱۶	۳/۹±۰/۱۶	۴/۴±۰/۱۶
درآمدن کرک ۵۰٪	۵/۸±۰/۱۷	۵/۸±۰/۱۷	۶/۳۵±۰/۱۷	۶/۱±۰/۱۷
درآمدن کرک ۱۰۰٪	###۵/۹۰±۰/۱۸	#۶/۲±۰/۱۸	***۶/۸۵±۰/۱۸	##۶/۱±۰/۱۸
درآمدن دندان ثنایا ۵۰٪	۷/۱±۰/۲۴	۷/۴±۰/۲۴	۷/۳±۰/۲۴	۷/۲±۰/۲۴
درآمدن دندان ثنایا۱۰۰٪	۷/۱±۰/۲۴	۷/۴±۰/۲۴	۷/۳±۰/۲۴	۷/۲±۰/۲۴
باز شدن چشم ۵۰٪	#۱۳/۸±۰/۱۸	**۱۴/۴±۰/۱۸	*۱۴/۴۵±۰/۱۸	***۱۵/۲±۰/۱۸
باز شدن چشم ۱۰۰٪	##۱۴/۲۵±۰/۲۲	*۱۴/۹۵±۰/۲۲	**۱۵/۲۵±۰/۲۲	***۱۵/۸۵±۰/۲۲
بازشدن منفذ گوش ۵۰٪	۱۳/۱±۰/۳۴	۱۳/±۰/۳۴	۱۳/۲±۰/۳۴	۱۳/۸±۰/۳۴
بازشدن منفذ گوش۱۰۰٪	۱۳/۱±۰/۳۴	۱۳/۱±۰/۳۴	۱۳/۲±۰/۳۴	۱۳/۸±۰/۳۴
نزول بیضه ۵۰٪	###۲۱/۲±۰/۱۸	###۲۰/۹۱±۰/۱۸	***۲۲/۴±۰/۱۸	#*۲۱/۸±۰/۱۸
نزول بیضه۱۰۰٪	###۲۱/۲±۰/۱۸	###۲۰/۹۱±۰/۱۸	***۲۲/۴±۰/۱۸	#*۲۱/۸±۰/۱۸

گروه‌های کنترل، نانواکسید آهن (۱۰۰ و ۱۰۰۰) به ترتیب صفر، (۱۰۰µg/kg، ۱۰۰۰) نانوذرات اکسید آهن و گروه آهن(۱۰۰۰µg/kg) یون آهن را یک روز در میان در طی دوران جنینی دریافت کردند. در کلیه موارد آزمونها به تفکیک جنسیت بررسی شد و با توجه به عدم تاثیر آن بر پاسخ آزمون‌ها از ذکر نتایج به تفکیک جنسیت صرفنظر شد. *: اختلاف معنی دار با کنترل (*: p<۰/۰۵، **: p<۰/۰۱؛ ***: p<۰/۰۰۱) #: اختلاف معنی دار با گروه نانواکسید آهن ۱۰۰۰ (#: p<۰/۰۵؛ ##: p<۰/۰۱؛ ###: p<۰/۰۰۱)

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه نه تنها تماس موش‌های باردار با نانوذرات اکسیدآهن باعث تاخیر در تکامل بازتاب‌های عصبی رفتاری زاده‌ها شد بلکه این اثرات سو به شدت بیشتر از اثرات سوء یون آهن بود. آزمون‌های باتری فاکس (Battry Fox) یک ارزیابی تکاملی را در خصوص بازتاب‌های عصبی در طی دوران نوزادی فراهم می‌کنند چرا که هر یک از این رفتارها در زمان‌های متفاوتی در طی ۲۱ روز اول زندگی زاده‌ها بروز می‌یابند. در مطالعه حاضر، در گروه‌های تیمار با نانوذرات اکسیدآهن، بازتاب‌های امتناع از پرتگاه، حرکت مارپیچ، چسبیدن به سطح، سطح شیب‌دار، گرفتن میله و دویدن با تاخیر همراه بودند. بازتاب قرار گرفتن روی اندام ها در سطح، برای ارزیابی پاسخ‌های وضعیتی (بازتاب‌های مربوط به وضعیت بدن) مورد استفاده قرار می گیرد (۲۹). این بازتاب به هماهنگی بین سر، تنه و اندامها نیاز دارد که در نوزاد انسان در حدود ۶ ماهگی دیده می‌شود. بازتاب قرار گرفتن روی اندامها در سطح و گرفتن میله نیاز به هماهنگی حسی–حرکتی پیچیده ای بین بخش‌های مختلف بدن دارد (۳۰). تأخیر در برخی از شاخص‌های تکاملی گروه مواجه شده با نانواکسید آهن نشان دهنده اثر مخرب این نانوذرات بر تکامل حسی حرکتی زاده‌ها است. این اختلال‌ها ممکن است ناشی از تاخیر در هماهنگی عصبی–عضلانی در مراحل اولیه زندگی باشد. وزن مادران در طی دوران بارداری معیاری از سلامت آنها می‌باشد (۲۹). بنابراین با توجه به تشابه تغییرات وزنی در گروه‌های مختلف، استفاده از نانوذرات اکسیدآهن باعث اختلال در سلامت عمومی مادران نشد. با اینحال کاهش شاخص بارداری در گروه نانواکسید آهن ۱۰۰۰ شاید ناشی از کاهش وقوع بارداری یا حفظ آن تا انتهای دوره بارداری باشد. بر اساس مشاهدات ما به نظر می‌رسد کاهش زنده مانی در نوزادان این گروه نیز ناشی از افزایش میل بچه خواری در مادران بوده است. بنابراین شاید نانوذرات اکسیدآهن باعث تغییر رفتار مادری شده باشد. در مطالعه Noori و همکاران نیز تجویز داخل صفاقی غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسیدآهن به موش‌های سوری باردار، میانگین وزن مادران باردار و تعداد زاده‌ها را تحت تأثیر قرار نداد. مشاهدات Noori و همکاران نشان داد که نانوذرات اکسیدآهن توانایی عبور از سد خونی–جفتی و نفوذ به جنین در حال تکوین را دارند (۱۳). از طرف دیگر، به علت عدم تشکیل سد خونی–مغزی در دوران جنینی، مواد سمی دسترسی بیشتری به مغز جنین دارند (۱۴). هر چند، آسیب‌های جفتی ناشی از نانو ذرات به طور بالقوه ممکن است منجر به نقایص تکاملی و یا عقب ماندگی جنین شوند (۱۴)، اما در مطالعه ما هیچ ناهنجاری آشکار و یا عقب ماندگی در رشد زاده‌هایی که قبل از تولد در معرض نانو ذرات اکسیدآهن قرار گرفته بودند مشاهده نشد. شاخص عمومی سلامت نوزادان با اندازه‌گیری وزن بدن و ثبت مشاهدات در مورد ویژگی‌های غیرطبیعی جسمانی به دست می‌آید (۲۹).

تغییرات وزن زاده‌ها به عنوان یک شاخص از تکامل فیزیکی در دوره نوزادی و از شیرگیری تقریباً یکسان بود که نشان دهنده سلامت زاده‌ها در گروه‌های تیمار با نانوذرات اکسیدآهن و یون آهن بود. با اینحال در مطالعه Nouri و همکاران کاهش وزن زاده‌ها در سن ۵۰ روزگی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری داشت. تناقض این یافته با مطالعه ما احتمالا ناشی از تفاوت شدید در دوزهای مورد استفاده می باشد. به هر حال در مطالعه ما نیز تأخیر در رویش کرک، باز شدن چشم و نزول بیضه در گروه نانواکسیدآهن ۱۰۰۰ نشان دهنده اختلال در تکامل فیزیکی نوزادان این گروه بود. علی رغم جستجوی فراوان، هیچ گزارشی مبنی بر اثر نانو ذرات اکسیدآهن بر شاخص های فیزیکی مورد مطالعه در طی دوران شیرخواری یافت نشد. برخی مطالعات پیشنهاد داده اند که مواجهه با ذراتی در مقیاس نانو نمی تواند اثرات مضر قابل توجهی بر وزن و تکامل فیزیکی ایجاد کند (۳۱). سرعت جذب آهن در مغز پس از تولد و کهنسالی بالاست و افزایش بیش از حد جذب آهن موجب آسیب‌های رفتاری و فیزیولوژیکی می شود. در واقع استمرار جذب آهن در طی فرآیند افزایش سن باعث تجمع آهن می‌شود. تجویز مقادیر بالای آهن احتمالا بر مکانیسم‌هایی که از مغز در مقابل مسمومیت با آهن محافظت می کند، غلبه کرده و منجر به آسیب‌های رفتاری می‌شود (۳۲). اگرچه آهن در چندین فرآیند متابولیک مغزی و در تکامل طبیعی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

سیستم عصبی در طی دوره نوزادی حیاتی است، ولی بر اساس شواهد بسیار افزایش آهن در نواحی خاصی از مغز مثل عقده های قاعده ای یا جسم سیاه ممکن است رادیکال‌های آزاد سیتوتوکسیک تولید کند و یا موجب تغییر در متابولیسم آهن شود (۳۳). افزایش تجمع یون‌های آهن منجر به استرس اکسیداتیو و تخریب نورونی در مغز خواهد شد (۳۵و۳۴)، زیرا آهن مولکولی فعال بوده و قادر است پدیده اکسیداتیو سلولی را آغاز یا تشدید نماید (۳۶). گونه‌های اکسیژن واکنشی یک منبع سمیت تکاملی هستند (۳۷) و افزایش سطح آنها موجب، اختلال در هومئوستاز داخل سلولی، آغاز آپوپتوز (۳۸) و در نهایت منجر به سمیت مادر و جنین (۱۴)، استرس و تولید عوامل تراتوژن در جنین می‌شود (۴۰و۳۹و۱۶). نانوذرات اکسیدآهن می‌توانند منجر به تغییر بیان ژن، مدولاسیون اکتین، تداخل با تنظیم چرخه سلولی و مسیرهای انتقال سیگنال، تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد و اختلال در هموستاز آهن شوند (۴۱و۱۵). مواجهه ی مادران با ناو ذرات می-تواند باعث تغییر بیان ژن در قسمتی از سیستم اعصاب مرکزی زاده‌ها که مربوط به رشد و عملکرد مغز است، شود (۴۲). هرچند تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی توسط نانوذرات اکسید آهن نیز گزارش شده است (۴۴و۴۳و۲۰)، ولی از آن جایی که اثرات مخرب یون آهن در مطالعه حاضر بسیار کمتر از نانوذرات آهن بود به نظر می‌رسد تمامی عوارض در گروه‌های نانوذرات آهن را نمی‌توان به آزاد شدن یون آهن نسبت داد و احتمالا مکانیسم‌هایی به جز آزاد شدن یون آهن و عوارض آن نیز باید مطرح باشند. البته باید این موضوع را نیز در نظر گرفت که احتمالا مکانیسم‌های انتقال دهنده یون آهن و نانو ذرات اکسید آهن به جنین و نهایتا مغز و سلول‌های عصبی با یکدیگر متفاوت بوده و شاید انتقال این نانو ذرات به سلولهای سیستم عصبی به صورت موثرتری صورت گیرد. این اولین گزارشی است که نشان می‌دهد تزریق زیرجلدی نانوذرات اکسید آهن (۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و یون آهن (۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم)، به موش‌های ماده طی جفت‌گیری و بارداری باعث کاهش باروری می‌شود. هر چند رشد زاده‌های تیمار شده در این مطالعه از نظر ظاهری و وزنی طبیعی بود این مطالعه نشان داد مواجهه پیش از تولد با نانوذرات اکسیدآهن باعث تأخیر در تکامل بازتاب‌های عصبی–عضلانی و برخی شاخص های تکامل فیزیکی شده است، لذا باید از تماس مادران با نانوذرات اکسیدآهن جلوگیری شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز جهت حمایت مالی از این تحقیق، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

Effects of Iron Oxide Nanoparticles and Iron Ions on Reproductive Indices of Pregnant Syrian Rats and Neuro-Behavioral Development of Newborns

F. Anbarian (MSc)[1], S.R. Fatemi Tabatabaei (PhD)*[1], I. Kazeminezhad (PhD)[2], S. Mohammadian (MSc)[1]

1.Department of Physiology, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R.Iran
2.Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(3); Mar 2016; PP:45-53

Received: Apr 9th 2015, Revised: Jul 29th 2015, Accepted: Sep 28th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Considering the high sensitivity of embryo and fetus to toxic agents and increasing use of nanomaterials such as iron oxide nanoparticles in medicine, this study aimed to determine the effects of iron oxide nanoparticles and iron ions on reproductive indices of pregnant Syrian rats and neuro-behavioral development of their newborns.

METHODS: This experimental study was conducted on 49 pregnant Syrian rats, which were divided into one control and three study groups. The study groups were subcutaneously injected 100 and 1000 µg/kg of iron oxide nanoparticles and 1000 µg/kg of ferric iron ions (equivalent to the amount of iron ions in 1000 µg/kg of iron oxide nanoparticles), respectively. Injections were performed four days before mating until delivery on alternate days. Reproductive indices of pregnant rats, as well as neuro-behavioral and physical development of newborns, were evaluated with respect to sex; newborns' development was recorded in days.

FINDINGS: Multiple neuro-behavioral reflexes and developmental indices were delayed in the study groups, especially in the group receiving 1000 µg/kg of iron oxide nanoparticles, compared to the control group. Based on the findings, cliff-drop aversion reflex (1.35±0.13 and 2.70±0.13, respectively; $p<0.001$), level or vertical stick reflex(2.55±0.20 and 3.45±0.20, respectively; $p<0.01$), negative geotaxis (2.60±0.22 and 3.50±0.22, respectively; $p<0.01$), bar holding reflex (5.85±0.44 and 7.30±0.44, respectively; $p<0.05$), running (7.75±0.23, 8.70±0.23; $p<0.01$), fur development (5.90±0.18 and 6.85±0.18, respectively; $p<0.001$), eye opening (14.25±0.22 and 15.25±0.22, respectively; $p<0.01$), and testes descent (21.20±0.18 and 22.40±0.18, respectively; $p<0.001$) were delayed in rats receiving 1000 µg/kg of iron oxide nanoparticles, compared to the control group. However, in most cases, shorter delays were observed in groups receiving 100 µg/kg of iron oxide nanoparticles and 1000 µg/kg of iron ions, respectively.

CONCLUSION: The present study revealed that exposure to iron oxide nanoparticles in the embryonic period could lead to severe complications; also, iron oxide nanoparticles were shown to be more toxic than iron ions.

KEY WORDS: *Iron oxide nanoparticles, Prenatal period, Infancy, Neuro-behavioral development.*

Please cite this article as follows:

Anbarian F, Fatemi Tabatabaei SR, Kazeminezhad I, Mohammadian S. Effects of Iron Oxide Nanoparticles and Iron Ions on Reproductive Indices of Pregnant Syrian Rats and Neuro-Behavioral Development of Newborns. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(3):45-53.

***Corresponding Author: S.R. Fatemi Tabatabaei**
Address: Department of Physiology, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R.Iran
Tel: +98 61 33330010-19
E-mail: fatemi_r@scu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

References

1.Buzea C, Pacheco I, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. Biointerphases. 2007; 2(4): 17-71.

2.Emerich DF. Nanomedicine--prospective therapeutic and diagnostic applications. Expert Opin Biol Ther. 2005; 5(1):1-5.

3.Koopmans RJ, Aggeli A. Nanobiotechnology-quo vadis?. Curr Opin Microbiol. 2010;13(3):327-34.

4.Najafzadeh H, Rezaei M, Ashrafi A, Samimi A. Apoptosis following conventional and nano-particles of sodium arsenite treatment in hepatocytes of rat. J Babol Univ Med Sci. 2014;16(8):40. [In Persian]

5.Mirkovic B, Turnsek TL, Kos J. Nanotechnology in the treatment of cancer. Zdrav Vestn Med J. 2010;79(2):146-55.

6. Lee Y, Choi J, Kim P, Choi K, Kim S, Shon W, et al. A transfer of silver nanoparticles from pregnant rat to offspring. Toxicol Res. 2012;28(3):139-41

7.Tian F, Razansky D, Estrada GG, Semmler-Behnke M, Beyerle A, Kreyling W, et al. Surface modification and size dependence in particle translocation during early embryonic development. Inhal Toxicol. 2009;21(1):92-6.

8.Wick P, Malek A, Manser P, Meili D, Maeder-Althaus X, Diener L, et al. Barrier capacity of human placenta for nanosized materials. Environ Health Perspect. 2010;118(3): 432-6.

9.Elder A, Gelein B, Silva V, Feikert T, Opanashuk L, J Carter, et al. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide nanoparticles to the central nervous system. Environ Health Perspect. 2006;114(8):1172-8.

10.Oravecz K, Kalka D, Jeney F, Cantz M, Nagy IZ. Hydroxyl free radicals induce cell differentiation in SK-N-MC neuroblastoma cells. Tissue Cell. 2002;34(1):33-8.

11.Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, Mimura K, Morishita Y, Nozaki M,, et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. Nat Nanotechnol. 2011;6(5):321-8.

12.Gomez M, Hernandez M, Johansson B, de Miguel R, Ramos JA, Fernandez-Ruiz J. Prenatal Cannabinoid and gene expression for neural adhesion molecule L1 in the fetal rat brain. Dev Brain Res. 2003;147(1-2):201-7.

13.Noori A, Parivar K, Modaresi M, Messripour M, Yousefi MH, Amiri GR. Effect of magnetic iron oxide nanoparticles on pregnancy and testicular development of mice. Afr J Biotechnol. 2011;10(7):1221-1227.

14.Sun JL, Zhang Q, Wang ZP, Yan B. Effects of nanotoxicity on female reproductivity and fetal development in animal models. Int J Mol Sci. 2013;14(5):9319-9337.

15.Singh N, Jenkins GJ, Asadi R, Doak SH. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). Nano Rev. 2010;1(10):5358.

16.Hussain SM, Hess KL, Gearhart JM, Geiss KT, Schlager JJ. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. Toxicol In Vitro. 2005;19(7):975-83.

17.Karlsson HL, Gustafsson J, Cronholm P, Möller L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles—a comparison between nano-and micrometer size. Toxicol Lett. 2009;188(2):112-118.

18.Mohseni Kouchesfehani H, Kiani S, Rostami AA, Fakheri R. Cytotoxic Effects of Iron Oxide Nanoparticles on Mouse Embryonic Stem Cells by MTT Assay. Iran J Toxicol. 2013; 21(7):849-53.

19.Szalay B, Tátrai E, Nyírő G, Vezér T, Dura G. Potential toxic effects of iron oxide nanoparticles in in vivo and in vitro experiments. J Appl toxicol. 2012;32(6):446-53.

20.Moslemi N, Najafzadeh H, Koochak M, Shahriary A. Evaluation of lipid profile and oxidative stress indices in serum and liver of rat after iron-oxide nanoparticle administration. Feyz. 2013;17(3):247-54. [In Persian]

21.Khorshidi M, Kesmati M, KhajehPour L, NajafZadeh Varzi H. Comparison of the effect of iron oxide nanoparticles and bulk on the memory and associated alterations in dopamine and serotonin levels in the hippocampus of adult male rats. Physiol Pharmacol. 2013;17(2):204-215. [In Persian]

22.Di Bona KR, Xu Y, Ramirez PA, DeLaine J, Parker C, Bao Y, et al. Surface charge and dosage dependent potential developmental toxicity and biodistribution of iron oxide nanoparticles in pregnant CD-1 mice. Reprod Toxicol. 2014;50:36-42.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]

23.Mello PR, Okay TS, Botelho C. The effects of exposing rats to cigarette smoke on milk production and growth of offspring. J de Pediatria. 2007;83(3):267-73.
24.Ivani S, Karimi I, Tabatabaei SR. Biosafety of multiwalled carbon nanotube in mice: a behavioral toxicological approach. J Toxicol Sci. 2012;37(6):1191-205.
25.Ratnasooriya WD, Jayakody JR, Premakumara GA. Adverse pregnancy outcome in rats following exposure to a Salacia reticulata (Celastraceae) root extract. Braz J Med Biol Res. 2003; 36(7):931-5.
26.Fox CL, Rao TNV, Azmeth R, Gandhi SS, Modak Sh. Comparative evaluation of zinc sulfadiazine and silver sulfadiazine in burn wound infection. J Burn Care Rehabil. 1990;11(2):112-7.
27.Tamashiro KL, Wakayama T, Blanchard RJ, Blanchard DC, Yanagimachi R. Postnatal growth and behavioral development of mice cloned from adult cumulus cells. Biol Reprod. 2000;63(1):328-34.
28.Tsujii H, Hoshishima K. The effect of the administration of trace amounts of metals to pregnant mice upon the behavior and learning of their offspring. J Fac Agric Shinshu Univ. 1979;16(1):13-27.
29.Crawley JN, Paylor R. A proposed test battery and constellations of specific behavioral paradigms to investigate the behavioral phenotypes of transgenic and knockout mice. Horm Behav. 1997;31(3):197-211.
30.Laviola G, Adriani W, Gaudino C, Marino R, Keller F. Paradoxical effects of prenatal acetylcholinesterase blockade on neuro-behavioral development and drug-induced stereotypies in reeler mutant mice. Psychopharmacol. 2006;187(3):331-44.
31.Hougaard KS, Jensen KA, Nordly P, et al. Effects of prenatal exposure to diesel exhaust particles on postnatal development, behavior, genotoxicityand inflammation in mice. Part Fibre Toxicol. 2008;5(3):3.
32.Maaroufi K, Ammari M, Jeljeli M, Roy V, Sakly M, Abdelmelek H. Impairment of emotional behavior and spatial learning in adult wistar rats by ferrous sulfate. Physiol Behav. 2009;96(2):343-9.
33.de Lima MN, Laranja DC, Caldana F, Grazziotin MM, Garcia VA, Dal-Pizzol F, et al. Selegiline protects against recognition memory impairment induced by neonatal iron treatment. Exp Neurol. 2005;196(1):177-83.
34.Thompson KJ, Shoham S, Connor JR. Iron and neurodegenerative disorders. Brain Res Bull. 2001;55(2):155-64.
35.Zecca L, Youdim MB, Riederer P, Connor JR, Crichton RR. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. Nat Rev Neurosci. 2004;5(11):863-73.
36.Bhattacharya A, Ramanathan M, Ghsal S, Bhattacharya SK. Effect of withania samra glycoeithanolides on iron induced hepatotoxicity in rats. Phytother Res. 2000;14(7):568-70.
37.Wells PG, Bhuller Y, Chen CS, Jeng W, Kasapinovic S, Kennedy JC, et al. Molecular and biochemical mechanisms in teratogenesis involving reactive oxygen species. Toxicol Appl Pharmacol. 2005;207(2):354-66.
38.Li Y, Liu Y, Fu Y, Wei T, Le Guyader L, Gao G, et al. The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF-beta signaling pathways. Biomater. 2012;33(2):402-11.
39.Rahman MF, Wang J, Patterson TA, Saini UT, Robinson BL, Newport GD, et al. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles. Toxicol Lett. 2009;187(1):15-21.
40.Wang B, Feng W, Zhu M, Wang Y, Wang M, Gu Y, et al. Neurotoxicity of low-dose repeatedly intranasal instillation of nano-and submicron-sized ferric oxide particles in mice. J Nanopart Res. 2009;11(1):41-53.
41.Karmakar A, Zhang Q, Zhang Y. Neurotoxicity of nanoscale materials. J Food Drug Anal. 2014;22(1):147-160.
42.Shimizu M, Tainaka H, Oba T, Mizuo K, Umezawa M, Takeda K. Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. Part Fibre Toxicol. 2009;6:20.
43.Bhattacharya K, Hoffmann E, Schins RF, Boertz J, Prantl EM, Alink GM, Byrne HJ, et al. Comparison of micro- and nanoscale Fe+ 3–containing (Hematite) particles for their toxicological properties in human lung cells In Vitro. Toxicol Sci. 2012;126(1):173-82.
44.Guichard Y, Schmit J, Darne C, Gaté L, Goutet M, Rousset D, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of nanosized and microsized titanium dioxide and iron oxide particles in Syrian hamster embryo cells. Ann Occup Hyg. 2012;56(5):631-44.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.3.7.1]
[DOI: 10.22088/jbums.18.3.45]