

تأثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر روده کوچک در موش های سوری نر

ونوس طیری^{۱*}، فرح فرخی^۲، مزدک رازی^۳

چکیده

زمینه و هدف: دی اکسید تیتانیوم (TiO₂)، نانوذره ای است که به طور گسترده در زمینه های مختلف به عنوان ترکیب بهداشتی جهت کنترل میکروارگانیسم ها مورد استفاده قرار می گیرد. اندازه کوچک این نانوذره، ترکیب شیمیایی و واکنش پذیری بالای آن، ممکن است خطرات بالقوه ای برای سلامتی انسان و محیط زیست داشته باشد. به دلیل کاربرد فراوان این نانوذره طی چند قرن اخیر، در این مطالعه تأثیر ماده مذکور بر روده کوچک موش سوری بررسی شد.

روش بررسی: در این تحقیق، ابتدا ۱۲ سر موش سوری نر به طور تصادفی به ۳ گروه ۴ تایی تقسیم شدند.

گروه اول به عنوان کنترل-شام، محلول حلال HPMC را با دوز ۱ میلی لیتر دریافت کردند؛ گروه دوم TiO₂ را با دوز ۱ میلی لیتر و HPMC را با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه سوم TiO₂ را با دوز ۱ میلی لیتر، HPMC را با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. پس از ۳۵ روز تیمار، وزن موش ها مجدداً اندازه گیری شد و بعد از بیهوشی، روده کوچک آنها جدا شده و پس از انتقال به فرمالین ۱۰٪ و تثبیت نمونه ها، پاساژ بافتی انجام گرفت. سپس مقاطع بافتی تهیه گردید و بعد از رنگ آمیزی با H&E، به وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. داده ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و آزمون توکی در سطح احتمال $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: در این مطالعه کاهش وزن موش ها، تخریب اپی تلیوم در ناحیه دئودنوم، افزایش سلول های واکوئل دار، تخریب گلیکوکالیکس در رأس اپی تلیوم و بزرگ شدن ندول های لنفاوی در ناحیه ایلئوم موش های تیمار شده با TiO₂ مشاهده گردید.

نتیجه گیری: طبق نتایج این مطالعه، TiO₂ باعث کاهش گلیکوکالیکس، افزایش سلول های واکوئل دار و تخریب کرک های روده کوچک می شود.

کلید واژه ها: دی اکسید تیتانیوم؛ روده کوچک؛ گلیکوکالیکس؛ سلول واکوئل دار؛ موش.

^۱کارشناس ارشد بافت شناسی و جنین شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲دانشیار علوم زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۳استادیار علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

ونوس طیری، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

v.tairy@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۸

تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۳۰

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Tairi V, Farokhi F, Razi M. The effect of titanium dioxide nanoparticles on the intestine in male mice. Qom Univ Med Sci J 2015;9(4):30-38. [Full Text in Persian]

مقدمه

روده کوچک بخشی از دستگاه گوارش بوده و از ۳ بخش دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم تشکیل شده است. روده کوچک حاوی پرزهایی است که به افزایش سطح جذب مواد غذایی از جمله آمینو اسیدها و مونوساکاریدها کمک می کنند، همچنین حاوی سلول های تخصص یافته ای برای حمل مواد به جریان خون هستند. پرزهای روده از مخاط روده بیرون می زنند و به صورت انگشت مانند دیده می شوند. هر پرز حدود ۰/۵-۱/۶ میلی متر طول دارد (۱). در کنار هر پرز مویرگ هایی وجود دارد که قندها و اسیدهای آمینه تجزیه شده را جمع آوری و به جریان خون وارد می کنند. کمک به حرکت غذا در طول روده یکی از مهم ترین وظایف پرزها می باشد (۲). گیرنده های شیمیایی و مکانیکی در پرزهای متحرک روده وجود دارند. بنابراین، خوردن آب و غذا، سیگنال های شیمیایی و مکانیکی را در روده القا می کنند (۳). همچنین روده کوچک، از جمله اعضای دخیل در هموستاز چربی در نظر گرفته می شود و تا حد زیادی به تنظیم فشار خون پس از صرف غذا کمک می کند (۴). گلیکوپروتئین های پوشش سلولی را گلیکوکالیکس می نامند که این پوشش متشکل از چندین کربوهیدرات از جمله گلیکولیپید غشایی و گلیکوپروتئین هایی است که به عنوان اسکلت این ترکیب در نظر گرفته می شود. تحقیقات بیشتر نشان داده است گلیکوکالیکسی که در سطح رأسی سلول های پوششی قرار دارد، ۱۱ میکرومتر ضخامت داشته و از یک شبکه با بار منفی از پروتئوگلیکان ها، گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپیدها تشکیل شده است (۵). گلیکوکالیکس دارای نقش های متفاوتی است، به عنوان مثال به صورت یک عامل شناساگر در بدن، برای تمایز بین سلول های سالم خودی، بافت های پیوندی و سلول های بیمار یا ارگانسیم های مهاجم عمل می کند (۶). دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) نانوذره ای است که به طور گسترده به منظور کنترل میکروارگانسیم ها و عوامل میکروبی در محصولات بهداشتی و در طیف گسترده ای از برنامه های کاربردی و تجاری استفاده می شود. شواهد زیادی وجود دارد که به دلیل خواص منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی TiO_2 از قبیل: اندازه کوچک، افزایش سطح در واحد جرم، ترکیب شیمیایی، ساختار سطح، شکل و تجمع، واکنش پذیری بالا ممکن است خطر بالقوه

برای سلامتی انسان و محیط زیست داشته باشد. این ماده به طرق گوناگون از جمله استنشاق، بلع و تزریق وارد بدن انسان شده و بر سلول ها و اجزای سلولی مانند پروتئین ها، تعادل چربی ها و عملکرد سلول اثر گذاشته و در نهایت، موجب سمیت سلولی می شود. اثرات سیتوتوکسیک TiO_2 ، به خواص فیزیکوشیمیایی آن، به خصوص اندازه آنها بستگی دارد. ذرات کوچکتر باعث آسیب بیشتری در مقایسه با بزرگترها می شوند (۷). لذا با توجه به کاربرد فراوان نانوذره TiO_2 طی چند قرن اخیر در علوم مختلف و صنعت بسته بندی مواد به منظور جلوگیری از فساد مواد غذایی، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر این ماده بر روده موش سوری انجام شد.

روش بررسی

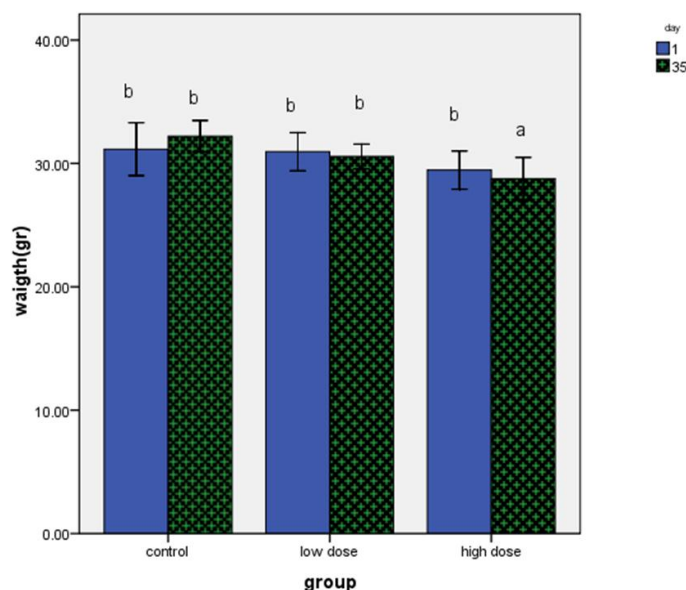
در این مطالعه از ۱۲ سر موش سوری نر با وزن 30 ± 3 گرم استفاده گردید. موش ها از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه تهیه شدند. حیوانات با رژیم غذایی استاندارد (غذای پلیت استاندارد) و دسترسی آزاد به آب در شرایط اتاق (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪) نگهداری شدند. قبل از شروع تیمار، موش ها به مدت ۷ روز به منظور سازگاری در شرایط محیط قرار گرفتند. پس از سپری شدن این دوره، موش ها به ۳ گروه ۴ تایی تقسیم شدند:

- ۱- گروه کنترل- شم که محلول حلال هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) را با دوز ۱ میلی لیتر دریافت کردند؛
- ۲- گروه دوم که ترکیب TiO_2 را با دوز ۱ میلی لیتر و HPMC را با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند و ۳- گروه سوم که TiO_2 را با دوز ۱ میلی لیتر و HPMC را با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند (۸). تیمار تمام گروه ها به طور روزانه و به مدت ۳۵ روز در ساعت مشخص صورت گرفت. در پایان روز سی و پنجم پس از وزن کردن موش ها، نمونه برداری بافتی انجام شد. نمونه های بافتی از قسمت های دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم روده کوچک برداشته شد و در محلول بافر فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از تثبیت بافت ها و آنگیری به وسیله الکل، شفاف سازی در

یافته ها

روز اول، وزن موش ها در همه گروه ها مشابه بود و پس از ۳۵ روز تیمار، وزن موش ها در گروه تیمار شده با دوز بالای TiO_2 نسبت به روز اول، کاهش معنی داری یافت ($p < 0.05$) (نمودار).

گزیلول و تهیه بلوک های پارافینی، مقاطعی به قطر ۶ میکرون تهیه و بعد از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین-ئوزین با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون واریانس یک طرفه و آزمون توکی در سطح احتمال $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

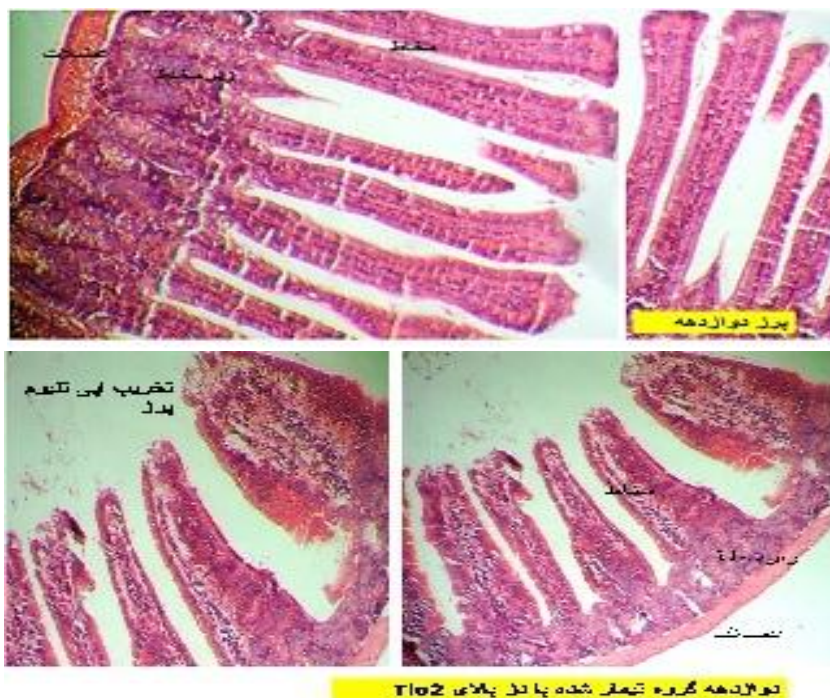


نمودار: میانگین وزن موش ها

گروه کنترل- شم (Control): دوز پایین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم دی اکسید تیتانیوم): دوز بالا (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دی اکسید تیتانیوم). حروف متفاوت نشان می دهد اختلاف در حد $p < 0.05$ معنی دار است. وزن پس از ۳۵ روز در گروه دوز بالا، روند کاهشی داشته است.

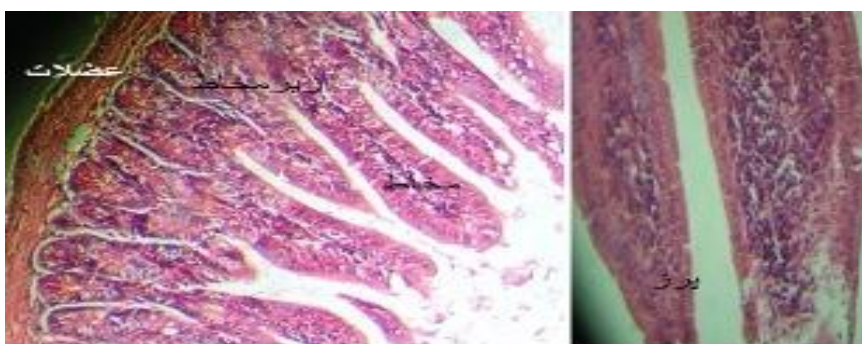
داد (شکل شماره ۱)، اما در مقاطع تهیه شده از ژرژنوم در همه گروه های آزمایشی، تغییر خاصی مشاهده نشد (شکل شماره ۲).

اپی تلیوم پرزهای دوازدهه در موش های تیمار شده با TiO_2 دچار تخریب شد و میزان گلیکو کالیکس در رأس پرزها کاهش نشان



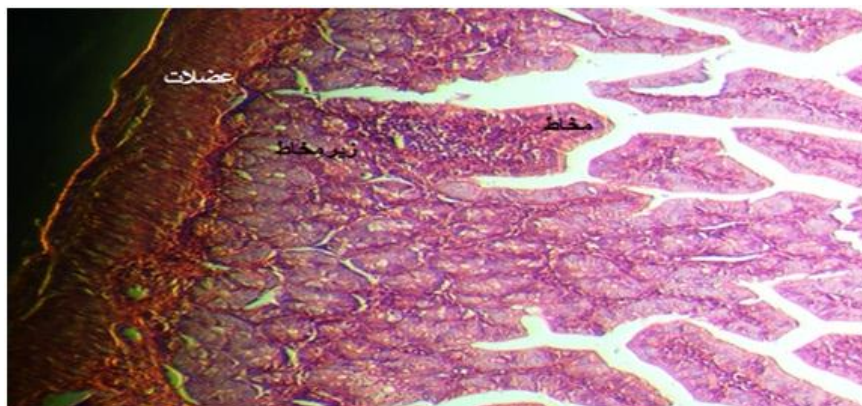
دوازدهه

دوازدهه با دوز بالا



دوازدهه با دوز پایین

شکل شماره ۱: برش عرضی از دوازدهه در گروه های آزمایش با درشتنمایی $100\times$ و رنگ آمیزی H&E.

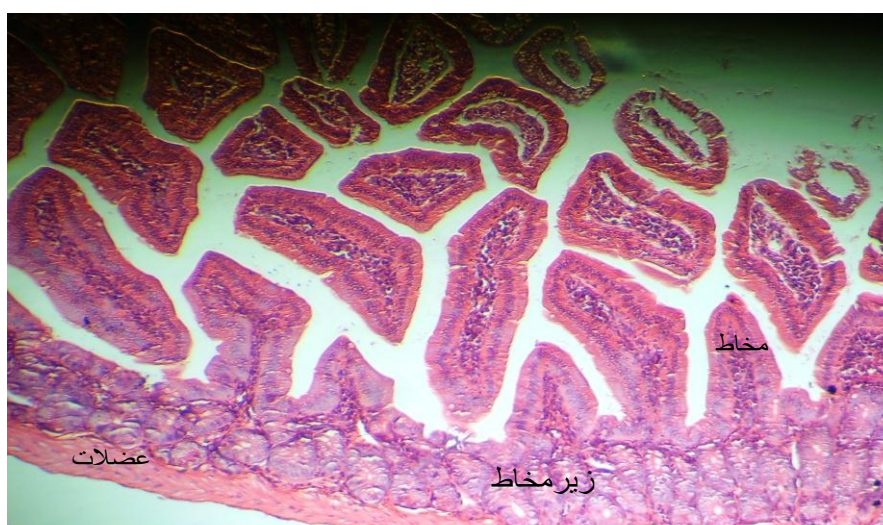


تصویر شماره ۲: برش عرضی از ژژنوم گروه کنترل، با درشت نمایی $100\times$ ، رنگ آمیزی H&E

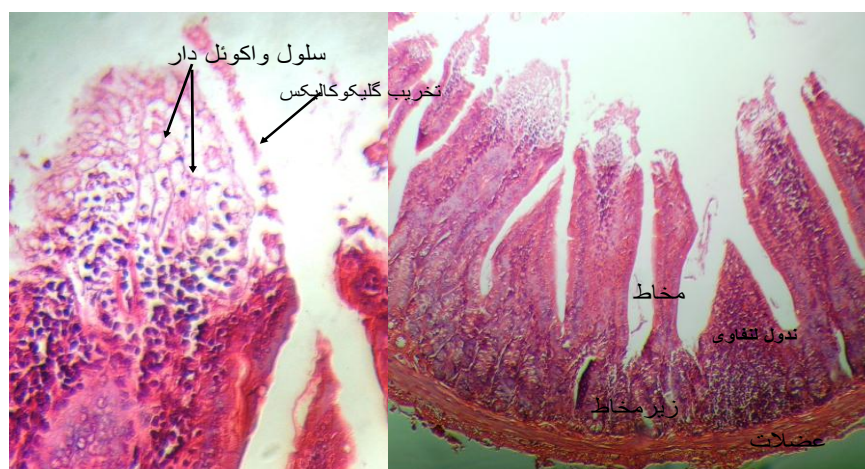
شکل شماره ۲: برش عرضی ژژنوم گروه کنترل، با درشتنمایی $100\times$ و رنگ آمیزی H&E

دیده شد، تحلیل پوشش گلیکوکالیکس و ریزش شدید اپی تلیوم در دوز بالا قابل مشاهده بود، اما در موش های تیمار شده با دوز پایین، ندول های لنفاوی نسبت به گروه دوز بالا کوچکتر بود، درحالی که تأثیری بر پرزهای ایلئوم نداشت (شکل شماره ۳).

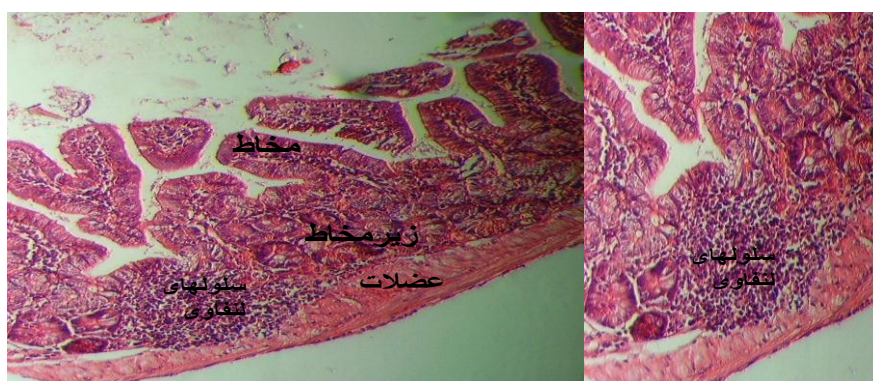
در تصاویر تهیه شده از مقاطع بافتی ایلئوم مشاهده گردید در موش های تیمار شده با دوز بالای TiO_2 ، ندول های لنفاوی بزرگتر شده و در ناحیه آستر مخاط، اجتماع سلول های لنفاوی افزایش یافته است. همچنین سلول های واکوئل دار در رأس پرزها



برش عرضی از یلئوم در گروه کنترل با درشتنمایی $100\times$ و رنگ آمیزی H&E



برش عرضی از ایلئوم گروه تیمار شده با دز بالای TiO_2 بدرشتنمایی $\times 100$ *
ورنگ آمیزی H&E



تصویر شماره ۳: برش عرضی از ایلئوم دز پایین درشتنمایی $\times 100$ و رنگ آمیزی H&E

شکل شماره ۳: برش عرضی ایلئوم در گروه کنترل؛ برش عرضی ایلئوم گروه تیمار شده در دوز بالای TiO_2 ؛
برش عرضی ایلئوم در دوز پایین با درشتنمایی $\times 100$ و رنگ آمیزی H&E

بحث

در طی چند قرن اخیر، استفاده از نانومواد مهندسی شده در بخش مواد غذایی و پیشنهاد برنامه های کاربردی از جمله گنجانیدن مواد مغذی ضروری، گنجانیدن مواد معدنی نانو در مواد غذایی و استفاده از این فراورده های مهندسی شده به عنوان عوامل ضدباکتری جهت بالا بردن کیفیت بسته بندی و فاسد نشدن مواد غذایی، رو به رشد است (۹). از سوی دیگر، استفاده از این نانوذرات در محصولات دارویی و رنگدانه های خوراکی، باعث شده تا عموم مردم، به خصوص کودکان در معرض آن قرار گیرند (۱۰). این در حالی است که سمیت بسیاری از نانوذرات ها در حال بررسی است (۱۱). تغییر پارامترهای فیزیکوشیمیایی نانوذرات از قبیل ساختار شیمیایی، اندازه، شکل، ساختار سطحی و پراکندگی آنها، پارامترهای بسیار مهمی در سمیت آنها محسوب

می شود (۱۲). کارشناسان سازمان بهداشت و ایمنی محیط زیست اعلام کرده اند در میان محصولات بهداشتی مانند خمیر دندان ها و کرم های ضد آفتاب، محصولاتی که ۱۰-۱٪ از وزن آنها دی اکسید تیتانیوم باشد، مناسب ترند (۳). گزارش ها نشان می دهد نانوذره TiO_2 می تواند از طریق راه های مختلف مانند بلع، نفوذ پوستی، تنفس و تزریق به بدن انسان وارد شود. اثرات TiO_2 در اندام های مختلف در حال بررسی می باشد. TiO_2 به علت داشتن اندازه کوچک، به راحتی از سطح غشاهای زیستی عبور کرده و باعث عدم تعادل در سیستم آنتی اکسیداتی در بدن می شود، در نتیجه استرس اکسیداتیو را در اندام های مختلف بدن القا می کند (۱۳). از آنجایی که از دی اکسید تیتانیوم به عنوان رنگدانه در محصولات غذایی استفاده می گردد، لذا تخمین زده می شود به ازای هر کیلوگرم وزن بدن افراد مورد بررسی، $2\text{mg} - 0/2$ از

این ماده به طور روزانه از طریق رنگدانه ها وارد زنجیره غذایی آنها می شود. که در نتیجه، عملکرد اپی تلوم معده و روده را تحت تأثیر خود قرار می دهد. در تحقیقات انجام شده جذب نانوذرات از طریق روده کوچک گزارش شده است (۱۴). این ذرات ممکن است به صورت بالقوه از روده به بافت های داخل راه یابند (۱۵). در مطالعه انجام شده توسط Braian و همکاران که به منظور بررسی راههای ممکن برای عبور TiO_2 از لایه اپی تلوم به صورت سمی یا مکانیکی و به منظور نظارت بر یک پارچگی اپی تلایل انجام گرفت مشاهده گردید دوز بالاتر از ۱۰ میکروگرم بر میلی گرم TiO_2 ، تغییراتی در ساختار میکروویلی در ناحیه رأسی اپی تلوم ایجاد می کند. همچنین باعث افزایش کلسیم آزاد داخل سلولی می شود (۱۱). گرچه در دوز ۱۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی گرم TiO_2 ، مرگ سلولی مشاهده نشده است، اما گزارشهایی مبنی بر اثرات غیرکشنده و نامطلوبی مانند بیماری، سوء تغذیه و کوتاه شدن عمر موجود است (۱۱). در تحقیق حاضر، در موش های تیمار شده با دوز ۱۰۰ میلی گرم TiO_2 ، تخریب اپی تلوم پرزها در ناحیه دوازده و ایلئوم مشاهده گردید (شکل های شماره ۱ و ۳). محققین در مطالعات خود، کاهش فعالیت پپسین را به صورت قابل توجهی در سلول هایی که در معرض TiO_2 به شکل نانوذرات قرار می گیرند نشان داده اند (۱۶). Arma و همکاران با تزریق داخل صفاقی TiO_2 به مقدار ۲۵ میلی گرم، کاهش وزن به صورت حاد در گروه های آزمایشی، همراه با افزایش غلظت اسید اوریک و AST را نشان دادند (۱۷). در تحقیق حاضر نیز موش های تیمار شده با دوز ۱۰۰ میلی گرم TiO_2 بعد از ۳۵ روز، کاهش وزن داشتند (نمودار). علت کاهش وزن احتمالاً به دلیل کاهش جذب مواد از روده به واسطه تخریب بافت پوششی در سطح مخاط می باشد. در مطالعه حاضر، تأثیرات TiO_2 به صورت غیرمستقیم بر روی تغییر ساختار مخاطی روده، پوشش گلیکوکالیکس و اهمیت آن در فرآیند جذب مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت. گلیکوپروتئین های پوشش سلولی یا گلیکوکالیکس در برخی بخش های غشای سلولی از جمله سطح آزاد غشای میکروویلی ها در روده باریک، ضخامت بیشتری دارند و در مشاهده با میکروسکوپ الکترونی دارای بخش ذره ای و بخش رشته ای هستند.

گلیکوکالیکس علاوه بر نقش پشتیبانی، در شناسایی سلول به سلول و امکان برقراری اتصال های سلولی مؤثر است. همچنین سلول ها به دلیل تفاوت نوع پوشش گلیکوپروتئین سطح خود نسبت به مواد، حساسیت متفاوتی نشان می دهند (۱۸). این وضعیت می تواند زیربنایی برای حساسیت و عکس العمل متفاوت دستگاه گوارش در افراد مختلف نسبت به مواد غذایی و دارویی باشد. در برخی ناراحتی های دستگاه گوارش مانند زخم معده یا روده، کاهش ضخامت و تحلیل رفتگی گلیکوکالیکس می تواند عامل مهمی برای بروز ناراحتی ها در نظر گرفته شود (۱۹، ۲۰). با توجه به توضیحات داده شده، نتایج حاصل از این بررسی، نشانگر تأثیر منفی TiO_2 بر سلامت مخاط روده کوچک می باشد. بدین صورت که در اثر تجویز TiO_2 ، تخریب پوشش گلیکوکالیکس، در ناحیه ایلئوم نسبت به نواحی دیگر در روده بیشتر مشاهده گردید. پس با توجه به نقش کمکی کرک ها در هضم و جذب مواد قندی و آمینو اسیدها از یک سو و تغییرات برخی ویتامین ها و قندها برای ورود به سلول ها در منطقه گلیکوکالیکس (مثلاً تبدیل دی ساکارید به مونو ساکاریدها)، انتظار می رود تخریب این ساختارها باعث اختلال در فرآیند جذب مواد غذایی (برخی ویتامین ها و مواد قندی) در طول روده کوچک شود. در مطالعه حاضر بنابر اختلال ایجاد شده در عمل جذب مواد غذایی، کاهش وزن در گروه دریافت کننده TiO_2 با دوز بالا نسبت به گروه دریافت کننده با دوز پایین و گروه کنترل- شم (نمودار)، قابل تفسیر است. در ادامه مباحث بررسی شده گزارشهایی مبنی بر تأثیرات نانوذرات از جمله نانوذر TiO_2 بر روی سیستم ایمنی بدن وجود دارد. در حالت طبیعی سلول های لنفاوی در ناحیه ایلئوم قرار می گیرند، اما اگر بدن تحت تأثیر تنش های شیمیایی ناشی از ترکیباتی چون مواد نانو قرار گیرد، وضعیت قرارگیری این سلول ها به سمت شرایط پاتولوژیک منحرف شده و منجر به افزایش پاسخ ایمنی می شود. این درحالی است که Jovanovic و همکاران، افزایش پاسخ ایمنی پس از تجویز نانوذر TiO_2 را در ماهی کپور نیز گزارش کردند (۲۱). همچنین افزایش تعداد سلول های لنفاوی و حالت ندوله شدن آنها پس از تجویز نانوذر TiO_2 در موش های تحت تیمار با این ماده توسط Weir و همکاران مشاهده گردید (۱۰)، در رابطه با این موضوع،

Oberdorster و همکاران در مطالعه خود، افزایش تعداد سلول های لنفاوی و تأثیر مخرب مواد نانو در ایجاد التهاب و ازدیاد سلول های ایمنی را نشان دادند (۲۲).

نتیجه گیری

به طور کلی می توان نتیجه گرفت نانوذره TiO_2 به دلیل داشتن خاصیت اکسیدکنندگی قوی می تواند اثرات سمی خود را حتی به صورت غیرمستقیم (از طریق جذب از حفره داخل صفاقی) بر

روی بافت مخاطی روده، افزایش پاسخ ایمنی و افزایش سلول های لنفاوی اعمال کند. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش دوز تجویزی TiO_2 ، تجمع سلول های لنفاوی نسبت به گروه کنترل بیشتر می شود. بنابراین، هنگام استفاده بی رویه از ترکیبات نانو باید به تأثیرات منفی آنها نیز توجه کرده و سلامت کاربران محصولاتی که حاوی این ترکیبات هستند نیز بیش از پیش مورد توجه قرار گیرد.

References:

1. Kim SK. Small intestine transit time in the normal small bowel study. *Am J Roentgenol* 1968;104(3):522-4.
2. Taeko TK, Shroyer NF. Notch in the intestine: Regulation of homeostasis and pathogenesis. *Annu Rev Physiol* 2013;75:263-88.
3. Furuya S, Furuya K. Subepithelial fibroblast in intestinal villi: Roles in intercellular communication. *Int Rev Cytol* 2007;264:165-223.
4. Niot I, Poirier H, Trang Tran TT, Besnard PH. Intestinal absorption of long-chain fatty acids: Evidence and uncertainties. *Prog Lipid Res* 2009;48:101-15.
5. Berg V, Bernard M, Nieuwdorp M, Stroes E, Vink H. Glycocalyx and endothelial (dys) function: From mice to men pharmacological reportes. *Pharmacol Rep* 2006;58(Suppl):75-80.
6. Ebong E, Macaluso FP, Spray DC, Trabello JM. Imaging the endothelial glucocalyx in vitro by rapid freezing/freezsubstitution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31(8):1908-15.
7. Zhu Y, Eaton JW, Li C. Titanium dioxide nanoparticles preferentially induce cell death in transformed cells in a Bak/Bax- independent fashion. *PLoS One* 2012;7(11):e50607.
8. Ma L1, Zhao J, Wang J, Liu J, Duan Y, Liu H. The acute liver injury in mice caused by Nano-Anatase TiO_2 . *Nanoscale Res Lett* 2009;4(11):1275-85.
9. Aitken RJ, Chaudhry MQ, Boxall AB, Hull M. Hull manufacture and use of nanomaterials: Current status in the uk and global trends. *Occup Med* 2006;56(5):300-6.
10. Weir A, Westerhoff P, Fabricius L, Hristovski K, von Goetz N. Titanuimdioxiid nanoparticles in food and personal care products. *Environ Sci Technol* 2012;46(4):2242-50.
11. Koeneman BA, Zhang Y, Westerhoff P, Chen Y, Crittenden JC, Capco DG. Toxicity and cellular responses of intestinal cells exposed to titanium dioxide. *Cell Biol Toxicol* 2010;26(3):225-38.
12. Fisichella M, Berenguer F, Steinmetz G, Auffan M, Rose J, Prat O. Intestinal toxicity evaluation of TiO_2 degraded surface- treated nanoparticles: A combined physico- chemical and toxicogenomics approach in Caco-2 cells. *Part Fibre Toxicol* 2012;9:18.
13. Liu S, Yang Z. Evaluation of the effect of acute and subacute exposure to TiO_2 nanoparticles on oxidative stress. *Methods Mol Biol* 2013;1028:135-45.

14. Al-Jubory AR, Handy RD. Uptake of titanium from Tio₂ nanoparticle exposure in the isolated perfused intestine of rainbow trout: Nystatin, vandate and novel co²- sensitive components. *J Nanotoxicol* 2013;7(8):1282-301.
15. Brun E, Barreau F, Veronesi G, Fayard B, Sorieul S, Chaneac C, et al. Titanium dioxide nanoparticle impact and translocation through ex vivo, in vivo and in vitro gut epithelia. *Parti Fiber Toxicol* 2014;11(13):10.
16. Zhu RR, Wang WR, Sun XY, Liu H, Wang SL. Enzyme activity inhibition and secondary structure disruption of nano- Tio₂ on pepsin. *Toxicol In Vitro* 2010;24(6):1639-47.
17. Arma S, Khemissi W, Mrad I, Ben slama I, Mir LE, Jeljeli M, et al. Effect of Tio₂ nanoparticles on emotional behavior and biochemical parameters in adult wistar rats. *Gen Physiol Biophys* 2013;32(2):229-34.
18. Egberts HJ, Koninkx JF, van Dijk JE, Mouwen JM. Biological and pathobiological aspects of the glycocalyx of the small intestinal epithelium. *Vet Q* 1984;6(4):186-99.
19. Kagnoff MF, Eckmann L. Epithelial cells as sensors for microbial infection. *J Clin Invest* 1997;100(1):6-10.
20. Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, Korolik V, McGuckin MA. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucos Immunol* 2008;1:183-97.
21. Jovanovica B, Anastasovab L, Rowe EW, Zhangc Y, Clappc AR, Palic D. Effects of nanosized titanium dioxide on innate immune system of fathead minnow (*Pimephalespromelas Rafinesque, 1820*). *Ecotoxicol Environ Saf* 2011;74(4):675-83.
22. Oberdorster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: Elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol* 2005;6:2-8.

The Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on the Intestine In Male Mice

Venus Tairi^{1*}; Farah Farokhi²; Mazdak Razi³

¹Master of Sciences in Histology & Embryology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

²Associate Professor of Biological Sciences, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

³Assistant Professor of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

***Corresponding Author:**
Venus Tairi, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

Email:
v.tairy@gmail.com

Received: 18 Jun, 2014

Accepted: 22 Oct, 2014

Abstract

Background and Objectives: Titanium dioxide (TiO₂) is a nanoparticle, which is widely used in various fields as a healthcare composition to control microorganisms. The small size of this nanoparticle and its chemical composition and high reactivity, have potential risks for human health and the environment. Due to the abundant use of this nanoparticle over the recent centuries, the effect of the material on mouse intestine, was studied in this study.

Methods: In this research, 12 male mice were randomly divided into 3 groups of 4 each. The first group as the control-sham, received HPMC at a dose of 1 mL; the second group received 1ml TiO₂ and 10mg/kg HPMC; and the third group received 1ml TiO₂ and 100ml/kg HPMC, intraperitoneally. After 35 days of treatment, the mice were weighed, and after anesthesia, their intestines were removed and studied by light microscopy after H&E staining. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey test at the probability of p<0.05.

Results: In this study, weight loss of mice, destruction of the epithelium of the duodenum, increased vacuolar cells, destruction of glycocalyx at the apical zone of the epithelium, and enlargement of ileum lymph nodes, were observed in mice treated with TiO₂.

Conclusion: According to the results of this study, TiO₂ caused reduction in glycocalyx, increase in vacuolar cells, and destruction of intestinal villi.

Keywords: Titanium Dioxide, Intestine; Glycocalyx; Vacuolar Cells; Mice.