



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



بررسی اثر سمیت نانو بنتونیت بر سلول های تک هسته ای خون محیطی (PBMC)

فریبا نعمتی شمس آباد^{۱*}، محمدحسن صالحی^۲، طوبی غضنفری^۳

۱- دانش آموخته دکتری، گروه مهندسی علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران؛ *

nemati.fariba@gmail.com

۲- استاد تمام گروه مهندسی علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران

۳- استاد تمام مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی، دانشگاه شاهد، ایران

چکیده

طیف گسترده ای از کانی های رسی در داروسازی، دامپزشکی، لوازم آرایشی و بهداشتی، نشانگرهای زیستی و قطعات دستگاه های پزشکی استفاده می شود. تحقیق حاضر برای نخستین بار در کشور پاسخ رشد سلول های PBMC به کانی نانوبنتونیت را با تأکید بر ویژگی های آن ها مورد بررسی قرار می دهد. غربالگری تأثیر رس ها بر روی سلول های تک هسته ای خون محیطی (PBMC) در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت. سلول ها به مدت ۴۸ ساعت در معرض غلظت های مختلف رس قرار گرفتند. تمام آزمایش ها در ۳ تکرار انجام گرفت. جهت تعیین آزمون سمیت سلول از آزمون MTT استفاده گردید. نتایج نشان داد نانو بنتونیت در غلظت های بالاتر از ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر به میزان ۲۰-۳۰ درصد بازدارندگی داشته اند. این غلظت ها اغلب در دامنه غلظت های مورد استفاده در ترکیبات دارویی نمی باشد. دامنه غلظت مصرفی ترکیبات دارویی بسیار کمتر بوده و در آن غلظت ها برای این کانی ها نیز اثر سمیت بر سلول های PBMC مشاهده نگردید؛ بنابراین می توان نتیجه گرفت که استفاده از این کانی در ترکیبات دارویی، زیستی، آرایشی و بهداشتی اثر جانبی منفی برای سلول های سالم خون محیطی به همراه ندارد.

واژگان کلیدی: نانو رس، MTT، بنتونیت، AFM

مقدمه

با تغییر در اندازه و ماهیت کانی های رسی می توان ویژگی های آن ها را تا حد زیادی تحت تأثیر قرار داد. با رشد سریع فناوری نانو، کانی های رسی به طور فزاینده ای به عنوان نانومواد طبیعی استفاده می شوند (Rytwo, 2008). نانورس ها نانوذراتی از سیلیکات های معدنی لایه ای با واحدهای ساختاری لایه ای هستند که می توانند با چیدن این لایه ها، بلورهای رس پیچیده را تشکیل دهند (Lee and Tiwari, 2012). آرایش این ورق ها بر جنبه های مختلف تعریف و متمایز کننده نانورس ها تأثیر می گذارد. بر اساس ترکیب کانی شناسی آن ها، تقریباً ۳۰ نوع مختلف نانورس وجود دارد که بسته به خواص آن ها در کاربردهای مختلفی استفاده می شود (Savic et al., 2014).

در بخش رس، از نظر اندازه «نانورس» ذراتی هستند که قطر آن ها کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. نانورس های خاک غالباً شامل فیلوسیلیکات ها هستند و اغلب حاوی اکسیدهای فلزی (هیدرو) و مواد آلی هستند (Porta et al., 2003; Theng and Yuan, 2008).

تعریف به طور گسترده پذیرفته شده برای نانومواد این است که ذرات آن ها حداقل یک بعد دارند که کمتر از ۱۰۰ نانومتر است (Holister et al., 2003). به دلیل ابعاد نانومقیاس و نسبت سطح به حجم زیاد، نانومواد دارای خواص (الکترونیکی، همبستگی، مغناطیسی، نوری) هستند که بسیار متفاوت از هم تایان حجم خود هستند. علاقه به بهره برداری از نانوذرات خاک رس برای اهداف مختلف به دلیل سطح بالا و خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد آن ها است. در واقع می توان گفت نانورس ها مواد کریستالی ریزدانه هستند. یک لایه، واحد ساختاری اصلی نانورس ها است و این لایه ها مستعد قرار گرفتن بر روی یکدیگر مانند صفحات یک کتاب هستند (Mousavi et al., 2018).



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



سطح ویژه‌ی این ترکیبات در حدود ۷۵۰ مترمربع برگرم است. خصوصیت مهمی که نانو رس‌ها را برای استفاده‌های صنعتی و غیره مناسب می‌سازد سطح ویژه، خالص بودن و ظرفیت تبادل کاتیونی بالای آن‌ها است. این مواد به دلیل ارزانی و در دسترس بودن، توجه زیادی در زمینه فناوری نانو به خود جلب کرده‌اند، همچنین اندازه کوچک این مواد آن‌ها را قادر ساخته تا بتوانند با مواد دیگر که در این زمینه وجود دارند، رقابت کنند.

شناخته شده ترین نمونه نانورس مونت‌موریلونیت است (Jeon et al., 2003; Wang et al., 2007). نانورس مونت‌موریلونیت (سیلیکات‌های لایه‌ای ۲:۱) گونه‌ای از گروه اسمکتیت فیلوسیلیکات‌های آبدار (Guggenheim et al., 2006)، با ظرفیت تبادل کاتیونی بالا دارای مکان‌های تبادل کاتیونی در سطح سیلوکسان است که می‌تواند با مواد غیر مشابه مانند مولکول‌های آلی یا بیولوژیکی ترکیب شود (Ganguly et al., 2011).

انسان‌ها هزاران سال است که از رس‌ها در فرمولاسیون‌های پزشکی استفاده می‌کنند. قرن‌ها پیش، مصریان از اولین کسانی بودند که از رس دارو تولید کردند (Metwaly et al., 2021). پس از آن، جالینوس، پزشک مشهور یونان باستان، terra Sigillata را تولید کرد که مجموعه‌ای از قرص‌های حاکی قرمز (به احتمال زیاد مونت‌موریلونیت یا کائولینیت غنی شده با اکسید آهن) بود (Gaskell and Hamilton, 2014).

طیف گسترده‌ای از کانی‌های رسی کلاس ۲:۱ مانند هکتوریت، بنتونیت و اسمکتیت و کانی‌های کلاس ۱:۱ مانند کائولینیت برای کاربردهای بالقوه زیست پزشکی مورد بهره‌برداری قرار گرفته‌اند.

از جمله مهم‌ترین زمینه‌های کاربرد نانو رس‌ها می‌توان به استفاده در داروهای زیستی (Karnik et al., 2016)، شامل استفاده در داروسازی، به‌عنوان حامل دارو و یا مواد زمینه‌ای بهبوددهنده کیفیت دارو، کاربردهای دامپزشکی، استفاده در ضدآفتاب‌ها و تولید لوازم آرایشی و بهداشتی، استفاده به‌عنوان مواد بیولوژیکی از جمله هیدروژل‌ها، فوم و فیلم یا ایمپلنت‌ها، و یا به‌عنوان نشانگرهای زیستی و قطعات دستگاه‌های پزشکی است (Ghadiri et al., 2015). به همین دلیل بررسی غلظت مناسب و زمان قرار گرفتن در معرض بنتونیت و همچنین سمیت آن در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و درون بدن (in vivo) برای اطمینان از کیفیت محصولاتی که حاوی بنتونیت هستند ضروری است. اگرچه ذرات بنتونیت در هنگام استفاده مناسب می‌توانند مزایای بزرگی را ایجاد کنند، در مورد آسیب‌های احتمالی که ممکن است به سلول‌ها وارد کنند، نگرانی وجود دارد؛ زیرا در بعضی از غلظت‌ها بنتونیت ممکن است اثرات نامطلوب مانند مرگ سلولی آپوپتوتیک، استرس اکسیداتیو و آسیب‌های سلولی ایجاد کند. از سوی دیگر، همان غلظت‌ها همچنین می‌توانند به افزایش حیات وزنده ماندن سایر انواع سلول‌ها کمک کنند (Nones et al., 2015b). اثرات بنتونیت بر روی انواع سلول‌های مختلف به‌وسیله نونس و همکاران (۲۰۱۵) بررسی گردید. آن‌ها بیان نمودند که اثرات بنتونیت بسته به غلظت، زمان و نوع سلولی که با آن در تماس است متفاوت است. در مطالعه بر روی تأثیر رس مونت‌موریلونیت معمولی و اصلاح‌شده بر سمیت سلولی، اصلاح رس باعث ایجاد اثرات سمی و افزایش مرگ سلول‌های سرطان روده بزرگ شد (Maisanaba et al., 2014).

ژانگ و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان دادند که ذرات بنتونیت می‌توانند باعث ایجاد آسیب قابل‌توجهی برای DNA و کروموزوم در سلول‌های لنفوبلاست B انسان در شرایط آزمایشگاهی شوند. هدف از تحقیق بررسی اثرات ژنوتوکسیک (جهش‌زایی و سرطان‌زایی) بر روی سلول‌های لنفوبلاست انسانی در شرایط آزمایشگاهی بود. بخش ذرات نامحلول بنتونیت‌ها ممکن است نقش اصلی در اثرات ژنوتوکسیک آن داشته باشد (Zhang et al., 2010). همچنین غلظت‌های مختلف بنتونیت باعث تخریب سریع نورون‌های نخاع موش در کشت سلولی شد (Murphy et al., 1993). همچنین گزارش شده که انواع کانی‌های رسی، از جمله مونت‌موریلونیت، برای چندین رده سلولی ماکروفاژ سمی هستند و فعالیت همولیتیک دارند (Elmore et al., 2003).



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



برخلاف اثرات مخرب ذکر شده از اسمکتیت‌ها بر DNA نتایج شارما و همکاران (۲۰۱۰) نشان می‌دهد مونت‌موریلونیت پس از ۲۴ ساعت منجر به شکستن رشته DNA در سل لاین سرطان روده بزرگ نمی‌شود و نیز هیچ آپوپتوز قابل توجهی در فیبروبلاست‌های موش پس از تیمار با کولپلیمر بر اساس پلی (ε-کاپرولاکتون) و پلی (ε-کاپرولاکتون) / مونت‌موریلونیت (Mt) مشاهده نشد (Sharma et al., 2010). به‌طور مشابه، مونت‌موریلونیت اصلاح‌شده (ارگانوبنتونیت) در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ یا ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیچ‌گونه آسیب DNA را در سلول‌های سرطان روده بزرگ انسان ایجاد نکرد (Maisanaba et al., 2014). به نظر می‌رسد همان‌طور که گفته شد اثرات سمی ناشی از کاربرد بنتونیت بسیار به میزان و نوع بنتونیت وابسته است. به‌عنوان مثال، میزان زنده ماندن سلول‌های بنیادی تاج عصبی بعد از تیمار با غلظت‌های زیاد بنتونیت (بیش از ۸/۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) کاهش می‌یابد (Nones et al., 2015b).

علی‌رغم مطالعاتی که در جهت کاربرد رس‌ها در زمینه رشد سلولی صورت پذیرفته است، مکانیسم عمل رس‌ها و تأثیر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و مورفولوژیکی این مواد طبیعی بر رشد سلولی مورد توجه کافی قرار نگرفته است. همچنین، با توجه به اینکه اثر هر نوع بنتونیت در رشد سلولی متفاوت است تحقیق حاضر برای نخستین بار در کشور پاسخ رشد سلول‌های PBMC به عنوان سلول‌های ایمنی در زمان سلامت و بیماری بر نانو ذرات رس بنتونیت ایران با تأکید بر ویژگی‌های آن‌ها را مورد بررسی قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

بنتونیت طبیعی منطقه اراک تهیه شده از شرکت معدنی زمین کاو با خلوص بالا و دارای سایز ذره ۳۲۵ مش برای جداسازی نانو ذرات استفاده گردید. جداسازی نانوذرات (کوچکتر از ۰/۲ میکرون یا ۰/۰۰۲ میلی‌متر) به روش کیتریک و هوپ انجام گردید (Kittrick and Hope, 1963). برای جدا کردن ذرات رس ریز (کوچک‌تر از ۰/۲ میکرون یا ۰/۰۰۲ میلی‌متر) ظرف سانتریفیوژ تا علامت ۱۰ سانتیمتر پراز آب شد (می‌توان حجم را قبلاً محاسبه و حجم مشخصی آب به آن اضافه نمود، حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر). نمونه به مدت ۱۵ دقیقه روی شیکر تکان داده شد، سپس به مدت ۴۱/۲ دقیقه با دور ۲۷۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ گردید. در صورت صاف بودن محلول رویی دور ریخته شد و مجدداً تکرار شد. در صورتی که ذرات رس ریز بصورت معلق در محلول رویی باقی ماندند، جمع آوری گردید. پس از هر بار اضافه کردن آب مقطر، به مدت حداقل ۱۵ دقیقه شیک شد تا خوب مخلوط شود. در مجموع این عمل ۵ بار تکرار شد. برای کمک به دیسپرس بهتر ذرات NaCl اشباع به نمونه اضافه گردید. برای جداسازی نانوذرات بنتونیت به علت خلوص بالای آن اشباع رس به میزان ۲/۵ درصد انجام شده سپس شستشو صورت گرفته و جداسازی ذرات انجام شد. برای اندازه‌گیری CEC نانو رس‌ها از روش استات سدیم استفاده شد (Rhoades, 1982).

غربالگری تأثیر رس‌ها بر روی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت. سلول‌های PBMC از خون یک فرد سالم جدا شد. جداسازی سلول‌ها به روش گرادیان فایکول انجام شد. نمونه خون با مقدار مساوی PBS (بافر فسفات سالین) رقیق شد؛ سپس نمونه خون رقیق‌شده به آرامی روی فایکول ریخته شده و با سرعت ۸۰۰ به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، PBMCs به‌عنوان یک لایه سفید نازک بین پلاسما و فایکول ظاهر شدند. PBMCs جدا شده با PBS شستشو شد. بررسی زنده بودن و شمارش سلولی، پس از رنگ‌آمیزی با تریپان بلو به وسیله شمارش با لام نئوبار انجام گرفت.

کشت سلول‌ها در محیط RPMI 1640 غنی‌شده با FBS و با اضافه کردن یک درصد آنتی‌بیوتیک انجام گرفت. پس از شمارش ۲۰۰۰۰۰ سلول از رده سلولی Raji و همچنین ۲۰۰۰۰۰ سلول PBMC در معرض غلظت‌های متفاوت رس قرار گرفتند. بررسی‌ها نشان می‌دهد تأثیر رس‌ها و کانی‌های رسی بر رشد سلول، بسیار به غلظت رس وابسته است. جهت پوشش دامنه غلظت‌های متفاوت، نانوبنتونیت‌ها در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر،



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



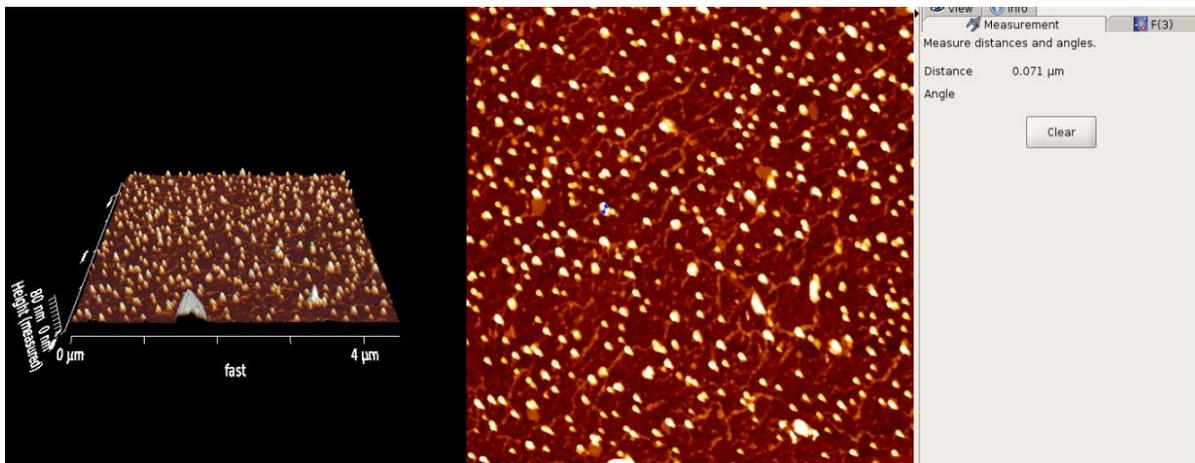
به همراه یک نمونه شاهد بیولوژیک (بدون حضور رس) و یک نمونه شاهد رس (بدون حضور سلول، جهت تصحیح قرائت دستگاه) مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت در چاهک‌های کشت سلول در معرض غلظت‌های مختلف رس قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام گرفت. جهت تعیین آزمون سمیت سلول از آزمون MTT استفاده گردید. سنجش MTT یک روش غیرمستقیم برای زنده ماندن و تکثیر سلولی است؛ زیرا جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر می‌تواند با تعداد سلول‌ها مرتبط باشد (Mosmann, 1983). به طور خلاصه، MTT در PBS با غلظت ۵ میلی‌گرم / میلی‌لیتر حل شد. پس از ۴۸ ساعت، محلول استوک MTT با غلظت ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکرولیتر محیط به تمام چاهک‌های آزمایش اضافه شد و صفحات در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. پس از دوره انکوباسیون، سوسپانسیون به آرامی برداشته شد و کریستال‌های فورمازان در ۱۰۰ میلی‌لیتر ایزوپروپانول اسیدی (۰.۰۴ مولار هیدروکلراید در ایزوپروپانول) حل شد و جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با صفحه‌خوان قرائت گردید. داده‌ها (OD) به عنوان نرخ بازدارندگی تکثیر سلولی ارائه شد که مطابق فرمول زیر ارزیابی شد (Mosmann, 1983).

OD کنترل / (OD - بلانک - OD سلول) = درصد سمیت سلولی

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار graphpad prism ورژن ۹ انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با کمک آزمون شاپیرو ویلکس بررسی و تایید شد. مقایسه بین گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون ANOVA و سپس از آزمون تحقیقی توکی انجام شد. معنی داری مقایسه‌ها با نشانگان* برای $P < 0.05$ ، ** برای $P < 0.01$ و *** برای $P < 0.0001$ مشخص شد.

نتایج و بحث

بنتونیت استفاده شده در اندازه ذره نانو ($< 200 \text{ nm}$ یا $< 0.2 \mu\text{m}$) استفاده گردید. پس از جداسازی گنجایش تبادل کاتیونی نانوذرات رس، ۱۰۳ سانتی‌مول بار بر کیلوگرم به دست آمد. اندازه ذرات باتوجه به آنالیزهای دستگاه AFM نشان می‌دهد، جداسازی ذرات نانو به روش سانتریفیوژ دارای عملکرد بسیار مناسبی است به طوری که متوسط اندازه نانوذرات ۷۰ نانومتر تعیین گردید (شکل ۱). نانو رس‌ها می‌توانند بین ۱ تا ۲۰۰ نانومتر باشند. با این حال، مشخص است که برای نانورس‌ها، اندازه بهینه در کاربرد دارویی و دارورسانی اندازه ≥ 200 نانومتر است (Khatoun et al., 2020). در نتیجه و با توجه به شکل ۱ نانو ذرات بنتونیت تهیه شده دارای اندازه ذره بهینه می‌باشند.





مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

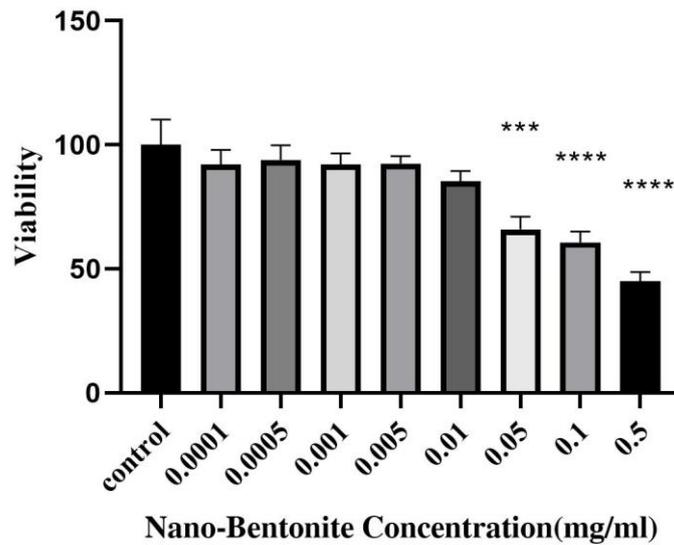
College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



شکل ۱ - تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) نانو بنتونیت

تأثیر کانی نانو بنتونیت بر فعالیت حیاتی سلول های PBMC

شکل ۲ اثر کانی نانو بنتونیت را بر سلول های PBMC نشان می دهد. نتایج نشان دهنده سمیت معنی دار این کانی در غلظت های ۰/۵، ۰/۱ و ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر این کانی برای سلول های سالم تک هسته ای خون محیطی انسان است.



شکل ۲- درصد زنده مانی سلول های PBMC در تیمار با ذرات نانو بنتونیت در مقایسه با گروه کنترل

بسیاری از مطالعات سم شناسی اثرات ناچیز رس ها را بر سلول های انسان یا حیوان در غلظت های فیزیولوژیکی مرتبط تایید کرده اند (Mousa et al., 2018). شواهد قانع کننده ای برای سمی نبودن ذرات رس در دوزهای فیزیولوژیکی مرتبط بر روی سلول های طبیعی انسان یا حیوان وجود دارد (Khatoon et al., 2020). مطالعه ما نشان داد نانو بنتونیت فعالیت حیاتی سلول های PBMC را در مقادیر بالاتر از ۰/۰۵ میلی گرم در میلی لیتر کاهش داد. این محدوده نسبت به غلظت های مشابه بنتونیت در تحقیقات دیگر متفاوت است. به عنوان مثال، در مطالعه تیمار با لاپونیت (نوعی رس اسمکتیت) با غلظت ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر به مدت هفت روز هیچ تأثیری بر مورفولوژی، فعالیت حیاتی یا تکثیر سلولی سلول های مغز استخوان و استرومای مشتق از چربی نشان نداد. با این حال، کاهش فعالیت متابولیک در دوزهای بالا (< ۱ میلی گرم در میلی لیتر) رس مشاهده شد (Gaharwar et al., 2013; Mihaila et al., 2014). پس از تیمار با مونتموریلونیت (۶/۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر) برای ۴ و ۲۴ ساعت، کاهش قابل توجهی در فعالیت حیاتی رده سلولی هپاتوم انسانی HepG2 مشاهده نشد (Maisanaba et al., 2016).

در مطالعه ای دیگر Hamad و همکاران (۲۰۲۳) جهت بررسی سمیت سلولی بنتونیت بر روی سلول های PBMC در شرایط آزمایشگاهی، در بالاترین دوز بنتونیت (۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) مهار رشد ۱۰۰ درصدی را نشان داد، در حالی که در کمترین غلظت ۰/۰۰۰۹۷ میلی گرم بر میلی لیتر نسبتاً غیر سمی بود. در دوز ۰/۰۰۰۱۹ میلی گرم بر میلی لیتر، حداقل سمیت سلولی وجود داشت (Hamad et al., 2023). این نتیجه با نتیجه ژانگ و همکاران مطابقت دارد (Zhang et al., 2011)، که کشف کردند سمیت سلولی بنتونیت بر روی لنفوسیت های B انسان با افزایش دوز بنتونیت و زمان تیمار افزایش می یابد. جذب رس ها



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



به طور مستقیم و قوی بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی سلولی تأثیر می‌گذارد (Panariti et al., 2012). در نتیجه اثرات سائتوتوکسیک نانو بنتونیت می‌تواند به دلیل افزایش ورودی ورقه‌های رسی به سلول‌ها باشد. سبزواری و همکاران (Sabzevar et al., 2020) گزارش دادند که افزایش مرگ سلولی می‌تواند به دلیل افزایش ورقه‌های داخلی مونت موریلونیت باشد. انتقال به داخل سلول‌ها از طریق اندوسیتوز یا توسط گیرنده‌های سلولی انجام می‌شود (Chaffey, 2003).

نانو رس‌ها، به لطف سطح ویژه و بار سطحی بالا، می‌توانند چسبندگی بین سلول‌های تومور و ماتریکس خارج سلولی اطراف را تعدیل کنند، بنابراین از متاستاز جلوگیری می‌کنند (Abduljawad and Ahmed, 2019; Mobaraki et al., 2022). در یک مطالعه عبدالجواد و همکاران. از نانو بنتونیت، پالیگورسکیت و هکتوریت با هدف تعدیل چسبندگی سلول‌های تومور به ماتریکس خارج سلولی استفاده کرد. آن‌ها نشان دادند که نانو بنتونیت قادر به تقویت چسبندگی سلول به سلول است، در حالی که پالیگورسکیت و هکتوریت از چسبندگی سلولی به ماتریکس خارج سلولی حمایت می‌کنند (Abduljawad and Ahmed, 2019). سایر عوامل مهم برای کاربرد نانو رس در پزشکی، اندازه منافذ و حجم منافذ است. راندمان به دام انداختن یا بارگذاری عوامل درمانی مختلف عمدتاً تحت تأثیر اندازه منافذ و حفره‌ها ی نانورس‌ها است (Persano et al., 2021; Persano et al., 2021). با توجه به بارهای سطحی منفی بالا و نیروهای چسبنده غیر اختصاصی سلول‌های سرطانی، یک رویکرد بیوفیزیکی جایگزین برای بازبانی چسبندگی، می‌تواند استفاده از کانی‌های رسی باردار در اندازه نانو باشد. با توجه به ویژگی اصلی این کانی‌ها که سطح باردار و بزرگ آن‌ها می‌باشد، کانی‌های رسی می‌توانند کاندیدای مناسبی برای بازبانی چسبندگی بین سلول‌ها در نظر گرفته شوند. سلول‌های سرطانی مانند هر نوع سلول دیگری، دارای بار منفی هستند و دارای نیروهای چسبنده غیر اختصاصی بالایی مانند واندروالس هستند. این ویژگی‌های سلول‌های سرطانی آن‌ها را کاندیدای مناسبی برای چسبیدن به نانوذرات رس باردار می‌کند (Abduljawad and Ahmed, 2019). در مطالعه بررسی اثر نانو ذرات رس در مقایسه با بنتونیت طبیعی بر سلول‌های سرطانی و مقایسه با سلول‌های PBMC نتایج نشان داد نانو بنتونیت در مقایسه با بنتونیت طبیعی دارای اثر کشندگی بالاتری می‌باشد در حالی که اثر سمیت کمتری بر در سلول‌های PBMC داشتند (نعمتی و همکاران، ۱۴۰۳).

نتایج این تحقیق اثرات سمیت پایین نانو بنتونیت را برای سلول‌های PBMC در شرایط آزمایشگاهی نسبت نشان داد. نتیجه این مطالعه می‌تواند فرصت‌های جدیدی را برای توسعه عوامل درمانی با این ماده ایمن و طبیعی آشکار کند. در هر حال، اطمینان از اثر کاربردی و عدم سمیت برای سلول‌های سیستم ایمنی نیاز به بررسی‌های بیشتر فاکتورهای سلولی و التهابی دارد.

نتیجه‌گیری

نانو بنتونیت در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به میزان ۲۰-۳۰ درصد بازدارندگی داشته‌اند. این غلظت‌ها اغلب در دامنه غلظت‌های مورد استفاده در ترکیبات دارویی نمی‌باشد. دامنه غلظت مصرفی ترکیبات دارویی بسیار کمتر بوده و در آن غلظت‌ها برای این کانی‌ها نیز اثر سمیت بر سلول‌های PBMC مشاهده نگردید؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از این کانی در ترکیبات دارویی، زیستی، آرایشی و بهداشتی اثر جانبی منفی برای سلول‌های سالم خون محیطی به همراه ندارد.

Investigating the inhibitory effect of Nano-Bentonite on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs)

Fariba Nemati Shams Abad^{1*}, Mohammad Hassan Salehi², Tuba Ghazanfari³

1. PhD Graduate, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran; *nemati.fariba@gmail.com



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۲۵ تا ۲۷ شهریور ۱۴۰۴



مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



2. Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran
3. Professor, Immunoregulation Research Center, Shahed University, Iran

Abstract

A wide range of clay minerals are utilized in pharmaceuticals, veterinary medicine, cosmetics and personal care products, biosensors, and medical device components. This study, for the first time in the country, evaluates the proliferative response of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) to nano-bentonite clay with an emphasis on its physicochemical characteristics. The screening of clay effects on PBMCs was conducted under in-vitro conditions. Cells were exposed to different concentrations of the clay for 48 hours in cell-culture wells. All experiments were performed in triplicate. Cytotoxicity was assessed using the MTT assay. The results demonstrated that nano-bentonite at concentrations higher than 0.05 mg/mL exhibited 20–30% inhibitory effects. These concentrations are generally outside the range used in pharmaceutical formulations. Within the typical concentration range of pharmaceutical applications, no cytotoxic effects on PBMCs were observed for this mineral. Therefore, it can be concluded that the incorporation of this clay in pharmaceutical, biomedical, cosmetic, and personal care formulations does not exert adverse effects on healthy peripheral blood cells.

Keywords : Nano-Clay, MTT, Bentonite, AFM