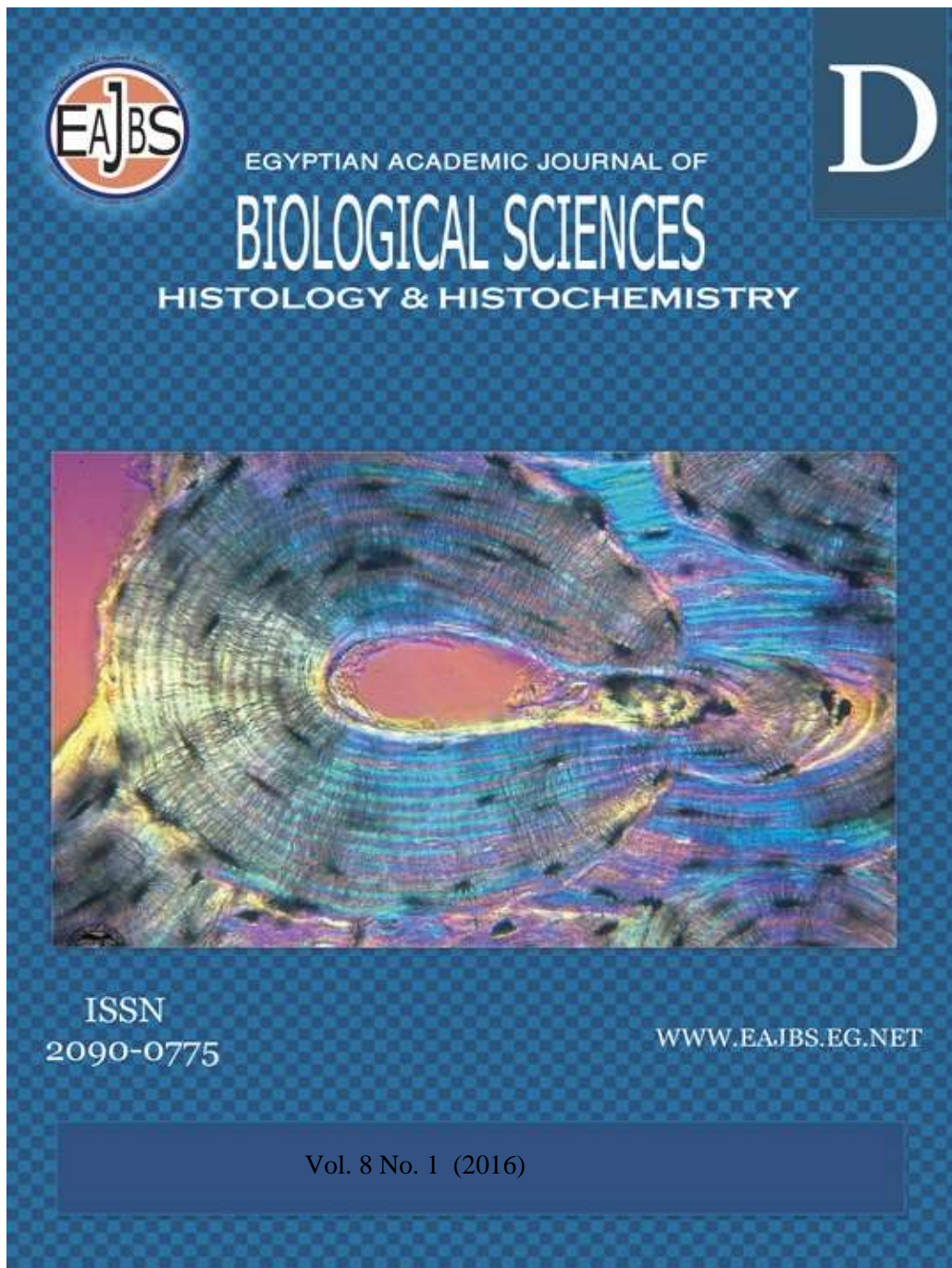


Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



Egyptian Academic Journal of Biological Sciences is the official English language journal of the Egyptian Society for Biological Sciences ,Department of Entomology ,Faculty of Sciences Ain Shams University .

Histology& Histochemistry Journal include various morphological, anatomical, histological, histochemical, toxicological , physiological changes associated with individuals, and populations. In addition, the journal promotes research on biochemical and molecular-biological or environmental, toxicological and occupational aspects of pathology are requested as well as developmental and histological studies on light and electron microscopical level, or case reports..

[www.eajbs.eg.net](http://www.eajbs.eg.net)



## Teratogenic Effects of Titanium dioxide nanoparticles on albino mice fetus *Mus musculus*

H. H. Hantoosh and Hana Khalil Ismail

Department of biology, College of Science, Mosul University, Mosul, Iraq.

### ARTICLE INFO

#### Article History

Received: 13/3/2016

Accepted: 18/4/2016

#### Keywords:

Titanium dioxide nanoparticles  
gross malformation  
histopathological changes  
albino mice  
Teratogenic Effects

### ABSTRACT

The objective of the present study was to investigate the effective of Titanium dioxide nanoparticles as a cause of gross malformation and histopathological changes in albino mice fetal brain. 40 pregnant albino mice were divided into 4 equal groups then Titanium dioxide nanoparticles was intraperitoneally injected with different concentration (50,100,150,200) mg/kg body weight. On day 18<sup>th</sup> of gestation, pregnant mice were anaesthetized, uterine horns were removed, then the embryo toxicity was assessed by studying the gross malformation and histopathological examination for fetus brain. The results showed that malformation represented as a cleft lip, cleft palate, malformation of face, exophthalmia eye, loss of external ear, bending of the hind limbs, shortening of the fore limbs, the tail malformation, angulations of the trunk, exocephalus and wrinkled congested skin. Microscopically histological lesions of fetus brain show an infiltration of inflammatory cells, congestion, necrosis and vacuolar degeneration.

### المقدمة

تعرف المواد النانوية على أنها الجسيمات المتناهية الصغر من المعادن Metals وأكاسيد المعادن Metal Oxides والجسيمات اللا معدنية والخزفيات ceramics (Masala & Seshori, 2008) والتي توجد أو يمكن إنتاجها بمقاييس أبعاد تتراوح بين 1-100 نانومتر أو يكون لها على الأقل بعد واحد بقياس أصغر من 100nm (Paur et al., 2011). تعتبر تكنولوجيا النانو واحدة من أسرع حقول التقدم نمواً، وأصبحت تدخل بما يقارب من 1300 منتج استهلاكي (Net et al., 2006)، ومع هذا فإن المخاطر الكامنة في التعرض للمواد النانوية لا يمكن تجاهلها، إن صغر حجم ومقاييس هذه المواد أدى إلى أن تسلك سلوك مغاير عن نظائرها من المواد التقليدية الكبيرة الحجم والتي تزيد أبعادها على 100 نانومتر (Zhang, 2003) حيث يختلف سلوك الجسيمات بالمقاييس النانوية عند التفاعلات الكيميائية والبيولوجية (Dowling, 2004) وقد أظهرت قدرتها على تحطيم شريط الحامض النووي ناقص الأوكسجين وذلك عند معاملة خلايا الطبقة البطانية للقصبية بأنابيب الكربون النانوية في الزجاج *in vitro* (Lindberg, 2009) وأيضاً تأثيرها في تغيير مستوى التعبير الجيني وحصول اضطراب في عمل المايتوكوندريا من خلال ميكانيكية الكرب التأكسدي كما أن للجسيمات النانوية دور في تحفيز الالتهاب وكبح الجهاز المناعي داخل الجسم الحي (Hussain, 2005). تمتاز جسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية  $TiO_2$  NP<sub>s</sub> بالثبات الكيميائي العالي. وأظهرت الدراسات أن حبيبات  $TiO_2$  لها القدرة العالية على الامتصاص والتشبع بالأشعة فوق البنفسجية مما أضاف لمعان للمنتجات التي تحتوي هذه الجزيئات وكنتيجة لهذه الخصائص فقد انتشر استعمال  $TiO_2$  NP<sub>s</sub> في مستحضرات التجميل وصلصات السلطة والحلويات ومعاجين الأسنان وواقي الشمس (Warharit et al., 2007). إن ذرات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية تتبع ميكانيكية الحفز الضوئي نتيجة أبعادها النانوية التي اكتسبتها خواص المواد من أشباه الموصلات على الرغم من كونها أكاسيد فلزية الظاهرة (Montazer and Pakdel, 2011).

المقتر المجموعة الثانية: حُقنت الفئران الحوامل بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم المجموعة الثالثة: حُقنت الفئران الحوامل بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم المجموعة الرابعة: حُقنت الفئران الحوامل بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ١٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم المجموعة الخامسة: حُقنت الفئران الحوامل بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم. خدرت الفئران الحوامل في اليوم الثامن عشر من الحمل باستخدام الايثر وشُرحت بشق البطن واستئصال قرني الرحم بأكملها، ثم غُسلت بمحلول الملح وأزيلت الأغشية الجنينية بواسطة أدوات التشريح وغسلت الأجنة بالمحلول الملحي الفسلجي (العمرائي، ٢٠١٣)، ثم أخذت أوزان جميع الأجنة السليمة والمشوهة لمجموعة السيطرة والمجاميع التجريبية الأخرى بواسطة ميزان حساس الكتروني، كما تم قياس أطوال الأجنة بواسطة مسطرة بالمليمتر (حمدان، ٢٠٠٢) وتمت دراسة التغييرات المظهرية للأجنة. ثبتت الأجنة من مجموعة السيطرة والمجموعات التجريبية بمثبت الفورمالين الدارئ المتعادل ١٠%، حُضرت المقاطع النسجية لدماع الأجنة اعتماداً على طريقة (الحاج، ٢٠١٠). واستخدم ملون الهيماتوكسلين ارلخ والأبوسين في تلوين المقاطع النسجية.

#### النتائج:

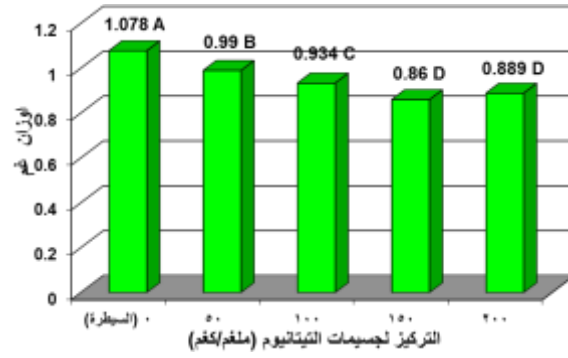
أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أجنة السيطرة بعمر ١٨ يوم سجلت أوزانها متوسطاً حسابياً مقداره (١,٠٧٨±٠,٠٠٣) غم وسجلت أطوالها متوسطاً حسابياً قدره (٢٠,١٨±٠,٠٥) ملم وكانت ذات لون وردي، وتميزت بوضوح الانحناءات الجسمية واتضح ملامح الوجه بشكل متطاول، ونمو صيوان الأذن وبروزه على جانبي الرأس مع العينين المقفلتين والتفاف الذيل وبروزه نحو الأعلى بصورة مستقيمة، وتميز الأطراف الأمامية والخلفية ووضوح الأصابع (الشكل ١)، أما المجاميع المعاملة بأوكسيد التيتانيوم النانوي لمختلف التراكيز فقد سجلت فرقاً معنوياً في أوزان الأجنة عند مستوى احتمالية (p≤0.01) مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشكل ٢) كما سجلت أيضاً فرقاً معنوياً في أطوال أجنة المجاميع المعاملة عند مستوى احتمالية (p≤0.01) مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشكل ٣)، وقد بلغت نسبة التشوهات عند مجموعة الحيوانات المعاملة بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم ٧٣,٨%، وتمثلت التشوهات بليونة الجلد وازرقاق المنطقة الظهرية البطنية (الشكل ٤) والتواء في الأطراف الخلفية للأجنة (الشكل ٥) وتشوه في منطقة الدماغ وتسطحه مع التواء الأطراف الخلفية (الشكل ٦) وظهور أجنة مشوهة الرأس فاقدة للعيون مع ظهور الشفة المشقوقة وتجعد الجلد لكل من الجذع والرأس (الشكل ٧).

يعتمد تحديد سمية الجسيمات النانوية للتيتانيوم على نسبة دخوله ومن ثم بقاءه في الجسم والتي تتحدد اعتماداً على نسبة امتصاصه وتوزيعه وأيضه وإخراجه. تختلف طرق التعرض لجسيمات التيتانيوم النانوية TiO<sub>2</sub> بسبب استخداماته الواسعة في الصناعة فيمكن دخوله للجسم عن طريق الاستنشاق أو البلع أو عن طريق الجلد وعن طريق الحقن الوريدي أو الحقن داخل الخلب (Shi et al., 2013) وأشارت الدراسات إلى أن التعرض للمواد النانوية وبجرع عالية يسبب حدوث تغييرات وأضرار نسجية واضحة، حيث أن الهجرة الجهازية للجسيمات النانوية تحدث بغض النظر عن طريقة التعرض لها (Olmedo et al., 2008)، وأيضاً أشارت الدراسات الحديثة إلى أن العديد من الجسيمات النانوية من الملوثات ممكن أن تعبر الحاجز المشيمي وتصل إلى كبد ودماع الجنين مثل جسيمات التيتانيوم النانوية (Takeda et al., 2009)، ولوحظ أن تأثير الجسيمات النانوية أشد عند الحوامل، فعند تعريض فئران حوامل لاستنشاق جسيمات التيتانيوم النانوية TiO<sub>2</sub> بتركيز ٥٠ ملغم/كغم في اليوم الرابع عشر من الحمل أدى إلى التهاب رئوي حاد، في حين أن فئران السيطرة غير الحوامل لم تعاني من أي التهاب، إضافة إلى زيادة التحسس عند الولادات (Alexey et al., 2008). وقد صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثير جسيمات التيتانيوم النانوية في أحداث التشوهات المظهرية للأجنة والتأثيرات النسجية التي تسببها في نسجية دماغ الجنين.

#### المواد وطرق العمل:

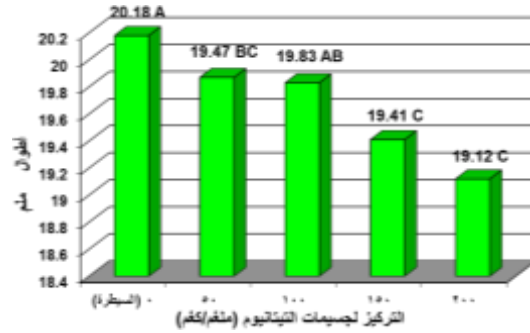
تم شراء أوكسيد التيتانيوم النانوي (TiO<sub>2</sub>) من شركة (NP Oma International Trading Authorized Partner of Sigma-Aldrich/German) وجهزت المادة من قبل الشركة على شكل عبوة زجاجية سعة 100 غم، حجم الجسيمة فيه >100 نانومتر.

اختيرت الحيوانات بعمر (١٠-١٤) أسبوعاً لكلا الجنسين وبمعدل وزن (٢٥) غم، ووضعت الأنثى المهيأة للتزاوج مع ذكر بالغ من نفس النوع في كل قفص خلال ساعات الليل، وتم التأكد من حصول التزاوج عند نهاية دورة الظلام بالكشف عن وجود السدادة المهبلية Vaginal Plug أو التأكد من وجود بقايا الحيوانات المنوية في الأنسجة المهبلية للفأرة، واعتبر ذلك اليوم هو اليوم صفر من الحمل، واليوم الذي يليه هو اليوم الأول من الحمل (Fox, et al., 2006) استخدمت في الدراسة الحالية ٤٠ أنثى حامل للفأر الأبيض، وقسمت إلى خمس مجاميع، شملت كل مجموعة على ٨ فئران وتمت المعاملة لكافة المجاميع داخل تجويف الخلب بحجم ٠,٢ ملل يومياً من اليوم السابع إلى اليوم الثامن عشر من الحمل. المجموعة الأولى (السيطرة): حُقنت الفئران الحوامل بالماء



شكل ١ : تأثير المعاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية في أوزان الأجنة للفئران القيم معبر عنها بمتوسط حسابي

الأشكال المقترنة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ( $P \leq 0,01$ )



شكل ٢: تأثير المعاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية في أطوال الأجنة للفئران القيم معبر عنها بمتوسط حسابي

الأشكال المقترنة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ( $P \leq 0,01$ )



شكل ٤: منظر جانبي لجنين فأر معامل بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح ليونة الجلد وازرقاق المنطقة البطنية



شكل ٣: منظر جانبي لجنين فأر طبيعي، عند اليوم ١٨ من الحمل (مجموعة السيطرة).



شكل ٦: منظر جانبي لجنين فأر معامل بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح تشوه وتسطح الدماغ، والتواء الأطراف الخلفية



شكل ٥: منظر جانبي لجنين فأر معامل بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح التواء الأطراف الخلفية للأجنة



شكل ٨: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح بروز الدماغ إلى الخارج وعيون جاحظة



شكل ٧: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح تشوهات الشفة المشقوقة، وفقدان العيون وتجعد الجلد

الداخلية وظهورها باللون الأسود (الشكل ١٢)، وظهور أجنة متضخمة مملوءة بالسوائل فاقدة للعيون ومشوهة الرأس مع اعوجاج الأطراف (الشكل ١٣). أما عند المجموعة المعاملة بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم فقد أظهرت النتائج أن نسبة الأجنة المشوهة بلغت ١٠٠%، وكان معدل أوزانها بمقدار  $(0,009 \pm 0,889)$  غم، ومعدل أطوالها بمقدار  $(0,12 \pm 19,12)$  ملم، وتمثلت بظهور الجنين ممسوخ غير مكتمل النمو (الشكل ١٤) وأجنة مشوهة الرأس مع عدم وضوح ملامح الوجه وصيوان الأذن وتشوه الأطراف وظهور الجلد بشكل شفاف مع تشوه الذنب (الشكل ١٥)، وتشوه انحناءات الجذع، وازرقاق وليونة الجلد، وتشوه العيون والذنب (الشكل ١٦) يوضح ازرقاق الجذع وامتلاءه بالسوائل وتشوه الأطراف والذنب (الشكل ١٧)، وتشوه ملامح الوجه (الشكل ١٨) وفي أجنة أخرى ظهور تشوه مقدم الرأس بما يشبه منقار الطير (الشكل ١٩)

عند المعاملة بتركيز ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم فقد أشارت النتائج أن نسبة الأجنة المشوهة كانت ٩٣% وكان معدل أوزانها  $(0,009 \pm 0,934)$  غم، ومعدل أطوالها  $(0,13 \pm 19,83)$  ملم، وتمثل تشوه المظهر الخارجي ببروز الدماغ إلى الخارج وعيون جاحظة (الشكل ٩) وأجنة متضخمة مع ازرقاق في منطقة الجذع (الشكل ١٠).

أما عند المجموعة المعاملة بتركيز ١٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، فقد أظهرت النتائج أن نسبة الأجنة المشوهة بلغت ١٠٠% وسجل معدل أوزان المجموعة  $(0,021 \pm 0,860)$  غم، أما معدل أطوالها فقد بلغ  $(0,13 \pm 19,41)$  ملم، وقد ظهرت أجنة مشوهة ذات شفة مشقوقة وعيون أثرية مع احتقان شديد في المنطقة الظهرية والبطنية ورخاوتها وظهورها باللون الأسود القاتم وظهور الجلد بشكل شفاف وتشوه الأطراف وتشوه الذنب (الشكل ١١) وأجنة مشوهة الرأس المنحني وتشوه الأطراف الأمامية مع جلد مجعد شفاف واحتقان الأعضاء



شكل ١٠: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ١٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح تشوهات الشفة المشقوقة، والعيون الأثرية، واحتقان شديد في المنطقة الظهرية البطنية ورخاوتها، وتشوه الأطراف والذنب



شكل ٩: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح تضخم الجنين وازرقاق الجلد



شكل ١٢: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز 150 ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح جنين متضخم، ومملوء بالسوائل، ومشوهة الرأس، واعوجاج الأطراف



شكل ١١: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز 150 ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح الرأس المنحني، وتشوه الأطراف، واحتقان الأعضاء الداخلية



شكل ١٥: منظر بطني لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح تشوه الملامح الوجهية، وصيوان الأذن، وتشوه الأطراف والذنب



شكل ١٤: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح جنين ممسوخ غير مكتمل النمو



شكل ١٧: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح ازرقاق الجذع وامتلاء السوائل وتشوه الأطراف والذنب



شكل ١٦: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح تشوه انحناءات الجذع، وازرقاق وليونة الجلد، وتشوه العيون والذنب



شكل ١٩: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح تشوه مقدم الرأس بما يشبه منقار الطير



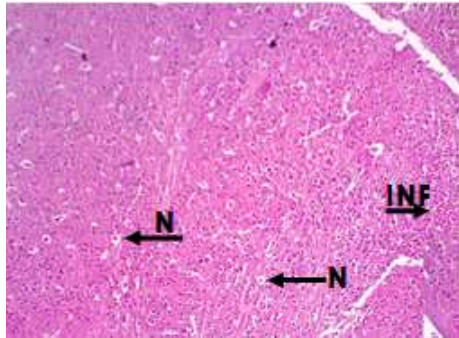
شكل ١٨: منظر جانبي لجنين فأر معاملة بجسيمات التيتانيوم النانوية بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يبين تشوه ملامح الوجه

التنخر في أجزاء الدماغ والانتشاح للخلايا الالتهابية (الشكل ٢٢).

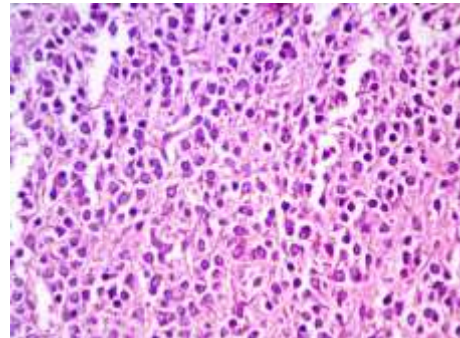
أما المجموعة المعاملة بالتركيز ١٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، فقد أظهر الفحص النسيجي ارتشاح للخلايا الالتهابية مع تنكس فجوي (الشكل ٢٣).

أما عند المجموعة المعاملة بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، فقد أظهر الفحص النسيجي وضوح الاحتقان وارتشاح الخلايا الالتهابية مع تنخر ووضوح الوذمة Odema (الشكل ٢٤) وحصول تحلل hemorrige (الشكل ٢٥).

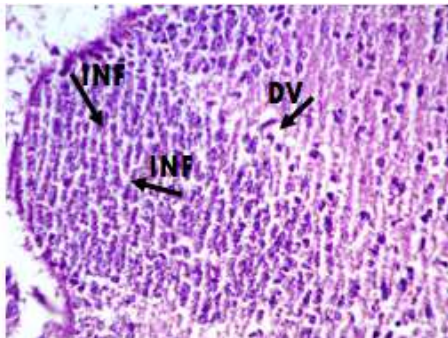
أظهر الفحص النسيجي لدماغ جنين الفأر الطبيعي بعمر ١٨ يوم تمايز جزء من قشرة الدماغ والمتمثل بالطبقة الجزيئية وأظهرت نتائج الفحص المجهرية لنسيج دماغ أجنة الفأر الأبيض المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي حدوث تغييرات نسيجية مرضية مقارنة مع نسيج السيطرة (الشكل ٢٠)، فقد أظهرت المجموعة المعاملة بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم حدوث ارتشاح للخلايا الالتهابية مع حدوث تنخر (الشكل ٢١)، وكذلك أظهرت المجموعة المعاملة بالتركيز ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم نفس التغييرات النسيجية مع انتشار



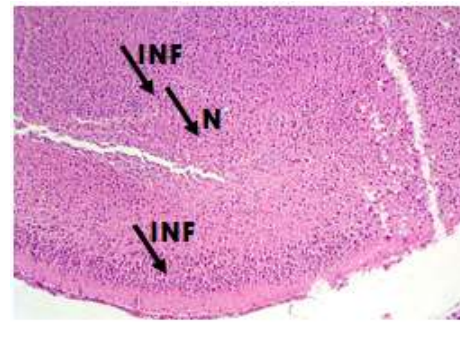
شكل ٢١: مقطع مستعرض في دماغ جنين الفأر الأبيض لأم معاملة بأوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح انتشار التنخر N وارتشاح الخلايا الالتهابية INF 100X (H&E)



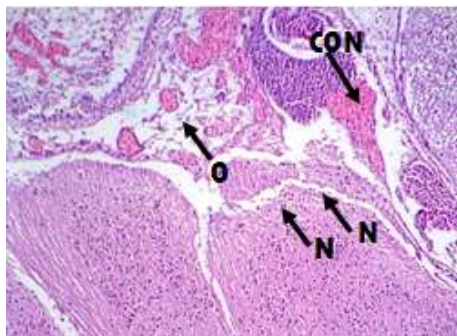
شكل ٢٠: مقطع مستعرض في جنين الفأر الأبيض لمجموعة السيطرة بين تمايز الطبقة الجزيئية من اليوم ٧-١٨ من الحمل 190X (H & E)



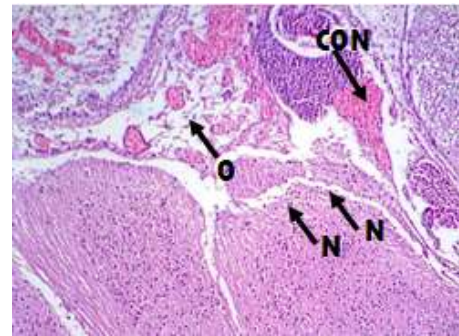
شكل ٢٣: مقطع مستعرض في دماغ جنين الفأر الأبيض لأم معاملة بأوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز ١٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح ارتشاح الخلايا الالتهابية INF والتنخر البؤري V100X (H&E)



شكل ٢٢: مقطع مستعرض في دماغ جنين الفأر الأبيض لأم معاملة بأوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز ٥٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح التنخر N مع ارتشاح الخلايا الالتهابية INF 100X (H&E)



شكل ٢٥: مقطع مستعرض في دماغ جنين الفأر الأبيض لأم معاملة بأوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح الاحتقان Con والتنخر N مع ارتشاح الخلايا الالتهابية INF ووضوح الوذمة O 100X (H&E)



الشكل ٢٤: مقطع مستعرض في دماغ جنين الفأر الأبيض لأم معاملة بأوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز ٢٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من اليوم ٧-١٨ من الحمل يوضح الاحتقان Con والتنخر N مع ارتشاح الخلايا الالتهابية INF ووضوح الوذمة O 100X (H&E)

## المناقشة:

encephaly وفقدان العين مع عدم اكتمال نمو الأطراف والذيل عند معاملة الفأر الحامل بأوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز ١٠٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم، بينت نتائج الدراسة الحالية حدوث تغييرات مرضية في نسيج دماغ أجنة الفئران المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي وتمثلت بظهور والتكس الفجويوالنتخر مع ظهور احتقان في قشرة المخ وارتشاح للخلايا الالتهابية.

لقد أشار Shimizu وجماعته (٢٠٠٩) إلى أن جسيمات أوكسيد التيتانيوم النانوية يمكن أن تعبر الحاجز المشيمي إلى دم الجنين من خلال معاملة لفئران حوامل في الأيام ٦، ٩، ١٢، ١٥ من الحمل بمقدار ١ ملغم/كغم من وزن الجسم حيث يؤدي تجمع الجسيمات في الجنين إلى تفعيل أنواع الأوكسجين الحر ROS التي تعتبر المسبب الرئيسي للتشوهات الخلقية في الأجنة (Halliwell and Guttoiage, 1999).

وقد أشار Wells وجماعته (٢٠٠٥) إلى أن الجسيمات النانوية ممكن أن تسبب التشوهات الجنينية عند التعرض لها، إما بعبورها الحاجز المشيمي إلى مجرى الدم في الجنين وتحفيز تحرر ROS وتسبب الكرب التأكسدي والتأثير على دماغ الأجنة المعاملة أو أن الجسيمات النانوية تحفز تحرر ROS عند الأم والتي بدورها تحفز تكوين السايبتوكاينات الالتهابية inflammatory Cytokines التي تنتقل إلى الجنين مسببة الخلل الجنيني، وقد اتفق (Jackson *et al.*, 2011) مع دور ROS المتحرر عند الام بتأثير الجسيمات النانوية في إحداث التشوهات الجنينية، حيث تتفاعل ROS مع الجزيئات البيولوجية كالبروتينات والدهون وDNA، وخلل في الاتزان الداخلي للخلايا مما يسبب موت مبرمج للخلايا والتأثير السمي للأجنة والأمهات، أشار (Jonakait, 2007) إلى أن تعريض الفأر الحامل لاستنشاق جسيمات التيتانيوم النانوية يؤدي إلى تحفيز السايبتوكاينات الالتهابية في رئة الأم الوريومي tumor necrosis factor، وكل منها له تأثير في التطور الجنيني حيث تنتقل الجسيمات الالتهابية من الأم إلى الجنين وتؤثر سلباً في الجهاز العصبي

(Grassian *et al.*, 2007)، في حين أشار Liu وجماعته (٢٠١٤) إلى عبور الجسيمات النانوية من جهاز الدوران للأم إلى المشيمة وendometrium ووصولها إلى كيس المح ثم الجنين حيث تفقد المشيمة وظيفتها مسبباً التسمم العصبي neurotoxicity وأجنة مشوهة بسبب السايبتوكاينات الالتهابية التي تحفز بتأثير الجسيمات النانوية داخل الجنين وهذا ما أشار إليه أيضاً كل من (Jonakait, 2009) (Meyer *et al.*, 2007).

وكذلك أشار كل من Oberdorster وجماعته (٢٠٠٤) وKreyling وجماعته (٢٠٠٢)

سجلت الدراسة نقص في أوزان وأطوال الأجنة للأمهات المعاملة مقارنة مع أجنة السيطرة وتمثلت التشوهات بظهور أجنة غير مكتملة النمو وأجنة أخرى مشوهة الأطراف والذنب مع تشوهات في الرأس والوجه، وقد جاءت هذه النتائج متفقة لما أشار إليه Tsuchinya وجماعته (١٩٩٦) من ظهور أجنة مشوهة عند معاملة الفئران الحوامل بجرعة واحدة من تراكيب مختلفة من جسيمات الفلورين النانوية C<sub>60</sub> عند اليوم العاشر من الحمل، وقد تطابقت النتائج أيضاً مع ما أشار إليه Takeda وجماعته (٢٠٠٩) بظهور أجنة مشوهة وأجنة ميتة عند معاملة الفئران الحوامل في اليوم التاسع من الحمل بتركيزين مختلفين ١٠٠، ١٠٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم من كل من جسيمات الفضة النانوية وأوكسيد التيتانيوم النانوي، وقد اتفقت النتائج أيضاً مع Pietroiusti وجماعته (٢٠١١) فقد أشار إلى حدوث حالات إجهاض وظهور أجنة مشوهة في جدار البطن والرأس مع تأخر نمو وتشوه الأطراف والوجه snout وعدم انتظام الجذع Iorsion وذلك عند حقن الفئران الحوامل بنوعين من جسيمات SWCNTs وبتركيز مختلفة. كما أظهرت المعاملة جسيمات SWCNTs المؤكسد حدوث تشوهات هيكلية للأجنة وتشوه في منطقة العنق forked cervical vertebrae ونقص في عظم القص sternebrae والسلاميات (Philbrook *et al.*, 2011) وقد يرجع سبب ذلك إلى ميكانيكية تحفيز المسار التخثري coagulation pathway وتحفيز الكرب التأكسدي Oxidative stress عند تعرض المشيمة للجسيمات النانوية وانتشارها في غشاء الكيس المحي وهذا ما أشار إليه Austin وجماعته (٢٠١٢). وقد يرجع سبب سمية الجسيمات النانوية إلى تأثيرها في توازن عمليات الأكسدة والاختزال في المشيمة (Pietorusti *et al.*, 2011) مما يؤدي إلى موت خلايا الأرومة (Li *et al.*, 2010) blastocyte وتنشيط تمايز الخلايا الجذعية stem cells للجنين (Park *et al.*, 2009)، وأشار Fujimoto وجماعته (٢٠٠٥) إلى أن تعرض الفأر الحامل لجسيمات diesel exhaust يؤدي إلى تغيير في الفعالية المناعية للحاجز المشيمي مما يسبب نقص في وزن الولادات وخلل في أعضاء الجنين وتأثير في أنسجة دماغ الجنين (Yokota *et al.*, 2009)، كما أشار Hougard (٢٠١٠) إلى أن تعرض الفأر الحامل لاستنشاق جسيمات الكربون النانوية وأوكسيد التيتانيوم النانوي كل بصورة منفردة لمدة ساعة يومياً من اليوم ٨ إلى ١٨ من الحمل يؤدي إلى حدوث تغييرات سلوكية ومرضية في دماغ الأجنة بتداخل الجسيمات النانوية في نمو وتطور الجهاز العصبي، كما أشار Phillbrook وجماعته (٢٠١١) إلى حصول ولادات مشوهة تمثلت بظهور الدماغ الخارجي



يؤدي إلى نمو غير طبيعي في الجهاز العصبي المركزي.

إن انتشار الجسيمات النانوية وتأثيرها يصل إلى hippocampus (sugamata *et al.*, 2006) وإلى المخيخ (Oberdorster *et al.*, cerebellum) (2000)، و أشار Takada وجماعته (٢٠٠٩) إلى موت الخلايا في العصب الشمي مع تجمع جسيمات التيتانيوم النانوية في الحليمة الشمية وقشرة المخ cerebral.

إن التغيير في قشرة المخ والبراعم الشمية قد يعود إلى تأثير أوكسيد التيتانيوم النانوي بنظام الدوبامين dopamine system (Umezawa, ) (2002) حيث لاحظ Takahashi وجماعته (٢٠١٠) عند قياس مستوى dopamine وأيضاً في مناطق مختلفة من الدماغ باستخدام تقنية high performance liquid chromatography زيادة في مستوى MDA في كل من القشرة prefrontal و cortex و neostriatum عند معاملة الفئران الحوامل بجسيمات التيتانيوم النانوية خلال الأيام ٦، ٩، ١٢، ١٣، ١٨ من الحمل.

وأشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حدوث تنخر في أنسجة دماغ الأجنة المعاملة وقد يعود السبب في ذلك إلى سمية الجسيمات النانوية التي تسبب الكرب التأكسدي والالتهاب وبالتالي تثبيط النمو الخلوي الذي يؤدي إلى موت الخلايا المبرمج Apoptosis (Guo) (King-Heiden *et al.*, 2011) وحصول التنخر (2009) DNA (Wang *et al.*, 2010) أما Jackson وجماعته (٢٠١١) فقد أشاروا إلى أن حصول التنخر في الدماغ قد يعود إلى أنه عضو ذو مستوى أيضي عالي وانتشار NP في المشيمة يؤثر في انتقال المواد المغذية عبر أوعيتها الدموية مما يسبب نقص الأوكسجين hypoxia للجنين ومع استمرار التعرض يؤدي إلى تأخر في النمو وموت الجنين والإجهاض.

## المراجع

- Alexey V. Fedulov, Adriana Leme, Zhiping Yang, Morten Dahl, Robert Lim, Thomas J. (2008). Mariani, and Lester Kobzik "Pulmonary Exposure to Particles during Pregnancy Causes Increased Neonatal Asthma Susceptibility", American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 38(1):57-63.
- Austin, C. A.; Umbreit, T. H.; Brown, K. M.; Barber, D. S.; Dair, B. J.; Francke-Carroll, S.; Feswick, A.; Saint-Louis, M. A.; Hikawa, H.;

إلى أن استنشاق أو حقن الجسيمات النانوية يسمح بوصولها إلى جهاز الدوران و ثم إلى مختلف أنسجة الجسم ومن ضمنها الدماغ، بعد أن تفقد hypothallmus فعالية حاجز الدم - الدماغ مما يسمح بمرور هذه الجسيمات ووصولها للدماغ، كما قد يُعزى سبب تأثير الجسيمات النانوية في ظهور التشوهات الخلقية والتأثير في دماغ الأجنة المعاملة إلى قدرتها في تحفيز الجهد التأكسدي (Obeidoster *et al.*, 2005) والتفاعلات الالتهابية (Tin - Tin win , 2006)، وقد استنتج lockman وجماعته (٢٠٠٣) أن معاملة الفأر الحامل بالجسيمات النانوية يسمح بمرورها عبر حاجز دماغ الجنين بسبب عدم اكتمال نموه، بالإضافة إلى صغر حجم وصفات السطح للنانو (Kreyling *et al.*, 2002).

وأظهرت الدراسة الحالية أيضاً تحلل وموت الخلايا العصبية، وقد تطابقت هذه النتائج مع Sugamata وجماعته (٢٠٠٦) الذي أشار إلى أن تعريض الفئران الحوامل لجسيمات diesel exhaust يسبب موت الخلايا البطانية الحبيبية Granular epithelial cells وخلايا Scavenger cells، وكذلك أشار Sugamata وجماعته (٢٠١٢) إلى أن معاملة الفئران الحوامل بأوكسيد التيتانيوم النانوي بحقن جرعة ٠,١ ملغم/فأرة تحت الجلد تسبب موت الخلايا البطانية وتضيق الشعيرات الدموية Capillary stenosis في النسيج العصبي للدماغ.

لقد أشار Shimizu وجماعته (٢٠٠٠) إلى أن تأثير الجسيمات النانوية قد يعود إلى تحفيز هذه الجسيمات لأحداث تغييرات في التعبير الجيني المرتبط بالدماغ، وهذا ما أشار إليه (Ryman-Rasmussen) (2009) *et al.* في قدرة جسيمات الفضة النانوية بحجم ٢٥ نانومتر على استحداث تغيير في التعبير الجيني في قشرة المخ والمنطقة المسؤولة عن تنظيم الذاكرة في الدماغ hippocampus، في حين أن Sugamata وجماعته (٢٠٠٦) أشاروا إلى أن تأثير جسيمات diesel exhaust في الأجنة الذي يؤدي إلى تحلل في خلايا قشرة المخ وخلايا hippocampus. وقد أرجح سبب ذلك إلى تغيير في الناقلات العصبية transemmitter وفي مستوى الأحماض الأمينية monoamines، بالإضافة إلى تحفيز الجسيمات النانوية في إحداث تغييرات في العمليات الأيضية للدماغ.

إن نمو وتطور الدماغ ينظم عادة بواسطة المغذيات العصبية Neutrophins مثل عامل النمو العصبي nerve-growth factor وعامل brain-derived neurotrophic factor وكذلك بهرمون النمو Growth hormone الذي يفرز من الغدة الدرقية (Scheepen *et al.*, 2003)، وقد أشار Porter و Jnbanicke (1999) إلى أن أوكسيد التيتانيوم النانوي مؤثر سلبي في هذه العوامل، وبالتالي

- Hougaard, A.; Jackson, P.; Jensen, A.; Sloth.; Loeschner, K.; Larsen, H.; Birkedal, K.; Vibenholt, A.; Boisen, Z.; Wallin, H. and Vogel, U. (2010). Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice. Part. Fibre. Toxicol., 7: 16. <http://www.particleandfibretoxicology.com/content/10/1/15>
- Hussain, S.M.; Hess, K.; Gearhart, J.; Geiss, K. and Schlager, J. (2005). In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 4A rat liver cells. Toxicol., 19: 975-983.
- Jackson, P.; Vogel, U.; Wallin, H. and Hougaard, K.S. (2011). Prenatal exposure to carbon black (Printex 90): Effects on sexual development and neurofunction. Basic. Clin. Pharmacol., 109: 434-437.
- Jonakait, G. M. (2007). The effects of maternal inflammation on neuronal development: possible mechanisms. *Intl. J. Devel. Neurosci.* 25: 415-425.
- King-Heiden, T. C.; Wicinski, P. N.; Mangham, A.N.; Metz, K.M.; Nesbit, D. Pedersen, J. A.; Hamers, R. J.; Heideman, W. and Peterson, R.E. (2009). Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo. *Environ. Sci. Technol.*, 43(5): 1605-11
- Kreyling, W.G.; Semmler, M.; Erbe, F.; Mayer, P.; Takenaka, S.; Schultz, H.; Oberdorster, G. and Ziesenis, A. (2002). Ultrafine insoluble iridium particles are negligibly translocated from lung epithelium to extrapulmonary organs. *J. Tox. Environ. Health*, 65(20):1513-1530.
- Li, N.; Duan, Y.; Hong, M.; Zheng, L.; Fei, M.; Zhao, X.; Wang, J.; Cui, Y.; Liu, H.; Cai, J.; Gong, S.; Wang, H. and Hong, F. (2010). Spleen injury and apoptotic pathway in mice caused by titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology Letters*, 195: 161-168.
- Siebein, K. N. and Goering, P. L. (2012). Distribution of silver nanoparticles in pregnant mice and developing embryos. *Nanotoxicology*, 6:912-22.
- Dowling, A.; Clift, R.; Grobert, N.; Hutton, D.; Oliver, R.; O'Neil, O.; Pethica, J.; Pidgeon, N.; Porritt, J.; Seaton, A.; Tendeler, S.; Welland, M. and Whatmore, R. (2004). Nano science and nanotechnology :opportunities and uncertainties. The Royal Society, the Royal Academy of Engineering.
- Fox, J.; Barthold, S.; Davisson, M.; Newcomer, C.; Quimby, F.; Smith, A. (2006). *The Mouse in Biomedical Research: Normative Biology, Husbandry, and Models*. 2nd edition. Elsevier.
- Fujimoto, A.; Tsukue, N.; Watanabe, M.; Sugawara, I.; Yanagisawa, R.; Takano, H.; Yoshida, S. and Takeda, K. (2005). Diesel exhaust affects immunological action in the placentas of mice. *Environ. Toxicol.*, 20: 431-440
- Grassian, V. H.; Adamcakova-Dodd, A.; Pettibone, J. M.; O'shaughnessy, P. T. and Thorne, P. S. I. (2007). Inflammatory response of mice to manufactured titanium dioxide nanoparticles: comparison of size effects through different exposure routes. *Nanotoxicology*, 1, 211-226.
- Guo, P. (2010). The emerging field of RNA nanotechnology. *Nat. Nanotechno*, 5: 833-42.
- Jackson, P.; Vogel, U.; Wallin, H. and Hougaard, K.S. (2011). Prenatal exposure to carbon black (Printex 90): Effects on sexual development and neurofunction. *Basic. Clin. Pharmacol.*, 109: 434-437.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Univer. Pres., 3:1-543.

- Oberdörster, G.; Oberdörster, E.; Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Persp.*, 113: 823-839
- Olmedo, I.; Araya, E.; Sanz, F.; Medina, E.; Arbiol, J.; Toledo, P.; Alvarez-Lueje, A.; Giralt, E. and Kogan, I.(2008). How Changes in the Sequence of the Peptide CLPFFDNH2Can Modify the Conjugation and Stability of Gold Nanoparticles and Their Affinity for  $\beta$ -Amyloid Fibrils. *Bioconjugate Chem.*, 19(6):1154-1163
- Park, E.J.; Yoon, J.; Choi, K.; Yi, J. and Park, K. (2009). Induction of chronic inflammation in mice treated with titanium dioxide nanoparticles by intratracheal instillation. *Toxicology*, 260: 37–46.
- Paur, H.R.; Cassee, F.R.; Teeguarden, J.; Fissan, H.; Diabate, S.; Aufderheide, M. and Kreyling, W.G. (2011). In-vitro cell exposure studies for the assessment of nanoparticle toxicity in the lung-A dialog between aerosol science and biology. *J. Aerosol Sci.*, 42:668-692.
- Philbrook, N.A.; Winn, L.M., Afrooz, A.R.; Saleh, N.B.; Walker, V.K. (2011). The effect of TiO<sub>2</sub> and Ag nanoparticles on reproduction and development of *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 257: 429-36.
- Pietroiusti, A.; Massimiani, M.; Fenoglio, I.; Colonna, M.; Valentini, F.; Palleschi, G.; Camaioni, A.; Magrini, A.; Siracusa, G. and Bergamaschi, A. (2011). Low doses of pristine and oxidized single wallcarbon nanotubes affect mammalian
- Lindberg, W.; Xu, Y.; Huang, C.; Ma, Y.; Shannon, K. B.; Chen, D. and Huang, Y. (2009). Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells. *J. of Nanoparti. Rese.*, 11: 25-39
- Liu, L.; Sun, M.; Li, Q.; Zhang, H.; Pedro, J.J.; Liu H.; and Chen, W. (2014). Genotoxicity and Cytotoxicity of Cadmium Sulfide Nanomaterials to Mice: Comparison Between Nanorods and Nanodots. *Environmental Engine. Sci.*, 31(7).
- Lockman, P.R.; Koziara, J.M.; Roder K.E.(2003). In vivo and in vitro assessment of baseline blood-brain-barrier parameters in the presence of novel nanoparticles. *Pharm Res.* 20:705–13
- Masala, O. and Seshadri, R. (200<sup>^</sup>). Synthesis routes for large volumes of nanoparticles. *Annual Review of Materials Research*, 34, 41-81.
- Meyer, U.; Feldon, J. and Fatemi, S.H. (2009). In-vivorodent models for the experimental investigation of prenatal immune activation effects in neurodevelopmental brain disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 33: 1061–1079.
- Montazer, M. and Pakdel, E. (2011), “Functionality of nano titanium dioxide on textiles with future aspects: Focus on wool”, *J Photochem Photobiology C: Photochemistry Reviews* 12, 293–303.
- Net, A.; Xia, T.; Madler, L. and Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nano level. *Scie.*, 311: 622-627.
- Oberdörster, G.; Finkelstein, J.N.; Johnston, C.; Gelein, R.; Cox, C. and Baggs, R. (2000). Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. *HEI Research Report*, 96 .

- from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. *J. Health Sci.*, 55: 95-102.
- Tin-Tin, Sh.; Yamamoto, S.; Ahmed, S.; Kakeyama, M.; Kobayashi, T. and Fujimaki, H. (2006). Brain cytokine and chemokine mRNA expression in mice induced by intranasal instillation with ultrafine carbon black. *Toxicol. Lett.*, 163: 153-160
- Tsuchiya, T.; Ogur, I.; Yamakoshi, Y.N. and Miyata, N. (1996). Novel harmful effects of fullerene on mouse embryos *in vitro* and *in vivo*. *FEBS. Lett.*, 393: 139-145.
- Umezawa, M.; Tainaka, H.; Kawashima, N.; Shimizu, M. and Takeda, K. (2012). Effect of fetal exposure to titanium dioxide nanoparticle on brain development-brain region information. *J. Toxicol. Sci.*, 37(6): 1247-52.
- Wang, J.; Zhou, G.; Chen, C.; Yu, H.; Wang, T.; Ma, Y.; Jia, G.; Gao, Y.; Li, B.; Sun, J.; Li, Y.; Jiao, F.; Zhao, Y. and Chai, Z.(2012). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology Letters*, 168, 176-185
- Warheit, D. B.; Webb, T. R.; Reed, K. L.; Frerichs, S. and Sayes, C.M. (2007). Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO<sub>2</sub> particles: Differential responses related to surface properties. *Toxicol.*, 230: 90-104.
- Wells, P. G.; Bhuller, Y.; Chen, C. S.; Jeng, W.; Kasapinovic, S.; Kennedy, J. C.; Kim, P. M.; Laposa, R. R.; McCallum, G. P. and Nicol, C. J. (2005). Molecular and biochemical mechanisms in teratogenesis involving reactive oxygen species. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 207: 354-366
- embryonic development. *ACS Nano*. 5: 4624-4633.
- Porter, A. G. and Janicke, R. U. (1999). Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ.*, 6: 99-104.
- Scheepens, A.; Wassink, G.; Piersma, M. J.; Van de Berg, W. D. and Blanco, C. E. (2003). A delayed increase in hippocampal proliferation following global asphyxia in the neonatal rat. *Dev. Brain Res.*, 142: 67-76.
- Shi, H. Magaye, R. Castranova, V. and Zhao, J. (2013). Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and Fibre Toxicology* .
- Shimizu, M.; Tainaka, H; Taroba, T.; Mizuo, K.; Umezawa, M. and Takeda, K. (2009). Maternal exposure to nano-particulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. *Partic. and Fibre. Toxicol.*,6:20.
- Sugamata, M.; Ihara, T.; Takano, H.; Oshio, S. and Takeda, K. (2006). Maternal diesel exhaust exposure damages new born murine brains. *J. Health Sci.*, 52: 82.
- Sugamata, M.; Ihara, T.; Umezawa, M.; Takeda, K. (2012). P-999- Maternal exposure to nanoparticles enhances the risk of mental neurological disorders in offspring. *Eur. Psychiat.* 27(1).
- Takahashi, Y.; Mizuo, K.; Shinkai, Y.; Oshio, S. and Takeda, K. (2010). Prenatal exposure to titanium dioxide nanoparticles increases dopamine levels in the prefrontal cortex and neostriatum of mice. *J. Toxicol. Sci.*, 35: 749-56.
- Takeda, K.; Suzuki, K.; Ishihara, A.; Kubo-Irie, M.; Fujimoto, R.; Tabata, M.; Oshio, S.; Nihei, Y.; Ihara, T.; and Sugamata, M. (2009). Nanoparticles transferred

النظرية والتطبيقات (الطبعة الأولى)، مركز الكتب الأردني، عمان.  
 حمدان، فؤاد قاسم أحمد (2002). تأثير بعض العقاقير على عملية التعصبين وإحداث تشوهات في جنين الفأر الأبيض *Mus musculus*، أطروحة دكتوراه، علوم الحيوان، كلية التربية (ابن الهيثم)-جامعة بغداد، بغداد  
 العمراني، آمال (٢٠١٣). دور فيتامين C, E والمستخلص الباتاتولي النباتي *Chrysanthum Rhantherium fontanesii, suaveolens* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Valproic acid في الفئران الحوامل دراسة *in vivo in vitro*.

Yokota, S.; Mizuo, K.; Moriya, N.; Oshio, S.; Sugawara, I.; and Takeda, K. (2009). Effect of prenatal exposure to diesel exhaust on dopaminergic system in mice. *Neurosci. Lett.* 449: 38-41.15.  
 Zhang, W.X. (2003). Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview. *Journal of Nanoparticle Research*, 5, 323-332  
 الحاج، حميد أحمد (2010). التحضيرات المجهرية الضوئية (التقانات المجهرية). الأسس

### ARABIC SUMMERY

#### التأثيرات المسخية لثنائي أكسيد التيتانيوم النانوي في أجنة الفأر الأبيض *Musmuscles*

حسنا حامد جمعة و هناء خليل اسماعيل  
 قسم علوم الحياة-كلية العلوم- جامعة الموصل

تناولت الدراسة الحالية تأثير جسيمات التيتانيوم النانوية في إحداث التشوهات المظهرية والتغيرات النسجية المرضية في أدمغة أجنة الفأر الأبيض السويسري، تم معاملة (٤٠) فأر حامل بثنائي أكسيد التيتانيوم النانوي عن طريق الحقن داخل الخلب من اليوم السابع إلى اليوم الثامن عشر من الحمل وبالتركيز (٥٠، ١٠٠، ١٥٠، ٢٠٠) ملغم/كغم من وزن الجسم، في اليوم ١٨ من الحمل تم تخدير كل أنثى حامل و إزالة القرون الرحمية لغرض دراسة مظاهر التشوه الجنيني وحددت السمية الجنينية بدراسة التشوهات المظهرية، والفحص النسجي لدماع الأجنة وتمثلت التشوهات المظهرية بشق الحنك وشق الشفة، وتشوه ملامح الوجه، وجحوظ في العينين أو فقدها، وفقدان صيوان الأذن، وتشوه الجهاز الهيكلي باختفاء انحناءات جسم الفأر الجنين، وقصر الأطراف الأمامية والخلفية وتشوهها، وتشوه الذنب بتعرجه، وانحناءه إلى الخلف، وظهور الدماغ الخارجي، وليونة الجلد واحتقانه، وامتلاء الجسم بالسوائل. كما بين الفحص المجهرى لأفات نسيج دماغ الأجنة حصول تغييرات نسجية مرضية بوضوح الودمة، مع تفجي الخلايا العصبية، وتخر وارتشاح للخلايا الالتهابية.