

اثر تزریق نانوذرات نقره بر سطوح پلاسمایی آنزیم های کبدی موش صحرایی ماده

حسین حمزه‌ای^۱، حامد علیزاده^۲، محسن اجلی^۳، فرید دولتشاهی^۴

۱- آزمایشگاه تحقیقات فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، زنجان، ایران. Hamedalizadeh1986@yahoo.com

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، گروه میکروبیولوژی، زنجان، ایران.

۴- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه بیوتکنولوژی، دامغان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: اثرات سمی احتمالی نانوذرات نقره بر انسان از جمله نگرانی‌های بزرگی است که مصرف این نانوذرات را با چالش‌های زیادی مواجه کرده است. امروزه نانوذرات نقره بیشتر به دلیل داشتن اثر ضد میکروبی مورد توجه زیادی قرار گرفته ولی عوارض جانبی و احتمالی آن باعث تردید در مصرف آن شده است. از جمله تأثیرات عمده‌ای که نانوذرات نقره در بدن می‌تواند داشته باشد تأثیر آن بر کبد و متابولیسم آن بوده که کمتر مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی اثر تزریقی نانوذرات نقره بر میزان سطح پلاسمایی آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP می‌باشد که می‌تواند افق جدیدی را در رابطه با چالش‌های موجود باز نماید.

روش کار: در این تحقیق تجربی از ۲۱ سر موش صحرایی ماده نژاد اسپیرال استفاده گردید. موش‌ها به صورت تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شام، گروه دوم به عنوان گروه کنترل و گروه‌های سوم تا هفتم به عنوان گروه‌های آزمون به ترتیب با ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ ppm نانوذرات نقره به مدت ۱۰ روز به صورت تزریقی تیمار گردیدند. سپس موش‌ها با بیهوشی در اثر کشته شدند و از قلب حیوانات خونگیری به عمل آمد. ارزیابی میزان سطح پلاسمایی آنزیم‌های AST، ALT و ALP با استفاده از کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون با روش اسپکتروفتومتری غیر مستقیم انجام گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و گروه‌های شام وجود نداشته و تنها نانوذرات نقره در غلظت‌های بالا نانوذرات نقره باعث کاهش معنی‌دار میزان آنزیم‌های مورد نظر گردید.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت‌های بسیار بالا می‌تواند اثرات مخرب بر کبد داشته باشد و مصرف آن در غلظت‌های بالا بایستی با احتیاط صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، آنزیم‌های کبدی، موش رت.

مقدمه

شیمیایی و زیستی ماده غیر معمول بوده و کاربردهای جدید و منحصر به فردی از این موادر ممکن می‌سازد (۱۴). طی سال‌های اخیر نانو مواد مهندسی‌ساز در ایران و کشورهای مختلف جهان به طور فزاینده‌ای تولید و به مصرف رسیده‌اند. به طوری که پیش بینی می‌شود تا سال ۲۰۱۴ بیش از ۱۵ درصد محصولات موجود در بازار جهانی به نوعی از این فن‌آوری استفاده خواهند نمود (۷). از طرفی با توسعه روز افزون این فناوری، نگرانی‌ها در رابطه با خطرات احتمالی از جمله رهایش مواد

در علوم زیستی بسیاری از برنامه‌های کاربردی برای نانوذرات فلزی آغاز شده است که از آن جمله می‌توان به بیوسنسورها، برچسب‌های سلولی و مولکولی و درمان انواع بیماری‌ها به خصوص سرطان‌ها اشاره نمود. از این رو فن‌آوری نانو به عنوان کارآمدترین علم در زمینه تولید نانوذرات فلزی گستره وسیع خود را در کلیه علوم به خصوص زیست‌شناسی و پزشکی باز کرده است (۱۲). فناوری نانو شناخت، ساخت و کنترل مواد در ابعاد ۱-۱۰۰ نانومتر است که در این ابعاد خواص فیزیکی

های نهایی نانوذره دارد. اندازه ذره می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی نانو ماده را تغییر دهد و احتمال جذب و تعامل با بافت‌های بیولوژیکی را افزایش دهد (۲۲، ۱۱). در حقیقت اندازه ذره در مقایسه با دیگر ویژگی‌های نانو مواد بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است (۱۶). امروزه نتیجه بررسی‌ها نشان می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی نانو مواد با کاهش اندازه ذره افزایش می‌یابد (۱۶، ۱۱). قابل توجه‌ترین روش قرار گرفتن در معرض نانو ذرات، روش تنفسی است، در حالی که مصرف خوراکی و پوست و تزریق نیز از دیگر مسیرهای عمده ورود نانوذرات به بدن می‌باشد (۱۶). هر کدام از این روش‌های ورود ممکن است تاثیرات قابل توجهی به قسمت‌های مختلف بدن وارد نماید از جمله تاثیرات عمده‌ای که می‌تواند داشته باشد و کمتر توسط محققین مورد توجه قرار گرفته است تاثیر نانوذرات نقره بر کبد و متابولیسم آن می‌باشد (۱۰). اولین گام در تشخیص آسیب کبدی، انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم‌های کبدی مشخص را نشان می‌دهد. تحت شرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبد آسیب می‌بیند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند. حساس‌ترین و پر مصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد، آمینوترانسفرازها همانند آسپارات آمینوترانسفراز (AST یا SGOT) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT یا SGPT) و آلکالین فسفاتاز (ALP)، از مهم‌ترین آنزیم‌های موجود در سلول‌های کبد و جزء آنزیم‌های غیرعملکردی پلازما به حساب می‌آیند (۲). این آنزیم‌ها به طور معمول داخل سلول‌های کبدی قرار دارند. زمانی که کبد دچار آسیب می‌شود سلول‌های کبدی آنزیم‌ها را وارد جریان خون می‌کنند. این آنزیم‌ها در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی چندین مرتبه بیشتر از مایع خارج سلولی بوده و زمانی که به غشای سلول‌های کبدی صدمه‌ای وارد شده و یا در صورت مرگ سلول‌های

محتوی ذرات نانو به محیط زیست و ورود آن به بدن موجودات و انسان رو به افزایش است (۱۵). نان ذرات ممکن است از مسیرهای متفاوت وارد بدن شوند و این موضوع تعیین خطرات مربوط به هر ماده را با دشواری روبرو می‌کند. ورود این ذرات به بدن انسان از راه‌های مختلف نظیر خوراکی، استنشاق، تزریق و یا تماس در حال افزایش است (۱۸). در میان نانوذرات فلزی، نانوذرات نقره با قابلیت جذب بالا، خواص فیزیکی شیمیایی و به خصوص سمیت قوی آن در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها به خوبی شناخته شده است و نانوذرات نقره به عنوان یک ماده ضد ویروسی امید بخش مطالعات پزشکی در پیشرو را تحت تاثیر خود قرار داده است (۱۲). در گذشته نیز نقره به عنوان یک ماده قابل اعتماد از لحاظ باکتریواستاتیکی و حتی باکتریوسایدی مورد توجه و استفاده قرار می‌گرفته و استفاده از آن به صورت ترکیبات نقره مانند سولفادیازین نقره کارایی فراوانی داشته است. ولی این ترکیبات موجب افزایش اثرات جانبی برای نقره می‌شدند. از این رو به کمک فناوری نانو روش‌های تولید و خالص‌سازی نانوذرات بهبود یافت. یکی از مزیت‌های فوق‌العاده این سیستم افزایش میزان انتشار یون نقره می‌باشد که عامل اصلی افزایش سمیت آن برای میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. بعضی گزارشات در زمینه‌های پزشکی و بیولوژیکی ثابت کرده‌اند که بسیاری از وسایل پزشکی نقره‌دار، یون‌های نقره آزاد می‌کنند که وارد خون شده و در کبد، کلیه، ریه و مغز انباشته شده و باعث مسمومیت آن‌ها می‌شود (۱۹، ۳). بنابراین نانوذرات نقره ممکن است اثرات سمی داشته باشند که مکانیسم سمیت آن‌ها روشن نیست (۲۲) و نگرانی‌های زیادی را در ارتباط با استفاده در طبیعت برای سلامتی انسان‌ها به وجود آورده است (۱۴). در نانو مواد اندازه هر ذره بسیار با اهمیت است که نقش کلیدی در تعیین ویژگی

غذا به صورت یکسان نگهداری شدند. قفس‌های نگه‌داری در هفته ۳ بار شسته و کف آن تراشه‌های ظریف چوب ریخته می‌شد. شیشه‌های آب روزانه کنترل و تمیز می‌شد. تغذیه از پلیت‌های آماده صورت می‌گرفت. کیت‌های اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی از شرکت پارس آزمون ایران خریداری گردیدند. نانوذرات نقره (Nanocid L 2000) با غلظت ۴۰۰۰ ppm از شرکت نانوساید تهیه شد.

روش کار

موش‌ها به صورت تصادفی به ۷ گروه ۳ تایی تقسیم شدند و هر گروه در قفس جداگانه و در یک شرایط نگهداری شدند. گروه اول به عنوان گروه شم هیچ گونه تیماری را دریافت نکردند، گروه دوم به عنوان گروه کنترل با نرمال سالین تیمار شدند، گروه‌های سوم تا هفتم به عنوان گروه‌های آزمون به ترتیب با ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ ppm از نانوذرات نقره تیمار گردیدند. تیمار موش‌ها به مدت ۱۰ روز و هر روز یک‌بار در میان سیکل روشنایی (ساعت ۱۲ ظهر) موش‌ها انجام گردید. تیمار بدین ترتیب بود که پس از گرفتن و مهار موش‌ها ۱ میلی لیتر از تیمار مورد نظر به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق می‌شد. در روز یازدهم موش‌ها با بیهوشی در اتر کشته شدند و سپس با شکافتن قفسه سینه و با کمک سرنگ ۵ میلی‌لیتری از قلب حیوانات خونگیری به عمل آمد. در مرحله بعد، نمونه‌های خونی تهیه شده به لوله‌های محتوی ماده ضدانعقاد EDTA ریخته شد و پس از آن نمونه‌های خونی به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و پلاسماهای مورد نیاز تهیه و تا زمان سنجش‌های آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به صورت منجمد نگهداری شدند. ارزیابی میزان سطح پلاسمایی آنزیم‌های AST، ALT و ALP با استفاده از کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون با روش اسپکتروفتومتری غیر مستقیم انجام گردید.

تحلیل آماری

کبدی میزان آن در پلاسما افزایش می‌یابد و میزان این افزایش نشانه‌ای از درجه وسعت ضایعات کبدی است (۲). آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در تمام بافت‌های بدن به ویژه در بافت‌های عضلانی اسکلتی و قلبی، همانند بافت کبدی مقادیر زیادی از این آنزیم وجود دارد و در آسیب‌های قلبی، عضلانی و خصوصاً کبدی سطح این آنزیم در سرم به شدت افزایش می‌یابد (۱۷). میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در سرم با بیماری‌های کبدی و استخوانی افزایش می‌یابد و افزایش کمتر از ۳ برابر نرمال آلکالین فسفاتاز تقریباً در تمام بیماری‌های کبدی دیده می‌شود اما افزایش بیش از ۴ برابر میزان طبیعی آن عمدتاً در بیماران مبتلا به اختلالات کبدی دیده می‌شود (۱۷). در کل بالارفتن سطح آنزیم‌ها در خون نشانه آسیب کبدی است. آمینوترانسفرازها باعث کاتالیز واکنش‌های شیمیایی در سلول‌ها می‌شوند که در آن گروه آمین از یک مولکول دهنده به مولکول گیرنده منتقل می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهد در غلظت‌های برابر نانوذرات نقره و محلول نقره، نانو ذرات نقره سمیت بالاتری دارد (۲۰). این ذرات با وجود حلالیت پایین سمیت بیشتری را در مواجهه با سلول از خود نشان داده‌اند (۸). در این مطالعه با تزریق صفاقی رقت‌های مختلف نانوذرات نقره فاکتورهای آسیب کبدی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد مورد نیاز

در این تحقیق ۲۱ سر موش صحرایی ماده نژاد اسپیرال به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از موسسه تحقیقات سرم و واکسن‌سازی رازی کرج تهیه گردید. به حیوانات پس از انتقال به محل انجام آزمایش فرصت داده شد تا به محیط جدید سازگاری پیدا کنند. حیوانات در شرایط دمایی ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط نوری استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد و امکان دسترسی به آب و

بالاتر از ۱۰ppm نانوذرات نقره میزان آنزیم افزایش یافته است. این یافته در مورد آنزیم‌های ALT و ALP نیز صدق می‌کند با این تفاوت که در غلظت ۲۰ppm نانوذرات نقره در آنزیم ALT، اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل وجود ندارد (جدول ۱).

نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماري SPSS18 و با آزمون آماری LSD مورد آنالیز قرار گرفت. مقدار معنی دار $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

یافته‌های این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و گروه شم وجود ندارد. در مورد آنزیم AST مشاهده شد که در غلظت‌های

جدول ۱- میزان سطح پلاسمایی آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مختلف بر حسب IU/L

ALP	ALT	AST	آنزیم‌ها گروه‌ها
۱۰±۲	۷۱±۱	۱۱۶±۶/۴۲	گروه ۱ (شم)
۱۲/۳±۴	۷۱±۱	۱۱۳±۴/۳۵	گروه ۲ (کنترل)
۵/۶±۱/۵	۶۵/۳±۷/۵	۱۲۸/۶±۱۲/۲۲	گروه ۳ (نانوذرات نقره ۵ppm)
۲۵/۳±۶*	۴۹±۶*	۲۶۷/۳±۱۲/۶۱*	گروه ۴ (نانوذرات نقره ۱۰ppm)
۲۶/۳±۰/۵*	۷۱/۳±۱۱	۲۸۲/۶±۳۱*	گروه ۵ (نانوذرات نقره ۲۰ppm)
۲/۶±۰/۵*	۵۹/۳±۲/۵*	۲۲۵/۳±۷۴/۱۴*	گروه ۶ (نانوذرات نقره ۴۰ppm)
۷/۳±۱/۵	۵۰±۱۲*	۱۸۳±۴/۵۸*	گروه ۷ (نانوذرات نقره ۸۰ppm)

*نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل

سمیت آن‌ها روشن نیست (۱۸) و نگرانی‌های زیادی را در ارتباط با استفاده در طبیعت برای سلامتی انسان‌ها به وجود آورده است (۱۲). در نانومواد اندازه هر ذره بسیار با اهمیت است که نقش کلیدی در تعیین ویژگی‌های نهایی نانوذره دارد اندازه ذره می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی نانو ماده را تغییر دهد و احتمال جذب و تعامل با بافت‌های بیولوژیکی را افزایش دهد (۱۸، ۳). امروزه نتیجه بررسی‌ها نشان می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی نانومواد با کاهش اندازه ذره افزایش می‌یابد (۲۲، ۱۹). استفاده از نانوذرات به عنوان دارو یا حامل برای درمان ممکن است نتایج مطلوبی داشته باشد، اما نباید تاثیرات و ویژگی‌های نانوذرات در رویکردهای بالینی را از نظر دور نگه داشت و باید درک کاملی از عوارض ناشی از استفاده‌های بالینی نانوذرات را به دست آورد. از این رو مطالعه حاضر به منظور درک سمیت و توزیع

بحث و نتیجه‌گیری

اگرچه نانوذرات نقره به صورت گسترده در محصولات مصرفی به کار می‌رود، اطلاعات سم‌شناسی کافی در مورد آن‌ها در دسترس نمی‌باشد. بعضی گزارشات در زمینه‌های پزشکی و بیولوژیکی ثابت کرده‌اند که بسیاری از وسایل پزشکی نقره‌دار، یون‌های نقره آزاد می‌کنند که وارد خون شده و در کبد، کلیه، ریه و مغز انباشته شده و باعث سمی شدن آن‌ها و در نهایت منجر به مرگ می‌شود. حضور نانو ذرات در مغز نیز با نفوذ مواد از سد خونی مغزی بدون تولید مسمومیت آشکار به اثبات رسیده است اما باعث افزایش فعالیت گلوتامین سنتتاز گردیده که برای نوروترانسمیترها و فعالیت‌های دیگر مهم می‌باشد. اما هنوز مطالعات کامل و گزارش جامعی از این مطلب وجود ندارد (۱۵). بنابراین نانوذرات نقره ممکن است اثرات سمی داشته باشند اما با این وجود هنوز مکانیسم

باعث تغییر میزان آنزیم‌های کبدی نیز شوند که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۴). Briley و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که نانوذرات فلزی در غلظت‌های بالا می‌توانند آثار سوئی بر عملکرد کبد داشته باشند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۵). مطالعه Kim و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی موش‌های رت نشان داد که تجمع نانوذرات نقره در کلیه‌ها نیز دیده شده است، اما در ادرار نشده است که این امر به دلیل عدم دفع کلیوی و فیلتراسیون گلوبولینی نانوذرات نقره می‌باشد (۱۱). هم‌چنین Garnacho و همکاران در سال ۲۰۰۸ افزایش تجمع نانو ذرات حامل را در کلیه، کبد، قلب، طحال و ریه‌های موش نشان دادند و دریافتند که این نانوذرات می‌توانند در غلظت‌های بالا سبب اختلال در عملکرد این اندام‌ها شوند که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۹).

نانوذرات نقره در بافت‌های دیگر به ویژه در ریه‌ها در حالت اشباع با دوز ۵ میلی‌گرم مشاهده شده است. افزایش نیمه عمر از نانوذرات نقره در خون گزارش گردیده این در مطالعه‌ای که توسط کوبایاشی و همکاران در سال ۲۰۰۴ برای AUNPs-PEG انجام شد، افزایش نیمه عمر نانوذرات نقره در خون گزارش گردید (۱۳). کاکس و کولتر نیز گزارش کردند که غلظت پایین ذرات نقره در طحال ممکن است دلیلی برای کاهش پاسخ ایمنی باشد (۶). در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت‌های بسیار بالا می‌تواند اثرات مخرب بر کبد داشته باشد و مصرف آن در موجودات زنده در غلظت‌های بالا بایستی با احتیاط صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از کارکنان آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی زنجان به خصوص

بیولوژیکی نانوذرات نقره بر آنزیم‌های کبدی با بررسی تزریق داخل صفاقی آن به موش‌های ماده نژاد اسپیرال انجام شد. در این مطالعه مشاهده شد که سطح پلاسمایی آنزیم‌های کبدی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های شم و کنترل نداشته است و این امر نشان می‌دهد که تنش‌های محیطی مانند گرفتن موش‌ها و یا تزریق ماده بی‌اثر، هیچ‌گونه اثری بر نتایج آزمایش نداشته است. تحلیل آماری نتایج حاصل با استفاده از آزمون‌های آماری نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت‌های کمتر از ۱۰ppm اثری بر آنزیم‌های کبدی آزاد شده در پلاسمای خون نداشته است اما این نانوذرات در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ppm باعث تغییر معنی‌دار سطح پلاسمایی آنزیم‌های ALT، AST و ALP شده است به طوری که افزایش غالب آن‌ها جالب توجه است. در طول دوره تحقیق گروه‌های مورد آزمایش هیچ‌گونه رفتاری که نشان دهنده اثرات نورو توکسیکی باشد بروز ندادند. رضایی زارچی در سال ۱۳۹۰ اثر نانو ذرات اکسید تیتانیوم را روی میزان سلول‌های خونی و آنزیم‌های کبدی موجود در خون رت نژاد ویستار بررسی کردند. نتایج ایشان نشان داد که نانوذرات اکسید تیتانیوم باعث تغییر معنی‌دار میزان آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP می‌شوند که با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد (۱).

نانوذرات نقره در تمام ارگان‌ها از جمله کبد و طحال توزیع می‌شود که شامل فاگوسیت‌ها و سایر سلول‌ها نیز می‌باشد. مطالعات Raynal و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان داد که نانوذرات آهن در بخش‌های مختلف بدن از جمله کبد توزیع می‌شوند (۲۱). در تحقیق دیگری که توسط Bourrinet و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شد، ایمنی و خصوصیات فارماکوکینتیک ذرات آهن بررسی شد که این محققان نشان دادند ذرات فروموکستران ۱۰ می‌توانند

آقایان احسان نوری، محمد کاظمی و مجید احمدی

کمال تشکر و قدردانی را به عمل می آورند

منابع

- polymer nanocarriers. *J Pharmacol Exp Ther*, 107; 133298-133301.
10. Johnston, H. J., Hutchison, G., Christensen, F. M., Peters, S., Hankin, S., Stone, V. (2010). A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Crit Rev Toxicol*, 40(4); 328-346.
11. Kim, W. Y., Kim, J., Park, J. D., Ryu, H. Y., Yu, I. J. (2009). Histological study of gender differences in accumulation of silver nanoparticles in kidneys of fischer 344 rats. *J Toxicol Environ*, 72(21-22); 1279-1284.
12. Kiruba, D., Tharmaraj, T. G., Anitha S., Pitchumani, K. (2010). Toxicity and immunological activity of silver nanoparticles. *Applied Clay Science*, 48; 547-551.
13. Kobayashi, H., Jo, S. K., Kawamoto, S., Yasuda, H., Hu, X., Knopp, M. V., Brechbiel, M. W., Choyke, P. L., Star, R. A., (2004). Polyamine dendrimer based MRI contrast agents for functional kidney imaging to diagnose acute renal failure. *J Magn Reson Imaging*, 20(3); 512-518.
14. Kreyling, W. G., Semmler B. M., Chaudhry, Q. (2010). A complementary definition of nanomaterial. *Nanotoday*, 5(3); 165-1688.
15. Martinez, G. F., Olive, P. L., Banuelos, A., Orrantia, E., Nino, N., Sanchez, E. M, et al. (2010). Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine*, 6(8); 681-8.
16. Nel, A., Xia, T., Madler, L., Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nano level. *Rev Sci*, 311(5761); 622-627.
17. Nyblom, H., Berggren, U., Ballding, J., Olsson, R. (2004). High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. *Wikipedia*, 39(4); 336-339.
18. Oberdorster, G., Oberdorster, E., Oberdorster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*, 113(7); 823-39.
19. Parka, E., Bae, E., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., Lee, SH., et al. (2010). Repeated dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environ Toxicol Pharmacol*, 30(2); 162-168.
20. Powers, C. M., Badireddy, A. R., Ryde, I. T., Seidler, F. J., Slotkin, T. A. (2011). Silver nanoparticles compromise neurodevelopment in PC12 cells: Critical contributions of silver ion, particle size, coating, and composition. *Environ. Health Perspect*, 119; 37-44.
- ۱- رضایی زارچی، سعید. ۱۳۹۰. اثر نانو ذرات اکسید تیتانیوم روی میزان سلول‌های خونی و آنزیم‌های کبدی موجود در خون رت نژاد ویستار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۹ (۵); ۶۱۸-۶۲۶.
2. Billiard, M., Blood, D. C., Radostits, O. M. (1989). *Veterinary medicine*, 7th edition. London: Baillier and Tindal; 228-298.
3. Bockmann, J., Lahl, H., Eckert, T., Unterhalt, B. (2000). Blood titanium levels before and after oral administration titanium dioxide. *Die Pharmazie*, 55(2); 140-143.
4. Bourrinet, P., Bengele, H. H., Bonnemain, B., Causse, A., Idee, J. M., Jacobs, P.M. (2006). Preclinical safety and pharmacokinetic profile of ferumoxtran-10. *Invest Radiol*, 41; 313-324.
5. Briley, S. K.C., Johansson, L. O., Hustvedt, S. O., Haldorsen, A. G. (2006). Clearance of iron oxide particles in rat liver: effect of hydrated particle size and coating material on liver metabolism. *Invest Radiol* 41; 560-571.
6. Cox, J. C., Coulter, A. R. (1997). Adjutants a classification and review of their modes of action. *Vaccines*, 15; 248-256.
7. Dawson, N. G. Sweating the small stuff: environmental risk and nanotechnology. (2008). *BioScience*, 58(8); 690.
8. Gaiser, B. K., Fernandes, T. F., Jepson, M. A., Lead, J. R., Tyler, C. R., Baalousha, M. (2012). Interspecies comparisons on the uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles. *Environ Toxicol Chem*, 31; 144-154.
9. Garnacho, C., Dhami, R., Simone, E., Dziubla, T., Leferovich, J., Schuman, E. H., et al. (2008). Delivery of acid sphingomyelinase in normal and Niemann-Pick disease mice using ICAM-1- targeted

21. Raynal, I., Prigent, P., Peyramaure, S., Najid, A., Rebuzzi, C., Corot, C. (2004). Macrophage endocytosis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: mechanisms and comparison of ferumoxides and ferumoxtran-10. *Invest Radiol*, 39; 56-63.

22. Tang, J., Xi, T., Sheng, W. Y., Xue, G. C., Xue, Z. Z. (2008). Status of biological evaluation on silver nanoparticles. *Journal of Biomedical Engineering*, 25(4); 958-961.



·
·