چکیده

باتوجه به کاربرد وسیع نانوذرات اکسید روی در پزشکی، مواد آرایشی، صنعت مرغداری، صنایع نساجی، خودروسازی و غیره، بررسی پاتولوژی آن ها ضروری بنظر می رسد.

اندازه کوچک نانو ذرات سبب ایجاد خواص مهم و مفید در صنایع می گردد اما اندازه بسیار کوچک آنها و تجمع نانوذرات در بافت های بدن می تواند موجب به خطر انداختن سلامتی انسان نیز بشود. در این مطالعه اثر نانو ذرات اکسیدروی در غلظت های مختلف به بر بافت کبد رت های ماده نژاد ویستار در ٤ گروه ٧ تایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش ورود نانوذرات به صورت گاواژ در گروه های یک تا چهار به ترتیب با مقادیر ۵، ۵۰، ۱۰۰ و۵۰۰ میلی گرم برکیلو گرم وزن بدن به مدت ۱۵ روز بود. پس از طی مدت آزمایش غلظت آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز ، آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز شده اندازه گیری شد. نمونه های کبد نیز جداسازی شده و از لحاظ آسیب های پاتولوژی مورد به روش Paired Samples Statistics مورد آنالیز قرارگرفت .

بررسی غلظت سرمی آنزیم ها در گروه های تجربی نشان داد که با افزایش میزان اکسید روی ورودی، میزان آنها حدود دو برابر افزایش می یابد. در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ (غلظت پایین) آسیب های بافت کبد بیشتر به صورت آپوپتوز خفیف تا متوسط، و در گروه های ۳ و ٤ (غلظت بالا) آسیب بیشتر به صورت هپاتیت پورتال و آپوپتوز متوسط تا شدید مشاهده گردید. پرخونی بافت کبد در تمام گروه ها مشاهده گردید. در چند مورد هپاتیت نکروتیک کانونی و تغییر چربی کبد دیده شد.

نتایج بدست آمده نشان می دهد نانوذرات اکسید روی در مدل حیوانی سمی بوده و اثرات مخرب کبدی مشاهده شد. لذا پیشنهاد می شود که این نانوذره در صنایع با ملاحظات بهداشتی بکار رود و همچنین ارزیابی سلامت افراد شاغل در این صنایع ضروری می باشد.

کلمات کلیدی : نانو ذرات ، اکسید روی ، بافت کبد ، آنزیم های کبدی ، موش رت

عنوان | فهرست مطالب | صفحه

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- تاریخچه ٤

۱-۳- نانو مواد و دسته بندی آنها ۵

۱-٤- شاخه های اصلی نانوتکنولوژی ٦

۱-٤-۱- نانو روکش ها ۷

۱-٤-۲- نانو مواد ۹

۱-٤-۳- روش های ساخت نانو مواد ۱۰

۱-٤-٤-انواع نانو مواد ۱۳

۱-٤-٤-۱- نانوپودرها ۱۳

۱-٤-٤-۲- نانو لوله ها ۱۵

۱-٤-٤-۳- خواص نانو لوله ها ۱۸

۱-٤-٤-٤- نانو کامپوزیت ها ۱۸

۱-٤-٤-۵- توپ های کربنی چندوجهی ۲۰

۱-٤-۵- مهندسی مولکولی ۲۱

۱-٤-٦- نانو الکتریک ۲۲

۱-٤-٦-۱- نانوسیم ها..... ۲۳

۱-۵- کاربردهای نانوذرات در بیولوژی و پزشکی ۲٤

۱-٦ اهمیت سم شناسی نانومواد ۲٤

۱-٦-۱ تعریف سم شناسی نانومواد ۲۵

۱-٦-۲ – چالش های سم شناسی نانومواد ۲۵

۱-۷ – خطرات نانو مواد ۲٦

۱-۸-تماس باذرات نانو ذرات..... ۲۹

۱-۸-۱- راههای مختلف در معرض قرار گرفتن با نانو ذرات..... ۳۰

۱-۹- ساختمان کبد ۳۱

۱-۹-۱- اعمال متابولیک کبد ۳۱

۱-۹-۲- نقش کبد در متابولیسم مواد مختلف در بدن..... ۳۲

۱-۹-۳- نقش کبد درمتابولیسم مواد شیمیایی بیگانه ۳۳

۱-۹-٤- ترانس آمینازها به عنوان شاخص آسیب های کبدی ۳٤

۱-۹-۵- SGOT (AST) ۳۵

۱-۹-٦- SGPT (ALT) ۳۵

۱-۹-۷-ALP ۳٦
۱-۹-۸- اختلالات آنزیمی ۳۷
۱-۱۰- روی ۳۷
۱-۱۰-۱ اکسید روی ۳۸
۱-۱۰-۲ تولید اکسید روی ۳۹
۱-۱۰-۳ کاربردهای صنعتی اکسید روی ٤۰
۱-۱۰-٤ کاربردهای پزشکی اکسید روی ٤۱

فصل دوم :مواد و روش

۲-۱- دستگاهها ٤۳
۲-۲- وسایل ٤۳
۲-۳- مواد مورد نیاز ٤۳
۲-٤- حیوانات آزمایشگاهی رژیم غذایی و شرایط لازم جهت نگداری ٤٤
۲-۵- مواد شیمیایی مورد آزمایش ٤٤
۲-٦- نحوه آماده سازی محلولهای نانوذرات اکسیدروی ٤۵
۲-۷- اندازه گیری دما و رطوبت محیط ٤٦
۲-۸- خونگیری از رت و تهیه سرم ٤٦

فصل سوم

آنالیز آماری..... ٤٨

۳-۱- جداول frequency و one sample T-test تحلیل آماری..... ۵۲

۳-۲- توزیع متغیرهای آنزیمی در چهارگروه مورد مطالعه ۵۳

۳-۳-آنالیز آماری آپوپتوز ٦۰

۳-٤-آنالیز آماری پرخونی..... ٦۵

۳-۵-آنالیز آماری هپاتیت پورتال..... ۷۰

۳-٦-آنالیز آماری هیستوپاتولوژی..... ۷٤

فهرست منابع ۸۷

فهرست اشکال

۱-۱ مقیاسهای طولی گوناگون ۳

۱-۲ روکش‌های محافظ در مصارف خودروسازی ۸

۱-۳ تصویر شماتیک نانو پودر ۱٤

۱-٤ تصویر میکروسکوپی نانو پودر ۱٤

۱-۵ تصویر شماتیک نانولوله کربنی ۱٦

۱-٦ تصویر شماتیک نانولوله ها در سه نوع ساختار صندلی، زیگزاگ و نامتقارن ۱۷

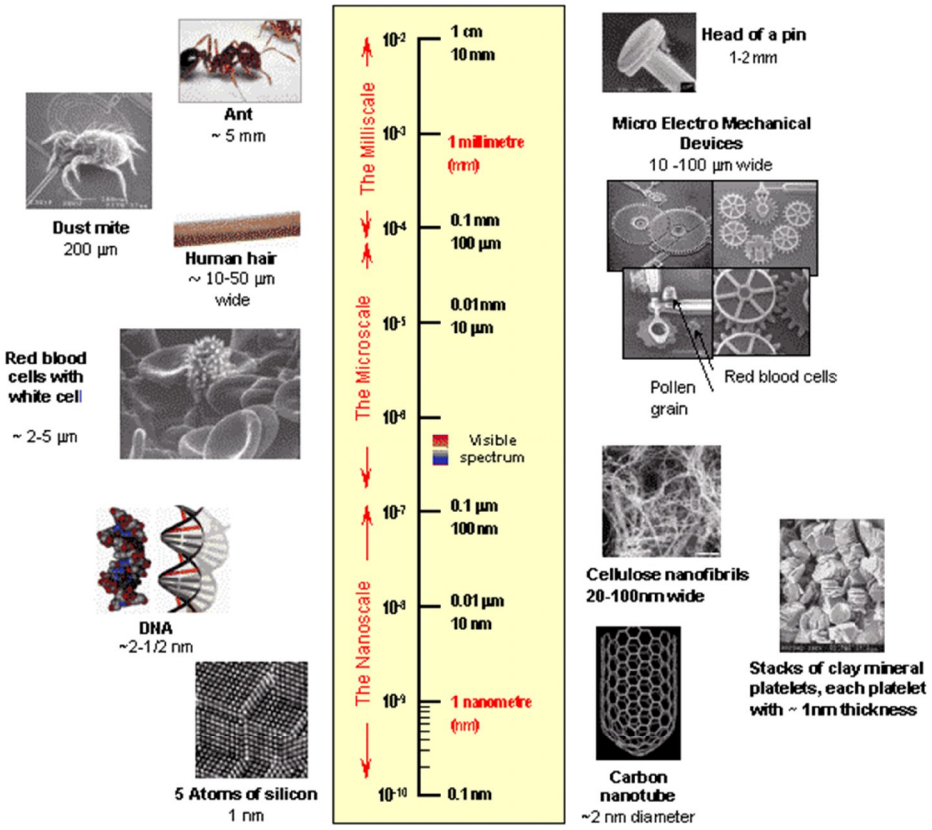
۱-۷ راه های مختلف ورود نانو مواد به بدن ۲۸

فصل اول

۱–۱ مقدمه

امروزه علم و فناوری نانو در تمامی دنیا توجه ویژه ای را به خود جلب نموده است. بطوری که پژوهش های علمی فراوانی در این خصوص انجام شده و مراکز تحقیق و توسعه در اروپا و امریکای شمالی یکی از اولویت های اصلی خود را این موضوع قرار داده اند (۱۲) اساساً علم نانو عبارت است از "مطالعه پدیده ها و دستکاری مواد در مقیاس اتمی، مولکولی، ماکرومولکولی به طوری که خواص حاصل تغییری آشکار داشته باشد". نانو فناوری نیز "طراحی، شناسائی، تولید و بکارگیری ساختارها، و سامانه ها از طریق کنترل شکل و اندازه در مقیاس نانومتری" تعریف شده است. (۱۳)و(۱٤) لغت نانو از کلمه یونانی به معنای کوتوله اقتباس شده است (۱۲) که معادل لاتین این کلمه «دوارف» می باشد این پیشوند در علم مقیاس ها به معنی یک میلیاردم است بنابراین یک نانومتر یک میلیاردم است. این مقیاس را با ذکر مثال هایی عینی بهتر می‌توان حدس زد. یک تار موی انسان به طور متوسط قطری حدود ۵۰۰۰۰ نانومتر دارد. یک سلول باکتری، قطری معادل چند صد نانومتر دارد. کوچکترین اشیاء قابل دید توسط چشم غیر مسلح اندازه ای در حدود ۱۰۰۰۰ نانومتر دارند. فقط حدود ۱۰ اتم هیدروژن در یک خط، یک نانومتر را می سازند. (۱)

برای درک بیشتر این مقیاس در شکل (۱) مقایسه ای بین مقیاس های طولی گوناگون نشان داده شده است



شکل ۱-۱ مقیاسهای طولی گوناگون(٦)

در حال حاضر نانو تکنولوژی به عنوان یکی از فناوری های برتر در زمینه های مختلف علوم شامل شیمی، فیزیک و زیست شناسی و غیره و نیز علوم کاربردی از جمله مهندسی برق و الکترونیک، مهندسی مکانیک، مهندسی مواد، مهندسی پزشکی، محیط زیست و .... جایگاه ویژه ای را به خود اختصاص داده است. در واقع این فناوری مجموعه ای از علوم است که در جهت درک بهتر پدیده ها در مقیاس نانو مورد استفاده قرار می گیرد. فناوری نانو که به سرعت در حال پیشرفت است به ما اجازه می دهد ساخت ابزارها، مواد و ساختارها و دستکاری آن ها در سطوح مولکولی و اتمی را به انجام رسانده و بتوانیم در درک بهتری از نانو داشته باشیم ذرات نانومتری به عنوان مواد پیش سازنده برای تولید ساختارها و ادوات پیچیده به شمار می روند و استفاده از آن ها سبب بهبود و تغییر پدیده های فیزیکی- شیمیائی یا فرایندهای بیولوژیکی می گردد و باعث بروز خواص جدیدی می شود که

این خواص نیروی محرکه ای را بوجود می آورند که سبب پیگیری و انگیزه بیشتر برای ادامه تحقیقات می گردد. (۲) در صورت به کارگیری سطوح و وسایل نانو می توان فرایندهای کنونی و طاقت فرسای زنجیره بندی ژنوم[1] و رمز گشائی ژن ها را به شدت متحول کرد و بر کارائی آن ها افزود (۵)

نانو تکنولوژی علاوه بر تسهیل مصرف بهینه دارو و فرمول ها راه های جدیدی برای رساندن دارو به بدن ابداع می کند که این به نوبه خود پتانسیل درمانی داروها را به شدت گسترش می دهد (٦) افزایش قابلیت های نانو تکنولوژی به سود مطالعات پایه ای سلول شناسی و پاتولوژی نیز خواهد شد. پس از توسعه ابزارهای تحلیلگر که قادر به کاوش دنیای نانومتری می باشند دیگر کشف ویژگی های شیمیائی و مکانیکی سلول (از جمله تقسیم سلولی و حرکت سلولی) و سنجش ویژگی های ملکول های منفرد، رویائی دست نیافتنی نخواهد بود(۱۵)در واقع فناوری نانو در توسعه تکنولوژی های جدید تشخیص و درمان زود هنگام بیماری نقش بسزائی ایفا می کند. رویکردهای کنونی مراقبت های بهداشتی در اغلب موارد به ظهور علائم بیماری و تشخیص پزشکان کار کشته بستگی دارد(١٦) به این ترتیب می توان ظهور همه علائم بالینی بیماری ها را متوقف کرده یا به تأخیر انداخت. لذا تکنولوژی نانو در توسعه روش های بدیع تشخیص علائم اولیه بیماری های بیولوژیکی و رخدادهای کالبدی نقش حیاتی ایفا می کند(۱۷)

۱-۲ تاریخچه

شاید بتوان گفت اولین نانو تکنولوژیست ها شیشه گران قرون وسطا بودند. در آن زمان برای ساخت شیشه های کلیساها از ذرات نانومتری طلا استفاده می شده است که بدین وسیله شیشه های رنگی بسیار زیبائی بدست می آمد (۱) واژه نانو تکنولوژی اولین بار توسط ناریو تانیگوچی[2] در سال ۱۹٤۷

---

[1] - Genome

[2]) Nario Taniguchi

برای توصیف مقداری کمتر از یک میکرون مورد استفاده قرار گرفت اما این واقعاً شروع کار نبود سه رویداد و کشف شروع نانو تکنولوژی بودند که همگی توسط برندگان نوبل انجام شد.

- در سال ۱۹۵۹ فیزیک دان بزرگ دانشگاه کالیفرنیا یعنی ریچارد فاینمن[۱] سخنرانی مشهور خودش را یعنی «جای زیادی در پائین وجود دارد» را درباره مهندسی اتمی انجام داد.
- در سال ۱۹۸۱ گردبینینگ[۲] و هاینریش روهرر[۵] از مرکز تحقیقاتی IBM نوانستند یک میکروسکوپ اسکن تونلی طراحی کنند که اولین بار محققان را قادر به دیدن و اداره اتم ها می کرد
- در سال ۱۹۸۵ روبرت اف. کرل جویتور،[۳] هارول دبلیوکروتو[٤] و ریچارد ئی‌اسمالی[٥] توانستند باکی بال ها را کشف کنند که ملکولهایی به شکل توپ فوتبال از کربن وبا پهنائی کمتر از ۰.۷ نانومتر بودند. (۳)

۱–۳ نانو مواد و دسته بندی آن ها

نانو فناوری، توانمندی تولید و ساخت مواد، ابزار و سیستم های جدید با در دست گرفتن کنترل در مقیاس نانومتری یا همان سطوح اتمی و ملکولی و استفاده از خواصی است که در این سطوح ظاهر می شوند. یک نانومتر برابر با یک میلیاردم متر (۱۰ – ۹ متر) است این اندازه ۱۸۰۰۰ بار کوچکتر از قطر یک تار موی انسان است. فناوری نانو به سه سطح قابل تقسیم است: مواد، ابزارها، سیستم ها. موادی را که در سطح نانو در این فناوری به کار می رود نانو مواد می گویند. ماده نانو ساختار، به هر

---

[1]) Richard Feynman

[2]) Gerd Binnig

[3]) Robert F. curl Jr

[4]) Harold W. Kroto

[5]) Richard E. Smalley

ماده ای که حداقل یکی از ابعاد آن در مقیاس نانومتری (زیر ۱۰۰ نانومتر) باشد، اطلاق می گردد. این تعریف به وضوح انواع بسیار زیادی از ساختارها، اعم از ساخته دست بشر یا طبیعت را شامل می شود. منظور از یک ماده نانو ساختار، جامدی است که در سراسر بدنه آن انتظام اتمی – کریستال های تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی در مقیاس چند نانومتری گسترده شده باشند در حقیقت این مواد متشکل از کریستال ها نانومتری هستند که هر کدام از آنها ممکن است از لحاظ ساختار اتمی، جهات کریستالوگرافی تا ترکیب شیمیایی با یکدیگر متفاوت می باشند. همه مواد از جمله فلزات، نیمه هادی ها، شیشه ها، سرامیک ها، پلیمرها در ابعاد نانو می توانند وجود داشته باشند. همچنین محدوده فناوری نانو می تواند به صورت ذرات بی شکل (آمورف)، کریستالی، غیرآلی یا به صورت منفرد، مجتمع، پودر، کلوئیدی، سوسپانسیونی، یا امولسیونی باشد (٤) .

۱–۴– شاخه های اصلی نانوتکنولوژی

در رابطه با شاخه‌ها و زیر شاخه‌های بنیادین نانوتکنولوژی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- **نانو روکش‌ها**[۱]
- **نانو مواد**[۲]
  - نانو پودرها[۳]
  - نانو لوله‌ها[٤]
  - نانو کامپوزیت[٥]

---

[۱] Nano Covers

[۲] Nano Materials

[۳] Nano Powders

[٤] Nano Tubes

[٥] Nano Composites

- باکیبال[1]

- **مهندس مولکولی**
  - موتورهای مولکولی(نانو ماشین‌ها)
- **نانو الکترونیک**
  - نانو سیم ها[2]
    - نانو سیم‌ها DNA
  - نانو حسگرها[3]
  - نانو ترانزیستورها

۱-۴-۱ نانو روکش‌ها

لایه‌های نازکی از نانو ذرات را می‌توان مستقیماً برای مواد مورد استفاده قرار داد تا تاثیرات ویژه‌ای را ایجاد کنند. این لایه‌ها می‌توانند به طور بسیار ساده با استفاده از یک محلول غوطه‌ورساز یا شستشودهنده یا یک دستگاه آب خشک کن یا غلتک مورد استفاده قرار گیرند. نانو ذرات می‌توانند یا به صورت آرایه‌های فشرده تشکیل شوند که در آن ذرات در تماس مستقیم با یکدیگر می‌باشند و یا به صورت آرایه‌هایی با فواصل کوچک در میان هر ذره پدید آیند. لایه‌ها نوعا ضخامت یکی یا دو ذره را دارند. این لایه‌ها می‌توانند بعضی از خواص فیلم‌های نازک رسوب‌گذاری شده در خلاء را بوجود آورند نظیر آن دسته از لایه‌هایی که برای کنترل میزان اشعه و تابش خورشیدی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۸).

---

[1] Bucky Ball

[2] Nano Wires

[3] Nano Sensors

نانو روکش‌ها حفاظتی برای افزایش مقاومت در مقابل خوردگی، افزایش سختی سطوح و حفاظت در مقابل عوامل مخرب محیطی می‌باشند. علاوه بر آن، فناوری نانو از خش برداشتن، تکه‌تکه شدن و خورده شدن روکش‌ها جلوگیری می‌کند. از موارد استفاده نانو روکش‌ها می‌توان به روکش‌های ضد انعکاس در مصارف خودروسازی و سازه‌ای، روکش‌های محافظ(ماوراء بنفش، ضد خش، غیر قابل رنگ‌آمیزی و قابل شستشوی آسان) و روکش‌های تزئینی اشاره کرد.

۱-۲ :روکش های محافظ در مصارف خودروسازی

از نانو روکش‌ها در صنایع غذایی نیز استفاده می‌شود. یکی از دغدغه‌های شرکت‌های صنایع غذایی جهان، نگهداری غذا و مصون نگهداشتن آن از آسیب آنزیم‌ها است. اگر بتوان به روشی آنزیم‌ها را از محیط غذایی دور کرد فرآیند فساد مواد غذایی به تاخیر می‌افتد. با استفاده از نانوتکنولوژی می‌توان با روکش کردن آنزیم‌ها، آن‌ها را از محل فعالیت دور کرده و مانع از اثر آن‌ها شد. یکی از این روش‌ها، روکش کردن آنزیم توسط یک ساختار پلیمری است. در این روش یک شبکه نانو کامپوزیتی را با فرآیند پلیمریزاسیون در اطراف هر مولکول آنزیم ایجاد می‌کنند، تا از تخریب مواد غذایی جلوگیری شود. روکش کردن آنزیم در صنایع غذایی، یکی از فرآیندهای مهم برای حفظ، کنترل و بهبود نگهداری مواد غذایی است.

از دیگر کاربردهای نانو روکش‌ها می‌توان به استفاده نانو روکش‌های آنتی‌باکتریال در لوله‌های استخراج و انتقال نفت برای از بین بردن بیوفیلم‌ها اشاره کرد.(۱۹)

۱-۴-۲ نانو مواد

همه نانو مواد از ریز دانه‌هایی تشکیل شده‌اند که به نوبه خود از اتم‌های زیادی ساخته شده‌اند. این دانه‌ها را بسته به اندازه‌شان، با استفاده از چشم غیر مسلح، می‌توان دید و یا نمی‌توان دید. مواد رایج، حاوی دانه‌هایی هستند که اندازه آن‌ها در هر عمقی و در هر جائی از نمونه ماده، از چند صد میکرون تا چند سانتی‌متر تغییر می‌کند. نانو مواد را گاهی اوقات، وقتی که متراکم و فشرده نشده باشند، نانو پودر می‌نامند که اندازه دانه‌های آن‌ها حداقل در یک بعد و یا معمولاً در سه بعد، در محدوده ۱۰۰-۱ نانومتر می‌باشد.

در نوعی از نانو مواد، اکثریت اتم‌ها در سطح ذرات قرار گرفته‌اند، در صورتی که، در مواد متداول همان ذرات در توده و عمق نفوذ قرار گرفته‌اند، در نتیجه خواص ذاتی نانو مواد از مواد رایج کاملاً متفاوت می‌باشد. چراکه اکثریت اتم‌ها در مواد رایج، در محیط‌های مختلفی قرار گرفته‌اند. نانو مواد تقریبا بالاترین سطح مقطع افزایش یافته را نسبت به مواد فعلی از خودشان نشان می‌دهند (۲۰).

مواد با سطح مقطع بالا، خواص شیمیایی، مکانیکی، نوری و مغناطیسی بهتری را از خود نشان می‌دهند و به همین دلیل کاربردهای ساختاری و غیر ساختاری فراوانی دارند. به عنوان مثال در کاربردهای هوا فضا و اتومبیل، مواد ساخته شده از فلزات و اکسیدهای سیلیکون و ژرمانیم رفتار سوپر پلاستیک از خود نشان می‌دهند و افزایش طول٪۱۰۰ تا ٪۱۰۰۰ را قبل از شکست، پدید می‌آورند. در هر صورت، نانو مواد به لحاظ شیمیایی، بسیار فعال می‌باشند زیرا تعداد ملکول‌ها یا اتم‌های موجود در سطح، در مقایسه با تعداد اتم‌ها یا ملکول‌های موجود در توده نمونه بسیار زیاد است. در بعضی از مواقع برای حفظ خواص مطلوب نانو مواد، جهت پیشگیری از واکنش بیشتر، یک پایدارکننده را بایستی به آن‌ها اضافه کرد که آن‌ها را قادر می‌سازد تا در برابر سایش، فرسودگی و خوردگی مقاوم باشند اما این مقاومت از طریق بعضی از انواع مکانیزم‌های حفاظت عملی می‌گردد (۲۱).

۱-۴-۳ روش‌های ساخت نانو مواد

شش روش شناخته شده گسترده برای تولید نانو مواد وجود دارند که عبارتند از: قوس پلاسما، رسوب‌گذاری شیمیایی فاز بخار، رسوب‌گذاری الکتریکی، سنتر از طریق سل- ژل، آسیاب کردن و سایش با حرکت گلوله‌ها و استفاده از نانو ذرات طبیعی. در دو روش اول، ملکول‌ها و اتم‌ها از طریق فرآیند تبخیر از هم جداسازی می‌شوند و سپس این امکان فراهم می‌شود که تحت کنترل دقیق و در یک آرایش منظم نانو ذرات را پدید آورند و بر روی یک سطح ته‌نشین گردند. در روش سوم، یعنی رسوب‌گذاری الکتریکی، فرآیند مشابهی انجام می‌گردد چراکه نمونه‌های منفرد، از محلول جدا شده و بر روی سطح می‌نشینند. در فرآیند چهارم یعنی سنتز از طریق سل- ژل، قبل از رسوب‌گذاری بر روی سطح، منظم شدن قبلی انجام می‌شود. در سایش از طریق آسیاب‌های توپی و گلوله‌ای، معلوم شده است که ساختارهای درشت بلوری به ساختارهای نانو بلوری شکسته و خرد می‌گردند ولی تمامیت و ماهیت اصلی و اولیه ماده تغییری نمی‌کند. در هر صورت، نانو ذرات را می‌توان به مواد جدید، دوباره تغییر شکل داد که مستلزم شکستن پیوندهای بلوری اولیه است (۲۲).

الف - قوس پلاسما

پلاسما، گازی است که به یون تبدیل شده است. با اعمال یک اختلاف پتانسیل الکتریکی میان دو الکترود در محیطی که گاز در آن جریان دارد، گازها الکترون‌هایشان را از دست داده و یونیزه می‌شوند و در نتیجه امکان هدایت الکتریکی گاز از این طریق فراهم می‌گردد. در خلاء یا در محیطی که یک گاز بی‌اثر در آن جریان دارد، الکترودها را می‌توان طوری ساخت که فرار باشند. در اثر گرمای تولید شده، الکترودها و یا حتی سایر مواد را می‌توان تبخیر و یونیزه کرد. قوس پلاسما شامل دو الکترود می‌باشد. یک قوس الکتریکی از یک الکترود به سوی الکترود دیگر عبور می‌کند. نخستین الکترود(آند)، همانطور که الکترون‌ها در اثر اختلاف پتانسیل اعمال شده، از آن کنده شده و جدا می‌شوند تبخیر می‌گردد. برای ساختن نانوتیوب‌های کربنی، از الکترودهای کربن استفاده می‌نمایند،

اتم‌های کربن الکترون‌ها را می‌گیرند و بر روی سطح رسوب‌گذاری نموده و ته‌نشین می‌شوند و بدین ترتیب نانوتیوب‌ها را پدید می‌آورند(۲۲).

ب - رسوب‌گذاری شیمیایی فاز بخار

این روش مستلزم رسوب‌گذاری ماده شامل نانو ذرات از فاز گازی است. ماده آنقدر گرم می‌شود تا به صورت گاز درآید و سپس به صورت یک ماده جامد بر روی یک سطح- معمولا تحت خلاء- رسوب‌گذاری می‌گردد. ممکن است رسوب‌گذاری مستقیم یا رسوب‌گذاری از طریق واکنش شیمیایی، محصول تازه‌ای را به وجود آورد که با ماده تبخیر شده تفاوت زیادی داشته باشد. این فرآیند به آسانی نانو پودرهایی از اکسیدها و کاربیدهای فلزات را پدید می‌آورد به این شرط که بخارات کربن یا اکسیژن همراه با فلز در محیط وجود داشته باشند. تولید پودرهای فلزی خالص، مبارزه علمی جدی‌تری را می‌طلبد اما با استفاده از امواج ریز به آن دست یافته‌اند. در این روش، امواج ریز که با فرکانس‌های برانگیختگی فلزات هماهنگ گردیده است، به منظور ذوب و تبخیر واکنش‌دهنده‌ها به کار رفته است تا پلاسمائی را در درجه حرارت‌های بالاتر از ۱۵۰۰ درجه سانتیگراد تولید نماید. سپس پلاسما وارد یک ستون واکنش می‌شود که با آب خنک می‌شود و تشکیل ذرات نانو سایز را تسهیل می‌کند(۲۳).

ج - به دام افتادن از طریق سل- ژل‌ها

سل- ژل عبارتست از یک فرآیند خودآرائی، خود به هم پیوستگی یا خود انباشتگی که در طی آن نانو مواد تشکیل می‌شوند. ویژگی یک محلول، شفاف بودن آن است، یعنی شما می‌توانید عبور نور را از میان آن ببینید. محلول‌ها شفاف هستند به این دلیل که ملکول‌های با ابعاد نانومتر در توده محلول پراکنده شده‌اند و در پیرامون محلول به طور تصادفی در حال حرکت می‌باشند. در کلوئیدها، ملکول‌ها بزرگتر بوده و قطرشان از ۲۰ میکرومتر تا ۱۰۰ میکرومتر تغییر می‌کند.

در پیشرفت بسیار مفید دیگری، ملکول‌های آلی- معدنی و زیست – آلی در شیشه سیلیکائی با استفاده از روش‌های سل – ژل فرو رفته و به دام افتاده‌اند. اغلب ملکول‌های آلی و زیست– آلی را نمی‌توان در درون شیشه فرو برد یا وارد کرد، زیرا شیشه در درجه حرارت‌های بالاتر در حدود ۱۰۰۰ درجه سانتیگراد تهیه می‌شود. در هر صورت، به علت درجه حرارت‌های نسبتا پایین لازم برای تهیه زمینه‌های سل – ژل(در بعضی موارد درجه حرارت اتاق)، این ملکول‌ها را هم اکنون می‌توان در شیشه سل- ژل وارد کرد و به دام انداخت(۲٤).

د - رسوب‌گذاری الکتریکی

از مدت‌ها پیش، رسوب‌گذاری الکتریکی برای ساخت مواد پوشش داده شده با لایه نازکی از فلزات به طریقه الکتریکی، به کار رفته است. از طریق کنترل دقیق تعدد الکترون‌های منتقل شده، وزن ماده منتقل شده را می‌توان طبق قانون فارادی در الکترولیز، تعیین کرد.

در نانوتکنولوژی، هدف عبارتست از پوشش دادن یک یا چند لایه فوق‌العاده نازک بر روی یک سطح که این کار از طریق رسوب‌گذاری الکتریکی و در مسیری بسیار کنترل شده، انجام می‌گردد.

با این روش، لایه‌های فوق‌العاده نازک نانوساختاری از پلاتین را می‌توان از طریق رسوب‌گذاری الکتریکی از مخلوط‌های بلور مایع، تولید نمود. لایه‌های نازک بدست آمده به لحاظ مکانیکی محکم، به طور قابل ملاحظه‌ای مسطح، یکنواخت و در ظاهر صیقلی، براق و درخشان می‌باشند. آنها، هم‌چنین از سطح مقطع قابل مقایسه با سطح مقطع سیاه پلاتین برخوردار می‌باشند که از حوضچه‌های آب فلزکاری الکتریکی متداول بر روی سطوح نشسته و رسوب‌گذاری شده‌اند و خواص الکتریکی مطلوب و کاملا مختلفی را نسبت به سطح رسوب‌گذاری شده پلاتین رایج از خود نشان می‌دهند(۲۵).

ه - سایش از طریق آسیاب‌های گلوله‌ای، ساچمه‌ای یا فلزی

یک صد سال است که معلوم شده است، ساختار پودرهای متشکل از ذرات خیلی ریز و نرم با رونوشت‌ها یا برگردان‌های درشت بلورین‌شان، کاملا متفاوت است، اما اخیراً به علت این اختلاف پی برده‌ایم. این نانو مواد جدید از طریق یک روش ساده به نام سایش گلوله‌ای، که بهتر است آن را خرد شدن مکانیکی بنامیم، ساخته شده‌اند. در این فرآیند گلوله‌های کوچک در درون یک استوانه غربال، می‌چرخند و با نیروی ثقل بر روی ماده جامد وارد شده سقوط می‌کنند. سایش از طریق آسیاب شدن گلوله‌ای، ساختار ماده جامد را تا حد نانوکریستالیت‌ها می‌شکند و بسیار ریز می‌کند. مهم‌ترین مزیت این روش، عبارتست از این‌که آن را می‌توان به آسانی در مقیاس صنعتی، اجرا و تجاری نمود. از روش سایش گلوله‌ای می‌توان برای ساخت و تولید دامنه‌ای از انواع جدید کربن که شامل نانوتیوب‌های کربنی می‌باشند استفاده کرد(۲٦).

و - استفاده از نانو ذرات طبیعی

همان‌گونه که قبلا اشاره شد، علاقه‌مندی قابل توجهی برای تولید حفرات در مواد وجود داشته است. موادی متخلخل با ملکول‌هایی به اندازه کوچک در حدود ۱۰ نانومتر یا در همین حدود را می‌توان به درون این حفرات وارد کرد، به طوری که با سطح وارد واکنش گردند. بمباران مواد با یون‌های سنگین پر انرژی که به وسیله یک سیکلوترون شتاب داده شده است، روشی گران و پر هزینه برای انجام چنین کارهایی است. بعضی از موفقیت‌آمیزترین مواد که زئولیت‌ها نامیده می‌شوند از طریق روش‌های شیمیایی متداول سنتز شده‌اند و در جاهایی که تخلخل‌هایی در ابعاد نانو وجود دارند، کار خود را انجام می‌دهند(۲۷).

۱- ۴-۴ انواع نانو مواد

۱-٤-٤-۱ نانو پودرها

نانو پودرها به مجموعه‌ای از مواد جامد و یا ته‌نشین شدن ذرات جامد معلق در مایع گفته می‌شود که اندازه ذرات آن کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد (شکل ۱- ۳ و۱-٤). پودرها در سه حالت نانو پودر

محسوب می‌شوند که در ذیل به آنها اشاره می‌شود.

الف : ساختار ذرات تشکیل‌دهنده پودر در حد نانومتر باشد.

اگر ساختار ذرات تشکیل‌دهنده به یکی از اشکال هندسی فرض شود باید میانگین ابعاد آن کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر باشد. اگر ذرات به صورت چند ضلعی باشند میانگین اضلاع باید کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد و باید در این رابطه صدق نماید. $1\ nm < a+b+c < 100\ nm$

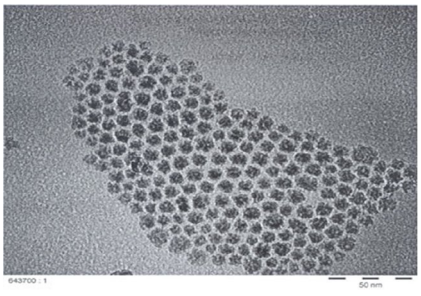
اگر ذرات به صورت کروی باشند، قطر ذرات باید کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد (۲۰) .

ب :دانه‌های تشکیل‌دهنده پودر در ابعاد نانومتری باشد.

در حالتی که سایز ذرات به صورت کلی بیشتر از صد نانومتر باشد ولی دانه‌های تشکیل‌دهنده آن کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر باشد باز هم جزو نانو پودرها خواهد بود. مانند مواد بلوری جامد که از ذرات ریز تشکیل شده‌اند.

ج – ذرات نانو پودر و ذرات پودر معمولی ترکیب شوند.

به این حالت نانو پودر کامپوزیتی می‌گویند، که از ترکیب دو یا چند جزء می‌باشد. در نانو پودر کامپوزیتی، ذرات در سایز نانومتری در زمینه‌ای از ذرات بزرگتر و غیر نانومتری قرار دارند.(۲۷)



۱-۳: تصویر شماتیک نانو پودر

۱-٤:تصویر میکروسکوپی نانوپودر

۱-٤-٤-۲ نانو لوله ها

یک نانوتیوب ممکن است شامل فقط یک لوله از گرافیت، نانوتیوب تک دیواره و یا از تعدادی از لوله‌های متحدالمرکز تشکیل شده باشد که نانوتیوب چند دیواره نامیده می‌شود. وقتی که به وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری، نانوتیوب چند دیواره را نگاه کنیم، این لوله‌ها به صورت تعدادی صفحه به نظر می‌رسند. در حالی که در نانوتیوب‌های تک دیواره دو صفحه مشاهده می‌شوند که لبه‌ها را نشان می‌دهند. در نانوتیوب‌های چند دیواره، بیشتر از دو صفحه مشاهده می‌شوند و آن‌ها را می‌توان به صورت مجموعه‌ای از خطوط موازی هم رویت کرد.

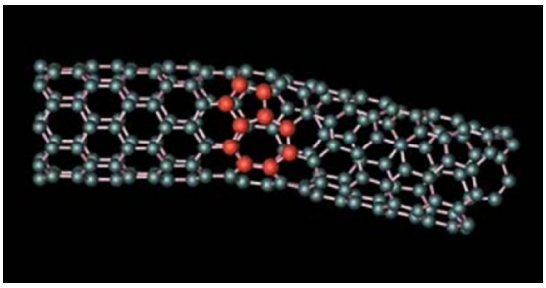
- نانو لوله‌های کربنی

نانو لوله‌های کربن به عنوان اولین نانو لوله‌ها در سال ۱۹۹۱ کشف گردید. نانو لوله‌ها ساختارهایی بسیار مقاوم، سبک، پایدار و انعطاف‌پذیرند که از پیچیده شدن شبکه‌ای ورقه‌های گرافیت ساخته شده است. اتم‌های کربن با پیوندهای کووالانسی که پیوند قوی و محکم است، به یکدیگر متصل شده‌اند و لایه گرافیتی را تشکیل می‌دهند.

از نانو لوله‌های کربنی برای اهداف صنعتی می‌توان استفاده کرد، مانند جایگزینی مناسب برای فلزاتی چون آلومینیوم و استیل در ساخت هواپیما، اجزای ماشین‌آلات حساس، لوازم پزشکی، لوازم ورزشی بسیار مقاوم و سبک و...(۲۸)

جالب است بدانیم که پیوندهای بین اتمی در نانو لوله‌ها، علاوه بر ایجاد استحکام بالا، شکل‌پذیری آسان و حتی پیچش را در آن‌ها میسر می‌سازد در حالی که فولاد تنها در برابر نیروهای کششی دارای مقاومت است و برای پیچش، انعطاف‌پذیری لازم را ندارد. نانو لوله‌های کربنی برای اهداف بیولوژیک نیز کاربرد دارند، کریستالیزاسیون پروتئین‌ها، بیوسنسورها، بیوراکتورها و نانو لوله‌های کربنی با توانایی اتصال به توالی‌های خاص DNA و نیز با اتصال به پروتئین‌های خاص سلولی می‌توانند به عنوان یک نشانگر و ردیاب در سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار گیرند و در نابود کردن سلول‌های سرطانی

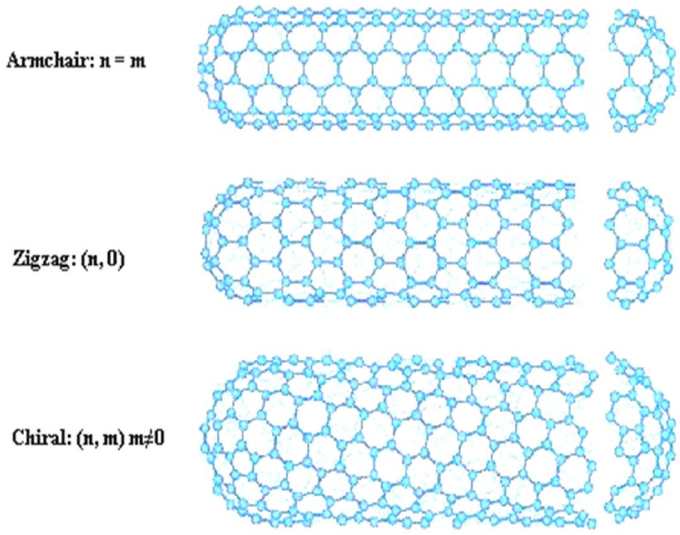
بسیار موثر خواهند بود. همچنین با استفاده از نانو لوله‌ها می‌توان غشاءهای بسیار باریک و انشعاب‌پذیری ساخت که به صورت کاملا انتخابی برای جدا سازی مولکول‌ها براساس اندازه، شکل و میل ترکیبی‌شان عمل نمایند. همچنین می‌توان در جهت انتقال انتخابی یون‌ها از محلول موجود در یک قسمت از غشاء به سمت دیگر غشاء، از نانو لوله‌های کربنی استفاد نمود. از دیگر موارد استفاده نانو لوله‌های کربنی روکش داروها می‌باشد که در آزادسازی داروها و مکمل‌هایی مانند پروتئین‌ها، پپتیدها و نیز ویتامین‌ها و مواد معدنی استفاده می‌شود. (۲۹).



۱-۵: تصویر شماتیک نانولوله کربنی

یکی دیگر از کاربردهای مهم و اساسی، استفاده از نانو لوله‌های کربنی در جهت تولید غشاءهای هادی یا رسانای الکتریی می‌باشد که تحولی بزرگ در زمینه تولید پلیمرها و مدارات الکترونیکی پلاستیکی می‌باشد. با نانو لوله‌های کربنی می‌توان مدارات الکتریکی پلاسیکی، قابل انعطاف، سریع و سبک ساخت که در زمینه تولید تابلوها و نمایشگرهای الکترونیکی بسیار بزرگ کاربرد بسیار زیاد و موثری خواهد داشت. هم‌چنین از نانو لوله‌های کربنی می‌توان در ساخت تراشه‌ها و ترانزیستورهای بسیار کوچک‌تر و نازل‌تر و با قابلیت تحرک الکترونی بسیار کمتر استفاده کرد که این قابلیت تحرک می‌تواند به کمتر از ۱۰ سانتی‌متر مربع بر ولت ثانیه کاهش یابد و در مورد تراشه‌های کامپیوتری امروزی که این قابلیت در حدود ۱۵۰۰ است با استفاده از این تکنولوژی جدید تا ۱۵۰ کاهش خواهد یافت.(۳۰).

نانو لوله‌ها در سه نوع ساختار مختلف صندلی، زیگزاگ و نامتقارن ساخته می‌شوند که در نوع صندلی ۱۰۰۰ بار از مس رساناتر است در حالی که در نوع زیگزاگ و نوع نامتقارن نیمه رسانا هستند.



۱-٦: تصویر شماتیک نانولوله ها در سه نوع ساختار صندلی، زیگزاگ و نامتقارن

- نانو لوله‌های پپتیدی

نانو لوله‌های پپتیدی از خود سامانی پروتئین‌ها و از طریق پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده‌اند که به تعداد برابر و مساوی آمینو اسیدهای L,D دارند و تمامی زنجیره‌های جانبی در سطح خارجی نانو لوله‌ها قرار دارند.(۳۱).

نانو لوله‌های پپتیدی کاربردهای بسیار وسیعی دارند که از جمله مهمترین آنها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱. حامل مناسبی برای انتقال و آزادسازی(رهش) دارو می‌باشند. (۳۲).
۲. با اتصال به پروتئین‌های خاص سلولی می‌توان یک بیوسنسور و نشانگر اختصاصی باشند.(۳۳).
۳. با اتصال به دیواره باکتری و پروتئین‌های خاص غشایی باعث سوراخ شدن غشاء باکتری و از بین رفتن آن می‌شوند که با این مکانیسم می‌توانند جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های امروزی باشند.

٤. می‌توان جهت ساخت ترکیب‌های استخوان و دندان مصنوعی، پر کننده‌های دندانی، قطعات پیوندی قلب و عروقی و نیز بیوسرامیک استفاده کرد که بسیار مقاوم و سبک هستند و سیستم ایمنی را تحریک نمی‌کنند و در نتیجه رد پیوند مطرح نمی‌باشد و از این نظر نسبت به انواع مواد معمول مورد استفاده بسیار بهتر و مناسب‌تر می‌باشند (٣٤).

١-٤-٤-٣ خواص نانو لوله ها

- قابلیت هدایت الکتریکی

علاقه‌مندی قابل توجهی نسبت به قابلیت هدایت الکتریکی نانولوله‌ها وجود داشته است. همان‌طور که قبلاً اشاره شد، باور کلی بر این است که نانوتیوب‌های با ترکیبات ویژه‌ای هادی می‌باشند و از این رو فلزی هستند. نشان داده شده است که هدایت، تابعی از قطر نانوتیوب می‌باشد. هدایت در نانوتیوب‌های چند دیواره کاملا پیچیده است.

- استحکام و انعطاف پذیری

نانولوله‌های تک دیواره سفت‌تر و سخت‌تر از فولاد می‌باشند و در اثر نیروهای فیزیکی-مکانیکی در برابر آسیب مقاوم هستند. فشار دادن نوک نانوتیوب سبب انحنای آن می‌گردد بدون آنکه نوک آن صدمه ببیند. هنگامی که نیرو برداشته شود، نوک نانوتیوب به حالت نخستین خود بازمی‌گردد (٣١.٣٣).

١-٤-٤-٤- نانو کامپوزیت ها

نانو کامپوزیت‌ها ترکیباتی هستند که از ترکیب چندین نانو ماده تشکیل شده است و یا از یک یا چند نانوماده در بستری از مواد دیگر تشکیل شده که مواد دیگر می‌توانند ویژگی‌های خاص نانو مواد را تشدید نمایند و یا به عنوان حامل نانو مواد عمل نمایند(٣٥) .

به عبارتی دیگر مواد کامپوزیتی مواد مهندسی ای هستند که از دو یا چند جزء تشکیل شده اند به گونه ای که این مواد مجزا و در مقیاس ماکروسکوپی قابل تشخیص هستند. کامپوزیت از دو قسمت اصلی ماتریکس(زمینه) و تقویت کننده(پرکننده) تشکیل شده است. ماتریکس با احاطه کردن تقویت کننده آن را در محل نسبی خودش نگه می دارد و تقویت کننده موجب بهبود خواص مکانیکی ساختار می‌گردد(۳۵).

مثال‌های زیر به چندین نانو کامپوزیت معمول اشاره می‌نماید:

۱. نانو اکسید تیتان (TiO_2) که در حضور نور با خاصیت فتوکاتالیستی می‌تواند باکتری‌ها را از بین ببرد(۳۷).
۲. نانو ذرات هالوژنه اکسید کلسیم (CaO) و اکسید منیزیم (MgO) که از خود خواص زیست‌کشی فعالی برعلیه باکتری‌ها، اسپورها و ویروس‌ها نشان می‌دهد(٤٠).
۳. نانو نقره که از خود خصوصیات بالقوه آنتی‌باکتریال و آنتی‌میکروبیال نشان می‌دهد(۳۷).

نانو کامپوزیت‌ها کاربردهای وسیعی دارند که از آن جمله می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- ایمپلنت‌های ارتوپدی
- پوشش‌های زخم
- جراحی‌های قلب و عروق
- کلیه و مجاری ادراری
- ایمپلنت‌ها و پوشش‌های دندانی
- تجهیزات احیای سیستم تنفسی
- سیستم‌های سازگار خونی
- کاربردهای ضد ویروسی و ...(۳۹)

۱-٤-٤-٥- توپ های کربنی چندوجهی:

فولرنc60، (باکی بال)، نخستین ملکول کربن کروی با کربن‌های مرتب شده در قالب توپی به شکل توپ فوتبال می‌باشد. در این ساختار، شصت اتم کربن(c60) وجود دارند و تعدادی از حلقه‌های پنج عضوی که به وسیله حلقه‌های شش عضوی از هم جدا شده‌اند. این اشیا را ممکن است به خوبی، بتوان به صورت یاتاقان‌های توپی در بعضی از وسایل مکانیکی درکسلر به کار برد. دومین ملکول کربن کروی در همان گروه، راگبی بال(c70) یا توپ راگبی است که ساختارش حلقه‌های کربنی شش عضوی اضافه‌تری دارد. تعداد زیادی از ساختارهای بالقوه دیگر نیز وجود دارند که شامل تعداد یکسانی از اتم‌های کربن(ایزومرها) می‌باشند. بسته به این‌که حلقه‌های پنج عضوی در ساختار وجود داشته باشند یا نداشته باشند و یا این‌که آیا حلقه‌های هفت عضوی در ساختار وجود دارند یا نه. بسیاری از شکل‌های دیگر فولرن‌ها تا c120 و یا فراتر، مشخص شده‌اند و خواص آن‌ها مطالعه گردیده است و رسم ساختار بیشتر آن‌ها با حلقه‌های پنج عضوی در مکان‌های مختلف و گاهی اوقات در کنار یکدیگر ممکن است. واقعیت مهم در نانوتکنولوژی این است که اتم‌ها را می‌توان درون توپ فولرن جای داد(٤١).

در سال ۱۹۹۸، ریچارد اسمالی(Richard Smalley)، رابرت کرل(Robert Curl) و هارولد کروتو(Harold Kroto) مولکول شگفت‌آوری که از اتصال ٦٠ اتم کربن درست شده بود را کشف کردند. اسمالی این شکل از اتم‌ها را به نام یک معمار گنبدهای متشکل از سطوح مهندسی در دهه ۳۰ " آقای باکمینستر فولر" (Buckminster Fuller)، فولرین نامید. سپس سومیو لیجیما، اسمالی و بقیه ساختارهای مشابهی را کشف کردند که به شکل لوله بودند و دریافتند که فولرین‌ها خواص شیمیایی و الکتریکی منحصر به فردی دارند. فولرین‌ها اولین مواد جدید نانو فن‌آوری هستند. در حالی که مهندسین به دنبال یافتن کاربردهای جدیدی برای فولرین‌ها بودند یک کشف دیگر حاصل آمد(٤٢).

در سال ۱۹۸۱ گرل کارل بینیگ (Gerd Karl Binnig) و هنریک روهرر (Heinrich Rohrer) میکروسکوپ جاروبی تونلی(STM) را اختراع کردند که دارای نوک ظریف چنن حساسی است که می‌تواند سطح یک تک اتم را لمس کند. سپس اطلاعات سطح به یک کامپیوتر فرستاده می‌شوند و در آنجا تصویری از سطح اتمی ساخته و به نمایش درمی‌آید. کمی بعد محققین کشف کردند که در واقع می‌توان با نوک STM اتم‌ها را جا به جا کرد. (٤٢)

۱–۴–۵– مهندس مولکولی

هدف مهندسی مولکولی، ساخت سیستم‌هایی است که هزار بار کوچکتر از کوچکترین دستگاه‌های فعلی می‌باشد. امروز مهندسین مولکولی، در زمینه طرح و تولید مولکول‌ها و ماشین‌هایی که امکان خودسازی و تولید مثل دارند، کار می‌کنند و حتی جایزه نوبل شیمی در سال ۱۹۸۷ به این زمینه کاری تعلق گرفت. این مولکول‌ها در طی واکنش زنجیره‌ای می‌توانند از خود کپی گرفته و تعداد زیادی ماشین مولکولی بسازند که امروزه از این مکانیسم در ساخت رایانه‌ها و دستگاه‌های الکترونیکی که در سطح مولکولی کار می‌کنند، استفاده می‌شود که جزو پیشرفت‌های مهندسی مولکولی محسوب می‌شود و باعث افزایش دقت ماشین‌ها و ابزارها در حد اتمی خواهد شد. پیشرفت‌های مهمی از این دست در زمینه علوم پزشکی رخ خواهد داد، چراکه اکثر بیماری‌ها به علت آسیب در سطح سلولی و مولکولی ایجاد می‌شوند و روش‌های درمانی فعلی نسبت به این مقیاس بسیار بزرگ محسوب می‌شوند. این دستگاه‌ها با دقت اتمی و با سیستم پروب کردن، می‌توانند سلول‌های بیمار را پیدا کرده و به درمان آن‌ها بپردازند و یا داروها را دقیقاً به محل اثر خود برده و با دوز دقیق و تعیین شده آزاد نمایند(۱۸).

برخی از پروتئین‌های سلولی در حد ۵ نانومتر هستند و در این ابعاد می‌توان بر روی آن‌ها کنترل داشت و به عنوان پروب‌ها و نشانگرهای سلولی از آن‌ها استفاده کرد. نانو ذرات در مهندسی مولکولی به ویژه در زمینه علوم زیستی کاربردهای زیادی دارند که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد.

کاربرد در داروسازی و ژن درمانی، تهیه مارکرهای فلورسانس بیولوژیک، ردیابی بیولوژیک عوامل بیماری‌زا، ردیابی پروتئین‌ها، پروب نمودن ساختار DNA، مهندسی بافت، نابود کردن تومورها از طریق گرمایش سلولی، جداسازی و خالص نمودن مولکول‌های زیستی، ازدیاد کنتراست(تفکیک) در تصویربرداری پزشکی(MRI) و مطالعه سرعت رفتارهای سلولی و.....(٤٢).

از نظر فعال نمودن خواص نوری مواد بیولوژیک، نانو ذرات باید آن‌قدر پتانسیل تغییر خواص نوری داشته باشند که خواص فلورسانسی آن‌ها قابل ردیابی باشد. امروزه در مورد درمان سرطان از روشهای فتودینامیک استفاده می‌شود که از نانو ذرات خاص حساس به نور که بیشتر توسط سلول‌های سرطانی جذب می‌شوند، استفاده می‌شود. از نانو کریستال‌های نیمه هادی نیز برای تهیه برچسب‌های بیومولکولی استفاده می‌شود که در مشخص کردن اجزای سلولی کاربرد دارند(٤٢-١٨).

۱-۴-۶- نانو الکتریک

با ابداع روش‌های طراحی و ساخت پیشرفته و جدید، هر روز از ابعاد و اندازه قطعات الکترونیکی و مدارهای مجتمع کاسته می‌شود. به طور متوسط در هر شش سال، ابعاد و اندازه قطعات الکترونیکی به نصف تقلیل یافته است. امروزه دانشمندان با بهره‌گیری از فن‌آوری نانو الکترونیک، به تولید مدارهایی با ساختارهای بسیار گسترده‌تر و پیچیده‌تر و به مراتب بسیار کوچکتر از گذشته پرداخته‌اند. در فناوری نانوالکترونیک، فرآیندهای سطح زیر لایه سیلیکونی تحولات اساسی داشته و به تولید نانو مدارهایی در زمینه پلاستیکی پرداخته‌اند که این‌گونه مدارهای مجتمع، با ویژگی‌های منحصر به فرد خود در مقیاس نانومتری، کاربرد بسیار وسیعی در سیستم‌های مزوسکوپیک دارند که در زیر به برخی از این کاربردها اشاره شده است(٤٣).

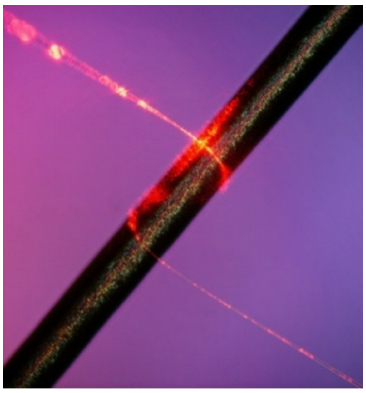
۱. ساخت نقطه‌ها و سیستم‌های کوانتومی تونل زنی در دیودهای تشدید کننده
۲. طراحی و ساخت تقویت‌کننده‌های لیزری مثل In Gap
۳. طراحی و ساخت میکروحسگرها و ماشین‌های میکرونی برای کاربردهای خاص

با توجه به پیشرفت‌های عمده در زمینه نانوالکترونیک، یکی از مباحث مهم در این زمینه، نیمه هادی‌ها و نانوسیم‌ها می‌باشند. ترانزیستورها، باتری‌های خورشیدی و دیودهای نورگسیل‌ها (LED) از جمله موارد متداول نیمه هادی‌ها می‌باشند که الکترونیک پیشرفته، وابسته به کاربرد این نیمه هادی‌ها است.

خواص الکترونیکی نیمه هادی‌ها به وسیله گاف انرژی بین ظرفیت و نوار رسانش آن تعیین می‌شود. در این میان نانوسیم‌ها در تکامل، پیشرفت و تحولات اساسی نیمه هادی‌ها نقش بسزایی دارند (٤٣).

١-٤-٦-١- نانو سیم ها

یکی دیگر از نانوساختارهایی که امروزه مطالعات و تحقیقات بسیاری را به خود اختصاص داده‌اند نانوسیم‌ها هستند(شکل ١-٧). مثال‌هایی از کاربرد نانوسیم‌ها عبارتند از: وسایل مغناطیسی، سنسورهای بیولوژیک، نشانگرهای بیولوژیک و اتصالات داخلی در نانوالکترونیک، مانند اتصالات به وجود آمده از رسانای آلومینیومی که توسط نانوسیم نقره صورت می‌گیرد(٤٤)



١-٧ : نانو سیم

۱–۵– کاربردهای نانو ذرات در بیولوژی و پزشکی

با استفاده از نانو تکنولوژی، امیدهائی برای استفاده از مهندسی نانو موادی با شعاع کمتر از ۱۰۰ nm برای استفاده در نانو پزشکی در واقع کاربرد فناوری نانو در پیشگیری ودرمان بیماری ها در بدن انسان است. این دانش در حالت تکامل این ظرفیت بالقوه را دارد که علم پزشکی را کاملاً دگرگون کند. کاربردهای ثبت شده و آزمایشگاهی پزشکی نانو، آزمایش های تشخیصی، شیمی درمانی، پمپ‌های انسولین، تزریق‌های بدون سوزن، فعالیت‌های کمکی در بخش شنوایی، سنسورهای مختلف پزشکی و سیستم تحویل دارو در بافت‌های بدن هستند. کاربردهای صنعتی، عکسبرداری پزشکی، تشخیص بیماری ها، انتقال دارو، درمان سرطان، ژن تراپی و موارد دیگر به سرعت در حال گسترش و پیشرفت است(٤٥).

۱–۶– اهمیت سم شناسی نانو مواد

امروزه توسعه وکاربرد فناوری نانو از اهمیت عمده ای در هردو بخش صنعت و مصرف کننده بر خوردار است با این حال آگاهی از در معرض قرار گرفتن انسان با مواد نانو که احتمال ایجاد سمیت برای انسان دارند از اهمیت ویژه ای برخوردار است. برای درک وشناخت هرچه بیشتر سمیت نانو مواد باید اطلاعات دقیقی درباره ئ نحوه ورود جذب توزیع متابولیسم ودفع نانو مواد داشته باشیم(۸). به منظور ارزیابی میزان خطرات نانو مواد برای سلامتی انسان کمیته علمی بهداشت Scientific (Committee on Emerging and Newly Identified)) (SCENIHR) (SCENIHR), 2005جهت شناسایی برخی از عمده خطرات و همچنین ارزیابی محصولات فناوری نانو لازم و ضروری می باشد یکی از توصیه های مهم این کمیته این است که مکانیسم عرضه و فرایندهای تولید فرمولاسیون نانوذرات و نحوه استفاده از نانو ذرات باید مشخص شود.علاوه بر این طیف وسیعی از در معرض قرارگرفتن نانوذرات باید بررسی شود.چرا که نحوه ورود این نانو ذرات به بدن و سرنوشت توزیع و تداوم این نانوذرات در بدن انسان و ارگان های هدف برای شناسایی سمیت نانو مواد پس از تعیین چگونگی در معرض قرار گرفتن مشخص می شود . و این

شامل اطلاعاتی راجع به دوز یا مقدار نانو مواد برای ارگان های هدف و محل قرار گیری نانو مواد در سلول و اطلاعاتی درباره مکانیسم های فعل و انفعال نانو مواد در سطح سلولی است (٤٦).

۱–۶–۱– تعریف سم شناسی نانو مواد

سم شناسی نانو مواداشاره به مطالعه نانوساختارها و تعامل نانو مواد با سیستم های بیولوژیکی با تاکید بر روشن کردن رابطه بین خواص فیزیکی و شیمیایی (مانند اندازه ، شکل ، شیمی سطح ، ترکیب ، و تجمع) نانوساختارها با القاء پاسخ های بیولوژیکی سمی است (٤٧).

۱–۶–۲– چالش های سم شناسی نانو مواد

در قرن جدید و باتوجه به کاربردها و مزایای فناوری نانو با افزایش تقاضا برای استفاده ازمحصولات فناوری نانومواجه هستیم و با توجه به اهمیت موضوع ضروری است ، دانشمندان و مهندسین پیش بینی وارزیابی دقیقی از خطرات احتمالی در ارتباط با تکنولوژی جدیدداشته باشند و از آنجا که فراهم کردن محیطی ایمن برای تولید محصولات نانو فناوری با داشتن درک صحیحی از میزان سمیت این مواد می تواند نتایج مثبت تری داشته باشدوباتوجه به رویکرد پیشگیرانه سازمان بهداشت جهانی و اتخاذ تصمیمات نظارتی ومدیریتی در امر تولید نانو مواد ، دیگر نمی توان ارزیابی سلامت ایمنی نانومواد را به تعویق انداخت لذا باتوجه به اهمیت موضوع فوق الذکر بررسی اثرات توکسیسیته نانومواد کاری مهم تلقی می شود(٤٦) .

تصویر ذهنی منفی و مخربی که نسبت به آسیب‌های احتمالی حاصل از فناوری نانو وجود دارد خواه این تصور واقعی باشد و خواه فقط در حد وهم و خیال باشد به طرز تهدید آمیزی باعث کندی روند رشد و توسعه ی فناوری نانو خواهد شد. مگر آنکه اطلاعاتی صحیح بی‌طرفانه و قانون مند در باره چیستی خطرها و چگونگی پرهیز از آن‌ها منتشر شود. به منظور بر آورده کردن نیازهای این چالشها علم سم شناسی نانو مواد نقش بسیار مهم در توسعه و گسترش نانو فناوری پایدار و ایمن خواهد داشت (٤٦).

۱-۷- خطرات نانو مواد

نانو ذرات همانند یک شمشیر دو لبه دارای اثرات مفید و مضر می باشند بی شک اگر به روش های صحیح کار با نانوذرات توجه شود از خطرات آن کاسته خواهد شد. وقتی مواد در مقیاس نانو تبدیل می شوند در خواص شیمیایی، بیولوژیکی و فعالیت کاتالیزوری آن ها تغییراتی ایجاد می شود. بنابراین موادی که در حالت توده ای بی خطر هستند وقتی به حالت نانو تبدیل می شوند، می توانند سمی و خطرناک باشند. به علاوه اندازه کوچک نانو ذرات باعث می شود تا این مواد بتوانند بر سدهای دفاعی بدن فائق آیند.

مهم ترین خواص بحث برانگیز نانو ذرات عبارتند از:

- فضای سطحی بزرگ که باعث افزایش فعالیت های شیمیائی و بیولوژیکی می شود
- ویژگی های جدید مانند انحلال پذیری و فعالیت بیشتر، شیمی و سطح
- تحرک بسیار زیاد در بدن انسان
- توانائی نفوذ به غشای سلولی (۱).

در واقع شناسائی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی نانو مواد از جمله مراحل مهم در پژوهش های سم شناختی انسانی و زیست محیطی در ارزیابی و ارزشیابی راههای رویاروئی، اثر سمی و خطرهای مربوط هستند گر چه هم اکنون اطلاعات کمی در ارتباط اثر سم شناسی زیست محیطی و اثر سم شناسی انسانی نانو مواد در دسترس است. (٤٨) نانو ذرات می توانند وارد هوا، خاک و یا آب شده و زمان طولانی در محیط باقی بمانند که این خود در وهلهٔ نخست آلودگی اکوسیستم و در مرحله بعد احتمال آلودگی به ارگانیسم های بیولوژیکی را افزایش می دهد .(٤٩)

بدین ترتیب با ظهور نانو فناوری و تمامی فواید مرتبط، مشکلی جدی بنام پسماند و نانو سمیت نیز متولد شده است. امروزه نانو مواد در فرایند تولید، حین استفاده از محصول و نهایتاً به عنوان زباله امکان بالقوهٔ آلودگی را دارند. دقت کنیم که ممکن است نانوذرات آزاد و یون های سمی در

محصولاتی مانند رنگ ها، وسایل آرایشی، منسوجات و پوشش هایی از بستر جدا شده و وارد محیط شوند. این نانو ذرات می توانند از طریق تماس با پوست(۵۰) ،استنشاق (١٤) ، بلعیدن (۵۱) وتزریق(۵۲) وارد بدن شده و مانند هر ماده بیگانه دیگری در دوز معین برای سلول ها و ارگانیسم ها خطر آفرین باشند. از سوی دیگر دوزسنجی های وزنی مرسوم چندان قابل اعتماد نیستند چرا که در وزن معین از نانوذرات تعداد بسیار زیادی نانوذرات وجود داشته و تمامی اثرات منفی یاد شده، خود را چند برابر نشان خواهند داد. اینجاست که تعداد، اهمیت خود را نشان می دهند. به نظر می رسد برای کاهش خطرپذیری به وضع قوانین جدید در مدیریت تولید نانو مواد، دفع و احتمالاً بازیافت پسماند مربوط و نیز ابداع روش های نوین ارزیابی نانوسمیت نیازمندیم. چنانچه می دانیم استانداردهای فعلی قطعاً نمی توانند برای ارزیابی محصولات و پسماندهای نانو دقت کافی را داشته باشند(۵۳).

در شکل ۱-۸ راه های مختلف ورود نانو مواد به بدن ترسیم شده است:

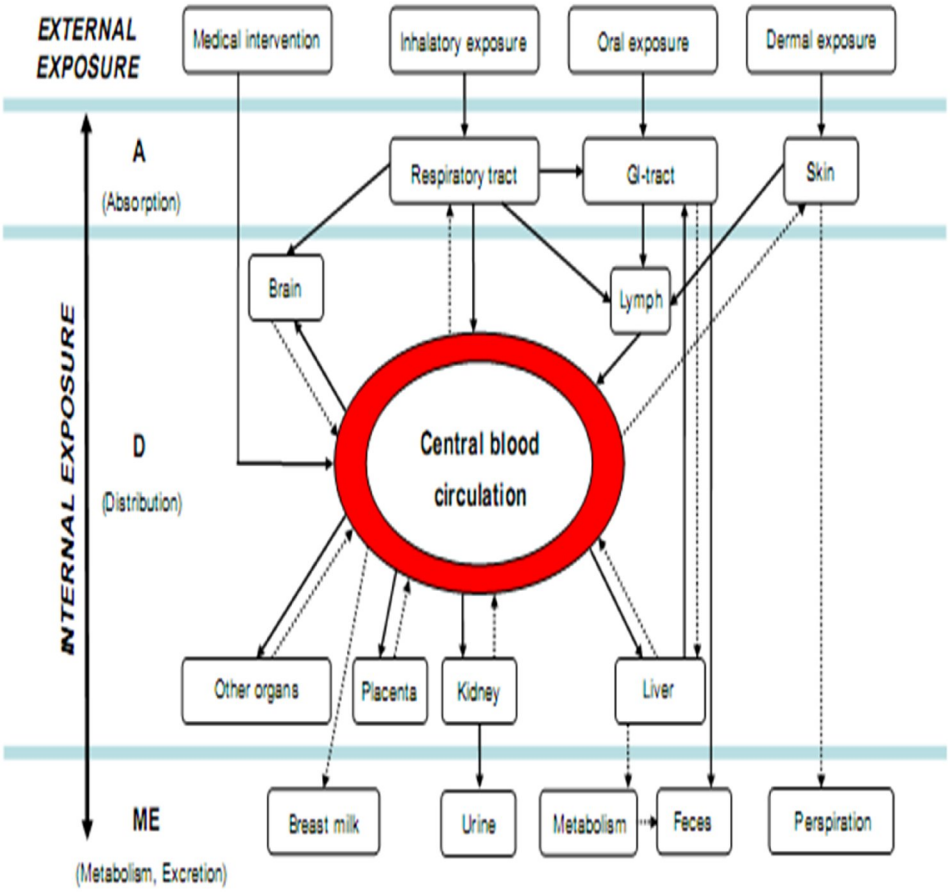


Fig. 1. Kinetic properties of nanoparticles in the body. In this scheme, the ADME processes (absorption, distribution, metabolism and excretion) are indicated. The internal exposure is the part of the external dose that reaches the systemic circulation. The black lines represent confirmed routes for nanoparticles; the dashed lines represent hypothetical routes. The transport rates and retention times for the indicated processes are largely unknown (other organs: e.g. spleen, heart, reproductive organs. Modified from Oberdorster et al. (2005b) Environmental Health Perspective).

شکل ۱-۸

جدول ۱-۱ مسیر هایی که امکـان اثـرات پـاتوفیزیولوژی و سـمی نـانوذرات وجـود دارد را نشـان می دهد.

Table 1: Showing possible NM effects as the basis for pathophysiology and toxicity (Nel *et al*, 2006).

Experimental NM effects	**Possible pathophysiological outcomes**
ROS generation	Protein, DNA and membrane injury, oxidative stress
Oxidative stress	Phase II enzyme induction, inflammation, mitochondrial perturbation
Mitochondrial perturbation	Inner membrane damage, permeability transition (PT), pore opening, energy failure, apoptosis, apo-necrosis, cytotoxicity
Inflammation	Tissue infiltration with inflammatory cells, fibrosis, granulomas, atherogenesis, acute phase protein expression (e.g., C-reactive protein)
Uptake by reticulo-endothelial system	Asymptomatic sequestration and storage in liver, spleen, lymph nodes, possible organ enlargement and dysfunction
Protein denaturation, degradation	Loss of enzyme activity, auto-antigenicity
Nuclear uptake	DNA damage, nucleoprotein clumping, autoantigens
Uptake in neuronal tissue	Brain and peripheral nervous system injury
Perturbation of phagocytic function, ''particle overload,'' mediator release	Chronic inflammation, fibrosis, granulomas, interference in clearance of infectious agent
Endothelial dysfunction, effects on blood clotting	Atherogenesis, thrombosis, stroke, myocardial infarction
Generation of neoantigens, breakdown in immune tolerance	Autoimmunity, adjuvant effects
Altered cell cycle regulation	Proliferation, cell cycle arrest, senescence
DNA damage	Mutagenesis, metaplasia, carcinogenesis

جدول ۱-۱

۱-۸- تماس با ذرات نانو ذرات

در حالی که تماس انسان با نانوذرات[۱] (NP) از زمان تکامل نخستین شان در جریان بوده است، این میزان تماس با پیدایش انقلاب صنعتی به شدّت افزایش یافته است و گسترش سریع فناوری نانو سبب استفاده روزافزون از این مواد و در نتیجه افزایش رویارویی با این مواد خواهد شد (٥٤) هم زمان با این پیشرفت‌ها، ما باید به افزایش انتشار این ذرات در محیط و جذب در بدن انسان با میزان

خطر نامعلوم، اهمّیّت دهیم. به کمبود اطلاعات در خصوص اثر NP بر سلامت انسان محیط زیست در بیش از ۲۰ گزارش بین‌المللی از مؤسسه‌هایی چون DEFARA، US-PTA انجمن سلطنتی اشاره شده است و همچنین کارگروهی از مهندسان آکادمی علوم و فناوری نانو (Nanotc, 2004) بر ارزیابی دقیق خطرهای NP و نیاز به مدل‌های مناسب تأکید کرد

۱–۸–۱– راههای مختلف قرار گرفتن در معرض نانومواد :

تماس شغلی ، در معرض قرار گرفتن مصرف کننده و در معرض قرار گرفتن محیط زیست : در معرض قرار گرفتن را می توان به سه دسته تقسیم گسترده.

1–قرار گرفتن در معرض کارگران و مصرف کنندگان فناوری نانو با استفاده از نانوذرات حاوی محصولات ، که نیاز به توجه فوری دارد.

۲–تماس شغلی است به علت دخالت مستقیم فرد با ساخت نانومواد ویا انجام کارهای تحقیقات است. با افزایش تقاضا از نانومواد در بازار قرار گرفتن در معرض کارگران ساخت این مواد و با استفاده از نانوذرات در کارخانه در حال افزایش است.

۳–قرار گرفتن در معرض نانوذرات مهندسی شده و محصولات قابل فروش از طریق راه های دیگر ، اعم از لوازم آرایشی ، کرم های ضدآفتاب .

خصوصیات بدیع NP این امکان را برای آن‌ها فراهم می‌کند تا به کمک روش‌های مختلف، با محیط بیولوژیکی شان تقابل ایجاد کنند. به دلیل اندازه ی نانو ذرات، سطح ویژه در واحد جرم آن‌ها افزایش یافته است و این مطلب، پتابسیلی ایجاد کرده است که تعاملات بیولوژیکی نانو ذرات در مقایسه با مواد حجیم بیشتر باشد و ازاین نظر متفاوت باشند. خصوصیات فیزیکی شیمیایی نمونه‌های گوناگون NP نیاز به بررسی دارد شامل عواملی چون سطح ویژه، توزیع اندازه ی ذره، خلوص، درجه ی تبلور، بار و ساختار سطحی شامل واکنش پذیری، گروه‌های سطحی، پوشش‌های آلی و غیر آلی، حلالیت، شکل وتوده شدن می‌شود. کاهش در اندازه و افزایش سطح ویژه موجب افزایش میزان نسبی اتم‌ها و مولکول‌های سطحی، و در نتیجه باعث افزایش در واکنش پذیری سطح می‌شود(۵۵) .

۱–۹– ساختمان کبد

کبد بزرگترین اندام در بدن است که در حفره شکمی و در زیر دیافراگم قرار دارد و وزن آن حدود ۲ درصد کل بدن یا حدود ۱/۵ کیلوگرم از وزن بالغین متوسط را تشکیل می دهد. واحد عملی پایه کبد لوبول کبدی است که یک ساختار استوانه ای به طول چندین میلیمتر و به قطر ۰/۸ تا ۲ میلیمتر است لوبول کبدی در اطراف یک ورید مرکزی تشکیل شده که به داخل وریدهای کبدی و سپس به داخل ورید اجوف تخلیه می‌گردد دو نوع سلول سینوزوئیدهای وریدی را می پوشاند:

- سلول های معمولی اندوتلیال
- سلول های بزرگ کوپفر[1] درشت (سلول های رتیکو اندوتلیال) که نوعی ماکروفاژ هستند و قادر به فاگوسیتوز و سایر مواد بیگانه در خون سینوس کبدی می باشند هنگامی که یک ماده بیگانه به طور لحظه ای با یک سلول کوپفر تماس پیدا می کند، در کمتر از یک صدم ثانیه از دیواره سلول کوپفر گذشته و به طور دایمی در داخل سلول جای می گیرد تا این که هضم شود. (۷)

۱–۹–۱ اعمال متابولیک کبد

کبد یک منبع بزرگ از سلول های فعال از نظر شیمیائی است که میزان متابولیسم بالائی دارند و سیستم های متابولیک آن از نظر سوبستراها و انرژی با یکدیگر سهیم هستند و مواد متعددی را پردازش کرده و می رساند که به سایر نواحی بدن حمل می شوند و انواع زیادی از سایر اعمال متابولیک را انجام می دهند. تمام موادی که از طریق روده جذب می شوند توسط سیاهرگ باب کبدی[2] به کبد می رسند به جزء لیپیدهای پیچیده (شیلو میکرون ها)

---

[1] - kupffer

[2] . Hepatic portal rein

که به وسیله عروق لنفاوی منتقل می شوند. کبد بهترین موقعیت را در سیستم گردش خون دارد تا متابولیت ها را جمع کرده، انباشته کرده و همچنین مواد سمی را خنثی و برداشت نماید. این برداشت و تخلیه از طریق صفرا (یک ترشح اگزوکرین که در هضم چربی ها اهمیت دارد) صورت می پذیرد. (۹)

۱-۹-۲- نقش کبد در متابولیسم مواد مختلف در بدن

- متابولیسم کربوهیدرات ها: کبد مهمترین عضو ذخیره گلیکوژن در بدن است که به منظور تأمین و تثبیت گلوکز خون نقش مهمی را در تجزیه گلیکوژن و گلوکونئوژنز و نیز سنتز گلوکز از ترکیبات چربی و پروتئینی ایفا می کند. (۱۰)
- متابولیسم لیپیدها: کبد در سنتز کلسترول از شیلو میکرون ها و LDL و نیز لیپیوپروتئین ها شرکت می کند و محل تجمع تری گلیسیریدها و منبع مهمی از ذخایر و ویتامین های محلول در چربی است. (۱۰)
- متابولیسم پروتئین ها: کبد در سنتز پروتئین های پلاسما و فاکتورهای انعقادی و نیز پروتئین های انتقالی شرکت دارد.
- بیوسنتر ترکیبات مختلف: کبد در ساخت اسیدهای چرب و نیز جریان صفرا از مجاری صفرای دست دارد و نقش مهمی را در جذب مواد چربی از دستگاه گوارش ایفا می کند.
- املاح و ترکیبات هورمونی: کبد به علت شرکت در متابولیسم پروتئین های اتصالی و ناقل نقش غیر مستقیم در تنظیم هورمون های پلاسما، کلسیم، منیزیم ، آهن و مس و برخی دیگر از املاح دارد و مهمترین عضو در کاتابولیسم هورمون های تیروئیدی، استروئیدی و سایر هورمون ها است(۱۰).
- خاصیت سم زدائی: کبد از نظر سم زدایی و متابولیسم مواد شیمیایی درون زاد و برون زاد حائز اهمیت بوده و نقش مهمی را در خنثی و غیر فعال کردن سموم و مواد کارسینوژن و نیز داروها و ترکیبات استروئیدی ایفا می کند(۱۰).

۱-۹-۳ نقش کبد در متابولیسم مواد شیمیائی بیگانه

موجودات زنده به طور روزمره در معرض مواد شیمیائی گوناگون قرار می گیرند که عمدتاً شامل داروها و مواد بیگانه ای است که ناخواسته وارد بدن می گردند. اکثر این ترکیب ها در بدن انسان متابولیزه می شوند و کبد عضو اصلی موثر در این عمل می باشد. حداقل ۳۰ آنزیم مختلف مرتبط، با غشاء میکروزوم ها در واکنشهای متابولیسمی این مواد دخالت دارند.

متابولیسم مواد شیمیائی بیگانه در دو مرحله صورت می گیرد:

- هیدروکسیلاسیون این مواد که توسط انواع اکسیژنازها به خصوص سیتوکروم P ٤٥٠ کاتالیز می شود.
- مواد شیمیایی بیگانه هیدروکسیله شده با ترکیب های مختلف آب دوست از جمله اسید گلوکورونیک، سولفات یا گلوتاتیون متصل می شود.

در طی این دو مرحله ترکیب های غیر قطبی آب گریز به ترکیب های قطبی آب دوست تبدیل می شوند، بنابراین می توانند به راحتی از سلول دفع شوند. در موارد جزئی این واکنش ها منجر به تشکیل متابولیت های فعال می شوند که این متابولیت ها می توانند با اتصال کوالانسی به DNA و سایر ماکرومولکول های سلولی، جهش، سرطان و یا آسیب سلولی را تحریک ببخشند. واکنش مستقیم سرطان زاها یا مواد شیمیائی بیگانه با DNA می تواند موجب انواعی از آسیب ها شود که برخی از آن ها قابل ترمیم است. با وجود سیستم ترمیمی، برخی تغییرهای DNA که توسط مواد شیمیایی ایجاد می شوند به نسبت طولانی باقی می مانند و احتمال دارد که این ضایعه ها، ترمیم نشده و نقش مهمی در ایجاد جهش های ضروری برای سرطان، مرگ برنامه ریزی شده[1] و یا نکروز داشته باشند. تغییرهای ژنتیکی ایجاد شده در سلول مادر می تواند به سلول های دختر انتقال یابند و ناهنجاری های گسترده ای در بافت مورد نظر بوجود آورند. (۹)

---

[1] - apoptosis

۱–۹–۴ – ترانس آمینازها به عنوان شاخص آسیب های کبدی

ترانس آمینازها گروهی از آنزیم ها هستند که انتقال یک گروه آمین از یک اسید آمینه به یک کتواسید را به عهده دارند. بعضی از اسید آمینه ها می توانند به کمک این آنزیم که کوانزیم آن، فسفات پیریدوکسال $Bb - po_4$ می باشد در حضور یک اسید آلفاکتونیک، عامل آمین خود را از دست بدهند. که در این حالت به یک اسید آلفاکتونیک تبدیل می شوند. در حالی که اسید آلفاکتونیک اول با گرفتن عامل آمین به یک اسید آمینه تبدیل می شود این واکنش انتقال عامل آمین را ترانس آمیناسیون می نامند. به دلیل این که واکنش های ترانس آمیناسیون به راحتی قابل برگشت هستند ترانس آمینازها هم در کاتابولیسم و هم در بیوسنتز اسیدهای آمینه نقش دارند. واکنش های ترانس آمیناسیون از دو نظر حائز اهمیت هستند.

- **الف** با در دست داشتن اسیدهای کتونیک، سلول می تواند بعضی از اسید آمینه ها را سنتز کند.
- **ب** بعضی از اسید آمینه ها می توانند اسید آلفاکتوتاریک را به عنوان واسط برای دزآمینه شدن خود به کار برند(۵۷,۵۶).

از آنجائی که کبد در سم زدائی و متابولیسم مواد بیگانه دارای نقش بسیار مهمی است و همچنین محل تجمع مواد شیمیایی گوناگون از جمله فلزها می باشد و به علت اینکه در آسیب های سلولی ترانس آمینه های کبدی زودتر از سایر ترانس آمینارهای سرمی تغییر می کنند، هنگام مسومیت با فلزها، ترانس آمینازهای کبدی که شامل SGOT یا AST [1] و SGPT یا ALT [2] است به طور قابل توجه در خون تغییر می کنند (۵۸,۵۹) .

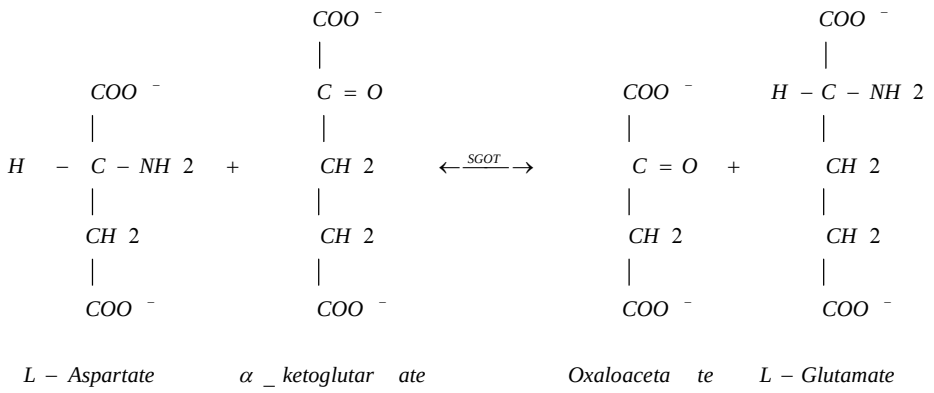
---

[1] - serum glutamate – oxalate transaminAse

[2] - serum glutamate – pyrovate transminAse

(AST) SGOT –۵–۹–۱

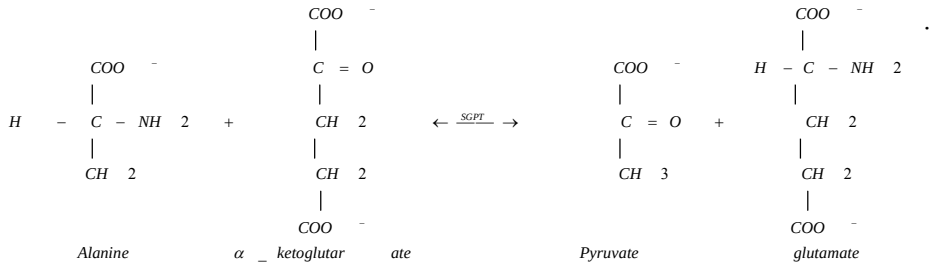
آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در گذشته بنام تری گلوتامات اکسال استات ترانس آمیناز (GOT) شناخته شده است. این آنزیم به طور وسیع در گیاهان و جانوران پراکنش دارد و به شکل غلیظ شده و متمرکز در قلب و کبد پستانداران یافت می شود (۶۰,۵۶) .



این آنزیم آسپارتات + کتوگلوتارات را طی یک واکنش دو طرفه به گلوتارات و اگزالواستات تبدیل می کند. این آنزیم فعالیت متابولیکی بالائی داشته و میزان آن در قلب، کبد عضلات اسکلتی بیشتر می باشد. آزاد سازی آنزیم به جریان خون، بدنبال آسیب یا مرگ سلولی اتفاق می افتد هر بیماری که باعث افزایش در فعالیت های متابولیکی بافت های یاد شده گردد باعث افزایش AST خواهد گردید (۱۰) ۸۰ درصد از کل آسپارتات آمینوترانسفراز موجود در سلول های کبدی درون میتوکندری جای دارند. پس در مواردی که غشاء میتوکندری ها دچار آسیب شود این آنزیم به میزان بیشتری وارد سرم می شود (۶۰,۵۶).

(ALT) SGPT –۶–۹–۱

آلانین آمینوترانسفراز که قبلاً به نام گلوتامات پیروات ترانس آمیناز (GPT) نامیده می شد. این آنزیم اگزالواستات + آلانین را طی یک واکنش دو طرفه به گلوتامات + پیروات تبدیل می کند



این آنزیم بیشترین تجمع را در سلول های کبدی دارد و در آسیب های کبدی افزایش می یابد که افزایش آن نسبت به AST اختصاص تر است. بنابراین ALT به عنوان شاخص بیماری های کبدی محسوب می شود SGPT موجود در سلولهای کبدی درون سیتوپلاسم سلول قرار دارد و با آسیب غشاء سلول از سلول خارج شده و به درون سرم رها می شوند(٦٠,٦١).

ALP[1] ٧-٩-1

آلکالین فسفاتاز از آنزیم های گلیکو پروتئینی متصل به غشاء سلولی است که از ایزو آنزیم های مختلف کبدی، استخوانی ، جفتی و روده ای تشکیل می یابد (١٦) ALP هیدرولیز تعداد وسیعی از انواع مختلف فسفو منواسترها را در PH قلیائی کاتالیز می نماید. بنابراین الکالین فسفاتاز یک آنزیم اختصاصی نبوده بلکه قادر است با تعدادی از سوبستراها واکنش نماید بویژه الکالین فسفاتاز طوری عمل می نماید که یک فسفات معدنی را از مولکولهای آلی فسفراستر جدا نموده و در حین آن یک مولکول الکل تولید می شود. این آنزیم به یون Mg^{+2}به عنوان فعال کننده نیاز دارد و برخی از یونهای دیگر از جمله co^{2+}, Mn^{+2} نیز آنزیم را فعال می کنند. عملکرد اصلی الکالین فسفاتاز احتمالاً تسهیل در انتقال متابولیت های غشاء سلولی می باشد که این عمل در ارتباط با حمل و نقل چربی ها و نیز استخوان سازی انجام می گیرد. الکالین فسفاتاز در اکثریت بافت های بدن بطور پراکنده فعالیت دارد. اما بیشترین مقدار فعالیت آنزیم در روده ها و کبد و استخوان و طحال و جفت و کلیه یافت می شود (١٦) این آنزیم بهترین شاخص انسداد مجاری صفراوی در ضایعات فضاگیر کبدی (تومور،

[1] - Alkalin phosphates

گرانولوم و آبسه) است آلکالین فسفاتاز روده ای علاوه بر ضایعات روده، در اکثر موارد سیروز نیز افزایش می یابد (۱۰).

۱-۹-۸- اختلالات آنزیمی

برای کمک به تشخیص بیماری های کبدی غالباً افزایش دو آنزیم ALT و AST در سرم استفاده می شود تست های آنزیمی ALT و AST در عین سادگی از حساسیت نسبتاً خوبی نیز برخوردارند. غالباً در اختلالات التهابی، هپاتوسلولی، بیماری های حاد کبدی و ومواقعی که آسیب وارده به هپاتوسیت ها خفیف باشد. بطوری که فقط غشاء سلولی صدمه بیند مقادیر ALT سرم اندازه گیری می شود زیرا که در این حالت ها ALT سرم نسبت به AST افزایش بیشتری نشان می دهد. در نکروزهای سلولهای کبدی و مواقعی که آسیب وارده به هپاتوسیت ها شدید باشد . بطوری که بر اثر آسیب، میتوکندری صدمه بیند، مقدار AST افزایش بیشتری نشان می دهد و در این حالت نسبت AST به ALT بالا است و نیز در صورت مختل شدن جریان صفرا یا پیدایش ضایعات فضاگیر مقدار ALP به سرعت افزایش می یابد و همچنین میزان ALP در بیماری های استخوانی نیز افزایش می یابد. (۱۲)

افزایش فعالیت آنزیم های مختلف در طی دوره بیماری ثابت نبوده و با عواملی چون فعالیت ویژه آنزیم هنگام رهایی به جریان خون و نیز زمان اندازه گیری فعالیت سرمی و سرعت نسبی کلیرانس آن ها بستگی دارد. (۱۰)

۱-۱۰- روی

روی یکی از رایج ترین عناصر پوسته زمین است که بطور گسترده ای در خاک و سنگ ودریا و رودخانه توزیع شده است و رنگ این عنصر آبی مایل به سفید می باشد این عنصر با عدد اتمی ۳۰ و علامت اختصاری Zn در جدول تناوبی شناخته می شود و از نظر بیولوژی سه نقش مهم را در سطح سلولی ایفا می کند اول آنکه عنصر ضروری در ساختمان بیش از ۳۰۰ متالوآنزیم مختلف است که

واکنش های بیوشیمیایی حیاتی را کاتالیز می کنند . دوم آنکه نقش مهمی در ساختار پروتئین و عملکرد غشاء دارد . سوم آنکه روی در سیگنالینگ سلولی نقش مهمی دارد و برای انتشار هورمون وتکانه های عصبی ضروری است (۶۲-۵۶).

واز نظر صنعتی هم بر جنبه های مختلف زندگی بشر اثر گذار است چرا که در صنایع گوناگونی مانند لاستیک سازی ، رنگ سازی ، تصفیه فاضلاب ها ، صنعت نساجی ، کشاورزی و همچنین در حوضه بهداشت و درمان در تهیه کرم ها وپمادها و لوازم بهداشتی نقش دارد (۶۱,۶۳) .

۱-۱۰-۱- اکسید روی

اکسیدروی پودر سفیدرنگی است بافرمول ZnO. در اثر حرارت از رنگ سفید به زرد تغییر رنگ می دهد و در هوای آزاد سرد مجددا" به حالت اول بر می گردد. این تغییر رنگ می تواند ناشی از کم شدن اکسیژن باشد(۶۴) و به شکل

Zn1+XO2 where at 800 x=0/00007 non stochemistric

اکسیدروی یک اکسید آمفوتریک است این ترکیب تقریبا" نامحلول در آب و الکل اما قابل حل در اسیدهای خنثی و اسید کلریدریک می باشد و در قلیایی ها و محلول آمونیاک حل و تشکیل زینکات(zincates) می دهد که فرمول آن در زیر آمده است و براحتی با گاز های اسیدی مانند(CO2و SO2) ترکیب می شود. همچنین ساختار جامد zincates قابلیت حلالیت آنرا کاهش می دهد. (۶۵,۶۶) .

$$ZnO+2HCL \rightarrow 2\ ZNCL2 + H2O$$

$$ZnO + 2NaOH + H2O \rightarrow Na2(ZN(OH)4$$

اکسید روی با اسیدهای چرب مانند اولئات و استیرات به آرامی و به کندی واکنش داده و تولید کربوکسیلات می کنند. اکسید روی وقتی که با محلول آبی کلرید روی قوی مخلوط شده به عنوان بهترین هیدروکسی کلرید روی توصیف می شودکه در دندانپزشکی هم بسیار کاربرد دارد(۶۷,۶۸).

۱–۱۰–۲– تولید اکسید روی :

بطور کلی دو روش تجاری برای تولید نانو ذرات اکسید روی (ZnO) وجود دارد : روش فرانسوی یا روش غیر مستقیم و روش آمریکائی یا روش مستقیم .

هر دو روش از اکسیداسیون بخارهای فلزی روی استفاده می شود و هردو روش به گرمای زیادی نیاز دارند که مشخصا" انرژی زیادی را مطالبه می کنند. مواد اولیه در روش مستقیم عمدتا" سنگ معدن یا کنسانتره روی و در غیر مستقیم فلز روی استفاده می شود. امروزه سازندگان اکسید روی عمدتا" از روی وضایعات ثانویه آن استفاده می کنند و باتوجه به نیاز مصرف کنندگان برای خلوص بالا از روش های تولیدی مختلفی استفاده می کنند .

الف- روش آمریکایی یا روش مستقیم

این روش بدلیل سادگی و هزینه کم و راندمان حرارتی بالای آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است . در این روش ابتدا مواد اولیه در دمای (۱۰۰۰–۱۲۰۰) درجه سانتی گراد احیاء می شوند که زغال سنگ عامل احیاء می باشد .

احیاء مطابق واکنش زیر انجام می شود :

$$ZnO + C \rightarrow Zn+CO$$

$$ZnO + CO \rightarrow Zn+CO2$$

$$C + O2 \rightarrow CO2$$

سپس بخار روی و گاز (CO) اکسید شده و در بالای بستر واکنش یا در خروجی کوره تشکیل اکسیدروی و دی اکسید کربن میدهند .برای این امر از مواد حاوی روی مختلف مانند کنسانتره های روی ضایعات فلزسازی محصول جانبی هیدروکسید روی و بیش از همه سرباره کوره های ریخته

گری یا گالوانیزه استفاده می شود سرباره باید ابتدا با حرارت دادن در C۱۰۰۰ در کوره های دوار کلرزدایی و سرب زدایی شود (٦٩-٧٠) .

ب – روش فرانسوی یا روش غیر مستقیم

در این روش روی جوشانده می شود بخار حاصل در اثر احتراق با هوا ترکیب شده و تحت شرایط معین اکسید می شود . خواص بلوری و فیزیکی اکسید روی حاصل را می توان با تنظیم شرایط احتراق یعنی حرکت شعله و هوای اضافی کنترل کرد . در واقع ZnO حاصل فقط تابعی از ترکیب بخارروی است . در این روش برای تولید بخار با خلوص لازم از مواد اولیه و برای حصول بازده بالا از کوره های مختلف استفاده می شود (٧١) .

۱–۱۰–۳ –کاربردهای صنعتی اکسید روی

یکی از مهمترین کاربردهای ZnO در صنعت لاستیک سازی می باشد که باعث دوام لاستیک و افزایش هدایت حرارتی آن می شود و ضریب مصرف آن در این بخش بین 2 تا 5 در صد می باشد (٧٢).

از اکسید روی به عنوان افزودنی در رنگ های مورد استفاده در سطوح خارجی استفاده می شود چرا که این اکسید اثر ضد خوردگی ایجاد می کند و می تواند تابش UV را جذب کند ودر واقع نقش ضد زنگ دارد (٧٣).

در صنعت شیشه و سرامیک و لعاب ZnO بدلیل توانایی در کاهش ضریب انبساط حرارتی وکاهش نقطه ذوب و افزایش مقاومت شیمیایی مورد استفاده قرار می گیرد .و همچنین برای اصلاح براقیت یا بهبود اپکی نیز به کار می رود . کابرد صنعتی دیگر اکسید روی در بتن سازی می باشد چراکه باعث افزایش مقاومت بتن می شود (٧٤) . ودر صنعت نساجی بدلیل خاصیت ضد میکروبی در تولید پارچه های ضد باکتریایی استفاده می شود. همچنین بدلیل همین خواص ضد باکتریایی در صنعت بسته بندی مواد غذایی کاربرد دارد (٧٦,٧٥) .

۱–۱۰–۴– کاربردهای پزشکی اکسید روی

اکسید روی بطور گسترده ای برای درمان مشکلات پوستی در محصولات پودر بچه و شامپوهای ضد شوره و پماد استفاده می شود . هنگامی که به عنوان ضد آفتاب استفاده می شود اکسید روی مانع رسیدن اشعه ماوراء بنفش به پوست می شود و از آسیب پوستی جلوگیری می کند (۷۸,۷۷) .

فصل دوم : مواد و روش

۲-۱ دستگاه ها

دستگاه سانتریفوز ، ترازوی دیجیتال با دقت 0.001 mg ، دستگاه اتوآنالیزور و میکروسکوپ نوری

۲-۲ وسایل

استوانه مدرج - سمپلر در سایزهای ۱۰۰و۱۰ میکرولیتر – نوک سمپلر زرد و آبی و رک (جعبه نگهداری لوله ی آزمایش)

گاواژ - ماسک حفاظتی – دستکش - بشر - لوله آزمایش - لام و لامل

۲-۳ مواد مورد نیاز

* کیت های آزمایشگاهی ALP ، SGPT ، SGOT

* کیت های آزمایشگاهی از شرکت پارس آزمون که دارای تأئیدیه آزمایشگاهی رفرانس است خریداری شده است.

نانوذرات اکسید روی در سایز ۱۰ نانومتر

آب مقطر ۲ بار تقطیر

اتانول: جهت فیکس کردن بافت

* مواد بیهوشی :جهت بیهوش کردن موشها از کتامین و زایلازین استفاده شد.

*انجام تست های بیوشیمیایی توسط دستگاه اتو آنالیزر بیوشیمی bt3000plus شرکت Biotecnicaایتالیا بوده که قابلیت انجام تست های بیو شیمی ، ایمونولوژی ،سرولوژی وسطح دارویی را دارا می باشد.

۲–۴ – حیوان های آزمایشگاهی، رژیم غذائی و شرایط لازم جهت نگه داری

به منظور انجام آزمایش ها از رت های ماده بالغ از نژاد wistar استفاده شد. ۳۵ سر ، رت با سن ۸ هفته و وزن ۳۵۰ – ۲۵۰ گرم با ۵ گروه ۷ تائی (۱ گروه کنترل و ٤ گروه آزمایشی) از انستیتوپاستورایران خریداری و در قفس های پروپیلنی موجود در حیوان خانه گروه بیوتکنولوژی که با کف پوشال و با ظرف آب مناسب در شرایط کنترل شده درجه حرارت حدود $22 \pm 1C^{\circ}$ و رطوبت حدود $60 \pm 10\%$ ، نور و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آسان به آب و غذای کامل (کنسانتره) نگه داری شدند. تمام رت ها به مدت ۲ هفته قبل از شروع آزمایش ها در حیوان خانه در شرایط یکسان محیطی قرار داده شدند تا از نظر تطابق، آشنائی و رژیم غذائی به محیط عادت نمایند. تمامی آزمایشات حیوانی مطابق با کمیته اخلاق انجام گردید. و به مدت ۱۵ روز به صورت دهانی به وسیله گاواژ تغذیه شدند.

۲–۵ – مواد شیمیایی مورد آزمایش

نانوذرات اکسیدروی (۱۰ نانومتر) خریداری شده از شرکت نوترینو تهیه و مساحت سطح نانو بوسیله دستگاه Size Analyser انستیتوپاستورایران جهت استفاده در این پژوهش آنالیز شد. سوسپانسیون نانو ذرات اکسید سپس ۲ دقیقه تکان داده شد و در نهایت با دوزهای متفاوت با دوزهای mg/kg ۵۰۰ و ۱۰۰ و ۵۰ و ۵ به روش گاواژ به موش ها خورانده شد.

۲–۶ – نحوه آماده سازی محلول های نانوذرات اکسید روی

جهت تهیه محلول، نانو ذرات اکسید روی شرکت نوترینو خریداری وبا مخلوط کردن آن با آب دیونیزاسیون شده دوزهای mg/kg ۵۰۰ و ۱۰۰ و ۵۰ و ۵ تهیه وهر ۲٤ ساعت ۲ml به هر موش موردآزمایش داده شد.

جدول ۲–۱ نحوه محاسبه غلظت های مختلف گروهای تجربی را نشان می دهد.

GROUP	1	2	3	4	5
mg/kg/15day	mg in 14ml daily				
5	9.33				
50		93.33			
100			186.66		
500				933.33	
NEG CONTROL					2ml steril normal saline

۲–۷ – اندازه گیری دما، رطوبت محیط

جهت تأمین دما و رطوبت مطلوب در محیط به طور روزانه هر دو عامل دما و رطوبت کنترل می شد تا دما در حد $22\pm1C^{\circ}$ و رطوبت در حد ٪۶۰ حفظ شد.

۲–۸ – نحوه خونگیری از رت و تهیه سرم

جهت انجام آزمایش های بیوشیمی خون بعد از ۱۵روزگاواژ خونگیری انجام گرفت.بطوریکه حیوان را توسط ماده بیهوشی کتامین وزایلازین بیهوش نموده ونمونه خون از قلب جمع آوری گردید .سپس سرم خون توسط دستگاه سانتریفوژ در دور ۳۰۰۰ RPM به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد و برای اندازه گیری غلظت ALP و SGOT و SGPT به دستگاه اتوآنالیزور داده شد. و میزان غلظت آنزیم ها بر حسب واحد بین المللی در لیتر محاسبه گردید از این دستگاه می توان جهت انجام آزمایش های بیوشیمیائی و آنزیمی استفاده نمود. این دستگاه دارای کارایی بسیار بالا بوده و می تواند ۲۰۰ تست در ساعت را انجام دهد.برای جداسازی بافت کبد حیوان به روش بدون درد (بادوز بالای ماده بیهوشی) کشته وکالبد شکافی گردید .

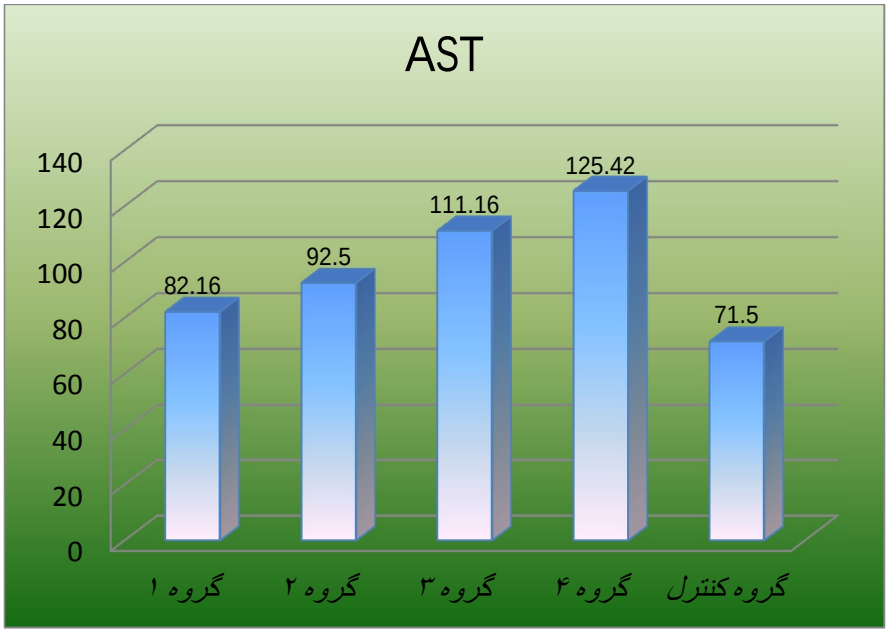
فصل سوم : نتایج

اثر غلظت های مختلف نانوذرات اکسید روی بعد از ۱۵ روز گاواژ بر پارامترهای مورد نظر در رت به صورت میانگین های مشاهده شده در گروههای آزمایشی با میانگین های مشاهده شده در گروه کنترل مورد مقایسه قرار می گیرد به منظور انجام آزمون های آماری از نرم افزار SPSS۱۸ استفاده گردید. مدل اصلی برنامه آماری تهیه شده که شامل متغیر نانوذرات اکسید روی و غلظت های مختلف درون گروهی بود. بعد از تعیین مدل اصلی، مقایسه میانگین کلی غلظت های مختلف نانوذرات اکسید روی (ZnO) و کنترل بررسی و تعیین شد که آیا اختلاف معنی داری بین آن ها وجود دارد یا خیر. برای این امر داده های آماری وارد طرح شدند تا مشخص گردد کدام یک از غلظت های نانوذرات اکسید روی با کنترل تفاوت معنی داری نشان می دهند.

آنالیز آماری:

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای spss 18 همچنین تست **های** one Samples Statistics و Paired Samples Statistics انجام گرفت نتایج بصورت $M \pm s\tan dard$ deviation نمایش داده شد. و ۰.۰۵ $> P$ به عنوان شاخص معنی دار در نظر گرفته شد سپس با استفاده از اطلاعات بدست آمده از این محاسبه ها، کلیهء نمودارهای مربوطه در برنامه نرم افزاری Excel رسم شد.

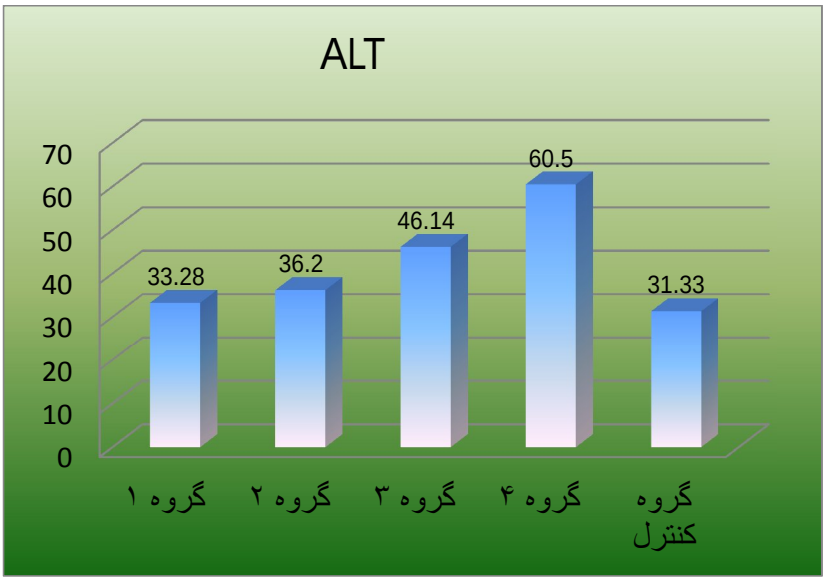
الف – توزیع فراوانی متغیر AST در چهار گروه آزمایش



مقایسه غلظت متغیر AST بین گروه های یک و چهار با تست Paired Sample T test نشان داد که اختلاف معنی داری (P- value 0.031) از نظر اثر افزایش غلظت وجود دارد و هر چه میزان غلظت گاواژ شده افزایش پیدا کند میزان آسیب سلول های کبدی بیشتر بوده و در نتیجه آنزیم بیشتری وارد جریان خون می شود.

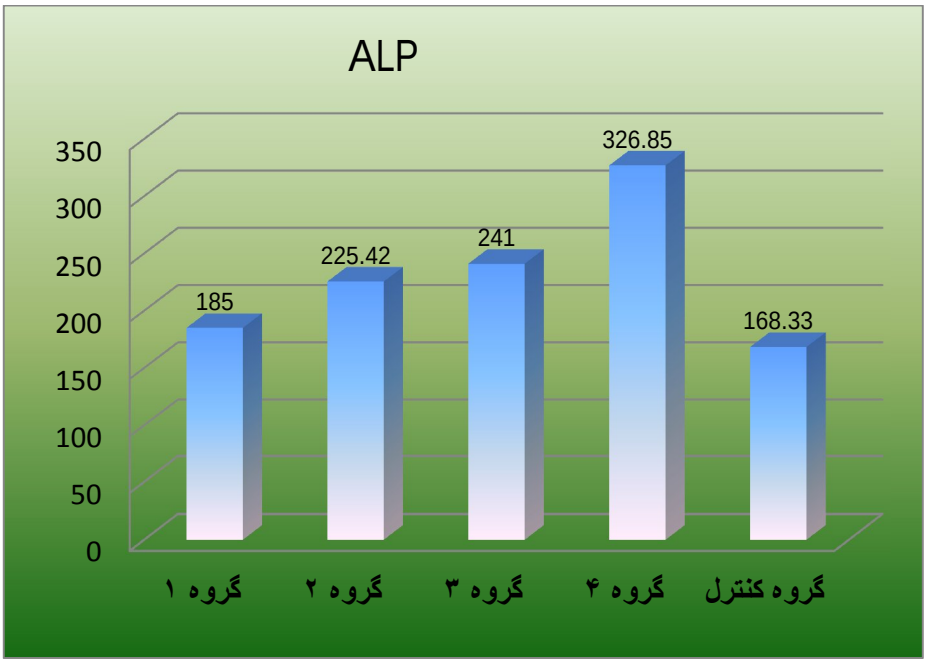
آزمون Paired Sample T test متغیر AST بین دو گروه کنترل نرمال و گروه چهار نشان داد که اختلاف معنی داری (P value 0.024) بین دو گروه مشاهده میشود.

ب – توزیع فراوانی متغیر ALT در چهار گروه آزمایش



آنالیز نتایج بدست آمده با تست Paired Sample T test در مورد متغیر آنزیمی ALT بین گروه یک و چهار ثابت کرد که اختلاف معنی داری (P value 0.017) از نظر اثر افزایش غلظت وجود دارد.همچنین اختلاف معنی داری هم بین ALT گروه چهار با گروه شاهدنیز مشاهده می شود (P value 0.011) . این موضوع نشان می دهد که با گاواژ بیشتر نانوذره ZnO آسیب بیشتری به سلول های کبد رسیده و آنزیم بیشتری از آنها آزاد می گردد.

ج - توزیع فراوانی متغیر ALP در چهار گروه آزمایش :



آنالیز آماری حاصل از اثر نانوذرات اکسید روی ZnO بر میزان غلظت آنزیم ALP براساس آزمون Paired samples t-test ثابت می کند که سطح آنزیم ALP تمام گروههای آزمایش افزایش یافته واین افزایش بین میانگین میزان غلظت ALP گروه چهار و گروه شاهد اختلاف معنی داری وجود دارد(P value 0.03) .

جدول ۳-۱ مقایسه سه آنزیم ALP، AST وALT با گروه کنترل را نشان می دهد و آنالیز نتایج بدست آمده بر اساس آزمون Paired Sample T test است.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper		
Pair 1	ALT1 - ALT4	-26.25000	10.90489	5.45245	-43.60212	-8.89788	-4.814	.017
Pair 2	ALT4 - ALT5	29.50000	10.34408	5.17204	13.04026	45.95974	5.704	.011
Pair 3	AST1 - AST4	-45.83333	37.80168	15.43247	-85.50376	-6.16291	-2.970	.031
Pair 4	AST4 - AST5	56.50000	43.14974	17.61581	11.21713	101.78287	3.207	.024
Pair 5	ALP1 - ALP4	-152.33333	91.31849	37.28062	-248.16621	-56.50046	-4.086	.009
Pair 6	ALP4 - ALP5	169.66667	76.82361	31.36311	89.04523	250.28810	5.410	.003

مواقعی که آسیب وارده به هپاتوسیت ها خفیف باشد فقط غشاء سلولی صدمه می بیند و در این حالت ALT سرم نسبت به AST افزایش بیشتری نشان می دهد. در مواقعی که آسیب وارده به هپاتوسیت ها شدید باشد بر اثر آسیب، میتوکندری صدمه دیده و مقدار AST افزایش بیشتری را در سرم نشان می دهد چرا که در این حالت غشاء میتوکندری پاره شده و چون جایگاه اصلی آنزیم AST در میتوکندری است میزان این آنزیم نیز افزایش می یابد .

در گروه های سه و چهار میزان آنزیم های AST، ALT ، ALP با میزان شدت آسیب بافتی افزایش یافته است یعنی افزایش این آنزیم ها در گروه یک کمترین افزایش را داشته ودر گروه ٤ بیشترین افزایش غلظت را داشته است . همچنین در گروه چهار در چند مورد هپاتیت نکروتیک کانونی و تغییر کانونی چربی نیز گزارش شد .

مقایسه نتایج غلظت ALT و ALPدر گروه چهار با تست Linear Regression نشان داد که با افزایش غلظت ALT میزان ALPنیز افزایش پیدا می کند. این موضوع با محل قرار گیری این آنزیم ها در سلول مطابقت دارد. محل ذخیره آنزیم ALT در سیتوپلاسم و آنزیم ALPدر زیر غشاء سیتوپلاسمی می باشد. نتیجه تست فوق ثابت می کند که هر چه میزان آسیب سلولی بیشتر باشد ALT سیتوپلاسمی بیشتری وارد جریان خون شده و به همراه آن ALPبیشتری نیز آزاد می گردد.

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	5532.740	1	5532.740	10.319	.024[a]
	Residual	2680.975	5	536.195		
	Total	8213.714	6			

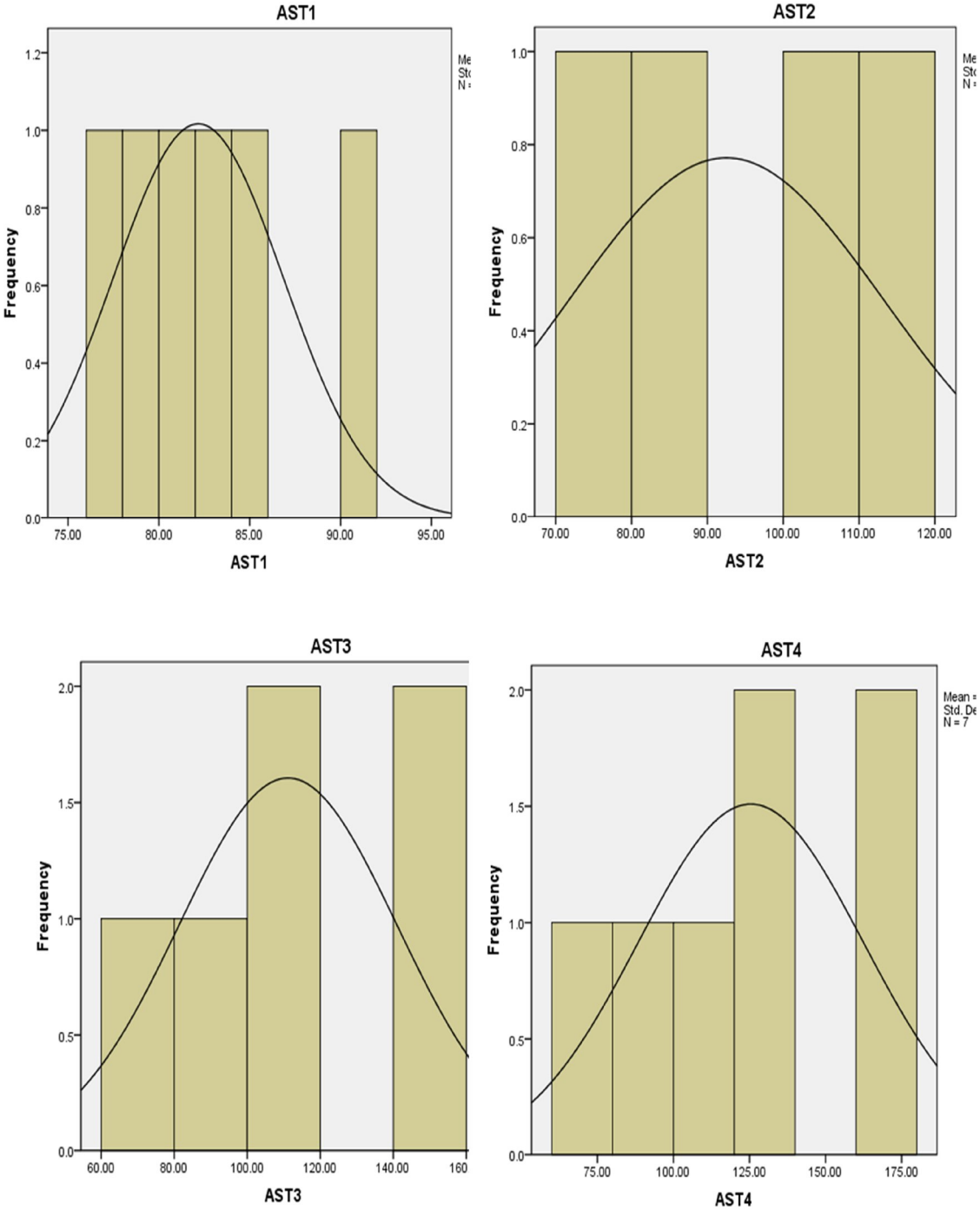
a. Predictors: (Constant), ALP4

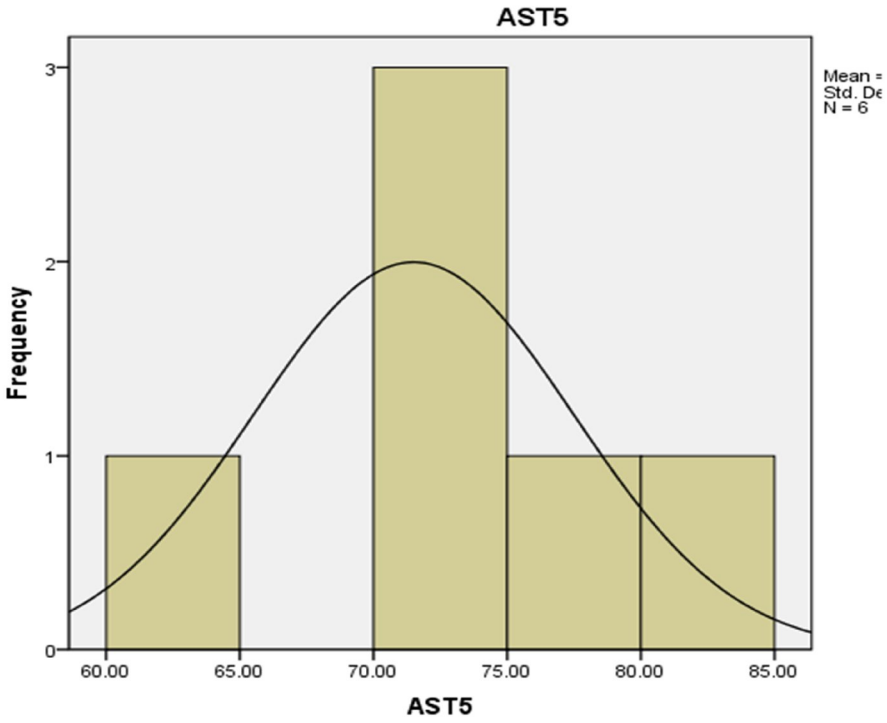
b. Dependent Variable: AST4

آزمون One Sample T test نشان داد که متغیر های مورد بررسی در تمام گروه های مورد مطالعه دارای توزیع تقریبا نرمال هستند و واریانس آنها در حد مجاز بوده است (جدول). نتایج این تست نشان می دهد که تمام مراحل آزمایش شامل وزن موش ها، رژیم غذایی، شریط نگهداری (دما و رطوبت)، تکنیک گاواژ و روش تعیین غلظت آنزیم ها بدرستی انجام گردیده است.

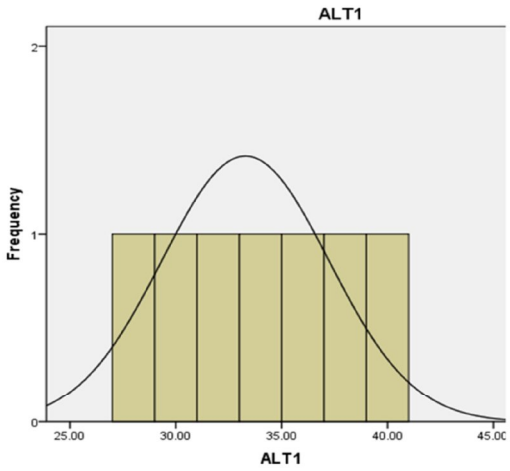
۳-۲- توزیع متغیرهای آنزیمی ALT, ASTو ALP در چهار گروه مورد مطالعه در نمودار های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است که منحنی رسم شده بر روی هر نمودار بیانگر یک توزیع نرمال در داخل هر گروه میباشد می باشد :

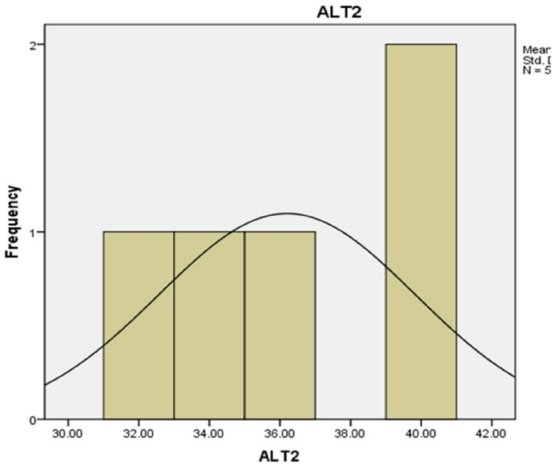
۱- توزیع فراوانی متغیر AST در چهار گروه آزمایش:

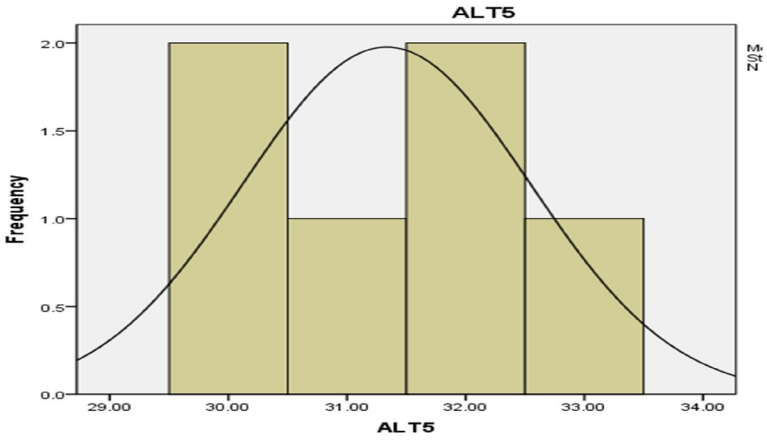



AST5
Mean =
Std. De
N = 6
Frequency
3
2
1
0
60.00
65.00
70.00
75.00
80.00
85.00
AST5

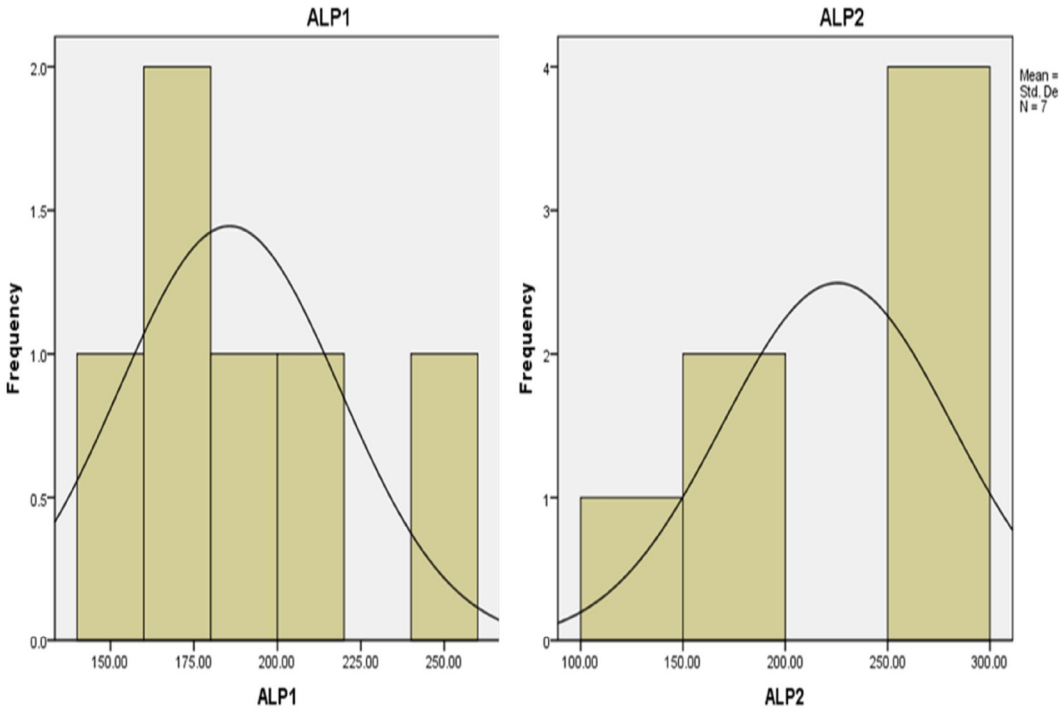
۲- توزیع فراوانی متغیر **ALT** در چهار گروه آزمایش :

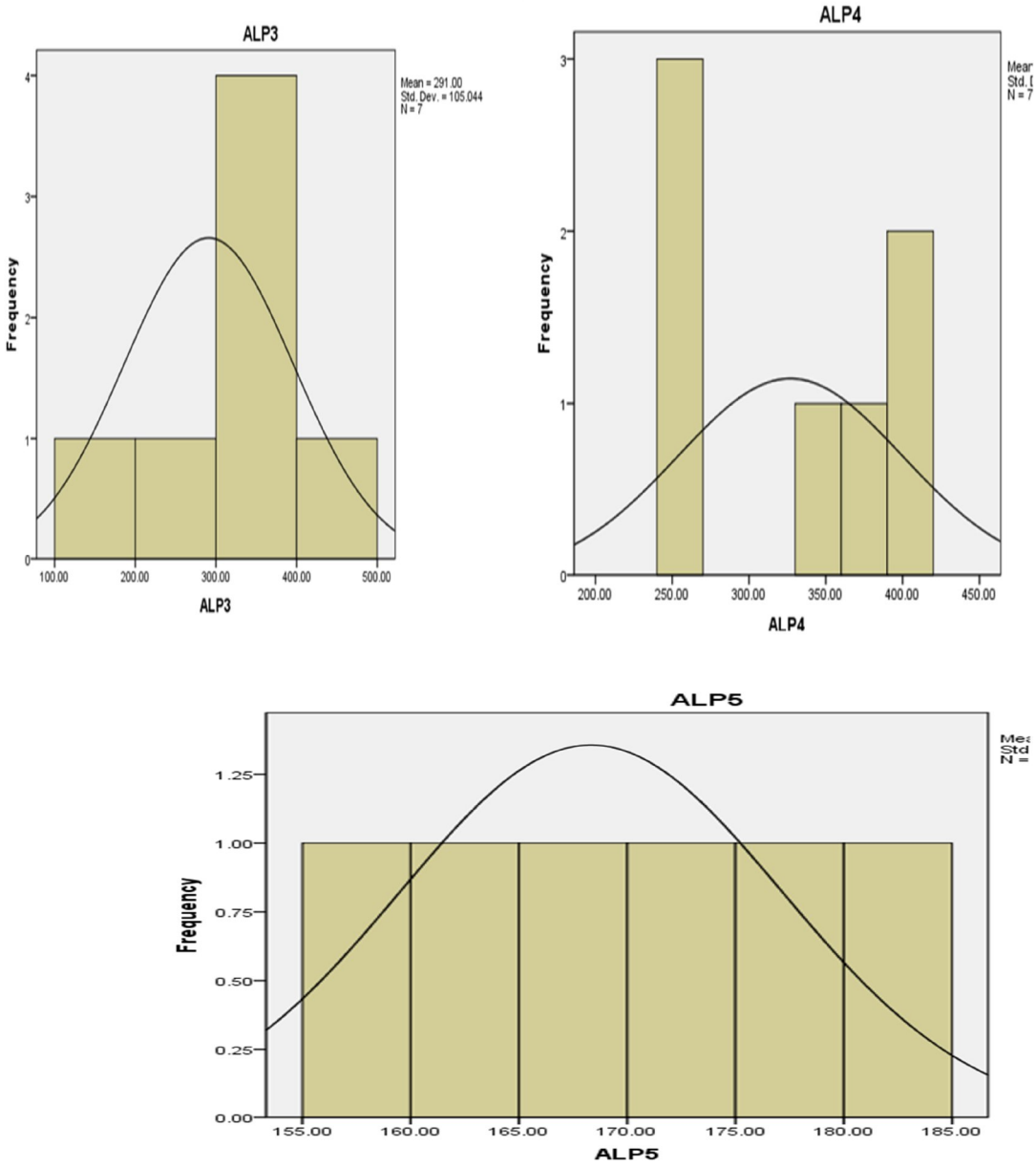






۳ – توزیع فراوانی متغیر ALP در چهار گروه آزمایش :

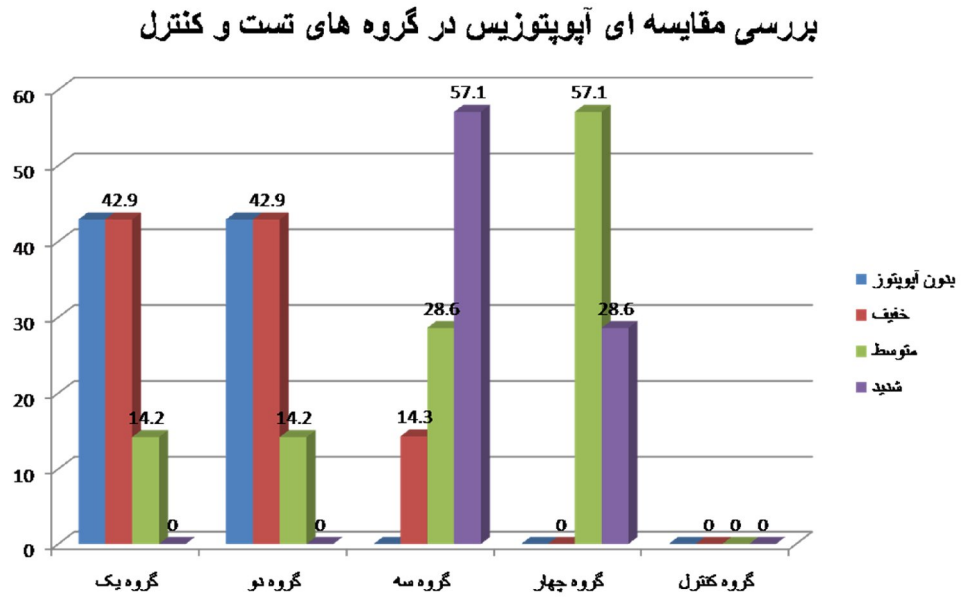




بررسی های بافت شناسی و هیستو پاتولوژی کبد توسط متخصص پاتولوژی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن به شرح زیر می باشد ازنظر پاتولوژی آسیب های وارده به کبد بصورت هپاتیت پورتال و آپوپتوز همچنین پرخونی در سه سطح خفیف متوسط تا شدید بود و در چند مورد هپاتیت نکروتیک کانونی و تغییر چربی نیز گزارش شد.

آنـالیز آمـاری توزیـع فراوانـی متغیـر هـای هیسـتوپاتولوژی اثـر غلظـت هـای مختلـف نـانوذرات اکسید روی(ZnO) بربافـت کبـد رت بعـد از 15 روز گـاواژ مـورد بررسـی قـرار گرفـت کـه بـه شرح زیر می باشد :

سطوح معنی دار در مورد آپوپتوز : دوز دریافتی یک رت 1.33 mg/kg معادل (5mg/kg/15day) سبب ایجاد آپوپتوز خفیف در گروه یک گردید . با توجه به اینکه سطح مجاز آپوپتوز در حد خفیف است لذا غلظت دریافتی1.33 mg/kg سطح معنی دار نانوذره اکسید روی در مورد آسیب کبدی بصورت آپوپتوزیس است .



بررسی مقایسه ای آپوپتوز در گروه های تست و کنترل براساس آزمون Paired samples t-test ثابت می کندکه بین گروه یک و چهاربا (P value 0.03) اختلاف معنی داری وجود دارد همچنین بین گروه چهار با کنترل نیز اختلاف معنی داری وجود دارد (P value 0.003) .

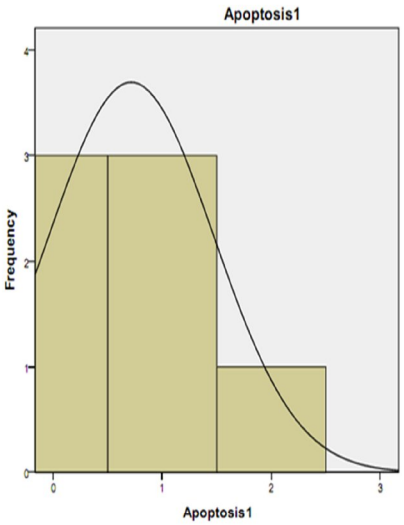
۳-۳- آنالیز آماری آپوپتوز

۳-۳-۱- آنالیز آماری آپوپتوز در گروه یک :

Apoptosis1

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	3	42.9	42.9	42.9
mild	3	42.9	42.9	85.7
moderate	1	14.3	14.3	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول ۳-۳



نمودار3-4

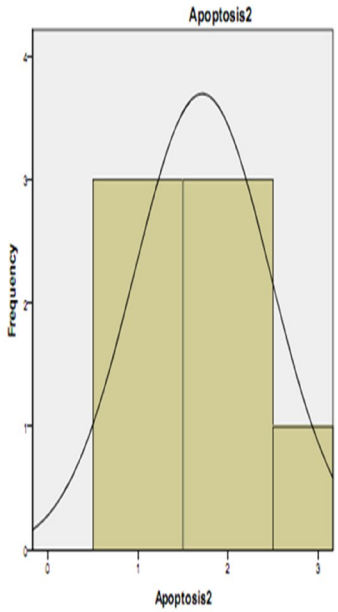
گروه یک ۱٤.۷ درصد آپوپتوز بصورت خفیف مشاهده شد که این آسیب سلولی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری داردکه منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز آپوپتوز در گروه یک با یک توزیع نرمال است .

۳-۳-۲- بررسی توزیع فراوانی آپوپتوز در گروه دو :

Apoptosis2

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
mild	3	42.9	42.9	42.9
moderate	3	42.9	42.9	85.7
high	1	14.3	14.3	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-4



نمودار 3-5

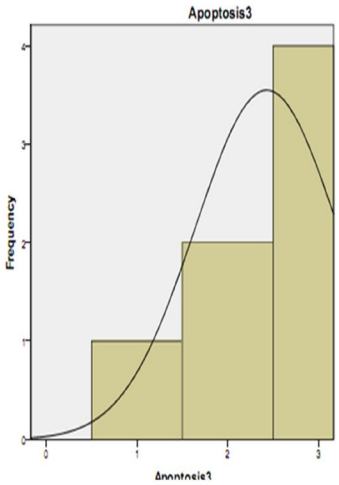
در گروه دو، ٤٢.٩ درصد آپوپتوز بصورت خفیف وبه همین میزان در حد متوسط اتفاق افتاده و ١٤.٣ درصد آپوپتوز درسطح شدید مشاهده شد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز آپوپتوز در گروه دو با یک توزیع نرمال است ..

۳-۳-۳- آنالیز آماری آپوپتوز در گروه سه :

Apoptosis3

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
mild	1	14.3	14.3	14.3
moderate	2	28.6	28.6	42.9
high	4	57.1	57.1	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-5



نمودار 3-6

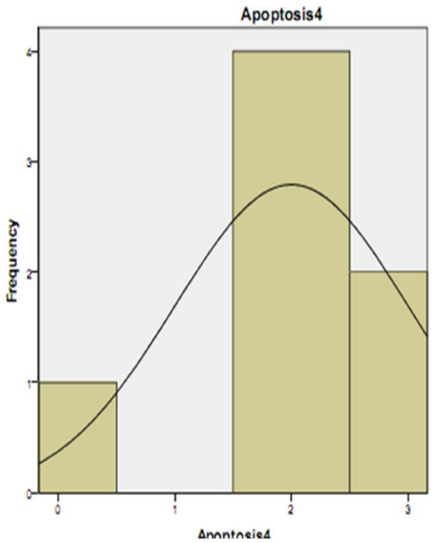
در گروه سه ۱٤.۳ ٪ درصد آپوپتوز خفیف ، ۲۸.٦ متوسط و ۵۷.۱ درصد هم در حد شدید اتفاق افتاد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده شدت بروز آپوپتوز در گروه سه است .

۳-۳-۴- آنالیز آماری آپوپتوز در گروه چهار :

Apoptosis4

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	1	14.3	14.3	14.3
moderate	4	57.1	57.1	71.4
high	2	28.6	28.6	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-6



نمودار 3-7

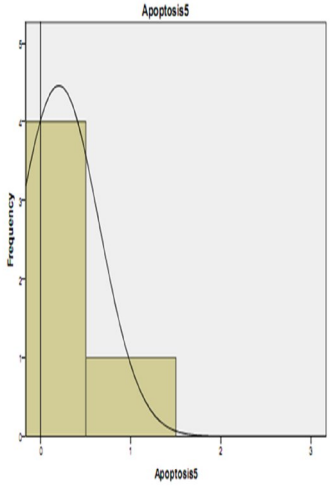
بررسی شدت آسیب کبدی درگروه چهارنشان می دهد ۵۷.۱ درصد آپوپتوز در حد متوسط و ۲۸.٦ در حد شدید می باشد واختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان می دهد (P value 0.003) منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز آپوپتوز در گروه چهار با یک توزیع نرمال است .

۳-۳-۵- آپوپتوز در گروه کنترل:

Apoptosis5

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	No	4	57.1	80.0	80.0
	mild	1	14.3	20.0	100.0
	Total	5	71.4	100.0	
Missing	System	2	28.6		
	Total	7	100.0		

جدول 3-7

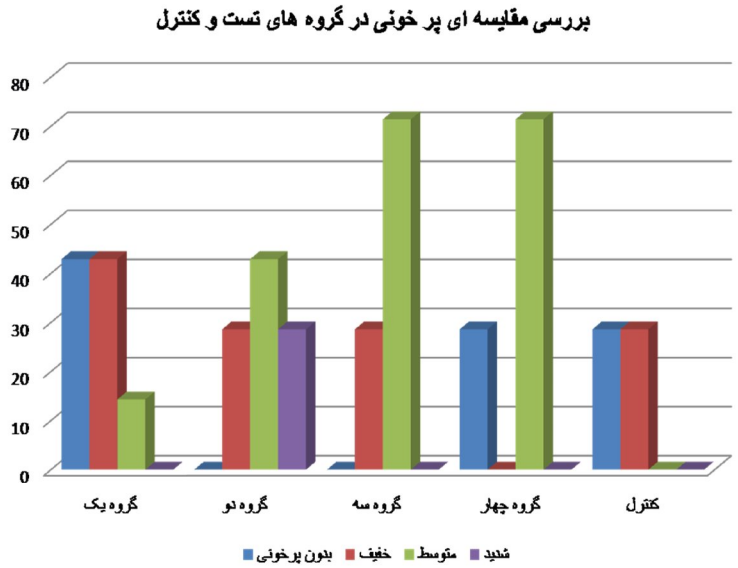


نمودار 3-8

آپوپتوز در گروه کنترل ۱٤.۳ است نرمال می باشد

۳-۴- آنالیز آماری پرخونی

سطوح معنی دار در مورد پرخونی : دوز دریافتی یک رت 1.33 mg/kg معادل (5mg/kg/15day) سبب ایجاد آپوپتوز خفیف در گروه یک گردید . با توجه به اینکه سطح مجاز پرخونی در حد خفیف است لذا غلظت دریافتی1.33 mg/kg سطح معنی دار نانوذره اکسید روی در مورد آسیب کبدی بصورت پرخونی است .



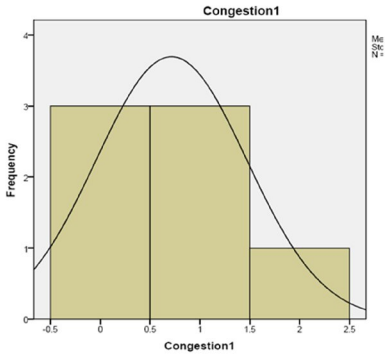
بررسی مقایسه ای پرخونی در گروه های تست و کنترل براساس آزمون Paired samples t-test ثابت می کندکه بین گروه یک و چهاربا (P value 0.047) اختلاف معنی داری وجود دارد همچنین بین گروه چهار با کنترل نیز اختلاف معنی داری وجود دارد . (P value 0.033)

۳-۴-۱ – آنالیز آماری پر خونی در گروه یک :

Congestion1

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	3	42.9	42.9	42.9
mild	3	42.9	42.9	85.7
moderate	1	14.3	14.3	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-8



نمودار 3-9

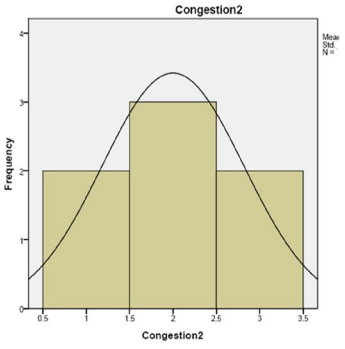
در گروه یک ، ٤٢.٩درصد پرخونی در حدخفیف و ١٤.٢درصد از موارد پر خونی در حد متوسط مشاهده شد. منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز پر خونی در گروه یک با یک توزیع نرمال است .

۳-۴-۲ – آنالیز آماری پر خونی در گروه دو :

Congestion2

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
mild	2	28.6	28.6	28.6
moderate	3	42.9	42.9	71.4
high	2	28.6	28.6	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-9



نمودار 3-10

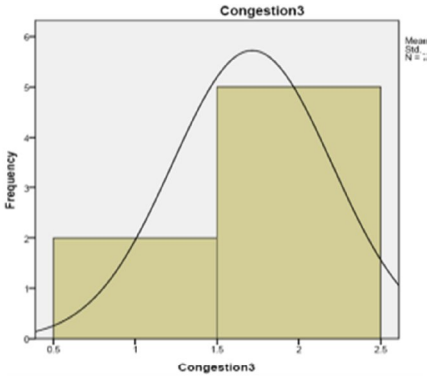
در گروه دو، ۲۸.٦درصد پر خونی خفیف بوجود آمده و٤٢.٩ درصد از موارد پر خونی در حد متوسط همچنین 28.6 درصد هم پرخونی شدید دیده شد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز پر خونی در گروه یک با یک توزیع نرمال است .

۳-۴-۳ – آنالیز آماری پر خونی در گروه سه :

Congestion3

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
mild	2	28.6	28.6	28.6
moderate	5	71.4	71.4	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول3-10



نمودار 3-11

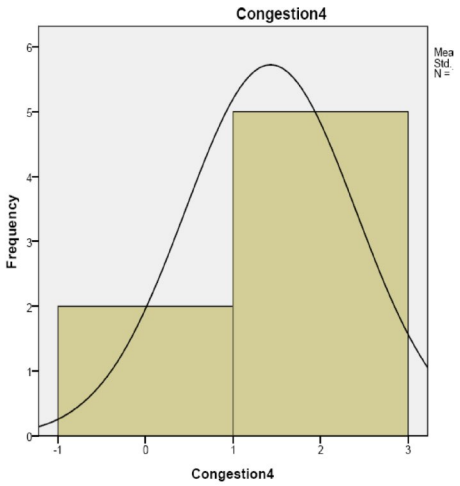
بررسی شدت پرخونی دراین گروه نشان می دهد ۲۸.٦ درصد در حد خفیف و ۷۱.٤ درصد در حد متوسط بوده است وبا گروه کنترل اختلاف معنی داری دارد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز پر خونی در گروه سه با یک توزیع نرمال است .

۳-۴-۴ - آنالیز آماری پر خونی در گروه چهار :

Congestion4

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	2	28.6	28.6	28.6
moderate	5	71.4	71.4	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-11



نمودار3-12

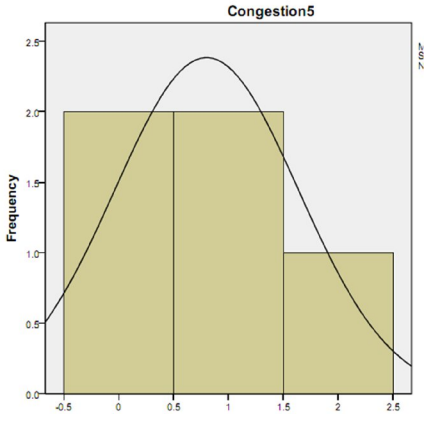
پر خونی در گروه چهار ۷۱.٤ درصد در حد متوسط مشاهده شدو اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان می دهد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز پر خونی در گروه چهار با یک توزیع نرمال است .

۳-۴-۵ - آنالیز آماری پر خونی در گروه کنترل :

Congestion5

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	No	2	28.6	40.0	40.0
	mild	2	28.6	40.0	80.0
	moderate	1	14.3	20.0	100.0
	Total	5	71.4	100.0	
Missing	System	2	28.6		
	Total	7	100.0		

جدول 3-12

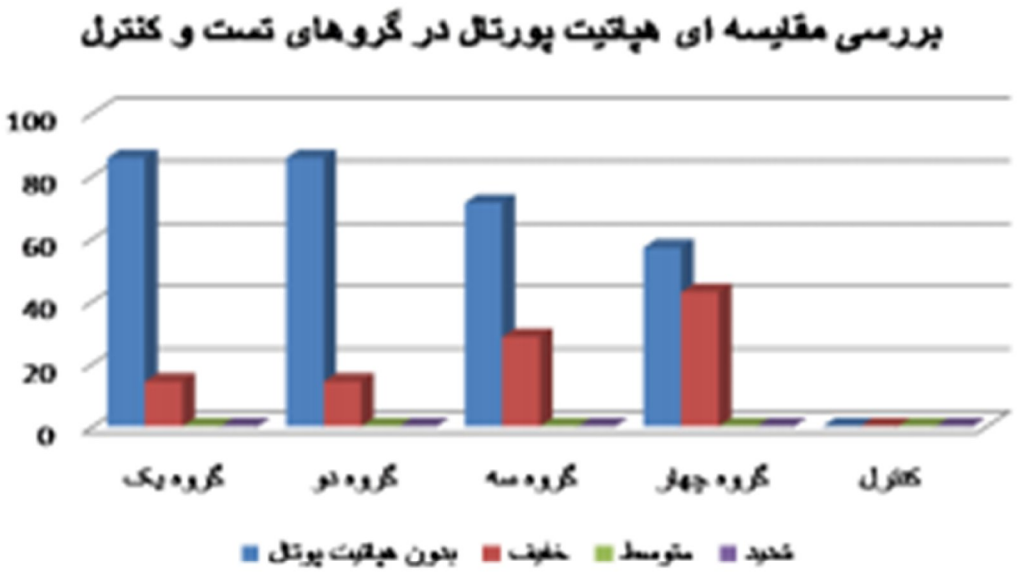


نمودار3-13

در گروه کنترل ۲۸.٦ درصد از موارد پرخونی بصورت خفیف و ١٤.٣ در صد از موارد نیز در حد متوسط است منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز پر خونی در گروه کنترل با یک توزیع نرمال است .

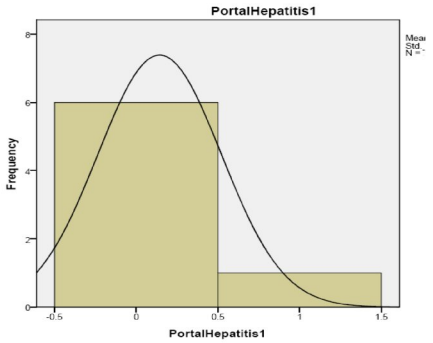
۳-۵- هپاتیت پورتال

سطوح معنی دار در مورد هپاتیت پورتال : دوز دریافتی یک رت 1.33 mg/kg معادل (5mg/kg/15day) سبب ایجاد هپاتیت پورتال خفیف در گروه یک گردید . با توجه به اینکه سطح مجاز هپاتیت پورتال در حد خفیف است لذا غلظت دریافتی1.33 mg/kg سطح معنی دار نانوذره اکسید روی در مورد آسیب کبدی بصورت هپاتیت پورتال است .



بررسی مقایسه ای هپاتیت پورتال در گروه های تست و کنترل براساس آزمون Paired samples t-test ثابت می کند بین گروه چهار با کنترل اختلاف معنی داری وجود دارد.

۳-۵-۱- آنالیز آماری هپاتیت پورتال در گروه یک:



نمودار 3-14

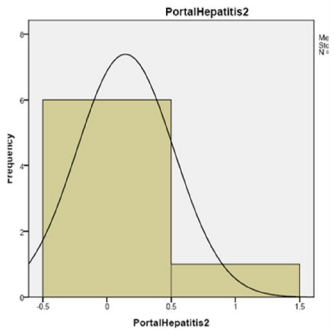
PortalHepatitis1

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	6	85.7	85.7	85.7
mild	1	14.3	14.3	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-13

۱٤.۳ درصد از موارد هپاتیت پورتال در حد خفیف دیده شد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز هپاتیت پورتال در گروه یک با یک توزیع نرمال است .

۳-۵-۲- آنالیز آماری هپاتیت پورتال در گروه دو :



نمودار 3-15

PortalHepatitis2

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	6	85.7	85.7	85.7
mild	1	14.3	14.3	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-14

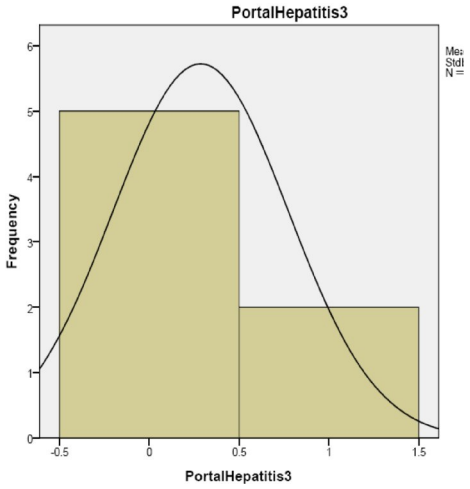
هپاتیت پورتال در گروه دو ۱٤.۳ درصد در حد خفیف گزارش شد شد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز هپاتیت پورتال در گروه دو با یک توزیع نرمال است .

۳-۵-۳- آنالیز آماری هپاتیت پورتال در گروه سه :

PortalHepatitis3

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	5	71.4	71.4	71.4
mild	2	28.6	28.6	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-15



نمودار 3-16

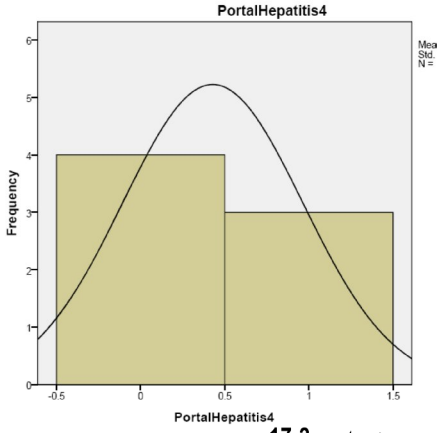
در همین گروه ۲۸.٦ درصد هپاتیت پورتال مشاهده شد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز هپاتیت پورتال در گروه سه با یک توزیع نرمال است .

۳–۵–۴– آنالیز آماری هپاتیت پورتال در گروه چهار:

PortalHepatitis4

Valid	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
No	4	57.1	57.1	57.1
mild	3	42.9	42.9	100.0
Total	7	100.0	100.0	

جدول 3-16



نمودار 3-17

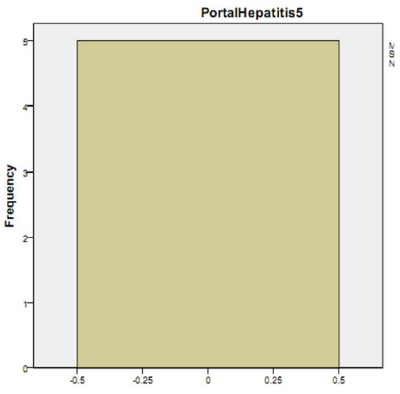
در این گروه ۴۲.۹ درصد از موارد هپاتیت پورتال در حد خفیف مشاهده شد منحنی روی نمودار نیز نشان دهنده بروز هپاتیت پورتال در گروه چهار با یک توزیع نرمال است .

۳–۵–۵– آنالیز آماری هپاتیت پورتال در گروه پنج :

PortalHepatitis5

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	No	5	71.4	100.0	100.0
Missing	System	2	28.6		
	Total	7	100.0		

جدول 3-17



نمودار 3-18

۳-۶- آنالیز آماری هیستوپاتولوژی :

نتیجه آزمون Paired Sample T test جهت مقایسه میزان آسیب های پاتولوژیک در گروه های مورد بررسی

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	Apoptosis1 - Apoptosis5	.800	.837	.374	-.239	1.839	2.138	4	.099
Pair 2	Apoptosis1 - Apoptosis4	-1.286	1.254	.474	-2.445	-.126	-2.714	6	.035
Pair 3	Apoptosis4 - Apoptosis5	2.000	.707	.316	1.122	2.878	6.325	4	.003
Pair 4	Congestion1 - Congestion5	.200	1.095	.490	-1.160	1.560	.408	4	.704
Pair 5	Congestion1 - Congestion4	-.714	.756	.286	-1.413	-.015	-2.500	6	.047
Pair 6	Congestion4 - Congestion5	1.200	.837	.374	.161	2.239	3.207	4	.033
Pair 7	PortalHepatitis1 - PortalHepatitis5	.200	.447	.200	-.355	.755	1.000	4	.374
Pair 8	PortalHepatitis1 - PortalHepatitis4	-.286	.488	.184	-.737	.166	-1.549	6	.172
Pair 9	PortalHepatitis4 - PortalHepatitis5	.600	.548	.245	-.080	1.280	2.449	4	.070

جدول 3-19

HESTOPATHOLOGICAL EVENTS GROUP 1		PERCENT
APOPTOSIS	NO	42.9
	MILD	42.9
	MODERATE	14.2
	HIGH	0.00
CONGESTION	NO	42.9
	MILD	42.9
	MODERATE	14.2
	HIGH	0.00
Portal Hepatitis	NO	85.7
	MILD	14.3
	MODERATE	0.00
	HIGH	0.00

جدول 3-20

HESTOPATHOLOGICAL EVENTS GROUP2		PERCENT
APOPTOSIS	NO	42.9
	MILD	42.9
	MODERATE	14.2
	HIGH	0.00
CONGESTION	NO	0.00
	MILD	28.6
	MODERATE	42.9
	HIGH	28.6
Portal Hepatitis	NO	85.7
	MILD	14.3
	MODERATE	0.00
	HIGH	0.00

جدول 3-21

HESTOPATHOLOGICAL EVENTS GROUP 3		PERCENT
APOPTOSIS	NO	0.00
	MILD	14.3
	MODERATE	28.6
	HIGH	57.1
CONGESTION	NO	0.00
	MILD	28.6
	MODERATE	71.4
	HIGH	0.00
Portal Hepatitis	NO	71.4
	MILD	28.6
	MODERATE	0.00
	HIGH	0.00

جدول 3-22

HESTOPATHOLOGICAL EVENTS GROUP 4		PERCENT
APOPTOSIS	NO	14.3
	MILD	0.00
	MODERATE	57.1
	HIGH	28.6
CONGESTION	NO	28.6
	MILD	0.00
	MODERATE	71.4
	HIGH	0.00
Portal Hepatitis	NO	57.1
	MILD	42.9
	MODERATE	0.00
	HIGH	0.00

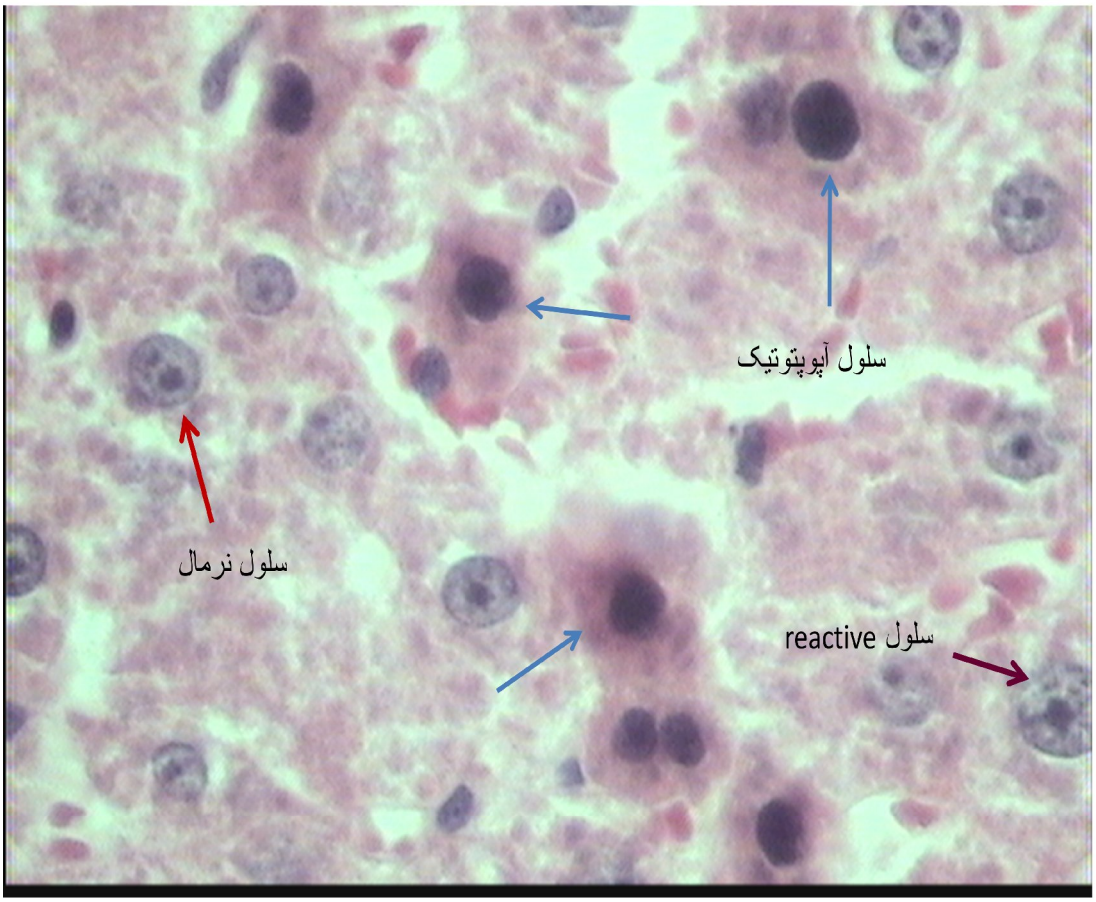
جدول 23-3 آنالیز نتایج بدست آمده بر اساس آزمون one Sample T test است.

One-Sample Test

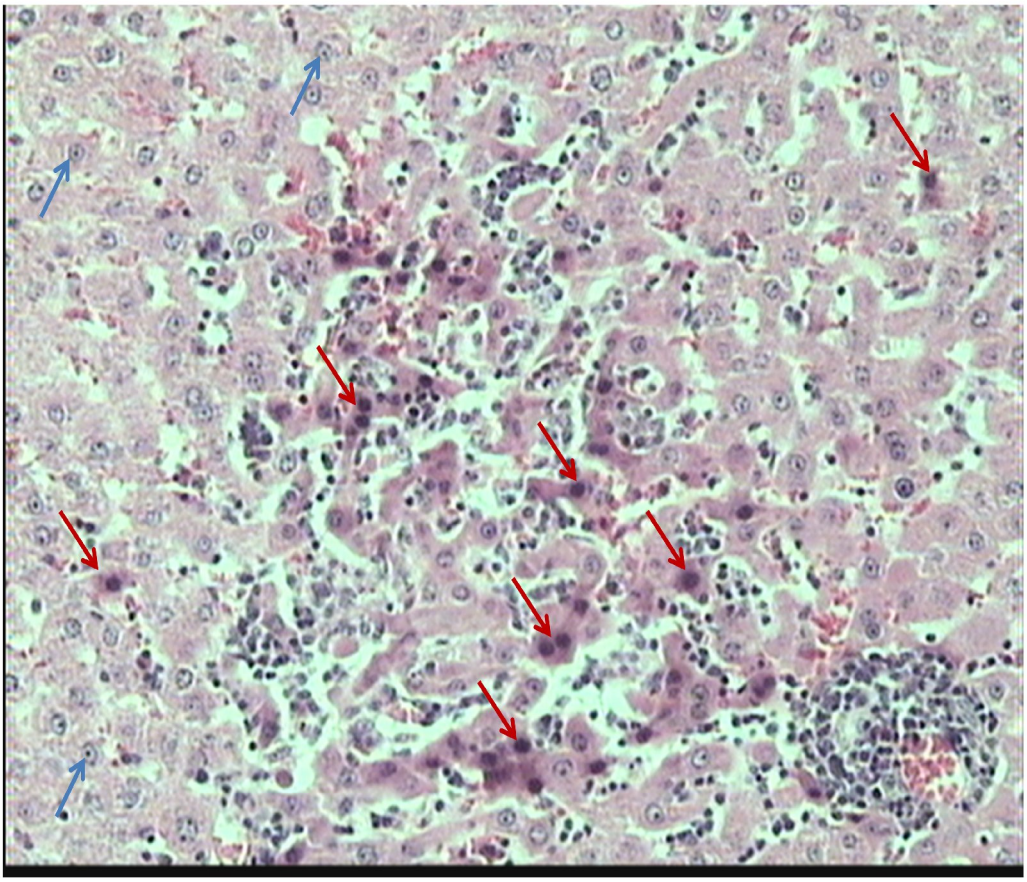
	Test Value = 0					
					95% Confidence Interval of the Difference	
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Lower	Upper
ALT1	22.317	6	.000	33.28571	29.6362	36.9352
ALT2	22.280	4	.000	36.20000	31.6888	40.7112
ALT3	16.245	6	.000	46.14286	39.1926	53.0931
ALT4	11.485	3	.001	60.50000	43.7354	77.2646
ALT5	63.375	5	.000	31.33333	30.0624	32.6043
AST1	42.749	5	.000	82.16667	77.2258	87.1076
AST2	8.946	3	.003	92.50000	59.5933	125.4067
AST3	9.133	5	.000	111.16667	79.8772	142.4562
AST4	8.969	6	.000	125.42857	91.2099	159.6473
AST5	29.230	5	.000	71.50000	65.2121	77.7879
ALP1	13.731	5	.000	185.66667	150.9073	220.4261
ALP2	10.655	6	.000	225.42857	173.6569	277.2003
ALP3	9.289	6	.000	241.00000	177.5171	304.4829
ALP4	11.816	6	.000	326.85714	259.1717	394.5426
ALP5	46.727	5	.000	168.33333	159.0729	177.5938

۳-۱- تصاویر هیستوپاتولوژی :

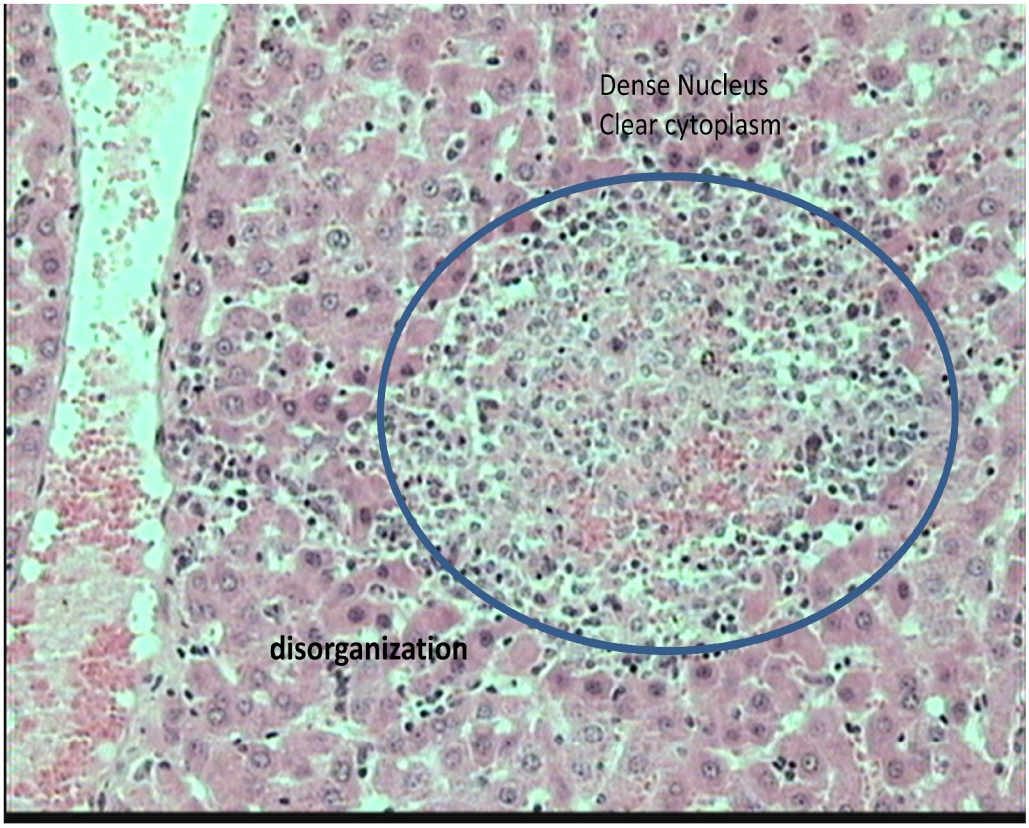
پرخونی به همراه آپوپتوز ذر حد متوسط با بزرگ نمایی 100X درگروه1



پرخونی متوسط به همراه آپوپتوز شدید وهپاتیت پورتال با بزرگ نمایی 40X درگروه4



پرخونی متوسط به همراه آپوپتوز شدید وهپاتیت نکروتیک کانونی بار بزرگ نمایی 40X درگروه4



فصل چهارم : بحث و پیشنهادات

همانطور که در فصل اول گفته شد نانوذرات اکسید روی کاربرد بسیار زیادی در صنایع و بهداشت ودرمان و کشاورزی دارد به همین دلیل چون تماس با نانوذرات اکسید روی در طیف بسیار وسیعی قرار دارد لذا سنجش اثرات سمیت آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است در پژوهش حاضر اثر سمیت نانو ذرات اکسید روی Zno که هدف اصلی از این بررسی ارزیابی اثر این عنصر بر بافت کبد در موش و همچنین اندازه گیری میزان آنزیم های کبدی در خون به عنوان ملاکی از سمیت این ماده بوده است.

مکانیسم احتمالی آسیب سلول های کبدی به این صورت است که نانو ذرات اکسید روی در دوزهای پائین ایجاد آپوپتوز و در دوزهای بالا ایجاد مرگ سلولی می کنند. همچنین از طریق افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش آنتی اکسیدانت های سلولی نظیر گلوتانیون و افزایش درگیری سلول ها در فرایندهای ایمنی آسیب سلولی افزایش می یابد (۹۹).

بنابراین می توان چنین نتیجه گیری کرد که میزان سمیت نانوذرات اکسید روی علاوه بر خصوصیات فیزیکو شیمیایی به شدت مدت زمان در معرض قرار گرفتن و میزان غلظت مربوط می باشد چرا که با افزایش غلظت وافزایش در معرض قرار گرفتن احتمال آسیب سلولی نیز افزایش می یابد.

نتایج تحقیق مورد مقایسه با خلاصه ای از کارهای انجام شده در این رابطه قرار می گیرد.

Wang و همکاران در سال ۲۰۰۸ سمیت تحت حاد نانو ذرات اکسید روی باسایزهای ۲۰و۱۲۰ نانومتر بصورت گاواژ دهانی ودرموش بالغ سوری ودر اندام های کبد طحال پانکراس و قلب واستخوان مورد مطالعه قراردادند که نتایج آن به شرح زیر است :

بررسی های تحت شرایط حاد پاتولوژی و بیوشیمیایی نشان می دهد که اثرات توکسیک نانو ذرات اکسید روی با سایز ۲۰و ۱۲۰ متفاوت می باشد. برای مثال ویسکوزیته یا غلظت خون در دوز متوسط باسایز ۲۰ نسبت به دوزهای بالا در همان سابز کمتر است. در این بررسی در معرض قرار گرفتن

موش بالغ سوری با نانو ذرات اکسید روی با سایز ۲۰ باعث ادم و آسیب هپاتوسیت های کبدی و التهاب لوزالمعده شد ودر سایز ۱۲۰ نانومتر آسیب پاتولوژیکی در معده و کبد وقلب و طحال مشاهده شد. به هر حال در سایز های ۱۲۰ و۲۰ نانومتری آسیب های بافتی مورد مطالعه با افزایش دوز بیشتر، مشاهده شد (۷۹).نتایج پژوهش حاضر نتایج تحقیق Wang و همکاران را تاءیید می کند .

بررسی اثرنانوذرات اکسید روی بر ریه ومایع لاواژ برونشیال رت که توسط SAYESوهمکاران درسال ۲۰۰۷ انجام شد، نشان دادند که با ۱ هفته در معرض قرارگرفتن ایجاد اثرات توکسیک وافزایش لاکتات دهیدروژناز مایع برونش را به دنبال داشته وافزایش التهاب وافزایش تعداد نوتروفیل ها نیز گزارش گردید. (۸۰)

لیو و همکاران در سال ۲۰۰۸ ثابت کردند که دراثر در معرض قرار گرفتن موش ها با نانوذرات اکسید روی مسمومیت حاد افزایش التهاب و ضخیم شدن دیواره های آلوئول در ریه ها در تمام موش ها وجود داشته و با افزایش دوز این نتایج تشدید شده و کاهش وزن و کم خونی نیز گزارش گردید(۸۱) .

دینگ و همکاران درسال ۲۰۰۸ نشان داد که در معرض قرار گرفتن بصورت دهانی با دوز پایین از نانوذرات اکسید روی در موش باعث افزایش فاگوسیتوز از ماکروفاژهای صفاقی موش (۸۲) .

KUSCHNER و همکاران در تحقیقات خود در سال ۱۹۹۵ درباره در معرض قرار گیری انسان از طریق استنشاق با نانو ذرات اکسید روی ثابت کردند که استنشاق بخار اکسید روی بیماری شبه آنفولانزا به نام تب بخار فلزی ایجاد می کند که مکانیسم آن هنوز نامشخص است. بررسی مایع لاواژ برونش بدست آمده از افراد ی که در معرض دود خالص اکسید روی بودند با افرادی که خارج از این شرایط بودند ثابت کرد که غلظت سایتوکین ها افزایش یافته است. نقش احتمالی سایتوکین های پیش التهابی درافرادی که در معرض دود خالص اکسید روی قرار گرفته اند روشن می سازد که در این شرایط همچنین فعالیت لکوسیت ها نیز افزایش نشان می دهد(۸۴,۸۳).

در مطالعات دیگری گزارش هایی درباره photocitation بوسیله نانوذرات اکسید روی انجام شده است واین مطالعات نشان داد که هیچ واکنش پوستی مشاهده نشده بنابراین اکسید روی به عنوان یک ماده خطر ناک برای پوست بدن به حساب نمی آید(۸٦,۸۵) .

در تحقیقات دیگری در مورد SENSITISATION نانوذرات اکسیدروی ثابت کرد که این ماده برای انسان محرک پوستی نیست(۸۸,۸۷).

بررسی های سمیت نانوذرات اکسید روی در کشت سلولی سلول های انسان نشان داد که اثرات سیتوتوکسیک نانوذرات اکسیدروی با کنترل اندازه و سنتز آن و همچنین نوع سلول متفاوت می باشد. به همین دلیل بررسی اثرات سمیت نانو ذرات اکسید روی باتوجه به کاربردهای آن در طیف وسیعی از انواع مختلف سلول ها لازم وضروری می باشد. سنجش اثرات توکسیک آن در کشت سلولی سلول های دستگاه ایمنی بدن انسان نشان می دهد سلول های لنفوسیت نسبت به سمیت نانوذرات مقاوم ومنوسیت ها بیشترین حسا سیت را نشان داده اند .علاوه بر این نانوذرات اکسید روی باعث القاء تولید سایتوکین های پیش التهابی اینترفرون Y و TNF-aو اینترلوکین ۱۲در غلظت های کمتر شدند (۸۹).

تعداد زیادی از مطالعات در محیط آزمایشگاهی سمیت اکسید روی را نشان داده اند. برای مثال در سال ۲۰۰۹ ، Cory Hanley ثابت کرد که نانو ذرات اکسیدروی در محیط کشت منجر به تولیداکسیژن واکنش پذیر (ROS) شده و بدنبال آن آسیب اکسیداتیو و التهاب و مرگ سلول وهمچنین تجزیه اکسیدروی در محیط کشت سلول اتفاق افتاده است. همچنین مشخص شده است که ROS درون سلولی ارتباط معنی داری با بقاء و میزان لاکتات دهیدروژناز دارد (۹۰) .

در تحقیق دیگری در سال ۲۰۰۹ ،Menon, D., Nair نشان دادند که نانو ذرات اکسید روی بر سلولهای سرطانی استئو بلاست استخوان ساز (MG-63) موجب کاهش قابلیت زنده ماندن در ٤۰درصد موارد شده است (۹۱) .

Lee, J. وهمکاران در سال۲۰۰۸ نشان دادند که شکل ذرات اکسید روی در میزان سمیت آنها دخیل می باشد یعنی سمیت نانوذرات میله ای شکل بیشتر از ذرات کروی شکل می باشد (۹۲).

Reddy و همکاران در تحقیقی در سال ۲۰۰۷ اثرات میزان غلظت و دوز نانوذرات بر میزان سمیت اثر مستقیم داشته بطوری که نانو ذرات اکسید روی تنها در ۱۰میلی مول بر لیتر یا ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر موجب مرگ ۵۷درصد از سلولها می شود (۹۳) نتایج این پایان نامه از لحاظ ایجاد نکروز بطور کلی مشابه تحقیق ردی و همکاران بوده است.

مطالعه اثرات ضد باکتریایی اکسید روی و اندازه گیری اسپین رزنانس اکسید روی در سال ۲۰۱۰ که توسط Venubabu Thati انجام گرفت نشان داد که سوسپانسیون آبی نانو ذرات کوچک اکسید روی باعث تولید و افزایش فعالیت اکسیژن خاص می گردد. برای مثال تولید هیدروکسیل رادیکال می کند و این باعث افزایش قابل توجه استرس اکسیداتیو می شود(۹٤) .

Jeng وهمکاران در سال ۲۰۰٦سمیت نانوذرات اکسید روی را کشت سلول های پستانداران مورد مطالعه قراردادند و تغییرات چشمگیری را در مورفولوژی سلول پس از ۲٤ ساعت از در معرض قرار گرفتن با نانوذرات اکسید روی مشاهده کردند بخصوص در غلظت بلاتر از ug/ml ۵۰که یک حالت نامنظم را در سلول مشاهده کردند در واقع سلول ها با وجوداینکه غشاء پلاسمایی را حفظ کرده بودند اما دچار آپوپتوز شدند. نتایج این پایان نامه از نظر ایجاد تغغیرات مورفولوژیک و القاء آپوپتوز مشابه مطالعه Jeng وهمکاران بوده است.

در این مطالعه سلول ها در غلظت ug/ml ۱۰۰دچار نکروز شده ودر پلیت های کشت از هم جدا شده بودند و در غلظت های بین ۵۰ تا ۱۰۰ ug/ml نانوذرات اکسید روی باعث مرگ ۱۵ تا ۵۰ درصد از سلول ها شدند.

نتایج بدست آمده از غلظت ۲۵ug/ml از نانو ذرات اکسید روی به مدت ۸ ساعت چنین گزارش شده است که عملکرد میتوکندری دچار اختلال شده وبه میزان ۸۰ درصد کاهش نشان داده است .

نتایج بدست آمده در پایان نامه نتایج Jeng وهمکاران را از لحاظ آسیب به میتوکندری تایید می کند. میزان زیاد AST آزاد شده در خون رت در مطالعه ما نشان دهنده آسیب غشاو میتوکندری در سلول های کبد می باشد.

همچنین ثابت شده است که نانوذرات اکسید روی بیش از شکل اکسید دیگر فلزات سمی می باشدو این میزان سمیت وابسته به میزان دوز یا غلظت نانوذرات اکسید روی می باشد. تغییرات بیوشیمیایی چنین گزارش شده است که در مدت زمان ٤ ساعت پس از انکو باسیون افزایش قابل توجهی در نشت لاکتات دهیدروژناز مشاهده شده است .ودر غلظت های پایین تر بعداز ٦ ساعت پس از زمان تماس این اتفاق می افتد(۹۵).

brayner و همکاران در سال ۲۰۰٦ ثابت کردند که باکتری *E. coli* پس از در معرض قرارگیری با دی اتیلن گلیکول ونانوذرات اکسید روی آسیب دیده و در گرم منفی ها غشاء کاملا" به هم ریخته و این باعث افزایش نفوذ پذیری غشاء نسبت به نانوذرات اکسید روی شده وافزایش تجمع نانو ذرات اکسید روی در غشاء درونی و بیرونی می شود (۹٦).

Jons و **همکاران درسال ۲۰۰۸** فعالیت آنتی باکتریایی نانوذرات اکسید روی را در یک سوسپانسیون در طیف وسیعی ازباکتری ها مشخص کردند ودرمیان نانوذرات چهارنانوذره شامل (Mgo,TIO2,CUO,Ceo2) از مهار رشد باکتری ها را نشان ندادند . اما نانوذرات ALO2 به میزان ۵۰درصد ونانوذرات Zno به میزان بیش از ۵۰درصد و بطور معنی داری باعث مهار رشد باکتری ها ی استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به گروه کنترل شدند (۹۷) .

Zhang **و همکاران نشان دادند** که اکسید روی باعث مرگ بیش از ۵۰درصد از باکتری *E. coli* می شود که این میزان سمیت وابسته به اندازه و غلظت نانوذرات می شود که هر اندازه نانوذرات کوچکتر ومیزان غلظت بالا باشد سمیت نیز بیشتر است(۹۸) .

شدت آسیب کبدی به دنبال مسمومیت با اکسید روی از عدم تغییر تا هپاتیت شدید، تغییر چربی و تغییر وضعیت سلولهای کوپفر و سلولهای پارانشیمال متغیر است . آسیب کبدی می تواند موجب هیپوگلیسمی، هیپوپرتئینی، اختلال انعقادی و در نهایت نارسائی کبد شود (۸).

پیشنهادات

۱- با توجه به اینکه میزان سمیت نانوذرات اکسید روی رابطه مستقیمی با افزایش مدت زمان در معرض قرار گرفتن وافزایش میزان غلظت دارد و از آنجا که جزء ترکیبات بیوشیمیایی بدن می باشد لذا استفاده ازنانوذرات اکسید روی همراه با ترکیبات دیگر جهت درمان سرطان می تواند راهگشای زمینه های تحقیقاتی بسیاری در درمان بیماری ها باشد.

۲- سم شناسی و بررسی و مشخص نمودن رابطه بین شکل واندازه نانو ذرات اکسید روی از نظر میزان نفوذ در سلول وبررسی تغییرات ساختاری و بیوشیمیایی .

۳- با توجه به اینکه مسمومیت ناشی از در معرض قرارگرفتن بخارات اکسید روی ایجاد عوارضی شبیه به بیماری ایدز ایجاد می کند لذا بررسی تغییرات دستگاه ایمنی و تغییرات عصبی و بررسی ژنتیکی وحتی هورمونی این سمیت می تواند مهم باشد.

٤- با توجه به توزیع بسیار گسترده ذرات اکسید روی در منابع آبی و خاکی وهمچنین کاربرد بسیار وسیع آن در صنایع مختلف و بهداشت ودرمان لذا بررسی سم شناسی آن از نظر میزان و چگونگی در معرض قراگرفتن آن در صنایع مختلف از دیدگاه سم شناسی و طب کار می تواند مهم باشد.

منابع فارسی

۱. دکتر صلواتی نیاسری مسعود،فرشته زینب؛نانوشیمی روشهای ساخت ،بررسی خواص و کاربرد ها،انتشارات علم و دانش ۱۳۸۸،ص۵۱-۲۵.

۲. قوامی منیره؛سنتز نانوذرات فلزی و محاسبه انرژی چند ترکیب الی ،دانشگاه تربیت مدرس تهران ،دانشکده علوم پایه ؛پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی الی ۱۳۸۵

۳. بوکر ریچارد،بویسن ارل/مترجم رضائی امیر حسین؛کتاب جامع نانو تکنولوژی،انتشارات نشر گستر ۱۳۸۷،ص۱۷-۱۵.

٤. .مهندس بهبهانی سرور،مهندس کریمی مریدانی محمد ؛نانو ؛تکنولوژی برتر قرن بیست و یکم مجله مهندسی پزشکی ۱۳۸٦ شماره ۱۰۷،ص۳٤

۵.. کمیته مطالعات سیاست نانوتکنولوژی، ۵..برنامه پیشگامی ملی نانوتکنولوژی) پیش به سوی انقلاب .صنعتی بعدی(، تهران، نشر آتنا، ۱۳۸۰

٦. قاضی نوری سپهر، کمیته مطالعات ٦..سیاست نانوتکنولوژی، دفتر همکاریهای فنآوری، نگاهی به برنامه ی ملی نانوتکنولوژی کشور آمریکا، تهران، .کمیته مطالعات سیاست نانوتکنولوژی، ۱۳۸۰

۷. نیاورانی ا؛فیزیولوژی پزشکی گایتون، نشر سماط،۱۳۷۹ص۱۲۱٦.

۸- برومند عبدالکریم،شریعت تربقانی انوشه ؛تشخیص و درمان مسمومیت ها؛انتشارات چهر ۱۳۷۷،ص٤٤٤-٤٤۲.

۹.حسینی تهرانی س،عرفانیان احمد پور م؛مبانی زیست شناسی سلولی ومولکولی ،انتشارات اورست ۱۳۷۷ص۵۲۹

۱۰.دکتر گرانسر علی؛ بیوشیمی بالینی و آزمایشگاهی ،انتسارات چهر ۱۳۷۹ص۲۰۹-۱۹۲. (۱۲)

۱۱. دکتر سید علی اصغر مشتاقی؛ بیوشیمی پزشکی نوین تاءلیف انتشارات جهاددانشگاهی ص۵۸-٦۰.

REFERENCE

12-. Bystrzejewska-Piotrowska ,G ,.J .Golimowski,and P.L .Urban ,Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management.Waste Management, 2009. 29(9): p. 2587-2595.

13- Kuzma, J. and J. Besley, Ethics of Risk Analysis and Regulatory Review: From Bio- to Nanotechnology.NanoEthics, 2008. 2(2): p. 149-162.

14- Yang, W., J.I. Peters, and R.O. Williams Iii, Inhaled nanoparticles--A current review. International Journal of Pharmaceutics, 2008. 356(1-2): p. 239-247

15- Jennifer L. Application of nanotechnology to biotechnology, Curr Opin Struct Biol. 2000; 125: 29-33.

16- Musgrave C, Perry J. Theoretical studies of a hydrogen abstraction tool for nanotechnology. Nanotechnology. 1991; 2: 187-195.

17- Dubois L. Synthesis, structure and properties of model organic surfaces.,
Annu Rev Phys Chem. 1992; 60: 437.

18-.Lee KS, EL-Sayed MA. Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: Sensitivity of Plasmon response to size, shape and metal composisition. J. Phys. Chem, 2006; 110:19220-19225

19-.Evanoff Jr, Chomanov G. Synthesis and Optical properties of silver nanoparticles and arrays. Chem physchem, 2005; 6:1221-1231

20-15.Elechiguerra J.L, Burt J.L, Morones J.R, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara H.H, Yacaman MJ. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1.J. Nanobiotechnol., 2005; 3:6

21-.Makarava N, Parfenov A, Baskakov I.V. Water-soluble hybrid nanocluster with extra bright and photostable emissions: a new tool for biological imaging. Biophys. J., 2005; 89:572-580

22-.Sun Y, Xia Y. Shape controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. Siense, 2002; 298:2176-2179

23-.Zhang Y, Chen F, Zhuang J. Synthesis of nanoparticles via electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes.Chem. Commun (Camb), 2002;7:2814-2815

24-.Bogle K.A, Dhole S.D, Bhoraskar V.N. Silver nanoparticles:Synthesis and size control by electron irradiation. Nanotechnology, 2006;17:3204-3208

25-.Sergeev MB, Kasaikin AV, Litmanivich AE. Cryochemical synthesis and properties of silver nanoparticles dispersion stabilished by poly (2-dimethylaminoethyl methacrylate). Mendeleev Commun., 1999; 9:130-132

26-.Pyatenko A, Shmokawa K, Yamaguchi M. Synthesis of silver nanoparticles by laser ablation in pur water. J. Appl. Phys. A: Mater. Sci. Proces, 2004; A79:803-806

27-.Kobayashi Y, Katakami H, Mine E, Nagao D, Konno M, Liz Marzan LM. Silica coating of silver nanopaticles using a modified stober method. J. Colloid Interf. Sci., 2005; 283:392-396

28-.Postma HW, Teepen T, Yao Z, Grifoni M, Dekker C. Carbon nanotube single-electron transistors at room temperature. Science, 2001; 293:76-79

29-.Chen X, Schluesener H.J. Nnosilver: A nanoproduct in medical application. Toxicology Letters, 2008; 176 :1-12

30-.Cheng D, Yang J, Zhao Y. Antibacterial materials of silver nanoparticles application in medical appliances and appliances for daily use. Chin. Med. Equip.J., 2004; 4:26-32

31-.Cohen MS, Stern JM, Vanni AJ, Kelley RS, Baumgart E, Field D, Libertino JA, Summerhayes IC. In vitro analysis of nanocrystalline silver-coated surgical mesh. Surg. Infect., 2007; 8:397-403

32- Zhang LW, Zeng L, Barron AR, Monteiro-Riviere NA. A Biological interactions of functionalized single-wall carbon nanotubes in human epidermal keratinocytes. Int. J. Toxicol., 2007 ;26:103-113

33- Muangman P, Chuntrasakul C, Silthram S, Suvanchote S, Benjathanung R, Kittidacha S, Rueksomtawin S. Comparison of efficacy of %1 silver sulfadiazine and acticoat for treatment of partial-thickness burn wounds. J. Med. Assoc. Thai., 2006; 89:953-958

34- Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. Curr. Probl. Dermatol, 2006; 33:17-34

35- Lesniak W, Bielinska AU, Sun K, Janczak KW, Shi X, Baker JR, Balogh LP. Silver / dedrimer nanocomposites as biomarkers: fabrication, characterization, in vitro toxicity and intracellular detection. Nano Lett., 2005; 2123-2130

36- Melaiye A, Sun Z, Hindi K, Milsted A, Ely D, Reneker DH, Tessier CA,Youngs WJ. Slver (I) imidazol cyclophane gem-diol complexes encapsulated by electrospun tecophilic nanofibers: formation of nanosilver particles and antimicrobial activity. J. Am. Chem. Soc., 2005; 127:2285-2291

37- Margaret IP, Lui SL, Poon VK, Lung I, Burd A. Antimicrobial activities of silver dressing: an in vitro comparison. J. Med. Microbial., 2006; 55:59-63

38-.Samuel U, Guggenbichler JP. Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nanosilver impregnated catheter. Int. J. Antimicrob. Agents, 2004; 23(Suppll): S75-S78

39- Vigneshwaran N, kathe AA, Varadarajan PV, Nachane RP, Balasubramanaya RH. Functional finishing of cotton fabrics using silver nanoparticles. J. Nanosci. Nanotechnol., 2007; 7: 1893-1897

40-.Wang XB, Gao HY, Hou BL, Huang J, Xi RG, Wu LJ. Nanoparticles realgar powders induce apoptosis in U937 cells through caspase MAPK and mitochondrial pathways. Arch. Pharm. Res., 2007;30:653-658

41- Taton T, Mirkin C, Letsinger R. Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes. Science, 2000; 289:1757-1760

42- West JL, Halas NJ. Engineered nanomaterials for biophotonics applications: improving sensing, imaging and therapeutics. Annu. Rev. Biomed. Eng., 2003; 5:285-292

43-Tian B, Zheng Xi, Kempa Thomas J, Fang Yi,Yu N, Yu G, Huang J, Lieber Charles M. Coaxial silicon nanowires as salar cells and nanoelectronic power sources. Nature, 2007; 449:885-889

44- Xiang J, Lu W, Hu Y, Wu Y, Yan H, Lieber Charles M. Ge/Si nanowire heterostructures as high performance field-effect transistors. Nature, 2006; 441:489-493

45. Maureen R. Gwinn and Val Vallyathan Nanoparticles: Health Effects—Pros and Cons National Institute for Occupational Safety and Health, Morgantown, West Virginia, USA VOLUME 114 | NUMBER 12 | December 2006

46-Maynard A. D.; Safe handling of Nanotechnology; Nature 444:16 (2006): 267-

47-Werner I. Hagens Regulatory Toxicology and Pharmacology 49 (2007) 217–229

48. M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, P.C. Eklund: Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes (Academic Press, San Diego 1996).

49. Handy, R.D. and B.J. Shaw, Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: Implications for public health, risk assessment and the public

50. Crosera, M., et al., Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. International Archives of Occupational and Environmental
Health, 2009. 82(9): p. q043-1055.

51. Moss, O.R., Insights into the health effects of nanoparticles: Why numbers matter. International Journal of Nanotechnology, 2008. 5(1): p. 3-14.

52. Faraji, A.H. and P. Wipf, Nanoparticles in cellular drug delivery. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009. 17(8): p. 2950-2962.

53. Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. 2005. Nanomedicine: current status and future prospects. Faseb J 19(3):311–330.

54-.Oberdo" rster G, Maynard A, Donaldson K, et al. principles for characterizingthe potential human effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. Review. Part fibre Toxicol 2005; 2:1 – 35.

55-.Oberdo" rster G, Maynard A, Donaldson K, et al. principles for characterizingthe potential human effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. Review. Part fibre Toxicol 2005; 2:1 – 35.

56.- . Dumora, C. and Lacoste, A. 1999. Glutamic-oxaloacetic trasaminase(GOT) avtivity in commercially processed chicken: an indicator or propuct end-point temperature. Eur. J. Biochem, 133,119-125.
57-. Mehta,P. and Hale, T. 1995. Aminotransferases: demonstration of homology and division in to evolutionary subgroup. Europ. J. Biochem, 214, 549-561.

58-. Subbarao, V. and Gupta, M. L. 1996. Change in serum transaminases due to hepatotoxicity and the rols of an indigenous hepatotonic liv52. Yugoslav. Physiol. Pharm. Acta, 12, 14-18.

59-. Word health organization. 2001. Environmental health criteria 224: Arsenic and arsenic compounds(second edition). Finland, Geneve, 521.

60-. Jens, J. J. and Hanna, H. 2002. About blood tests. Available

61-Hernandezbattez, A; Gonzalez, R; Viesca, J; Fernandez, J; Diazfernandez, J; MacHado, A; Chou, R; Riba, J (2008). "CuO, ZrO2 and ZnO nanoparticles as antiwear additive in oil lubricants". *Wear* **265**: 422.

62-Bo S, Lezo A, Menato G, Gallo ML, Bardelli C, Signorile A. Gestational hyperglycemia, zinc, selenium, and antioxidant vitamins. Nutrition 2005; 21: 186-91

63- Nav Bharat Metallic Oxide Industries Pvt. Limited. . Access date January 25, 2009.

64-Wiberg, E. and Holleman, A. F. (2001). *Inorganic Chemistry*. Elsevier.

65- Greenwood, Norman N.; Earnshaw, Alan. (1997), *Chemistry of the Elements* (2nd ed.), Oxford: Butterworth-Heinemann

66- Spero, J. M.; Devito, B.; Theodore, L. (2000). *Regulatory chemical handbook*. CRC Press.

67- Nicholson, J. W; Nicholson, J. W (1998). "The chemistry of cements formed between zinc oxide and aqueous zinc chloride". *Journal of Materials Science* **33**: 2251.

68- Ferracane, Jack L. (2001).. Lippincott Williams & Wilkins. pp. 70,143.

69- Schulz, D. *et al.* (2008). "Inductively heated Bridgman method for the growth of zinc oxide single crystals". *Journal of Crystal Growth* **310**: 1832.

70-Baruah, Sunandan; Thanachayanont, Chanchana; Dutta, Joydeep (2008). "Growth of ZnO nanowires on nonwoven polyethylene fibers" (free download pdf). *Science and Technology of Advanced Materials* **9**: 025009.

71- Mahmud, Shahrom; Johar Abdullah, Mat; Putrus, Ghanim; Chong, John; Karim Mohamad, A. (2006). "Nanostructure of ZnO Fabricated via French Process and its Correlation to Electrical Properties of Semiconducting Varistors". *Synthesis and Reactivity in Inorganic Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry (formerly Synthesis and Reactivity in Inorganic and* **36**: 155.

72- Porter, F. (1991). *Zinc Handbook: Properties, Processing, and Use in Design*. CRC Press..

73- Nav Bharat Metallic Oxide Industries Pvt. Limited. . Access date January 25, 2009.

74- Brown, H. E. (1957). *Zinc Oxide Rediscovered*. New York: The New Jersey Zinc Company.

75- Li, Qun; Chen, Shui-Lin; Jiang, Wan-Chao (2007). "Durability of nano ZnO antibacterial cotton fabric to sweat". *Journal of Applied Polymer Science* **103**: 412.

76- Saito, M. (1993). "Antibacterial, Deodorizing, and UV Absorbing Materials Obtained with Zinc Oxide (ZnO) Coated Fabrics". *Journal of Industrial Textiles* **23**: 150.

77-Harding, Fred John (2007).. Tekline Publishing. p. 83.

78-BRITISH NATIONAL FORMULARY 2008 . SECTION13.2.2BARRIER PREPARATIONS

79- Wang, B et al., Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice, Journal of Nanoparticle Research, Volume 10, (2008) 10:263-276.

80- Sayes, CM et al., Assessing Toxicity of Fine and Nanoparticles: Comparing In Vitro Measurements to In Vivo Pulmonary Toxicity Profiles, Toxicological Sciences 2007, 97(1):163-180.

81- Liu, Zi-hong, Acute Toxicity of Nano-sized Zinc Oxide in ICR Mice via Intratracheal Instillation, J Environ Occup Med. Vol. 25 No. 4, 2008.

82- Ding, X.B.,Wen, L.X., Niu, T.L.,Wang, G.Q., Long, X.M., 2007. The impact of nano-ZnOon mice immune function. Feed Res. 9, 1–4

83- Kuschner, WG et al., Pulmonary responses to purified zinc oxide fume, J Investig Med. 1995 Aug;43(4):371-8.

84- European Chemicals Bureau, EU Risk Assessment Report: CAS 1314-13-2, 2004.

85-Fink, E., Repeat photopatch test for photoxicity and photoallergy of HR 96/104702 and HR 96/104702 VeK in healthy adult male and female volunteers, part 1, 1997, Company Study No: 9066/lib.

86- Cantor, S et al., Evaluation of phototoxicity potential by UV-A irradiation on 10 human subjects, 1994, AMA Laboratories Unpublished Report, Report No: WPCL 94147Z / PHT0016OSSI .10

87- Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products (SCCNFP), OPINION CONCERNING ZINC OXIDE COLIPA n° S76, 2003, SCCNFP/0649/03, final.

88- Cantor, S., 50 humans subject repeat insult patch test skin 1994, AMA laboratories irritation/sensitisation evaluation, Study Report, Ref no. WPCL 94-141Z/RIPT 00160.SSI.

89- Wenhua Song Toxicology Letters 199 (2010) 389–397

90- Cory Hanley Boise State University Physics Faculty Publications and Presentations 9-16-2009

91- Menon, D., Nair, . Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxic–ity toward bacteria and osteoblast cancer cells. J. Mater. Sci.: Mater. Med. 20,S235–S241-2009

92- Lee, J., Kang, B.S.,Hicks, B., Chancellor Jr., T.F.,,. Chu, B.H.,Wang,H.T., Keselowsky, B.G Ren, F., Lele, T.P., 2008. The control of cell adhesion and viability by zinc oxidenanorods. Biomaterials 29, 3743–3749

93- Reddy, K.M., Feris, K., Bell, J.,Wingett, D.G., Hanley, C., Punnoose, A., 2007. Selectivetoxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. ApplPhys. Lett. 90, 213902

94- Venubabu Thati, Aashis.S.Roy1, M.V.N.Ambika Prasad1S.M.Gaddad et al , J Biosci Tech, Vol 1 (2),2010, 64-69.

95- Jeng, HA et al., Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells, J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2006;41(12):2699-711.

96- Brayner R et al., Toxicological Impact Studies Based on Escherichia coli Bacteria in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium, Nano Lett., 2006, 6 (4), pp 866–870.

97- Jones, N et al., Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms, FEMS Microbiology Letters, 2008, Volume 279, Issue 1, Pages 71– 76.

98- Zhang, L et al., Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids), Journal of Nanoparticle Research, 2007, 9: 479-489

99- Mustafa Journal of Sports Science and Medicine (2002) 1, 1-14