مجله ایمنی زیستی
دوره ششم، شماره اول، بهار ۹۲

بررسی سمیت نانوذرات در مواجهه با سلول

معصومه تاران[۱و۴]، قاسم عموعابدینی[۲و۴*]، فائزه کاشانیان[۳و۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی دانشکده علوم و فنون نوین دانشگاه تهران
۲- دانشیار گروه بیوتکنولوژی و مهندسی داروسازی دانشکده مهندسی شیمی پردیس دانشکده‌های فنی دانشگاه تهران
۳- دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی دانشکده علوم و فنون نوین دانشگاه تهران
۴- گروه نانوبیوتکنولوژی در مرکز پژوهشی فناوری‌های نوین در مهندسی علوم زیستی دانشگاه تهران
amoabediny@ut.ac.ir

چکیده

فناوری نانو با سرعت رو به رشدی، مواد جدید و محصولاتی بر پایه نانو ابزار، تجهیزات و ذرات نانو خلق می‌کند و به همین دلیل پژوهش سمیت نانومواد، به طور جدی ضرورت پیدا می‌کند. زیرا با کوچک شدن اندازه ذرات تا ابعاد نانو، ویژگی‌های سطحی آن‌ها نیز تغییر می‌کند و فعالیت شیمیایی افزایش می‌یابد که منجر به سمیت نیز خواهد شد. در ابتدا باید از نحوه ورود نانوذرات به بدن آگاهی یافت تا با ارزیابی جذب نانومواد به درون سلول‌ها بسیاری از سوالات مربوط به سمیت مواد را پاسخ داد. انواع سازوکارهای ورود نانوذرات به درون سلول‌ها شامل اندوسیتوز، جریانات غشایی، کانال‌ها و یا ورود از طریق واکنش‌های چسبندگی است. انواع نانوذرات با اندازه‌ها، شکل‌ها، سطوح و ترکیبات شیمیایی متفاوت، سازوکارهای سمیت متفاوت در مواجهه با سیستم‌های زنده دارند. در این راستا برهم‌کنش نانوذرات در مواجهه با سلول، خون و سیستم ایمنی بررسی می‌شود. سیستم ایمنی بدن در مقابل بسیاری از نانوذرات که به شکل عوامل انتقال دارو عمل می‌کنند، مقاومت کرده و واکنش‌های محافظتی انجام می‌دهد. اثرات نانوذرات در خون نیز در سه بخش قابل طبقه‌بندی است: اثر بر سیستم کمپلمان، اثر بر سلول‌های خونی و اثر بر سیستم هموستاتیک. در انتها مراحل شناخت سمیت نانومواد به اختصار بیان می‌شود. جهت شناخت رفتار سمی نانومواد، نیاز به شناسایی و تعیین دقیق خصوصیات آن‌ها است که در این راه از ابزارهای مختلف که در بخش مربوطه اشاره شده است استفاده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نانوذره، سمیت سلولی، سلول، خون.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

۱-مقدمه

وقتی مواد حجیم تا ابعاد نانو کوچک می‌شوند، ویژگی‌های سطحی آن‌ها تغییر می‌کند و فعالیت شیمیایی آن‌ها افزایش می‌یابد که همین امر به دلیل افزایش یافتن برهم‌کنش آن با مواد دیگر، منجر به ایجاد سمیت خواهد شد. با گسترش تولیدات در زمینه نانومواد، میزان مواجهه انسان و محیط زیست با آن‌ها افزایش یافته و لزوم توجه بیشتر به سمیت این مواد نیز ضرورت می‌یابد. بنابراین، تعیین سمیت نانومواد، یک مسأله اساسی است که با اندازه نانویی، مساحت سطح بالا و افزایش فعالیت سطحی (مانند توانایی افزایشی-کاهشی) در مقایسه با مواد بزرگتر در ارتباط است. اندازه کوچک نانومواد، عبور از غشای سلولی در اندامک‌هایی هم‌چون میتوکندری را ممکن می‌سازد و امکان فرار از تسویه سلولی را نیز فراهم می‌کند. ذرات با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر سمی‌تر از ذرات بزرگتر از ماده مشابه هستند و این مسئله بیشتر به دلیل کاهش در میزان تسویه و حذف آن‌هاست که سبب می‌شود مدت بیشتری در بافت باقی بمانند و میزان سمیت را افزایش دهند. اندازه کوچک‌تر هم‌چنین باعث برهم‌کنش‌های بیشتر با سلول‌ها و بیومولکول‌هایی می‌شود که دارای اندازه مشابه با نانومواد هستند. به علت توانایی اتصال و برهم‌کنش نانوذرات با عوامل زیستی، سازوکار تعامل میان نانوذرات و سیستم‌های زنده پیچیدگی‌های خاصی دارد که با توجه به محیط عمل، ناشی از تغییر در ویژگی‌های سطحی آن‌ها است. پژوهش‌ها در زمینه نحوه ورود نانوذرات به سلول و سازوکار برهم‌کنش سلولی تا حدودی پیشرفت کرده است، ولی در زمینه سازوکارهای درون سلولی پیچیدگی‌های بیشتری وجود دارد. حتی نانوذرات هم‌جنس، به دلیل تفاوت‌های جزئی در پوشش سطح، بار و اندازه، به راحتی قابل طبقه‌بندی نیستند. به این علت، در محیط‌های بیولوژیکی طبقه‌بندی نانومواد و هم‌چنین شناسایی خطرات ناشی از حضور آن‌ها با پیچیدگی‌هایی همراه است و با ورود از محیط *in vitro* به *in vivo* پیچیده‌تر نیز می‌شود (۱).

۲-نحوه مواجهه انسان با نانوذره

نانومواد مهندسی شده (Engineered Nanomaterial(ENMs)) با ابعاد تا ۱۰۰ نانومتر در طول یا قطر بر اساس خواصی مانند اندازه، شکل، سطح و خواص شیمیایی، طراحی و تولید می‌شوند و به صورت ذرات معلق در هوا، کلوئیدها و یا پودرها مورد استفاده قرار می‌گیرند. ذرات نانوئی که به صورت ناخواسته تولید می‌شوند به‌طور

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

معمول از لحاظ فیزیکی و شیمیایی ناهمگن (هتروژن) هستند، در حالی که نانوذرات مهندسی شده به صورت همگن (هموژن) هستند (۲). علاوه بر حضور نانوذرات در کالاهای تجاری تولید شده بر مبنای فناوری نانو، نانوذرات می‌توانند به صورت ذرات معلق در هوا موجود باشند و بدین‌وسیله از راه‌های مختلف سبب ایجاد سمیت شوند. ولی یکی از موارد پرخطر در زمینه مواجهه با نانوذرات مربوط به مواجهه شغلی است، که مربوط به صنایع وابسته به تولید و مصرف نانوذرات است که کارگران مربوطه را شامل می‌شود. بیش‌ترین خطر موجود متوجه سلامتی افرادی است که در زمینه تحقیق و فرآوری نانوذرات و نانوفیبرها، مشغول به کار هستند. اما با افزایش کاربرد نانوذرات، احتمال قرار گرفتن عموم در معرض مخاطرات نیز افزایش می‌یابد. بنابراین لازم است که پاسخ نانوساختارها از مرحله ساخت تا عرضه و سپس مراحل بعد از آن، به منظور تخمین احتمال پراکندگی زیست محیطی آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد (۳). به‌طور معمول مواجهه شغلی افراد با نانومواد به صورت تماس پوستی، بلع و یا استنشاقی است. به این ترتیب نانومواد بر روی مناطق عمیق ریه نفوذ می‌کنند، در ریه باقی می‌مانند و حذف نمی‌شوند. بنابراین برخی ویژگی‌های مشابه میان نانومواد که سبب مفید بودن آن‌ها می‌شوند، عامل ایجاد سمیت توسط آن‌ها نیز هستند و در برخی شرایط برای سلامتی مضر هستند. بر همین اساس پژوهش‌هایی انجام شده است که در ادامه به برخی از آن‌ها اشاره می‌شود. به طور مثال در یک بررسی، غلظت‌های پایینی از نانولوله‌های کربنی و برخی نانومواد دیگر در هوا یافت شده که در طول فرآیندهای صنعتی ایجاد شده است. با آزاد شدن آئروسل‌ها در طول کار با نانولوله‌های تک دیواره، غلظت این عامل در محیط آزمایشگاه‌ها کمتر از ۵۳ g/m^3 به دست آمده است (۴) این در حالی است که بر اساس استانداردهای دو موسسه امریکایی به نام‌های (Occupational Safety and Health Administration(OSHA)) و (NationalInstitute for Occupational Safety and Health(NIOSH))، میزان مواجهه با ترکیبات نقره (شامل محلول، بخار و غبارهای فلز) فقط تا میزان ۰/۰۱mg/m^3 مجاز تعیین شده است. این محدودیت برای کاهش وقوع آرژیریا (Argyria) و تغییر رنگ دائمی پوست در محیط کاری است (۵). اثر دیگری که نانوذرات و غبار نقره بر کارگران در محیط کار وارد می‌کنند، عفونت تنفسی است. به طور

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

کلی، سمیت نقره بستگی به شکل آن دارد. برای مثال محلول کلرید و نیترات نقره به میزان زیادی سمی هستند، اما اکسید نقره به این میزان سمی نیست. پژوهش‌های دیگر نشان داده است که سطوح زیاد منگنز نیز ممکن است سبب پیشرفت بیماری پارکینسون شود (۶).

۳-ورود نانوذره به بدن، اثر بر اندام‌ها و نحوه توزیع آن

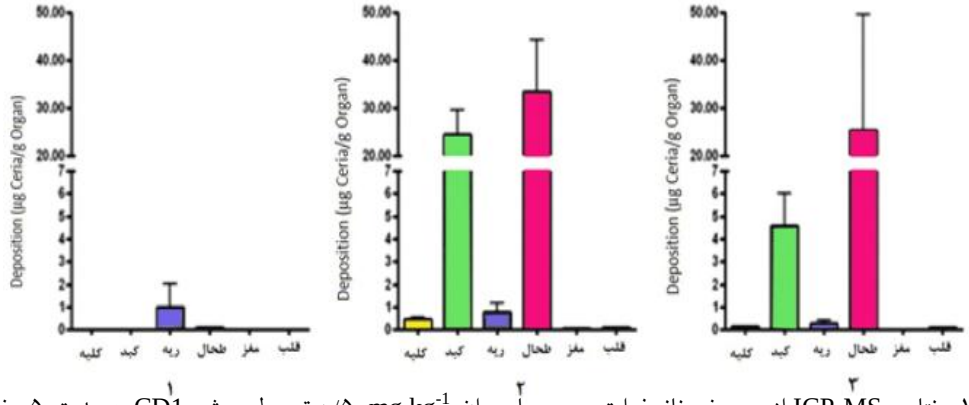
نانوذرات با ورود به بدن از طرق مختلف به اندام‌ها راه یافته و اثر سوء بر عملکرد آن‌ها خواهند داشت. با ورود به ریه، امکان انتقال به خون را دارند و از طریق خون به سایر اندام‌ها همانند مغز راه می‌یابند. در سیستم عروقی نیز ایجاد بیماری می‌کنند. از طریق پوست به لایه اپیدرمی نفوذ کرده و امکان ورود به رگ‌های خونی و اثرهای به‌دنبال آن را خواهند داشت. با ورود به دستگاه گوارش نیز، با عبور از سد روده‌ای به جریان خون راه یافته و از این طریق به مابقی اندام‌ها نیز راه پیدا می‌کنند (۱). اندازه و توزیع اندازه ذره نقش کلیدی در تعیین رفتار نانومواد دارد. این دو پارامتر می‌توانند ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی نانوماده را تغییر داده و بر برهم‌کنش نانوذرات با سیستم‌های زنده و چگونگی جذب و تعامل با بافت‌های بیولوژیکی تأثیر بگذارند. نتیجه بررسی‌ها نشان می‌دهد که با کاهش اندازه ذره، فعالیت بیولوژیکی نانومواد افزایش می‌یابد. ذرات در مقیاس نانو از نظر بیولوژیکی فعال‌تر هستند و اثر سمی بیش‌تری در مقایسه با ذرات درشت‌دانه‌تر با ترکیب شیمیایی یکسان نشان می‌دهند. زیرا نانوذرات بعد از ورود به بدن امکان راهیابی به مناطقی را دارند که برای ذرات درشت‌تر ممکن نیست (۳). ارزیابی جذب نانومواد به درون سلول‌ها بسیاری از سوالات مربوط به سمیت مواد را پاسخ می‌دهد که با توجه به میزان و آهنگ ورود آن‌ها به سلول، موقعیت آن‌ها در سلول ارزیابی می‌شود. اندازه‌گیری نانومواد جذب شده با کمک محیط کشت *in vitro* و به وسیله میکروسکوپ فلورسانس و فلوسایتومتری انجام می‌شود. روش‌های دیگر برای تعیین کمی جذب نانومواد شامل میکروسکوپی هم‌کانون، نشاندار کردن با مواد رادیواکتیو و میکروسکوپی AFM است (۸).

نانوذرات بعد از ورود به بدن، در بخش‌های مختلفی مانند سلول‌های خون، کبد، طحال، کلیه، روده‌ها، تیموس، قلب، ریه و مغز توزیع می‌شوند. در این راستا محققان در سال ۲۰۱۳، توزیع و تخریب نانوذرات سریم (Cerium) در موش CD1 را با استفاده از دستگاه ICP-MS (Inductively coupled plasma mass

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

spectrometry) مورد پژوهش قرار داده‌اند (۹).



شکل ۱- نتایج ICP-MS از مصرف نانوذرات سریم با میزان $mg\ kg^{-1}$ ۰/۵ توسط موش CD1 به مدت ۵ هفته از طریق ۱) دهانی، ۲) داخل وریدی، ۳) صفاقی (۹).

نانوذرات سریم برای موش به صورت دهانی، درون وریدی و درون صفاقی به مدت دو تا پنج هفته، هر هفته با دوز mg/kg ۰/۵ مصرف شد. در مصرف با روش درون وریدی و درون صفاقی، ارزیابی‌های به عمل آمده از توزیع آن در بدن حاکی از آن است که در طحال و کبد به مقدار زیاد و در ریه و کلیه به مقدار کم‌تر یافت شد در حالی که در قلب و مغز نشانه‌ای دال بر ورود نانوذرات مشاهده نشد. طحال، اندامی است که وظیفه بازیافت سلول‌های قرمز خون را دارد و نقش مهمی در سیستم ایمنی را نیز داراست. شاید در این آزمایش نانوذرات وارد سلول‌های قرمز خون شده‌اند و از این طریق به طحال رسیده‌اند و یا از طریق ماکروفاژ ذرات خارجی، وارد طحال شده‌اند. کبد نیز اندام دیگری است که نقش دفع مسمومیت را در بدن به عهده دارد. نشست نانوذرات سریم در کبد می‌تواند به دلیل حضور ماکروفاژهای مستقر در کبد و یا به دلیل نقش سم‌زدایی کبد باشد. کلیه، ریه و قلب اعضای مهم دیگری هستند که غلظت‌های کمی از نانوذرات سریم در آن‌ها یافت شده که با توجه به وجود عروق زیاد در این اندام‌ها غیرقابل انتظار بود. با توجه به این نتایج شاید بتوان گفت که حضور سیستم تشخیص ایمنی در توزیع زیاد نانوذرات در اندام‌های کبد و طحال نقش دارد (۸).

در پژوهش‌ها و آزمایشاتی که بر شکل‌های مختلف نانوذرات با اندازه و سطح ثابت انجام گرفت، اثرات گوناگونی بر قابلیت زیستی سلول گزارش شد. هر چند اطلاعات حاصل از این نوع تحقیقات هنوز در مراحل مقدماتی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

خود قرار دارد ولی آن‌چه مسلم است تأثیر نامطلوب و سمیت نانومواد میله‌ای از نانومواد کروی بیشتر است (۱۰). به طور مثال در سال ۲۰۱۱ سمیت نانوذرات روی و تیتانیوم با توجه به اندازه و شکل نانوذرات روی سلول‌های A549 مورد بررسی قرار گرفت و تاثیر اندازه و شکل، در سمیت تأیید شد (۱۱). هم‌چنین در آزمایش دیگری در سال ۲۰۰۷ تأثیر دو نوع نانوذرات کروی و میله‌ای در سلول‌های هلا ارزیابی شد. در این تحقیق، ذرات طلای میله‌ای (با عرض و طول ۱۴ در۴۰ نانومتر و ۱۴ در ۷۴ نانومتر) بعد از ۶ ساعت مواجهه، ورود بیشتری نسبت به نانوذرات کروی (قطر ۱۰۰، ۷۴، ۵۰، ۳۰، ۱۴ نانومتر) در سلول‌های هلا داشتند که شاید به علت تماس بیشتر نانوذرات میله‌ای شکل با گیرنده‌های غشای سلول رخ داده است (۱۲). با توجه به اثرات متفاوتی که نانوذرات در بافت‌ها دارند، در جدول یک به پژوهش‌های انجام شده درباره سمیت نانوذرات در بافت‌های مختلف اشاره شده است:

برای ارزیابی اثر تغییر بار سطحی بر روی زیست‌پذیری سلول، رشد و جذب نانوذره، از هیدروکسی آپاتیت به عنوان نانوذره استفاده شد. در این تحقیق ذرات با اندازه و شکل مشابه، ولی با بارهای سطحی متفاوت در معرض سلول‌های استئوبلاست مورد بررسی قرار گرفتند. مشاهده شد جذب هیدروکسی آپاتیت با بار مثبت بیشتر از بار منفی است و ذرات خنثی نیز توان عبور از غشای سلولی را ندارند (۲۸). با توجه به نتایج به دست آمده در حوزه سمیت نانومواد، نانوذره‌ای که بیشتر جذب می‌شود اثر سمی‌تری نیز خواهد داشت.

۴-برهم‌کنش نانومواد با سیستم ایمنی و خون

نانوذرات با ورود به خون در مواجهه با عوامل خونی از جمله سیستم ایمنی قرار می‌گیرند. برهم‌کنش نانوماده با اجزای خونی به سه دسته تقسیم می‌شود: اثر بر سیستم کمپلمان که بخشی از سیستم ایمنی ذاتی است و به عنوان خط اول مبارزه با عوامل مضر است که فعال شدن بیش از حد این سیستم منجر به آلرژی کاذب می‌شود و می‌تواند از عوارض استفاده از نانوذرات باشد، این امر در استفاده از نانوذرات لیپوزوم به عنوان حامل دارو مشاهده شده است (۲۹). البته در آزمایشات دیگری نیز عدم سمیت نانوذرات لیپوزوم به اثبات رسیده است. به طور مثال در مقاله فیضی و همکارانش از نانولیپوزوم‌ها به عنوان حامل مورفین استفاده شد. پس از اجرای مراحل سنتز نانولیپوزوم مورفین روی موش‌های نژاد balb/c مورد آزمایش قرار گرفت. با بررسی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

جدول۱- ارزیابی سمیت نانوذرات در بافت‌های مختلف

	نانوذره	سلول یا بافت مورد بررسی	نتایج	منبع
ریه	نانولوله کربنی تک دیواره	C57Bl/6 mice	سمیت، بیشتر به دلیل کلوخه شدن ذرات رخ داد.	(۱۳)
	نانولوله کربنی تک دیواره	Nude mice	تغییرات التهابی خاصی مشاهده نشد.	(۱۴)
	نانولوله کربنی چند دیواره	C57Bl/6 mice	جذب ذرات توسط ماکروفاژهای ریوی مشاهده شد و تغییرات التهابی و یا فیبروتیکی خاصی رخ نداد.	(۱۵)
	SiO_2	BALB/3T3	تولید ROS و کاهش در GSH منجر به سمیت شد.	(۱۶)
	نقره	Sprague Dawley rats	تغییرات خاصی در عملکرد ریه دیده نشد.	(۱۷)
	نانوذرات قابل انتقال با هوا	Lung tissue	ته‌نشینی نانوذرات در ریه و غلبه بر سد بافتی و غشای سلولی و در نتیجه ورود به درون سلول و عوارض ناشی از آن.	(۱۸)
	نقره	HEK cells	افزایش سیتوکین‌های التهابی و کاهش زنده بودن سلول‌ها با افزایش مقدار نانوذره.	(۱۹)
پوست	SiO_2	XS52 (سلول لانگرهانس موش)	افزایش جذب و سمیت ناشی از نانوذره با کاهش اندازه نانوذره.	(۲۰)
	طلا	CF-31 (فیبروبلاست پوست انسان)	میزان سمیت وابسته به مقدار و اندازه نانوذره مورد استفاده بود.	(۲۱)
کبد	نقره	Human HepG2 cell در مقایسه با سلول اولیه کبد موش	نانوذرات نقره بر روی رشد سلول‌های سرطانی HepG2 اثر ممانعتی بیشتری نسبت به سلول اولیه کبد موش داشتند.	(۲۲)
مغز	طلا	C57/BL6 mice	مقادیر کمی از نانوذره قادر به عبور از سد خونی- مغزی بودند.	(۲۳)
بافت عصبی	طلا	N9 cells, SH-SY5Y human neuroblastoma cells	اثری بر قابلیت زیستی سلول نداشتند ولی سبب کاهش GSH و افزایش استرس اکسیداتیو شدند.	(۲۴)
	SiO_2	N9 cells, SH-SY5Y human neuroblastoma cells	اثری بر قابلیت زیستی سلول نداشتند ولی سبب کاهش GSH و افزایش استرس اکسیداتیو شدند.	(۲۲)
پوست	SiO_2	HaCa T	تغییر بیان ژن	(۲۵)
	ZnO	HaCaT, SK Mel-28	تغییر بیان ژن	(۲۶)
	TiO2, Fe2O3, SiO2	HaCaT, SK Mel-28	اثر چندانی بر بیان ژن نداشت	(۲۴)
سیستم ایمنی	کربن سیاه	Human monocytes, THP-1 cells	افزایش پاسخ التهابی در ابعاد نانویی از کربن سیاه	(۲۷)
روده	ZnO	PKO, CaCo-2	تغییر بیان ژن	(۲۴)
	TiO2, Fe2O3, SiO2	PKO, CaCo-2	اثر چندانی بر بیان ژن نداشت	(۲۴)

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

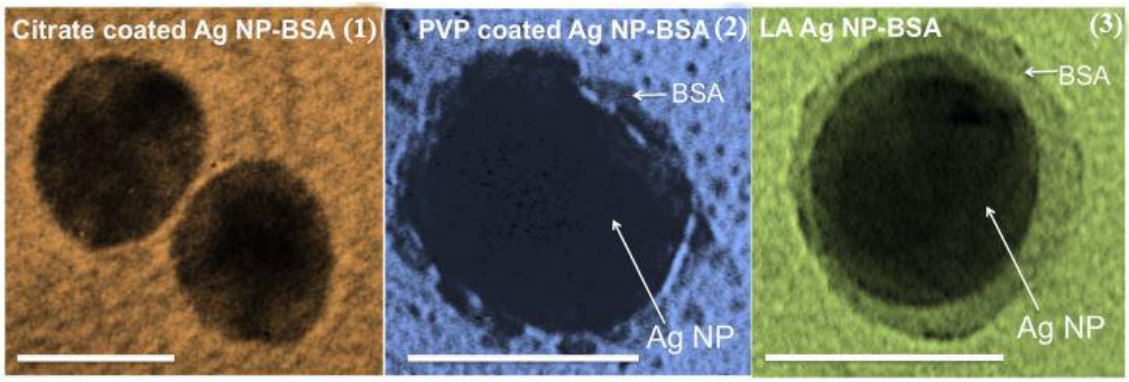
هیستوپاتولوژیک بافت‌های موش از جمله مغز، نخاع، کبد، طحال و کلیه‌ها هیچ‌گونه تغییر آسیب‌شناسی از جمله پرخونی‌های وسیع، التهاب، دژنراسیون، نکروز و تغییرات دیگر مشاهده نشد (۳۰). اثر بر سلول‌های خونی نیز دسته دوم را به خود اختصاص می‌دهد. در ضمن ورود نانوذره به خون، می‌تواند منجر به تغییراتی در لوکوسیت‌ها (گلبول‌های سفید) و رتیکلوسیت (سلول‌های قرمز خون نابالغ) و هم‌چنین فعال‌سازی لوکوسیت شود که خود این امر سبب آغاز فرآیندهای التهابی یا همولیز اریتروسیت و سلول‌های قرمز خون بالغ می‌شود. دسته سوم به بررسی اثر بر سیستم هموستاتیک می‌پردازد که یک فرایند فیزیولوژیکی برای انعقاد خون است تا از دست رفتن خون به حداقل برسد. یک ماده، زمانی ترومبوژنیک (ایجاد کننده ترومبوز) می‌شود که تمایل به انعقاد خون داشته باشد که همین مسئله سبب ایجاد مانع در مسیر جریان خون شده و خون‌رسانی به اندام‌های حیاتی مختل می‌شود و به بافت‌ها آسیب خواهد رساند (۳۱).

سیستم ایمنی بدن در مقابل بسیاری از نانوذرات که به شکل عوامل انتقال دارو عمل می‌کنند، مقاومت کرده و واکنش‌های محافظتی انجام می‌دهد، از جمله فعال‌سازی پلاکت‌ها، التهاب و تولید آنتی‌بادی را می‌توان نام برد که واکنش‌های فوق حساسیتی، ترومبوز، همولیز و در نهایت حذف داروها از پیامدهای این واکنش‌هاست (۳۲). فعال‌سازی پلاکت‌ها (افزایش بیان سلکتین‌پی، مواجهه با فسفاتیدیل سرین، فعالیت انعقادی (Procoagulant activity)، افزایش Ca^{2+} درون سلولی، آزادسازی سروتونین و تولید ترومبین) در اثر تعامل مستقیم با نانوذره و یا در طول فعال‌سازی تکمیلی رخ می‌دهد تا سبب کاهش خطر شود. برهم‌کنش با سلول‌های قرمز خون، در اثر استفاده از نانوداروهایی که به صورت تزریقی تجویز شده‌اند، رخ می‌دهد. این برهم‌کنش می‌تواند منجر به انزوای نانودارو و یا بسته به شرایط، منجر به انتقال آن شود. وقتی نانومواد به درون جریان خون وارد می‌شوند در تماس با عوامل خونی، به‌ویژه پروتئین‌های خون قرار می‌گیرند و به سرعت آن‌ها را بر روی سطح خود جذب می‌کنند و تاج پروتئینی ((Protein corona (bioshell)) تشکیل می‌شود که به صورت شماتیک در شکل دو نشان داده شده است. مقدار و نوع پروتئین جذب شده و سینتیک آن بستگی به ویژگی‌های سطحی نانوذره دارد. در این شکل نانوذرات طلای ساییده شده با لیزر دارای پوشش آلبومینی بیشتری نسبت به نانوذرات

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

طلای با پوشش سیترات و پلی وینیل پیرولیدون است که در این پژوهش با اندازه‌گیری قطر هیدرودینامیکی نیز به نتیجه مشابهی دست یافته‌اند (۳۱). بسیاری از عوامل خونی به عنوان اپسونین عمل می‌کنند. نانوداروهای اپسونیزه شده به راحتی تشخیص داده شده و به وسیله فاگوسیت‌ها حذف می‌شوند و اثرات دارویی نانودارو را کاهش می‌دهند. به دام‌اندازی این عوامل ممکن است در سطح بافتی رخ دهد که در اثر عمل سیستم رتیکلواندوتلیال است و شامل ماکروفاژ بافتی، لوکوسیت‌ها و سلول‌های دندریتیک، سلول‌های اپیتیلیال و اندوتلیال و پراکنده کردن آن‌ها به دیگر بافت‌ها مثل طحال و کبد است (۳۱).



شکل۲- تصاویر TEM از تشکیل پوشش آلبومین سرم گاوی (BSA) به دور نانوذره. ۱) نانوذرات طلا با پوشش سیترات. ۲) نانوذرات طلا با پوشش پلی وینیل پیرولیدون (PVP). ۳) نانوذرات طلای ساییده شده با لیزر (LA). مقیاس در همه موارد ۲۰nm است (۳۳).

تعیین ترکیب موادی که در یک محیط زیستی، نانوذره را احاطه می‌کنند، ساده نیست. زیرا با زمان تغییر می‌کند و به ویژگی‌های سطح، دما و ترکیب خون نیز بستگی دارد. بنابراین برهم‌کنش نانوذره با خون یک فرآیند دینامیک است که خون با القای ایجاد پوششی به دور نانوذره، منجر به تغییر در ویژگی‌های نانوذره و تخریب آن می‌شود (۱). یکی از تأثیرات منفی و بسیار قابل توجه سیستم‌های انتقال نانویی دارو، ایجاد سمیت بر روی سلول‌های سیستم ایمنی است. انتقال نانوداروهایی که در مواجهه با سیستم ایمنی هستند دو خطر را ایجاد می‌کنند: سمیت ذاتی نانوماده حامل و سمیت ناشی از دارو یا مولکولی که حمل می‌شود. در این شرایط واضح است که میزان

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

سمیت هر جزء نانودارو، به‌طور اجباری نشان‌دهنده سمیت واقعی نیست. علاوه بر این، هر دارو در اثر اتصال به نانوذره حامل، ممکن است تغییراتی در فارماکوسینتیک و فارماکودینامیک خود بدهد. داروهای نانویی، به میزان زیادی به وسیله فاگوسیتوز جذب می‌شوند و منجر به افزایش غلظت محلی دارو و به‌دنبال آن افزایش میزان سمیت می‌شوند. داروهای هوشمند شده که به صورت هدفمند به سمت محل مورد نظر می‌روند، قبل از دفع نانوذره به صورت ادرار و مدفوع، در سیستم رتیکلواندوتلیال، طحال، کبد و کلیه گرفتار می‌شوند و با احتمال زیاد سمیت بالایی هم‌چون واکنش‌های التهابی را در این مناطق ایجاد می‌کنند (۳۴). برای درک سازوکارهای سمیت نانوذرات، باید از پاسخ سیستم زنده به انواع نانوذرات با اندازه‌ها، شکل‌ها، سطوح و ترکیبات شیمیایی متفاوت آگاه بود. بسیاری از نانوذرات به دلیل اندازه کوچکشان قادر به عبور از غشای سلولی هستند، ولی سازوکار نحوه ورود آن‌ها به طور کامل مشخص نیست. سلول قرمز خون که فاقد فاگوسیتوز است قادر است که نانوذرات را به درون خود راه دهد. ذرات بسیار کوچک هم قادر به عبور از سد اپیتلیال ریوی هستند، از آن‌جا به جریان خون راه می‌یابند و امکان تماس مستقیم با اندوتلیوم ریوی را خواهند داشت. بنابراین وقتی نانوذرات به جریان گردش خون وارد می‌شوند، با سلول‌های ایمنی و پروتئین‌های پلاسما مواجه خواهند شد. خواص فیزیکی-شیمیایی نانوذرات هم‌چون اندازه، مساحت سطح، انرژی سطحی و بارها، در زمینه اتصال به بیومولکول‌ها بسیار مهمند و سرنوشت نانوذرات را در سلول‌ها تعیین می‌کنند. درون سلول، ممکن است نانوذرات سبب عوارضی هم‌چون بیان افزایشی سیتوکین‌های التهابی، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species (ROS)) و شکست رشته DNA شوند (۳۵). نانوذرات می‌توانند به بیومولکول‌های زیادی متصل شوند. اتصال آن‌ها به پروتئین یکی از انواع این اتصالات مهم است، که باعث توزیع آن‌ها در بدن نیز می‌شود. جذب پروتئین‌های پلاسما، بستگی به آب‌گریزی و بار سطح نانوذرات دارد. بنابر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

تحقیقات صورت گرفته، عوامل مختلفی هم‌چون برهم‌کنش‌های الکتروستاتیکی، آب‌گریزی و شیمیایی خاص در این امر نقش دارند(۱۰). به عنوان نمونه در پژوهش پاتیل و همکارانش (Patil et al.) مشاهده شد که ذرات نانوسریم سه تا پنج نانومتر با پتانسیل زتای مثبت، به مقدار کمی به پروتئین‌ها متصل می‌شوند (۳۶)، در مقابل ذرات با پتانسیل زتای مثبت هیدروترمال هشت تا ده نانومتر تمایل بیشتری به اتصال به انواع پروتئین‌ها دارند، البته در شرایط فیزیولوژیکی بار سطحی ذرات به این اتصال کمک می‌کند و با تغییر بار سطحی، برهم‌کنش الکتروستاتیکی میان پروتئین و ذره تغییر خواهد کرد (۳۷). یکی از عوامل مهم در برهم‌کنش نانوذرات با سیستم‌های زنده، بار نانوذره است. به عنوان مثال، توانایی اتصال نانوذرات به ماکروفاژها به دلیل وجود بار منفی سیالیک اسید ماکروفاژها است و نانوذرات با بار مثبت، تمایل زیادی برای اتصال به آن‌ها خواهند داشت. زیا و همکارانش (Xia et al.) از این نکته استفاده کرده و سطح نانوذرات Fe3O4 را با پلی اتیلن گلیکول پوشاندند، در نتیجه از انباشته شدن این نانوذرات در محیط کشت سلول ممانعت شد و جذب به وسیله سلول‌های ماکروفاژ نیز کاهش یافت (۳۸).

۵-سازوکارهای ورود ذرات به درون سلول‌ها

اکثر سلول‌های بدن در بافت قرار دارند. نانوذره بعد از ورود به بافت، در مایع میان‌بافتی تجمع می‌کند و بر حسب برهم‌کنش با سطح سلول و یا ورودشان به سلول و دسترسی به محل هسته و یا ماده ژنتیکی سلول در سازوکار عملکرد سلول تأثیر می‌گذارد. تشخیص نانوذرات توسط سلول‌های ایمنی به عنوان عوامل خارجی، منجر به پاسخ ایمنی در مقابل نانوذرات شده و در نهایت بروز سمیت در میزبان را به دنبال خواهد داشت. براساس بار سطحی نانوذرات، جذب آن‌ها توسط سلول‌های ایمنی هم‌چون مونوسیت‌ها، پلاکت‌ها، لوکوسیت‌ها، سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها رخ می‌دهد و در نتیجه آن واکنش‌های التهابی و واکنش‌های استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود. انواع سازوکارهای ورود نانوذرات به درون سلول‌ها شامل اندوسیتوز، جریانات غشایی،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

کانال‌ها و یا ورود از طریق واکنش‌های چسبندگی است. ماکروفاژها نیز فاگوسیت‌های حرفه‌ای هستند که جذب ذرات را به صورت فاگوسیتوز انجام می‌دهند و در بسیاری از بافت‌ها وجود دارند. فرآیند ورود نانوذرات به وسیله سلول‌های فاگوسیت به سه گروه تقسیم می‌شود: فاگوسیتوز/ ماکروپینوسیتوز، اندوسیتوز با واسطه گیرنده و نفوذ غیرفعال (۱۰).

نانوذرات می‌توانند با پروتئین‌هایی هم‌چون ایمنوگلوبولین، آلبومین و غیره برهم‌کنش کنند که در نتیجه آن توده ایجاد می‌شود و با توجه به اندازه ذره با اتصال به گیرنده‌های سطحی ویژه روی سلول، سبب اندوسیتوز و فاگوسیتوز می‌شود. فاگوسیتوزها و ماکروپینوسیتوزها با پلیمریزه شدن اکتین‌ها رخ می‌دهد و سبب آشفته شدن غشای سلول می‌شوند. اندوسیتوز نیز به دو دسته‌اندوسیتوز وابسته به کلاترین و اندوسیتوز وابسته به کاولا (Caveolae) تقسیم می‌شود. فاگوسیتوز اغلب برای ذرات با اندازه دو تا سه میکرومتر است. ماکروفاژها گیرنده‌هایی بر روی سطح سلول دارند که تشخیص باکتری و دیگر ذرات خارجی را تسهیل می‌کند. سلول یوکاریوت غیرفاگوسیتیک می‌تواند ذرات کوچکتر از یک میکرومتر را وارد کند. ورود ذرات کمتر از ۲۰۰ نانومتر، به واسطه کلاترین است. ذرات با اندازه‌ای در حدود ۵۰۰ نانومتر با مسیر وابسته به کاولا وارد سلول خواهند شد. هم‌چنین مشاهده شده که ورود ذرات با بار مثبت از راه اندوسیتوز با کلاترین بیشتر و راحت‌تر است (۳۹).

۶-مواجهه نانوذره و عناصر موجود در سلول

غشاها عملکردهای مشخصی دارند که برای انجام برخی از آن‌ها باید نفوذپذیر باشند. غشای بیرونی در مواجهه با محیط است و اجازه عبور یون‌ها، مولکول‌ها و دیگر نانوذرات را می‌دهد. غشا می‌تواند تحت تأثیر آسیب فیزیکی و یا آسیب اکسیداتیو باشد که در بسیاری از مواقع مرگ را به همراه دارد. هرچند غشا با نفوذپذیری انتخابی و سازوکارهای انتقال، پایداری سلول را حفظ می‌کند اما از همین طریق ممکن است تحت اثرات مخرب نانوذرات نیز قرار گیرد. این تعامل به خواص سطحی نانوذره وابسته است. تحقیقات نشان داده که عوامل مختلفی از طریق میتوکندری، لیزوزیم و یا هسته به غشا آسیب می‌رساند که در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شوند.

عملکرد سلول به‌وسیله پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌ها تنظیم می‌شود. این

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

مولکول‌های زیستی که به فرم آنزیم، مولکول‌های پیام‌رسان و یا پروتئین‌های ساختاری هستند و فعالیت آن‌ها برای سلول حیاتی است باید کونفورماسیون صحیح داشته باشند (۴۰). در طول فولدینگ پروتئین‌ها، چاپرون‌ها نقش اساسی ایفا می‌کنند. نانوذرات با اندازه و شکل شبیه به چاپرون‌ها، موجب اختلال در این امر شده و پروتئین‌هایی با ساختار نامتعارف شکل می‌گیرد که عملکرد خود را به درستی انجام نخواهند داد.

چگونگی برهم‌کنش انواع نانوذرات با دی.ان.اِ به خوبی مشخص نشده است ولی آن‌چه مسلم است یک نانوذره با ورود به پوشش هسته سبب آسیب رساندن به دی.ان.اِ می‌شود. در این میان به نظر می‌آید که گونه‌های اکسیژن فعال و استرس اکسیداتیو نیز نقش دارند (۴۱).

۷-ابزارهای مشخصه‌یابی نانومواد در بررسی سمیت

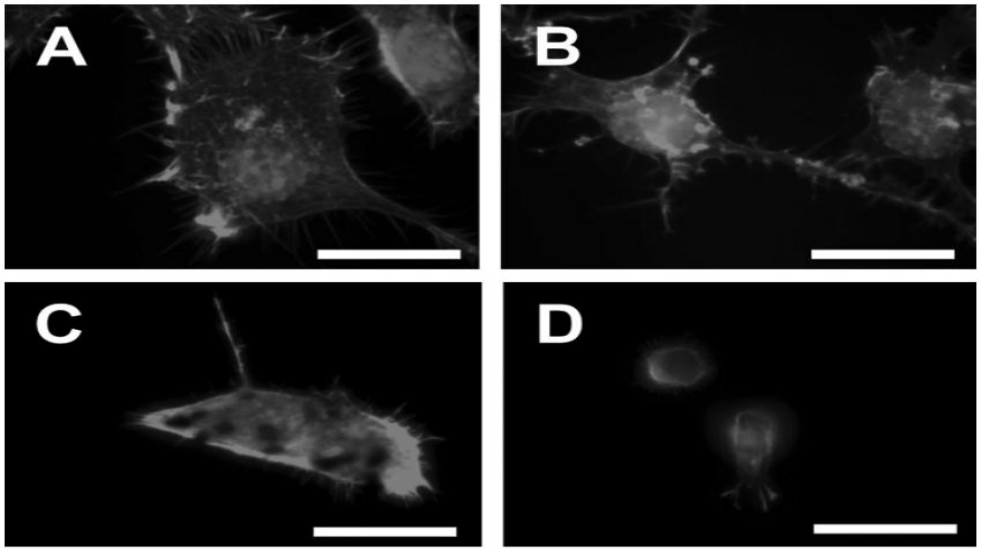
بنابر پژوهش‌های انجام گرفته، جهت شناخت رفتار سمی نانومواد، نیاز به شناسایی و تعیین دقیق خصوصیات آن‌ها است و شناسایی کامل ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی جزء جدانشدنی بررسی‌های سم‌شناختی نانومواد است. همچنین بررسی نوع فرآیند ساخت در تعیین خصوصیات نانومواد از اهمیت زیادی برخوردار است. زیرا می‌توان یک نانوماده خاص را در فرآیندهای مختلف با محصول نهایی یکسان ولی ویژگی‌های متفاوت تولید کرد. این بدان معنی است که نوع فرآیندی که به کار می‌رود هر چند محصول یکسانی را ایجاد می‌کند ولی هر کدام خواص متفاوتی دارند.

برخی از روش‌های غالب که برای تعیین اولیه ترکیب و غلظت نانومواد به کار می‌رود، شامل EDS، AAS یا ICPS است. روش BET نیز برای تخمین اندازه و مساحت سطح کاربرد دارند و روش‌های میکروسکوپی برای اندازه‌گیری اندازه و مورفولوژی است. یکی از روش‌های میکروسکوپی بر اساس فلورسانس است و روشی است که برای مشاهده مورفولوژی سلول بعد از انکوباسیون با نانوذرات به کار می‌رود. در شکل سه مشاهده می‌شود که ساختار اسکلت سلولی براساس شاخه‌دار شدن اکتین در سلول‌های مواجه شده با نانوذرات مورد بررسی قرار گرفته و برای این‌کار اکتین و هسته هر دو رنگ‌آمیزی شدند. در مورد نانوذرات الماس (B-۳) نانوذره به خوبی به درون هسته جذب نشد. این امر ممکن است به دلایل مختلفی باشد، به عنوان

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

مثال ممکن است که سلول‌ها به درستی به حضور نانوذره پاسخ نداده‌اند و یا ورود نانوذرات الماس سبب القای تغییراتی شده است. افزایش شاخه‌دار شدن اکتین در سلول‌هایی که با نانوذرات کربن سیاه انکوبه شده بودند نیز مشاهده نشد (شکل۳-C)، که این فرض را ایجاد می‌کند که یک سازوکار خاصی در ورود نانوذرات وجود دارد. در مقابل، سلول‌های انکوبه شده با نمونه کنترل مثبت (اکسید کادمیوم)، نشان داد که کاهش میزان رنگ و انقباض سلولی رخ داده است که دلالت بر سمیت دارد (شکل۳-D)(۴۲). بعد از به دست آمدن اطلاعاتی از ویژگی‌های نانوماده، اندازه‌گیری‌های *in vitro* آغاز می‌شود که شامل اثرات وابسته به غلظت بر روی زنده بودن سلول‌هاست. از جمله این آزمایشات بررسی استرس اکسیداتیو و آپوپتوز بر روی سلول‌ها است. سپس این آزمایشات بر روی سیستم‌های حیوانی *(in vivo)* انجام می‌شود که برای سنجش اثرات نانومواد بر روی پاسخ ایمنی یا جابه‌جاشدگی به مناطق دیگر بعد از پوست، تنفس یا به صورت خوراکی است. پس از جمع‌آوری اطلاعات کافی، می‌توان مدلسازی پیشنهادی از طریق کامپیوتر را برای برون‌سازی اطلاعات از نتایج *in vitro* به *in vivo* انجام داد.



شکل ۳- میکروسکوپی فلورسانس از سلول‌های نوروبلاستوما انکوبه شده با نانوذرات. A)کنترل، B)۱۰۰µg/ml از ND-raw، C) ۱۰۰µg/ml از CB و D) ۲.۵µg/ml از CdO. منبع [۳۸].

مدل‌های توکسیکوسینتیکی (Toxicokinetic) به توضیح جذب، توزیع سازوکار و حذف ماده خارجی درون یک موجود زنده به عنوان تابعی از دوز و زمان می‌پردازند. این مدل‌ها

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

می‌توانند به دو گروه اصلی تقسیم شوند: مدل‌های بر مبنای داده و مدل‌های برمبنای فیزیولوژیک (Data-based compartmental models and physiologically-based compartmental models). مدل‌هایی که بر اساس ارتباط کمی بین فعالیت و ساختار (Quantitative Structure–Activity Relationship (QSAR)). هستند برای مواد مرتبط با ساختارشان، مفید هستند. در این راستا هنوز چالش‌های زیادی وجود دارد: از جمله اثرات مزمن که منجر به عوارضی هم‌چون سرطان، سمیت در خون، سمیت در کبد، فیبروز ریوی، سمیت در نفرون و سمیت در نورون‌ها می‌شوند و در زمینه این چالش‌ها نیز باید اندیشه شود. علاوه بر این بسیاری از پاسخ‌های سلولی وابسته به دوز و زمان مواجهه با این عوامل هستند، به طوری‌که دوز کم و در مدت زمان طولانی ممکن است منجر به اثرات حفاظتی و مفیدی شود (۴۳). بعد از بررسی دقیق، نتایج حاصل برای طراحی ایمن در محیط کار، محصولات مصرفی و زباله‌های حاصله به کار می‌رود. اثرات سمی حاصل از نحوه توزیع نانومواد، انباشته شدن و بقایای آن‌ها در محیط نیز از موضوعاتی هستند که باید هم‌زمان با بررسی مزایای استفاده از نانومواد مورد توجه باشند (۴).

۸- نتیجه‌گیری

تعیین سمیت نانومواد، یک مساله اساسی است که با اندازه نانویی، مساحت سطح بالا و افزایش فعالیت سطحی در ارتباط است. برای بررسی میزان سمیت نانوذرات، آگاهی از میزان جذب نانوذرات در بدن ضروری است که این امر تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله شکل و بارسطحی نانوذره است.

نانوذرات به دلیل ویژگی‌هایی که دارند قادرند به درون سلول و حتی هسته راه یابند و سبب تغییرات در سلول‌ها، پروتئین و دی.ان.اِ شوند. به طور کلی نانوذرات در بدن با خون، سیستم ایمنی و سلول‌ها برهم‌کنش خواهند داشت و با اثر بر روی فعالیت زیستی آن‌ها منجر به سمیت خواهند شد. بدین صورت که با تغییر در ساختار پروتئین که نقش‌های کلیدی دارد سبب از بین رفتن عملکرد آن می‌شوند. همچنین می‌توانند در فعالیت سیستم ایمنی اختلال ایجاد کنند و بدین وسیله عملکرد آن را کاهش و یا افزایش دهند که در هر دو حالت اثرات سوء خواهد داشت. با پژوهش-های *in vitro* و *in vivo* میزان این سمیت‌ها ارزیابی شده و نتایج آن برای طراحی ایمن در محیط کار، محصولات مصرفی و زباله‌های حاصله به کار می‌رود.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

References **منابع مورد استفاده**

1-Lundqvist M, Stigler J, Elia G, Lynch I, Cedervall T, Dawson KA. (2008). Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 105: 14265-70.

2-MalakoutiKhah J, Amoabediny GH, Iranshahi D, Mortazavi S A, Koohi M K, Ghanbari H. (2008). Ventures, risks and toxicologh of nanoparticles. Paper presented at 2nd Conference of Environmental Engineering. May 20. University of Tehran.

3-Amoabediny G, Koohi M K, Rashedi H, MalakoutiKhah (Translation). (2009). Nanotoxicology characterization, dosing and health effects. Tehran: University of Tehran Press.

4-Michael Balls, Robert D, Combes, and Nirmala Bhogal (Edited). (2012). New Technologies for Toxicity Testing, Landes Bioscience and Springer Science. Chapter5.

5-Drake PL, Hazelwood KJ. (2005). Exposure-related health effects of silver and silver compounds: A review. Ann Occup Hyg. 49: 575-85.

6-Olanow CW. (2004). Manganese-induced parkinsonism and parkinson's disease. Ann NY Acad Sci. 1012: 209-23.

7-Amoabediny GH, Naderi A, Malakootikhah J, Koohi MK, Mortazavi SA, Naderi M, rashedi H. (2008). Guidelines for Safe Handling, Use and Disposal of Nanoparticles. Paper presented at International Conference on safe production and use of nanomaterials. November 3, Nanosafe . Minatec France.

8-Kettiger. H, Schipanski. A, Wick. P, Huwyler.J. (2013). engineered nanomaterial uptake and tissue distribution: from cell to organism.International Journal of Nanomedicine. 8: 3255–3269.

9-Hirst SM, Karakoti A, Singh S, Self W, Tyler R, Seal S, Reilly CM. (2013). Bio-distributionand in vivo antioxidant effects of cerium oxide nanoparticles in mice. EnvironToxicol. 28: 107-18.

10-Roy. R, Kumar. R, Tripathi. A, et al. (2014). Interactive threats of nanoparticles to the biological system. Immunology Letters. 158:79-87.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

11-Hsiao IL, Huang YJ. (2011). Effects of various physicochemical characteristics on thetoxicities of ZnO and TiO2nanoparticles toward human lung epithelial cells.Sci Total Environ. 409: 1219-28.

12-Chithrani BD, Chan WC. (2007). Elucidating the mechanism of cellular uptake and removal of protein-coated gold nanoparticles of different sizes and shapes.Nano Lett. 7: 1542-50.

13-Mutlu G.M, Budinger G.R, Green A.A, Urich D, Soberanes S, Chiarella S.E, et al. (2010). Biocompatible nanoscale dispersion of single-walled carbon nanotubes minimizes in vivo pulmonary toxicity. Nano Lett. 10:1664-70.

14-Schipper M.L, Nakayama-Ratchford N, Davis C.R, Kam N.W, Chu P, Liu Z, et al. (2008). A pilot toxicology study of single-walled carbon nanotubes in a small sample of mice. Nat. Nanotechnol. 3: 216-21.

15-Mitchell L.A, Gao J, Wal R.V, Gigliotti A, Burchiel S.W, McDonald J.D. (2007). Pulmonary and Systemic Immune Response to Inhaled Multiwalled Carbon Nanotubes. Toxicol. Sci. 100: 203-14.

16-Yang H, Liu C, Yang D, Zhang H, Xi Z. (2009). Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. J. Appl. Toxicol. 29: 69-78.

17-Sung J.H, Ji J.H, Song K.S, Lee J.H, Choi K.H, Lee S.H, et al. (2010). In vivo Genotoxicity of Silver Nanoparticles after 90-day Silver Nanoparticle Inhalation Exposure, Toxicol. Ind. Health. 2: 34-38.

18-Hanns-Rudolf P, Flemming R. C, Justin T, Heinz F, Silvia D, Michaela A, et al. (2011). In-vitro cell exposure studies for the assessment of nanoparticle toxicity in the lung- A dialog between aerosol science and biology. Journal of Aerosol Science. 42: 668-92.

19-Samberg M.E, Oldenburg S.J, Monteiro-Riviere N.A. (2010). Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin in vivo and keratinocytes in vitro. Environ Health Perspect. 118: 407-13.

20-Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K, Nakazato Y, Arimori A, Isobe M, et al. (2010). Size-dependent cytotoxic effects of amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells. Pharmazie. 65: 199-201.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

21-Mironava T, Hadjiargyrou M, Simon M, Jurukovski V, Rafailovich M.H. (2010). Gold nanoparticles cellular toxicity and recovery: effect of size, concentration and exposure time. Nanotoxicology. 4: 120-37.

22-Faedmaleki F, Shirazi F H, Salarian A-A, Ahmadi Ashtiani H, Rastegar H. (2014). Toxicity Effect of Silver Nanoparticles on Mice Liver Primary Cell Culture and HepG2 Cell Line. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 13: 235-42.

23-Shukla R, Bansal V, Chaudhary M, Basu A, Bhonde R.R, Sastry M. (2005). Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview. Langmuir. 21: 10644-54.

24-Koch F, Miller A-M, Frenz M, Pieles U, Kuehni-Boghenbor K, Mevissen M. (2014). An in vitro toxicity evaluation of gold-, PLLA- and PCL-coated silica nanoparticles in neuronal cells for nanoparticle-assisted laser-tissue soldering. Toxicology in Vitro. 28: 990-8.

25-Yang X, Liu J, He H, Zhou L, Gong C, Wang X, et al. (2010). SiO nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells. Particle and Fibre Toxicology. 7:1.

26-Moos P J, Olszewski K, Honeggar M, Cassidy P, Leachman S, Woessner D, et al. (2011). Responses of human cells to ZnO nanoparticles: a gene transcription study. Metallomics. 3(11).

27-Sahu D, Kannan G. M, Vijayaraghavan R. (2014). Carbon Black Particle Exhibits Size Dependent Toxicity in Human Monocytes. Int J of Inflammation. 10 pages.

28- Chen HW, Su SF, Chien CT, Lin WH, Yu SL, Chou CC, et al. (2006). Titaniumdioxide nanoparticles induce emphysema-like lung injury in mice. FASEB J. 20: 2393-95.

29-Szebeni J, Alving C.R, Rosivall L, Bunger R, Baranyi L, Bedocs P, et al. (2007). Animal models of complement-mediated hypersensitivity reactions to liposomes and other lipid-based nanoparticles. J. Liposome. Res. 17: 107-17.

30-Feyzi Vaghasloo H, Amoabedini GH, Koohi M K, Amniat Talab A, Zakeri M. (2010). Toxicopathologic study of nanodrug produced based on nanoliposomes on mouse. Vet.Res.Bull. 6: 175-9.

31-Bussy C, Methven L, Kostarelos K. (2013). Hemotoxicity of carbon nanotubes. Advanced Drug Delivery Reviews. 65: 2127-34.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

32-Jiskoot W, van Schie RMF, Carstens MG, Schellekens H. (2009). Immunological risk of injectable drug delivery systems. Pharm. Res. 26: 1303-14.

33-Podila R, Chen R, Ke P C, Brown J M, Rao A M. (2012). Effects of surface functional groups on the formation of nanoparticle-protein corona. Appl. Phys. Lett. 101: 263701-4.

34-Boraschi D, Costantino L, Italiani P. (2012). Interaction of nanoparticles with immunocompetent cells: nanosafety considerations. Nanomedicine. 7(1): 121-31.

35-Rothen-Rutishauser B, Mühlfeld C, Blank F, Musso C, Gehr P. (2007). Translocationof particles and inflammatory responses after exposure to fine particles andnanoparticles in an epithelial airway model. Part Fibre Toxicol. 4-9.

36-Patil S, Sandberg A, Heckert E, Self W, Seal S. (2007). Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential. Biomaterials. 28: 4600-7.

37-Patil S, Sandberg A, Heckert E, Self W, Seal S. (2007). Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential. Biomaterials. 28:4600–7.

38-Xia T, Kovochich M, Liong M, Mädler L, Gilbert B, Shi H, et al. (2008). Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxidenanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. ACS Nano. 2: 2121-34.

39-Rejman J, Oberle V, Zuhorn IS, Hoekstra D. (2004). Size-dependent internalization ofparticles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis.Biochem J. 377: 159-69.

40-Mahmoudi, M.; Shokrgozar, M.A.; Sardari, S.; Moghadam, M.K.; Vali, H.; Laurent, S.; Stroeve, P. (2011). Irreversible changes in protein conformation due to interaction with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. Nanoscale. 3, 1127–1138.

41-Myllynen P. (2009). Nanotoxicology: damaging DNA from a distance. Nat. Nanotechnol. 4: 795-6.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]

42-Schrand A, Huang H, Carlson C, Schlager J J, Osawa E, Hussain S M, et al. (2007). Are diamond nanoparticles cytotoxic? J Phys Chem Lett B. 111(1): 2-7.

43-Eisenbrand G, Pool-Zobel B, Baker V, Balls M, Blaauboer B.J, Boobis A, et al. (2002). Methods of in vitro toxicology. Food Chem Toxicol. 40: 193-226.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1392.6.1.4.5]