

بررسی سمیت نانو ذرات نقره بر روی سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929 به روش MTT

دکتر حسین شاهون^{۱#}، رویا حامدی^۲، دکتر پاتنه آگلگون نیا^۳، زهرا یادگاری^۴

۱- استادیار بخش جراحی فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد

۲- دانشجوی رشته دندانپزشکی دانشگاه شاهد

۳- دندانپزشک

۴- کارشناس ارشد ایمونولوژی - آزمایشگاه بیولوژی سلولی و مولکولی دهان دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه شهید بهشتی

خلاصه:

سابقه و هدف: نانو ذرات نقره با دارا بودن خواص ضد میکروبی بسیار قوی، مقبولیت بالایی در پزشکی و دندانپزشکی یافته‌اند. اما علی‌رغم کاربردهای وسیع، اطلاعات کافی در رابطه با تاثیر آنها بر روی سلامت انسان وجود ندارد و مواردی مبنی بر سمیت آنها گزارش شده است. این مطالعه با هدف بررسی سمیت نانوذرات نقره بر روی سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929 به روش MTT انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی - آزمایشگاهی، نانو ذرات نقره را با غلظت های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ ppm بر روی ۱۰،۰۰۰ سلول فیبروبلاست رده ی L929 اثر داده، سپس ویتالیته سلول‌ها در زمان های ۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش MTT (سمیت مورد نظر) مورد ارزیابی قرار گرفت و با استفاده از دستگاه ELISA READER میزان جذب نوری سنجیده و میزان آن ثبت شد. سپس داده‌های بدست آمده با آزمون ANOVA تحلیل گردید.

یافته‌ها: در تمامی گروه‌ها میزان فعالیت حیاتی سلول‌ها بعد از ۲۴ ساعت حداقل بود، اما در زمان های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان فعالیت حیاتی سلول‌ها افزایش یافت و این افزایش در فعالیت حیاتی بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ آماری معنی‌دار بود. ($P < 0/05$) همچنین غلظت‌های بالاتر از ۲۰ ppm در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برای فیبروبلاست‌ها سمی گشت که این یافته نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود. ($P < 0/05$)

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد نانو ذرات نقره در غلظت‌های کمتر از ۲۰ ppm و بعد از گذشت ۷۲ ساعت فاقد اثر توکسیک می‌باشند.

کلید واژه‌ها: نانو ذرات نقره، سمیت، سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929، میزان جذب نوری.

وصول مقاله: ۹۰/۲/۸ اصلاح نهایی: ۹۰/۳/۱۸ پذیرش مقاله: ۹۰/۵/۲۷

مقدمه:

نانوسیلور، خوشه‌هایی از اتم‌های نقره به قطر ۱۰۰-۱ نانومتر هستند.^(۹-۷) که با اتصال به پروتئین حاوی گوگرد در سطح غشا باکتری‌ها، وارد آنها شده و با تغییر در مورفولوژی و نفوذپذیری غشا و تاثیر در زنجیره‌ی تنفسی و تقسیم سلولی در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌گردد.^(۱۳-۱۱) البته علاوه بر خواص ضد

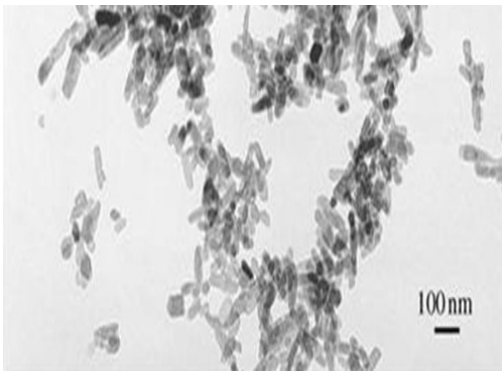
خواص ضد میکروبی نقره، سال‌های مدیدی است که شناخته شده است.^(۳-۱) اما اخیراً به دلیل ساخته شدن آن به صورت نانوذرات، سطح تماس افزایش یافته و خاصیت ضد میکروبی آن تا بیش از ۹۹ درصد افزایش پیدا کرده است.^(۶-۴) پارتیکل‌های

نویسنده مسئول مکاتبات: حسین شاهون - دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد - تهران: بلوار کشاورز - خیابان ایتالیا غربی . کدپستی: ۱۴۱۵۴۳۵۱۱۱

Email:Shahoonh@yahoo.com

تلفن: ۸۸۹۶۷۶۱۸

بنفش به مدت ۲۴ ساعت استفاده گردید.



شکل ۱-TEM (Transmission electron micrograph) از پارتیکل های نانوسیلور با مقیاس ۱۰۰ نانومتر

۲- کشت سلول های فیبروبلاست رده ی L929

کرایوتیوب سلولی تهیه شده از انستیتوپاستور ایران دربرگیرنده سلول های فیبروبلاست رده سلولی L929 موش پس از خارج شدن از وضعیت منجمد در فلاسک های مخصوص کشت سلولی کشت داده شدند (شکل ۲). جهت کشت این سلول ها از محیط کشت DMEM (Grand Island, NY) همراه با ۱۰۰ میلی لیتر از آنتی بیوتیک های پنی سیلین (Sigma, USA) استرپتومایسین (Sigma, USA) استفاده شد.

علاوه بر محیط کشت، از FBS (Fetal Bovine Serum) (GIBCO, USA) جهت غنی سازی محیط به نسبت ۱۰ درصد در محیط کشت استفاده گردید که در این حالت محیط کشت کامل گفته می شود. پس از اطمینان از حیات سلولی با استفاده از رنگ تریپان بلو، سلول ها توسط لام نئوبار شمارش شدند. تعداد ۱۰,۰۰۰ سلول به صورت یک لایه درون هر چاهک از پلیتهای ۹۶ خانه ای قرار داده شد. برای هر کدام از غلظت های مواد مورد آزمایش حداقل سه چاهک از ۴ پلیت (برای زمان های مختلف ۲ ساعت، ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت) اختصاص داده شد و ۳ چاهک نیز برای گروه کنترل در نظر گرفته شد.

باکتریایی، خواص ضد قارچی و ضد ویروسی قوی نیز دارند و لذا مقبولیت بالایی در پزشکی یافته اند. اما علی رغم کاربردهای وسیع، اطلاعات کافی در رابطه با عدم تاثیر سو آنها بر روی سلامت انسان وجود ندارد و تناقضاتی در زمینه سازگاری زیستی این ذرات گزارش شده است (۱۴-۱۶)، خصوصاً بعد از استفاده سیستمیک، پارتیکل های نانوذرات به قدر کافی کوچک هستند که می توانند از کوچکترین مویرگهای موجود در بدن و نیز غشاهای بیولوژیکی عبور کرده و روی فیزیولوژی هر نوع سلول در بدن موثر باشند (۱۷) اخیراً گزارشات مبنی بر سمیت آنها بر بافت های کبدی، طحال، کلیه و نیز دستگاه تناسلی یافته اند (۱۸) و حتی مشخص شده است نانوذرات نقره کمتر از ۸۰ نانومتر از سد مغزی عبور می کنند (۱۹-۲۱)

سلول های فیبروبلاست L929 که در این مطالعه استفاده گردید، از پرکاربردترین رده ی سلولی نامیرا جهت ارزیابی سایتوتوکسیسیته است که به علت ثبات نسبی خصوصیات سلول ها در نسل های مختلف باعث بالا رفتن اعتبار و تکرار پذیری نتایج نسبت به رده ی سلولی اولیه می گردد. همچنین این رده سلولی در استاندارد جهانی ISO 10993:5 برای مواد دندانپزشکی جهت انجام تست سایتوتوکسیسیته توصیه گردیده است (۱).

بنابراین این مطالعه با هدف بررسی سمیت نانوذرات نقره در غلظت های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ ppm بر روی سلول های فیبروبلاست رده ی L929 بعد از گذشت زمان های ۷۲ و ۴۸، ۲۴ ساعت صورت گرفت.

مواد و روش ها:

مطالعه به روش تجربی انجام شد. مراحل انجام تحقیق به شرح زیر بود:

۱- تهیه و استریل کردن نانو ذرات نقره

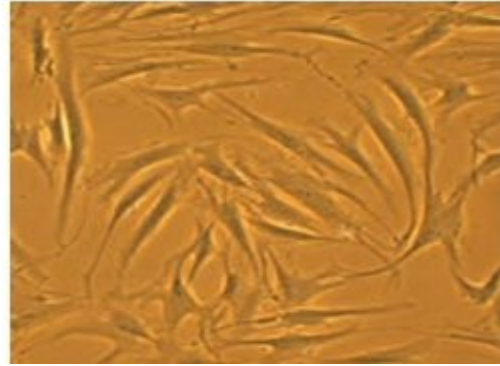
در این مطالعه از نانو ذرات نقره با ابعاد زیر ۱۰۰ نانومتر و میله ای شکل (شکل ۱) با خلوص ۹۹ درصد ساخت شرکت آلمانی NANOSHEL (Batch No#20090621) استفاده شد. جهت استریل کردن پارتیکل ها، از نور ماورای

پس از سپری شدن ۴ ساعت، پلیت را بیرون آورده و با کشیدن محیط روئی به چاهک‌ها ایزوپروپانل اسیدی اضافه گشت تا کریستال های بنفش رنگ فومارازون ایجاد شده در سلول‌هایی که زنده مانده‌اند، حل شده و مایع رنگی یکنواختی ایجاد شود. این مایع رنگی را به چاهک‌های پلیت ایزوا منتقل و جذب آن با استفاده از دستگاه ELISA READER در طول موج ۵۷۰ نانومتر با فیلتر فرانس ۶۲۰ خوانده شد و با استفاده از آزمون ANOVA جذب نوری چاهک‌های نانوذرات نقره مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها:

تحقیق روی ۶ گروه تجربی و ۱ گروه شاهد مجموعاً ۷ گروه و روی ۲۱ نمونه صورت گرفت و در آن غلظت های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۳۰، ۵۰ ppm از نانوذرات نقره به مدت ۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929 مجاورت داده شد. میزان و انحراف معیار فعالیت حیاتی سلول‌ها و درصد سایتوتوکسیسیته نسبت به گروه کنترل بر حسب زمان‌های پیگیری به تفکیک غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. درصد حیات سلولی از تقسیم میانگین میزان جذب غلظت مورد نظر به میانگین جذب گروه کنترل در همان زمان ضربدر ۱۰۰ بدست آمد و با کم کردن این عدد از ۱۰۰ میزان درصد توکسیسیته بدست آمد.

در تمامی گروه‌های غلظتی میزان فعالیت حیاتی سلول‌ها بعد از گذشت ۲۴ ساعت حداقل بود، اما بعد از ۴۸ ساعت میزان فعالیت حیاتی سلول‌ها افزایش یافت و تحلیل آماری نشان داد که این افزایش در فعالیت حیاتی سلول‌ها بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$) و کمترین میزان فعالیت حیاتی سلول‌ها مربوط به غلظت ۵۰ ppm بعد از گذشت ۲۴ ساعت است که برابر 0.003 ± 0.003 بود. (جدول ۱).



شکل ۲- سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929 کشت شده در فلاسک (بزرگنمایی ۲۰۰ میکروسکوپ الکترونی)

۳- قرارگیری نانو ذرات نقره در مجاورت سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929

در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت سلولی تعداد ۱۰۴ سلول فیبروبلاست رده ی L929 قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (فشار ۵ درصد CO₂، رطوبت ۹۸ درصد، دمای ۳۷ درجه)، محیط کشت روئی تخلیه گردید. سپس نانو ذرات نقره با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ ppm در محیط کشت در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه روی سلول‌ها اثر داده شد و در سه چاهک کنترل محیط کشت کامل به عنوان یک ماده صفر درصد غیر توکسیک ریخته شد.

۴- ارزیابی وایتالیته سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929

وایتالیته سلول‌ها در زمان‌های ۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت پس از مجاورت با نانو سیلور با استفاده از تست MTT مورد سنجش قرار گرفت. به این ترتیب که بعد از گذشت زمان‌های موردنظر محیط‌های کشت سلولی را از انکوباتور (فشار CO₂ ۵ درصد، رطوبت ۹۸ درصد، دمای ۳۷ درجه) خارج کرده و یک دهم حجم روئی سلول‌ها به هر چاهک محلول (Dimethylthiazol-2-yl 2-5 diphenyl tetrazolium bromide) MTT اضافه شد و پلیت به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت.

جدول ۱- میزان و انحراف معیار فعالیت حیاتی سلول ها و درصد های سایتوتوکسیسیته نسبت به گروه کنترل بر حسب زمان های پیگیری به

تفکیک غلظت های مختلف نانو ذرات نقره

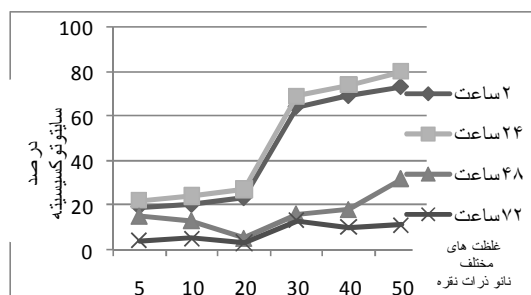
زمان	۲ ساعت		۲۴ ساعت		۴۸ ساعت		۷۲ ساعت	
	میزان	درصد	میزان	درصد	میزان	درصد	میزان	درصد
کنترل	۰/۱ ± ۰/۰۰۱	-	۰/۱۶ ± ۰/۰۰۳	-	۰/۱۸ ± ۰/۰۰۳	-	۰/۳۱ ± ۰/۰۱۶	-
۵	۰/۷۹ ± ۰/۰۰۵	۱۹	۰/۱۳ ± ۰/۰۱۲	۲۲	۰/۱۶ ± ۰/۰۰۲	۱۵	۰/۲ ± ۰/۰۲۲	۴
۱۰	۰/۸ ± ۰/۰۳۱	۲۰	۰/۱۲ ± ۰/۰۲۴	۲۴	۰/۱۶ ± ۰/۰۱۳	۱۳	۰/۲ ± ۰/۰۰۵	۵
۲۰	۰/۷۷ ± ۰/۰۱۸	۲۳	۰/۱۲ ± ۰/۰۰۱	۲۷	۰/۱۷ ± ۰/۰۰۹	۵	۰/۲۰۵ ± ۰/۰۰۳	۳
۳۰	۰/۵۶ ± ۰/۰۲۲	۶۴	۰/۰۵ ± ۰/۰۰۱	۶۹	۰/۱۵ ± ۰/۰۰۲	۱۶	۰/۱۸ ± ۰/۰۰۴	۱۳
۴۰	۰/۲۱ ± ۰/۰۰۲۵	۶۹	۰/۰۶ ± ۰/۰۰۰۴	۷۴	۰/۱۵ ± ۰/۰۰۲	۱۸	۰/۱۹ ± ۰/۰۰۵	۱۰
۵۰	۰/۲۷ ± ۰/۰۰۵	۷۳	۰/۰۳ ± ۰/۰۰۰۳	۸۰	۰/۱۳ ± ۰/۰۰۱	۳۲	۰/۱۹ ± ۰/۰۰۴۳	۱۱

بحث:

نتیجه پژوهش نشان داد که در تمامی گروه های غلظتی حداکثر درصد سایتوتوکسیسیته بعد از گذشت ۲۴ ساعت است و بعد از ۴۸ ساعت سایتوتوکسیسیته کاهش می یابد و تحلیل آماری نشان داد که این کاهش در سایتوتوکسیسیته سلول ها بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ آماری معنی دار است ($P < 0/05$) و بیشترین درصد سایتوتوکسیسیته مربوط به غلظت ۵۰ ppm بعد از گذشت ۲۴ ساعت می باشد. همچنین بعد از گذشت زمان های ۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت از مجاورت ذرات با سلول های فیبروبلاست در غلظت های بالاتر از ۲۰ ppm، درصد سایتوتوکسیسیته افزایش می یابد و آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که این افزایش توکسیسیته از لحاظ آماری معنی دار است ($P < 0/05$)، ولی در زمان ۷۲ ساعت هیچ تفاوت معنی داری در میانگین فعالیت حیاتی سلول ها بین گروه های غلظتی وجود نداشت.

توجیهی که برای کاهش توکسیسیته وجود دارد این است که در ساعات اولیه مجاورت نانوسیلور با سلول ها ذرات آن از یکدیگر جدا بوده و دارای بیشترین اثر توکسیسیته است و در

همچنین نتایج نشان داد که در غلظت های بالاتر از ۲۰ ppm و بعد از گذشت زمان های ۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت از مجاورت ذرات با سلول های فیبروبلاست، درصد سایتوتوکسیسیته افزایش یافت و آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که این افزایش توکسیسیته از لحاظ آماری معنی دار است ($P < 0/05$)، ولی در زمان ۷۲ ساعت هیچ تفاوت معنی داری در میانگین فعالیت حیاتی سلول ها بین گروه های غلظتی وجود نداشت (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه ی درصد های سایتوتوکسیک بر حسب زمان های پیگیری به تفکیک غلظت های مختلف نانو ذرات نقره

HA را در غلظت‌های ۱۵.۵ تا ۸۰۰۰ ppm، بر روی سلول‌های فیبروبلاست رده‌ی L ۹۶۹ و بعد از گذشت ۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از تست MTT مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که با افزایش غلظت و نیز زمان، میانگین فعالیت حیاتی سلول‌ها کاهش می‌یابد ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد.^(۲۵) که با نتایج مطالعه‌ی اخیر متفاوت است و نشان دهنده‌ی آن است که ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت نسبت به ذرات نانوسیلور سازگاری زیستی بیشتری دارد.

اما در مطالعه‌ی که توسط Zhang FQ و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد و سایتوتوکسیسیته ۶ نوع از پارٹیکل‌های غیر آلی با بیس ذرات نانوسیلور (با ابعاد زیر ۱۰۰ نانومتر و میله‌ای شکل) بر روی فیبروبلاست‌های منشا گرفته از لثه‌ی خرگوش با استفاده از تست MTT بعد از ۲۴ ساعت بررسی شد، نتایج نشان داد که این ذرات هیچ خاصیت سمی در غلظت‌های پایین‌تر از ۲۵ ppm ندارند و ذرات نانوسیلور با حامل زیرکونیم فسفات نسبت به بقیه کمترین اثر توکسیک را دارند.^(۲۶) با وجود این که در مطالعه‌ی اخیر از ذرات نانوسیلور با بیس آب استفاده گردید، اما نتایج ما نیز در تایید نتیجه‌ی فوق نشان داد که ذرات نانوسیلور در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ ppm بر روی فیبروبلاست‌ها، توکسیک می‌باشد. لازم به ذکر است که در مطالعه‌ی Hsu SH و همکاران تنها سمیت نانوذرات بعد از ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت.^(۲۴)

محسن زاده و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی اثر سایتوتوکسیسیته‌ی پارٹیکل‌های نانوسیلور (با ابعاد زیر ۱۰۰ نانومتر و کروی شکل در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ ppm بر روی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در سه زمان ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت با استفاده از تست MTT پرداختند و نشان دادند که تا غلظت‌های کمتر از ۱۰ ppm سمیتی برای سلول‌ها وجود ندارد.^(۲۷) اما نتایج حاصل از مطالعه‌ی اخیر نشان داد که بعد از گذشت ۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت غلظت‌های بالاتر از ۲۰ ppm برای فیبروبلاست‌ها توکسیک است و این می‌تواند ناشی از حساس‌تر بودن سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی نسبت به فیبروبلاست‌ها

حداکثر میزان توکسیسیته نیز فقط ۲۰ درصد سلول‌ها بعد از گذشت ۲۴ ساعت زنده ماندند. اما با گذشت زمان ذرات به صورت مجتمع در آمده و از سمیت آنها کاسته شد. بنابراین درصدی از سلول‌ها که زنده مانده‌اند شروع به تکثیر می‌کنند و تکثیر آنها باعث مصرف گلوکز محیط و تولید اسید می‌شود که این امر خود به تجمع بیشتر نانوذرات کمک نموده و به دنبال تجمع بیشتر ذرات، از سمیت آن بیشتر کاسته می‌شود به طوری که بعد از ۷۲ ساعت، درصد سلول‌های زنده بالای ۷۰ درصد می‌باشد.^(۲۲)

Cao و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مطالعه‌ی سازگاری زیستی نانوکامپوزیت‌های نقره/چیتوزان را بر روی سلول‌های فیبروبلاست L929 با استفاده از تست ۳- (۵ و ۴) دی متیل تیازول (۵ و ۲) دی فنیل تترازولیوم بررسی کردند و نشان دادند که ترکیب نانوکامپوزیت نقره/چیتوزان جهت تکثیر و اتصال سلول‌های فیبروبلاست L929 مفید می‌باشد.^(۲۳) همچنین در مطالعه‌ی Tsenq و همکاران نیز که در سال ۲۰۰۵ انجام شد، سازگاری زیستی نانوکامپوزیت‌های سیلور پلی‌اورتان متکی بر آب در غلظت‌های ۱۵ تا ۷۵ ppm ارزیابی گردید، آنها نشان دادند که ذرات نانوسیلور در غلظت ۳۰ ppm بیشترین خاصیت اکسیداتیو را داشته و منجر به کاهش فعالیت پلاکت‌ها و مونوسیت‌ها شده اما در مورد فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال منجر به افزایش اتصال این سلول‌ها شده است.^(۲۴) نتایج حاصل از این دو تحقیق با نتیجه‌ی مطالعه‌ی اخیر تفاوت دارد و بیانگر عدم توکسیک بودن این ذرات برای فیبروبلاست‌ها می‌باشد که ناشی از استفاده کردن از ذرات نانوسیلور به شکل نانو کامپوزیت می‌باشد. نانوکامپوزیت عبارت است از یک ماده‌ی دوفازی یا ترکیب ذرات در زمینه‌ی پلیمری، فلزی یا سرامیکی که منجر به تغییر در خواص مکانیکی مواد می‌شود. با توجه به اینکه در مطالعه‌ی اخیر از ذرات نانوسیلور به شکل کلونیدال استفاده گردید می‌توان علت اختلاف نتایج را به آن نسبت داد.^(۲۴)

همچنین مطالعه‌ی توسط شاهون و همکاران در سال ۲۰۱۱ صورت گرفت و در آن سازگاری زیستی اشکال میله‌ای-Nano

نانوسیلور با گذشت زمان باشد که منجر به کاهش توکسیسیته‌ی ذرات می‌گردد.

همچنین با مقایسه‌ی نتایج حاصل از این مطالعه با مطالعات دیگر می‌توان به این نتیجه رسید که این ذرات در شکل خارج سلولی سمیت کمتری داشته، همچنین استفاده کردن از اشکال میله‌ای نسبت اشکال کروی و نیز نانوکامپوزیت‌های نقره نسبت به فرم کلوئیدال آن دارای سازگاری زیستی بیشتری می‌باشد.

پیشنهادات:

در زمینه‌ی سازگاری زیستی ذرات نانوسیلور تناقض‌هایی وجود دارد که می‌تواند ناشی از ویژگی‌های خاص ذرات مورد استفاده (اندازه، شکل، غلظت نانوذرات به کار رفته، نوع ترکیب سورفاکتانت و پایدارکننده حامل ذرات) و نوع سلول مورد بررسی و تفاوت در روش‌های بکار رفته باشد و با توجه به اهمیت موضوع پیشنهاد می‌شود تا مطالعات بیشتری نظیر بررسی واکنش‌های ایمنولوژیکی و مولکولی و هم چنین بررسی سایتوتوکسیسیته این ماده در مدل های *in vivo* توسط محققین دیگر انجام و پی‌گیری شود.

References:

- 1-Liesje S, Bart D , Paul V, Benny F, Pyck G. *The Antibacterial Activity of Biogenic Silver and Its Mode of Action. J Microbial Biotechnology.* 2011may; 31(2):113-189
- 2-Liu J, Sonshine DA, Shervani S, Hurt RH. *Controlled Release of Biologically Active Silver from Nanosilver Surfaces. J ACS Nano.* 2010 Jul; 23; 4(11):6903-13.
- 3-Chaloupka K, Malan Y, Seifalian A. *Nanosilver as a New Generation of Nano Product in Biomedical Applications. J Trends Biotechnology.* 2010 sep; 28; 3(11):345-501.
- 4-Sotiriou GA, Pratsinis SE. *Antibacterial Activity of Nanosilver Ions and Particles. J Environ Sci Technol.* 2010 jan; 15; 44(14):5649-54.
- 5-Medina C, Santos MJ, Radomski A. *Nanoparticles: Pharmacological and Toxicological Significance. J Pharmacol.* 2007Aug; 150:552-558.
- 6-Maynard M, Michelson N. *Analysis-Consumer Products-Nanotechnology Project. J ACS Nano.* 2009 may; 28; 3(11):345-501
- 7-Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. *Antimicrobial Effects of Silver Nano Particles. J Nano medicine.* 2007 Mar; 3(1):95-101.
- 8-Morones JR, Elechiguerra JL, Yacaman MJ. *The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles. J Nanotechnology.* 2005 Oct; 16(10):2346-53. Epub 2005 Aug 26.
- 9-Lee HY, Park HK, Lee YM, Kim K, Park SB. *A Practical Procedure for Producing Silver Nano Coated Fabric and its Antibacterial Evaluation for Biomedical Applications .J Chem Commun.* 2007 jul; 28:2959-2961

به ذرات نانوسیلور باشد که می‌تواند ناشی از فاگوسیت این ذرات توسط مونوسیت‌ها باشد.^(۲۴) نتایج مطالعه‌ی Kim S و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز نشان داد که سایتوتوکسیسیته‌ی القا شده توسط پارتیکل‌های نانوسیلور به دلیل استرس اکسیداتیو حاصل از یون‌های نقره می‌باشد که با تجمع در سیتوپلاسم و هسته‌ی سلول‌ها منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود^(۲۸)، همچنین شکل ذرات به کار رفته در مطالعه‌ی نظری مقدم و همکاران کروی بوده که با مطالعه‌ی اخیر متفاوت است در واقع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که سلول‌ها به اشکال کروی ذرات نانوسیلور نسبت انواع میله‌ای آن حساس‌تر بوده، زیرا شکل ذرات بر روی سطح تماس ذرات و مقدار یون‌های نقره‌ی آزاد شده موثر می‌باشد.^(۷)

نتیجه‌گیری:

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که غلظت‌های بالاتر از ۲۰ ppm نانوسیلور در زمان‌های ۲، ۲۴، و ۴۸ ساعت برای فیبروبلاست‌ها سمی است و بعد از گذشت ۷۲ ساعت این ذرات فاقد اثر توکسیک می‌باشند، که می‌تواند به دلیل تجمع ذرات

- 10-Vigneshwaran N, Kathe AA, Varadarajan PV, Nachane RP, Balasubramanya RH. Functional Finishing of Cotton Fbrics Using Silver Anoparticles. *J Nanosci Nanotechnology*. 2007sep;7:1893–1897.
- 11- Colleen M, Santoro, Nicole L, Duchsherer, David W.. Antimicrobial Efficacy and Ocular Cell Toxicity from Silver Nanoparticles. *J Nanobiotechnology*. 2007 May; 3(2): 55–65.
- 12-Woo K, Hye Ch. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in Staphylococcus Aurous and Escherichia Coli. *J ADA*. 2008; 74(7): 217–247
- 13-Carlson C, Hussain SM, Schrand AM, Braydich-Stolle LK, Hess KL, Jones RL, et al. Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species. *J Phys Chem B*. 2008 Oct; 30;112(43):13608-19.
- 14- Cinar S, Gündül G, Mavis B, Colak U. Synthesis of Silver Nanoparticles by Oleylamine-Oleic Acid Reduction and its Use in Making Nanocable by Coaxial Electrospinning. *J Nanosci Nanotechnol*. 2011 Apr; 11(4):3669-79
- 15-kim TN, Fex q Ql, Kim JQ, Wu J, Wanq H, Chen GC, et al. Antimicrobial Effects of Metal Ions in Hydroxyapatite. *J Materials Science*. 1998 Mar; 9(3) 129-34.
- 16-Rai M, Yadav A, Gade A. Silver Nanoparticles and Ant Bacterial as a New Generation of Antimicrobials. *J Biotechnology Advances*. 2009; 27(1): 76-83
- 17-Sharma VK, Yngard RA, Lin Y. Silver Nanoparticles: Green Synthesis and Their Antimicrobial Activities. *J Adv Colloid Interface Sci*. 2009 Jan; 145(1-2):83-96.
- 18- Woo Kyung Jung, Hye Cheong Koo, Ki Woo Kim, Sook Shin, So Hyun Kim, Yong Ho Park. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in Staphylococcus Aurous and Escherichia Coli. *J ADA*. 2008; 74(7): 217–217
- 19-Petica A, Gavariliu S, Lungu M, Buruntea N, Panzaru C. Colloidal Silver Solutions with Antimicrobial Properties. *J Material Science and Engineering*. 2008; 15(2):22-27
- 20- Shrivastava S, Jung woo. Characterization of Enhanced Antibacterial Effects of Nano Silver nanoparticles. *J Nanotechnology*. 2007; 18 (25):103– 225
- 21- Panacek A, Kvitek L, Prucek R, Kolar M, Vecerova R, Pizurova N, et al. Silver Colloid Nano Particles: Synthesis, Characterization, and Their Anti Bacterial Activity. *J Phys Chem*. 2006 Aug; 110(33):16248–53
- 22- Anand M, Bell PW, Fan X, Enick RM, Roberts CB. Synthesis and Steric Stabilization of Silver Nanoparticles in Neat Carbon Dioxide Solvent Using Fluorine-Free Compounds. *J Phys Chem B*. 2006 Aug ; 110(30):14693-701
- 23-Cao XL, Cheng C, Ma YL, Zhao CS. Preparation of Silver Nanoparticles with Antimicrobial Activities and the Researches of their Biocompatibilities. *J Sci Mater Med*. 2010 Oct; 21(10):2861-8. Epub 2010 Jul 22.
- 24-Hsu SH, Tsenq HJ, Lin YC. The Biocompatibility and Antibacterial Properties of Waterborne Polyurethane-Silver Nanocomposites. *J Biomaterials*. 2010; 31(26):6796-808
- 25-Shahoon H, Hamed R, Yadegari Z, Valai N. Evaluation of Hydroxyapatite Nano Particles, on the Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: An In Vitro Study. *J Medwell*. 2010; 5(12):764-768
- 26-Zhang FQ, She WJ, Fu YF. Comparison of the Cytotoxicity In Vitro Among Six Types of Nano-Silver Base Inorganic Antibacterial Agents. *J Biomaterials*. 2005 Nov; 40(6):504-7.
- 27-Mohsenzadeh S, Nazarymoghaddam K. Evaluation of Cytotoxicity of Nanosilver Particles on Monocytes of White Blood Cells. [Dissertation] Dental Faculty of Shahed University of Medical Science; 2010
- 28-Kim S, Choi JE, Choi J, Chung KH, Park K, Yij J, et al. Oxidative Stress-Dependent Toxicity of Silver Nanoparticles In Human Hepatoma Cells. *J Toxicol Invitro*. 2009 Sep; 23(6):1076-84. Epub 2009 Jun 7.