نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۰۴، پاییز ۱۳۹۳
ص‌ص: ۱۹۵~۲۰۶

اثرات نانوذرات نقره بر اجزای لاشه، برخی فراسنجه‌های خونی و فعالیت‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی بلدرچین تخم‌گذار ژاپنی

- **ئاکو رضائی**
کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان
- **امجد فرزین پور** (نویسنده مسئول)
عضو هیأت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

تاریخ دریافت : مردادماه ۹۲ تاریخ پذیرش : مهرماه ۹۲

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۸۷۱۱۱۲۹

Email: Amjadfarzinpour@uok.ac.ir

چکیده

نانوذرات نقره به عنوان پرمصرف ترین نانو ذره در صنعت نانوتکنولوژی دارای اثرات ضدباکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی می‌باشند. از آن جا که مصرف نانوذرات نقره در صنعت طیور رو به افزایش است، به منظور مطالعه اثرات این مواد بر اجزای لاشه، برخی فراسنجه‌های خونی و آنتی‌اکسیدانی بلدرچین تخم‌گذار تعداد ٦٠ قطعه بلدرچین ماده در چهار تیمار و پنج تکرار و هر تکرار شامل سه قطعه بلدرچین ماده در ۲۰ قفس استفاده گردید. تیمارهای آزمایشی شامل ppm صفر، ۱۲، ٣٦ و ۱۰۸ نانوذرات نقره بود که در آب آشامیدنی مصرف شد. نتایج نشان داد که در تیمارهای آزمایشی ppm ٣٦ و ۱۰۸ نانوذرات نقره وزن نسبی کبد بطور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). برای سایر صفات لاشه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار دریافت‌کننده ppm ۱۰۸ نانوذرات نقره افزایش معنی‌داری را در آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز کبدی نشان داد(p<۰/۰۱). در بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گروه‌های مختلف، غلظت سرمی مالون دی آلدئید، غلظت مالون دی آلدئید بافت کبد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم گروه ppm ۱۰۸ با افزایش معنی‌داری مواجه شد(p<۰/۰۵). با توجه به نتایج این تحقیق نانوذرات نقره سبب بروز اختلالات کبدی و افزایش القاء تنش اکسیداتیو در بلدرچین تخم‌گذار می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، بلدرچین تخم‌گذار، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، مالون‌دی‌آلدئید.

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 104 pp: 195-206

Effects of silver nanoparticles on the carcass characteristics, some of hematological parameters and antioxidant enzyme activities in laying Japanese quails.

By: 1- Ako Rezaei[1]
2- Amjad Farzinpour[1*]
[1]Department of animal science, faculty of agriculture, university of Kurdistan
[*]Corresponding E-mail address: Amjadfarzinpour@uok.ac.ir, *Tel.: +989188711129*.

Received: August 2013 **Accepted: October 2013**

Silver nanoparticles are emerging as one of the fastest growing product categories in the nanotechnology industry with focus on antibacterial, antifungal and Antivirus activity. This study was conducted to investigate whether the silver nanoparticles would influence the carcass characteristics, some of hematological parameters and antioxidant enzyme activities in laying quail. A total of 60 female quail were randomly divided into 20 experimental cages, three birds in each cage and each treatment was offered to 5 replicates at random, and treatments included 0, 12, 36 and 108 ppm of silver nanoparticles in drinking water from one-day old to 13 weeks age. The results showed that the relative liver weight was decreased in treatments receiving 36 and 108 ppm of silver nanoparticles ($p<0.05$) and other carcass characteristics have not been affected ($p>0.05$). The liver enzyme aspartate aminotransferase has been increased dramatically in 108 ppm treatment compared with other treatments and control ($p<0.01$). Total antioxidant capacity malondialdehyde formation in liver and serum were significantly increased in two treatments: 36 and 108 ppm, ($p<0.05$). Base of these results, Silver nanoparticles causes disorders of liver and increases induction of stress oxidative in laying Japanese quails.

Key words: Silver nanoparticles, laying quails, Total antioxidant capacity, malondialdehyde

مقدمه

نانوذرات نقره به عنوان پرمصرف ترین نانو ذره در صنعت نانوتکنولوژی دارای اثرات ضدباکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی می‌باشند Govindasamy and Rahuman, (2012). امروزه از نانوذرات نقره برای شستشو و ضدعفونی سالن‌های پرورش طیور، ضدعفونی پستان و سم دام ها، ساختمان و البسه استفاده می‌شود(Zargaran-Esfahani et al., 2010). اندازه ذرات نانو نقره، هم شکلی ذرات آن و پایداری بالا باعث می‌شود که از غشای بیولوژیکی سلول عبور کند و از طریق مکانیزم پیام رسانی سلول در عملکرد میتوکندری و مواد ژنتیکی درون سلول اختلال ایجاد نماید(Hyuck sung et al., 2009). نانوذرات می‌توانند وارد سلول شده و با ساختارهای درون سلولی ارتباط یابند. جذب سلولی، موقعیت یابی ساختارهای درون سلولی و سمیت این نانوذرات به اندازه، شکل و ترکیب شیمیایی آن‌ها بستگی دارد(Buzea et al., 2007). آسیب سلول‌ها و بافت‌های کبد، کلیه، پوست، ریه، مغز، سیستم قلبی – عروقی و تولید مثلی نانوذرات نقره در پستانداران به اثبات رسیده است(Govindasamy and Rahuman, 2012). مسمومیت سلول‌های کبدی توسط نانوذرات نقره در مدل‌های حیوانی[1] و آزمایشگاهی[2] در مطالعات متعددی گزارش شده است(Pengpeng et al., 2007; Arora et al., 2009; Kim et al., 2009; Korani et al., 2011; Kim et al., 2011; Gaiser et al., 2012). نانوذرات نقره ممکن است با گروه‌های تیول پروتئین‌ها و آنزیم‌های درون سلولی از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که مسئول خنثی کردن تنش اکسیداتیو و تعادل تولید ذرات فعال اکسیژن(ROS[3]) در متابولیسم انرژی می‌باشند، ارتباط داشته باشد. این ذرات احتمالاً با اثر بر روی مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی (کاهش توان دفاعی) منجر به تجمع ROS می‌شود(Chen and Schluesener,

[1] In vivo

[2] In vitro

[3] Reactive Oxygen Species

2008). نانوذرات نقره با ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات فیزیکی غشاء سلول موجب آسیب به DNA و در نهایت آپوپتوزیس می شود (Ahamed et al., 2009). بسیاری از مطالعات انجام گرفته شواهد محکمی مبنی بر ارتباط بین تولید ROS وابسته به اثر نانوذرات نقره ارائه دادند که منجر به تنش اکسیداتیو و مسمومیت سلولی شده است(Hussain et al., 2005; Carlson et al., 2008; Asharani et al., 2009; Kim et al., 2009; Nishanth et al., 2011; Park et al., 2012). از آنجا که نانوذرات نقره به عنوان یک ترکیب قوی جهت ضدعفونی کردن وسایل، محل و نیزآب آشامیدنی در صنعت طیور بطور روزافزون مورد استفاده قرار می گیرد، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی اثرات نانوذرات نقره بر اجزای لاشه، برخی فراسنجه‌های خونی و فعالیت‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی در بلدرچین تخمگذار بود. به دلیل افزایش احتمال تماس با این نانوذرات در طی دوره طولانی تخم‌گذاری، بلدرچین تخم گذار به عنوان یک مدل حیوانی مناسب انتخاب گردید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۴۰ قطعه جوجه یک روزه بلدرچین ژاپنی بطور تصادفی در ۴ تیمار بر روی بستر توزیع گردیدند. از این تعداد در ابتدای دوره تخم‌گذاری (پایان هفته ششم) ۶۰ قطعه بلدرچین ماده با محدوده وزنی مشابه (۱۳۰ gr تا ۱۳۵) در ۴ تیمار و ۵ تکرار و هر تکرار شامل سه قطعه در هر قفس تقسیم و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند. دسترسی پرندگان به آب و خوراک آزاد بوده و مراقبتهای لازم حتی الامکان منطبق با روشهای توصیه شده تجاری به عمل آمد. جیره غذایی بر پایه ذرت و سویا و مطابق احتیاجات مواد مغذی توصیه شده توسط NRC(1994) درسنین مختلف دوره پرورش تنظیم گردید(جدول ۱). نانوذرات نقره مورد استفاده این تحقیق مایع کلوئیدال نانوسید L2000 ساخت شرکت نانونصب پارس (تهران، ایران) بود. مایع کلوئیدال نانوسید با فرمول: TiO2– Nano Ag، دارای حداکثر اندازه ذرات نقره ۵۰ nm و قطر µm ۰/۲ بود. جوجه‌ها از یک روزگی تا پایان ۱۳ هفتگی مقادیر ppm صفر، ۱۲، ۳۶ و ۱۰۸ نانو ذرات نقره را درآب آشامیدنی دریافت نمودند. در پایان هفته سیزدهم بعد از توزین هر پرنده، ابتدا خون‌گیری جهت مطالعات خون‌شناسی و بیوشیمیایی انجام شد، سپس نمونه‌ها کشتار و اجزاء مختلف لاشه جدا و به صورت درصدی از وزن زنده محاسبه شد. مقادیر فراسنجه‌های سرمی شامل: کلسترول، پروتئین تام، تری گلیسرید، آلبومین، گلوکز، اسید اوریک، کراتینین، کلسیم، فسفر و شاخص‌های سرمی کبد شامل: آلکالین فسفاتاز[4]، آسپارتات آمینوترانسفراز[5] و آلانین آمینوترانسفراز[6] توسط کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر (Abbott Alcyon 300) انجام شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان پروتئین کبد مقدار ۲ gr پارانشیم کبدی برداشت گردید. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین کبد، نمونه‌های کبد به نسبت ۱به ۱۰ با محلول بافر (۱/۱۵ درصد پتاسیم کلرید، PH=۷/۴) توسط دستگاه هموژنایزر همگن سازی شد. پس از سانتریفیوژ(به مدت ۱۵ دقیقه و در دور ۵۰۰۰ rpm) نمونه‌های هموژنیزه شده، قسمت فوقانی محلول برداشته شد. سنجش فعالیت آنزیم SOD در گلبول‌های قرمز و کبد توسط کیت تجاری راندوکس(RANSOD) انجام شد(S.Marklund and G.Marklund, 1974). فعالیت GPx گلبول‌های قرمز و کبد توسط کیت تجاری شرکت راندوکس(RANSEL) و بر اساس روش (Paglia and Valentine, 1976) انجام شد. فعالیت آنزیم کاتالاز کبد بر پایه روش (Aebi, 1984) سنجیده شد. اندازه گیری غلظت MDA سرم و بافت کبد بر پایه روش (Satoh, 1978) انجام گردید. سطوح پروتئین کبد توسط کیت پروتئین بیو- راد اندازه گیری و براساس روش (Bradford, 1976) انجام شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC[7]) سرم با استفاده از کیت شرکت راندوکس و توسط دستگاه

[4] Alkaline Phosphatase (ALP)
[5] Aspartate Aminotransferase (AST)
[6] Alanine Aminotransferase (ALT)
[7] Total Antioxidant Capacity (TAC)

اتوآنالیزر(Abbott Alcyon 300) اندازه گیری شد. جهت آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SAS (2004)9.1 استفاده شد. همچنین مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

جدول ۱: ترکیب اقلام خوراکی(درصد) و مواد مغذی جیره های آزمایشی مورد استفاده در بلدرچین تخم گذار

اقلام خوراکی(٪)	جیره آغازین و رشد (۰-۴۲ روزگی)	جیره تخم گذاری (۴۲- پایان دوره)
ذرت	۵۰/۵۱	۵۳/۶۲
کنجاله سویا	۴۲/۰۴	۳۴/۷۲
روغن سویا	۲/۰۷	۳/۶۸
پودر ماهی	۳/۰۰	۰
پودر صدف	۱/۱۶	۵/۹
دی کلسیم فسفات	۰/۳۲	۱/۲۳
نمک	۰/۳۰	۰/۳۴
مکمل ویتامینی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[2]	۰/۲۵	۰/۲۵
دی- ال متیونین	۰/۱۰	۰/۰۱
مواد مغذی	جیره آغازین و رشد (۰-۴۲ روزگی)	جیره تخم گذاری (۴۲- پایان دوره)
انرژی قابل‌متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۹۰۰	۲۹۰۰
پروتئین خام(٪)	۲۴	۲۰
لیزین(٪)	۱/۳۰	۱/۰۰
متیونین(٪)	۰/۵۰	۰/۴۵
متیونین+ سیستئین(٪)	۰/۷۵	۰/۷۰
کلسیم(٪)	۰/۸۰	۲/۵۰
فسفر قابل دسترس(٪)	۰/۳۰	۰/۳۵

۱-هر کیلو گرم از مکمل ویتامینه دارای ترکیبات: ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۷۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۷۲۰ میلی گرم B1، ۲۶۴۰ میلی گرم B2، ۴۰۰۰ میلی گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۰۰۰ میلی گرم اسید نیکوتنیک، ۱۲۰۰ میلی گرم B6، ۴۰۰ میلی گرم اسید فولیک، ۶ میلی گرم B12، ۸۰۰ میلی گرم K3، ۴۰ میلی گرم بیوتین، ۱۰۰۰۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدانت می‌باشد. ۲- هر کیلوگرم از مکمل معدنی دارای ترکیبات: ۴۰۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۲۰۰۰۰ میلی گرم آهن ، ۴۰۰۰ میلی گرم مس، ۴۰۰ میلی گرم ید، ۸۰ میلی گرم سلینیوم، ۳۳۸۸۰ میلی گرم روی؛ ۱۰۰۰۰۰ کولین کلراید می‌باشد.

نتایج

براساس نتایج حاصل در جدول ۲، نانوذرات نقره باعث کاهش معنی‌دار وزن نسبی بافت کبد شد($P<۰/۰۵$) و بر روی سایر اوزان نسبی اجزای لاشه شامل: کلیه، شش، طحال، قلب، نسبت بطن راست به کل بطن‌ها، سنگدان، پیش معده، دودنوم، ژوژنوم، ایلئوم و روده بزرگ به عنوان بافت‌های هدف نانوذرات در بدن تفاوت معنی‌داری نداشت($P>۰/۰۵$). اثرات نانوذرات نقره بر درصد هماتوکریت، مقدار هموگلوبین، تعداد و شاخص گلبول‌های قرمز شامل: حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، متوسط وزن

هموگلوبین در گلبول قرمز(MCH) و متوسط غلظت وزنی هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) بلدرچین‌های تخم‌گذار معنی‌دار نبود(جدول ۳). نانوذرات نقره باعث افزایش معنی‌دار($P<۰/۰۱$) فعالیت آنزیم کبدی AST در تیمار ppm ۱۰۸ نسبت به دیگر گروه‌های آزمایشی شد. اختلاف معنی‌داری در سایر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون مشاهده نشد(جدول ۴). بر اساس یافته های جدول ۵، غلظت سرمی MDA در گروه‌های ppm ۱۰۸ و ۳۶ نانوذرات نقره نسبت به گروه ppm ۱۲ و شاهد افزایش معنی‌داری($P<۰/۰۵$) را نشان داد. افزایش معنی‌دار غلظت MDA بافت کبد نیز در گروه ppm ۱۰۸ نانوذرات نقره نسبت به دیگر گروه‌های آزمایشی مشاهده شد($P<۰/۰۵$). دریافت ppm ۱۰۸ نانوذرات نقره مقدار TAC سرم را نسبت به دیگر گروه های آزمایشی بصورت معنی‌داری افزایش داد($P<۰/۰۵$). نانوذرات نقره اثرات معنی‌داری را بر روی آنزیم‌های GPx، SOD، کاتالاز و پروتئین خون و بافت کبد نشان نداد.

جدول ۲. اثرات مقادیر مختلف نانوذرات نقره بر اجزای لاشه (درصدی از وزن زنده بدن) در بلدرچین تخم گذار

پارامترها	نانوذرات نقره (قسمت در میلیون) در آب آشامیدنی				Max	Min	SEM*	سطح احتمال
	شاهد	۱۲	۳۶	۱۰۸				
وزن زنده (گرم)	۲۲۹/۵۱	۲۴۸/۹۰	۲۳۱/۱۳	۲۷۶/۶۷	۳۲۴/۱۲	۱۸۸/۰۵	۸/۰۲۷	۰/۱۲۱
قلب (٪)	۰/۶۵۹	۰/۶۸۲	۰/۷۸۷	۰/۷۴۰	۰/۸۶۰	۰/۴۶۲	۰/۰۲۸	۰/۴۲۰
بطن راست به کل بطن‌ها	۰/۲۰۳	۰/۲۳۸	۰/۲۲۱	۰/۲۱۰	۰/۲۹۶	۰/۱۴۷	۰/۰۱۱	۰/۷۸۵
کبد(٪)	۲/۸۵۴ [a]	۲/۷۷۵ [a]	۲/۱۴۵ [b]	۲/۰۹۲ [b]	۳/۹۴۵	۱/۸۳۳	۰/۱۲۷	۰/۰۳۵
کلیه (٪)	۰/۷۰۳	۰/۶۰۰	۰/۶۰۲	۰/۶۳۷	۰/۹۰۶	۰/۴۸۹	۰/۰۲۸	۰/۶۰۲
دودنوم (٪)	۱/۰۷۱	۱/۱۸۳	۰/۸۹۵	۱/۰۵۶	۱/۵۰۲	۰/۷۹۵	۰/۰۶۰	۰/۴۵۵
ژوژنوم (٪)	۱/۶۶۳	۱/۶۹۹	۱/۴۸۱	۱/۵۲۳	۲/۱۴۸	۱/۲۲۰	۰/۰۷۴	۰/۷۲۱
ایلئوم (٪)	۰/۳۱۹	۰/۴۱۲	۰/۳۰۴	۰/۲۹۳	۰/۴۷۴	۰/۲۰۷	۰/۰۲۱	۰/۱۶۸
پانکراس (٪)	۰/۳۲۱	۰/۳۰۴	۰/۲۶۸	۰/۲۸۱	۰/۳۹۴	۰/۲۳۴	۰/۰۱۴۷	۰/۶۳۷
پیش معده (٪)	۰/۳۵۵	۰/۳۱۲	۰/۳۱۱	۰/۳۱۸	۰/۴۴۵	۰/۲۵۲	۰/۰۱۲	۰/۵۴۲
سنگدان (٪)	۱/۶۴۶	۱/۶۸۵	۱/۶۱۸	۱/۳۴۰	۲/۲۳۹	۱/۰۵۳	۰/۰۷۸	۰/۴۲۹
شش (٪)	۰/۹۱۲	۰/۸۰۵	۰/۷۸۷	۰/۵۸۲	۱/۳۴۳	۰/۵۶۵	۰/۰۴۷	۰/۰۸۴
روده بزرگ (٪)	۰/۳۷۹	۰/۳۴۴	۰/۲۹۳	۰/۳۲۰	۰/۵۲۳	۰/۲۳۹	۰/۰۲۰	۰/۴۹۹
طحال (٪)	۰/۰۵۴	۰/۰۵۳	۰/۰۴۸	۰/۰۳۸	۰/۱۱۱	۰/۰۱۳	۰/۰۰۸	۰/۸۰۵

در هر سطر حروف غیرمشابه تفاوت معنی دار بین گروه ها را نشان می دهد($p<۰/۰۵$).

* خطای معیار میانگین (Standard Error of the Mean)

جدول ۳. اثرات مقادیر مختلف نانوذرات نقره بر فراسنجه‌های خونی (گلبول های قرمز خون) در بلدرچین تخم گذار

پارامترها	نانوذرات نقره (قسمت در میلیون) در آب آشامیدنی				Max	Min	SEM*	سطح احتمال
	شاهد	۱۲	۳۶	۱۰۸				
هماتوکریت (٪)	۴۰/۹۰	۳۹/۹۶	۳۸/۶۶	۴۰/۳۸	۴۳/۰۰	۳۶/۵۰	۰/۴۲۱	۰/۲۸۷
هموگلوبین (g/dl)	۱۱/۵۰۲	۱۲/۲۹۵	۱۱/۳۳۶	۱۱/۱۸۵	۱۳/۰۷۳	۱۰/۲۶۴	۰/۱۹۸	۰/۲۰۱
گلبول قرمز ($۱۰^۶$/µl)	۳/۱۷	۳/۵۵	۳/۳۰	۳/۵۰	۴/۲۳	۲/۶۶	۰/۰۹۶	۰/۵۰۲
MCV[۱] (fl[۶])	۱۲۹/۴۴	۱۱۴/۲۶	۱۱۷/۸۰	۱۱۷/۹۸	۱۴۱/۴۴	۹۳/۱۱	۳/۵۰۹	۰/۴۷۸
MCH[۲] (pg[۵])	۳۶/۴۸	۳۴/۸۲	۳۴/۶۰	۳۳/۰۲	۴۵/۴۱	۲۵/۲۵	۱/۱۳۶	۰/۷۹۱
MCHC[۳] (٪)	۲۸/۱۶	۳۰/۹۰	۲۹/۴۲	۲۷/۷۶	۳۵/۲۴	۲۴/۶۷	۰/۶۶۲	۰/۳۵۰

[۱] Mean Corpuscular Volume: حجم متوسط گلبول قرمز، [۲] Mean Corpuscular Hemoglobin: متوسط وزن هموگلوبین در گلبول قرمز ،

[۳] Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration: متوسط غلظت وزنی هموگلوبین در گلبول قرمز ،[۵] femetoliter: فمتولیتر،[۶] picogram: پیکوگرم،

* خطای معیار میانگین (Standard Error of the Mean)

جدول ٤. اثرات مقادیر مختلف نانوذرات نقره بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون در بلدرچین تخم گذار

پارامترها	نانوذرات نقره (قسمت در میلیون) در آب آشامیدنی				Max	Min	SEM*	سطح احتمال
	شاهد	۱۲	۳۶	۱۰۸				
AST[۱] (U/L)	۳۰۹/۲۵ [b]	۳۰۷/۶۰ [b]	۳۲۸/۶۰ [b]	۳۷۰/۴۰ [a]	۴۰۱	۲۸۳	۸/۲۶۳	۰/۰۰۸۵
ALT[۲] (U/L)	۱۳/۶۰	۱۳/۰۰	۱۲/۵۰	۱۳/۲۰	۱۵	۱۱	۰/۳۱۱	۰/۷۰۱
نسبت AST/ALT	۲۲/۹۹	۲۳/۹۲	۲۵/۱۹	۲۸/۲۸	۳۳/۴۲	۱۹/۲۰	۰/۸۱۰	۰/۰۶۷
آلکالین فسفاتاز (U/L)	۱۲۸۱/۵۰	۱۲۵۹/۲۰	۱۳۵۰/۷۵	۱۳۳۸/۸۰	۱۴۳۴	۱۱۸۰	۱۸/۰۷۹	۰/۲۱۲
اسیداوریک (mg/dl)	۶/۷۵	۷/۰۶	۷/۰۰	۶/۳۲	۹/۱	۵/۰	۰/۲۷۵	۰/۷۸۶
کراتینین (mg/dl)	۰/۱۹۴	۰/۱۹۴	۰/۲۰۰	۰/۱۶۲	۰/۲۸	۰/۱۰	۰/۰۱۱	۰/۶۷۳
آلبومین (g/dl)	۱/۶۷	۱/۶۶	۱/۸۰	۱/۵۲	۲/۱	۱/۴	۰/۰۴۹	۰/۳۳۲
کلسترول (mg/dl)	۱۷۵/۵۰	۱۹۱/۰۰	۱۸۲/۲۰	۱۹۶/۰۰	۲۰۹	۱۶۴	۳/۱۲۵	۰/۰۹۴
تری گلیسیرید (mg/dl)	۶۵۱/۷۵	۷۵۹/۴۰	۷۱۰/۴۰	۷۵۴/۶۰	۸۵۱	۵۹۴	۱۸/۲۰۶	۰/۱۵۳
توتال پروتئین (g/dl)	۳/۹۵۰	۴/۲۲۰	۴/۵۲۵	۴/۳۶۰	۵/۶۰	۳/۵۰	۰/۱۳۵	۰/۵۷۴
گلوکز (mg/dl)	۲۸۱/۵۰	۲۵۸/۸۰	۲۷۸/۸۰	۲۹۲/۲۵	۳۲۷	۲۵۰	۵/۸۶۸	۰/۲۱۰
کلسیم (mg/dl)	۲۸/۰۶	۲۸/۴۶	۲۸/۰۰	۲۷/۱۸	۳۲/۵	۲۳/۱	۰/۶۰۹	۰/۹۰۷
فسفر (mg/dl)	۷/۲۰۰	۷/۵۰۰	۶/۹۷۵	۵/۸۵۰	۹/۶	۴/۲	۰/۳۴۴	۰/۳۷۸

در هر سطر حروف غیرمشابه تفاوت معنی دار بین گروه ها را نشان می دهد($p<۰/۰۱$).

* خطای معیار میانگین (Standard Error of the Mean)

[۱] Aspartate Aminotransferase: آسپارتات آمینوترانسفراز، [۲] Alanine Aminotransferase: آلانین آمینوترانسفراز

جدول۵. اثرات مقادیر مختلف نانوذرات نقره بر فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو بافت کبد، گلبول های قرمز و سرم خون بلدرچین تخم گذار

پارامترها	نانوذرات نقره (قسمت در میلیون) در آب آشامیدنی				Max	Min	SEM*	سطح احتمال
	شاهد	۱۲	۳۶	۱۰۸				
SOD[1] خون تام (واحد برگرم هموگلوبین)	۱۰۸۵/۱۵	۱۰۳۵/۷۸	۱۰۹۸/۰۵	۱۱۰۷/۶۴	۱۲۶۷/۱	۹۱۷/۹	۲۴/۹۷۹	۰/۷۸۵
SOD[1] کبد (واحد بر میلی گرم پروتئین)	۷/۲۲۰	۷/۲۲۵	۶/۶۲۵	۷/۴۸۰	۹/۵۰	۵/۴۰	۰/۳۰۱	۰/۸۲۳
GPx[2] خون تام (واحد بر گرم هموگلوبین)	۷۵/۴۰۰	۶۶/۰۰۰	۷۸/۱۶۷	۷۶/۰۲۰	۸۸/۸	۵۰/۳	۲/۳۱۶	۰/۳۱۴
GPx[2] کبد (واحد بر میلی گرم پروتئین)	۰/۵۵۲	۰/۶۷۸	۰/۷۳۵	۰/۷۹۰	۱/۱	۰/۵	۰/۰۳۷	۰/۱۱۸
MDA[3] سرم (نانو مول بر میلی لیتر)	۳/۸۵۰ b	۴/۵۲۰ ab	۵/۱۰۰ a	۵/۲۶۰ a	۵/۹	۳/۰	۰/۲۰۰	۰/۰۴۴
MDA[3] کبد (نانومول بر میلی گرم پروتئین)	۴/۵۴۰ b	۵/۱۴۰ ab	۵/۵۰۰ ab	۶/۳۴۰ a	۸/۵	۴/۰	۰/۲۳۵	۰/۰۲۷۶
TAC[4] سرم (میلی مول بر لیتر)	۱/۱۲۰ b	۱/۳۶۰ b	۱/۳۲۵ b	۱/۸۵۰ a	۲/۰	۰/۸	۰/۰۸۷	۰/۰۱۲۴
کاتالاز کبد (واحد بر میلی گرم پروتئین)	۰/۴۳۰	۰/۴۲۸	۰/۵۰۶	۰/۶۷۳	۰/۹	۰/۲	۰/۰۴۳	۰/۱۳۷
پروتئین کبد (میلی گرم بر دسی لیتر)	۳۹/۷۵۰	۳۰/۳۸۰	۳۲/۰۰۰	۳۳/۰۰۰	۴۳/۰	۲۰/۹	۱/۴۷۴	۰/۱۲۹

در هر سطر حروف غیرمشابه تفاوت معنی دار بین گروه ها را نشان می دهد($p<۰/۰۵$).

* خطای معیار میانگین (Standard Error of the Mean)

[1] Superoxide Dismutase: سوپراکسیداز دیسموتاز، [2] Glutathione Peroxidase: گلوتاتیون پراکسیداز، [3] Malondialdehyde: مالون دی آلدئید،

[4] Total Antioxidant Capacity: ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم

بحث

در مطالعه حاضر فراسنجه‌های خونی تحت تاثیر مقادیر مختلف نانوذرات نقره قرار نگرفت و با یافته‌های(Hyuck sung et al., 2009; Kim et al., 2010) که اثرات نانوذرات نقره بر روی فراسنجه‌های خونی موش را بررسی نموده‌اند مطابقت دارد. اما گزارشات مختلف دیگری مبنی بر تاثیر این نانوذرات بر روی فراسنجه‌های خونی وجود دارد(Ji et al., 2007; Kim et al., 2008; Gholami-Ahangaran et al., 2012). نانوذرات نقره بر روی اوزان نسبی اجزای لاشه بلدرچین‌های تخم‌گذار به غیر از وزن نسبی کبد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. (Sawosz et al.,2008) نشان دادند که نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر روی وزن جنین جوجه‌های گوشتی نداشت. دیگر بررسی‌ها در مورد اثر نانوذرات نقره بر روی اجزای لاشه در موش نیز غیر معنی‌دار بوده است(Ji et al., 2007; Kim et al., 2008; Kim et al., 2010; Park et al., 2012). کبد محل اصلی تجمع نانوذرات نقره در بدن محسوب می شود(Tang et al., 2009). توانایی بالای ذرات نانو در نفوذ به بافت‌ها موجب شده است که کبد قادر به حذف آن‌ها از خون نباشد و این ذرات در بافت‌های قابل مصرف لاشه ذخیره شوند. در بررسی استفاده از ۸۰۰ppm نانوذرات نقره در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، افزایش وزن نسبی کل دستگاه گوارش و کبد گزارش شده است. این محققین دلیل آن را التهاب کبد و اختلال در ساز و کار آن به خصوص در روندهای مرتبط با ساخت و ذخیره مواد بیان داشتند(Zargaran-Esfahani et al., 2010). اما مطالعه حاضر بر روی پرنده تخم گذار صورت گرفته است. به دلیل فعالیت متابولیکی بالای کبد پرندگان تخم گذار در صورت بروز آسیب های ناشی از مصرف نانوذرات نقره، احتمال

کاهش فعالیت متابولیکی منجر به کاهش ذخایر سلولی گردیده و این تغییرات می تواند سبب کاهش وزن نسبی کبد شده باشد. مقدار فعالیت آنزیم AST در گروه ppm ۱۰۸ نانوذرات نقره بطور معنی‌داری افزایش یافته است. در پرندگان، AST سرم، آنزیم ویژه کبد به شمار نمی‌آید ولی با این وجود، افزایش فعالیت آن در آسیب‌های وارده به سلول‌های کبدی پرندگان دیده و گزارش شده است. مهم ترین و عمده ترین علت افزایش فعالیت آنزیم AST سرم در پرندگان قفس، بیماری‌های کبدی گزارش شده است(Nazifi, 1996). مطالعات (Park et al., 2012; Tiwari et al., 2012) نشان دادند که نانوذرات نقره باعث افزایش معنی‌دار آنزیم‌های ALT، AST و ALP سرم خون موش شده است. در حالی که تزریق نانوذرات نقره به سفیده تخم مرغ تغییرات معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های کبدی جوجه‌ها تا سن ۲۰ روزگی نشان نداد(Sawosz et al., 2008). در دیگر مطالعات اثر نانوذرات نقره بر روی شاخص‌های سرمی کبد موش غیر معنی‌دار بود(Hyuck sung et al., 2009; Kim et al., 2010). فعالیت آنزیم‌های کبدی در راستای انتشار پروتئین‌های سیتوپلاسمی سلول‌های آسیب دیده کبد به سیستم عروقی افزایش یافته که باعث نشت و آسیب غشای سلول کبدی می شود(Nsiah et al., 2011). (Akradi et al., 2012) آپوپتوزیس و تغییرات هیستوپاتولوژیکی سلول‌های کبدی ناشی از دریافت نانوذرات نقره در جوجه‌های گوشتی را گزارش نمودند. (Farzinpour and Karashi, 2013) نشان دادند که مقادیر ppm ۴، ۸ و ۱۲ نانوذرات نقره در آب آشامیدنی بلدرچین های تخم‌گذار موجب کاهش درصد تولید تخم و مقدار ppm ۱۲ نانوذرات نقره باعث کاهش وزن زرده تخم بلدرچین گردید. پرنده تخم‌گذار برای حداکثر تولید تخم در یک دوره بلند مدت به یک کبد طبیعی نیازمند است. این محققین دلیل کاهش تولید تخم و وزن زرده را به اثرات سمی احتمالی نانوذرات نقره بر روی سلول‌های کبدی بلدرچین تخم‌گذار نسبت دادند. با درنظر گرفتن همزمان کاهش وزن نسبی کبد و افزایش آنزیم AST و افزایش نسبت AST/ALT در این تحقیق و با توجه به اهمیت فعالیت کبد در یک پرنده تخم‌گذار، می‌توان احتمال اختلالات کبدی در گروه‌هایی که مقادیر بالای نانوذرات نقره را دریافت کرده اند به عنوان یک یافته مهم در این مطالعه در نظر گرفت. در خصوص فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نتایج آزمایش نشان داد دریافت مقادیر مختلف نانوذرات نقره بر روی آنزیم های GPx، SOD و کاتالاز خون و بافت کبد بلدرچین های تخم گذار غیرمعنی‌داری است. (Franco-Molina et al., 2010) گزارش نمودند که نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر روی GPx و کاتالاز سلول‌های انسانی نداشته است. (Gaiser et al., 2012)گزارش نمودند که سنجش گلوتاتیون به عنوان کوفاکتور آنزیم GPx در کبد موش و هپاتوسیت C3A انسانی تحت اثر نانوذرات نقره تفاوت معنی‌داری نداشت. در حالی که (Arora et al.,2008) کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم های GPx، SOD و کاتالاز بر اثر مواجه نانوذرات نقره بر روی سلول‌های انسانی را گزارش نمودند. در مطالعه دیگری مواجه نانوذرات نقره بر روی ماهی سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن های GPx و کاتالاز شده ولی اثری بر روی بیان ژن SOD گزارش نشد(Choi et al., 2010). لذا با توجه به غیر معنی‌دار بودن فعالیت آنزیم‌های GPx، SOD و کاتالاز در خون و بافت کبد بلدرچین های تخم گذار، می توان گفت که نانوذرات نقره اثری بر روی فعالیت مکانیزم دفاعی آنزیمی آنتی‌اکسیدانی در برابر رادیکال‌های آزاد آنیون سوپراکساید و هیدروژن پراکسید نداشته است. افزایش معنی‌دار TAC سرم در گروه دریافت‌کننده ppm ۱۰۸ نانوذرات نقره نسبت به دیگر گروه‌های آزمایشی مشاهده شد. TAC مجموعه‌ای از آنتی‌اکسیدان های آنزیمی و غیرآنزیمی می باشد. آنتی‌اکسیدان های غیر آنزیمی شامل: کاروتنوئیدها، گلوتاتیون، لیپولئیک اسید و آسکوربیک اسید می باشد(Kusano and Ferrari, 2008). با توجه به غیرمعنی‌دار بودن فعالیت آنزیم های اصلی آنتی‌اکسیدانی در این تحقیق لازم است جهت تفسیر افزایش TAC، آنتی‌اکسیدان های غیر آنزیمی از جمله گلوتاتیون بررسی شود. بررسی غلظت MDA سرم و بافت کبد در بلدرچین‌های تخم‌گذار افزایش معنی‌داری را نشان داد. (Ahamed et al.,

2009) نشان دادند که افزایش پراکسیداسیون غشاء لیپیدی ناشی از نانوذرات نقره سبب افزایش غلظت MDA در مگس سرکه شد. (Hritcu et al., 2011) گزارش کردند که ۷ روز پس از تزریق مقادیر مختلف نانوذرات نقره به موش، افزایش معنی‌دار غلظت MDA نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. MDA برای برآورد آسیب وارده ROS به سلول و به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو تلقی می‌شودکه توسط پراکسیداسیون لیپیدی غشاء سلول تولید می‌گردد(Siddique et al., 2012). افزایش معنی‌دار غلظت MDA سرم و بافت کبد در این تحقیق نشان می دهد که نانوذرات نقره در مقادیر ppm ۳۶ و ۱۰۸ در مواجه با افزایش و تجمع ROS و القاء تنش اکسیداتیو سبب پراکسیداسیون احتمالی غشاء لیپیدی سلول‌ها شده است.

با توجه به نتایج حاضر استنباط می شود که دریافت مقادیر بالاتر از ppm ۳۶ نانوذرات نقره در بلدرچین‌های تخم‌گذار که فعالیت متابولیکی بالایی در بافت کبد دارند با کاهش وزن نسبی کبد و افزایش آنزیم کبدی AST می تواند نشان دهنده بروز اختلالات کبدی باشد. افزایش غلظت MDA سرم و بافت کبد به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدی احتمال ایجاد تنش اکسیداتیو و بروز سمیت کبدی را افزایش می دهد. بنابراین با توجه به خطر سمیت نانوذرات نقره و احتمال ورود و حضور این نانوذرات از طریق گوشت و تخم پرندگان به انسان پیشنهاد می شود که محدودیت و کنترل مصرف این مواد در صنعت طیور اعمال گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از ستاد فناوری نانو ایران و معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان به خاطر تامین مالی این پروژه تقدیر و تشکر می‌نماید.

منابع

1. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods In Enzymology*. Vol,105. No, C. pp:121-126.
2. Ahamed, M., R. Posgai, T. J. Gorey, M. Nielsen, S. M. Hussain, and J. J. Rowe. (2009) Silver nanoparticles induced heat shock protein 70, oxidative stress and apoptosis in Drosophila melanogaster. *Toxicology and Applied Pharmacology*. Vol,242. No,3. pp:263-269.
3. Akradi, L., I. S. Haghdoost, A. N. Djeddi, and M. Pejman. (2012) Histopathologic and apoptotic effect of nanosilver in liver of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*. Vol,11. No, 22. pp: 6207-6211.
4. Arora, S., J. Jain, J. M. Rawgwade, and K. M. Panikar. (2008) Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology Letters*. Vol, 179. No, 2. pp: 93- 100.
5. Arora, S., J. Jain, J. M. Rawgwade, and K. M. Panikar. (2009) Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cell. *Toxicology and Applied Pharmacology*. Vol, 236. No, 3. pp: 310- 318.
6. Asharani, P. V., G. L. K. Mum, M. P. Hande, and S. Valiyaveettil. (2009) Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells. *ACS nano*. Vol, 3. No, 2. pp: 279-290.
7. Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. Vol, 72. No, 1-2. pp: 248-254.
8. Buzea, C., I. I. P. Blandino, and K. Robbie. (2007) Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. Vol, 2. No.4, pp: 17-172.
9. Carlson, C., S. M. Hussain, A. M. Schrand, L. K. Braydich-stolle, K. L. Hess, R. L. Jones., et al. (2008) Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-

Dependent Generation of Reactive Oxygen Species. *The Journal of Physical Chemistry*. Vol, 112. No, 43. pp: 13608-13619.

10. Chen, X., and H. J. Schluesener. (2008) Nanosilver: A nanoproduct in medical application. *Toxicology Letters*. Vol, 176. No, 1. pp: 1–12.
11. Choi, J. E., S. Kim, J. H. Ahn, P. Youn. J. S. Kang, K. Park., et al. (2010) Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquatic Toxicology*. Vol, 100. No, 2. pp: 151-159.
12. Farzinpour, A., and N. Karashi. (2013) The effects of nanosilver on egg quality traits in laying Japanese quail. *Applied Nanoscience*. Vol,3. No,2. pp: 95-99.
13. Franco-Molina M. A., E. M. Gamboa, C. A. S. Rivera, R. A. G. Flores, P. Z. Benavides, P. C. Tello., et al. (2010) Antitumor activity of colloidal silver on MCF-7 human breast cancer cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. Vol, 29. No, 148. pp:1-7.
14. Gaiser, K. B., S. Hirn, A. Kermanizadeh, N. Kanase, K. Fytianos, A. Wenk., et al. (2012) Effects of Silver Nanoparticles on the Liver and Hepatocytes in vitro. *Fundamental and Applied Toxicology*. Vol, 12. No, 2. pp: 1-44.
15. Gholami-Ahangaran, M., and N. Zia-Jahromi. (2012) Effect of nanosilver on blood parameters in chickens having aflatoxicosis. *Toxicology and Industrial Health*. Vol, 29. No, 2. pp: 121-125.
16. Govindasamy, R., and A. A. Rahuman. (2012) Histopathological studies and oxidative stress of synthesized silver nanoparticles in Mozambique tilapia (Oreochromis mossambicus). *Journal Environmental Science* . Vol, 24. No, 6. pp: 1091–1098.
17. Hritcu, L., M. Stefan, L. Ursu, A. N eagu, M. Mihasan, L. Tartau., et al. (2011) Exposure to silver nanoparticles induces oxidative stress and memory deficits in laboratory rats. *Central European Journal of Biology*. Vol, 6. No,4. pp: 497-509.
18. Hussain, M. S., K. L. Hess, J. M. Gearhart, K. T. Geiss, and J. J. Schlager. (2005) In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicological science*. Vol, 108. No, 2. pp: 223-224.
19. Hyuck sung, J., J. Ho jh, J. Duck Park, J. Uk yoon, D. Sung kim, K. Soon jeon., et al. (2009) Subchronic Inhalation Toxicity of Silver Nanoparticles. *Fundamental and Applied Toxicology*. Vol, 108. No, 2. pp: 452- 461.
20. Ji, J. H., J. H. Gung, J. U. Yoon, J. D. Park, B. S. Choi, Y. H. Chung., et al. (2007) Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology*. Vol, 19. No,10. pp: 857- 71.
21. Kim, Y. S., J. S. Kim, H. S. Cho, D. S. Rha, J. M. Kim, J. D. Park., et al. (2008) Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in in Sprague-Dawley Rats. *Inhalation Toxicology*. Vol, 20. No, 6. pp: 575- 583.
22. Kim, S., J. E. Choi, J. Choi, K.H. Chaung, K. Park, J. Yi., et al. (2009) Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicology In Vitro*. Vol, 23. No, 6. pp: 1076-1084.
23. Kim, Y. S., M. Yong Song, J. Duck park, K. Seuk Song, H. R. Ryu, Y. Hyun Chug., et al. (2010) Subchronic oral toxicity of

silver nanoparticles. *Particle and Fibre Toxicology*. Vol, 7. No, 20. pp: 1 - 11.

24. Kim, S., S. Kim, S. Lee, B. Kwon, J. Choi, J. W. Hyun., et al. (2011) Characterization of the Effects of Silver Nanoparticles on Liver Cell Using HR-MAS NMR Spectroscopy. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. Vol, 32. No, 6. pp: 2021-2026.
25. Korani, M., S. M. Rezayat, K. Gilani, S. Arbabi, and S. Adeli. (2011) Acute and subchronic dermal toxicity of nanosilver in guinea pig. *International Journal of Nanomedicine*. Vol**,** 6. No, 1. pp: 855-861.
26. Kusano, C., and B. Ferrari. (2008) Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of cell and molecular biology*.Vol,7. No, 1. pp:1-15.
27. Marklund, S., and G. Marklund. (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyragallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of Biochemistry*. Vol, 47. No, 3. pp: 469-74.
28. Nazifi, S. (1996) Avian hematology and clinical biochemistry. Third Edition, Shiraz University. pp: 217-222.
29. Nishanth, R.D., R. G. Jyostana, J. J. Schlager, S. M. Hussain, and P. Reddanna. (2011) Inflammatory responses of RAW 264.7 macrophages upon exposure to nanoparticles: Role of ROS-NFκB signaling pathway. *Nanotoxicology*.Vol, 5. No, 4. pp: 502- 526.
30. Nsiah, K., V. P. Dzogbefia, D. Ansong, A. O. Akoto, H. Boateng, and D. Ocloo. (2011) Pattern of AST and ALT Changes in Relation to Hemolysis in Sickle Cell Disease. *Clinical Medicine*. Vol, 4. No, 1. pp: 1- 9.
31. Paglia, D. E., and W. N. Valentine. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The journal of Labratory and Clinical Medicine*. Vol, 70. No, 1. pp :158-169.
32. Park, E. J., E. Bae, J. Yi, Y. Kim, K. Choi, and S. H. Lee. (2012) Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. Vol, 30 No, 2. pp: 162-168.
33. Pengpeng, L., R. Guan, X. Ye, J. Jiang, M. Liu, G. Huang, and X. Chen. (2007) Toxicity of nano- and micro-sized silver particles in human hepatocyte cell line L02. *Journal of Physics*. Vol, 304. No, 1. pp: 1-9.
34. Satoh, K. (1978) Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. Vol, 90. No, 1. pp: 37-43.
35. Sawosz, E., M. Grodzik, M. Zielinska, T. Niemiec, B. Olszanska, and A. Chwalibog. (2008) Nanoparticles of silver do not affect growth, development and DNA oxidative damage in chicken embryos. *European Poultry Science*. Vol, 73. No, 3. pp: 208-216.
36. Siddique. Y. H., G. Ara, and M. Afzal. (2012) Estimation of lipid peroxidation induced by hydrogen peroxid in cultured human lymphocyte. *Dose Response*. Vol, 10. No, 1. pp: 1-12.
37. Tang, J. L., L. Xiong, S. Wang, J. Wang, L. Liu, J. Li., et al. (2009) Distribution, Translocation and Accumulation of Silver Nanoparticles in Rats. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. Vol, 9. No, 3. pp: 1–9.

38. Tiwari, D. K., T. Jin, and j. Behari. (2011) Dose-dependent in-vivo toxicity assessment of silver nanoparticle in Wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*. Vol, 21. No, 1. pp: 31-24.

39. Zargaran-Esfahani, H., S. D. Sharifi, A. Barin, and A. Afzal zadeh. (2010) Influence of Silver Nanoparticles on Performance and Carcass Properties of Broiler Chicks. *Iranian Journal of Animal Science*. Vol, 41. No, 2. pp: 137-143.