

Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Blood Lipid Profile in Wistar Male Rats

Pour Mohammad P¹, Alipanah-Moghadam R^{*1}, Amani F², Nemati A¹, Malekzadeh V³

1. Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

2. Department of Social Medicine, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

3. Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +989141571167, Fax: +984533513776, E-mail: alipanahreza9@gmail.com

Received: Sep 21, 2017 Accepted: Dec 21, 2017

ABSTRACT

Background & objectives: Due to the widespread use of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) and their possible unwanted effects in biological environments, we made an attempt to investigate the effect of ZnO-NPs on the blood lipid profile.

Methods: In this study, 24 male Wistar rats were used. The rats were randomly divided into three groups: control group, the group receiving ZnO-NPs at 25 mg/kg (ZnO-NPs 25 mg/kg) and the group receiving ZnO-NPs at 50 mg/kg (ZnO-NPs 50 mg/kg). The duration of the test was two weeks. The blood samples were taken and the serums were separated. Serum levels of triglyceride, cholesterol, VLDL, LDL and HDL were determined using standard kits and methods.

Results: Based on the findings of this study, serum levels of triglyceride and VLDL in both ZnO-NPs receiving groups were significantly increased in comparison with the control group ($p < 0.05$). Also, the serum levels of HDL, LDL and LDL/HDL ratio decreased significantly in both ZnO-NPs receiving groups compared to the control group ($p < 0.05$), while the serum cholesterol levels did not change compared with the control group.

Conclusion: Our results showed that 25 and 50 mg/kg doses of ZnO-NPs had both harmful (increase triglyceride and VLDL and reduction of HDL) and beneficial (reduction of LDL and LDL/HDL ratio) effects on the blood lipid profile.

Keywords: ZnO-NPs; Lipid Profile; Rat

تأثیر نانو ذرات اکسید روی بر سطوح پروفایل لیپیدی خون در موش‌های نر نژاد ویستار

پیروز پورمحمد^۱، رضا علی پناه مقدم^{۱*}، فیروز امانی^۲، علی نعمتی^۱، ودود ملک زاده^۳

۱. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۳. گروه آناتومی و تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۴۱۵۷۱۱۶۷ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۱۳۷۷۶ پست الکترونیک: alipanahreza9@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به استفاده گسترده از نانو ذرات اکسید روی و اثرات ناخواسته احتمالی آنها در محیط‌های بیولوژیک در این پژوهش تأثیر نانو ذرات اکسید روی بر سطوح پروفایل لیپیدی خون بررسی گردید.

روش کار: در این پژوهش از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. موش‌ها بطور تصادفی به سه گروه کنترل، گروه دریافت کننده نانو ذرات اکسید روی با دوز ۲۵ mg/kg و گروه دریافت کننده نانو ذرات اکسید روی با دوز ۵۰ mg/kg تقسیم شدند. مدت آزمایش دو هفته بود. سپس خونگیری شده و سرم جدا گردید. سطوح سرمی تری گلیسیرید، کلسترول، LDL، VLDL و HDL با استفاده از کیت‌ها و روش‌های استاندارد تعیین گردید.

یافته‌ها: براساس یافته‌های این پژوهش سطوح سرمی تری گلیسیرید و VLDL در هر دو گروه دریافت کننده نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). سطوح سرمی LDL، HDL و نسبت LDL/HDL در هر دو گروه دریافت کننده نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری کاهش یافته بود ($p < 0.05$). سطوح سرمی کلسترول در مقایسه با گروه کنترل تغییری نکرده بود.

نتیجه گیری: بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg نانو ذرات اکسید روی هم اثرات مضر (افزایش تری گلیسیرید و VLDL و کاهش HDL) و هم اثرات مفید (کاهش LDL و کاهش نسبت LDL/HDL) در پروفایل لیپیدی خون ایجاد می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: نانو ذرات اکسید روی، پروفایل لیپیدی، موش صحرایی

دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۳۰ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۳۰

مقدمه

امروزه فن‌آوری نانو از علوم پیشرو در زمینه استفاده بهینه از مواد مختلف به شمار می‌رود و کاربردهای گسترده‌ای در پزشکی، صنعت و کشاورزی دارد. در این فن‌آوری از مواد مختلف در حد نانو ذره (۱۰۰-۱۰ نانومتر) استفاده می‌شود [۱]. نانو ذرات دارای ویژگی‌های منحصر بفردی از قبیل نفوذ به مراتب

راحت‌تر به درون سلول‌ها به دلیل کوچکی ملکول و نیز افزایش سطح نفوذ در مقایسه با شکل متراکم‌تر همان ماده بوده و این خصوصیات باعث تمایز این ذرات از ملکول‌های متراکم‌تر همان ماده می‌گردد [۲]. از بین نانو ذرات، نانو ذرات اکسید روی پرکاربردترین آنها در صنعت و کشاورزی می‌باشند بطوریکه بعنوان نگهدارنده غذایی، تهیه سموم

روش کار

این پژوهش یک مطالعه تجربی بوده و با کد IR.ARUMS.REC.1395.132 به تصویب کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل رسیده است و با رعایت استانداردهای اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است. در این آزمایش از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده گردید. موش‌های مورد نظر از بخش نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران خریداری و در محل مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل نگهداری شدند تا با شرایط محیطی تطابق کافی پیدا کنند. موش‌ها در قفس‌های پلاستیکی استاندارد مخصوص در محیطی که رطوبت و نور آن در حد استاندارد تنظیم شده بود نگهداری شدند. موش‌ها بطور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند که شامل: ۱- گروه شاهد (دریافت کننده سرم فیزیولوژی)؛ ۲- گروه دریافت کننده نانوذرات اکسید روی با دوز ۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن؛ ۳- گروه دریافت کننده نانوذرات اکسید روی با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن.

نانوذرات اکسید روی بصورت پودر از شرکت سیگما (SIGMA-USA -721077) خریداری شد. برای تهیه غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش نانوذرات اکسید روی از آب مقطر استفاده گردید. حجم تزریقی در گروه‌های یاد شده یک سی سی و بصورت داخل صفاقی بود که به مدت دو هفته انجام شد. در پایان روز ۱۴ و بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی (فقط آب در اختیار موش‌ها قرار داشت) ابتدا موش‌ها با اتر بیهوش شدند و سپس خونگیری از قلب انجام شد. خون گرفته شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانتریفوژ گردید و بعد از سانتریفوژ سرم جداسازی و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. سطوح

کشاوری، تصفیه فاضلاب، لاستیک سازی و تولید سرامیک، مسواک، رنگدانه‌ها و غیره از این نانوذره استفاده می‌گردد. همچنین نانوذرات اکسید روی کاربرد وسیعی در پزشکی از قبیل ساخت لوازم آرایشی و بهداشتی، خمیردندان، مواد ضد عفونی کننده، تولید دارو و غیره دارند [۱، ۳-۵]. با توجه به استفاده گسترده از نانوذرات اکسید روی، این ذرات از راه‌های مختلفی مانند غذا، هوا و پوست می‌توانند وارد بدن انسان شوند و به مرور زمان عوارض ناخواسته‌ای را ایجاد کنند [۶]. وانگ و همکاران با مطالعه روی موش آزمایشگاهی نشان دادند که نانوذرات اکسید روی می‌توانند باعث آسیب به بافت‌های قلب، کبد، معده و طحال شوند [۷]. زاهرا و همکاران با مطالعه اثرات سمی نانوذرات اکسید روی در موش آزمایشگاهی نشان دادند نانوذرات اکسید روی با آسیب به بافت کبد و کلیه باعث افزایش سطوح سرمی بیلی روبین، آنزیم آلانین ترانسفراز و کراتینین می‌شوند [۸]. همچنین یان و همکاران با مطالعه روی موش آزمایشگاهی و نیز کشت سلولی نشان دادند نانوذرات اکسید روی در هر دو محیط *in vivo* و *invitro* علاوه بر ایجاد التهاب و افزایش تولید مارکرهای التهابی مانند IL-6 و TNF- باعث بروز آترواسکلروز در شریان آئورت می‌شوند [۹]. از آنجایی که استفاده از نانوذرات اکسید روی بطور روز افزونی در حال گسترش است و نیز تحقیقات کمی در مورد خطرات بالقوه مواجهه با نانوذرات اکسید روی انجام شده است، در این پژوهش تاثیر نانوذرات اکسید روی بر سطوح پروفایل لیپیدی خون بررسی گردید چرا که اختلال در پروفایل لیپیدی خون زمینه‌ساز بیماری‌های خطرناکی مانند دیابت، بیماری‌های قلبی- عروقی و بیماری مزمن کلیوی می‌باشد [۱۰-۱۲].

سرمی تری گلیسیرید، کلسترول و HDL با استفاده از کیت‌های استاندارد (پارس آزمون- ایران) با روش فتومتری اندازه‌گیری شد. میزان LDL بر اساس روش استاندارد فریدوالد محاسبه گردید [۱۳].

$LDL = (Total\ cholesterol) - [(HDL) + (Triglyceride/5)]$
میزان VLDL نیز بر اساس روش استاندارد محاسبه شد [۱۴]:
 $VLDL = Triglyceride/5$

آنالیز آماری

برای مقایسه میانگین بین گروه‌های مورد آزمایش از آزمون غیر پارامتری کروس کاروالیس استفاده گردید. برای مقایسه دو تایی بین میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ p بعنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند.

یافته‌ها

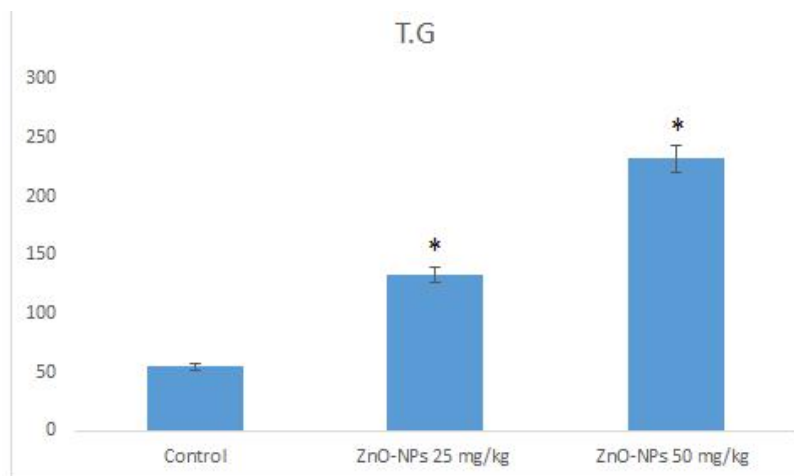
یافته‌های مربوط به پروفایل لیپیدی خون در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر سطح سرمی تری گلیسیرید در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به

گروه کنترل افزایش چشمگیری را نشان می‌دهد و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($p=0/001$) (نمودار ۱). همچنین یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن است که سطح سرمی کلسترول در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل تغییر چندانی نکرده است و از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر سطح سرمی HDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری یافته است ($p=0/001$) (نمودار ۲). نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که سطح سرمی LDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است ($p=0/001$) (نمودار ۳). بر اساس نتایج مطالعه حاضر سطح سرمی VLDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است ($p=0/001$) (نمودار ۴). نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که نسبت LDL/HDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است ($p<0/05$) (نمودار ۵).

جدول ۱. میانگین سطح سرمی متغیرهای مورد مطالعه در گروه‌های مختلف

متغیر	گروه کنترل (Mean \pm SD)	گروه نانو ذره اکسید روی با		P value
		دوز ۲۵mg/kg (Mean \pm SD)	دوز ۵۰mg/kg (Mean \pm SD)	
تری گلیسیرید (mg/dl)	۵۴/۱۰ \pm ۶۳/۶۲	۱۳۲/۵۰ \pm ۵/۱۱	۲۳۲/۶۴ \pm ۳۸/۲۶	$p=0.001$ *
کلسترول (mg/dl)	۷۴/۱۲ \pm ۵/۹۵	۱۱ \pm ۶۴/۵	۷۱/۱۳ \pm ۸۸/۱۸	$p>0.05$
LDL (mg/dl)	۴۹/۸ \pm ۴۷/۰۷	۲۴/۵ \pm ۵/۷۷	۱۷/۷ \pm ۹/۲۱	$p=0.001$ *
HDL (mg/dl)	۲ \pm ۲۰/۵	۱ \pm ۸/۳	۳ \pm ۱۰/۰۲	$p=0.001$ *
VLDL (mg/dl)	۱۰/۲ \pm ۹۲/۱۲	۲۶/۱۰ \pm ۵/۰۲	۴۶/۱۲ \pm ۴۷/۸۵	$p=0.001$ *
LDL/HDL Ratio	۲/۴۷	۱/۲	۱/۷۹	$p<0.05$ *

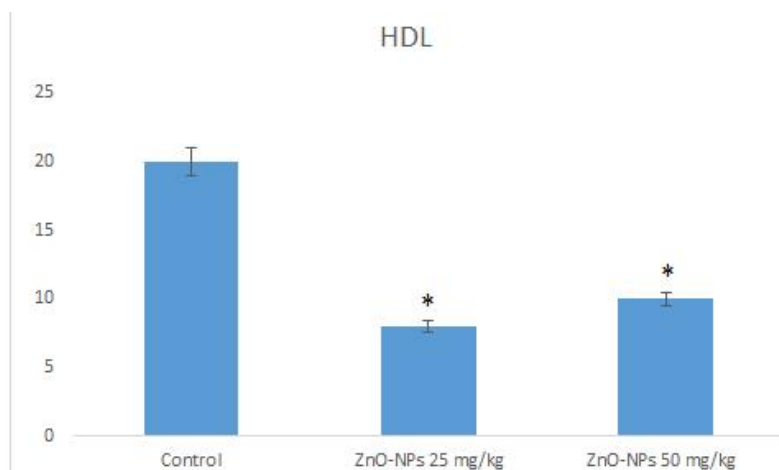
* معنی‌دار در گروه‌های نانو ذرات اکسید روی با دوزهای ۲۵ و ۵۰ نسبت به گروه کنترل



نمودار ۱. مقایسه سطح سرمی تری گلیسیرید در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل

* معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

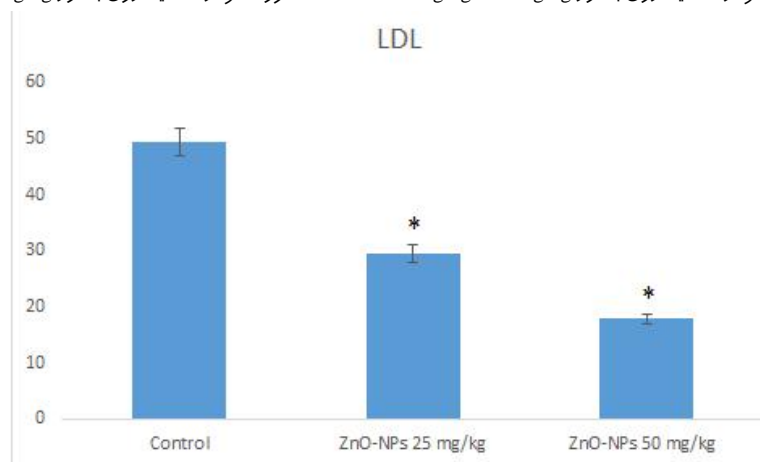
گروه کنترل = Control، گروه نانوذره اکسید روی با دوز ۲۵ mg/kg = ZnO-NPs 25 mg/kg، گروه نانوذره اکسید روی با دوز ۵۰ mg/kg = ZnO-NPs 50 mg/kg



نمودار ۲. مقایسه سطح سرمی HDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل

* معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

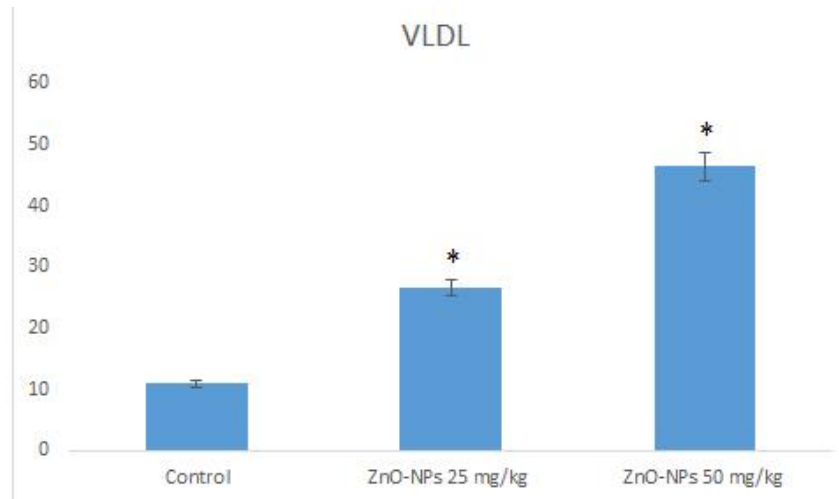
گروه کنترل = Control، گروه نانوذره اکسید روی با دوز ۲۵ mg/kg = ZnO-NPs 25 mg/kg، گروه نانوذره اکسید روی با دوز ۵۰ mg/kg = ZnO-NPs 50 mg/kg



نمودار ۳. مقایسه سطح سرمی LDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل

* معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

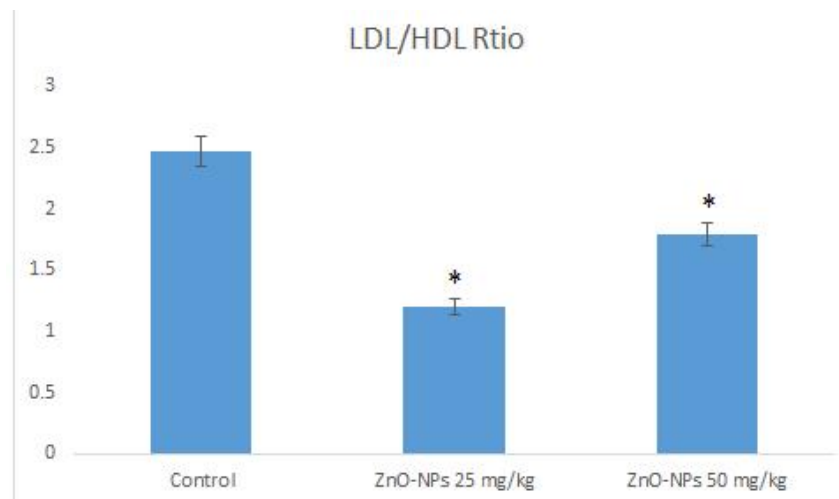
گروه کنترل = Control، گروه نانوذره اکسید روی با دوز ۲۵ mg/kg = ZnO-NPs 25 mg/kg، گروه نانوذره اکسید روی با دوز ۵۰ mg/kg = ZnO-NPs 50 mg/kg



نمودار ۴. مقایسه سطح سرمی VLDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل

* معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

گروه کنترل = Control. گروه نانو ذره اکسید روی با دوز ۲۵ mg/kg = ZnO-NPs 25 mg/kg، گروه نانو ذره اکسید روی با دوز ۵۰ mg/kg = ZnO-NPs 50 mg/kg



نمودار ۵. مقایسه نسبت LDL/HDL در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل

* معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

گروه کنترل = Control. گروه نانو ذره اکسید روی با دوز ۲۵ mg/kg = ZnO-NPs 25 mg/kg، گروه نانو ذره اکسید روی با دوز ۵۰ mg/kg = ZnO-NPs 50 mg/kg

بحث

نانوذرات اکسید روی یکی از پرکاربردترین نانو ذرات در پزشکی، صنعت و کشاورزی محسوب می‌شوند [۱، ۳-۵]. تاکنون تحقیقات اندکی در خصوص اثرات ناخواسته ناشی از ورود این ذرات به سیستم‌های بیولوژیک صورت گرفته است در این پژوهش محققین برای اولین بار با بررسی تأثیر نانو ذرات اکسید روی بر پروفایل لیپیدی خون در موش آزمایشگاهی نشان دادند که این نانو ذرات می‌توانند

باعث تغییراتی در پروفایل لیپیدی خون شوند بطوریکه در دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی گرم به ازای وزن موش، نانو ذرات اکسید روی باعث افزایش سطوح سرمی تری گلیسیرید و VLDL و کاهش سطوح سرمی HDL، LDL و کاهش نسبت LDL/HDL شده و روی سطح سرمی کلسترول تأثیری مشاهده نشد. بررسی‌ها حاکی از آن است که تغییرات در پروفایل لیپیدی خون با طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از جمله آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی- عروقی

مرتبط می‌باشد [۱۵، ۱۶]. بنابراین شناسایی عواملی که تغییراتی در پروفایل لیپیدی خون بوجود می‌آورند ضروری به نظر می‌رسد. مطالعات مرتبط با تاثیر روی بر پروفایل لیپیدی خون عمدتاً با استفاده از مکمل‌های روی انجام شده است و مطالعه حاضر نخستین مطالعه در این مورد (استفاده از نانوذرات) بشمار می‌رود. با این حال بیشتر مطالعاتی که با استفاده از مکمل‌های روی انجام شده‌اند نشانگر آن هستند که مکمل درمانی روی تاثیر چندانی روی پروفایل لیپیدی خون ندارد بطوریکه در مطالعه فیلت- کودری و همکاران که به مدت ۶ ماه با دادن دو دوز ۱۵ و ۳۰ میلی گرم در روز مکمل خوراکی روی در افراد سالم ۷۰-۵۵ سال انجام شد نشان داده شد که این مکمل درمانی بعد از ۶ ماه تاثیری روی سطوح سرمی تری گلیسیرید، کلسترول، LDL و HDL ندارد [۱۷]. همچنین در مطالعه گاتو و همکاران که روی افراد داوطلب با دادن مکمل روی به میزان ۵۰ میلی گرم به مدت ۸ هفته انجام شد، تغییری در سطوح سرمی تری گلیسیرید، کلسترول، LDL و HDL پس از مکمل درمانی با روی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نگردید [۱۸]. در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که دادن مخلوط ۸۰ میلی گرم اکسید روی و ۲ میلی گرم اکسید مس به افراد ۸۰-۵۵ سال به مدت ۵ سال تغییری در پروفایل لیپیدی خون ایجاد نمی‌کند [۱۹]. در مطالعه پرهام و همکاران نیز که روی بیماران دیابتی با دادن ۳۰ میلی گرم مکمل روی به مدت ۳ ماه انجام شد نشان داده شد که این مکمل درمانی تاثیری روی سطوح سرمی تری گلیسیرید، کلسترول، LDL و HDL ندارد [۲۰]. برخلاف بررسی‌های یادشده برخی محققین هم که از دوزهای بسیار بالاتر (۱۶۰ mg/kg) مکمل‌های روی در موش آزمایشگاهی استفاده کرده‌اند به نتایج متضادی از قبیل افزایش سطوح سرمی LDL و HDL رسیده‌اند [۲۱، ۲۲]. در خصوص این مطالعات بایستی گفته شود که اولاً این بررسی‌ها یا با دوزهای بسیار پایین یا با دوزهای بسیار

بالا نسبت به مطالعه حاضر انجام شده‌اند و ثانیاً از فرم نانوذره در این مطالعات استفاده نشده است و همانطوری که بررسی‌ها نشان می‌دهند روی در حالت نانوذره دارای خصوصیات متفاوتی بوده و نفوذپذیری راحت‌تری به درون سلول دارد. از مهمترین یافته‌های پژوهش حاضر علی‌رغم افزایش سطوح سرمی تری گلیسیرید و VLDL، کاهش سطوح سرمی LDL و مخصوصاً کاهش نسبت LDL/HDL است. بررسی‌ها حاکی از آن است که افزایش سطح سرمی LDL و افزایش نسبت LDL/HDL از مهمترین شاخص‌های پروفایل لیپیدی خون هستند که در ایجاد تغییرات پاتولوژیک مانند آترواسکلروز دخالت دارند [۲۳-۲۵]. بنابراین می‌توان گفت در مطالعه حاضر نانوذرات اکسید روی از یک طرف با کاهش سطح سرمی LDL و نیز کاهش نسبت LDL/HDL اثرات بسیار مفیدی را روی پروفایل لیپیدی خون نشان داده‌اند ولی از طرف دیگر از اثرات منفی آن‌ها در زمینه افزایش سطوح سرمی تری گلیسیرید و VLDL و کاهش سطح سرمی HDL نمی‌توان چشم پوشی کرد چراکه این تغییرات هم با خطر ابتلا به آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی- عروقی مرتبط می‌باشند [۲۵]. از مکانیسم‌های احتمالی تاثیر نانوذرات اکسید روی بر پروفایل لیپیدی خون می‌توان به مواردی نظیر کاهش سنتز کبدی لیپیدها توسط نانوذرات اکسید روی اشاره نمود [۲۶]. همچنین در شرایط *invitro* نشان داده شده است که نانوذرات اکسید روی باعث افزایش برداشت LDL از طریق افزایش تعداد رستورهای LDL در سطح ماکروفاژها می‌شوند [۲۷]. در مجموع با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت نانوذرات اکسید روی دارای هر دو اثرات مفید و مضر روی پروفایل لیپیدی خون هستند و تحقیقات بیشتری لازم است تا شناخت ما را درباره اثرات نانوذرات اکسید روی کامل کند و احتمالاً در دوزهای بالاتر و یا مواجهه طولانی‌تر با این ذرات شاهد رفتارهای دیگری نیز باشیم.

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر دوزهای ۲۵ و ۵۰ mg/kg نانو ذرات اکسید روی هم اثرات مضر (افزایش تری گلیسرید و VLDL و کاهش HDL) و هم اثرات مفید (کاهش LDL و کاهش نسبت LDL/HDL) در پروفایل لیپیدی خون ایجاد می‌کنند.

محدودیت‌های پژوهش

از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به لزوم مراقبت دقیق و کنترل شبانه روزی موش‌های مورد آزمایش در مدت زمان انجام آزمایش اشاره کرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با تامین مالی واحد پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انجام شده است بدینوسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از واحد پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ابراز می‌دارند.

References

- 1- Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, et al. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Lett.* 2015 Jul; 7(3):219-42.
- 2- Pan Z, Lee W, Slutsky L, Clark RA, Pernodet N, Rafailovich MH. Adverse effects of titanium dioxide nanoparticles on human dermal fibroblasts and how to protect cells. *Small.* 2009 Apr;5(4):511-20.
- 3- Kołodziejczak-Radzimska A, Jesionowski T. Zinc oxide—from synthesis to application: a review. *Materials (Basel).* 2014 Apr;7(4):2833-2881.
- 4- Rajabairavi N, Raju CS, Karthikeyan C, Varutharaju K, Nethaji S, Hameed ASH, et al. Biosynthesis of Novel Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) Using Endophytic Bacteria *Sphingobacterium thalpophilum*. Part of the Springer Proceedings in Physics book series (SPPHY, volume 189). Switzerland: Springer International Publishing Switzerland, 2017 May: 245-54.
- 5- Mishra PK, Mishra H, Ekielski A, Talegaonkar S, Vaidya B. Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications. *Drug Discov Today.* 2017 Dec;22(12):1825-34.
- 6- Sheydaei P, Bayrami A, Azizian Y, Parvinroo Sh. Study on the Toxicity Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Hematological and Serum Parameters in Mice. *Arak Med Univ J.* 2016 Oct; 19(115): 39-47.[Full Text in Persian]
- 7- Wang B, Feng W, Wang M, Wang T, Gu Y, Zhu M, et al. Acute toxicological impact of nano-and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *J Nano Res.* 2008 Jun;10(2):263-76.
- 8- Zahra J, Iqbal S, Latif M, Ali M, Shad MA, Tabish TA, et al. A note on the Biocompatibility of Zinc oxide Nanoparticles in male albino mice. *Nanosci Nanotechnol Lett.* 2017 Mar;9(3):380-87.
- 9- Yan Z, Wang W, Wu Y, Wang W, Li B, Liang N, et al. Zinc oxide nanoparticle-induced atherosclerotic alterations in vitro and in vivo. *Int J Nanomedicine.* 2017 Jun; 12:4433-42
- 10- Wan K, Zhao J, Huang H, Zhang Q, Chen X, Zeng Z, et al. The association between triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio and all-cause mortality in acute coronary syndrome after coronary revascularization. *PLoS One.* 2015 16;10(4): 157-161.
- 11- Kimura G, Kasahara M, Ueshima K, Tanaka S, Yasuno S, Fujimoto A, et al. Effects of atorvastatin on renal function in patients with dyslipidemia and chronic kidney disease: assessment of clinical usefulness in CKD patients with atorvastatin (ASUCA) trial. *Clin Exp Nephrol.* 2017 Jun; 21(3):417-424.
- 12- Harris MA, Ferguson TS, Boyne MS, Figueroa JP. High prevalence of dyslipidemia among primary care patients with hypertension and diabetes in Jamaica. *Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2017 Oct; 2:e61-e67.
- 13- Saiedullah M, Sha MFR, Siddique MAH, Tamannaa Z, Hassan Z. Healthy Bangladeshi individuals having lower high-density lipoprotein cholesterol level compared to age-, gender-, and

- body mass index-matched Japanese individuals: A pilot study. *J Mol Pathophysiol*. 2017 Dec; 6(1): 1-4.
- 14- Javed M, Ahmad MI, Usmani N, Ahmad M. Multiple biomarker responses (serum biochemistry, oxidative stress, genotoxicity and histopathology) in *Channa punctatus* exposed to heavy metal loaded waste water. *Sci Rep*. 2017 May;7(1):1-11.
- 15- Visconti L, Benvenga S, Lacquaniti A, Cernaro V, Bruzzese A, Conti G, et al. Lipid disorders in patients with renal failure: Role in cardiovascular events and progression of chronic kidney disease. *J Clin Transl Endocrinol*. 2016 Dec;6:8-14.
- 16- Thakur SK, Jaggi K, Rathore B, Chander R, Mahdi F, Mathur A. Assessment of oxidative stress, antioxidant enzymes and lipid profile in the subjects of coronary artery disease (CAD). *Int J Pharm Sci Res*. 2014 July; 5(7): 3042-46.
- 17- Feillet-Coudray C, Meunier N, Bayle D, Brandolini-Bunlon M, Andriollo-Sanchez M, O'connor JM, et al. Effect of zinc supplementation on in vitro copper-induced oxidation of low-density lipoproteins in healthy French subjects aged 55–70 years: the Zenith Study. *Br J Nutr*. 2006 Jun;95(6):1134-42.
- 18- Gatto L, Samman S. The effect of zinc supplementation on plasma lipids and low-density lipoprotein oxidation in males. *Free Radic Biol Med*. 1995 Oct;19(4):517-21.
- 19- Age-Related Eye Disease Study Research Group. The effect of five-year zinc supplementation on serum zinc, serum cholesterol and hematocrit in persons randomly assigned to treatment group in the age-related eye disease study: AREDS Report No. 7. *J Nutr*. 2002 Apr;132(4):697-702.
- 20- Parham M, Amini M, Aminorroaya A, Heidarian E. Effect of zinc supplementation on microalbuminuria in patients with type 2 diabetes: a double blind, randomized, placebo-controlled, cross-over trial. *Rev Diabet Stud*. 2008 Summer;5(2):102-9.
- 21- Dimitrova A, Strashimirov D, Betova T, Russeva A, Alexandrova M. Zinc content in the diet affects the activity of Cu/Zn SOD, lipid peroxidation and lipid profile of spontaneously hypertensive rats. *Acta Biol Hung*. 2008 Sep;59(3):305-14.
- 22- Fosmire GJ. Zinc toxicity. *Am J Clin Nutr*. 1990 Feb;51(2):225-7.
- 23- Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med*. 2014 Aug;5(8):927-46.
- 24- Kunutsor SK, Zaccardi F, Karppi J, Kurl S, Laukkanen JA. Is High Serum LDL/HDL Cholesterol Ratio an Emerging Risk Factor for Sudden Cardiac Death? Findings from the KIID Study. *J Atheroscler Thromb*. 2017 Jun; 24(6):600-608.
- 25- D Adamo E, Guardamagna O, Chiarelli F, Bartuli A, Luccardo D, Ferrari F, et al. Atherogenic dyslipidemia and cardiovascular risk factors in obese children. *Int J Endocrinol*. 2015 Jan;2015:1-9.
- 26- Zhao Y, Li L, Zhang P-F, Liu X-Q, Zhang W-D, Ding Z-P, et al. Regulation of egg quality and lipids metabolism by Zinc Oxide Nanoparticles. *Poult Sci*. 2016 Apr;95(4):920-33.
- 27- Suzuki Y, Tada-Oikawa S, Ichihara G, Yabata M, Izuoka K, Suzuki M, et al. Zinc oxide nanoparticles induce migration and adhesion of monocytes to endothelial cells and accelerate foam cell formation. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014 Jul 1;278(1):16-25.