Original Article

Effect of zinc oxide nanoparticles synthesized by aqueous extract of *hyssopus officinalis* on colon cancer cell line (HT-29) and normal cell line (Huvec), and also on proxytonin protein (PCT) in *Invivo* environment

Rahimi-Kalateh-Shah-Mohammad Gh[1], Homayouni-Tabrizi M[1*], Ardalan T[2], Hormozi B[1]

1- Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.
2- Department of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.

Received: 2019/02/1 | Accepted: 2019/08/19

Abstract:

Background: Today, with the increasing rates of cancer, especially colon cancer, and due to the side effects of chemical drugs in the treatment of these diseases, more attention to safe drugs with less side effects is needed. This study aimed to evaluate the toxicity of nanoparticles of zinc oxide synthesized by green hyssop plant extracts method, on colon cancer cell line (HT29) and examined the effects of nanoparticles on calcitonin proxy blood protein

Materials and Methods: In this in vitro study, the MTT method was used to evaluate the toxicity of this nanoparticle at four concentrations (250, 125, 62.5, 31.2 µg/ml) against normal cells and colon cancer cells. In the in vivo environment, 20 adult male mice were randomly assigned into 3 experimental groups (n=5), 100, 200, 300 mg/kg of 20 nm oxide nanoparticles, orally, and the control group (without receiving nanoparticles). Finally, the mice were anesthetized by an ether and an autopsy and blood samples from the heart was taken to carry out the proxitonin protein test by a solvent cannula in the clinical laboratory.

Results: These nanoparticles are capable of inhibiting cancer cells at low concentrations (62.5, 31.2 µg/ml) and IC_{50} is reported to be about 62.5 µg/ml (P<0.0001). The results of the PCT test as a result of treatment of mice showed a slight increase in proxytonin protein at a concentration of 300 mg/kg (P<0.0001).

Conclusion: By increasing the concentration of zinc oxide nanoparticles synthesized by the green method from the aqueous extract of the hyssop plant, its toxicity increases and causes a rise in the proxytonin protein in the blood.

Keywords: Zinc oxide nanoparticles, hyssopus aqueous extract, HT-2 cell line and peripheral environment, Proxytonine protein

***Corresponding Author:**
Email: mhomayouni6@gmail.com
Tel: 0098 915 450 5894
Fax: 0098 513 843 5000

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, February, 2020; Vol. 23, No 6, Pages 588-595

Please cite this article as: Rahimi-Kalateh-Shah-Mohammad Gh, Homayouni-Tabrizi M, Ardalan T, Hormozi B. Effect of zinc oxide nanoparticles synthesized by aqueous extract of *hyssopus officinalis* on colon cancer cell line (HT-29) and normal cell line (Huvec), and also on proxytonin protein (PCT) in *Invivo* environment. ***Feyz*** 2020; 23(6): 588-95.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

بررسی اثر نانوذرات اکسید روی سنتزشده توسط عصاره‌ی آبی گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis*) بر رده‌ی سلولی سرطان کولون (HT-29) و ارزیابی اثرات این نانوذرات بر پروتئین پروکسی‌تونین (PCT) در محیط *invivo*

قاسم رحیمی کلاته شاه محمد [۱]، مسعود همایونی تبریزی [۱*]، توران اردلان [۲]، بهاره هرمزی [۱]

خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه با افزایش سرطان، به‌ویژه سرطان کولون و همچنین با در نظر گرفتن عوارض داروهای شیمیایی در درمان این‌گونه بیماری‌ها بایستی به روش‌های بدون عوارض توجه بیشتری نمود. بر همین اساس در این تحقیق، به ارزیابی سمیت نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا بر رده‌ی سلولی سرطان کولون (HT29) پرداختیم و اثرات این نانوذرات بر پروتئین پروکسی‌تونین خون نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تحقیقاتی و پژوهشی در محیط *invitro* از روش MTT با هدف ارزیابی میزان سمیت این نانوذره علیه سلول‌های نرمال و سلول‌های سرطان کولون استفاده شد، همچنین در محیط *invivo* تعداد ۲۰ سر موش سوری بالغ نر در ۳ گروه تجربی (n=۵) مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسید روی دریافت کردند و ۱ گروه کنترل (بدون دریافت نانوذرات) در نظر گرفته شد؛ درنهایت موش‌ها توسط کتامین و زایلازین بی‌هوش و کالبدشکافی شدند و خون‌گیری از قلب جهت انجام تست پروتئین پروکسی‌تونین توسط سل کانتر انجام شد.

نتایج: این نانوذرات قادر به مهار سلول‌های سرطانی در غلظت‌های پایین (۶۲/۵، ۳۱/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بودند و IC_{50} آن حدوداً ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ($P<۰/۰۰۱$***) گزارش شد. نتایج حاصل از تست PCT در نتیجه‌ی تیمار موش‌ها، افزایش خفیفی از پروتئین پروکسی‌تونین در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P<۰/۰۰۱$***) را نشان داد.

نتیجه‌گیری: با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا خاصیت سمیت آن نیز افزایش می‌یابد و در خون، باعث افزایش پروتئین پروکسی‌تونین می‌شود.

واژگان کلیدی: نانوذرات اکسید روی، عصاره‌ی آبی گیاه زوفا، رده‌ی سلولی HT-2 و محیط برون‌تنی، پروتئین پروکسی‌تونین

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۹۸، صفحات ۵۹۵-۵۸۸

مقدمه

در درمان و کنترل بیماری‌هایی نظیر سرطان از جمله سرطان کولون و همچنین بیماری‌های مرتبط با تیروئید، داروها و ترکیبات شیمیایی متعددی به‌کار گرفته شده، اما هنوز بهبود کلی بیماری گزارش نشده است و همچنین با در نظر گرفتن توجه بی‌شماری از محققان به نانوذرات اکسید روی، به‌دلیل دارا بودن خواص فیزیکی و شیمیایی خاصّی که دارند، در این پژوهش به اثر ضدّسرطانی و التهاب‌زایی نانوذرات اکسید روی پرداخته شد. در حال حاضر به‌طور خاص برای درمان سرطان بسیاری از مواد مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱].

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۲. گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

* نشانی نویسنده مسؤول:

گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تلفن: ۰۹۱۵۴۵۰۵۸۹۴ دورنویس: ۰۵۱۳۸۴۳۵۰۰

پست الکترونیک: mhomayouni6@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۵/۲۸

علوم دارویی از نانوذرات سنتزشده به روش سبز برای کاهش سمیت و عوارض جانبی داروها استفاده می‌کنند [۲]. زوفا گیاهی است پایا از تیره‌ی نعناعیان که به حالت خودرو می‌روید. اسانس این گیاه مشابه اسانس نعناع است و مصرف طبی دارد [۳]. نام علمی این گیاه (*Hyssopus officinail*) می‌باشد و به انگلیسی به آن "*Hyssop*" می‌گویند و از خانواده‌ی نعناعیان است [٤]. سرشاخه‌های گلدار این گیاه جزو اندام دارویی آن حساب می‌شوند و عملکرد خلط‌آور و ضدّعفونی‌کننده دارند [۵]. امروزه فرض می‌شود که سلول‌های توموری موادی ترشح می‌کنند که سبب جوانه زدن عروق قبلی و رگ‌زایی می‌شود [۷،٦]. متخصصان بر این باورند که حضور بیش از یک جهش درون سلول منجر به سرطان می‌شود [۸]. طبق مطالعه‌ای که توسط Sharma و همکاران با هدف بررسی سمیت خوراکی نانوذرات ZnO در موش‌های سفید آزمایشگاهی طی ١٤ روز متوالی انجام شد، محققان دریافتند که مقدار سمیت نانوذرات به مقدار دوز و زمان بستگی دارد [۹]؛ که طبق این نتایج می‌توان از نانوذرات اکسید روی به منظور درمان

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

سرطان استفاده نمود. بیوسنتز سبز نانوذرات ZnO ساده، قابل قبول و مقرون به صرفه است [۱۱،۱۰] و عملکرد بالای فیزیکی، در مقایسه با NPهای دیگر مانند نقره، طلا، تیتانیوم و نیکل سندرم دارد [۱۳،۱۲]. پاسخ التهابی سیستمیک در اثر آزاد شدن اندوتوکسین‌های گرم منفی از عفونت‌های اورولوژیک یا گوارشی ایجاد می‌شود [۱٤]. بیومارکر Procalcitonin (PCT) در حال حاضر به‌طور گسترده‌ای در اروپا برای تشخیص و ارزیابی پاسخ التهابی سیستمیک (SIRS) و سپسیس (Sepsis) به‌کار می‌رود [۱۵]. برخی از سلول‌های تیروئید به نام سلول‌های C یا سلول‌های پارافولیکولار، هورمونی پروتئینی به نام کلسی‌تونین را ترشح می‌کنند که برخلاف هورمون پاراتیروئید (PTH) غلظت خونی کلسیم را کاهش می‌دهد [۱٦]. هورمون کلسی‌تونین از غده‌ی تیروئید ترشح می‌شود و با کاهش تجزیه و برداشت کلسیم از استخوان‌ها موجب کاهش کلسیم خون می‌شود [۱۷]. به‌نظر می‌رسد هورمون کلسی‌تونین با توجه به تأثیرات استخوانی آن یعنی مهار فعالیت سلول استئوکلاست و فعال‌کردن سلول استئوبلاست، تأثیرات مهمّی در ترمیم استخوان به‌خصوص ستون فقرات داشته باشد [۱۸]. PCT درواقع پروهورمون یا پیش‌هورمون کلسی‌تونین است. کلسی‌تونین به‌طور انحصاری توسط سلول‌های C غده‌ی تیروئید در پاسخ به تحریک هورمونی تولید می‌شود. PCT پلاسما شاخصی از پاسخ التهابی بدن انسان به یک عفونت غیرویروسی است. افزایش PCT نشان‌دهنده‌ی قوی عفونت باکتریال با عوارض سیستمیک است [۱۹]. اندوتوکسین‌های باکتری‌ها و سیتوکاین‌های پیش‌التهابی محرک‌های قوی برای تولید PCT می‌باشند [۲۰]. پروتئین PCT دارای خواص جذب‌کننده‌ی لکوسیت‌ها بوده، تعدیل تولید نیتریک اکسید توسط سلول‌های اندوتلیال را برعهده دارد [۲۱]. کلسی‌تونین از طریق فیدبک منفی باعث کاهش کلسیم خون شده، بدین‌وسیله نقش عمده‌ای در تنظیم غلظت کلسیم ایفا می‌کند [۲۲]. این هورمون نفوذپذیری سلول‌ها را نسبت به کلسیم کاهش داده فعالیت استئوکلاست‌ها را متوقف کرده از طریق وقفه در برداشت کلسیم از استخوان‌ها و تشدید فعالیت استئوبلاست‌ها عمل استخوان‌سازی را تسهیل و تشدید می‌کند [۲٤،۲۳]. طبق مطالعات فوق که توسط محققان در سال‌های متمادی انجام گرفته، مشخص شد میزان پروتئین پروکسی‌تونین در نتیجه‌ی شوک‌های عفونی افزایش می‌یابد، البته در بیماران با سندرم‌های پاسخ التهابی سیستمیک غیرباکتریایی میزان PCT معمولاً کم است؛ نظر به این‌که ارزیابی سمیت نانوذرات از اولویت بالایی برخوردار می‌باشد، تصمیم به انجام پژوهشی در همین راستا گرفتیم. درواقع هدف از این مطالعه اوّلاً ارزیابی اثر سمیت نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا بر لاین سلولی سرطان کولون و ثانیاً بررسی اثر التهاب‌زایی این نانوذرات می‌باشد که این میزان التهاب‌زایی با افزایش میزان پروتئین پروکسی‌تونین خون مشخص می‌شود.

مواد و روش‌ها

جهت تولید نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا، پودر استات روی از شرکت سیگما و پودر خشک گیاه زوفا نیز از عطاری تهیه شد. از استات روی به‌عنوان منبع روی همراه با عصاره‌ی گیاه زوفا طبق پروتکل سنتز به‌روش سبز انجام شد. به منظور بررسی اثر سمیت نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا بر سلول‌های سرطانی کولون از تست MTT استفاده شد. این روش براساس توانایی دهیدروژناز سلول‌های زنده برای تبدیل ۳- (٤،٥-دی متیل تیازول-۲-yl) - ۲، ٥- تترازولیوم برومید (MTT) از رنگ زرد به کریستال‌های آبی و ارغوانی غیرمحلول MTT- فورمازان که توسط ایزوپروپانول استخراج شده و بر روی ریدر و در طول موج ٥٥۰ مشخص شده است. شدت تبدیل MTT به MTT - فورمازان، سطح کلّ فعالیت دهیدروژناز سلول را نشان می‌دهد. برای این منظور سلول‌های سرطانی رده‌ی سلولی HT29 در معرض غلظت‌های (۲٥۰، ۱۲٥، ٦۲/٥، ۳۱/۲ ماکروگرم بر میلی‌لیتر) نانوذره اکسید روی سنتزشده از گیاه زوفا قرار گرفت، دلیل انتخاب این غلظت‌ها بر طبق مطالعات انجام‌شده توسط سایر محققان بود و همچنین بر این اساس که در غلظت کمتر از ۳۱/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر فاقد اثربخشی و در غلظت بیشتر از ۲٥۰ ماکروگرم بر میلی‌لیتر دارای اثربخشی سوء می‌باشد؛ بنابراین محدوده‌ی غلظت‌های نامبرده دارای بهترین نتایج می‌باشد. پس از گذشت زمان ۲٤ ساعت از تیمار، مقدار فورمازان تشکیل‌شده ٤ ساعت پس از افزودن MTT در ٥۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا اندازه‌گیری شد [۲٦،۲٥]. جهت اندازه‌گیری پروتئین پروکسی‌تونین، تعداد ۲۰ سر موش سفید نر نژاد بالب سی، با وزن حدوداً بین ۲٥ تا ۳۰ گرم از خانه‌ی حیوانات مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی مشهد تهیه شد و به اتاق حیوانات و آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی مشهد منتقل گردید. موش‌ها در قفس‌های مخصوص در شرایط کنترل‌شده (درجه حرارت ۱±۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ٦۰±۱۰ درصد، نور ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دسترسی آسان به آب و غذای کامل نگهداری شدند. موش‌ها به‌طور تصادفی به ٤ گروه پنج‌تایی تقسیم شدند. گروه ۱ به‌عنوان

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

گروه کنترل (بدون دریافت نانوذرات) در نظر گرفته شد، گروه‌های ۲ و ۳ و ٤ به‌ترتیب دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر ۲٤ ساعت ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی به‌وسیله‌ی گاواژ به‌مدت ۲۰ روز دریافت کردند. درنهایت موش‌ها توسط کتامین و زایلازین قربانی و کالبدشکافی شده، خون‌گیری از دهلیز راست قلب انجام شد و با تحویل نمونه‌های خون به آزمایشگاه بالینی، میزان عفونت توسط سل کانتر به‌منظور تست پروتئین پروکسی تونین سنجیده شد. با دریافت کد اخلاق در آذرماه سال ۱۳۹۷ توسط دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در این مجموعه تحقیق خود را آغاز نمودیم و کلیه‌ی کارها زیرنظر کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی مشهد با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1397.034 انجام گردید.

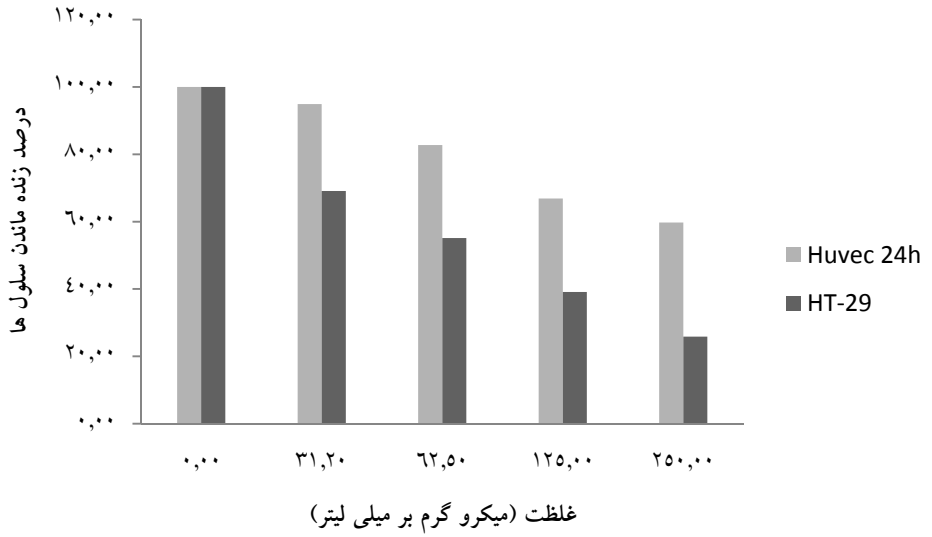
آنالیز آماری

از نرم‌افزار SPSS جهت آنالیز داده‌ها استفاده گردید. برای بررسی نتایج حاصل از تست MTT، پروتئین پروکسی‌تونین و مقایسه‌ی میانگین عصاره‌های مختلف از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه ANOVA جهت مقایسه‌ی کلی و سپس از آزمون LSD استفاده شد. نتایج در سطح ($P<۰/۰۵$*)، ($P<۰/۰۱$**)، ($P<۰/۰۰۱$***) از نظر آماری، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از تست MTT:

در این مطالعه سمیت سلولی القاشده بر رده‌ی سلولی سرطان کولون (HT-29) در تیمار با نانوذره‌ی اکسید روی سنتزشده توسط گیاه زوفا، رده‌ی سلولی Huvec به‌عنوان سلول نرمال در نظر گرفته شد. نتایج به‌دست آمده از این بررسی اثرات مهاری قابل توجه این نانوذرات را بر رشد سلول‌های سرطانی کولون نشان می‌دهد ($P<۰/۰۰۱$) درصد زیستایی سلول‌ها (IC_{50}) به این‌صورت است که در طی زمان ۲٤ ساعت حدود ۵۰ درصد از رشد این سلول‌ها در غلظت حدوداً ٦۲ میکروگرم / میلی‌لیتر مهار شدند. درواقع این درصد مهاری به نحوی بود که با افزایش غلظت، القای سمیت نانوذرات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه زوفا روند افزایشی و کاهش درصد زیستایی سلول‌های سرطانی کولون را در پی داشت.

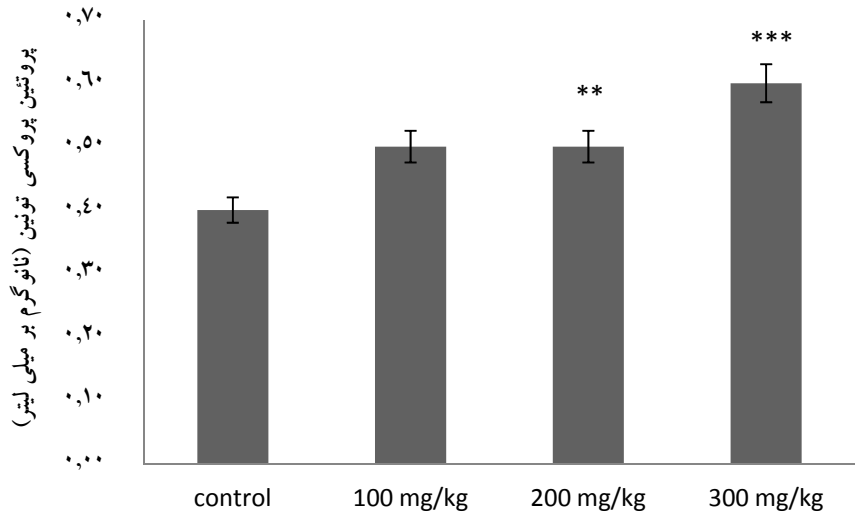


نمودار شماره ۱- بررسی درصد زیستایی رده‌ی سلولی سرطان کولون (HT-29) و رده‌ی سلولی نرمال (*سلول‌های* اندوتلیال ورید بند ناف انسان) Huvec(*HUVEC*) در تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذره‌ی اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا. داده‌ها در سطح ($P<۰/۰۱$**) ، ($P<۰/۰۰۱$***) از نظر آماری، معنی‌دار می‌باشد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین پروکسی‌تونین:

طبق نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری پروتئین پروکسی-تونین در نمونه‌ی خون گروه‌های مختلف تحت تیمار با نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا، چنین برداشت می‌شود که با افزایش غلظت تیمار، میزان پروتئین پروکسی‌تونین نیز افزایش یابد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]



نمودار شماره ۲- بررسی میزان پروتئین پروکسی‌تونین در نتیجه تیمار موش‌ها با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا. داده‌ها در سطح ($P<۰/۰۱$**)، ($P<۰/۰۰۱$***) از نظر آماری، معنی‌دار می‌باشد.

بحث

گیاهان دارویی دارای ویتامین‌ها، ترپنوئیدها و ترکیبات فنولی هستند که پتانسیل‌های آنتی‌اکسیدانی دارند [۲۷]، نانوذرات سنتزشده با استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان داروهای پراکنده، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در vitro نشان می‌دهد. سورست و همکاران گزارش کردند که نانوذرات اکسید روی با استفاده از Cassia fistula سنتز شده‌اند تا فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی را با استفاده از رادیکال‌های ۱، ۱-دیفنیل-۲- پریکیل هیدرازیل (DPPH) نشان دهند. فعالیت‌های سیتوتوکسیک نانوذرات اکسید روی نشان‌دهنده‌ی اثر کشندگی بر سلول‌های سرطانی می‌باشد که فعالیت سیتوتوکسیک را نشان می‌دهد [۲۸]. تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر سمیت نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا بر لاین سلولی سرطان کولون و اثر این نانوذرات بر پروتئین پروکسی‌تونین در نتیجه تیمار ۲۰ روزه‌ی موش‌ها انجام شد که نتایج حاصل از تست MTT نشان داد نانوذرات اکسید روی سنتزشده از گیاه زوفا خاصیت از بین بردن سلول سرطانی HT29 را دارد و IC_{50} برای آن حدوداً ٦٢/٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. ملانوما تومور بدخیمی است که از ملانوسیت‌های پوست منشأ می‌گیرد و این بیماری در مراحل اوّلیه‌ی جراحی قابل درمان است ولی با پیشرفت بیماری غیرقابل درمان می‌شود، مطالعه‌ی مهدوی‌راد و همکاران (۲۰۱٤) روی سلول‌های سرطانی ملانوما (A-375) نشان داد، با افزایش غلظت‌های اکسید روی اثرات ضدّسرطانی قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. همچنین در ترکیب اکسید روی با نقره این روند کاهشی تناسب با غلظت نانوذرات دارد، به‌طوری‌که در غلظت‌های بالا میزان حیات سلولی، کاهش زیادی را در مقایسه با غلظت‌های کمتر از خود نشان داد [۲۹]. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Berardis و همکاران (۲۰۱۰) به منظور بررسی سمیت سلولی نانوذره‌ی ZnO بر روی سرطان کولون رده‌ی سلولی Lovo انسانی صورت گرفت، نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش غلظت این نانوذره، القای سمیت سلولی آن‌ها روند افزایشی دارد و باعث کاهش درصد زیستایی سلول‌های سرطانی می‌شود [۳۰]. نتایج این مطالعات با تحقیق حاضر که درمورد اثر نانوذرات اکسید روی تولیدشده از عصاره‌ی گیاه زوفا بر لاین سلولی HT29 انجام شد، مطابقت داشت و افزایش غلظت نانوذره‌ی اکسید روی باعث کاهش درصد زیستایی سلول‌های سرطانی شد. با توجه به مطالعات انجام‌شده، نانوذرات به‌دلیل داشتن اثرات ضدّسرطانی [۳۱]، ضدّمیکروبی [۳۲] و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی [۳۳] مورد توجه قرار گرفته است. در این میان، نانوذرات اکسید روی به‌خاطر خصوصیات منحصر به فرد نوری، کاتالیتیکی و نیمه‌هادی به‌طور گسترده تولید می‌شوند و از نظر تکنولوژی کاربرد دارند. همچنین این نانوذره در برخی موارد سبب اثرات حفاظت‌شده می‌باشد و قادر است میزان سمیت برخی ترکیبات را کاهش دهد. از این ویژگی نیز در تحقیقات مختلف به منظور کاهش اثر سمیت برخی ترکیبات دارویی استفاده شده است [٣٤]. طبق مطالعه‌ای که توسط هوزیفا عمر و همکاران (۲۰۱۸) انجام شد، تأثیر نانوذرات اکسید روی بر تعداد سلول‌ها پس از دوره‌ی انکوباسیون ٢٤ ساعت نیز وابسته به غلظت بیشتر بود. کاهش شدید تعداد سلول MCF-7 و MDA-MB در یک روش وابسته به غلظت مشاهده شد و در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعداد سلول را با ٧٦/٨ درصد و

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

۸۰/۲ درصد به حداقل رساند. این یافته‌ها به‌عنوان یک تأیید برای اثر سیتوتوکسیک نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز در نظر گرفته می‌شود [۳۵]. از مقایسه نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق ما می‌توان به‌راحتی دریافت که نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی آبی گیاه زوفا دارای خاصیت سیتوتوکسیته بالایی هستند به‌طوری‌که در غلظت ٦٠ میکروگرم در میلی‌لیتر حدود ۵۰ درصد سلول‌های سرطانی HT29 را از بین بردند. در تحقیق حاضر، علاوه بر ارزیابی سمیت نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا، اثر این نانوذرات بر پروتئین پروکسی‌تونین نیز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل از تست خونی پروتئین در تیمار خوراکی موش‌ها با نانوذرات نشان داد که با افزایش میزان غلظت نانوذرات میزان پروتئین پروکسی‌تونین نیز تا حدی افزایش می‌یابد که این تأثیرات علاوه بر غلظت نانوذرات، بسته به نوع تیمار و اندازه نانوذرات و زمان تیمار تغییر می‌کند؛ به‌طوری‌که در مطالعه‌ی انجام‌شده‌ی نانوذرات طلا توسط Lasagna-Reeves (۲۰۱۰) اشاره کرد که اثرات سمی دوزهای مختلف نانوذرات ۱۲ نانومتری طلا قادر به عبور از مایع خونی مغزی بودند و در بافت عصبی تجمع کردند و این تجمع بافت، به دوزهای مختلف تزریق بستگی داشت [٣٦]. PCT یک پروتئین پایدار در پلاسما و نمونه‌های خون است و به‌عنوان یک نشانگر قابل تشخیص می‌باشد [۳۷] و در تشخیص مستقیم و دقیق سمیت سلولی ناشی از نانومواد کمک می‌کند [۳۸]. در تحقیقی که توسط Grissa و همکاران (۲۰۱۵) با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر موش‌های تحت تیمار خوراکی به مدت ٦٠ روز انجام گردید، تجزیه و تحلیل هماتولوژیک افزایش قابل‌توجهی در WBC و PCT در دوزهای بالاتر را نشان داد [۳۹]. مطابق با این تحقیق، در تحقیق حاضر نیز در نتیجه تیمار خوراکی موش‌ها با نانوذرات اکسید روی سنتزشده از عصاره‌ی گیاه زوفا نتایج حاکی از افزایش کمی از پروتئین پروکسی‌تونین را نشان داد. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Kim و همکاران (٢٠١٤) بر روی موش‌های صحرایی انجام دادند، در طول تیمار ۹۰ روزه‌ی موش‌ها با اکسید روی، در مقایسه فاکتورهای خونی نسبت با گروه کنترل متوجه کاهش سطح پلاکت‌ها، هماتوکریت و آلبومین به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد شدند و در میزان پروکسی‌تونین تغییر چشمگیری را مشاهده نکردند [٤٠]. به‌عنوان تفسیر و ابهام‌زدایی، با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق و مقایسه‌ی نتایج مطالعات سایر محققان چنین برداشت می‌شود که نانوذرات اکسید روی دارای خاصیت ضدّسرطانی بوده، از نظر تغییر در میزان پروتئین پروکسی‌تونین، می‌توان چنین نتیجه گرفت که در تیمار بلندمدت باعث افزایش پروکسی‌تونین می‌شوند. به‌طور کل فناوری نانو به توسعه‌ی تحقیقات و تکنولوژی در مقیاس اتمی، مولکولی و ماکرومولکولی اشاره دارد که منجر به دستکاری و مطالعه‌ی ساختارها و دستگاه‌هایی با مقیاس طول در محدوده ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌شود. اشیا در این مقیاس، مانند «نانوذرات»، خواص و توابع جدیدی را که به‌طور قابل‌توجهی از آن‌چه در مقیاس بزرگ دیده می‌شوند، می‌گیرند. اندازه‌ی کوچک، قابلیت سازگاری سطح، حلالیت بهبودیافته و چندمنظوره‌ی نانوذرات، بسیاری از روش‌های تحقیقاتی جدید را برای زیست‌شناسان باز می‌کنند. این زمینه به‌سرعت در حال رشد می‌تواند محققان متقاضی را قادر به طراحی و توسعه‌ی نانوذرات، چندمنظوره کند و می‌تواند به هدف، تشخیص و درمان بیماری‌هایی مانند سرطان کمک نماید [٤١].

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که نانوذرات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از عصاره‌ی گیاه زوفا قادر به از بین بردن سلول‌های سرطانی کولون HT29 بوده به‌طوری‌که IC_{50} برای آن حدود ٦٢/٥ ماکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش می‌شود؛ همچنین نتایج حاصل از تست پروتئین پروکسی‌تونین نشان داد که نانوذرات اکسید روی بر پروتئین پروکسی‌تونین اثر گذاشته، تا حدّ نسبتاً کمی منجر به افزایش میزان پروکسی‌تونین می‌شود که البته بسته به میزان غلظت نانوذرات، نوع و زمان تیمار این میزان تغییر می‌کند؛ با توجه به این‌که PCT پروهورمون یا پیش‌هورمون کلسی‌تونین است و در شوک‌های عفونی در افراد میزان آن افزایش می‌یابد، پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتری در مورد آن صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه‌ی کسانی‌که در دانشگاه آزاد اسلامی مشهد واحد علوم پایه و آزمایشگاه جهاد دانشگاهی مشهد که در انجام این طرح ما را یاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد. تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی براساس پیشنهادات کمیته‌ی بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

References:

[1] Hassan H, Mansour A, Abo-Youssef A, Elsadek B, Messiha B. Zinc oxide nanoparticles as a novel anticancer approach; in vitro and in vivo evidence. ***Clin Exp Pharmacol Physiol*** 2017; 44(2): 235-43.

[2] Xu D, Liu M, Zou H, Tian J, Huang H, Wan Q, et al. A new strategy for fabrication of water dispersible and biodegradable fluorescent organic nanoparticles with AIE and ESIPT characteristics and their utilization for bioimaging. ***Talanta*** 2017; 174: 803-8.

[3] Khazaie H, Nadjafi F, Bannayan M. Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (Thymus vulgaris) and hyssop (Hyssopus officinalis). ***Ind Crops Prod*** 2008; 27(3): 315-21.

[4] Mazzanti G, Battinelli L, Salvatore G. Antimicrobial properties of the linalol-rich essential oil of Hyssopus officinalis L. var decumbens (Lamiaceae). ***Flavour Frag J*** 1998; 13(5): 289-94.

[5] Letessier M, Svoboda K, Walters D. Antifungal activity of the essential oil of hyssop (Hyssopus officinalis). ***J Phytopathol*** 2001; 149(11): 673-8.

[6] Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, et al. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. ***J Natl Cancer Inst*** 1992; 84(24): 1875-87.

[7] De Jong W, Borm P. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. ***Int J Nanomed*** 2008; 3(2): 133-40.

[8] Safari Chaleshtori J, Moradi MT, Farokhi E, Tabatabaee Far MA, Ghahfarrokhi T, Shayesteh F, et al. Detection of mutations in exons 5-8 of the P53 gene in gastric cancer samples using PCR-SSCP in Chaharmahal va Bakhtiari province 2006. ***J Shahrekord Univ Med Sci*** 2009; 174:803-8. [in Persian]

[9] Sharma V, Singh P, Pandey AK, Dhawan A. Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. ***Mutat Res-Gen Tox En*** 2012; 7(1): 84-91.

[10] Belkhaoui C, Lefi R, Mzabi N, Smaoui H. Synthesis, optical and electrical properties of Mn doped ZnO nanoparticles. ***J Mater Sci-Mater El*** Materials in Electronics. 2018; 29(8):7020-31.

[11] Wojnarowicz J, Omelchenko M, Szczytko J, Chudoba T, Gierlotka S, Majhofer A, et al. Structural and Magnetic Properties of CoMn Codoped ZnO Nanoparticles Obtained by Microwave Solvothermal Synthesis. ***Crystals*** 2018; 8(11): 410-5.

[12] Vigneshwaran N, Kumar S, Kathe A, Varadarajan P, Prasad V. Functional finishing of cotton fabrics using zinc oxide–soluble starch nanocomposites. ***Nanotechnology*** 2006; 17(20): 5087-92.

[13] Yadav A, Prasad V, Kathe A, Raj S, Yadav D, Sundaramoorthy C, et al. Functional finishing in cotton fabrics using zinc oxide nanoparticles. ***Bull Mater Sci*** 2006; 29(6): 641-5.

[14] Ziegler EJ, Fisher Jr CJ, Sprung CL, Straube RC, Sadoff JC, Foulke GE, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. ***N Engl J Med*** 1991; 324(7): 429-36.

[15] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 sccm/esicm/accp/ats/sis international sepsis definitions conference. ***Intens Care Med*** 2003; 29(4): 530-8.

[16] Went PT, Lugli A, Meier S, Bundi M, Mirlacher M, Sauter G, et al. Frequent EpCam protein expression in human carcinomas. ***Hum Patholog*** 2004; 35(1): 122-8.

[17] Tersmette M, Gruters R, De Wolf F, De Goede R, Lange J, Schellekens PT, et al. Evidence for a role of virulent human immunodeficiency virus (HIV) variants in the pathogenesis of acquired immunodeficiency syndrome: studies on sequential HIV isolates. ***J Virology*** 1989; 63(5): 2118-25.

[18] Kharissova OV, Dias HR, Kharisov BI, Pérez BO, Pérez VMJ. The greener synthesis of nanoparticles. ***Trends Biotechnol*** 2013; 31(4): 240-48.

[19] Unwin P, Unwin T. ICT4D: Information and communication technology for development. ***Cambridge University Press***; 2009. 386.

[20] Caws M, Thwaites G, Dunstan S, Hawn TR, Lan NTN, Thuong NTT, et al. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with Mycobacterium tuberculosis. ***PLoS Pathogens*** 2008; 4(3): e1000034.

[21] Franceschi S, Herrero R, Clifford GM, Snijders PJ, Arslan A, Anh PTH, et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. ***Int J Cancer*** 2006; 119 (11): 2677-84.

[22] Tai PT, Yu E, Winquist E, Hammond A, Stitt L, Tonita J, et al. Chemotherapy in neuroendocrine/Merkel cell carcinoma of the skin: case series and review of 204 cases. ***J Clin Oncol*** 2000; 18(12): 2493-9.

[23] Clarke M, Lee P, Arora A, Villar R. Levels of metal ions after small-and large-diameter metal-on-metal hip arthroplasty. ***J Bone Joint Surg Br*** 2003; 85(6): 913-7.

[24] Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. ***Clin Microbiol Rev*** 2012; 25(4): 609-704.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]

[25] Orlova MA, Osipova EY, Roumiantsev SA. Effect of 67Zn-nanoparticles on leukemic cells and normal lymphocytes. ***Brit J Med*** 2012; 2(1): 21-7.
[26] Veerman A, Pieters R. Drug sensitivity assays in leukaemia and lymphoma. ***Brit J Haematol*** 1990;74(4): 381-4.
[27] Albrecht MA, Evans CW, Raston CL. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. ***Green Chem*** 2006; 8(5): 417-32.
[28] Ambika S, Sundrarajan M. Antibacterial behaviour of Vitex negundo extract assisted ZnO nanoparticles against pathogenic bacteria. ***J Photochem Photobiol B*** 2015; 146: 52-7.
[29] Mahdavirad M, Najafzadeh N, Ali Niapour A, Jafari A. Cytotoxicity of Zno and Ag/Zno nano-composites on malignant melanoma cell line (A375). ***Arak Med Univ J*** 2014; 17(6): 74-83.
[30] De Berardis B, Civitelli G, Condello M, Lista P, Pozzi R, Arancia G, et al. Exposure to ZnO nanoparticles induces oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. ***Toxicol App Pharmacol*** 2010; 246(3): 116-27.
[31] Li J, Guo D, Wang X, Wang H, Jiang H, Chen B. The photodynamic effect of different size ZnO nanoparticles on cancer cell proliferation in vitro. ***Nanoscale Res Lett*** 2010; 5(6): 1063-70.
[32] Premanathan M, Karthikeyan K, Jeyasubramanian K, Manivannan G. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. ***Nanomed Nanotechnol*** 2011;7(2): 184-92.
[33] Das D, Nath B, Phukon P, Dolui S. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. ***Colloids Surf B: Biointerfaces*** 2013; 111: 556-60.
[34] Li LZ, Zhou DM, Peijnenburg WJ, van Gestel CA, Jin SY, Wang YJ, et al. Toxicity of zinc oxide nanoparticles in the earthworm, Eisenia fetida and subcellular fractionation of Zn. ***Environ Int*** 2011; 37(6): 1098-104.
[35] Umar H, Kavaz D, Rizaner N. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using Albizia lebbeck stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines. ***Int J Nanomed*** 2019; 14: 87-92.
[36] Lasagna-Reeves C, Gonzalez-Romero D, Barria M, Olmedo I, Clos A, Ramanujam VS, et al. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. ***Biochem Biophys Res Commun*** 2010; 393(4): 649-55.
[37] Claeys R, Vinken S, Spapen H, ver Elst K, Decochez K, Huyghens L, et al. Plasma procalcitonin and C-reactive protein in acute septic shock: clinical and biological correlates. ***Crit Care Med*** 2002; 30(4): 757-62.
[38] Son S-W, Jeong SH. Nanomaterial-induced cytotoxicity detection composition and kit, and nanomaterial-induced cytotoxicity detection method. ***Google Patents*** 2015.
[39] Grissa I, Elghoul J, Ezzi L, Chakroun S, Kerkeni E, Hassine M, et al. Anemia and genotoxicity induced by sub-chronic intragastric treatment of rats with titanium dioxide nanoparticles. ***Mutat Res-Gen Tox En*** 2015; 794: 25-31.
[40] Kim Y, Park J, Lee E, Park S, Seong N, Kim J, et al. Toxicity of 100 nm zinc oxide nanoparticles: a report of 90-day repeated oral administration in Sprague Dawley rats. ***Int J Nanomed*** 2014; 9(2): 109-14.
[41] McNeil SE. Nanotechnology for the biologist. ***J Leukocyte Biol*** 2005; 78(3): 585-94.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-19]