Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Synthesis of Titanium Oxide Nanoparticles Functionalized by Glutamine and Conjugated to Thiosemicarbazide and their Effect on the Expression of the CASP3, Bcl2, and BAX genes

Shahrzad Sadat Shahmoradi [1], Ali Salehzadeh [1*], Najmeh Ranji [1], Hadi Habibbollahi [1]

[1] Dept of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 05 July 2022
Revised: 25 September 2022
Accepted: 25 October 2022
Published Online:26 February 2023

**** Correspondence to:***
Ali Salehzadeh
Dept of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.
Email:
salehzadeh@iaurasht.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: The increasing trend of cancer morbidity and mortality is a major human health concern, indicating the necessity for the design and introduction of novel anticancer compounds. The use of nanotechnology products is a new approach to cancer treatment. Therefore, the current study was performed to synthesize Titanium Dioxide nanoparticles (NPs) functionalized with glutamine and conjugated to Thiosemicarbazide (TiO_2@Gln-TSC) to inhibit the proliferation of liver cancer cells line (HepG2) and evaluate the effect of TiO_2@Gln-TSC NPs on the expression of apoptotic genes.

Material & Methods: TiO_2@Gln-TSC NPs were synthesized by a chemical method and characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), Scanning electron microscopy (SEM), and Transmission electron microscopy (TEM). The cytotoxicity of the Titanium Dioxide nanoparticles was evaluated by the MTT assay, and relative gene expression was studied by Real Time PCR method.

Findings: The results showed that the synthesized Titanium Dioxide nanoparticles were spherical with a size range of 59 to 82 nm. The particles had a considerable anti-proliferative effect on liver cancer cells line with IC_{50} of 80 µg/mL. The treatment of the cancer cell line with TiO_2@Gln-TSC NPs significantly increased the expression of the CASP3, BAX, and BCL2 by 2.8, 2.7, and 1.3 folds, respectively, which indicated the activation of apoptotic pathways in the treated cells.

Discussion & Conclusion: The results showed that the TiO_2@Gln-TSC NPs could inhibit the proliferation of liver cancer cells line and by triggering the apoptosis pathway.

Keywords: Apoptosis; Caspase; Liver cancer; Thisemicarbazide

➢ **How to cite this paper**
Shahmoradi SS, Salehzadeh A, Ranji N, Habibbollahi H. Synthesis of Titanium Oxide Nanoparticles Functionalized by Glutamine and Conjugated to Thiosemicarbazide and their Effect on the Expression of the CASP3, Bcl2, and BAX genes. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2023;31(1): 19-28.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

© The Author(s)

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

سنتز نانوذرهٔ دی‌اکسید تیتانیوم عامل‌دار با گلوتامین و کنژوگه با تیوسمی کاربازید و اثر آن روی بیان ژن‌های BAX، BCL2 و CASP3

شهرزادسادات شاهمرادی[۱]، علی صالح‌زاده[۱*]، نجمه رنجی[۱]، هادی حبیب‌اللهی[۱]

[۱] گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۴

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۷/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۱۲/۰۷

نویسنده مسئول:
علی صالح زاده
گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

Email:
salehzadeh@iaurasht.ac.ir

چکیده

مقدمه: افزایش روزافزون موارد ابتلا و مرگ‌ومیر ناشی از بیماری سرطان نگرانی‌های جدی در حوزهٔ سلامت بشر به‌وجود آورده است و این امر لزوم طراحی و معرفی ترکیبات ضدسرطانی جدید را بیش‌ازپیش نمایان می‌سازد. استفاده از محصولات بر پایهٔ فناوری نانو رویکرد جدیدی در این حوزه است. مطالعهٔ حاضر با هدف سنتز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم عامل‌دار با گلوتامین و کنژوگه با تیوسمی کاربازید (TiO_2@Gln-TSC)، به‌منظور مهار تکثیر سلول‌های ردهٔ سرطانی کبد (HepG2) و بررسی بیان برخی ژن‌های مؤثر در آپوپتوز انجام گرفت.

مواد و روش ها: نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به روش شیمیایی سنتز شدند و ویژگی‌های آن‌ها با استفاده از آنالیزهای FT-IR، EDS، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی گردید. بررسی میزان سمیت سلولی با استفاده از آزمایش MTT و بررسی بیان ژن‌های CASP3، BAX و BCL2 با استفاده از Real Time PCR انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که نانوذرات سنتزشده ظاهری تقریباً کروی و با اندازهٔ حدود ۵۹ تا ۸۲ نانومتر دارند. این ذرات در غلظت‌های ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر، از آثار مهاری مناسبی بر سلول‌های سرطانی برخوردارند و میزان دوز نیمه‌مهاری آن‌ها ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد؛ همچنین مواجهه‌سازی سلول‌های سرطانی کبد با نانوذرات یادشده سبب افزایش بیان ژن‌های CASP3، BAX و BCL2 به‌ترتیب به میزان ۲/۸، ۲/۷ و ۱/۳ برابر گردید که نشان‌دهندهٔ فعال‌سازی مسیر آپوپتوز در سلول‌های موردمطالعه است.

بحث و نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوتیک می‌توانند به مهار تکثیر سلول‌های ردهٔ سرطان کبد منجر شوند.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، سرطان کبد، تیوسمی کاربازید، کاسپاز

استناد: شاهمرادی، شهرزادسادات؛ صالح‌زاده، علی؛ رنجی، نجمه؛ حبیب‌اللهی، هادی. سنتز نانوذرهٔ دی‌اکسید تیتانیوم عامل‌دار با گلوتامین و کنژوگه با تیوسمی کاربازید و اثر آن روی بیان ژن‌های BAX، BCL2و CASP3. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، فروردین ۱۴۰۲؛۳۱(۱): ۲۸-۱۹.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

تیتانیوم یکی از عناصر بسیار ارزشمند و با قابلیت به‌کارگیری در صنایع مختلف ازجمله صنایع هوا-فضا، تولید انرژی، شیمیایی و پزشکی شناخته می‌شود. به‌سبب استحکام بالا، تراکم جرمی پایین، مقاومت در برابر خوردگی و سازگاری زیستی مناسب، استفاده از این فلز و یا آلیاژهای آن در محصولات و کاربردهای پزشکی و درمانی در حال افزایش است (۱). پیدایش فناوری نانو به طراحی و به‌کارگیری محصولات متنوعی در این حوزه منجر گردیده است. این محصولات به علت اندازهٔ کوچک و سطح عملکردی وسیع می‌توانند به‌خوبی در حوزهٔ زیست-پزشکی، برای شناسایی و درمان بیماری‌ها استفاده شوند. استفاده از نانوذرات تیتانیوم به‌منظور طراحی رویکردهای انتقال دارو، درمان‌های مبتنی بر تابش و گرمایش (Photothermal) و درمان‌های ترکیبی در مقابله و درمان بیماری سرطان، توجه پژوهشگران بسیاری را به خود جلب کرده است (۲). آثار ضدسرطانی نانوذرات تیتانیوم اغلب بر اساس توانایی تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب به اجزای سلول‌های سرطانی شامل غشای سیتوپلاسمی، آنزیم‌ها و اسید نوکلئیک است (۳). از سویی، طراحی و به‌کارگیری مولکول‌های چندعاملی که لیگاندهای مؤثر درمانی داشته باشند، به‌عنوان رویکرد نوینی برای افزایش کارایی و کاهش عوارض جانبی نانوذرات تیتانیوم موردتوجه قرار گرفته است (۴، ۲).

تیوسمی کاربازید یک مولکول شیمیایی با ویژگی‌های مؤثر در زمینه‌های زیست-پزشکی شامل فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی و همچنین ضدسرطانی است. طراحی و به‌کارگیری کمپلکس‌های دارویی تیوسمی کاربازید به‌منظور مقابله با سلول‌های سرطانی بیش‌ازپیش موردتوجه قرار گرفته است (۶، ۵). بر اساس این، این ماده به‌عنوان یک لیگاند درمانی مؤثر برای طراحی داروهای چندعاملی ضدسرطانی مطرح می‌گردد.

بیماری سرطان یکی از بزرگ‌ترین عوامل مرگ‌ومیر و کاهش کیفیت زندگی در سراسر دنیا شناخته می‌شود. افزایش روزافزون انواع مختلف سرطان از یک‌سو و نبودِ روش‌های درمانی با کارایی بالا از سوی دیگر، این بیماری را مهم‌ترین تهدید سلامت بشری در سالیان آینده معرفی می‌کند (۴). سرطان کبد یکی از مهم‌ترین و فراوان‌ترین انواع سرطان در سراسر دنیا است. میزان مرگ‌ومیر سالانهٔ این بیماری بیش از ۸۳۰۰۰۰ مورد تخمین زده می‌شود که این امر نشان‌دهندهٔ وجود نداشتن رویکردهای مؤثر و قطعی در درمان این بیماری است.

با توجه به افزایش روزافزون انواع سرطان در سرتاسر دنیا، معرفی و به‌کارگیری ترکیبات دارویی نوین برای درمان کاملاً ضروری است و برای این منظور، استفاده از نانو فناوری، به‌عنوان یک ابزار نوین و آینده‌دار، در دسترس محققان است. بر اساس این، مطالعهٔ کنونی به‌منظور ساخت نانوذرات اکسید تیتانیوم عامل‌دارشده با گلوتامین و کنژوگه با تیوسمی کاربازید و بررسی اثر نانوذرات ساخته‌شده بر ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ مسیر آپوپتوز در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

سنتز نانوذرات: به‌منظور سنتز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم عامل‌دار شده، ابتدا مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم نمک هگزا فلوئورو تیتانات پتاسیم و ۱۵۲ میلی‌گرم گلوتامین در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و در حمام آبی با دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد هم زده شد؛ سپس اسیدیتهٔ محلول با افزودن تدریجی محلول سود ۱۰ درصد تا عدد ۱۱ افزایش داده و در ادامه، محلول به مدت دو ساعت در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد، به‌صورت مستمر و یکنواخت هم زده شد و در پایان، نانوذرات ساخته‌شده با استفاده از سانتریفوژ جداسازی گردید. نانوذرات به‌دست‌آمده به‌صورت سریالی با اتانل و آب مقطر شستشو داده شد و سپس در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک گردید.

برای کنژوگه کردن تیوسمی کاربازید، در مرحلهٔ نخست ۵۰۰ میلی‌گرم از نانوذرات ساخته‌شده در مرحلهٔ پیش به همراه ۲۰۰ میلی‌گرم تیوسمی کاربازید در اتانل خالص حل شدند و به مدت ۴۰ دقیقه در دستگاه سونیکاسیون قرار

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

گرفتند. در ادامه، این مخلوط به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌طور پیوسته هم زده شد و در پایان، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم جداسازی، شستشو و خشک گردیدند و برای آزمایش‌های بعدی استفاده شدند (۷).

تعیین ماهیت و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذرات TiO_2@Gln-TSC: با هدف تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، نانوذرات ساخته‌شده با استفاده از آنالیزهای FT-IR، EDX، میکروسکوپ الکترونی عبوری و میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی گردیدند. آزمایش FT-IR با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Nicolet مدل 100 IR و روی نانوذرات TiO_2@Gln و TiO_2@Gln-TSC و در محدودهٔ 500 cm^{-1} تا ۴۰۰۰ صورت گرفت. آزمایش EDX به‌منظور بررسی ترکیب عناصر موجود در نانوذرات ساخته‌شده انجام شد و تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی(TESCAN MIRA3) و عبوری (Zeiss-EM10C-100 KV TEM) نیز برای تعیین شکل و اندازهٔ ذرات استفاده گردیدند.

آثار ضدسرطانی نانوذرات TiO2@Gln-TSC علیه سلول‌های سرطانی کبد: ردهٔ سلولی HepG2 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری و در محیط کشت DMEM کشت داده شد. به‌منظور بررسی آثار سمیتی نانوذرات ساخته‌شده علیه سلول‌های یادشده، از آزمایش MTT و با سه تکرار برای هر غلظت استفاده گردید. برای این منظور، ابتدا سلول‌های HepG2 در پلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند و سپس غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از ۱۵/۶ تا ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به چاهک‌های پلیت افزوده گردید. چاهک‌هایی که بدون نانوذرات بودند، نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری گردیدند؛ سپس محلول ۲۰۰ میکرولیتر از محلول ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر MTT به همهٔ چاهک‌ها افزوده شد و به مدت ۴ ساعت انکوباسیون ادامه یافت. در مرحلهٔ بعد، محیط کشت از چاهک‌ها خارج گردید و ۲۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکسید اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق روی شیکر قرار داده شدند و سپس جذب نوری چاهک‌ها در طول‌موج ۵۹۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در ادامه، غلظت نیمه‌مهاری نانوذرات با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۸):.

$$\text{درصد مهار} = 100 - [\frac{\text{جذب نوری نمونه}}{\text{جذب نوری شاهد}} \times 100]$$

بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر بیان ژن‌های BAX، BCL2 و CASP3: ارزیابی میزان تغییرات بیان ژن‌های مؤثر در فرایند آپوپتوز سلولی در سلول‌های سرطانی مواجهه‌یافته با نانوذرات ساخته‌شده با استفاده از فن Real Time PCR انجام گرفت. ابتدا سلول‌های HepG2 به مدت ۲۴ ساعت با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و در غلظت نیمه‌مهاری مواجهه‌سازی شدند. پس از جداسازی و شستشوی سلول‌ها با بافر فسفات، RNA کل با استفاده از محلول تجاری TriZol (سیگما، آمریکا) استخراج گردید. کمیت و کیفیت RNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه نانودراپ ارزیابی و تأیید شد؛ سپس مولکول cDNA با استفاده از کیت تجاری یکتا تجهیز (ایران) ساخته شد و تکثیر ژن‌های مطالعه‌شده به روش SYBR Green real time PCR و با استفاده از کیت تجاری یکتا تجهیز (ایران) و در دستگاه ترموسایکلر (Techne، آلمان) انجام گرفت. توالی پرایمرهای مطالعه‌شده در جدول شمارهٔ ۱ نمایش داده شده است؛ همچنین از ژن GAPDH به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده گردید و محاسبهٔ میزان بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از روش Pfaffl انجام شد (۹).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

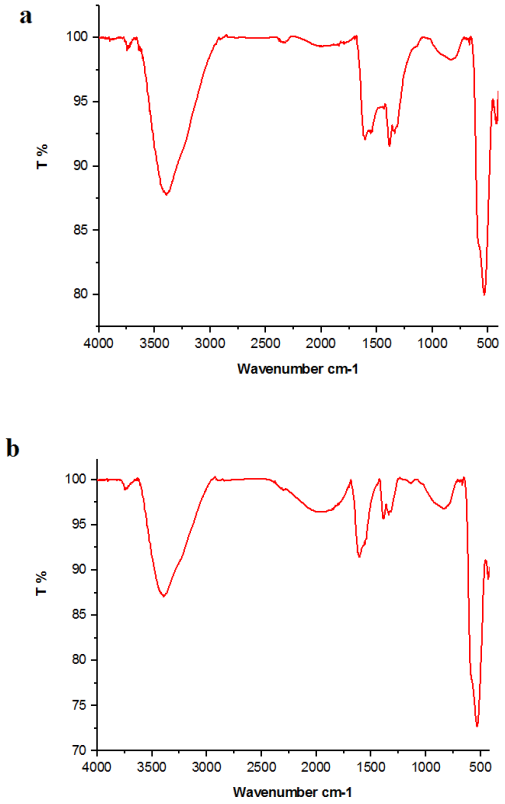
جدول شمارهٔ ۱. توالی پرایمرهای استفاده‌شده در پژوهش حاضر

پرایمر	توالی (′۳-′۵)	اندازهٔ محصول (جفت باز)	منبع
CASP3- forward	GCCTGCCGTGGTACAGAACT	۱۷۹	(۱۸)
CASP3- reverse	GCACAAAGCGACTGGATGAAC		
BAX- forward	TTGCTTCAGGGTTTCATCCA	۱۱۳	(۱۹)
BAX- reverse	AGACACTCGCTCAGCTTCTTG		
Bcl2-forward	GGTGCCGGTTCAGGTACTCA	۱۱۳	(۱۸)
Bcl2- reverse	TTGTGGCCTTCTTTGAGTTCG		
GAPDH- forward	CCCACTCCTCCACCTTTGAC	۷۴	(۱۸)
GAPDH- reverse	CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA		

آنالیز آماری: به‌منظور انجام آنالیز آماری از نرم‌افزار آماری SPSS vol.18 و آزمون آماری آنالیز واریانس استفاده گردید و مقدار $P<0.05$ به‌عنوان سطح اطمینان معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش

بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذرات ساخته‌شده: آزمایش FT-IR روی نانوذرات TiO_2@Gln نشان‌دهندهٔ وجود پیک‌هایی در مناطق cm^{-1} ۴۲۷ و ۵۳۵ بود که می‌تواند با پیوند تیتانیوم و اکسیژن مرتبط باشد؛ همچنین پیک‌های مشاهده‌شده در cm^{-1} ۸۳۷/۸، ۱۳۸۷، ۱۶۰۷ و ۳۶۳۴ به‌ترتیب با وجود پیوندهای C-H، C=O، پیوند کششی N-H و پیوند کششی O-H موجود در گلوتامین مرتبط هستند. بررسی طیف FT-IR نانوذرهٔ TiO_2@Gln-TSC نشان‌دهندهٔ وجود طیف‌های مرتبط با پیوند تیتانیوم و اکسیژن در cm^{-1} ۴۳۰/۹۶ و ۵۳۵ است. علاوه بر این، پیک‌های مشاهده‌شده در cm^{-1} ۸۳۷/۶، ۱۳۳۹/۲ و ۱۳۸۹/۹ به‌ترتیب به پیوندهای C-H، C=S و C-N مربوط‌اند؛ همچنین پیک‌هایی که در 1607 cm-1 و ۱۹۵۵ دیده می‌شوند، به‌ترتیب مربوط به پیوندهای N=O و C=N و پیک‌های موجود در محدودهٔ بین cm^{-1} ۳۰۰۰ تا cm^{-1} ۴۰۰۰ مربوط به پیوند O-H هستند (شکل شمارهٔ ۱).



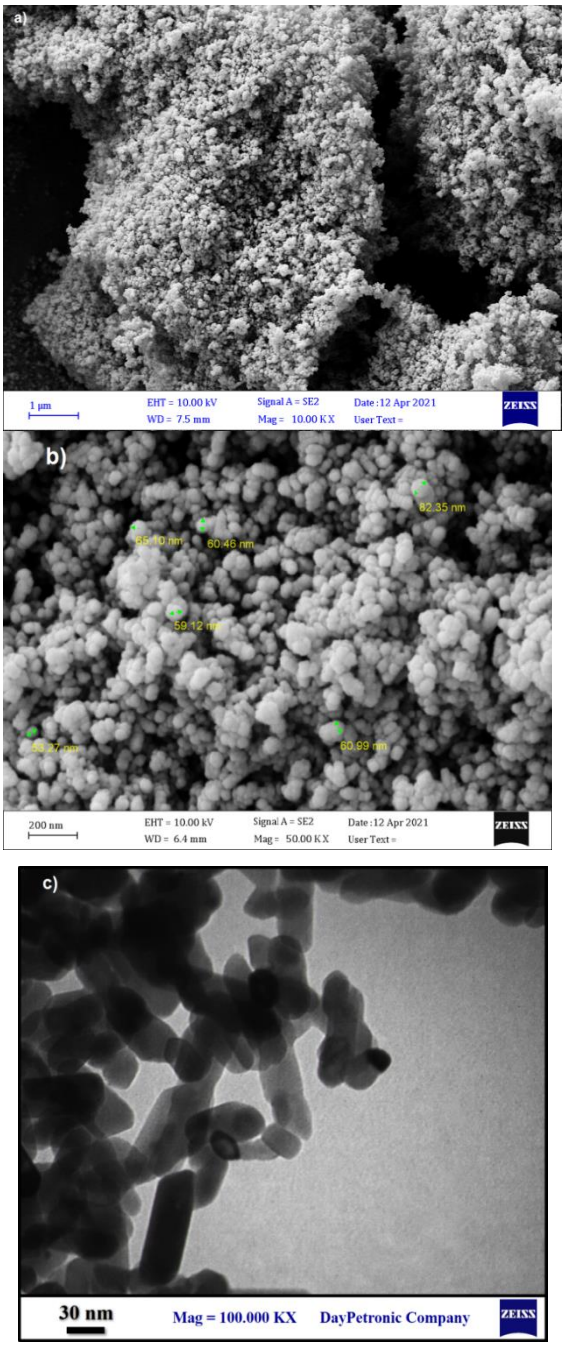
شکل شمارهٔ ۱. نتایج آزمایش FT-IR روی نانوذرات a. TiO2@Gln و b. TiO2@Gln-TSC

بررسی ترکیب عناصر موجود در نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ساخته‌شده نشان‌دهندهٔ این است که نانوذرات، تنها حاوی عناصر تیتانیوم، نیتروژن، اکسیژن، کربن و گوگرد هستند و بدون ناخالصی‌اند. توزیع عناصر شناسایی‌شده در جدول شمارهٔ ۲ نمایش داده شده است. علاوه بر این، بررسی و مشاهدهٔ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم توسط میکروسکوپ الکترونی نشان داد که نانوذرات ظاهری تقریباً کروی دارند و اندازهٔ آن‌ها در محدودهٔ ۵۹ تا ۸۲ نانومتر ثبت گردید (شکل شمارهٔ ۲).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

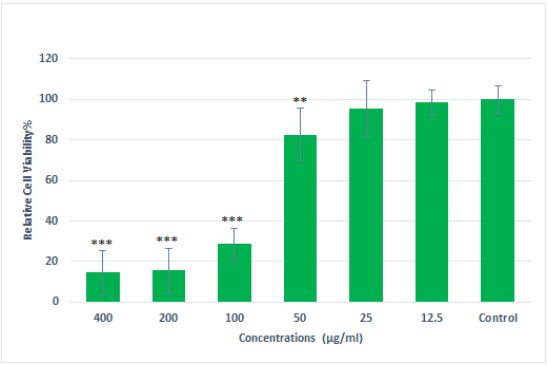
جدول شمارهٔ ۲. درصد عناصر شناسایی‌شده در نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ساخته‌شده

ZAF	Atomic %	Weight %	Kr	K	Elements
0.4560	6.61	3.62	0.0165	0.0303	C
0.6197	18.77	11.97	0.0742	0.1361	N
0.1526	53.85	39.22	0.0599	0.1098	O
0.9077	0.15	0.21	0.0019	0.0036	S
0.8729	20.62	44.98	0.3926	0.7203	Ti
	100.00	100.00	0.5451	1.0000	Total



شکل شمارهٔ ۲. بررسی شکل و اندازهٔ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (a و b) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و (c) میکروسکوپ الکترونی عبوری

آزمایش MTT: آزمایش MTT برای بررسی میزان اثر سمیتی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر سلول‌های ردهٔ سرطان کبد و تعیین غلظت نیمه‌مهاری آن‌ها انجام گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که نانوذرات یادشده در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به‌طور چشمگیری به کاهش جمعیت سلول‌های زنده منجر شدند، به‌طوری‌که در غلظت یادشده کمی بیش از ۸۰ درصد سلول‌ها زنده ماندند، درحالی‌که در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی کمتر از ۲۰ درصد ثبت شد. شکل شمارهٔ ۳ میزان زنده‌مانی سلول‌های HepG2 را در مواجهه با غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نمایش می‌دهد.

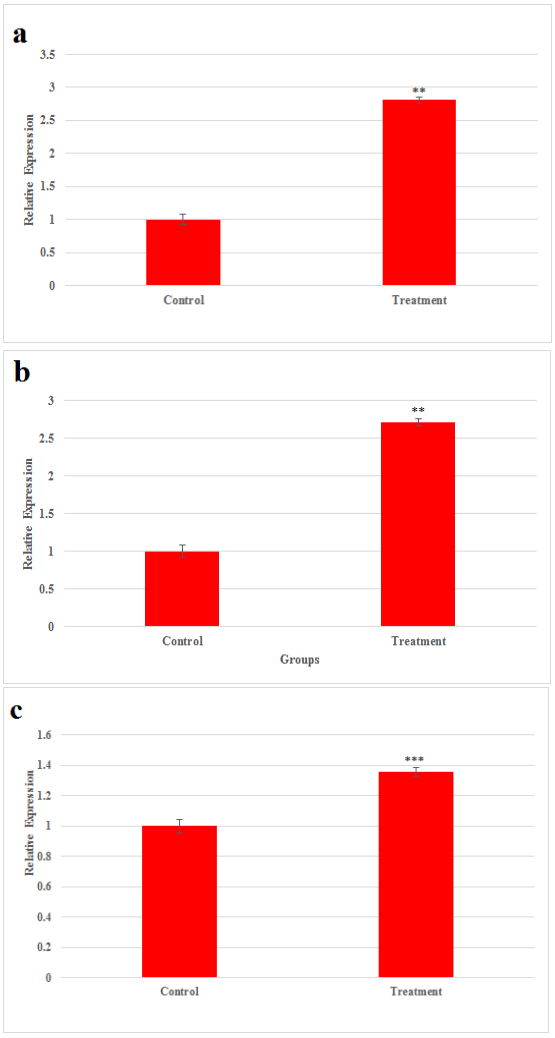


شکل شمارهٔ ۳. بررسی اثر مهاری نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر سلول‌های سرطان کبد با استفاده از آزمایش MTT. مقدار $P<0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته‌شده است.

بررسی تغییرات بیان ژن: بیان نسبی ژن‌های CASP3، BCL2 و BAX در ردهٔ سلولی سرطان کبد مواجهه‌یافته با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بررسی شد. بر اساس نتایج، میزان بیان نسبی همهٔ ژن‌های مطالعه‌شده در اثر مواجهه با نانوذرات به طرز چشمگیری افزایش یافتند. بیشترین میزان افزایش (۲/۸ برابر) مرتبط با ژن CASP3 بود و کمترین میزان افزایش نیز

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

در ژن BCL2 (۱/۳ برابر) مشاهده شد؛ همچنین بیان ژن BAX به میزان ۲/۷ برابر افزایش یافت. نتایج مربوطه در شکل شمارهٔ ۴ ارائه شده‌اند.



شکل شمارهٔ ٤. بررسی میزان بیان نسبی ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ آپوپتوز در سلول‌های سرطانی تیمارشده با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به مدت ۲۴ ساعت. مقدار $P<0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته‌شده است.a: بیان ژن CASP3 که به مقدار ۲/۸ برابر افزایش یافته است،b : بیان ژن BAX که به مقدار ۲/۷ برابر افزایش یافته است،c : بیان ژن BCL2 که به مقدار ۱/۳ برابر افزایش یافته است.

بحث و نتیجه‌گیری

علیرغم پیشرفت‌های چشمگیر در زمینهٔ تشخیص و درمان بیماری‌ها، موارد ابتلا و مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در سراسر دنیا در حال افزایش است و این بیماری به یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های تهدیدکنندهٔ زندگی انسان‌ها تبدیل شده است (۱۰). اگرچه مداخلات درمانی رایج بیماری سرطان مشتمل بر روش‌های جراحی، پرتودرمانی و شیمی‌درمانی است، استفاده از داروهای شیمی‌درمانی به‌عنوان یک راهبرد کلیدی در کنترل و درمان این بیماری در نظر گرفته می‌شود. به علت کارآمدی پایین، عوارض جانبی و سمیت بالا، استفاده از چنین داروهایی با محدودیت‌هایی همراه است؛ به همین سبب، امروزه مطالعات فراوانی در زمینهٔ طراحی و به‌کارگیری ترکیبات نوین شیمیایی علیه انواع مختلف سرطان انجام می‌شود. استفاده از ترکیباتی با ابعاد نانو می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد جدید و مؤثر در زمینهٔ تشخیص و درمان بیماری سرطان مدنظر قرار گیرد. ذرات نانو به‌سبب داشتن سطح مؤثر وسیع می‌توانند ویژگی‌های جدید و مؤثرتری را در مقایسه با ذرات بزرگ‌تر از خود نمایش دهند. بر اساس این، مطالعهٔ حاضر به‌منظور سنتز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم عامل‌دارشده با گلوتامین و کنژوگه با تیوسمی کاربازید و بررسی اثر آن بر بیان برخی ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ مسیر آپوپتوز در سلول‌های سرطان کبد انجام گرفت.

بررسی اثر مهاری نانوذرات سنتزشده بر سلول‌های سرطان کبد نشان داد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم قابلیت ضدتکثیری فراوانی علیه سلول‌های یادشده دارد و می‌تواند در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به مقدار قابل‌توجهی رشد سلول‌های سرطانی را کاهش دهد. اثر مهاری این نانوذرات بر سلول‌های سرطانی را می‌توان با چندین عامل مرتبط دانست که در ادامه موردبحث قرار می‌گیرند. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن یکی از مهم‌ترین رخدادهایی است که در اثر مواجهه با نانوذرات فلزی قابل‌انتظار است. مطالعات گذشته نشان دادند که نانوذرات فلزی قادر به افزایش چشمگیر میزان گونه‌های فعال اکسیژن هستند و این مولکول‌ها به علت ناپایدار بودن می‌توانند به اجزای مختلف سلول‌ها ازجمله غشای سلولی، DNA و پروتئین‌ها آسیب برسانند و به نکروز سلولی یا فعال‌سازی مسیر آپوپتوز منجر شوند (۱۱، ۷)؛ همچنین بروز استرس اکسیداتیو و به دنبال آن، مرگ سلولی در اثر مواجهه با نانوذرات حاوی تیتانیوم در مطالعات پیشین نیز گزارش‌شده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

است (۱۱).

بهسبب تکثیر سلولی سریع، سلول‌های سرطانی سرعت متابولیک بالایی دارند و این امر به افزایش نفوذپذیری آن‌ها به‌منظور جذب بیشتر و سریع‌تر مواد غذایی منجر می‌گردد. گلوتامین مادهٔ غذایی ارزشمندی است که برای انجام عملکردهای طبیعی سلول موردنیاز است. گزارش‌شده است که سلول‌های سرطانی بیشتر از سلول‌های طبیعی، به این ماده نیاز دارند و بر اساس همین، میزان جذب این ماده در سلول‌های سرطانی بالاتر از سلول‌های طبیعی است (۱۲)؛ بنابراین، وجود گلوتامین برای عامل‌دار کردن نانوذرات ساخته‌شده ممکن است سبب تسهیل و افزایش نفوذ نانوذرات سنتزشده به داخل سلول‌های سرطانی شود و از این طریق باعث آسیب رساندن به سلول‌های یادشده و مهار آن‌ها گردد.

تیوسمی کاربازید و مشتقات آن از ویژگی‌های ضدسرطانی مناسبی برخوردارند. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که این ترکیبات از طریق مهار آنزیم‌های مؤثر در فرایند ساخته شدن اسیدهای نوکلئیک ازجمله آنزیم‌های توپوایزومراز و ریبونوکلئوتید ردوکتاز می‌توانند سبب مهار تکثیر سلول‌های سرطانی و القای مرگ سلولی شوند (۱۴-۱۳). شاندیز و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای نشان دادند که نانوذرات نقرهٔ کنژوگه با تیوسمی کاربازید به مهار سلول‌های سرطان سینه به میزان چشمگیری منجر شدند (۱۵)؛ همچنین در مطالعه دیگری، حسینخواه و همکاران در سال ۲۰۲۱، آثار ضدسرطانی اکسید نیکل کنژوگه با تیوسمی کاربازید را علیه سلول‌های سرطان معده نشان دادند (۷). پژوهش حاضر نیز نشان داد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کنژوگه با تیوسمی کاربازید قادر به مهار تکثیر سلول‌های ردهٔ سرطان کبد هستند که منطبق با نتایج سایر محققان است.

بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر بیان ژن‌های CASP3، BAX و BCL2 در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد نشان داد که مواجهه با نانوذرات یادشده به کاهش معنی‌دار هر سه ژن مذکور منجر گردید. کاسپازها پروتئین‌هایی با قابلیت پروتئازی هستند که نقش مهمی در فعال‌سازی آبشار آپوپتوز در سلول‌های یوکاریوتی دارند. مطالعات بسیاری به بررسی و گزارش نقش مهم پروتئین کاسپاز ۳ در آپوپتوز سلولی پرداخته‌اند (۱۶)؛ همچنین فعال‌سازی سیگنال‌های آپوپتوتیک یکی از رایج‌ترین پیامدهای ناشی از بروز آسیب به اجزای سلولی به‌ویژه مولکول‌های DNA به‌شمار می‌رود (۱۱). این مطالعه نشان داد که مواجهه با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به افزایش بیان ژن کاسپاز ۳ در سلول‌های مطالعه‌شده منجر گردید. بروز آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و به دنبال آن، توقف چرخهٔ سلولی و فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوز را می‌توان به‌عنوان محتمل‌ترین علت افزایش بیان ژن کاسپاز ۳ در سلول‌های مطالعه‌شده در نظر گرفت که از این دیدگاه، منطبق بر یافته‌های پیشین است.

بررسی بیان ژن‌های BCL2 و BAX در سلول‌های تیمارشده نیز نشان‌دهندهٔ افزایش معنی‌دار هر دو ژن بود. پروتئین‌های Bcl2 و BAX متعلق به خانوادهٔ پروتئینی Bcl2 هستند و به ترتیب نقش القایی و مهاری در آپوپتوز را بر عهده دارند؛ به بیان‌دیگر، پروتئین Bcl2 به‌عنوان مهارکنندهٔ کمپلکس پروتئینی BAX/BAK محسوب می‌شود و می‌تواند از بروز آپوپتوز جلوگیری کند. بررسی نسبت BAX به BCL2 می‌تواند به عنوان یک شاخص ارزیابی مناسب در پیش‌بینی رفتار سلول در پاسخ به شرایط استرس مدنظر قرار گیرد. در این مطالعه، اگرچه هر دو ژن یادشده دچار افزایش بیان شدند، افزایش بیان بیشتر ژن BAX در مقایسه با ژن BCL2 می‌تواند به‌عنوان شرایط القاکنندهٔ بروز آپوپتوز در سلول‌های تیمارشده در نظر گرفته شود (۱۷).

در این مطالعه، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز گردید و اثر آن بر سلول‌های ردهٔ سرطانی کبد و همچنین بیان ژن‌های مؤثر در فرایند آپوپتوز ارزیابی شد. نتایج نشان داد که نانوذرات سنتزشده قابلیت ضدتکثیری مناسبی علیه سلول‌های ردهٔ سرطان کبد دارند و در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به‌طور چشمگیری زنده‌مانی سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهند؛ همچنین مواجهه با نانوذرات یادشده به افزایش بیان ژن‌های BAX و CASP3 در سلول‌های مطالعه‌شده منجر گردید. به‌نظر می‌رسد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از طریق القای آسیب‌های سلولی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

می‌توانند به فعال‌سازی مسیر آپوپتوز و درنتیجه، مهار سلول‌های سرطان کبد منجر شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از خانم دکتر زینب مرادی بابت مشاوره در بخش تفسیر نتایج شیمی تشکر می نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تضاد منافعی ندارند.

References

1. Jackson MJ, Kopac J, Balazic M, Bombac D, Brojan M, Kosel F. Titanium and titanium alloy applications in medicine. Surg Tools Med Devices 2016; 475-517. doi:org/10.1007/978-0-387-27028-9_15.
2. Wang X, Zhong X, Cheng L. Titanium-based nanomaterials for cancer theranostics. Coord Chem Rev 2021; 430: 213662. doi: 10.1016/j.ccr.2020.213662.
3. Jin CY, Zhu BS, Wang XF, Lu QH. Cytotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in mouse fibroblast cells. Chem Res Toxicol 2008; 21: 1871-77. doi:10.1021/tx800179f.
4. Çeşmeli S, Biray Avci C. Application of titanium dioxide (TiO2) nanoparticles in cancer therapies. J Drug Target 2019; 27: 762-6. doi:10.1080/1061186X.2018.1527338.
5. Sadat Shandiz SA, Montazeri A, Abdolhosseini M, Hadad Shahrestani S, Hedayati M, Moradi-Shoeili Z, et al. Functionalization of Ag nanoparticles by glutamic acid and conjugation of Ag@ Glu by thiosemicarbazide enhances the apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells. J Clust Sci 2018; 29: 1107-14. doi:10.1007/s10876-018-1424-0.
6. Xie F, Cai H, Peng F. Anti-prostate cancer activity of 8-hydroxyquinoline-2-carboxaldehyde-thiosemicarbazide copper complexes in vivo by bioluminescence imaging. J Biol Inorg Chem 2018; 23: 949-56. doi:10.1007/s00775-018-1596-y.
7. Hosseinkhah M, Ghasemian R, Shokrollahi F, Mojdehi SR, Noveiri MJS, Hedayati M, et al. Cytotoxic Potential of Nickel Oxide Nanoparticles Functionalized with Glutamic Acid and Conjugated with Thiosemicarbazide (NiO@ Glu/TSC) Against Human Gastric Cancer Cells. J Clust Sci 2021; 1-9. doi:10.1007/s10876-021-02124-2.
8. Zhao Y, Guo C, Wang L, Wang S, Li X, Jiang B, et al. A novel fluorinated thiosemicarbazone derivative-2-(3, 4-difluorobenzylidene) hydrazinecarbothioamide induces apoptosis in human A549 lung cancer cells via ROS-mediated mitochondria-dependent pathway. Biochem Biophys Res Commun 2017; 491: 65-71. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.07.042.
9. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. Nucleic Acid Res 2001; 29: e45-e45. doi:10.1093/nar/29.9.e45.
10. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer J Clin 2021; 71: 209-249. doi:10.3322/caac.21660.
11. Canaparo R, Foglietta F, Limongi T, Serpe L. Biomedical applications of reactive oxygen species generation by metal nanoparticles. Mater 2020; 14: 53. doi:10.2147/IJN.S28647.
12. Jolfaie NR, Mirzaie S, Ghiasvand R, Askari G, Miraghajani M. The effect of glutamine intake on complications of colorectal and colon cancer treatment: A systematic review. J Res Med Sci 2015; 20: 910. doi:10.4103/1735-1995.170634.
13. Zaltariov MF, Hammerstad M, Arabshahi HJ, Jovanovic K, Richter KW, Cazacu M, et al. New iminodiacetate–thiosemicarbazone hybrids and their copper (II) complexes are potential ribonucleotide reductase R2 inhibitors with high antiproliferative activity. Inorg Chem 2017; 56: 3532-49. doi: 10.1021/acs.inorgchem.6b03178.
14. Zeglis BM, Divilov V, Lewis JS. Role of metalation in the topoisomerase IIα inhibition and antiproliferation activity of a series of α-heterocyclic-N4-substituted thiosemicarbazones and their Cu (II) complexes. J Medicin Chem 2011; 54: 2391-98. doi:10.1021/jm101532u.
15. Abbaszadeh N, Jaahbin N, Pouraei A, Mehraban F, Hedayati M, Majlesi A, et al. Preparation of Novel Nickel Oxide@ Glutamic/Thiosemicarbazide Nanoparticles: Implications for Cytotoxic and Anti-cancer Studies in MCF-7 Breast Cancer Cells. J Clust Sci 2022; 33: 457-65. doi:10.1007/s10876-018-1424-0.
16. Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. Nat Rev Mol Cell Biol 2004; 5: 897-907. doi:10.1038/nrm1496.
17. Perlman H, Zhang X, Chen MW, Walsh K, Buttyan R. An elevated bax/bcl-2 ratio corresponds with the onset of prostate epithelial cell apoptosis. Cell Death Differ 1999; 6: 48-54. doi: 10.1038/sj.cdd.4400453.
18. Bigdeli R, Shahnazari M, Panahnejad E, Cohan RA, Dashbolaghi A, Asgary V.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

Cytotoxic and apoptotic properties of silver chloride nanoparticles synthesized using Escherichia coli cell-free supernatant on human breast cancer MCF7 cell line. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2019; 47: 1603-09. doi: 10.1080/21691401.2019.1604533.

19. Xu Y, Liu L, Qiu X, Liu Z, Li H, Li Z, et al. CCL21/CCR7 prevents apoptosis via the ERK pathway in human non-small cell lung cancer cells. PloS one 2012; 7: e33262. doi: 10.1371/journal.pone.0033262.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]