Nova Biologica Reperta 6(2): 140-147 (2019)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۱۴۰ الی ۱۴۷ (۱۳۹۸)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

بررسی اثر آپوپتوزی نانوذرات نقره با پوشش عصارهٔ بومادران بر سلول‌های سرطان تخمدان A2780

جواد بهارآرا[۱]، طیبه رمضانی[۲]، نگار صغیری[۳] و فرزانه سالک[۱]

[۱]مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری و گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران؛ [۲]دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران؛ [۳]گروه زیست شناسی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

مسئول مکاتبات: جواد بهارآرا، baharara@mshdiau.ac.ir

چکیده. استفاده از نانوذرات نقره به‌علت ویژگی‌های منحصربه‌فرد آن در حال افزایش است. گیاه دارویی بومادران از ترکیبات فعال زیستی غنی است. هدف از این پژوهش بررسی اثر ضدسرطانی نانوذرات نقره سنتزشده با استفاده از عصارهٔ بومادران بر ردهٔ سلولی سرطان تخمدان A2780 است. اثر سمیت نانوذرات نقره با آزمون MTT در زمان ۴۸ ساعت و با غلظت ۳۲ و ۱۶، ۸، ۴، ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بررسی شد. برای مطالعهٔ مسیر القای مرگ سلولی از رنگ‌آمیزی DAPI، اکریدین اورنج/ پروپودیوم یدید، آزمون انکسین ۵/ پروپودیوم یدید و ارزیابی فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ استفاده شد. یافته‌ها نشان داد که نانوذرهٔ نقره سنتزشده از گیاه بومادران در غلظت ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر به کاهش ۵۰ درصدی زیست‌پذیری سلول‌های سرطان تخمدان منتهی می‌شود. همچنین نتایج حاصل از رنگ‌امیزیDAPI، اکریدین اورنج/ پروپودیوم یدید، انکسین/ پروپودیوم یدید نشان دادکه درصد سلول‌های آپوپتوزی در گروه‌های تیمار در مقایسه با کنترل افزایش یافته است. به‌علاوه، در سلول‌های تیمارشده فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ افزایش یافت که نشان‌دهندهٔ القای مرگ سلولی توسط نانوذرات نقره ازطریق مسیر وابسته به کاسپاز است. با توجه به نتایج می‌توان گفت که نانوذرات سنتزشده با عصارهٔ گیاه بومادران می‌تواند ازطریق القای آپوپتوز اثر سیتوتوکسیک خود را بر سلول‌های A2780 اعمال کند.

واژه‌های کلیدی. تولید زیستی، سمیت سلولی، کاسپاز، گیاه دارویی، نانوذرات

Investigating the apoptotic effects of silver nanoparticles coated with *Achillea biebersteinii* extract on A2780 ovarian cancer cells

Javad Baharara[1], Tayebe Ramezani[2], Negar Saghiri[3]& Farzaneh Salek[1]

[1]Research Center for Animal Development Applied Biology & Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad, University, Mashhad, Iran; [2]Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran; [3]Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.
Correspondent author: Javad Baharara, baharara@mshdiau.ac.ir

Abstract. In recent years using silver nanoparticles (AgNPs) has increased due to its unique properties. The medicinal plant *Achillea biebersteinii* is rich in anti-cancer compounds. The aim of this study was to investigate the cytotoxicity of AgNPs synthesized using *Achillea biebersteinii* extract on human ovarian cancer A2780 cells. Cytotoxic effects of AgNPs with MTT test was performed in a 48-hour period in concentrations of 2, 4, 8, 16 and 32 µg/ml. To study the cell death induced by AgNPs, the staining methods of DAPI and acridine orange (AO)/ Propidium iodide (PI) were executed, Annexin v/Propidium iodide assays were performed and the activation of caspase 3 and 9 was assessed. The results showed that the synthesized AgNPs decreased cell viability in a dose-dependent manner, inhibitory concentration of 50 % (IC_{50}) was calculated as 4 µg/ml. The results of AO/PI, DAPI staining methods and Annexin V/PI showed that, in treated groups, the percentage of apoptotic cells increased as compared with the control group. In addition, the treated groups showed increased activation of caspase 3 and 9. Therefore, silver nanoparticles induced cell death through the caspase-dependent pathway. The results suggest that AgNPs synthesized by the use of *Achillea biebersteinii* extract exert their cytotoxic effect on A2780 cells by inducing apoptosis.

Key words. caspase, cytotoxicity, green synthesis, medicinal plant, nanoparticles

Received 19.01.2016/ Revised 25.12.2017/ Accepted 31.12.2017/ Published 01.08.2019

دریافت ۱۳۹۵/۱۰/۲۹/ اصلاح ۱۳۹۶/۱۰/۴/ پذیرش ۱۳۹۶/۱۰/۱۰/انتشار ۱۳۹۸/۰۵/۱۰

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]

مقدمه

نانوتکنولوژی علم مطالعه و کاربرد ذرات در مقیاس نانو است. هدف اصلی اکثر تحقیقات نانوتکنولوژی تشکیل ترکیبات جدید یا ایجاد تغییراتی در مواد برای استفادهٔ بهتر از آنها است (Hughes *et al*., 2000). نانوذرات نقره بسته به نوع کاربرد، خواص فیزیکی و سیستم زندهٔ مربوط، در اندازه و شکل‌های مختلفی تهیه می‌شوند (Prabhu & Poulose, 2012). شناخته‌شده‌ترین اثر نانوذرات نقره خواص آنتی‌باکتریال آنها است. نانوذرات نقره با اتصال به پروتئین‌های حاوی گوگرد در سطح غشای باکتری‌ها، وارد آنها می‌شوند و با ایجاد تغییردر مورفولوژی و نفوذپذیری غشاء و تأثیرگذاری در زنجیرهٔ تنفسی و تقسیم سلولی درنهایت باعث مرگ باکتری‌ها به‌صورت مؤثر می‌شوند (McShan *et al*., 2014). در سال‌های اخیر، اثر ضدرگ-زایی و ضدسرطانی نانوذرات نقره علاوه بر خواص ضدمیکروبی آن مورد توجه قرار گرفته است. برای مثال اثر ضدرگ‌زایی نانوذرات نقره بر سلول‌های اندوتلیال شبکیهٔ گاو بررسی شده و گزارش شده است که نانوذرات نقره قادر به القای آپوپتوز در سلول‌های مذکور است. به‌علاوه، تحقیقات این گروه نشان داد که این نانوذرات باعث کاهش بیان فاکتورهای رگ‌زایی ازجمله فاکتور رشد اندوتلیال در سلول‌های تحت تیمار می‌شوند (Kalishwaralal *et al*., 2009). همچنین، در مطالعات متعدد اثر ضدتکثیری و ضدسرطانی نانوذرات نقره در کانون توجه قرار گرفته است و پتانسیل بالای این ماده در جهت مبارزه با سرطان به اثبات رسیده است (Rao *et al*., 2016). اثر ضدسرطانی نانوذرات نقره بر سلول‌های سرطانی ردهٔ HepG2 و سلول‌های طبیعی بررسی شده است. مطالعات این پژوهشگران نشان داد که اثر سمیت و توانایی القای مرگ سلولی نانوذرات نقره در سلول‌های سرطانی۴۴ برابر بیشتر از سلول‌های طبیعی است (Faedmaleki *et al*., 2014). روش‌های متعددی برای تولید نانوذرات وجود دارند که اغلب روش‌های شیمیایی و فیزیکی شامل استفاده از مواد سمی یا عواملی مانند استفاده از فشار بالا است که تولید نانوذرات را با محدودیت مواجه کرده است (Iravani., 2014). استفاده از موجودات زنده مانند میکروارگانیسم‌ها و ماکروارگانیسم‌ها (به‌منزلهٔ واسطی در سنتز نانوذرات از ترکیبات معدنی) می‌تواند روش دیگری درکنار روش‌های شیمیایی و فیزیکی برای تولید نانوذرات باشد. تولید زیستی نانوذرات حافظ محیط زیست و طبیعت است و آسیب‌رسانی به انسان، هوا و در مجموع اکوسیستم را بسیار پایین می‌آورد برای مثال، تولید نانوذرات نقره با استفاده از گیاه زیتون و آلوورا گزارش شده است و تاکنون بسیاری از محققان تولید نانوذرات نقره را با استفاده از عصاره‌های گیاهی گزارش کرده‌اند (Ahmed *et al*., 2016) با توجه به فلور گیاهی غنی ایران، استفاده از گیاهان بومی برای سنتز نانوذرات و بررسی اثر نانوذرات تولیدشده ضروری به‌نظر می‌رسد. گیاه بومادران با نام علمی *Achillea biebersteinii* Afan. یکی از گیاهان دارویی بومی ایران است، بومادران گل‌زرد در اکثر نقاط استان های خراسان به‌صورت علف هرز گسترش دارد و استفادهٔ دارویی وسیعی دارد (Mazandarani *et al*., 2015). در این مطالعه، از گیاه بومادران زرد برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شد و همچنین، اثر ضدسرطانی نانوذرات حاصل بر سلول‌های سرطان تخمدان انسانی A2780 بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ نانوذرات نقره با پوشش عصارهٔ گیاه بومادران زرد و شناسایی آنها

در این مطالعه از نانوذرات نقره با پوشش عصارهٔ گیاه بومادران استفاده‌شده که در مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی دانشگاه آزاد واحد مشهد تهیه‌شده است. این نانوذرات با استفاده از عصارهٔ آبی گیاه بومادران، به‌عنوان عامل کاهنده و پایدارکننده، تولید شده و با روش‌های طیف‌سنجی نور فرابنفش–نور مرئی، تعیین اندازهٔ نانوذرات و طیف‌سنجی مادون قرمز شناسایی شده بودند.

کشت سلول

سلول‌های سرطان تخمدان انسانی A2780 از مؤسسهٔ انستیتو پاستور ایران تهیه شد و در محیط کشت RPMI با سرم جنینی ۱۰ درصد کشت داده شدند. سلول‌ها در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد با میزان CO_2 ۵ درصد و رطوبت کافی انکوبه شدند.

تعیین سمیت سلولی: در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه ۵×۱۰^۴ سلول ریخته شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، سلول‌ها با غلظت‌های ۳۲ و ۱۶، ۸، ۴، ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تیمار شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، سمیت سلول با روش MTT تحت ارزیابی قرار گرفت. مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به هر خانهٔ پلیت اضافه شد و ۲ ساعت دور از نور انکوبه شد. درنهایت، ۱۰۰میکرولیتر DMSO به هر خانه اضافه شد و پس از گذشت ۱۰ دقیقه جذب نوری آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Bio Take, Us) بررسی شد. درصد زیست‌پذیری سلول‌ها با فرمول زیر محاسبه شد:

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]

زیست‌پذیری سلول‌ها (%)= جذب سلول‌های تیمارشده/جذب سلول‌های کنترل × ۱۰۰

آزمون‌های ارزیابی آپوپتوز

برای بررسی آپوپتوز، سلول‌های سرطان تخمدان A2780 با غلظت مهاری میانه (IC_{50}) تیمار شدند.

آزمون انکسین ۵/ پروپودیوم یدید: برای انجام این آزمون سلول های سرطان تخمدان A2780 به مدت ۲۴ ساعت با غلظت مهاری میانه تحت تیمار قرار گرفتند. سپس سلول‌ها جدا و سانتریفیوژ شدند. به هر نمونه ۵۰۰ میکرولیتر 1x Binding Buffer ، ۵ میکرولیتر انکسین ۵ و پروپودیوم یدید اضافه شدو در دمای اتاق به‌مدت ۵ دقیقه در تاریکی انکوبه شدند توسط دستگاه فلوسایتومتری (Bd, Us) تحلیل صورت گرفت.

رنگ‌آمیزی اکریدین اورنج/ پروپودیوم یدید: برای انجام این روش سلول‌های سرطان تخمدان A2780 به‌مدت ۲۴ ساعت با غلظت مهاری میانه تیمار شدند. سپس، سلول‌های گروه کنترل و تیمار تریپسینه شدند و به آنها ۱۰ میکرولیتر اکریدین اورنج و ۱۰ میکرولیتر پروپودیوم یدید اضافه شد. پس از پیپتاژ توسط میکروسکوپ فلورسنت (Olympus, Japan) تحت بررسی قرار گرفتند.

رنگ آمیزی DAPI: جهت انجام این رنگ‌آمیزی تعداد ۵×۱۰^{۵} سلول در پلیت‌های ۶ خانه کشت داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت با غلظت مهاری میانه تیمار شدند. سپس، سلول‌های گروه کنترل و تیمار با متانول تثبیت شدند و سپس در معرض رنگ DAPI به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و با میکروسکوپ فلورسنت (Olympus, Japan) عکس‌برداری انجام شد.

تست اندازه‌گیری فعالیت کاسپاز ۳ و ۹: تعداد $۱۰^{۶}$ سلول در فلاسک‌های کشت قرار گرفتند و ۲۴ ساعت با نانوذرات نقره در غلظت میانه مهاری تیمار شدند. سپس، سلول‌های گروه کنترل و تیماری از کف فلاسک جدا و سانتریفیوژ شدند. به هر نمونه ۵۰ میکرولیتر از بافر لیزکننده اضافه شد و نمونه‌ها ۱۰ دقیقه روی یخ قرار گرفتند، سپس در دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شدند و از محیط رویی برای تعیین غلظت پروتئین استفاده شد. در این مرحله، ۵۰ میکرولیتر از DDT و بافر 2X و ۵ میکرولیتر از سوبسترای کاسپاز ۹ (LEHD-P-NA) و سوبسترای کاسپاز ۳ (DEVD-P-NA) به هر نمونه اضافه شد و به‌مدت ۲ ساعت درون انکوباتور انکوبه شدند.

سپس، جذب هر نمونه در طول موج ۴۰۰ یا ۴۰۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Biotake, Us) اندازه‌گیری شد.

نتایج

تهیهٔ نانوذرات نقره با پوشش عصارهٔ گیاه بومادران زرد و شناسایی آنها

میانگین نانوذرات استفاده شده در این پژوهش ۱۲ نانومتر و ماکزیمم جذب آنها ۴۶۰ نانومتر ثبت شد. مطابق نتایج حاصل از طیف‌سنجی مادون قرمز، عصارهٔ گیاه بومادران زرد سطح نانوذرات تولیدشده را پوشش داده بود (Baharara *et al*., 2014).

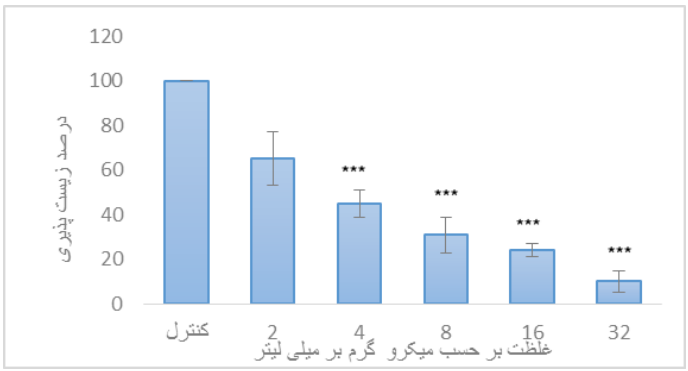
ارزیابی القاء آپوپتوز

نتایج آزمون سمیت سلولی: نتایج نشان داد که غلظت ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات نقره در بازهٔ زمانی ۴۸ ساعت باعث مهار زیست‌پذیری نیمی از سلول‌های A2780 شد. همچنین، افزایش غلظت نانوذرات نقرهٔ پوشش‌داده‌شده با عصارهٔ گیاه بومادران موجب کاهش بقای سلول‌ها شد. غلظت‌های بیشتر از ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر به لیزشدن سلول‌ها در ساعت‌های اولیه تیمار منجر شدند (شکل ۱).

نتایج حاصل از آزمون انکسین ۵/ پروپودیوم‌یدید: نتایج حاصل از بررسی القای آپوپتوز در سلول‌های A2780 تیمارشده با غلظت ۴ میکروگرم/میلی‌لیتر نانوذرات نقره نشان داد که درصد سلول‌هایی که روند مرگ سلولی در آنها آغاز شده بود در نمونه‌های تیمار نسبت به کنترل افزایش‌یافته بدین ترتیب که درصد سلول‌هایی که در مرحلهٔ اولیهٔ آپوپتوز قرار دارند، از ۳ درصد در نمونهٔ کنترل به ۲۱ درصد در نمونه‌های تیمار افزایش یافت. همچنین درصد سلول‌هایی که در مرحلهٔ آپوپتوز انتهایی قرار دارند از صفر درصد در نمونهٔ کنترل به ۵ درصد در نمونه تیماری افزایش نشان داد (شکل ۲).

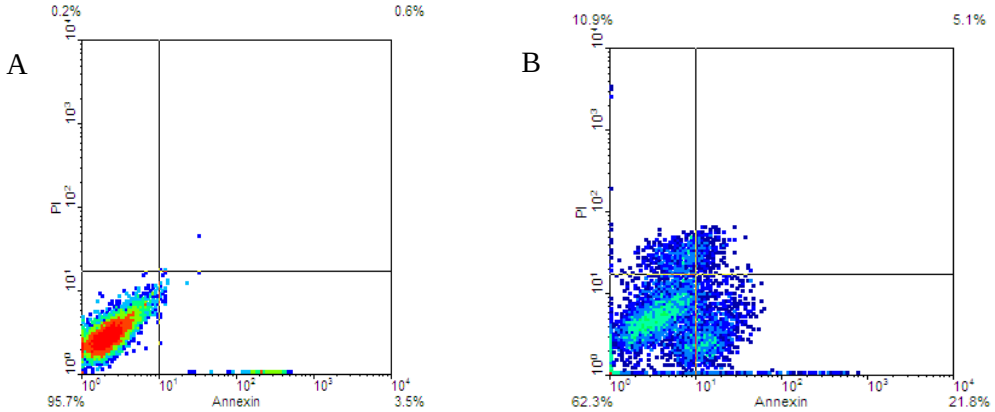
نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی اکریدین اورنج/پروپودیوم یدید: در رنگ‌آمیزی اکریدین اورنج/ پروپودیوم یدید، سلول‌های زنده به رنگ سبز رویت می‌شوند درحالی که رنگ زرد مایل به نارنجی نشان‌دهندهٔ آپوپتوز در سلول است. در نتیجه با بررسی سلول‌های رنگ‌شده می‌توان به نوع مرگ سلولی پی‌برد. نتایج حاصل از این روش نشان داد که در گروه کنترل همهٔ سلول‌ها به رنگ سبز هستند(A) و در مقدار ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تقریباً نیمی از سلول-ها سبز و نیمی زرد (B) رنگ بودند. نمودار حاصل از بررسی درصد زیست‌پذیری سلول‌ها نشان داد که درصد سلول‌های آپوپتوتیک در

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]



شکل ۱- مقایسه اثر نانو ذره نقره سنتز شده با عصاره گیاه بومادران بر درصد بقاء سلول های A2780 بعد از گذشت ۴۸ ساعت نسبت به گروه کنترل. غلظت ۴ میکروگرم بر میلی لیتر باعث مهار رشد سلولی تقریبا نیمی از سلول ها (IC_{50}) شده است و غلظت های بالاتر آن باعث مرگ همه سلول ها شده است، ***P<0/001 Mean ± SD,.

Fig. 1. Comparative effects of silver nanoparticles synthesized using *Achillea biebersteinii* extract on the viabiliy rate in A2780 cells after 48 hours. The Concentration of 4 µg/ml inhibited almost half of the cells viability; however, higher concentrations led to death of all cells, *** P <0/001 Mean ± SD.



شکل ۲- آزمون انکسین ۵/ پروپیدیوم یدید. **A:** نمونه کنترل نشان دهنده این است که بیشتر از ۹۵ درصد سلولهای رده سلولی A2780 زنده هستند و کمتر از ۴ درصد آنها دچار آپوپتوز شده اند. **B:** گروه تیمار با غلظت ۴ میکرو گرم/ میکرولیتر ۲۱ درصد سلول ها دچار آپوپتوز اولیه، ۵ درصد دچار آپوپتوز ثانویه و ۱۰ درصد باقیمانده دچار نکروز شده اند.

Fig. 2. Annexin V / PI. In the control sample, it was shown that more than 95% of the cells were alive and less than 4% of the cells were undergoing apoptosis but, in treated groups, with 4 µg/ml of AgNPs, 21% of the cells showed early apoptosis signs, 5% and 10% of cells showed late apoptosis and necrosis, respectively.

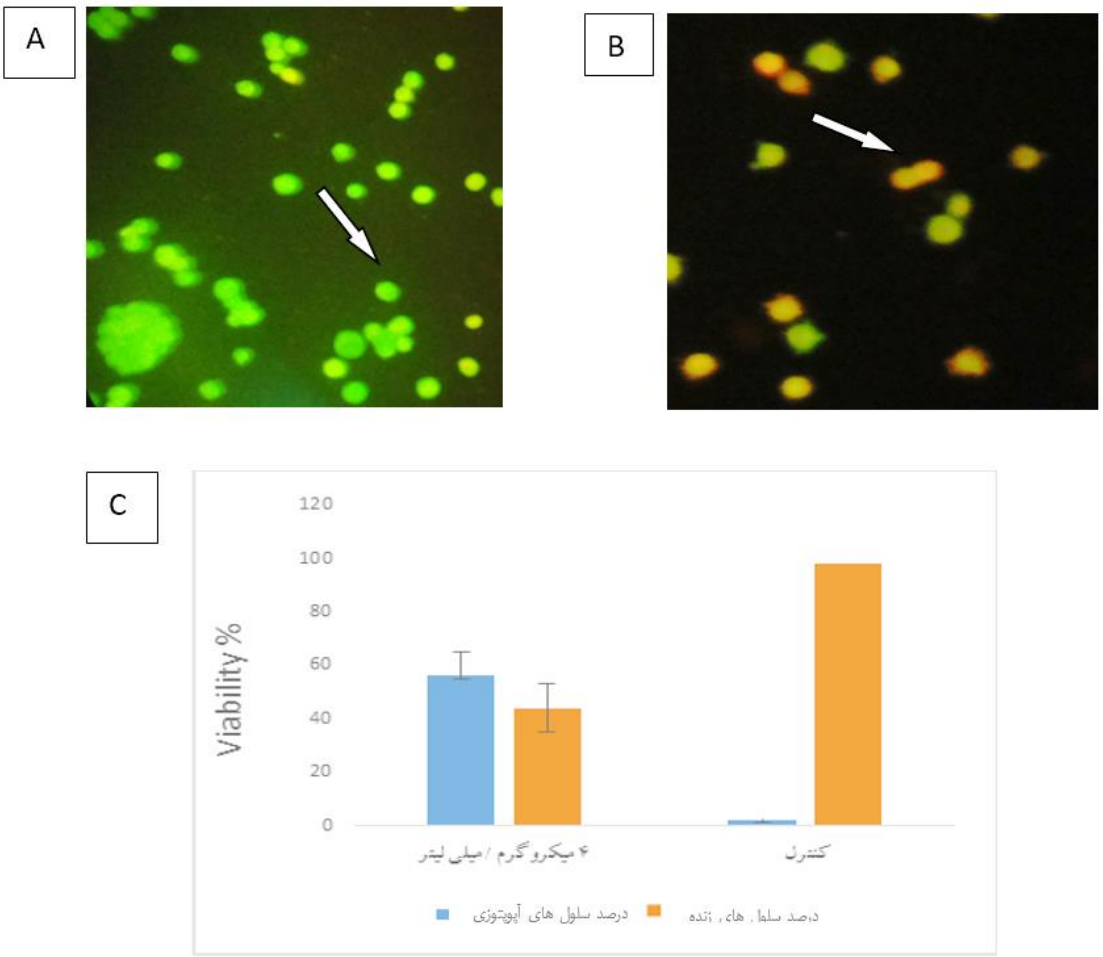
سلول‌های تحت تیمار افزایش یافته است (شکل ۳). نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی DAPI: مطالعات نشان داد که در سلول‌های تیمار شده با نانوذرات نقره کروماتین‌ها شکسته، چندتکه و همچنین، سلول‌ها فشرده شده‌اند که این شواهد نشان‌دهندهٔ آغاز مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده در سلول‌های تحت تیمار هستند (شکل ۴).

نتایج حاصل از آزمون کاسپاز ۳ و ۹: این آزمون جهت تعیین مسیر آپوپتوزی القاشده توسط غلظت‌های مؤثر نانوذرات نقره استفاده شد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره با پوشش گیاه بومادران به فعال‌شدن کاسپاز ۳ و ۹ در مقایسه با نمونه‌های بدون تیمار منجر شد. این نتایج نشان می‌دهد که مرگ سلولی القاشده در سلول‌های تیمار با نانوذرات نقره با پوشش عصارهٔ گیاه بومادران از مسیر وابسته به کاسپاز هدایت می‌شود (شکل ۵).

بحث و نتیجه‌گیری

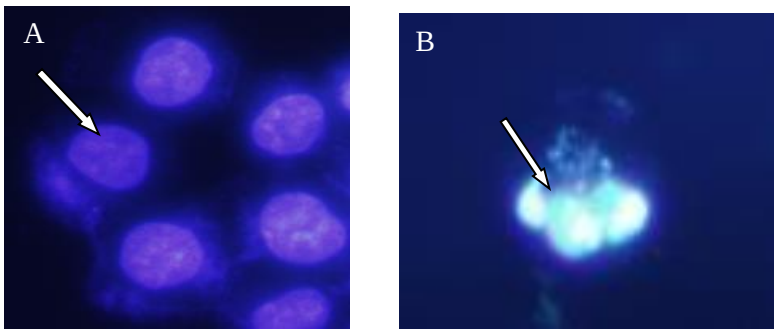
در پژوهش حاضر، اثر نانوذرات نقرهٔ پوشش‌داده‌شده با عصارهٔ گیاه بومادران بر روند القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده درسلول‌های

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]



شکل ۳- رنگ آمیزی اکریدین اورنج/ پروپودیوم یدید. **A.** درگروه کنترل، سلول‌ها به رنگ سبز مشاهده می‌شوند که نشان دهنده زنده بودن سلول‌ها است. **B.** در نمونه‌های تیمار با غلظت ۴ میکروگرم بر میلی لیتر نانو ذره نقره، تعدادی از سلول‌ها به رنگ زرد و نارنجی مشاهده می‌شوند که نشان می‌دهند این سلول ها دچار آپوپتوز شده اند. **C:** نمودار نشان می دهد که درصد زیست پذیری سلول ها تحت تیمار با غلظت ۴ میکروگرم / میلی لیتر نانو ذرات نقره کاهش یافته است (بزرگنمایی ×۲۰۰).

Fig. 3. Ao/PI staining. **A.** In control groups, cells are green; this indicates that the cells are alive. **B.** In cells which were treated with 4 µg/ ml of AgNPs, yellow and orange colors suggested the fact that these cells were undergoing apoptosis. **C:** The graph shows that the percentage of viable cells decreased in the group treated with 4 µ/ml of silver nanoparticles (magnification × 200).



شکل ٤- نتایج حاصل از رنگ آمیزی هسته ای DAPI. **A.** در گروه کنترل هسته سلول ها منسجم و یک دست هستند. **B.** در گروه تیمار با ۴ میکروگرم بر میلی لیتر از نانو ذرات نقره ، هسته سلول ها چند تکه و سلول ها فشرده شده اند، پیکان ها هسته هایی را که دچار آپوپتوز شده اند نشان می دهد (بزرگنمایی ×۲۰۰).

Fig. 4. The results of nuclear staining DAPI. **A.** In the control group, cells' nuclei are intact. **B.** In the group treated with 4 µg/ml AgNPs, cells' nuclei are fragmented and the cells are compressed. Apoptotic nuclei are shown by arrows (Magnification × 200).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]



شکل ۵– مقایسه فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ در گروه های تیمار و کنترل. همانطور که در نمودار فوق مشاهده می گردد فعالیت کاسپاز ۳و ۹ در نمونه های تیمار بصورت معنا دار نسبت به کنترل افزایش یافته است, *** P<0/001 Mean ± SD.

Fig. 5. Comparison of caspase 3 and 9 activity in treated and control groups. As it can be seen in the above graph, activation of caspase 3 and 9 in treated samples increased significantly as compared with the control, *** P <0/001 Mean ± SD.

سلول‌های سرطان تخمدان A2780 تحت بررسی قرار گرفت. نانوذرات نقره به‌علت ویژگی‌های خاص شیمیایی، فیزیکی، نور و کاتالیکی کانون توجه محققان و صنعت‌گران قرار گرفته است. نانوذرات نقره به‌علت ویژگی‌های خاص شیمیایی، فیزیکی، نور و کاتالیکی کانون توجه محققان و صنعت‌گران قرار گرفته است. این نانوذرات کاربردهای وسیعی در تولیداتی از جمله بانداژها و وسایل پزشکی دارد. به‌علاوه، اثر ضدرگ‌زایی، ضدقارچی، ضدباکتریایی و ضدالتهابی نانوذرات نقره نیز گزارش شده است (McShan *et al*., 2014). اخیراً مطالعاتی در زمینهٔ اثر ضدسرطانی نانوذرات انجام گرفته است. گروه‌های تحقیقاتی متعدد اثر سمی نانوذرات نقره را بر سلول‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی و همچنین اثر آن را در استراتژی‌های درمانی شرح داده‌اند (Marambio-Jones & Hoek, 2010). محققین نشان دادند که سلول‌های سرطانی به یون نقره حساسیت بیشتری در مقایسه با سلول‌های طبیعی دارند. مطابق مطالعات پیشین، محیط سلول‌های توموری اسیدی است و آزاد شدن یون نقره از نانوذرات نقره به pH وابسته است. به‌عبارتی، در pHهای بالاتر درصد بیشتری از یون‌های نقره آزاد می‌شوند. بنابراین، در محیط اسیدی سلول‌های سرطانی افزایش غلظت یون‌های نقره و سمیت روی می‌دهد (Jeong *et al*., 2016). نانوذرات نقره معمولاً در القای پاسخ‌های سلولی مختلف نتایج سمیت سلولی متفاوتی نشان می‌دهند. بسته به اندازهٔ نانوذره، غلظت و مدت زمان تحت اثر، نانوذرهٔ نقره درجات مختلفی از سمیت سلولی را در موقعیت برون-تنی نشان می‌دهند (Dos *et al*., 2014). در این تحقیق، برای بررسی اثر نانوذرات نقره با پوشش عصارهٔ گیاه بومادران بر زیست-پذیری سلول‌های سرطانی تخمدان A2780 از روش MTT استفاده شد که نوعی روش رنگ‌سنجی جهت بررسی اثر سمیت مواد است (Baharara *et al*., 2015). نتایج این آزمون نشان داد که نانوذرات نقره به‌صورت وابسته به مقدار و زمان به کاهش زیست‌پذیری در سلول‌های A2780 منجر می‌شوند، غلظتی از نانوذرات که به مرگ نیمی از سلول‌های منجر می‌شود ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. اثر نانوذرات نقره با سنتز شیمیایی بر زیست‌پذیری سلول‌های HepG2 بررسی شده است (Brzóska *et al*., 2015). نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب کاهش ۵۰ درصدی زیست‌پذیری سلول‌های HepG2 می‌شود این اختلاف ممکن است ناشی از روش متفاوت سنتز نانوذرات و پوشش سطحی نانوذرات در پژوهش حاضر باشد.

در پژوهش حاضر نشان داده شد که نانوذرات نقره به القای مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلولی در سلول‌های A2780 ازطریق فعال‌کردن مسیر کاسپاز منجر می‌شوند. گزارش شده است که نانوذرات نقره به القای آپوپتوزیس در سلول‌های آستروسیت منجر می‌شوند. آنها نشان دادند که مرگ برنامه‌ریزی‌شده ازطریق فعال‌شدن کاسپازها در سلول‌های تیمارشده آغاز می‌شود (Bexiga *et al*., 2011). نتایج مطالعات این گروه با داده‌های پژوهش حاضر هم‌سو است. اثر

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]

نانوذرات نقره بر القای آپوپتوز بر سلول‌های بنیادی جنینی و سلول-های فیبروبلاست بررسی شده است (Ahamed *et al*., 2008). آنها نشان دادند که تیمار سلول‌های مذکور با نانوذرات نقره به آسیب-دیدگی DNA در این سلول‌ها منجر می‌شود. همچنین، گزارش کردند که بیان P53 در هر دو نوع سلول بنیادی و فیبروبلاستی افزایش می‌یابد . در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد که نانوذرات نقرهٔ تولیدشده با روش زیستی به تخریب DNA منجر می‌شود. اثر نانوذرات نقره بر سلول‌های سرطان کولون H116 تحت بررسی قرار گرفته است (Satapathy *et al*., 2013). آنها نشان دادند که نانوذرات نقره به‌صورت وابسته به مقدار، به القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده در سلول‌های مذکور منجر می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که این نانوذرات از طریق فعال‌کردن مسیر کاسپاز، فعال‌کردن P53، افزایش بیان BAX و کاهش بیان BCL-2 اثر آپوپتوزی خود را اعمال می‌کنند.

این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقرهٔ تولیدشده با عصارهٔ گیاه بومادران باعث کاهش زیست‌پذیری در سلول‌های سرطانی تخمدان A2780 می‌شود. این نانوذرات به‌صورت وابسته به کاسپاز منجر به القای مرگ سلولی در سلول‌های مذکور می‌شود.

سپاسگزاری

از همکاران مرکز تحقیقاتی بیولوژی کاربردی و تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد که در اجرای این پژوهش همکاری داشتند قدردانی می گردد.

REFERENCES

Ahamed, M., Karns, M., Goodson, M., Rowe, J., Hussain, SM., Schlager, J.J. and Hong Y. 2008. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. – Toxicol. Appl. Pharmacol. 233: 404-410.

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, BL. and Ikram, S. 2016. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. – J. Adv. Res. 7: 17-28.

Baharara, J,, Namvar, F., Ramezani, T., Hosseini, N. and Mohamad, R. 2014. Green synthesis of silver nanoparticles using *Achillea biebersteinii* flower extract and its anti-angiogenic properties in the rat aortic ring model. – Molecules 19: 4624-34.

Baharara, J., Namvar, F., Ramezani, T., Mousavi, M. and Mohamad, R. 2015. Silver nanoparticles biosynthesized using *Achillea biebersteinii* flower extract: apoptosis induction in MCF-7 cells via caspase activation and regulation of bax and bcl-2 gene expression. – Molecules 20: 2693-2706.

Bexiga, M.G., Varela, J.A., Wang, F., Fenaroli, F., Salvati, A., Lynch, I., Simpson, J.C. and Dawson, K.A. 2011. Cationic nanoparticles induce caspase 3-, 7- and 9-mediated cytotoxicity in a human astrocytoma cell line. – Nanotoxicology 5: 557-567.

Brzóska, K., Męczyńska-Wielgosz, S., Stępkowski, T.M. and Kruszewski, M. 2015. Adaptation of HepG2 cells to silver nanoparticles-induced stress is based on the pro-proliferative and anti-apoptotic changes in gene expression. – Mutagenesis 30: 431-439.

Dos- Santos, C.A., Seckler, M.M., Ingle, A.P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., Gade, A. and Rai, M. 2014. Silver nanoparticles: Therapeutical uses, toxicity, and safety issues. – J. Pharm. Sci. 103: 1931-1944.

Faedmaleki, F., Shirazi, F., Salarian, A., Ahmadi- Ashtiani, H. and Rastegar, H. 2014. Toxicity effect of silver nanoparticles on mice liver primary cell culture and hepg2 cell line. – Iran. J. Pharm. Res. 13: 235-242.

Hughes, M.P., Alimova, A., Cnnbpiydp, N. and Awm, Z. 2000. AC electrokinetics: applications for nanotechnology. – Nanotechnology 11: 124-132.

Iravani, A., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S.V. and Zolfaghari, S .2014. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. – Res. Pharm. Sci. 9: 385-406.

Jeong, J., Gurunathan, S. and Kang, M. 2016. Hypoxia-mediated autophagic flux inhibits silver nanoparticle-triggered apoptosis in human lung cancer cells. – Sci. Rep. 6: 21668.

Kalishwaralal, K., Banumathia, E., Kumar, S.R., Pandiana, V., Deepaka, J., Muniyandia, S.H., Eomb, S. and Gurunathan, H. 2009. Silver nanoparticles inhibit VEGF induced cell proliferation and migration in bovine retinal endothelial cells. – Colloids Surf B: Biointerfaces 73: 51–57.

Marambio-Jones, C. and Hoek, V. 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. – J. Nanopart Res. 12: 1531-1551.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]

Mazandarani, M., Osia, N. and Ghafourian, M. 2015. Antioxidant activity and ethno pharmacological survey of *Achillea biebersteinii* afan in the treatment of dysmenorrhoea in traditional medicine of Golestan province, Iran. – Int. J. Womens Health Reprod Sci. 3: 107-110.

McShan, D., Ray, P.C. and Yu, H. 2014. Molecular toxicity mechanism of nanosilver. – J. Food Drug Anal. 22: 116-127.

Prabhu, S. and Poulose, E.K. 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. – Int. Nano Lett. 2: 32.

Rao, P.V., Nallappan, D., Madhavi, K., Rahman, S., Jun-Wei, L. and Gan, S.H. 2016. Phytochemicals and Biogenic Metallic Nanoparticles as Anticancer Agents. – Oxidative Med. Cell. Longev. 5: 1-15

Satapathy, S., Mohapatra, P., Preet, R., Das, D., Sarkar, B., Choudhuri, T., Wyatt, M. and Kundu, C .2013. Silver-based nanoparticles induce apoptosis in human colon cancer cells mediated through p53. – Nanomedicine 8: 1307-1322.

*****

How to cite this article:

Baharara, J., Ramezani, T., Saghiri, N. and Salek, F. 2019. Investigation apoptotic effects of silver nanoparticles coated with *Achillea biebersteinii* extract on A2780 ovarian cancer cells. – Nova Biol .Reperta 6: 140-147.

بهارآرا، ج.، رمضانی، ط.، صغیری، ن. و سالک، ف. ۱۳۹۸. بررسی اثر آپوپتوزی نانوذرات نقره با پوشش عصارهٔ گیاه بومادران بر سلول‌های سرطان تخمدان A2780. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۶: ۱۴۷-۱۴۰.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.3.0]

[DOI: 10.29252/nbr.6.2.140]