Cytotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles (TiO_2) on colon cancer (Coca-2) cell line

Mohammad Faezi Ghasemi*, Ali Deshmir

Department of Microbiology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

Abstract

Aim and Background: The use of nano materials has been proposed as a candidate for cancer cells treatments. The aim of this study was to investigate the cytotoxic effects of titanium oxide nanoparticles (TiO_2) on colon cancer cell line (Caco-2).

Material and Methods: For the cell culture, the vial containing Caco-2 cells was cultured in RPMI 1640 medium. In order to evaluate the cytotoxic effects, titanium dioxide nanoparticles, in concentrations of 1, 5, 10, 25, 50 and 100 micrograms per milliliter were used on Caco-2 cells at time intervals of 24, 48 and 72 hours. Toxicity was measured by MTT method.

Results: The results showed that the survival percentage of Caco-2 cells in the used concentrations of TiO_2 were 96.14%, 90.41%, 69.44%, 59.44%, 37.80, and 31.51%, respectively. Based on the obtained results, it was determined that titanium oxide nanoparticles in concentrations of 1 and 5 micrograms/ml have no significant effect on Caco-2 cells. However, by increasing the concentration of titanium nanoparticles from 10 µg/mL to 100 µg/mL, significant cytotoxic effects were observed in Caco-2 cells. Increasing titanium nanoparticle concentration from 10 to 100 µg/mL showed significant cytotoxic effects in Caco-2 cells compared to control (untreated) cells. The IC_{50} value was obtained at the concentration (50 µg/mL).

Conclusion: Overall, the present study shows that TiO_2 can have a toxic effect on Caco-2 cells and be effective in development of anticancer drugs.

Keywords: Titanium oxide Nanoparticles, Caco-2 cell line, Cytotoxic effects, Survival percentage.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]

Corresponding author:
Department of Microbiology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran
Email:
faezi_m@yahoo.com

بررسی اثرات سمیت سلولی نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) بر روی رده سلولی Caco-2 سرطان روده

محمد فائزی قاسمی*، علی دشمیر

گروه میکروبیولوژی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از ترکیبات نانو به‌عنوان کاندید دراثربخشی علیه سلول‌های سرطانی مطرح‌شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سمیت سلولی نانو ذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) بر روی رده سلولی سرطان روده (Caco-2) است.

مواد و روش‌ها: ویال حاوی سلول Caco-2 در محیط کشت سلولی RPMI 1640 کشت داده شد. جهت ارزیابی اثرات سمی، نانو ذرات اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۱ ، ۵ ،۱۰، ۲۵ ،۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به ازای میلی‌لیتر در فواصل زمانی ۲۴, ۴۸ و ۷۲ ساعت برروی رده سلولی سرطان روده بررسی و میزان سمیت به روش MTT اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که درصد زنده ماندن سلول‌های Caco-2 در غلظت‌های مورد استفاده به ترتیب ۹۶/۱۴، ۹۰/۴۱، ۶۹/۴۴، ۵۹/۴۴ ، ۳۷/۸۰ و۳۳/۵۱ در صد می‌باشد. نانو ذرات اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۱ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر قابل‌توجهی بر تکثیر سلول‌های Caco-2 ندارد. با افزایش غلظت نانوذرات تیتانیوم از ۱۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثرات سمیت سلولی قابل‌توجهی در سلول‌های Caco-2 نسبت به سلول‌های کنترل (تیمارنشده) مشاهده شد. میزان IC_{50} ۵۰ میکروگرم به ازای میلی تر بدست آمد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نانوذرات TiO_2 می‌توانند اثر سمی بر روی سلول‌های Caco-2 داشته باشند و در توسعه داروهای ضد سرطان موثر باشند.

واژگان کلیدی: نانو ذرات اکسید تیتانیوم، رده سلول Caco-2، اثرات سمیت سلولی، درصد زنده ماندن.

مقدمه

فناوری نانو، توانمندی در تولید مواد، ابزارها و دستگاه‌های جدید برای در دست گرفتن کنترل در سطوح مولکولی و اتمی، با استفاده از خواصی که در آن سطوح ظاهر می‌شوند فراهم می‌نماید (۱). همچنین توسعه ساختارهای مبتنی بر نانو که دارای خواص ضد سرطانی هستند در پیشگیری و کاهش بروز سرطان مؤثر است (۲, ۳). نانو ذرات اکسید تیتانیوم یکی از ذرات معدنی پرکاربرد هست که به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی مناسب مورد توجه صنعت قرارگرفته است. ازجمله خواص ویژه نانو ذرات TiO_2می‌توان به پایداری شیمیایی بالا، ثابت دی‌الکتریک پایین، فعالیت کاتالیزوری بالا، جذب نور فروسرخ و فرابنفش و از همه مهم‌تر خاصیت ضد باکتری اشاره کرد. تحقیقات نشان می‌دهد در میان نانو ذرات معدنی، نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) در بسیاری از صنایع از جمله نساجی، پلاستیک، صنایع آرایشی و بهداشتی و بسته‌بندی مواد غذایی کاربرد دارد (۴).

اکسید تیتانیوم با اندازه کوچک‌تر از ۲۰ نانومتر می‌تواند به درم و سلول‌های فیبروبلاست نفوذ کرده و سبب مرگ سلول شود. به‌طورکلی این نانو ذرات به دلیل اندازه بسیار کوچک به‌راحتی طی فرآیند ماکروپینوسیتوز از سلول پوستی عبور می‌کنند و پس از عبور در سیتوپلاسم سلولی با پروتئین‌های سلولی کمپلکس تشکیل می‌دهند و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را تولید می‌کنند که به هسته سلول حمله کرده و در نتیجه با کمک پروتئین P38 گروه فسفر به پروتئین P53 انتقال یافته و فعال می‌شود. پروتئین‌های P53 فعال‌شده، میتوکندری سلول را تحت تأثیر قرار داده و باعث مرگ سلول می‌شوند (۵). در زیست پزشکی مشخص شده که نانو ذرات سنتز شده دارای فعالیت ضد میکروبی قابل‌توجهی روی باکتری‌های مختلف به ویژه برروی باکتری‌های گرم مثبت دارند (مقدار MIC بین ۸

نویسنده مسئول:
گروه میکروبیولوژی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
پست الکترونیکی: faezi_m@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]

تا ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر). نانو ذرات TiO_2 به دلیل پایداری شیمیایی زیاد توجه محققان را به خود جلب کرده‌اند (۶). مکانیسم اصلی فعالیت ضد باکتریایی نانو ذرات TiO_2 احتمالاً با تولید گونه‌های فعال همراه است که منجر به تخریب میکروارگانیسم‌ها از طریق فرآیندهای اکسیداسیون می‌شود (۶). پیجوت-رمی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که اثر ضد باکتریایی نانوذرات TiO_2 از طریق آسیب مکانیکی سلول باکتری با آسیب رساندن به غشای خارجی باکتری می‌باشد (۷). امروزه مشخص شده که نانو ذرات TiO_2 طیف وسیعی از فعالیت ضد میکروبی برعلیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، مخمرها، قارچ‌ها (رشته‌ای و تک‌سلولی)، تک‌یاخته‌ها، جلبک‌ها و ویروس‌ها دارند.

سرطان کولورکتال سومین نوع معمول سرطان در دنیا بوده و یکی از عوامل اصلی مرگ در نتیجه سرطان محسوب می‌شود. عمل جراحی روش درمانی اصلی است، اما عمدتاً بیماری در مراحل پیشرفته خود تشخیص داده می‌شود و گاهی اوقات متاستاز نیز روی می‌دهد. در نتیجه، درمان با نئوادجوانت نیاز است. بطور معمول مقاومت به دارو و وجود بیماری‌های همراه نیز در این روند تأثیرگذار هستند. در طول توسعه آدنوکارسینوما کولورکتال سلول‌های اپیتلیال در روده دچار موتاسیون‌های ژنتیک و اپی ژنتیک در انکوژن‌ها یا ژن‌های مهار کننده توموری می‌شوند و در نتیجه آن روند سرطان و متاستاز آن اتفاق می‌افتد (۸). رده سلولی Caco-2 ازسلول‌های کارسینوم کولون مشتق شده است و از مهمترین خواص آن توانایی آن در متمایز شدن به طور خود به خود به تک لایه‌ای از سلول‌ها با خواص معمولی آنتروسیت‌های جذبی با لایه مرزی برسی است (۹). در سال‌های اخیر تمایل به استفاده از نانوذرات (NPs) با خاصیت درمانی و ضد سرطانی افزایش یافته است. دراین مطالعه، به بررسی اثرات سمیت سلولی نانوذره TiO_2 بر روی رده سلولی سرطان کولون Caco-2 پرداخته شد. با توجه به بررسی‌های انجام شده اطلاعات زیادی در زمینه اثرات سمیت نانوذرات اکسید تیتانیوم بر روی این سلول سرطان کولون Caco-2 وجود ندارد لذا این تحقیق دارای اهمیت است.

مواد و روش‌ها

نانو ذره اکسید تیتانیوم فاز روتایل از شرکت نانو فناوران پیشرو کاسپین مشهد در دانشگاه فردوسی مشهد خریداری گردید. تصاویر نانوذرات اکسید تیتانیوم و آنالیز طیف پراش اشعه ایکس (XRD) توسط آزمایشگاه کانی شناسی مرکز پژوهش متالورژی رازی واقع در کرج انجام پذیرفت.

تهیه، نگهداری و کشت سلول‌ها

ویال حاوی سلول‌های Caco-2 از بانک سلولی ایران واقع در انستیتو پاستور ایران با کد C139 خریداری گردید. برای کشت سلولی، ویال لیوفیلیزه سلول Caco-2 در محیط کشت سلولی RPMI 1640 (شرکت Sigma آمریکا) کشت داده شد. جهت پاساژ سلولی محیط کشت فلاسک مورد نظر به کمک اسپیراتور خالی شد. سلول‌ها با PBS در دمای ۳۷ درجه سلسیوس ۳ مرتبه جهت حذف مقادیر جزئی باقیمانده سرم موجود در محیط کشت که می‌تواند مانع تاثیر مناسب تریپسین بر سلول‌ها شود، شسته شدند. سپس بافر خارج و ۲تا۱ میلی‌لیتر تریپسین در غلظت ۰/۲۵ درصد به مدت ۲ دقیقه طوری که تمام سطح لایه سلولی را بپوشاند، به سلول‌ها اضافه و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا سلول‌ها از یکدیگر جدا شوند. زمانی که سلول‌ها از ظرف کشت جدا شدند، ۳-۶ میلی لیتر محیط کشت دارای FBS جهت جلوگیری از اثرات مخرب تریپسین و نیز خنثی‌کردن محیط، به سلول‌ها اضافه شد. در این وضعیت سلول‌ها شناور بوده و در زیر میکروسکوپ نوری به صورت منفرد و گرد مشاهده شدند. محتویات فلاسک بعد از چندین بار پی‌پت کردن به صورت تک سلولی در می‌آیند. پس از آن سوسپانسیون سلولی به لوله سانتریفوژ (لوله فالکن) منتقل و ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰rpm سانتریفوژ شد و رسوب سلولی جهت نگهداری فریز شدند (۹). جهت فریز کردن سلول‌ها، بعد از تریپسینه‌کردن آن‌ها و تهیه سوسپانسیون سلولی، سلول‌های ته نشین شده بر اثر سانتریفوژ شمارش‌شده و ۹۰۰ میکرولیتر از محیط فریز شامل سرم جنین گاو (FBS) و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به سلول‌ها اضافه تارقت ۱۰ درصد بدست آید. سپس سوسپانسیون سلولی سریع به کرایوتیوب منتقل شد. کرایوتیوب‌ها ۲۴ ساعت در۸۰- درجه سلسیوس و سپس جهت نگهداری برای مدت طولانی‌تر به تانک ازت منتقل شدند. آماده‌سازی کشت سلول‌ها در فلاسک‌های ۹۶ خانه‌ای طبق روش‌های استاندارد انجام پذیرفت.

بررسی اثرات سمی نانوذرات اکسید تیتانیوم برروی سلول های Caco-2 به روش MTT

MTT یک نمک تترازولیوم زرد رنگ است توسط آنزیم دهیدروژناز موجود در میتوکندری فعال سلول‌های زنده، احیاء شده و به ترکیب بنفش رنگ فورمازان که کریستالی و نامحلول می‌باشد، تبدیل می‌گردد. سلول‌ها در چاهک‌های پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای، به تعداد $۱۰^۴$× ۵-۲ سلول از ردهٔ سلولی Caco-2 به ازای هر چاهک در ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت، کشت داده شدند و برای چسبندگی مطلوب به مدت یک شبانه روز انکوبه شدند (۱۰). پس از حذف محیط کشت، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت تازه به سلول‌ها اضافه شده و انکوباسیون در حضور ۵ درصد CO_2 و ۳۷ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ تا

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]

۷۲ ساعت انجام گرفت. جهت ارزیابی اثرات سمی نانوذرات اکسید تیتانیوم غلظت‌های ۱ ، ۵ ،۱۰، ۲۵ ،۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر این نانوذره بر روی سلول‌های Caco-2 در آزمایش MTT مورد استفاده قرار گرفت.

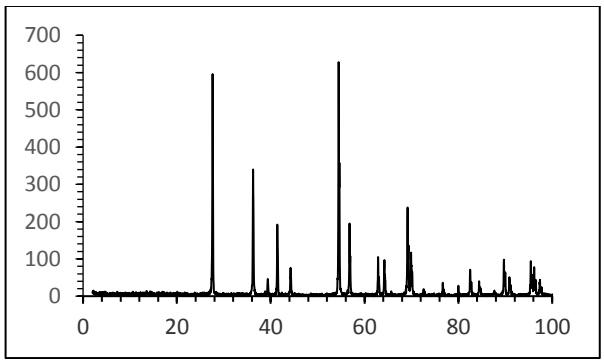
غلظت‌های ذکر شده نانوذرات اکسید تیتانیوم به چاهک‌ها اضافه و انکوباسیون در حضور ۵ درصد CO_2 و ۳۷ درجه سلسیوس در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام گرفت. در پایان انکوباسیون، مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ میلی گرم به ازای میلی لیتر در بافر بی‌رنگ PBS) به چاهک‌ها اضافه شد و پس از ۴-۳ ساعت انکوباسیون، محتوای چاهک‌ها (محیط کشت) تخلیه شد. سپس در این مرحله، ۱۰۰DMSO میکرولیتر به عنوان حلال کریستال‌های بنفش رنگ فورمازان که در سیتوپلاسم سلول‌ها ایجاد شده‌اند، به هر چاهک افزوده شد. پلیت به مدت ۶ دقیقه با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه روی شیکر قرار گرفت تا کریستال‌های فورمازان تشکیل شده، کاملاً درون DMSO حل شوند. سپس شدت رنگ‌ها، توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰nm خوانده شد. بعد از محاسبات مربوطه، IC_{50} نمونه‌ها برای زمان مورد نظر تعیین شد. از محیط کشت فاقد سلول، به عنوان بلانک دستگاه الایزا ریدر و از محیط کشت به‌همراه سلول و بدون نانوذرات اکسید تیتانیوم به عنوان کنترل سلول زنده استفاده شد. لذا سه چاهک شامل سلول و محیط کشت کامل، به عنوان کنترل در نظر گرفته شد (۱۱).

رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین

رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین به منظور مشاهده تغییرات بوجود آمده در ساختار سلول‌های Caco-2 تحت تیمار قرا گرفته و تحت تیمار قرار نگرفته با نانوذرات اکسید تیتانیوم انجام پذیرفت.

نتایج

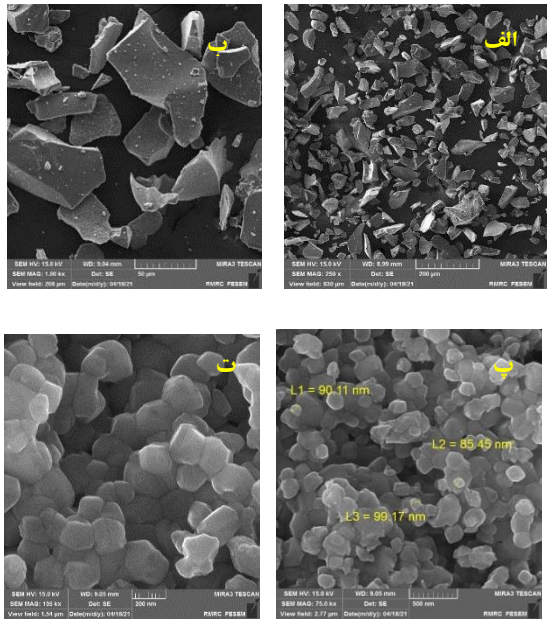
اندازه بلورهای نانوذرات اکسید تیتانیوم بر اساس نتایج حاصل از XRD که در شکل ۱ نشان داده شده است و به کمک فرمول شرر محاسبه شد.



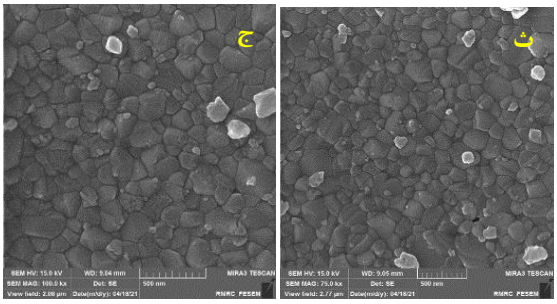
شکل ۱- آنالیز XRD نانوذرات اکسید تیتانیوم

با توجه به شکل ۱، الگوهای پیک پراش پرتو ایکس نانوذرات اکسید تیتانیوم ، همانطور که در شکل دیده می‌شود، پیک‌های پراش در زاویه دوتا (θ ۲) از ۲۹,۱۱ درجه ، ۳۴,۱۳ درجه ، ۴۱,۷۵ درجه ، ۴۷ ، ۵۳ درجه ، ۵۶. ۳۹ درجه ، ۶۳,۲۱ درجه ، ۶۹/۱۳ درجه، مربوط به ساختار شش ضلعی اکسید تیتانیوم سنتز شده است. در واقع دو پیک پراش ۹۰ و ۱۰۰ مربوط به ساختار نانوذرات اکسید تیتانیوم، غالب هستند. پیک‌های شارپ مشاهده شده، نشان دهندهٔ ساختار بلوری خوب نمونه است. همچنین با توجه به الگوی پراش اشعه X نمونه با الگوی اصلی XRD نانو ذره اکسید تیتانیوم، منطبق می‌باشد. اندازهٔ کریستال ها توسط فرمول شرر nm ۸۰ محاسبه گردید که با نتایج میکروسکوپ الکترونی نیز همخوانی دارد.

برای توضیح بیشتر نانو ذره اکسید تیتانیوم مطالعه توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی انتشار میدانی FE-SEM انجام پذیرفت. همانطور که در شکل ۲ (الف تا ج) مشاهده می‌شود توزیع اندازه نانوذرات با قطر متوسط ۸۵ تا ۱۰۰ نانومتر با نتایج XRD همخوانی دارد.

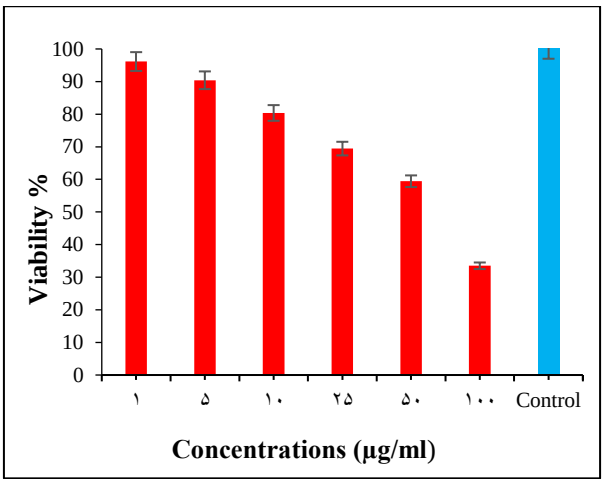


[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]



شکل ۲- تصاویرمیکروسکوپ الکترونی روبشی انتشار میدانی نانو ذرات اکسید تیتانیوم سنتز شده، الف و ب- با بزرگ نمایی ۲۰۰ و ۵۰ میکرومتر ، پ و ت – با بزرگ نمایی ۵۰۰ و ۲۰۰ میکرومتر ، ث و ج – بابزرگ نمایی ۵۰۰ نانومتر

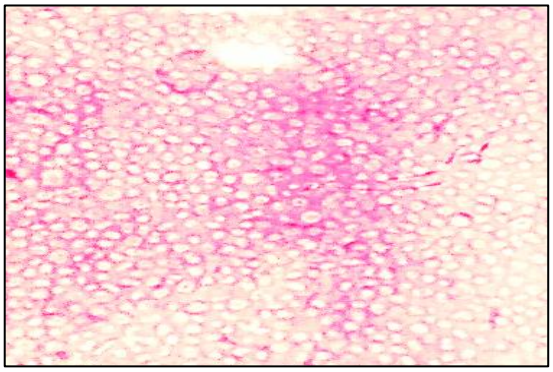
همان‌طورکه در شکل ۳ نشان داده شده نانو ذرات اکسید تیتانیوم باعث کاهش حیات سلولی به صورت وابسته به دوز در سلول‌های Caco-2 می‌شوند. در واقع بعد از انجام دوره انکوباسیون سلول‌های Caco-2 با غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید تیتانیوم با نسبت های ۱۰۰-۱ میکرولیتر، میزان زنده ماندن سلول‌ها محاسبه شد. درصد زنده ماندن سلول‌های Caco- در غلظت‌های ۱ ، ۵ ، ۱۰، ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر به ترتیب ۹۶/۱۴، ۸۰/۴۱، ۳۷/۹۰، ۶۹/۴۴ ، ۵۹/۴۴ ٪ و ۳۳/۵۱ درصد محاسبه شد (شکل۴). نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید تیتانیوم با غلظت‌های کمتر از ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تأثیر قابل توجهی بر زنده ماندن سلول‌های Caco-2 ایجاد نکردند. با این حال، با افزایش غلظت نانوذرات تیتانیوم از ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برخی از اثرات سمیت سلولی قابل توجه در برابر سلول‌های Caco-2 مشاهده شد. براساس نتایج مشخص گردید که نانوذرات اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۱ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر قابل‌توجهی بر سلول‌های Caco-2 ندارند. از غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید تیتانیوم افزایش معنی‌داری در اثرات سمیت سلولی بین نمونه کنترل و نمونه‌های تیمار شده دیده می‌شود. در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث مرگ بیش از ۵۰٪ سلول ها (IC_{50}) شدند و می‌توان عنوان کرد که نانوذره فوق منجر به مرگ سلول‌های Caco-2 در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می شود. نتایج الگوی سمیت در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مشابه بود.



شکل ۳- درصد زنده مانی سلول های Caco2 در حضور غلظت های مختلف نانو ذرات اکسید تیتانیوم

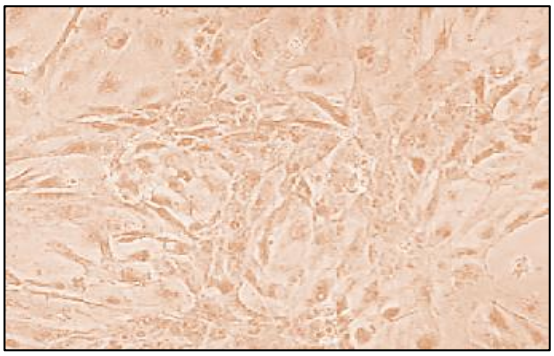
نتایج بررسی تغییرات سیتوپلاسمی سلول‌های سرطانی بعد از انجام تست MTT

نتیجهٔ رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین سلول های Caco-2 در اشکال ۴ و ۵ نشان داده شده است. شکل ۴ رنگ آمیزی سلول‌ها بدون تیمار نانوذرات را نشان می‌دهد و شکل ۵ مربوط به سلول‌هایی می باشد که به منظور انجام تست MTT تحت تأثیر نانوذرات اکسید تیتانیوم قرار گرفته‌اند. شکل۵ نشان می‌دهد که سلول‌ها در نتیجه اثر نانوذرات اکسید تیتانیوم درحال تغییر شکل هستند و به شکل کشیده در آمده‌اند. علاوه بر آن در این سلول‌ها هسته به صورت چند قطعه جدا از هم دیده می‌شود و توانایی رنگ پذیری را از دست داده اند. در حالیکه در شکل ۴ تغییرات سیتوپلاسمی پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین مشاهده نشده و هسته‌ها سالم و رنگ پذیر می‌باشند.



شکل ۴- رنگ آمیزی سلول‌های Caco- 2 در محیط کشت سلولی (کنترل)، بدون اثر نانوذرات اکسید تیتانیوم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]



شکل ۵- رنگ آمیزی سلول‌های Caco -2 تحت تیمار نانوذرات اکسید تیتانیوم و دارای چروکیدگی و نکروز در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر به ازای میلی لیتر

بحث

نانوذرات به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد مانند اندازه، شکل و بار، کاربردهای زیست پزشکی زیادی دارند. با این حال، مسیرهای سیگنالینگ که از طریق آن‌ها نانوذرات می‌توانند اثرات سمی تولید کنند، باید بهتر درک شوند. مطالعات اخیر نشان داده است که التهاب، نکروز، ROS و آپوپتوز از عوامل اصلی واسطه در مکانیسم سمیت نانوذرات هستند. این نتایج ممکن است مانعی در استفاده از نانوذرات در تشخیص و در درمان بیماری‌ها ایجاد کند. در این مطالعه، با استفاده از روش رنگ سنجی MTT نشان داده شد که نانوذرات TiO_2 دارای اثر کشندگی وابسته به غلظت در سلول‌های سرطانی Caco-2می‌باشند. علاوه براین، در این تحقیق مشخص شد که نانوذرات TiO_2 موجب شروع فرآیند آپوپتوز در سلول‌های سرطانی Caco-2 می‌شوند. امروزه جستجوی عوامل ضد سرطان با ضریب اطمینان بالاتر و قابل پذیرش برای بیماران دارای اهمیت است. علاوه بر این نانوذرات می‌توانند در ترکیب با سایر مواد یا به همراه اشعه‌ها به شکل توام برای درمان ضد سرطانی استفاده شوند. با پیداش علم نانو تکنولوژی و استفاده از نانوذرات سیستم‌های انتقال دارو توسعه یافته است و به عنوان حاملین موثر در مرکز توجه می‌باشد. در این تحقیق نانوذرات اکسید تیتانیوم در غلظت ۱۰۰ میکروگرم به ازای میلی‌لیتر دارای اثرات سمی و معنی‌داری بر روی سلول‌های سرطانی Caco-2 داشت. یکی از دلایلی که نانوذرات اکسید تیتانیوم اثرات قابل ملاحظه‌ای بر روی سلول‌های سرطانی Caco-2 دارند، اثر مستقیم آن‌ها بر روی سیستم تنفسی در میتوکندری است. با توجه به فعالیت بالای میتوکندری در فرآیند تنفس سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی ، این سلول‌ها بستر مناسبی برای اثرات تخریبی برای این سلول‌ها به حساب می‌آیند. Gandamalla و همکاران (۲۰۱۹) سمیت سلولی وابسته به دوز و اندازه نانوذرات تیتانیوم را بر روی سلول‌های اپی‌تلیال ریه و روده بزرگ انسان آزمایش کردند. آن‌ها نشان دادند که نانوذرات تیتانیوم با قطرهای ۱۸، ۳۰ و ۸۷ نانومتر با محدوده دوز ۰/۱ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، مقادیر IC_{50} ۲۱/۸۰و ۲۴/۸۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را نشان دادند (۱۲). نتیجه این تحقیق نشان داد که رابطه بین اندازه نانوذرات اکسید تیتانیوم و فعالیت ضد سرطانی معکوس است. DeLoid و همکاران (۲۰۱۷) همبستگی بین سمیت نانوذرات و خواص فیزیکوشیمیایی آن‌ها را نشان دادند (۱۰, ۱۳). شیدایی و همکاران (۱۳۹۷) اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم را با غلظت‌های مختلف بر روی، میزان پارامترهای خونی و سرمی نشان دادند که دی اکسید تیتانیوم اثرات مضری در پارامترهای خونی و سرمی بصورت وابسته به دوز دارد (۱۴). شکرالهی و همکاران (۱۳۹۷) اثرات نانوذرات اکسید تیتانیوم را بر روی رده سلول‌های سرطانی HT29 بررسی کردند.

غلظت‌های مختلف این نانو ذرات بر روی این سلول‌های سرطانی نشان دادند که در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به ازای میلی‌لیتر بیشترین مهار تکثیر سلولی را داشتند، که از لحاظ آماری معنی دار بوده است (۱۵). Garcia-Contreras و همکاران، اثرات سمی نانوذرات اکسید تیتانیوم را برروی رده سلولی کارسینومای سلول‌های دهانی با روش MTT مطالعه کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۰/۲ تا ۳/۲ میلی مولار فاقد فعالیت سمیت سلولی معنی دار می‌باشند (۱۶). اما در غلظت‌های بالاتر اثرات سمیت سلولی قابل توجه دارند. Chellappa و همکاران اثرات سمی نانو ذرات اکسید تیتانیوم را بر روی رده سلولی MG63 بررسی کردند. نتایج تحقیق نشان داد که سمیت سلولی نانوذره اکسید تیتانیوم وابسته به دوز و زمان است. این محققین پیشنهاد دادند که این نانوذره می تواند کاربرد بیومدیکال داشته باشد (۱۷). نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر با نتایج بدست آمده از سایر تحقیقات همخوانی دارد.

جذب ساختارهای کریستالی نانوذرات اکسید تیتانیوم توسط سلول‌های Caco-2 در مطالعه Gitrowski و همکاران بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که تک لایه سلول‌های Caco-2 قابلیت جذب تیتانیوم از اکسید تیتانیوم را براساس الگوی وابسته به زمان داشته و نوع ساختار کریستال آن روی این جذب تاثیر دارد. همچنین قدرت زنده ماندن بطور مناسب بود و مرفولوژی سلول‌ها مناسب و تغییرات جزئی در محتویات الکترولیت‌ها (K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}) در مقایسه با سلول‌های کنترل دیده شد (۱۸). Gerloff و همکاران سمیت دو فاز مخلوط روتایل و آناتاز نانوذرات اکسید تیتانیوم را روی سلول‌های Caco-2 بررسی کردند. نتایج بررسی این محققین سمیت سلولی، ایجاد تنش اکسیداتیو و آسیب به DNA سلولی در این رده سلولی نشان داد. در مجموع اثرات سمی مشاهده شده توسط دو فاز باهم بسیار بیشتر نسبت به هرکدام از فازها به تنهایی بود (۱۹). Tada-Oikawa و همکاران در سال ۲۰۱۶

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]

اثرات پنج ساختار مختلف اکسید تیتانیوم را روی سلول‌های Caco-2 و TPH-1مونوسیت مشتق شده از ماکروفاژها را بررسی کردند. سلول‌های تحت معرض قرار گرفته در برابر فازهای آناتاز و روتایل کاهش زنده ماندن وابسته به دوز را نشان دادند. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در هر دو نوع سلول متعاقب قرار گرفتن در برابر هر نوع فاز اکسید تیتانیوم اتفاق افتاد. هچنین فاز آناتاز اکسید تیتانیوم نسبت به سایر فازها موجب تشکیل پاسخ‌های التهابی در سلول می‌شود (۲۰).

اثرات سمی نانوذرات اکسید تیتانیوم روی کشت‌های مجتمع Caco-2 و HT29-MTX توسط دوریر و همکاران روده مورد بررسی قرار گرفت. بررسی این محققین نیز نشان داد که تحت معرض قرار گرفتن سلول‌ها در برابر اکسید تیتانیوم موجب افزایش در سطح گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. اما در قدرت زنده ماندن سلول‌ها تاثیری نداشته و به مولکول DNA آسیبی نمی‌زند. فقط تغییرات کوچکی در بیان میزان mRNA مشاهده گردید (۲۱).

در این مطالعه همانطور که در بالا ذکر گردید، نانوذرات اکسید تیتانیوم در غلظت ۱۰۰ میکروگرم به ازای میلی‌لیتر اثرات سمی معنی داری بر روی سلول‌های Caco-2 داشت و این اثرات می تواند مطابق با مطالعات گذشته در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن یا آسیب به مولکول DNA باشد.

دوز نانوذرات به همراه تجمع، توزیع، متابولیسم و دفع آن‌ها یک عامل مهم در مشخصات سم شناسی آن‌ها است. در راستای این امر، نانوذرات تزریقی داخل وریدی دارای سمیت بالاتری نسبت به موارد تجویز شده بر روی پوست هستند. با توجه به نتایج مطالعات مختلف، باید پروتکل‌هایی وجود داشته باشد که نشان دهد کدام دوزها و چه ساختارهای نانوذرات سمی‌تر هستند. مطالعه سمیت نانوذرات در کاربردهای مختلف، به ویژه برنامه های کاربردی زیست پزشکی مانند تحویل دارو، امنیت زیستی و سمیت نانوذره بسیار مهم است.

در نتیجه، نیاز به ایجاد پروتکل‌هایی خاص برای شناسایی ذرات واقعی با محیط اطراف آن و ترکیب نانوذرات وجود دارد که آن‌ها را سمی می‌کند. امید است که افزایش دانش ما در مورد نانوذرات منجر به طراحی ایمن‌تر آن‌ها با کاهش سمیت شود تا بتوان از نانوذرات برای درمان بیماری‌های مختلف و تحویل دارو استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نانوذرات TiO_2 می‌توانند اثر سمی بر روی سلول‌های Caco-2 داشته باشند و در توسعه داروهای ضد سرطان موثر باشند.

ملاحظات اخلاقی

ندارد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند هیچگونه تعارض منافعی ندارند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از حوزه معاونت پژوهش وفناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان کمال تشکر را دارند.

سهم نویسندگان

ایده، طرح، آنالیز داده‌ها و تنظیم و نگارش مقاله توسط نویسنده مسئول انجام گرفت. کلیه مراحل آزمایشگاهی این تحقیق توسط نویسنده دوم انجام شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]

منابع

1.Andreta E, editor Nanosciences and nanotechnologies: what future for research. Future Conference and Expo, Chiba-shi, Chiba, Tokyo, Japan; 2003.
2.Ansari MA, Badrealam KF, Alam A, Tufail S, Khalique G, Equbal MJ, et al. Recent nano-based therapeutic intervention of bioactive sesquiterpenes: prospects in cancer therapeutics. Current Pharmaceutical Design. 2020; 26(11):1138-44.
3.Khan S, Sharifi M, Bloukh SH, Edis Z, Siddique R, Falahati M. In vivo guiding inorganic nanozymes for biosensing and therapeutic potential in cancer, inflammation and microbial infections. Talanta. 2021; 224:121805.
4.Nadeem M, Tungmunnithum D, Hano C, Abbasi BH, Hashmi SS, Ahmad W, et al. The current trends in the green syntheses of titanium oxide nanoparticles and their applications. Green chemistry letters and reviews. 2018; 11(4):492-502.
5.Gebreslassie YT, Gebretnsae HG. Green and cost-effective synthesis of tin oxide nanoparticles: a review on the synthesis methodologies, mechanism of formation, and their potential applications. Nanoscale research letters. 2021; 16(1):97.
6.Stanić V, Tanasković SB. Antibacterial activity of metal oxid nanoparticles. Nontoxicity: Elsevier; 2020. p. 241-74.
7.Pigeot-Rémy S, Simonet F, Errazuriz-Cerda E, Lazzaroni J, Atlan D, Guillard C. Photocatalysis and disinfection of water: identification of potential bacterial targets. Applied Catalysis B: Environmental. 2011;104(3-4):390-8.
8. De Rosa M, Pace U, Rega D, Costabile V, Duraturo F. et al. Genetics, diagnosis and management of colorectal cancer. Oncology Reports. 2015: 34-1087-1096.
9.Lea T. Caco-2 cell line. The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models. 2015:103-11.
10.Li Q, Li T, Liu C, DeLoid G, Pyrgiotakis G, Demokritou P, et al. Potential impact of inorganic nanoparticles on macronutrient digestion: titanium dioxide nanoparticles slightly reduce lipid digestion under simulated gastrointestinal conditions. Nanotoxicology. 2017;11(9-10):1087-101.
11.Wahab R, Dwivedi S, Khan F, Mishra YK, Hwang I, Shin H-S, et al. Statistical analysis of gold nanoparticle-induced oxidative stress and apoptosis in myoblast (C2C12) cells. Colloids and surfaces B: Biointerfaces. 2014; 123:664-72.
12.Gandamalla D, Lingabathula H, Yellu N. Nano titanium exposure induces dose-and size-dependent cytotoxicity on human epithelial lung and colon cells. Drug and Chemical Toxicology. 2019;42(1):24-34.
13.DeLoid GM, Cohen JM, Pyrgiotakis G, Demokritou P. Preparation, characterization, and in vitro dosimetry of dispersed, engineered nanomaterials. Nature protocols. 2017;12(2):355-71.
14.Sheidaei P BA, Arbabi S, Investigating the toxic effects of titanium dioxide nanoparticles on blood and serum parameters of laboratory white rats. Journal of animal Research is the Iranian Journal of Biology. 2018;31(4):472-82.
15.Shokrollahi F AA, Mirzaei E, Mirzaei A. Investigating the cytotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles (TiO2) on colon cancer cell line (HT29) and analyzing the expression of apoptotic genes caspase 3 and 9 using Real Time PCR and flow cytometry methods. Iranian South Medical Journal. 2018;21(6):438-26.
16.Garcia-Contreras R, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, Ando Y, Kanda Y, Hibino Y, et al. Effects of TiO2 nanoparticles on cytotoxic action of chemotherapeutic drugs against a human oral squamous cell carcinoma cell line. in vivo. 2014;28(2):209-15.
17.Chellappa M, Anjaneyulu U, Manivasagam G, Vijayalakshmi U. Preparation and evaluation of the cytotoxic nature of TiO2 nanoparticles by direct contact method. International journal of nanomedicine. 2015;10(sup2):31-41.
18. Gitrowski, C., Al-Jubory, A.R. and Handy, R.D. Uptake of different crystal structures of TiO_2 nanoparticles by Caco-2 intestinal cells. Toxicology letters 2014; 226(3):264-276.
19. Gerloff K, Fenoglio I, Carella E, Kolling J, Albrecht C, Boots AW, Förster I, Schins RP. Distinctive toxicity of TiO_2 rutile/anatase mixed phase nanoparticles on Caco-2 cells. Chemical research in toxicology. 2012;25(3):646-55.
20. Tada-Oikawa S, Ichihara G, Fukatsu H, Shimanuki Y, Tanaka N, Watanabe E, Suzuki Y, Murakami M, Izuoka K, Chang J, Wu W. Titanium dioxide particle type and concentration influence the inflammatory response in Caco-2 cells. International journal of molecular sciences. 2016;17(4):576.
21. Dorier M, Tisseyre C, Dussert F, Béal D, Arnal ME, Douki T, Valdiglesias V, Laffon B, Fraga S, Brandao F, Herlin-Boime N. Toxicological impact of acute exposure to E171 food additive and TiO_2 nanoparticles on a co-culture of Caco-2 and HT29-MTX intestinal cells. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2019 Sep 1; 845:402

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-08-11]