

بررسی خصوصیات ضد التهابی نانو ذرات نقره سنتز شده به روش سبز توسط گیاه تاج خروس بر روی سلول های سرطانی کبد

صفورا دهقان^۱، علی نعمتی^{۲*}، پوران اردلان^۳

۱- کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۲- دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۳- استاد یار شیمی فیزیک، گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

یافته / دوره بیست و یکم / شماره ۲ / تابستان ۹۸ / مسلسل ۸۰

چکیده

دریافت مقاله: ۹۸/۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۹۸/۴/۱

مقدمه: یکی از جنبه های مهم در نانو فناوری تولید نانو مواد با اندازه، خصوصیات شیمیایی و ابعاد قابل کنترل در زیست شناسی است. بنابراین می توان گفت که هدف از نانو فناوری کنترل تک تک اتم ها و مولکول ها می باشد. امروزه مشخص شده است که نانو ذرات قادر به از بین بردن سلول های سرطانی بدون اثرات جانبی در سلول های طبیعی هستند. سرطان سلول های کبدی پنجمین سرطان رایج در جهان و سومین عامل مرگ و میر سرطان در دنیا محسوب می شود. هدف از پژوهش حاضر بررسی خصوصیات ضد التهابی نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز توسط گیاه تاج خروس بر روی سلول های سرطانی کبد Hep G2 است.

مواد و روش ها: مطالعات انجام گرفته در پژوهش حاضر شامل آزمایشات *In vitro* بود. اثر ضد التهابی نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از گیاه تاج خروس با تکنیک Real-time PCR و سنجش بیان ژن های IL-1b و IL-10 در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر ارزیابی گردید.

یافته ها: یافته های به دست آمده از بیان ژن نشان داد که نانو ذرات نقره تولید شده با استفاده از گیاه تاج خروس اثر ضد التهابی خود را با کاهش بیان ژن پیش برنده التهاب IL-1b در سطح معنی داری $P < 0.001$ و افزایش بیان ژن ضد التهابی IL-10 در سطح معنی داری $P < 0.001$ اعمال می کند.

بحث و نتیجه گیری: براساس نتایج این تحقیق نانو ذرات نقره سنتز شده از گیاه تاج خروس دارای خصوصیات ضد التهابی بوده و سبب کاهش بیان ژن پیش برنده التهاب IL-1b در حد معنی دار شده است. همچنین بیان ژن IL-10 به صورت معنی دار افزایش یافته است. با توجه به این ویژگی ها احتمالاً استفاده از این نانوذرات پس از مطالعات تکمیلی می تواند به عنوان داروی مکمل در درمان سرطان و دیگر کاربرد های زیست پزشکی پیشنهاد شود.

واژه های کلیدی: سرطان کبد، نانوذرات نقره، اثر ضد التهابی، گیاه تاج خروس.

*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی.

پست الکترونیک: neamati.ali@gmail.com

مقدمه

سرطان یک بیماری ژنتیکی ناشی از انباشته شدن جهش های DNA و تغییرات شرایط پس زایشی سلول ها است که منجر به رشد سریع محصور نشده سلول ها و تشکیل نتوپلاسم می شود (۱). علم نوین نانو فناوری یکی از علوم بین رشته ای است که کمک شایانی به پیشرفت درمان سرطان نموده است بدلیل عوارض جانبی ناشی از روش های معمول درمان سرطان اخیرا استفاده از نانوذرات فلزی جهت درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است (۲،۳). سلول های سرطانی کبد با جداسدن از تومور اصلی (اولیه) در بدن منتشر می شوند (۴). اکثر این سلول ها از طریق وارد شدن به رگ های خونی منتشر می شوند ولی سلول های سرطانی کبد را می توان در غدد لنفاوی هم مشاهده کرد (۵،۶). اگر چه مصرف نانو ذرات نقره به دلیل بر خورداری از ویژگی های اختصاصی آنتی باکتریال به عنوان ماده اصلی در تولید محصولات سلامت محور در فناوری نانو در حال افزایش است، با این وجود اطلاعات سم شناسی ما در زمینه این مواد کم است (۵،۷). نانو ذرات نقره ضمن اثر گذاری بر باکتری ها، در غلظت های کمتر از ۲۰-۲۵ ppm بر سلول های انسانی بی اثر و حتی زیست سازگار هستند. غلظت و خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذرات نقره بر روی القاء سمیت سلولی و ایجاد تغییرات مورفولوژیک در سلول های تیمار شده نقش دارند (۸).

التهاب، پاسخ ایمنی در برابر آسیب های بافتی است که در آن تولید سیتوکین های پروتئینی التهابی و فعال سازی سلول ها در سیستم ایمنی در نظر گرفته می شود. همچنین التهاب یک پاسخ حفاظتی به عوامل مختلف از جمله ، آسیب های فیزیکی و شیمیایی، واکنش های ایمنی، عفونت های میکروبی، سموم، هیپوکسی و آسیب بافتی است (۹) که منجر به از بین بردن عوامل بیگانه و بازسازی ساختار بافت و عملکرد فیزیولوژیک می شود. اگر چه التهاب به عنوان یک پدیده محافظتی آغاز می شود، از

دست رفتن تنظیم این فرآیند پیچیده می تواند منجر به ایجاد اختلالات التهابی مختلف شود (۱۰). به این صورت که در صورت بروز التهاب ظرف چند ساعت ماکروفاژها شروع به خوردن بافت های آسیب دیده می کنند و گاهی همین ماکروفاژها نیز موجب بروز آسیب بیشتری در سلول های بافتی که هنوز زنده اند می گردند این روند به مرور باعث بروز سرطان های مختلف از جمله سرطان کبد می گردد. به این ترتیب اکثر اینترلوکین ها سبب کاهش ضایعات التهابی در بافت ها میشوند. همچنین اثرات مفیدی بر دفاع میزبان دارند. بطوری که سبب دفع عامل التهاب، خارج کردن و از بین بردن قطعات بافتی صدمه دیده و در نهایت ترمیم بافتی کبد می شوند به این ترتیب از بروز سرطان کبد جلوگیری می کنند (۱۱).

ترکیبات طبیعی سنتز شده از گیاهان در سنتز داروهای ضد التهابی نسل جدید با ارزش درمانی بالاتری و سمیت کمتر کمک شایانی به درمان بیماری ها کرده اند. در میان نانوذرات های مختلف نانو ذرات نقره اهمیت بیشتری را به دلیل خواص بیولوژیکی و کاربرد های بالقوه به دست آورده است (۱۲). نقره از زمان های قدیم برای درمان زخم ها و التهاب استفاده شده است. نانوذرات نقره دارای فعالیت ضد التهاب قوی هستند. از ویژگی های پاسخ التهابی می توان به افزایش نفوذ پذیری عروق، انتشار پروستاگلاندین ها، فعال شدن سلول های سفید خون، آزادسازی مواد شیمیایی از سیستم ایمنی بدن شامل سیتوکین های پیش برنده التهاب مانند: اینتر لوکین ها و فاکتور تحریک کننده گرانولوسیت اشاره کرد (۱۳).

گیاه تاج خروس از خانواده (Amaranthaceae) در مناطق گرمسیر مانند: آفریقا یافت می شود. گونه های تاج خروس از گیاهانی یکساله، علفی، تک پایه، جزء دو لپه ای ها و به ارتفاع ۱۰ تا ۱۵۰ سانتیمتر هستند. برگ های آنها تخم مرغی و رنگ اجزای گیاه سبز، سبز مایل به زرد و قرمز می باشد. این گونه دارای تولید بایومس بالایی می باشد.

اسپکتروفتومتری نانودراپ تعیین شد. سپس به دلیل ناپایداری و تک رشته بودن RNA سنتز cDNA با استفاده از کیت RNA Fermentase انجام شد و از تکنیک Real-time PCR جهت بررسی تغییرات بیان ژن های IL-10 و IL-1b به عنوان ژن های موثر در التهاب استفاده گردید. در این روش، حین انجام PCR با افزایش تعداد کپی های ژن های هدف، نور فلورسنت ناشی از سایبرگرین ساطع شده از نشانگرهای فلورسنت افزایش می یابد که توسط دتکتور اندازه گیری و محاسبه شده و به یک مقدار عددی تبدیل می شود. ژن-Glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase (GAPDH) که دارای بیان ثابت در غلظت های مختلف نانوذرات است، به عنوان ژن کنترل در نظر گرفته شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره(۱): توالی پرایمر

Gene	Forward 5→3	Reverse 5→3
GAP DH	TGCTGGTGTCTGAGTA TGTCG	GCATGTCAGATCCAC AACGG
IL-b1	GCTTATTACAGTGGC AATGA	GTGGTCGGAGATTTCG TAG
IL-10	TGGAGGACTTTAAG GGTTAC	GATGTCTGGGTCTTG GTT

آنالیز آماری

نتایج اثرات ضد التهابی در سلول های Hep G2 تیمار شده با نانوذره نقره سنتز شده به روش سبز از گیاه تاج خروس در مقایسه با سلول های تیمار نشده و بررسی وجود اختلاف معنی دار در یافته ها، از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA (one-way) استفاده گردید. بعد از آن مقایسه میانگین ها با روش LSD (least significant differences) انجام گرفت و سطح اطمینان ۰/۰۵ برای محاسبات در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این پژوهش تغییرات بیان ژن IL-1b و IL-10 در سلول های Hep G2 تیمار مورد بررسی قرار گرفت. یافته های حاصل نشان داد که بیان ژن پیش برنده التهاب IL-1b در سلول های Hep G2 تحت تیمار با

تاج خروس یکی از گیاهان زینتی، خوراکی و دارویی بسیار ارزشمند است (۱۴) به طوری که گونه (A. Spinus) در درمان بیماری های پوستی و سوختگی ها مؤثر است (۱۵) به این ترتیب از این گیاه به منظور بیان ژن بر روی سلول های سرطانی کبد مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس با توجه به افزایش مقاومت سرطان ها نسبت به درمان های رایج، تلاش دانشمندان برای کشف و شناسایی عوامل ضد سرطانی جدید که موجب افزایش میزان حساسیت سلول های سرطانی می شوند، رو به گسترش است. مقاومت سلول های سرطانی نسبت به داروهای شیمیایی منجر به کاهش سطح پاسخ این سلول ها نسبت به دارو و در نتیجه شکست اقدامات درمانی می گردد. بنابر این، تحقیق و توسعه داروهای مؤثرتر و یا با اثرات جانبی کمتر، از اهمیت زیادی برخوردار است. به همین علت استفاده از محصولات و فرآورده های طبیعی و بهینه سازی آن ها برای ساخت درمان های جدید به منظور مهار سرطان اهمیت یافته است. هدف از این تحقیق بررسی خصوصیات ضد التهابی نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز از گیاه تاج خروس بر روی سلول های سرطانی کبد می باشد.

مواد و روش‌ها

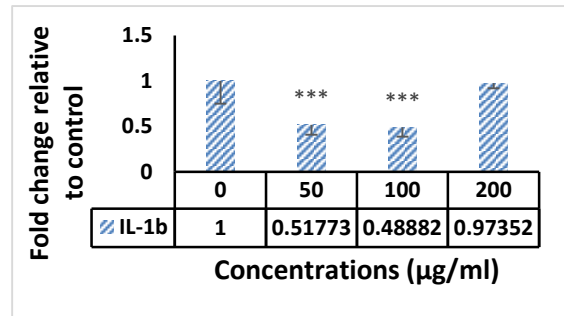
برای بررسی اثر نانو ذرات نقره بر بیان ژن های مرتبط با التهاب اینترلوکین ۱۰ و اینترلوکین 1b در رده سلولی سرطان کبد (Hep G2)، در شرایط In vitro سلول ها با غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ $\mu\text{g/ml}$ نانوذرات در ۳ فلاسک ۲۵ cm به اضافه یک فلاسک به عنوان کنترل و در محیط کشت DMEM و یک بار تکرار تیمار شدند و بعد از گذشت ۴۸ ساعت، سلول ها از کف فلاسک جدا شدند.

استخراج RNA با استفاده از کیت High pure کمپانی Roche و طبق پروتکل این شرکت انجام شده و سپس غلظت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه

فیزیکی و شیمیایی مختلف به طور گسترده ای برای سنتز نانوذرات فلزی مورد استفاده قرار می گیرد، که پژوهشگران را قادر می سازد به نانوذرات با خصوصیات مورد نظر خود دست یابند. با این حال، این روش های تولید معمولاً هزینه زیاد و همچنین به طور جدی برای محیط زیست و موجودات زنده خطرناک هستند. بنابراین، نیاز فراوان برای یک روش جایگزین مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست برای تولید نانوذرات وجود دارد (۱۶). در طول دهه های گذشته، نشان داده شده است که بسیاری از سیستم های بیولوژیکی، از جمله گیاهان و جلبک ها (۱۷)، دیاتوم ها (۱۸)، باکتری ها (۱۹)، مخمرها (۲۰)، قارچ ها (۲۱) و سلول های انسان می توانند (۲۲) یون های فلزی معدنی را از طریق ظرفیت های احیایی به نانوذرات فلزی تبدیل نمایند. امروزه، منابع بیولوژیکی سنتز نانوذرات به میزان بیشتری از روی پروتکل های بدون ضرر تبعیت می کنند و در صورتی که نانوذرات در رشته های در ارتباط با سلامت انسان استفاده شوند، حفظ محیط زیست آسپتیک در طول فرآیند بیوسنتز نانوذرات آسان است (۲۳). تولید نانوذرات با استفاده از گیاهان مزیت های مهمی نسبت به سایر سیستم های بیولوژیکی دارد که از آن میان می توان به هزینه کم درکشت، زمان تولید کوتاه، ایمنی، سازگاری با محیط زیست و در نتیجه توانایی تولید در مقیاس بالاتر اشاره نمود (۲۴). بدیهی است سنتز نانوذرات فلزی از طریق عصاره های گیاهی، با وجود محدودیت های زیاد، دارای پتانسیل قابل توجه و مزایای چشمگیری نسبت به روش های سنتی نانوذرات می باشد (۲۵)، با این حال، برای رقابت اقتصادی موثر با نانوذرات به دست آمده از طریق روش های شیمیایی و فیزیکی، باید مقیاس این روش تولید رعایت گردد (۲۶). تاکنون تنها از تولید در مقیاس های کوچک به عنوان روش رایج برای سنتز نانوذرات استفاده می شود (۲۷). در روش سبز تولید نانوذرات فلزی برخی گیاهان مورد استفاده قرار می گیرند (۲۸).

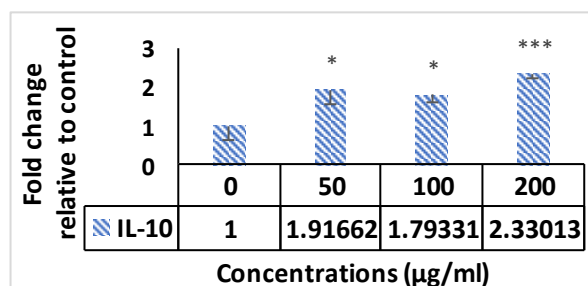
نانو ذرات نقره تولید شده از گیاه تاج خروس تا غلظت ۱۰۰ میکرومول به صورت وابسته به دوز و معنی دار کاهش یافت ($P < 0.001$)، (نمودار شماره ۱)

نمودار ۱. تغییرات بیان ژن IL-1b در سلول های HEP G₂ تیمار شده با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذرات نقره سنتز شده از گیاه *Amaranthus Cruentus*. ***معرف معنی دار در سطح $P < 0.001$ می باشد.



یافته های حاصل از تغییرات بیان ژن اینترلوکین ۱۰ در سلول های HEP G₂ تیمار شده نشان داد که بیان ژن ضد التهاب اینترلوکین ۱۰ در سلول های HEP G₂ تحت تیمار با افزایش غلظت نانوذرات به صورت معنی داری افزایش پیدا کرده است ($P < 0.05$)، (نمودار ۲).

نمودار ۲. تغییرات بیان ژن IL-10 در سلول های HEP G₂ تیمار شده با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذرات نقره سنتز شده از گیاه *Amaranthus Cruentus*. ***معرف معنی دار در سطح $P < 0.001$ و * معرف معنی دار در سطح $P < 0.05$ می باشد.



بحث و نتیجه گیری

کاربردهای گسترده نانوذرات فلزی به دلیل خواص منحصر به فرد آن ها است. در حال حاضر فرآیند های

نقره بر بهبودی سریع زخم ها وابسته به دوز صورت می گیرد. علاوه بر این، از طریق PCR کمی، ایمونوهیستوشیمی و مطالعات پروتئومیک، نشان داده شده که نانوذرات نقره از طریق خواص کاهش التهاب زخم و سیتوکین ها اثر مثبتی دارند (۳۵).

Schechter و همکارش در مطالعه ای در شرایط *in vivo* مشاهده کردند که تماس آلرژیک با درماتیت موش ها، نانوذرات نقره بیان $TNF-\alpha$ و IL-12 را سرکوب می کند و باعث آپوپتوز سلول های التهابی می شود. در این بررسی مشاهده می شود که نانوکریستال های نقره ممکن است مکانیسم های اثرات ضد التهابی را اعمال کند (۳۷).

همانطور که گفته شد در پژوهش های صورت گرفته در زمینه اثرات ضد التهابی نانوذرات نقره سنتز شده از گیاهان مختلف، این نانوذرات اثرات مهاری خوبی در رشد سلول های سرطانی داشته اند. در پژوهش حاضر اثرات ضد التهابی نانوذرات نقره تولید شده از گیاه تاج خروس مورد بررسی قرار گرفت شد که با توجه به نمودار ۱ و ۲ این نانوذرات تاثیر ضد التهابی خود را بر رده سلولی Hep G2 با کاهش بیان ژن پیش برنده التهاب IL-1b و افزایش بیان ژن مهار کننده التهاب IL-10 اعمال کرده است. مقایسه تمامی مطالعات ذکر شده با پژوهش حاضر نشان می دهد، نانوذرات نقره ی تولید شده به روش های زیستی و شیمیایی دارای اثر ضد التهابی بر علیه بسیاری از رده های سلولی می باشند.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم صفورا دهقان دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد می باشد. محققین از پرسنل گروه زیست شناسی و کارشناسان آزمایشگاه های گروه مربوطه تشکر و قدردانی می نمایند.

تحقیقات کنونی نشان دهنده توانایی نانوذرات نقره برای ایجاد پاسخ التهابی براساس القاء سیتوکین های مختلف است. پس از قرار گرفتن در معرض نانوذرات نقره، افزایش سه برابر سطح IL-6 مشاهده شد و همچنین افزایش مشابهی در سطوح IL-6 پس از اعمال نانوذرات نقره مشاهده گردید (۲۹). IL-6، تولید شده توسط سلول های مختلف از جمله فیبروبلاست ها است که در تقویت پاسخ های التهابی دخیل است. افزایش سریع سطح IL-6 در حین واکنش های التهابی حاد به علت آسیب، عفونت و استرس دیده می شود (۲۹،۳۰). این امر باعث ایجاد اثرات سیستمیک بر اندام های مختلف می شود و با بسیاری از شرایط بالینی مانند اختلالات التهابی ریه و آرتريت روماتوئید همراه است (۱۰).

Nadworny و همکاران، اثر ضد التهابی Ag-np سنتز شده به روش سبز را در درماتیت پوست (۳۱) و در لنفوسیت های انسانی (۳۲) بررسی کردند. یون نقره یک ماده ضد میکروبی فعال است؛ این یون می تواند در واکنش با تیمول (SH-) سبب تحریک تولید گونه های اکسیژن واکنشی (ROS) شود، که یکی از مهمترین کارایی آنتی باکتریال است. با توجه به مطالعات انجام شده امروزه نانوذرات نقره با توجه به نسبت سطح به حجم بالای آن ها توجه قابل ملاحظه ای به کاهش زخم، زخم زدایی و ضد التهاب دارند (۳۳،۳۴). نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که نانوذرات نقره سنتز شده، یک فعالیت ضد التهابی قوی و ترمیمی دارند. نانوذرات نقره، همچنین فاکتور نکروز دهنده تومور (TNF)، IL-12 و IL-1b را سرکوب و آپوپتوز سلول های التهابی را القاء می کنند (۳۵) و می توانند به عنوان ابزار درمانی برای درمان التهاب به طور موفقیت آمیز مورد استفاده قرار گیرند (۳۶) همچنین بهبود زخم یک پروسه پیچیده است که با ظهور فناوری نانو، یک روش جدید درمان در نانو ذرات نقره برای استفاده در زخم های سوختگی ارائه کرده است. با این وجود، اثرات مفید نانوذرات

References

1. Nazeruddin G, Prasad N, Waghmare S., Garadkar K, Mulla I. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using *Azadirachta indica* leaf extract and its antimicrobial activity. *Journal of Alloys and Compounds*. 2014; 583, 272-277.
2. Szymanski MS, Porter RA. Preparation and quality control of silver nanoparticle-antibody conjugate for use in electrochemical immunoassays. *Journal of immunological methods*. 2013; 387, 262-269.
3. Makhdoui P. Evaluation of anti-carcinogenicity effects of new analogues of selective COX II inhibitor in human liver carcinoma cell line; Sep 4-6. Mashhad: Mashhad University of Medical Sciences. 2012.
4. Mujgan Gurler AC, Koc DO, Ozdemir AA, Ekizoglu I, Altay M, Degirmencioglu S. Serum visfatin levels in patients with subclinical and newly diagnosed type2 diabetes mellitus. *Acta Medica Mediterranea*. 2017; 33: 197-201.
5. Klein CA. The metastasis cascade. *Science* 2008; 321(5897):1785-7.
6. Noori Dalooi M. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran: Samer and Nashre Akhar Publishing. 2009.
7. Sharma VK, Siskova KM, Zboril R, Gardea-Torresdey JL. Organic-coated silver nanoparticles in biological and environmental conditions: fate, stability and toxicity. *Adv Colloid Interface Sci*; 2014; 204(5):15-34.
8. Lee B, Duong CN, Cho J, Lee J, Kim K, Seo Y, et al. Toxicity of citrate-capped silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012; ID: 262670
9. Matzke M, Jurkschat K, Backhaus T. Toxicity of differently sized and coated silver nanoparticles to the bacterium *Pseudomonas putida*: risks for the aquatic environment. *Ecotoxicology*; 2014; 23(5):818-829.
10. Wong KK, Cheung SO, Huang L, Niu J, Tao C, Ho CM. Further evidence of the anti-inflammatory effects of silver nanoparticles. *ChemMedChem* ,2009; 4:1129-35.
11. Marco E, Bianchia Angelo A, Manfredi A. How macrophages ring the inflammation alarm. *PNAS*. 2014; 111 (8): 2867.
12. Nagajyothi P, Cha SJ, Yang IJ, Sreekanth T, Kim KJ, Shin HM. Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using *Polygala tenuifolia* root extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 2015; B: Biology; 146:10-7.
13. Jeyaraj M, Sathishkumar G, Sivanandhan G, MubarakAli D, Rajesh M. Biogenic silver nanoparticles for cancer treatment: an experimental report. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013; 106: 86-92.
14. Lanta V, Havranek P, Ondrej V. Morphological analysis and seed germination of *Amaranthus Cruent*, retroflue and their hybrid. *Plant Soil Environ*. 2003; 49 (8): 364-369.
15. Luminita David, Bianca Moldovan, Adriana Vulcu, Liliana Olenic, Maria Perde-Schrepler, Eva Fischer-Fodor, Adrian Florea, Maria Crisan, Ioana Chiorean, Simona Clichici, Gabriela Adriana. Green synthesis, characterization and anti-

- inflammatory activity of silver nanoparticles using European black elderberry fruits extract Volume. 2014; Oct 1 pg 767-77.
16. Makarov V, Love A, Sinitsyna O, Makarova S, Yaminsky I, Taliany M, Kalinina N. "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae* (انگلیزبانه نسخه), 2014; 6.
 17. Govindaraju K, Basha SK, Kumar VG, Singaravelu G. Silver, gold and bimetallic nanoparticles production using single-cell protein (*Spirulina platensis*) Geitler. *Journal of Materials Science*, 2008; 43, 5115-5122.
 18. Scarano G, Morelli E. Properties of phytochelatin-coated CdS nanocrystallites formed in a marine phytoplanktonic alga (*Phaeodactylum tricornutum*, Bohlin) in response to Cd. *Plant Science*, 2003; 165, 803-810.
 19. Lengke MF, Fleet ME, Southam G. Biosynthesis of silver nanoparticles by filamentous cyanobacteria from a silver (I) nitrate complex. *Langmuir*, 2007; 23, 2694-2699.
 20. Rautaray D, Ahmad A, Sastry M. Biosynthesis of CaCO₃ crystals of complex morphology using a fungus and an actinomycete. *Journal of the American Chemical Society*, 2003; 125, 14656-14657.
 21. Kowshik M, Deshmukh N, Vogel W, Urban J, Kulkarni SK, Paknikar K. Microbial synthesis of semiconductor CdS nanoparticles, their characterization, and their use in the fabrication of an ideal diode. *Biotechnology and Bioengineering*, 2002; 78, 583-588.
 22. Anshup Venkataraman JS, Subramaniam C, Kumar RR, Priya S, Kumar TS, Omkumar R, John A, Pradeep T. Growth of gold nanoparticles in human cells. *Langmuir*, 2005; 21, 11562-11567.
 23. Namasivayam S, Jayakumar D, Kumar VR, Bharani R. Anti-Bacterial and Anti-Cancerous Biocompatible Silver Nanoparticles Synthesised from the Cold Tolerant Strain of *Spirulina platensis*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2014; 7, 1404-1412.
 24. Khan SA, Davidson BR., Goldin RD, Heaton N, Karani J, Pereira SP, Rosenberg WM, Tait P, Taylor-Robinson SD, Thillainayagam AV. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: an update. *Gut*, 2012; 61, 1657-1669.
 25. Vijayaraghavan K, Nalini SK, Prakash NU, Madhankumar D. Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Syzygium aromaticum*. *Materials Letters*, 2012; 75, 33-35.
 26. Hamilton JA, Anderson GP. GM-CSF Biology. *Growth Factors*; 2004; 22:225–231. doi: 10.1080/08977190412331279881. (PubMed) (Cross Ref).
 27. Ahmed S, Ahmad M, Swami BL, Ikram S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of advanced research*, 2016; 7, 17-28.
 28. Korkaya H, Liu S, and Wicha MS. Regulation of cancer stem cells by cytokine networks: Attacking cancer's inflammatory roots. *Clin Cancer Res*, 2011; 17:6125-9.
 29. Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of interferon-gamma during innate and

- adaptive immune responses. *Adv Immunol.*, 2007; 96:41–101. (PubMed).
30. Tan J, Wong KK, Ho CM, Lok CN, Yu WY, Che CM, Chiu JF, Tam PK. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *Chem Med Chem*, 2007, 2:129–136. (PubMed).
31. Jin S, Tong T, Fan W, Fan F, Antinore MJ, Zhu X, Mazzacurati L, Li X, Petrik KL, Rajasekaran B. Et al. GADD45-induced cell cycle G2-M arrest associates with altered subcellular distribution of cyclin B1 and is independent of p38 kinase activity. *Oncogene*, 2002; 21:8696–8704. Doi: 10.1038/sj.onc.1206034. (PubMed) (Cross Ref).
32. Zhang HS, Gavin M, Dahiya A, Postigo AA, Ma D, Luo RX, Harbour JW, Dean DC. Exit from G1 and S phase of the cell cycle is regulated by repressor complexes containing HDAC-Rb-hSWI/SNF and Rb-hSWI/SNF. 2000;10.1016/S0092-8674 (00) 80625-X.
33. Yang JJ. Mixed lineage kinase ZAK utilizing MKK7 and not MKK4 to activate the c-Jun N-terminal kinase and playing a role in the cell arrest. *BiochemBiophysResCommun*, 2000; 297:105–110.
34. Wilkinson LJ, White RJ, Chipman JK. Silver and nanoparticles of silver in wound dressings: a review of efficacy and safety; Published Online: 2011; August 16, (20.11.543).
35. Tian J, Wong KK, Ho CM, Lok CN, Yu WY, Che CM, Chiu JF, Tam PK. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. 2007; Jan; 2(1):129-36.
36. Bianca Moldovan, Luminita David, Adriana Vulcu, Liliana Olenic, Maria Perde-Schrepler, Evafischer-Fodor, Ioana Baldea Simona Clichici, Gabriela. Adriana Filip In vitro and in vivo anti-inflammatory properties of green synthesized silver nanoparticles using *Viburnum opulus L.* 2017; fruits extract. October, Pages 720-727.
37. Schechter PJ, Bhol KC. Topical nanocrystalline silver cream suppresses inflammatory cytokines and induces apoptosis of inflammatory cells in a murine model of allergic contact dermatitis. Volume 152. 2005; Issue 6 June, Pages: 1235-1242.

Evaluation of the anti-inflammatory properties of silver nanoparticles synthesized by the *Amaranthus Cruentus* plant on liver cancer cells

Dehghan S¹, Neamati A^{*2}, Ardalan P³

1. MSc of Biochemistry, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

2. Associate professor of Physiology, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran, neamati.ali@gmail.com

3. Assistant Professor of Chemistry and Physics, Department of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received: 23 April 2019

Accepted: 22 Jun 2019

Abstract

Background: One of the important aspects of nanotechnology for use in biology is the production of nano materials with controllable size, chemical characteristics and dimensions. It can be said that the purpose of nanotechnology is to control each atom and molecule. It is now known that nanoparticles are capable of destroying cancerous cells without side effects on normal cells. Liver cancer is the fifth most common cancer in the world and the third most common cause of cancer deaths in the world. The purpose of this study was to investigate the anti-inflammatory properties of silver nanoparticles synthesized by the *Amaranthus Cruentus* plant on Hep G₂ liver cancer cells.

Materials and Methods: The studies in this research included in vitro experiments. The anti-inflammatory effect of silver nanoparticles produced by the *Amaranthus Cruentus* plant was evaluated using the Real-Time PCR technique and assaying the expression of IL-1b and IL-10 genes at concentrations of 50, 100 and 200 µg/ml.

Results: The findings from the gene expression showed that the silver nanoparticles produced by the *Amaranthus Cruentus* plant significantly reduced anti-inflammatory activity by decreasing the expression of the IL-1b pre-inflammatory gene expression at the level of P <0.001 and increasing the expression of the anti-inflammatory IL -10 meaningful at the level of P <0.001.

Conclusion: Based on the results of this study, silver nanoparticles of the *Amaranthus Cruentus* plant have anti-cancer properties, and the expression of the gene leading to inflammation, IL-1b, decreased meaningfully. In addition, there was a significant increase in the expression of the IL-10 gene. Given these features, it is likely that the use of these nanoparticles, after supplementary studies, can be suggested as complementary data in the treatment of cancer and could have other biomedical applications.

Keywords: Liver cancer, silver nanoparticles, anti-inflammatory effect, *Amaranthus Cruentus* plant.

***Citation:** Dehghan S, Neamati A, Ardalan P. Evaluation of the anti-inflammatory properties of silver nanoparticles synthesized by the *Amaranthus Cruentus* plant on liver cancer cells. *Yafte*. 2019; 21(2):29-37.