

تاثیر میدان شعوری فرادرمانی بر کنترل سمیت نانوذرات مس در پارگی غشای لیزوزومی در لنفوسیت‌های خون انسان

محمدعلی طاهری^۱، اولین اسدیان^{۲*}، ندا اصغری کلاهی^۳

* نویسنده مسئول: اولین اسدیان

ایمیل: evelyn.assadian@queenevelyn.com

DOI: <https://doi.org/10.61450/joci.FA.v4i18.220>

۱- بخش تحقیق و توسعه‌ی ساینس‌فکت، مرکز تحقیقات شرکت کازمواینتل، انتاریو،

کانادا

۲- گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید

بهشتی، تهران، ایران

۳- واحد توسعه تحقیقات بالینی شهید اکبرآبادی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران،

ایران

چکیده

این مطالعه به بررسی تاثیر یکی از انواع میدان‌های شعوری طاهری با نام «میدان شعوری فرادرمانی» (FCF) بر کاهش سمیت نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs) در لنفوسیت‌های خون انسان می‌پردازد. سمیت نانوذرات و به‌ویژه اثرات نامطلوب آن‌ها بر سیستم‌های سلولی، یکی از دغدغه‌های مهم در حوزه‌ی نانوفناوری است. میدان‌های شعوری (ط) که محمدعلی طاهری آن‌ها را معرفی کرده، به‌عنوان میدان‌هایی نوین تعریف می‌شوند که نه ماده‌اند، نه انرژی و قابل اندازه‌گیری مستقیم نیز نیستند. با این حال، می‌توان آثار آن‌ها را به وسیله‌ی آزمایش‌های علمی استاندارد بررسی کرد. در این تحقیق، آثار سمیت نانوذرات CuO با و بدون دریافت میدان شعوری فرادرمانی از طریق بررسی یک‌پارچگی غشای لیزوزومی و بقای سلولی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. لنفوسیت‌ها از خون افراد سالم جدا شده، به مدت شش ساعت در معرض غلظت‌های مختلفی از نانوذرات CuO قرار گرفتند. نتایج نشان داد نانوذرات CuO به‌صورت وابسته به دوز، موجب کاهش بقای سلول می‌شوند؛ طوری که IC50 معادل ۴۲۰ میکرومولار به دست آمد. سمیت مشاهده‌شده با استرس اکسیداتیو مرتبط بود که منجر به پارگی غشای لیزوزومی و کاهش بقای سلولی شد. بقای سلولی لنفوسیت‌ها علی‌رغم تماس با نانوذرات، تحت تاثیر میدان شعوری فرادرمانی افزایش یافت. این میدان به‌طور معناداری ($p\text{-value} < 0.05$) آسیب به غشای لیزوزومی را کاهش و بقای سلول را افزایش داد. در غلظت‌های بالاتر نانوذرات نیز میزان بقای سلول‌ها در حضور میدان شعوری نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بود. این مطالعه بر نقش محافظتی بالقوه‌ی میدان شعوری فرادرمانی در برابر سمیت نانوذرات تاکید می‌کند و زمینه‌ساز تحقیقات بیش‌تر در خصوص سازوکارها و کاربردهای آن در علوم زیست‌پزشکی است.

کلیدواژه‌ها: میدان شعوری فرادرمانی، نانوذرات اکسید مس، لیزوزوم، سم‌شناسی

مقدمه

نانوفناوری، انقلابی در حوزه‌های گوناگون از پزشکی تا علوم محیط‌زیست ایجاد کرده و راه کارهایی نوآورانه در مقیاس نانو ارائه می‌دهد. صنعت داروسازی به‌طور فزاینده‌ای از نانوفناوری برای بهبود رسانش دارو به‌ویژه در درمان سرطان و افزایش کارایی درمانی بهره می‌برد [۱].

نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs) به‌دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد و کاربردهای متنوع‌شان در حوزه‌های گوناگون مورد توجه بسیاری قرار گرفته‌اند. این نانوذرات در داروسازی موجب افزایش حلالیت، پایداری و آزادسازی کنترل‌شده‌ی داروها می‌شوند و توانایی آن‌ها در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در درمان‌های ضدسرطان برای هدف‌گیری انتخابی سلول‌های توموری به کار گرفته شده است [۲].

همچنین، از این نانوذرات به عنوان مواد کنتراست در تصویربرداری‌های پزشکی همچون MRI و تصویربرداری فلورسانس استفاده می‌شود. افزون بر این CuO-NPs در ساخت بیوسنسورها برای شناسایی بیومولکول‌ها و عوامل بیماری‌زا و همچنین، در باتری‌ها، سلول‌های سوختی و فوتوکاتالیز به دلیل رسانایی بالای الکتریکی و حرارتی کاربرد دارند. این نانوذرات در حوزه‌ی محیط‌زیست با تجزیه‌ی آلاینده‌های آلی از طریق فوتوکاتالیز در تصفیه‌ی فاضلاب مفید واقع می‌شوند. در کشاورزی نیز نقش آن‌ها به عنوان عوامل ضد میکروبی در آفت‌کش‌ها و کودها، از جمله برای محافظت گیاهان در برابر آلودگی‌ها و آزادسازی کنترل‌شده‌ی مواد مغذی جهت بهبود حاصل‌خیزی خاک، مورد بررسی قرار گرفته است [۳].

کاربرد CuO-NPs با وجود مزایای ذکرشده در پزشکی نگرانی‌هایی درباره سمیت آن‌ها ایجاد کرده؛ زیرا سمیت آن‌ها می‌تواند ساختارهای سلولی را تخریب کنند و منجر به پارگی غشای لیزوزومی در لنفوسیت‌های خون انسان شوند [۴]. پژوهش‌های اخیر در راستای پاسخ به این چالش‌ها بر روش‌هایی برای کاهش سمیت نانوذرات تمرکز کرده‌اند؛ روش‌هایی همچون پوشش‌دادن CuO-NPs با مواد زیست‌سازگار جهت کاهش واکنش‌پذیری سطحی در عین حفظ عملکرد آن‌ها [۵].

مطالعات نشان داده‌اند تماس با نانوذرات منجر به استرس اکسیداتیو، آسیب DNA، مهار رشد موجودات زنده و مرگ سلولی می‌شود [۶]. سمیت نانومواد گوناگون در مدل‌های حیوانی نیز بررسی شده و مشخص شده است CuO-NPs در مقایسه با اکسیدهای تیتانیوم (Ti)، آهن (Fe) یا نقره (Ag)، موجب التهاب شدیدتر، افزایش جذب نوتروفیل و سلول‌های ایمنی به ریه، افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در مایع شست‌وشوی نایژه-ریوی (BAL) می‌شوند. همچنین، شواهدی از ایجاد التهاب در موش‌هایی که در معرض این نانوذرات قرار گرفته‌اند وجود دارد و CuO-NPs به عنوان یکی از نانومواد کلیدی سمی برای پستان‌داران شناخته شده است [۷].

تعداد کمی از مطالعات به بررسی اثرات منفی CuO-NPs بر سیستم ایمنی پرداخته‌اند و تاثیر بالقوه‌ی سمی این نانوذرات بر سیستم ایمنی انسان هنوز به‌طور جامع بررسی نشده است. این پژوهش

به منظور بررسی اثر نانوذرات CuO بر لنفوسیت‌های ایزوله‌شده‌ی انسانی انجام شد؛ زیرا آسیب به این اجزای حیاتی سیستم ایمنی می‌تواند عملکرد کلی آن را مختل کند. همچنین، نقش احتمالی میدان شعوری فرادرمانی (FCF) در کنترل سمیت CuO-NPs از طریق ارزیابی تاثیر آن بر یک پارچگی غشای لیزوزومی و بقا لنفوسیت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای مشخص کردن اثرات سمی پایه‌ای CuO-NPs، غلظت‌های نصف IC50 و IC50+ و دو برابر IC50 این نانوذرات بر عوامل سلولی و درون‌سلولی مختلف مورد مطالعه قرار گرفتند. IC50 به غلظتی اطلاق می‌شود که طی ۱۲ ساعت موجب مرگ ۵۰٪ از لنفوسیت‌ها می‌شود. تمامی شرایط در نمونه‌ها، مشابه گروه کنترل بود و تنها تفاوت، اعمال میدان شعوری فرادرمانی بر تمامی فرایندها در نمونه‌های مورد بررسی بوده است.

با توجه به کاربردهای گسترده‌ی این نانوذرات، بررسی روش‌هایی برای به حداقل رساندن آسیب‌های سلولی ناشی از نانوذرات جهت استفاده‌ی ایمن‌تر در داروهای پیشرفته ضروری است. از آن‌جا که نانوذرات CuO می‌توانند از طریق پوست، چشم یا استنشاق وارد بدن شوند، اثرات سمی آن‌ها اجتناب‌ناپذیر است [۸]. بنابراین، توسعه‌ی راه کارهایی برای کنترل سمیت این نانوذرات و کاهش اثرات زیان‌بار آن‌ها بر انسان و سیستم‌های زیستی از جمله حیوانات، ضروری است [۹].

مواد و روش‌ها

کاربرد میدان شعوری فرادرمانی

میدان شعوری فرادرمانی بر اساس دستورالعمل‌های تعیین‌شده در مرکز تحقیقاتی کازموال بر نمونه‌ها اعمال شد. جزئیات بیش‌تر در بخش ملاحظات عمومی این موضوع ارائه شده است. نمونه‌هایی که تحت تاثیر میدان شعوری فرادرمانی قرار نگرفتند، به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند و در نمونه‌های تحت تیمار میدان مورد نظر تنها یکبار در ابتدای آزمایش اعلام شد.

مواد شیمیایی

آکرایدین اورنج، نانوذرات اکسید مس (CuO) و تری‌کلرواستیک اسید از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شدند. محیط کشت RPMI1640 و سرم جنینی گاوی (FBS) از شرکت Gibco (Life echnologies) (گرند آیلند، نیویورک) خریداری شد. آلبومین سرم گاوی و فایکول-پاک PLUS نیز از شرکت GE Healthcare Bio-Science تامین شدند.

جداسازی و تیمار نفوسیت‌های انسانی

لنفوسیت‌ها از خون ۲۰ اهداکننده‌ی سالم در رده‌ی سنی ۱۸ تا ۴۰ سال که در زمان نمونه‌گیری هیچ‌گونه علائم بیماری عفونی نداشتند، استخراج شدند. پس از رقیق‌سازی خون با حجم مساوی از محلول بافر فسفات (PBS)، نمونه‌ها به آرامی روی سه میلی‌لیتر فایکول-پاک لایه‌گذاری و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت $2000 \times g$ سانتریفیوژ شدند. لایه‌ی پلاسما با دقت خارج شد و لایه‌ی حاوی لنفوسیت‌ها^۱ به لوله‌ای جدید با حجم ۱۵ میلی‌لیتر منتقل شد. سپس سلول‌های منتقل‌شده با ۱۰ میلی‌لیتر PBS شسته و با سرعت $1000 \times g$ سانتریفیوژ شدند. در نهایت، مایع رویی دور ریخته شد.

لنفوسیت‌ها پس از مرحله‌ی شست‌وشو در بافر لیزکننده‌ی گلبول قرمز شامل ۱۵۰ میلی‌مولار NH_4Cl ، ۱۰ میلی‌مولار NaHCO_3 و یک میلی‌مولار EDTA با pH برابر ۴/۷ معلق و به مدت پنج دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس سلول‌ها دو بار با PBS شسته شدند و حدود 1×10^6 تا $1/5 \times 10^6$ سلول در یک میلی‌لیتر محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گاو (FBS) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین برای آزمایش‌های بعدی معلق شدند.

لنفوسیت‌ها برای بررسی بقا سلولی به مدت ۱۲ ساعت با نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs) در غلظت‌های ۰/۱ تا ۵ میلی‌مولار تیمار شدند. همچنین، آزمایش‌های اضافی با انکوباسیون لنفوسیت‌ها در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌مولار از نانوذرات CuO به مدت ۲ و ۴ و ۶ ساعت انجام شد.

آزمون بقا سلولی

برای ارزیابی بقا سلولی از رنگ تریپان بلو استفاده شد؛ زیرا این رنگ می‌تواند به غشای سلول‌های مرده نفوذ و آن‌ها را رنگ‌آمیزی کند. تقریباً 1×10^4 لنفوسیت انسانی در هر چاهک از پلیت ۹۶ چاهکی کشت داده شده و با غلظت‌های مختلفی از نانوذرات CuO تیمار شدند. حجم مساوی از سوسپانسیون سلولی با محلول ۰/۴٪ تریپان بلو مخلوط و روی هموسیتومتر بارگذاری شد. سلول‌های زنده و مرده با استفاده از میکروسکوپ نوری شمارش شدند و بقا سلولی و مقادیر IC50 محاسبه شد. برای تعیین این مقدار در مورد ترکیب مورد بررسی، منحنی‌های پاسخ به دوز برای پنج غلظت مختلف از CuO-NPS ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ میلی‌مولار پس از ۱۲ ساعت تیمار رسم شد و مقدار IC50 بر اساس نمودار رگرسیون محاسبه شد. مقدار IC50_{12h} برای نانوذرات CuO برابر با چهار میلی‌مولار تعیین شد. بر این اساس، آزمایش‌های بعدی بر اساس دستورالعملی استاندارد و با استفاده از غلظت‌های IC50/2 (۰/۲ میلی‌مولار)، IC50 (۰/۴ میلی‌مولار)، IC50×2 (۰/۸ میلی‌مولار) انجام شد. این غلظت‌ها طیفی از سمیت نانوذرات CuO بر لنفوسیت‌های خون انسان را پوشش می‌دهند؛ از سطح زیرسمی (۰/۲ میلی‌مولار)، آستانه‌ی سمیت (۰/۴ میلی‌مولار) تا سطح با سمیت بالا (۰/۸ میلی‌مولار).

برای بررسی نشت غشای لیزوزومی و سایر پارامترهای مکانیکی، بازه‌های زمانی دو، چهار و شش ساعت انتخاب شد تا از شرایط با سمیت شدید، مانند مرگ بیش از حد سلول‌ها، اجتناب شود. این بازه‌های زمانی بر اساس تعیین قبلی (IC50 مرگ ۵۰٪ سلول‌ها) برای نانوذرات CuO در لنفوسیت‌های انسانی پس از ۱۲ ساعت تیمار انتخاب شده‌اند [۱۰].

ارزیابی ناپایداری غشای لیزوزومی

یک پارچگی غشای لیزوزومی در لنفوسیت‌های انسانی تیمارشده با نانوذرات CuO در بازه‌های زمانی دو، چهار و شش ساعته مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، از رنگ لیپوفیل استفاده شد که در اندامک‌های اسیدی همچون لیزوزوم تجمع می‌یابد. در صورت آسیب به غشای لیزوزوم، این رنگ از اندامک نشت پیدا می‌کند [۱۱].

۱۰۰ میکرولیتر از محلول پنج میکرومولار آکریدین اورنج به ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی اضافه و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس لنفوسیت‌ها شسته شدند و فلورسانس ناشی از آکریدین اورنج آزادشده با استفاده از دستگاه اسپکتروفلورومتر و در طول موج‌های تحریک و تابش به ترتیب برابر ۴۷۰ و ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

در مرحله‌ی بعد، نمونه‌ها تحت تاثیر میدان شعوری فرادرمانی قرار گرفتند تا اثر این میدان بر کنترل سمیت نانوذرات مس در لنفوسیت‌های خون انسان بررسی شود. این بررسی با در نظر گرفتن یافته‌های پیشین ما در خصوص سمیت نانوذرات و به منظور تحلیل و تفسیر نتایج این مطالعه انجام گرفت [۱۲].

تحلیل آماری

برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخه GraphPad10) استفاده شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و دوطرفه (Two-way ANOVA) و به دنبال آن آزمون‌های تعقیبی توکی (Tukey) و بونفرونی (Bonferroni) انجام شد. دست کم سه آزمایش مستقل برای هر شرایط انجام گرفت. مقدار p کم‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (SEM) ارائه شده‌اند.

نتایج

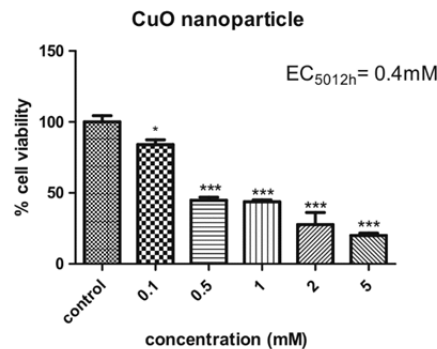
همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs) بقا لنفوسیت‌های انسانی را به صورت وابسته به غلظت و طی یک دوره‌ی ۱۲ ساعته کاهش می‌دهند. این ارزیابی با استفاده از روش رنگ‌آمیزی تریپان بلو انجام شده است. کاهش معنادار در بقا سلولی در غلظت‌های بالاتر از ۰/۱ میلی‌مولار مشاهده شد.

با ۴۲۰ میکرومولار (۰/۴۲ میلی مولار) تعیین شد.

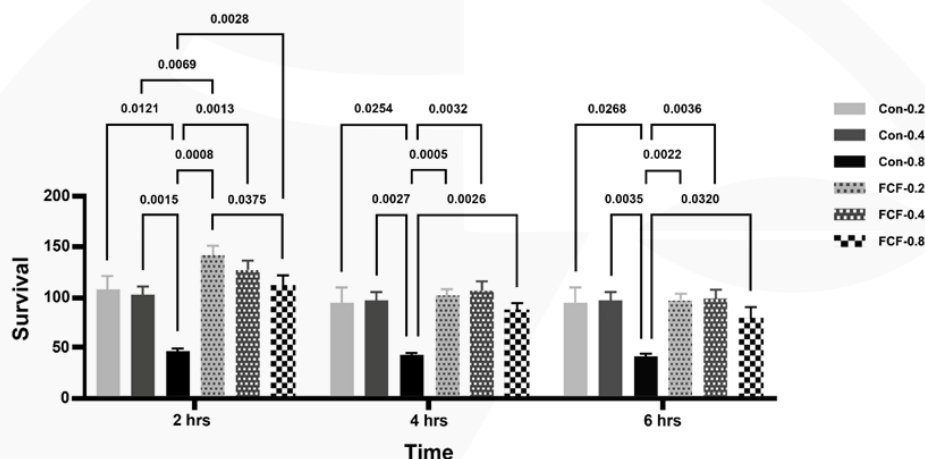
این یافته‌ها نشان‌دهنده‌ی پتانسیل سیتوتوکسیک نانوذرات CuO هستند و بر تاثیر وابسته به دوز آن‌ها بر بقا لنفوسیت‌ها تاکید دارند.

این اثر در سطح معناداری آماری ($p < 0.05$) مشاهده شد و در غلظت‌های ۰/۵ میلی مولار و بالاتر، به‌طور معناداری افزایش یافت ($p < 0.001$).

مقدار IC_{50} که به عنوان غلظتی تعریف می‌شود که بقا سلول‌ها را پس از ۱۲ ساعت تماس تا ۵۰٪ کاهش می‌دهد، برابر



شکل ۱- بقا سلولی پس از تیمار لنفوسیت‌های انسانی با نانوذرات CuO به مدت ۱۲ ساعت
*** $p < 0.001$ ، ** $p < 0.01$ ، * $p < 0.05$



شکل ۲- نرخ بقا لنفوسیت‌ها پس از تماس با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ میلی مولار از نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs) با و بدون اعمال میدان شعوری فرادرمانی (FCF) در بازه‌های زمانی ۲، ۴، ۶ ساعت. معناداری آماری مقادیر (p) تفاوت بین شرایط مختلف را نشان می‌دهد.

در مقایسه‌ی گروه‌های بدون تیمار (کنترل) با گروه‌های تحت تاثیر FCF (نمونه)، اثر حفاظتی قابل توجهی در نمونه‌های تیمار شده با FCF در تمامی غلظت‌ها و زمان‌ها مشاهده شد. قرارگیری در معرض FCF منجر به افزایش میزان بقا سلولی شد که نشان‌دهنده‌ی توانایی FCF در مقابله‌ی موثر با اثرات زیان‌بار نانوذرات CuO است.

تیمار با FCF به‌طور چشم‌گیری بقا سلولی را در حضور نانوذرات CuO افزایش داد و در غلظت‌ها و زمان‌های خاص، تفاوت‌های معناداری مشاهده شد. در غلظت ۰/۲ میلی مولار، میدان شعوری فرادرمانی موجب افزایش معنادار بقا سلولی پس از دو ساعت نسبت به کنترل متناظر (Con-0/2) شد ($p < 0.05$). به‌طور مشابه، در غلظت ۰/۴ میلی مولار نیز افزایش معناداری در دو ساعت نسبت به Con-0/4 مشاهده شد ($p < 0.05$).

در شکل ۲ اثر چشم‌گیر نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs) را بر بقا لنفوسیت‌های انسانی و همچنین اثر FCF در کاهش سمیت سلولی ناشی از این نانوذرات نشان می‌دهد. مشاهده شد که نانوذرات CuO اثرات سیتوتوکسیک وابسته به دوز و زمان دارند که با کاهش بقا سلولی، ایجاد استرس اکسیداتیو و تخریب غشای لیزوزومی مشخص می‌شود. این اثرات سمی در غلظت‌های بالا و زمان‌های انکوباسیون طولانی، شدت بیش‌تری یافتند. در کنترل، بالاترین غلظت نانوذرات (۰/۸ میلی مولار) در تمامی زمان‌ها به‌طور معناداری موجب نشت غشای لیزوزومی شد. مقاومت غشای لیزوزومی تحت تاثیر میدان شعوری فرادرمانی، در تمامی غلظت‌ها، به‌ویژه در غلظت ۰/۸ میلی مولار افزایش یافت که منجر به بهبود معنادار بقا سلولی بود ($p\text{-value} < 0.05$).

بقا سلولی در بازه‌ی دو ساعته در گروه‌های کنترل به‌طور قابل توجهی کاهش یافت؛ به‌ویژه در غلظت ۰/۸ میلی‌مولار از CuO-NPs ($p < 0/05$)، در حالی‌که نمونه‌های تحت درمان با FCF مقاومت چشم‌گیری در برابر مرگ سلولی نشان دادند. این روند در زمان‌های ۴ و ۶ ساعت نیز ادامه یافت که نشان می‌دهد FCF نه‌تنها سمیت فوری را کاهش می‌دهد، بلکه ممکن است در سازگاری و بازیابی بلندمدت سلولی نیز نقش داشته باشد.

یکی از مشاهدات کلیدی در این مطالعه، پایداری غشای لیزوزومی در حضور FCF بود. با توجه به این‌که نانوذرات CuO می‌توانند موجب پارگی غشای لیزوزومی و آزادسازی آنزیم‌های هیدرولیتیک و در نهایت مرگ سلولی شوند، یافته‌های ما نشان می‌دهند که FCF ممکن است در حفظ یک‌پارچگی غشای لیزوزومی موثر بوده و از مرگ زودرس سلول‌ها جلوگیری کند.

این نتایج با پژوهش‌های پیشین نیز هم‌راستا هستند که نشان داده‌اند FCF توانایی کاهش تنش‌های محیطی و زیستی را دارد؛ از جمله کاهش استرس اکسیداتیو در گیاهان [۱۶] و پاک‌سازی مواد رادیواکتیو در محیط‌های آبی [۱۷].

یافته‌های حاضر دیدگاه‌های نوینی در زمینه‌ی کاربرد بالقوه‌ی FCF به‌عنوان درمانی محافظتی در برابر سمیت سلولی ناشی از نانوذرات ارائه می‌کنند. افزایش مشاهده‌شده در بقا سلولی نشان می‌دهد FCF ممکن است مسیرهای زیستی کلیدی درگیر در پاسخ به استرس اکسیداتیو، تنظیم آپوپتوز و سازوکارهای ترمیم سلولی را تعدیل کند.

سازوکارهای مولکولی دقیق موثر در این پدیده‌ها همچنان ناشناخته باقی مانده‌اند و نیازمند تحقیقات بیش‌تر در زمینه‌ی عملکرد میتوکندری و نقش آن در تنظیم استرس اکسیداتیو، پاسخ‌های التهابی القا شده به وسیله‌ی نانوذرات CuO و توان بالقوه‌ی FCF در تعدیل فعالیت سلول‌های ایمنی هستند. همچنین، بررسی سازگاری بلندمدت سلول‌ها با تماس مداوم با نانوذرات در حضور FCF نیز ضروری به‌نظر می‌رسد.

افزون بر این، ادغام FCF با نانوفناوری، فرصت‌هایی نوین و امیدبخش در کاربردهای زیست‌پزشکی ایجاد می‌کند. با توجه به نگرانی‌های فزاینده درباره‌ی ایمنی نانوذرات، بهره‌گیری از TCF سامانه‌های دارورسانی، پزشکی بازساختی و پالایش محیطی می‌تواند مسیر را برای توسعه‌ی راهبردهای درمانی ایمن‌تر و کارآمدتر هموار سازد.

نتیجه گیری

در پایان، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد تیمار با FCF ممکن است موجب کاهش استرس اکسیداتیو، پایداری غشای لیزوزومی و تقویت سازوکارهای ترمیم سلولی شود و از این طریق، مقاومت سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از نانوذرات را بهبود بخشد. پیشنهاد می‌شود این تحقیق با استفاده از مدل‌های سلولی متنوع و بررسی سازوکارهای مختلف سمیت گسترش یابد تا قابلیت کاربرد آن در حوزه‌های نانودارورسانی و سم‌شناسی به‌طور جامع تایید شود.

بارزترین اثر در غلظت ۰/۸ میلی‌مولار مشاهده شد؛ جایی‌که میدان شعوری فرادرمانی بقا سلولی را در ۲ ساعت ۱۴۰٪، در ۴ ساعت ۱۰۳٪، در ۶ ساعت ۸۹٪ بهبود بخشیده است. بیش‌ترین افزایش در دو ساعت مشاهده شد ($p = 0.0008$). این نتایج نشان‌دهنده‌ی توان بالای حفاظتی میدان شعوری فرادرمانی، به‌ویژه در غلظت‌های بالا و زمان‌های تماس دو ساعت، در برابر سمیت سلولی ناشی از نانوذرات CuO است.

بحث

نانوذرات، به‌ویژه نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs)، پتانسیل سیتوتوکسیک قابل توجهی از خود نشان داده‌اند که موجب نگرانی‌هایی در خصوص کاربرد ایمن آن‌ها در حوزه‌های زیست‌پزشکی، صنعتی و محیط‌زیستی شده است. در این مطالعه، اثر نانوذرات CuO بر بقا لنفوسیت‌های انسانی بررسی و این پرسش مطرح شد که «آیا میدان‌های شعوری طاهری (TCFs) می‌توانند اثرات سمی این نانوذرات را کاهش دهند یا خیر؟»

سلول‌ها در گروه کنترل، تنها با نانوذرات CuO تیمار شدند، در حالی‌که گروه نمونه در معرض هر دو عامل، یعنی نانوذرات CuO و FCF، قرار گرفت. نتایج به‌روشنی نشان داد FCF به‌طور معناداری بقا سلولی را افزایش داده و بیان گر سازوکار حفاظتی بالقوه در برابر سمیت ناشی از نانوذرات است.

اثرات سمی نانوذرات اکسید مس (CuO-NPs) به‌شکلی گسترده گزارش شده و مطالعات متعددی کاهش بقا سلولی وابسته به دوز را در خطوط سلولی انسانی گوناگون نشان داده‌اند. پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند نانوذرات CuO بقا سلول‌ها را در سلول‌های کبدی HepG2 تا ۴۸٪ در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش می‌دهند و در سلول‌های اپیتلیال ریبوی A549 نیز تا ۹۳٪ در غلظت ۲۰ میکروگرم بر سانتی‌متر مربع و ۵۰٪ در ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر [۱۳]. همچنین، در سلول‌های اپیتلیال مجاری هوایی HEp-2 میزان کاهش بقا سلولی تا ۶۰٪ در غلظت ۸۰ میکروگرم بر سانتی‌متر مربع گزارش شده است [۱۴] و در سلول‌های نوروبلاستوما SH-SY5Y بین ۶۰ تا ۷۰٪ در بازه‌ی غلظتی ۰/۱ تا ۱۰ میکرومولار کاهش نشان داده‌اند [۱۳].

به‌طور مشابه، یافته‌های ما نیز کاهش ۵۰٪ در بقا لنفوسیت‌ها در غلظت ۴۲۰ میکرومولار از نانوذرات CuO را نشان دادند که با نتایج مطالعات پیشین هم‌راستا هستند [۲]. سمیت سلولی ناشی از نانوذرات CuO به‌طور عمده به استرس اکسیداتیو، تخریب غشای لیزوزومی و آسیب به DNA نسبت داده می‌شود که منجر به اختلال عملکرد سلولی و آپوپتوز می‌شود [۱۵].

یافته‌های ارائه‌شده در شکل ۲ فرضیه‌ی تقویت مقاومت سلولی در برابر سمیت ناشی از نانوذرات CuO با تاثیر FCF را بیش از پیش تایید می‌کنند. در بازه‌های زمانی ۲، ۴ و ۶ ساعت، میزان بقا لنفوسیت‌ها در گروه‌های تحت تاثیر FCF به‌طور پیوسته بیش‌تر از گروه‌های کنترل تیمار شده با نانوذرات CuO-NPs بود. مقادیر معنادار آماری (p -values) نشان‌دهنده‌ی اثر حفاظتی مشخص، به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر نانوذرات CuO هستند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از واحد توسعه‌ی تحقیقات بالینی شهید اکبرآبادی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران، به دلیل همکاری ارزشمندشان در گردآوری داده‌ها تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

1. Gaetke, L. M., & Chow, C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189(1), 147–163.
2. Assadian, E., Zarei, M. H., Gilani, A. G., & Pourahmad, J. (2018). Toxicity of copper oxide (CuO) nanoparticles on human blood lymphocytes. *Biological Trace Element Research*, 184, 350–357.
3. Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. d. P., Acosta-Torres, L. S., ... & Shin, H.-S. (2018). Nano-based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 16, 71.
4. Ahmed, M., Anjum, M., Riaz, S., Irfan, M., & Bhatti, H. N. (2010). Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396(2), 578–583.
5. Hussain, S., Javorina, A. K., Schrand, A. M., Duhart, H. M., Ali, S. F., & Schlager, J. J. (2016). Size-dependent cytotoxicity of copper oxide nanoparticles in lung epithelial cells. *Environmental Science: Nano*, 3(3), 452–460.
6. Assadian, E., Zarei, M. H., Gilani, A. G., & Pourahmad, J. (2019). Toxicity of Fe₂O₃ nanoparticles on human blood lymphocytes. *Biomedical and Molecular Toxicology*, 33.
7. Grassian, V. H., Adamcakova-Dodd, A., Pettibone, J. M., & Thorne, P. S. (2007). Inflammatory response of mice to manufactured titanium dioxide nanoparticles: Comparison of size effects through different exposure routes. *Nanotoxicology*, 1(3), 211–226.
8. Fahmy, B., & Cormier, S. A. (2009). Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. *Toxicology in Vitro*, 23(7), 1365–1371.
9. Siddiqui, M. A., Kashyap, M. P., Kumar, V., Tripathi, S., & Pant, A. B. (2013). Copper oxide nanoparticles induced mitochondria-mediated apoptosis in human hepatocarcinoma cells. *PLoS ONE*, 8(8), e69534.
10. Pourahmad, J., Eskandari, M. R., & Daraei, B. (2011). Involvement of lysosomal destabilization and lysosomal/mitochondrial cross-talk in diclofenac-induced hepatotoxicity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*.
11. Assadian, E., Jamali, Z., Salimi, A., & Pourahmad, J. (2023). Antioxidants and mitochondrial/lysosomal protective agents reverse toxicity induced by titanium dioxide nanoparticles on human lymphocytes. *Toxicology and Industrial Health*, 39(10), 594–602.
12. Taheri, M. A. ., Amani, L., Khalili, A., Vaziri, A. Z., & Keyvani, H. (2022). Effect of Faradarmani Consciousness Field on Cell Culture, Bacterial Contamination of Cell Culture and SARS-CoV-2 Replication in vitro. *The Scientific Journal of Cosmointel*, 1(1), 14–19. <https://doi.org/10.61450/joci.v1i1.10>

13. Brandão, F., Fernández-Bertólez, N., Rosário, F., Bessa, M. J., Fraga, S., Pásaro, E., Teixeira, J. P., Laffon, B., Valdiglesias, V., & Costa, C. (2020). Genotoxicity of TiO₂ Nanoparticles in Four Different Human Cell Lines (A549, HEPG2, A172 and SH-SY5Y). *Nanomaterials*, 10(3), 412. <https://doi.org/10.3390/nano10030412>
14. Farshori, N. N., Siddiqui, M. A., Al-Oqail, M. M., Al-Sheddi, E. S., Al-Massarani, S. M., Ahamed, M., Ahmad, J., & Al-Khedhairi, A. A. (2022). Copper Oxide Nanoparticles Exhibit Cell Death Through Oxidative Stress Responses in Human Airway Epithelial Cells: a Mechanistic Study. *Biological trace element research*, 200(12), 5042–5051. <https://doi.org/10.1007/s12011-022-03107-8>
15. Kubo, A. L., Vasiliev, G., Vija, H., Krishtal, J., Tõugu, V., Visnapuu, M., Kisand, V., Kahru, A., & Bondarenko, O. M. (2020). Surface carboxylation or PEGylation decreases CuO nanoparticles' cytotoxicity to human cells in vitro without compromising their antibacterial properties. *Archives of toxicology*, 94(5), 1561–1573.
16. Torabi, S., Taheri, M. A., & Semsarha, F. (2023). Alleviative effects of Faradarmani Consciousness Field on *Triticum aestivum* L. under salinity stress. *F1000Research*, 9, 1089. <https://doi.org/10.12688/f1000research.25247.4>
17. Taheri, M. A., Payervand, F., Ahmadkhanlou, F., Torabi, S., & Semsarha, F. (2022). Investigation of the properties of the Tc-99m radioisotope and water contaminated with Tc-99m under the influence of Taheri Consciousness Fields. *The Scientific Journal of Cosmointel*, 1(4), 20-29. <https://doi.org/10.61450/joci.v1i4.33>