

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته سم شناسی

عنوان :

بررسی اثر نانوذره تلوریوم بیوژنیک در مقایسه با تلوریت پتاسیم بر روی سیکل و مرگ سلولی در سلول های

PC-12

توسط :

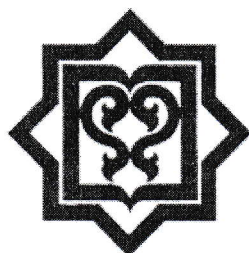
اعظم ابهریان

اساتید راهنما :

دکتر حمیدرضا رحیمی

دکتر مجتبی شکیبایی

دکتر حمید فروتن فر



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

Kerman University of Medical Sciences

School of Pharmacy

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science

Title:

Investigating the effect of biogenic tellurium nanoparticles in comparison with potassium telluride on cell cycle and cell death in PC-12 cells

By:

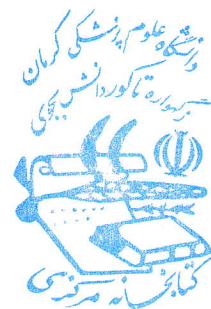
Azam Abharian

Supervisors:

Dr. Hamid Reza Rahimi

Dr. Mojtaba Shakibaie

Dr. Hamid Forootanfar



Winter 2018

Thesis No:

چکیده

زمینه و هدف: اخیراً نانوذرات حاصل از روش های نانوتکنولوژی که به وسیله گونه های باکتریایی به عنوان منبع بیولوژیکی سنتز نانو مواد از عناصر، حاصل می شوند به موضوعی جذاب تبدیل شده است. سنتز بیولوژیکی نانوذرات خواص سودمندی همچون، یکنواختی در شکل و اندازه ذرات و سمیت کمتر را فراهم می کند. تلوریوم در بیولوژی عنصر فراموش شده ای با سمیت بالا گزارش شده است. با این حال هنوز اطلاعات زیادی در مورد سمیت یا ارزیابی خطر ترکیبات آن وجود ندارد. بنابراین در این مطالعه مقایسه سمیت درون سلولی نانومیله های تولید شده (NRs) توسط گونه باکتریایی *Pseudomonas pseudoalcaligenes* و پتاسیم تلورید (K_2TeO_3) بر روی سلولهای PC-12 مورد بررسی قرار گرفت.

روش مطالعه: خواص ساختاری نانو میله های تلوریوم بیوژنیک با استفاده از میکروسکوپ انتقال الکترونی، طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس و میکروسکوپ پراش اشعه ایکس مورد بررسی قرار گرفت. و آسپیه های ناشی از استرس اکسیداتیو با بررسی سطوح کاتالاز، گلووتاتیون، سوپر اکسید دسموتاز و مالون دی آلدئید مورد بررسی قرار گرفت. نانو میله های تلوریوم تولید شده توسط *P. pseudoalcaligenes Strain Te* دامنه وسیعی از اندازه های بین ۴۰ تا ۲۰۰ نانومتر را داشتند. سمیت سلولی نانو میله های تلوریوم بیوژنیک با دوز های ۱، ۲/۵، ۵، نانوگرم بر میلی لیتر با هدف بررسی رخداد آپوپتوز سلولی و مکانیسم های احتمالی آن، در دوز IC_{50} توسط روش فلوسایتومتری و بررسی بیان کاسپاز ۳ فعال به وسیله تکنیک وسترن بلات (برای تایید نتایج فلوسایتومتری) انجام شد.

یافته ها: نصف حداکثر غلظت بازدارنده (IC_{50}) برای نانو میله های تلوریوم بیوژنیک، $5/0 \pm 0/07$ و برای پتاسیم تلوریت $2/44 \pm 0/38$ نانوگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. نانو میله های تلوریوم بیوژنیک عمدتاً آپوپتوز دیررس یا نکروز را در غلظت IC_{50} ایجاد کردند و در مقایسه با دوکسورویسین بر فعالیت کاسپاز ۳ بی تاثیر بودند. همچنین نانو میله های تلوریوم بیوژنیک سطح گلووتاتیون و فعالیت سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز، را کاهش داد و باعث افزایش سطح مالون دی آلدئید به عنوان بیومارکرهای پراکسیداسیون لیپیدی شدند.

نتیجه گیری: این یافته ها نشان می دهد که نانو میله های تلوریوم بیوژنیک سمیت کمتری در مقایسه با تلوریت پتاسیم دارند. تلوریوم می تواند باعث ایجاد اکسیداتیو استرس و اختلال در دفاع آنتی اکسیدانی و نیز آپوپتوز تاخیری و یا نکروز در سلولهای عصبی PC-12 شود.

کلمات کلیدی: نانوبیوسنتز، *Pseudomonas pseudoalcaligenes*، سمیت سلولی، استرس اکسیداتیو

Abstract

Background: Recently, biotechnologically-derived nanoparticles produced by bacterial species have become attractive subjects as biological sources for the synthesis of trace element nanostructures. Nanobiosynthesis has provided many advantageous properties including uniformity in particle shape, size, and less toxicity. Tellurium (Te) has reported a nearly forgotten element in biology due to its high toxicity. With regard to this, there is not much information yet on the toxicity or risk assessment of this element. Therefore, in the present study, the cytotoxicity mechanisms of biogenic Te NRs produced by the *Pseudomonas pseudoalcaligenes* Te strain, as a biogenic source, as compared to K₂TeO₃ was investigated in neuronal PC-12 cell line.

Methods: The structural properties of Te NRs were investigated using Transmission Electron Microscopy (TEM), Energy Dispersive X-Ray (EDX), and X-Ray Diffraction (XRD) techniques. The cytotoxic effects of Te NRs were analyzed using flow cytometry cell apoptosis while western blot analyses were applied to analyze the cleaved caspase-3 expression. Oxidative stress (OS) damage was determined using measurement of the glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels and antioxidant activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) levels.

Results: The characterization of purified Te NRs produced by the *P. pseudoalcaligenes* strain Te provided a relatively wide size range of 40-200 nm. IC₅₀¹ value was estimated at 5.05±0.07 ng/ml for biogenic Te NRs and 2.44±0.38 ng/ml for K₂TeO₃, respectively. The viability of PC-12 was inhibited concentration-dependent at doses of 1, 2.5, 5, 10, and 20 ng/ml. Te NRs principally induced late apoptosis or necrosis at IC₅₀ concentration, without effect on caspase-3 activities compared with doxorubicin.

Conclusions: Te NRs reduced GSH and enhanced malondialdehyde MDA levels as lipid peroxidation biomarker, and also reduced SOD and CAT activities. These findings revealed that biogenic Te NRs were less toxic than K₂TeO₃. Additionally, they induced cytotoxicity toward the PC-12 cell line through the activation of late apoptosis independent of the caspase pathway, and may also enhance OS in the nervous system.

Key words: Nanobiosynthesis, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, Cytotoxicity, Oxidative stress

1. The half-maximal inhibitory concentration



تاریخ: ۹۶/۱۲/۱۴
شماره: ۵۰۰۰۰۰۰۰۰۰
پیوست:

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی خانم اعظم ابهریان دانشجوی کارشناسی ارشد رشته سم شناسی ورودی ۹۴ دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " بررسی اثر نانوذره تلوریوم بیوژنیک در مقایسه با تلوریت پتاسیم بر روی سیکل و مرگ سلولی در سلول های PC-12" در ساعت ۱۲:۳۰ روز چهارشنبه مورخ ۹۶/۱۲/۰۹ با حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضاء
الف: استاد (ان) راهنما	جناب آقای دکتر حمیدرضا رحیمی جناب آقای دکتر مجتبی شکیبایی جناب آقای دکتر حمید فروتن فر	
ب: استاد مشاور	نداشتند	
ج: عضو هیات داوران (داخلی)	سرکار خانم دکتر صالحه صبوری سرکار خانم دکتر آزاده امین زاده	
د: عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر سید نورالدین نعمت اللهی جناب آقای دکتر غلامرضا سپهری	
ه: نماینده تحصیلات تکمیلی گروه	جناب آقای دکتر علی ماندگاری	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه بسیار خوب و نمره ۱۷/۶۹ مورد تأیید قرار گرفت.

هفته و میل رت صدم

