

Research Paper

The Effect of Gold Nanoparticles and Sea Cucumber Alcoholic Extract on Liver Cancer Cells



*Mahnaz Mohammadi¹, Zahra Jamshidi²

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.
2. Department of Animal Physiology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran.



Citation Mohammadi M, Jamshidi Z. [The Effect of Gold Nanoparticles and Sea Cucumber Alcoholic Extract on Liver Cancer Cell Line (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J.* 2023; 17:E2780.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.2780.1>

doi <https://doi.org/10.32598/qums.17.2780.1>



Received: 29 Nov 2022

Accepted: 31 Jul 2023

Available Online: 28 Dec 2023

Keywords:

Sea cucumber, Gold hybrid nanocarrier, Anticancer, Liver cancer cells

ABSTRACT

Background and Objectives Sea cucumber has antibacterial, fungal, anti-viral, and anti-cancer compounds that can be used for medicinal purposes. This research investigates the effect of gold nanoparticles and sea cucumber alcoholic extract on liver cancer cells.

Methods Sea cucumber samples were collected from the tidal zone of Owli village, Dayyer county, Bushehr City, southern Iran. Initial identification was done by extracting spicules using the FAO identification key. The anticancer effects of the prepared alcoholic extract (10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) and gold nanoparticles (0.5, 2, 4, 8, 10, 16 nM) were studied on the liver cancer cell line (Hep-G2) using the MTT assay, 24, 48 and 72 hours after exposure. Statistical analyses were performed in SPSS software, version 21.

Results The best effect of sea cucumber alcoholic extract and gold nanoparticles on the Hep-G2 was seen 72 hours after exposure. The highest cytotoxic effect of sea cucumber alcoholic extract on the cell line was seen at a dose of 100 µg/mL with 89.2% growth inhibition. The highest cytotoxic effect of gold nanoparticles was seen at a dose of 16 nM with 87.3% growth inhibition. The 100-µg/mL alcoholic extract and 16-nM nanoparticles together showed 95.4% growth inhibition.

Conclusion Due to the significant cytotoxic effect of sea cucumber alcoholic extract and gold nanoparticles on liver cancer cells, these compounds can be used as suitable candidates for producing anti-cancer drugs.

* Corresponding Author:

Mahnaz Mohammadi, PhD

Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.

Tel: +98 (912) 7669588

E-Mail: m-mohamadi@iaau.ac.ir



Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).
Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Introduction

In recent decades, cancer has become the main cause of mortality in the world; it is one of the five main causes of death and one of the three main priorities of the [World Health Organization \(WHO\)](#). In Iran, cancer is the third cause of death. Hep-G2 are liver cancer cells in humans. These cells look like squamous cells. These cells secrete a series of plasma proteins, such as albumin and transferrin, as well as a series of acute phase proteins, such as fibrinogen, alpha-2-macroglobulin, alpha-1-antitrypsin, transferrin, and plasminogen.

So far, various studies for finding new products and compounds from marine organisms have led to the isolation of more than 10,000 compounds, many of which have medicinal properties. Sea cucumber (*Holothuria parva*) is a marine animal from the class Holothuroidea, with anti-bacterial, anti-fungal, anti-viral, and anti-cancer compounds that can be used for medicinal purposes. Optimizing drug delivery is one of the most important advantages of using nanotechnology in the pharmaceutical industry. The drug delivery system should be able to effectively regulate the rate of absorption, distribution, metabolism, and excretion of drugs and other substances in the body. Gold nanoparticles are known as one of the widely used materials in different fields such as sensory probes, catalysis, and drug delivery. Gold is not toxic and can be made in different shapes and sizes. This metal does not have a high biological activity by itself, but its nanoparticles can be functionalized with therapeutic agents to accumulate in the areas around the cancerous tumor. This research aims to investigate the effect of gold nanoparticles and sea cucumber alcoholic extract on liver cancer cell line.

Methods

In this study, sea cucumber samples were collected from the tidal zone of Owli village, Dayyer county, Bushehr City, southern Iran. Initial identification was done by extracting spicules and with the help of [Food and Agriculture Organization of the United Nations \(FAO\)](#) identification key. To prepare the first stock, 250 µg/mL of the obtained dry extract was weighed and dissolved in 10 mL of absolute alcohol, from which a series of dilutions (10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) were prepared from the sea cucumber alcoholic extract. To use gold nanoparticles, we divided the solution into microtubes with a smaller volume and centrifuged one time at 11000 rpm for 7 min-

utes. The nanostructures deposited in the microtube were brought to volume with the solvent. Then, different dilutions (0.5, 2, 4, 8, 10, 16 nM) were prepared from gold nanoparticles. Its anticancer effects were studied on liver cancer cell line (Hep-G2) using the MTT assay. Then, to determine the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) that causes 50% cytotoxicity, we used Excel software. Then, one-way analysis of variance was used for statistical analysis, followed by Tukey's post-hoc test for pairwise comparison. The significance level was set at 10.1. Statistical analyses were performed in SPSS software, version 21.

Results

The results for the toxicity effect of sea cucumber alcoholic extract and gold nanoparticle in different concentrations on Hep-G2 cell line 24, 48 and 72 hours after exposure were investigated. By increasing the concentration of the extract from 10 µg/mL to 100 µg/mL, the percentage of cytotoxicity increased. The cytotoxicity of each dilution of gold nanoparticle was dependent on time and concentration. The best effect of sea cucumber alcoholic extract and gold nanoparticles on the Hep-G2 was seen 72 hours after exposure. The highest cytotoxic effect of sea cucumber alcoholic extract on the cell line was seen at a dose of 100 µg/mL with 89.2% growth inhibition. The highest cytotoxic effect of gold nanoparticles was seen at a dose of 16 nM with 87.3% growth inhibition. The 100-µg/mL alcoholic extract and 16-nM nanoparticles together showed 95.4% growth inhibition.

Conclusion

Due to the significant cytotoxicity effect of sea cucumber alcoholic extract and gold nanoparticles on liver cancer cell line Hep-G2, these compounds can be used as suitable candidates for the production of anti-cancer drugs after purification.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This research was taken from the thesis (Code: 22530560961050), which was conducted in [Islamic Azad University, Tehran Medical Branch](#), and in which all the ethical charters were observed.

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors contributions

The authors contributed equally to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors hereby express their gratitude to all those who helped in this research.

مقاله پژوهشی

بررسی اثر نانو ذره طلا و عصاره الکلی خیار دریایی بر رده سلولی سرطان کبد

*مهناز محمدی^۱، زهرا جمشیدی^۲

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.
 ۲. گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.



Citation Mohammadi M, Jamshidi Z. [The Effect of Gold Nanoparticles and Sea Cucumber Alcoholic Extract on Liver Cancer Cell Line (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J.* 2023; 17:E2780.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.2780.1>

doi <https://doi.org/10.32598/qums.17.2780.1>

چکیده

تاریخ دریافت: ۰۸ آذر ۱۴۰۱
 تاریخ پذیرش: ۰۹ مرداد ۱۴۰۲
 تاریخ انتشار: ۰۷ دی ۱۴۰۲

زمینه و هدف: خیار دریایی ترکیباتی با اثر درمانی و ضد باکتریایی، قارچی، ویروسی و ضد سرطانی اهمیت پزشکی دارد. هدف از این پژوهش، بررسی اثر نانو ذره طلا و عصاره الکلی خیار دریایی بر رده سلولی سرطان کبد است.

روش بررسی: نمونه‌های خیار دریایی از منطقه جزر و مدی روستای اولی شهرستان دیر در بوشهر جمع‌آوری شد. شناسایی اولیه از طریق استخراج اسپیکول‌ها و با کمک کلید شناسایی سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (فائو) انجام شد. اثرات ضد سرطانی عصاره استخراجی حاصل از حلال متانول، بر رده سلولی سرطانی کبد (Hep-G2) با استفاده از روش MTT مطالعه شد. تحلیل‌های آماری نیز با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ اجرا شده است.

یافته‌ها: نتایج تأثیر سمیت عصاره الکلی خیار دریایی و نانو ذره در ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر رده سلولی سرطان کبد (Hep-G2) بررسی شد. بهترین تأثیر مربوط به عصاره الکلی خیار دریایی و نانو ذرات طلا بر رده سلولی سرطان کبد (Hep-G2)، در ۷۲ ساعت بود. بالاترین اثر سیتوتوکسیک بر سلول سرطانی کبد مربوط به عصاره با بازداری ۸۹/۲ درصد و نانو ذره با بازداری ۸۷/۳ درصد و عصاره به همراه نانو ذره با بازداری ۹۵/۴ درصد است.

نتیجه‌گیری: به دلیل اثربخشی قابل ملاحظه سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی و نانو ذرات طلا بر رده سلولی سرطان کبد، ترکیبات این گونه می‌توانند به عنوان کاندیدای مناسبی برای تولید داروی ضد سرطان استفاده شوند.

کلیدواژه‌ها:

خیار دریایی، نانو حامل
 طلا، ترکیبات، ضد
 سرطان

* نویسنده مسئول:

دکتر مهناز محمدی

نشانی: اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: +۹۸ (۹۱۲) ۷۶۶۹۵۸۸

رایانامه: m-mohamadi@iaiu.ac.ir



مقدمه

نانو ذرات طلا به عنوان یکی از مواد پرکاربرد در حوزه‌هایی نظیر حسگری، کاتالیست و رهاسازی دارویی شناخته می‌شود. می‌توان طلا را با مولکول‌های دارویی یا عوامل هدف‌گیر، عامل‌دار کرد تا بتوانند در نواحی اطراف تومور سرطانی جمع شوند [۳۴]. همچنین سازگاری قابل توجهی دارند که به آن‌ها اجازه می‌دهد به راحتی توسط سلول‌ها جذب شوند و توسط آرگانسیم متابولیزه شوند، بدون این‌که به سایر اندام‌ها آسیب وارد کنند [۳۵]. با توجه به اثر تبدیل فتوترمال و قابلیت تغییر سطح، روش‌های درمانی مختلف برای سرطان، مانند PDT، PTT، ایمونوتراپی و شیمی‌درمانی را می‌توان برای مهار تومورها برشمرد [۳۶-۳۸]. همچنین به‌طور معمول روکش‌دهی می‌شوند تا از توده‌های شدن آن‌ها و دفع سریع توسط سامانه ایمنی بدن جلوگیری شود [۳۹].

نانو ذرات طلایی که با پادتن ضد سرطان روکش‌دار شده‌اند، قادر خواهند بود به‌طور مؤثری با واسطه پروتئینی به نام گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی^۴ که عمدتاً در سطح سلول‌های نرمال مشاهده نمی‌شوند، به سلول‌های سرطانی متصل شوند. تحت این شرایط اگر سلول‌ها به‌طور مداوم در معرض نور لیزر قرار گیرند، تخریب خواهند شد. انرژی لازم برای تخریب سلول‌های بدخیم توسط لیزر کمتر از نیمی از انرژی‌ای خواهد بود که برای از بین بردن سلول‌های خوش‌خیم نیاز است [۴۰].

هدف از این پژوهش، بررسی اثر نانو ذره طلا و عصاره الکلی خیار دریایی و اثر توأم نانو ذره طلا و عصاره خیار دریایی بر رده سلولی سرطان کبد است. مطالعه حاضر برای نخستین بار بر خیار دریایی گونه (Holothuria Parva) انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های خیار دریایی (Holothuria Parva)

نمونه‌های مورد نظر از منطقه جزر و مدی روستای اولی شهرستان دیر در بوشهر جمع‌آوری و به ظروف پلاستیکی حاوی آب دریا منتقل شد. پس از ورود نمونه‌ها به آزمایشگاه، تعدادی به منظور شناسایی مولکولی در الکل مطلق فیکس شد. تعدادی نیز برای شناسایی مورفولوژیک در نظر گرفته شد و مابقی بلافاصله تا زمان عصاره‌گیری در فریزر نگهداری شدند. شناسایی اولیه از طریق استخراج اسپیکول‌ها و با کمک کلید شناسایی سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (فائو)^۵ انجام شد. بدین صورت که از قسمت‌های مختلف بدن نمونه بافت جدا شده و توسط هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد استخراج اسپیکول‌ها انجام و از آن‌ها تصویر تهیه شد [۴۱].

در دهه‌های اخیر بیماری سرطان به‌طور فزاینده‌ای به عامل اصلی مرگ‌ومیر جهانی تبدیل شده است، به نحوی که یکی از ۵ عامل اصلی مرگ‌ومیر و یکی از ۳ اولویت اصلی سازمان بهداشت جهانی است [۱-۴]. در ایران این بیماری کشنده، سومین عامل مرگ‌ومیر محسوب می‌شود [۵-۶]. Hep-G2 سلول‌های سرطانی کبدی در انسان هستند. این سلول‌ها یک سری از پروتئین‌های پلاسمايي مثل آلبومین، ترانسفرین و یک سری پروتئین‌های مرحله حاد مثل فیبرینوژن، آلفا-۲-ماکروگلوبولین، آلفا-۱-آنتی تریپسین، ترانسفرین و پلاسمینوژن را ترشح می‌کنند [۷].

تحقیقات مختلفی پیرامون محصولات و ترکیبات جدید از موجودات دریایی به جداسازی بیش از ۱۰ هزار ترکیب منتهی شده است که بسیاری از آن‌ها خواص دارویی دارند [۸، ۹]. از میان جانوران دریایی، خیارهای دریایی، متعلق به شاخه خارپوستان و کلاس هولوتوریدا^۱ هستند که حدود ۱۴۰۰ گونه زنده از آن‌ها شناسایی شده است [۱۰-۱۴]. این جانداران گروه بزرگ و متنوعی از جانوران دریایی محسوب می‌شوند که دامنه گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه از آن‌ها استخراج شده است [۱۵، ۱۶].

ترکیبات موجود در خیار دریایی به دلیل دارا بودن فعالیت‌های زیست‌شناختی همانند خواص ضد باکتری، ضد سرطان و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارند [۱۷-۱۹]. مواد ضد تومور، ضد میکروب، ضد ویروس، ضد قارچ، ضد فشار خون، آنتی‌اکسیدان، تنظیم‌کننده سیستم ایمنی و التیام‌دهنده زخم‌ها را به دلیل حضور ترکیبات زیست‌فعال شناخته‌شده از گونه‌های متعددی از آن‌ها به خیارهای دریایی نسبت می‌دهند [۲۰-۲۴]. این ترکیبات شامل تری‌ترین‌های گلیکوزیدی (ساپونین)، کندروئیتین سولفات، گلوکز آمینوگلیکان، پلی ساکاریدهای سولفات، استرول‌ها (گلیکوزیده و سولفات)، فنول‌ها، سربروزیدها، لکتین‌ها، پپتیدها، گلیکوپروتئین‌ها، گلیکواسفنگولیپیدها و اسیدهای چرب ضروری است [۲۵-۳۰].

فناوری نانو معرف فهم و به‌کارگیری خواص جدیدی از مولکول‌ها و ساختارهایی با ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر با اثرات فیزیکی جدیدی (عمدتاً متأثر از غلبه خواص کوانتومی بر خواص کلاسیک) است [۳۱، ۳۲]. بهینه‌سازی انتقال دارو یکی از مهم‌ترین مزیت‌های به‌کارگیری فناوری نانو در صنعت داروسازی است. در یک درمان مؤثر دارویی باید از داروها در طی رسیدن به محل مورد نظر در بدن به گونه‌ای محافظت شوند که خواص بیولوژیک و شیمیایی آن‌ها تغییر نکند. مواد استفاده‌شده در انتقال دارو باید با بدن سازگار بوده، به آسانی به دارو متصل شوند و قابلیت جذب مجدد داشته باشند [۳۳].

2. Photodynamic therapy
 3. Partial Thromboplastin Time
 4. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)
 5. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)

1. Holothuroidea

عصاره‌گیری

مقدار ۱۴۰ گرم وزن خیس نمونه را توزین کرده و با متانول به مدت ۲۴ ساعت عصاره‌گیری به عمل آمد. عصاره تام به‌دست‌آمده پس از صاف شدن با کاغذ صافی در دستگاه تبخیرکننده گردان و تحت خلأ کاملاً خشک شد. برای تهیه استوک اول میزان ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره خشک به‌دست‌آمده توزین شده، در ۱۰ میلی‌لیتر الکل مطلق حل شده و از آن سری رقت‌های (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد.

حلال مورد نظر به مدت ۲۰ ساعت و ۸ بار متوالی با عصاره مجاور شد و عصاره حاصل صاف و تحت خلأ خشک شد. عمل عصاره‌گیری ابتدا با استخراج عصاره تام اتانولی از خیار دریایی انجام و سپس این عصاره با حلالی همچون متانول فراکسیونه شد. پس از تبخیر حلال با دستگاه تبخیرکننده تحت خلأ و خشک شدن عصاره، فراکسیون به دست آمد. بیشترین بازده عصاره‌گیری مربوط به عصاره تام بود که این نتیجه به دلیل انحلال‌پذیری تمام ترکیبات قطبی و غیرقطبی در این حلال انتظار می‌رفت. پس از آن بیشترین وزن عصاره به‌دست‌آمده مربوط به فراکسیون متانولی بود که نشانگر حضور ترکیبات قطبی در این عصاره بود.

تهیه نانو ذرات کروی طلا

نانو ذرات کروی طلا به اندازه ۳/۵ نانومتر هستند که به صورت فالتکون با غلظت استوک اصلی ۴۵ نانو مولار، خریداری شد (از شرکت نانو مینا ایرانیان). پیش از استفاده از نانو ذرات طلا، محلول تحت امواج اولتراسوند قرار داده شد تا از تجمع احتمالی و موقت نانو ذرات جلوگیری شود و توزیع‌پذیری ذرات یکنواخت شود. برای استفاده از نانو ذرات طلا، محلول را در میکروتیوب‌هایی با حجم کمتر تقسیم کرده و یک بار با دور ۱۱ rpm هزار به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ شد. نانو ساختارهای ته‌نشین شده در میکروتیوب با حلال به حجم رسانده می‌شوند. سپس رقت‌های مختلف (۱/۵، ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ نانومولار) تهیه می‌شود.

رده سلولی استفاده‌شده

رده سلول استفاده‌شده، رده سلولی سرطان کبد انسان (Hep- G2) بوده که به صورت فلاسک و ویال از انستیتو پاستور ایران تهیه شد.

پاساژ دادن سلول‌ها

پس از پوشیده شدن کامل کف فلاسک توسط سلول‌های چسبنده، محیط کشت فلاسک تخلیه شد و سلول‌ها با فسفات بافر سالین^۶ شست‌وشو شدند. پس از خارج کردن فسفات بافر سالین، آنزیم تریپسین به فلاسک اضافه شد و در دمای ۳۷

درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در انکوباتور قرار گرفت. سپس فلاسک از انکوباتور خارج شد و سلول‌های جداشده از کف فلاسک به یک لوله ۱۵ میلی‌لیتر منتقل شده و به منظور خنثی کردن اثر آنزیم تریپسین مقداری محیط کشت RPMI حاوی فسفات بافر سالین ۱۰ درصد اضافه شد. پس از افزودن محیط کشت به سلول‌های غوطه‌ور در تریپسین، سلول‌ها سانتریفیوژ شدند و سپس محیط رویی تخلیه و مقداری محیط به پلیت سلولی اضافه شد.

تعویض محیط کشت

برای تأمین مواد غذایی مورد نیاز رشد سلول و خروج مواد زائد، باید در فواصل منظم، محیط آن‌ها را تعویض کرد. سپس شمارش سلولی انجام شد.

آماده‌سازی محلول MTT

۵۰ میلی‌گرم از پودر MTT در ۱۰ میلی‌لیتر فسفات بافر سالین حل شد تا محلول ذخیره MTT، با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آید. سپس در زمان استفاده، با استفاده از فسفات بافر سالین، محلول با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده شد [۴۲].

آزمون ارزیابی کمی سمیت (MTT)

در این مطالعه برای بررسی میزان تکثیر سلولی ابتدا 1×10^4 سلول به همراه ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت درون هر چاهک پلیت کشت سلولی ۹۶ چاهکی ریخته شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند. پس از اطمینان از چسبیدن سلول‌ها، محیط کشت روی سلول‌ها تا حد امکان خارج شده و ۹۰ میکرولیتر از غلظت‌های آماده‌شده (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از عصاره خیار دریایی به همراه ۱۰ میکرولیتر فسفات بافر سالین به هر چاهک کشت افزوده شد و سلول‌ها برای مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت دیگر در مجاورت این غلظت‌ها قرار گرفتند. پس از آن محیط کشت خارج شد و ۱۰۰ میکرولیتر MTT با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هر چاهک ریخته شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت.

پس از گذشت ۴ ساعت، محلول روی سلول‌ها خارج و ایزوپروپانول به آن‌ها اضافه شد تا بلورهای بنفش‌رنگ ایجادشده حل شود. برای حل شدن بهتر رسوب MTT، پلیت به مدت ۱۵ دقیقه روی دستگاه شیکر قرار گرفت. سپس مقدار غلظت ماده حل‌شده در ایزوپروپانول با استفاده از دستگاه آلیزا ریدر در طول موج ۵۴۵ نانومتر محاسبه شد. چاهک دارای سلول‌های

6. Phosphate Buffered Saline (PBS)

جدول ۱. غلظت‌های مختلف عصاره الکلی خیار دریایی (Hp)، نانو ذرات طلا (GNP) و ترکیب آن‌ها

گروه	H.p (µg/ml)	GNP (nM)
۱	۱۰	۰/۵
۲	۲۰	۱
۳	۴۰	۲
۴	۶۰	۴
۵	۸۰	۸
۶	۱۰۰	۱۶

درصد سمیت -۱۰۰= درصد زنده ماندن

سپس برای تعیین IC_{50} (حداقل غلظتی که باعث ایجاد ۵۰ درصد سمیت سلولی شود) با استفاده از درصد سمیت سلولی، باز هم از نرم‌افزار اکسل استفاده کردیم. سپس برای آنالیز آماری از تکنیک آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در صورتی که نتایج آن معنادار شود، باید از آزمون‌های تعقیبی برای مقایسه دو به دو استفاده شود. برای این منظور از آزمون توکی استفاده شد.

برای هر یک از غلظت‌ها و زمان‌ها مقادیر میانگین و انحراف معیار گزارش شد. سطح معناداری در این مطالعه به میزان ۱۰/۱ در نظر گرفته می‌شود. تحلیل‌های آماری نیز با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ اجرا شده است.

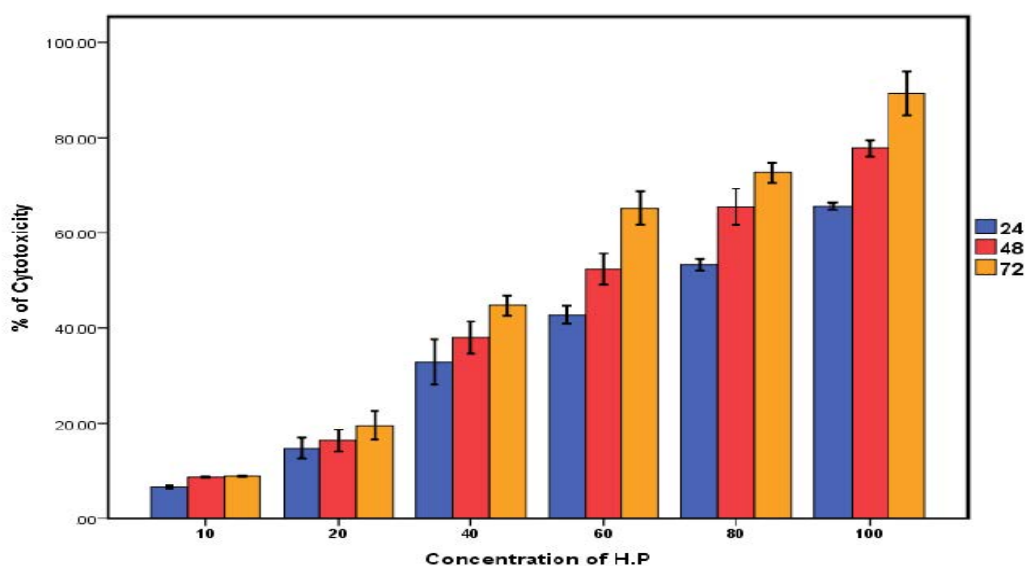
بیشتر، چگالی نوری^۶ بالاتری نسبت به چاهک با سلول کمتر نشان می‌دهد؛ بنابراین می‌توان چاهک دارای مقدار سلول بیشتر را مشخص کرد و با نمونه شاهد (محیط کشت RPMI شامل ۱۰ میکرولیتر فسفات بافر سالین) مقایسه کرد (جدول شماره ۱).

آنالیز آماری

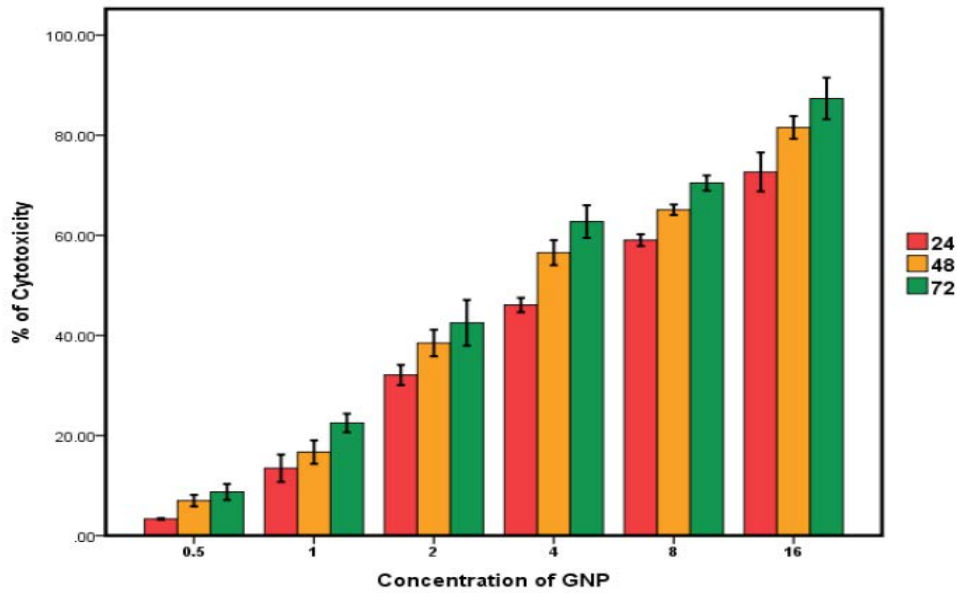
به منظور محاسبه درصد سمیت سلولی، هر یک از رقت‌های عصاره‌ها در برنامه اکسل از فرمول شماره ۱ استفاده شد:

جذب نمونه / جذب (۱-) = درصد سیتوتوکسیستنی ۱۰۰× (کنترل)

4. Optical Density (OD)



تصویر ۱. مقادیر سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی بر رده سلولی HepG2 در تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته هر داده حاصل حداقل ۳ تکرار؛ میزان انحراف معیار است.



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

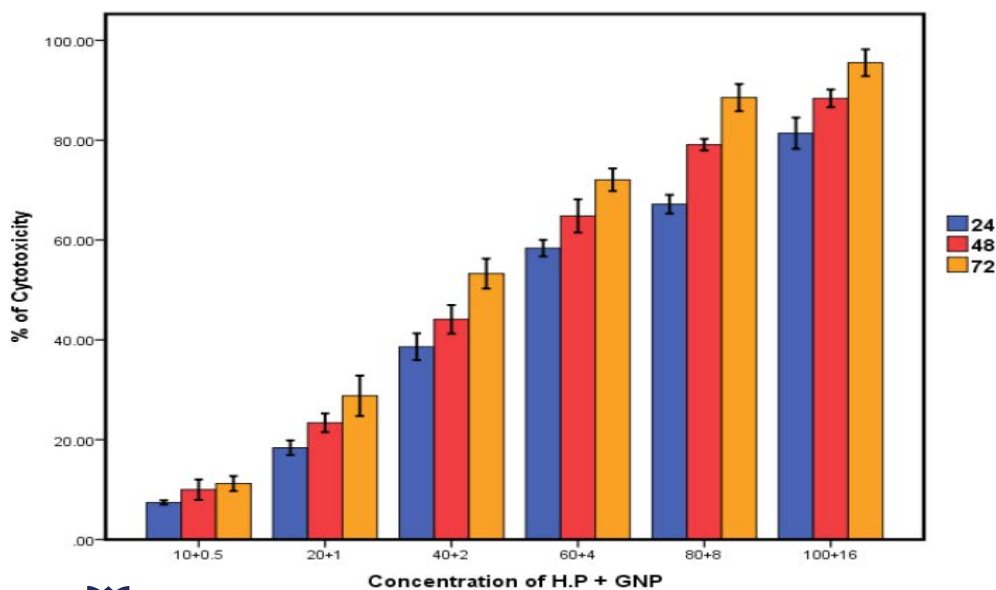
تصویر ۲. مقادیر سمیت سلولی نانو ذرات طلا بر رده سلولی HepG2 در تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته هر داده حاصل حداقل ۳ تکرار ±میزان انحراف معیار است.

یافته‌ها

افزایش یافته و بیشترین اثر سمیت پس از طی زمان ۷۲ ساعت دیده می‌شود (جدول شماره ۱).

بررسی اثر سمیت عصاره الکلی با غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر رده سلولی HepG2 با تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته انجام شد. مقادیر سمیت سلولی، به‌دست‌آمده از هر رقت در ۳ زمان گفته شده در

با افزایش غلظت عصاره از ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر درصد سمیت سلولی افزایش می‌یابد، به‌طوری که روند وابسته به غلظت در عصاره دیده می‌شود. همچنین روند وابسته به زمان نیز در عصاره مشاهده می‌شود، به نحوی که با افزایش مدت زمان تیمار سلول‌ها با عصاره‌ها، سمیت



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۳. مقادیر سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی به همراه نانو ذرات طلا بر رده سلولی HepG2 در تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته هر داده حاصل حداقل ۳ تکرار ±میزان انحراف معیار است.

جدول ۲. نتایج آنالیز واریانس و آزمون‌های تعقیبی

معیار	میانگین \pm انحراف معیار			غلظت / زمان	آزمون تعقیبی توکی
	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت		
$F=۲۹۸/۲۳$ $P=۰/۰۰۱$	$۸۸ \pm ۰/۱۱$	$۸۶ \pm ۰/۰۹$	$۶۵ \pm ۰/۲۳$	۱۰	آزمون تعقیبی توکی
$F=۸/۴۰$ $P=۰/۰۰۹$	$۱۹/۵ \pm ۲/۲۱$	$۱۶/۳ \pm ۱/۶۸$	$۱۴/۸ \pm ۱/۶۵$	۲۰	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها به جز ۴۸ و ۷۲ ($P=۰/۱۷۴$)
$F=۲۵/۱۹$ $P=۰/۰۰۴$	$۴۴/۵ \pm ۱/۵۸$	$۳۸/۸ \pm ۲/۵۱$	$۳۲/۶ \pm ۳/۵۱$	۴۰	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها به جز ۲۴ و ۴۸ ($P=۰/۳۸۴$)
$F=۱۲۸/۷۶$ $P=۰/۰۰۱$	$۶۵/۷ \pm ۲/۵۷$	$۵۲/۶ \pm ۲/۴۷$	$۴۳/۱ \pm ۱/۴۱$	۸۰	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها به جز ۴۸ و ۷۲ ساعت ($P=۰/۰۶۱$)
$F=۱۲۸/۵۳$ $P=۰/۰۰۱$	$۷۲/۵ \pm ۱/۸۵$	$۶۵/۴ \pm ۲/۸۲$	$۵۳/۲ \pm ۰/۸۷$	۱۰۰	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
$F=۱۵۲/۵۲$ $P=۰/۰۰۱$	$۸۹/۲ \pm ۳/۴۴$	$۷۷/۹ \pm ۱/۲۹$	$۶۵/۸ \pm ۰/۵۷$	۱۶	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
	$F=۱۰۴۶/۹۷$ $P=۰/۰۰۱$	$F=۸۹۷/۰۲$ $P=۰/۰۰۱$	$F=۸۴۰/۳۱$ $P=۰/۰۰۱$	معنادر P (آزمون واریانس)	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	آزمون تعقیبی توکی	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	

معناداری ($P < 0.05$) وجود دارد. همچنین در غلظت‌های مختلف بین زمان‌ها نیز تفاوت معناداری ($P < 0.05$) دیده می‌شود. بررسی اثر سمیت نانو ذرات طلا با غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱،

تصویر شماره ۱ آورده شده است.

نتایج آنالیز واریانس در جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که در هر یک از زمان‌ها بین غلظت عصاره الکلی خیار دریایی تفاوت

جدول ۳. نتایج آنالیز واریانس و آزمون‌های تعقیبی

معیار	میانگین \pm انحراف معیار			غلظت/زمان	آزمون تعقیبی توکی
	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت		
$F=۵۱/۹۱$ $P=۰/۰۰۱$	$۳/۳ \pm ۰/۱۱$	$۶/۸ \pm ۰/۸۵$	$۸/۷ \pm ۱/۲$	۰/۵	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
$F=۳۴/۳۳$ $P=۰/۰۰۹$	$۱۲/۴ \pm ۲/۰۴$	$۸/۶ \pm ۱/۷۵$	$۲۲/۷ \pm ۱/۳۹$	۱	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
$F=۲۳/۲۳$ $P=۰/۰۰۴$	$۳۲/۳ \pm ۱/۵۱$	$۳۸/۵ \pm ۱/۹۸$	$۴۲/۲ \pm ۲/۴۱$	۲	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
$F=۱۰۰/۷۸$ $P=۰/۰۰۱$	$۴۶/۱ \pm ۱/۰۷$	$۵۶/۴ \pm ۱/۸۷$	$۶۲/۸ \pm ۲/۴۳$	۴	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
$F=۱۸۲/۸۹$ $P=۰/۰۰۱$	$۵۹/۱ \pm ۰/۸۸$	$۶۵/۲ \pm ۰/۷۷$	$۶۹/۸ \pm ۱/۱۴$	۸	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
$F=۳۹/۳۵$ $P=۰/۰۰۱$	$۷۲/۲ \pm ۲/۹$	$۸۱/۵ \pm ۱/۶۸$	$۸۷/۳ \pm ۳/۰۹$	۱۶	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
	$F=۱۲۶۸/۳۴$ $P=۰/۰۰۱$	$F=۱۷۰۲/۲۳$ $P=۰/۰۰۱$	$F=۸۶۴/۴$ $P=۰/۰۰۱$	معنادر P (آزمون واریانس)	آزمون تعقیبی توکی
تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	آزمون تعقیبی توکی

جدول ۴. نتایج آنالیز واریانس و آزمون‌های تعقیبی

معنادر	میانگین ± انحراف معیار			غلظت / زمان	آزمون تعقیبی توکی
	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت		
F=۱۸/۸۴ P=۰/۰۰۱	۱۱/۳±۱/۱۳	۹/۸±۱/۵۳	۷/۵±۰/۳۲	۱۰۰+۰/۵	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها به جز ۷۲ و ۴۸ ساعت (P=۰/۲۲۴)
F=۳۲/۹۴ P=۰/۰۰۹	۲۸/۶±۳/۰۲	۲۲/۳±۱/۴	۱۸/۲±۱/۱	۲۰+۱	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
F=۶۰/۸۹ P=۰/۰۰۴	۵۳/۲±۲/۲۳	۴۴±۲/۱۳	۳۸/۵±۱/۹۹	۴۰+۲	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
F=۶۶/۷۸ P=۰/۰۰۱	۷۲/۱±۱/۶۹	۶۴/۸±۲/۴۹	۵۸/۵±۱/۲۳	۶۰+۴	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
F=۲۵۲/۸۲ P=۰/۰۰۱	۸۷/۴±۲/۰۲	۷۹/۱±۰/۸۷	۶۷/۲±۱/۳۹	۸۰+۸	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
F=۶۶/۶۳ P=۰/۰۰۱	۹۵/۴±۲/۰۱	۸۷/۵±۱/۳۲	۸۱/۲±۲/۲۳	۱۰۰+۱۶	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها
	F=۱۲۲۱/۸۶ P=۰/۰۰۱	F=۱۶۶۶/۳۳ P=۰/۰۰۱	F=۱۷۵۶/۸۲ P=۰/۰۰۱		P معنادر (آزمون واریانس)
	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها	تفاوت معنادر بین همه زمان‌ها		آزمون تعقیبی توکی

گونه‌های خیار دریایی برای دستیابی به پیش‌ماده‌های داروهای بیولوژیک می‌تواند مسیر مناسبی برای توسعه صنعت داروسازی باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر نانو ذره طلا و عصاره الکلی خیار دریایی بر رده سلولی سرطان کبد انجام شد.

تحقیقات وسیع انجام شده در این زمینه نشان داد که این خواص درمانی به دلیل حضور ترکیبات تری ترپن گلیکوزیدی است. این ترکیبات طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی مانند فعالیت ضد قارچی، سمیت سلولی، همولیتیک و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی را از خود نشان می‌دهند. بیشتر داده‌های منتشر شده حاکی از آن است که فعالیت ضد سرطانی و سمیت تری ترپن‌های گلیکوزید میان دیگر فعالیت‌های آن‌ها ارجح است.

بسیاری از ترکیبات تری ترپن گلیکوزیدی با پتانسیل دارویی در درمان سرطان شناخته شده‌اند که سمیت آن‌ها در مطالعات بیوشیمیایی به اثبات رسیده که این خاصیت به دلیل کشندگی سلول‌ها در درمان سرطان به کار گرفته شده است [۴۳].

به علاوه، رودریگوئز و همکاران، ۵ تری ترپن ساپونین از گونه خیار دریایی Forskalii Holothuria را جداسازی کرده و فعالیت‌های سیتوتوکسیک و ضد ویروس آن‌ها را گزارش کردند [۴۴]. فعالیت سیتوتوکسیک گلیکوزیدهای تری ترپن ساپونین نتیجه توانایی آن‌ها در تشکیل گروه‌هایی با استرول‌های غشایی که به منافذ و کانال‌های یونی متصل هستند، است. این وضعیت اسمز سلولی را تخریب کرده و در نتیجه، غشای سلولی را از بین

۲، ۴، ۸ و ۱۶ نانومولار) بر رده سلولی HepG2 با تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته انجام شد. مقادیر سمیت سلولی به دست آمده از هر رقت در تصویر شماره ۲ آورده شده است.

نتایج آنالیز واریانس در جدول شماره ۳ نشان می‌دهد در هر یک از زمان‌ها بین غلظت نانو ذره طلا تفاوت معناداری ($P < 0/05$) وجود دارد. همچنین در غلظت‌های مختلف بین زمان‌ها نیز تفاوت معناداری ($P < 0/05$) دیده می‌شود.

بررسی اثر سمیت عصاره الکلی با غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به همراه غلظت‌های مختلف نانوذره (۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ نانومولار) بر رده سلولی HepG2 با تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته انجام شد. مقادیر سمیت سلولی به دست آمده از هر رقت در ۳ زمان گفته شده در تصویر شماره ۳ آورده شده است.

نتایج آنالیز واریانس در جدول شماره ۴ نشان می‌دهد در هر یک از زمان‌ها بین غلظت نانو ذره طلا و عصاره الکلی خیار دریایی تفاوت معناداری ($P < 0/05$) وجود دارد. همچنین در غلظت‌های مختلف بین زمان‌ها نیز تفاوت معناداری ($P < 0/05$) دیده می‌شود.

بحث

خیارهای دریایی از دیرباز به دلیل کاربردهای درمانی در طب سنتی چین مورد توجه بوده‌اند؛ بنابراین بررسی خواص بیولوژیک

می‌برد [۴۵].

یانگ و همکاران، اسید چرب منشعب و اسید ۱۲-متیل تترادکانوئید را از عصاره خیار دریایی جداسازی کرده و اثرات ضد ازدیاد آن را علیه سلول‌های سرطانی پروستات (PC3) به وسیله قیاس با مرگ سلولی (آپتوز) اثبات کردند. همچنین ژانگ و همکاران، دو تری ترپن جداسازی شده از گونه Pseudocolochi-rus Violaceus را بر رده‌های سلولی HCT-116 و MKN-45 بررسی کردند که اثرات سیتوتوکسیک معناداری نشان داد. برای کاربردهای تصویربرداری سلولی و بیولوژیکی و همچنین برای کاربردهای درمانی بر مبنای ویژگی‌های نوری نانو ذرات انتخاب نوع نانو ذره مهم است.

دوایسو و همکاران، از تئوری مای و تئوری بازده جذب، پراکندگی و همچنین طول موج تشدیدهای نوری برای نانو ذرات طلا را بررسی کردند. طیف‌های محاسبه شده نشان داد ویژگی‌های اپتیکی نانو ذرات به اندازه نانو ذرات بستگی دارد. با افزایش اندازه نانو ذرات طلا از ۲۰ تا ۸۰ نانومتر، میزان خاموش‌سازی و همچنین پراکندگی به سرعت افزایش می‌یابد. برای مقایسه کارایی نانو ذرات با اندازه متفاوت برای کاربردهای پزشکی با زیستی گوناگون، مقطع عرضی نوری به ازای هر میکرون محاسبه می‌شود.

گروهی از محققان دانشگاه کانزاس با ایجاد دمای بالا درون بدن توسط نانو ذرات به مبارزه با سرطان پرداخته‌اند. این محققان از نانو ذرات آهن / اکسید آهن برای گرم کردن یا ایجاد حفره در سلول‌های سرطانی و کشتن آن‌ها بهره برده‌اند. نانو ذرات طلا به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد، به عنوان یکی از محبوب‌ترین ترکیبات در کاربردهای پزشکی، به خصوص در درمان‌های ضد سرطانی مطرح شده‌اند. بسیاری از روش‌های سنتز نانو ذرات طلا به ما این امکان را می‌دهند که آن‌ها را با معماری و مشخصات دلخواه به دست آوریم. علاوه بر آن، قابلیت آن‌ها در عامل دار شدن و اصلاح سطح، دسترس پذیری زیستی و خصوصیات ایمونولوژیک موجه آن‌ها، از دیگر دلایل استفاده آن‌ها در حوزه پزشکی است.

با استفاده از حامل‌هایی مانند نانو ذرات طلا می‌توان خصوصیت آنتی ژنیک آنتی‌ژن‌های ضعیف را افزایش داد تا با تحریک سیستم ایمنی در بدن پاسخ ایمنی ایجاد شود. ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی فراوان و متنوع نانو ذرات طلا، آن‌ها را از نانو ذرات دیگر مجزا کرده است و به خصوص در ارسال دارو، تعدیل و تنظیم فرایند آنژیوژنز و به عنوان عوامل نابودکننده بافت توموری در شرایط القای گرما می‌توان به آن‌ها امیدوار بود.

نابودی تومور با استفاده از نانو ذرات طلا فقط محدود به یک روش نیست و علاوه بر فوتوترمال‌تراپی، فوتودینامیک‌تراپی و نابودی با فرکانس رادیویی روش‌های متنوعی برای بسط تحقیقات وجود دارد. نانو ذرات طلا به دلیل پدیده رزونانس پلاسمون سطحی

(حرکت جمعی الکترون‌های هدایتی)، به شدت نور را جذب کرده و آن را به انرژی حرارتی تبدیل می‌کنند؛ بنابراین زمانی که توده کوچکی از ذرات طلا توسط فرکانس مشخصی از لیزر تحریک می‌شوند، شروع به گرم کردن میدانی با شعاع هزار برابر بزرگ‌تر از اندازه خود می‌کنند که این گرمای تولیدشده باعث ضربه زدن به سلول‌های توموری و منهدم کردن آن‌ها می‌شود [۴۶].

آنتی بادی PDL1 و مهارکننده TGF- β و نانو ذرات طلا ترکیب شده‌اند که بتوانند مجموعه‌ای را تشکیل دهند و به‌طور انتخابی سلول‌های سرطانی روده بزرگ را هدف قرار داده و در تومورها تجمع کند. این مجموعه علاوه بر جلوگیری از رشد تومور اولیه، متاستاز دوردست سرطان کولورکتال را با افزایش اثر دیستال به واسطه ایمونوتراپی هم‌افزایی مهار می‌کند [۴۷].

طبق بررسی‌های انجام شده گونه *Holothuria Parva* تا کنون مورد هیچ‌گونه بررسی برای تعیین خواص دارویی و درمانی قرار نگرفته است و به این لحاظ ترکیبات به دست آمده از آن نیز در انحصار ملی خواهد بود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد رده سلولی سرطان کبد Hep-G2 که تحت تأثیر عصاره الکلی خیار دریایی و نانو ذرات طلا قرار گرفته بود، دچار تغییرات مشخصی شد. (در حالی که این تغییرات بر سلول‌های نرمال که گروه کنترل را تشکیل می‌دادند، اثر چندانی نداشت).

این تغییرات وابسته به زمان و غلظت‌های مختلف عصاره الکلی و نانو ذرات طلا بود، به طوری که با افزایش زمان و در غلظت‌های بالاتر تأثیر سمیت بر رده سلولی Hep-G2 و مهار رشد سلولی مشخص بود. با افزایش غلظت عصاره الکلی درصد مرگ سلولی افزایش یافت، به طوری که بیشترین میزان مرگ سلولی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. میزان کشندگی برای این غلظت بر رده سلولی Hep-G 2 در ۴۸ ساعت ۷۷/۹ درصد و در ۷۲ ساعت ۸۹/۲ درصد است.

پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت آنکوباسیون رده سلولی Hep-G2 با نانو ذرات طلا، با افزایش غلظت، سمیت سلولی افزایش یافته که بیشترین میزان مرگ سلولی در غلظت ۱۶ نانومولار بر میلی‌لیتر مشاهده شد. با افزایش غلظت نانو ذرات طلا و همچنین افزایش مدت زمان آنکوباسیون تفاوت معنادار ($P < 0/05$) بین تمام زمان‌ها وجود دارد. روند افزایش مرگ سلولی با افزایش زمان آنکوباسیون تا ۷۲ ساعت ادامه پیدا کرد و بیشترین مرگ سلولی دیده شد. در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با افزایش غلظت نانو ذرات طلا تفاوت معنادار ($P < 0/05$) بین تمام غلظت‌ها وجود دارد.

همان‌طور که در تصویرها مشاهده شد، با افزایش غلظت عصاره الکلی به همراه نانو ذرات طلا درصد مرگ سلولی افزایش یافت و کاملاً اثر سنیرژیک این ۲ ماده بر سلول‌های سرطانی مشخص شد، به طوری که بیشترین میزان مرگ سلولی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در این پژوهش با فرض

حضور ترکیبات تری ترپن گلیکوزیدی عامل سمیت، ۳ فاکتور نوع رده سلولی، زمان مجاورت عصاره با سلول و نوع عصاره به عنوان شاخص‌هایی برای درک رفتار سمیت سلولی ایجاد شده توسط عصاره‌ها در نظر گرفته شد.

بررسی تأثیر مدت زمان انکوباسیون برای عصاره متانولی بر رده سلولی Hep-G2 وابستگی به زمان را به خوبی نشان داد، به نحوی که با افزایش زمان انکوباسیون، افزایش در میزان اثرات سیتوتوکسیک مشاهده شد و بیشترین میزان سمیت پس از مدت زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت و بر این رده سلولی دیده شد. به نظر می‌رسد نانو ذرات طلا چون حالت رزونانس دارند و می‌توانند حامل‌های خوبی برای افزایش سطح باشند و باعث قوی‌تر شدن آنتی ژن‌های ضعیف شوند و در نتیجه اثربخشی و اثر سنیرژیک بهتری با عصاره خیار دریایی داشتند و سمیت بیشتری را در سلول‌های سرطانی کبد ایجاد کردند.

نتیجه‌گیری

به دلیل اثربخشی قابل ملاحظه سمیت سلولی عصاره الکلی خیار دریایی و نانو ذرات طلا بر رده سلولی سرطان کبد، ترکیبات این گونه می‌توانند پس از تخلیص به عنوان کاندیدای مناسبی برای تولید داروی ضد سرطان استفاده شوند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه با کد ۲۲۵۳۰۵۶۰۹۶۱۰۵۰ است که در دانشگاه علوم پزشکی آزاد تهران انجام شده و در آن تمام منشورهای اخلاقی رعایت شده است.

حامی مالی

این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های دولتی، خصوصی و غیرانتقاعی دریافت نکرده است.

مشارکت‌نویسندگان

نویسندگان به همان اندازه در تهیه این مقاله مشارکت داشتند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از همه کسانی که در این پژوهش آن‌ها را یاری داده‌اند، اعلام می‌کنند.

References

- [1] Hanahan D. Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cancer Discov.* 2022; 12(1):31-46. [DOI:10.1158/2159-8290.CD-21-1059] [PMID]
- [2] Oberndorfer F, Müllauer L. Molecular pathology of lung cancer: Current status and perspectives. *Curr Opin Oncol.* 2018; 30(2):69-76. [DOI:10.1097/CCO.000000000000429] [PMID]
- [3] Chu X, Xue P, Zhu S. Management of chemotherapy dose intensity for metastatic colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2022; 23(5):141. [DOI:10.3892/ol.2022.13261] [PMID]
- [4] Rockey DC, Friedman SL. Fibrosis regression after eradication of hepatitis C virus: From bench to bedside. *Gastroenterology.* 2021; 160(5):1502-20.e1. [DOI:10.1053/j.gastro.2020.09.065] [PMID]
- [5] Neuberger J, Patel J, Caldwell H, Davies S, Hebditch V, Hollywood C, et al. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice from the British society of gastroenterology, the royal college of radiologists and the royal college of pathology. *Gut.* 2020; 69(8):1382-403. [DOI:10.1136/gutjnl-2020-321299] [PMID]
- [6] Barham WB, Figueroa R, Phillips IA, Hyams KC. Chronic liver disease in Peru: Role of viral hepatitis. *J Med Virol.* 1994; 42(2):129-32. [DOI:10.1002/jmv.1890420206] [PMID]
- [7] Attal N, Marrero E, Thompson KJ, McKillop IH. Role of AMPK-SREBP signaling in regulating fatty acid binding-4 (FABP4) expression following ethanol metabolism. *Biology.* 2022; 11(11):1613. [DOI:10.3390/biology11111613] [PMID]
- [8] Faulkner DJ. Academic chemistry and the discovery of bioactive marine natural products. In: Attaway DH, Zaborsky OR, editors. *Pharmaceutical and bioactive natural products.* Berlin: Springer; 1993. [DOI:10.1007/978-1-4899-2391-2_13]
- [9] National Research Council. *Guidance for the description of animal research in scientific publications.* Washington: National Academies Press; 2011. [Link]
- [10] Koh EG. Do scleractinian corals engage in chemical warfare against microbes? *J Chem Ecology.* 1997; 23(2):379-98. [DOI:10.1023/B:JOEC.0000006366.58633.f4]
- [11] Matulja D, Grbčić P, Bojanić K, Topić-Popović N, Čož-Rakovac R, Laclef S, et al. Chemical evaluation, antioxidant, antiproliferative, anti-inflammatory and antibacterial activities of organic extract and semi-purified fractions of the adriatic sea fan, *eunicella cavolini*. *Molecules.* 2021; 26(19):5751. [DOI:10.3390/molecules26195751] [PMID]
- [12] Silvester MMB, Adimy PSS, Chellappa JP, Mani PA, Rajam BRM. Investigation of Lectins from Anomuran and Brachyuran Crabs. In: *Aquatic lectins: Elumalai P, Vaseeharan B, Lakshmi S, editors. Immune defense: Biological recognition and molecular advancements.* Berlin: Springer; 2022. [DOI:10.1007/978-981-19-0432-5_6]
- [13] Findlay C, Smith VJ. Antimicrobial factors in solitary ascidians. *Fish Shellfish Immunol.* 1995; 5(8):645-58. [DOI:10.1016/S1050-4648(95)80047-6]
- [14] Stokes RB. Attribution of the taxon name Echinodermata to Klein, 1778. *Zootaxa.* 202; 5061(1):199-200. [DOI:10.11646/zootaxa.5061.1.13] [PMID]
- [15] Keipour S, Emtiazjoo M, Ghaderian SMH, Eghtesadi Araghi P. Cytotoxic and antibacterial activities of *Holothuria* (Mertensiothuria) *leucospilota* extracts. *Iran J Fish Sci.* 2023; 22(1):138-55. [DOI:10.22092/ijfs.2023.128642]
- [16] Fredalina BD, Ridzwan BH, Abidin AA, Kaswandi MA, Zaiton H, Zali I, et al. Fatty acid compositions in local sea cucumber, *stichopus chloronotus*, for wound healing. *Gen Pharmacol.* 1999; 33(4):337-40. [DOI:10.1016/S0306-3623(98)00253-5] [PMID]
- [17] Renda G, Gökkaya İ, Şöhretoğlu D. Immunomodulatory properties of triterpenes. *Phytochem Rev.* 2022; 21(2):537-63. [DOI:10.1007/s11101-021-09785-x] [PMID]
- [18] Li M, Gao Y, Qi YX, Song ZY, Li ZB, Lin YT, et al. Assessment of the nutritional value of cultured sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *J Aquat Food Prod Technol.* 2021; 30(7):868-79. [DOI:10.1080/10498850.2021.1949769]
- [19] Wen J, Hu C, Fan S. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. *J Sci Food Agric.* 2010; 90(14):2469-74. [DOI:10.1002/jsfa.4108] [PMID]
- [20] Ru R, Guo Y, Mao J, Yu Z, Huang W, Cao X, et al. Cancer cell inhibiting sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) protein as a novel anti-cancer drug. *Nutrients.* 2022; 14(4):786. [DOI:10.3390/nu14040786] [PMID]
- [21] Vieira RP, Mulloy B, Mourão PA. Structure of a fucose-branched chondroitin sulfate from sea cucumber. Evidence for the presence of 3-O-sulfo-beta-D-glucuronosyl residues. *J Biol Chem.* 1991; 266(21):13530-6. [DOI:10.1016/S0021-9258(18)92730-4] [PMID]
- [22] Wang H, He D, Duan L, Lv L, Gao Q, Wang Y, et al. In vivo anticoagulant and antithrombic activity of depolymerized glycosaminoglycan from *apostichopus japonicus* and dynamic effect-exposure relationship in rat plasma. *Mar Drugs.* 2022; 20(10):631. [DOI:10.3390/md20100631] [PMID]
- [23] Rahman MA, Ismail M, Parvez M, Asadujjaman M, Ashik AA, Molla MHR. Echinoderm fisheries: Their culture, conservation, bioactive compounds and therapeutic applications. *J Biol Stud.* 2022; 5(3):413-43. [Link]
- [24] Cong L, Yang X, Wang X, Tada M, Lu M, Liu H, et al. Characterization of an i-type lysozyme gene from the sea cucumber *Stichopus japonicus*, and enzymatic and nonenzymatic antimicrobial activities of its recombinant protein. *J Biosci Bioeng.* 2009; 107(6):583-8. [DOI:10.1016/j.jbiosc.2009.01.016] [PMID]
- [25] Costa BB, Gianelli JLD, Moreira TA, Soares AR, Glauser BF, Mourão PAS, et al. Partial characterization and anticoagulant activity of sulfated galactan from the green seaweed *Halimeda opuntia*. *An Acad Bras Cienc.* 2023; 95(2):e20211002. [DOI:10.1590/0001-3765202320211002] [PMID]
- [26] Yurasakpong L, Apisawetakan S, Pranweerapaiboon K, Sobhon P, Chaithirayanon K. *Holothuria scabra* Extract Induces cell apoptosis and suppresses warburg effect by down-regulating Akt/mTOR/HIF-1 Axis in MDA-MB-231 breast cancer cells.

- Nutr Cancer. 2021; 73(10):1964-75. [DOI:10.1080/01635581.2020.1814825] [PMID]
- [27] Mamelona J, Pelletier E, Girard-Lalancette K, Legault J, Karboune S, Kermasha S. Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of Atlantic sea cucumber, *Cucumaria frondosa*. Food Chem. 2007; 104(3):1040-7. [DOI:10.1016/j.foodchem.2007.01.016]
- [28] Ghanbari R, Ebrahimpour A, Abdul-Hamid A, Ismail A, Saari N. *Actinopyga lecanora* hydrolysates as natural antibacterial agents. Int J Mol Sci. 2012; 13(12):16796-811. [DOI:10.3390/ijms131216796] [PMID]
- [29] Hossain A, Dave D, Shahidi F. Northern sea cucumber (*Cucumaria frondosa*): A potential candidate for functional food, nutraceutical, and pharmaceutical sector. Mar Drugs. 2020; 18(5):274. [DOI:10.3390/md18050274] [PMID]
- [30] Ahmed MR, Venkateshwarlu U, Jayakumar R. Multilayered peptide incorporated collagen tubules for peripheral nerve repair. Biomaterials. 2004; 25(13):2585-94. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2003.09.075] [PMID]
- [31] Bordbar S, Anwar F, Saari N. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods—a review. Mar Drugs. 2011; 9(10):1761-805. [DOI:10.3390/md9101761] [PMID]
- [32] Akbarzadeh-Khiavi M, Torabi M, Olfati AH, Rahbarnia L, Saifary A. Bio-nano scale modifications of melittin for improving therapeutic efficacy. Expert Opin Biol Ther. 2022; 22(7):895-909. [DOI:10.1080/14712598.2022.2088277] [PMID]
- [33] Grossman JH, McNeil SE. Nanotechnology in cancer medicine. Phys Today. 2012; 65(8):38. [DOI:10.1063/PT.3.1678]
- [34] Pustovalov V, Babenko V. Optical properties of gold nanoparticles at laser radiation wavelengths for laser applications in nanotechnology and medicine. Laser phys lett. 2004; 1(10):516-20. [DOI:10.1002/lapl.200410111]
- [35] Kus-Liškiewicz M, Fickers P, Ben Tahar I. Biocompatibility and cytotoxicity of gold nanoparticles: Recent advances in methodologies and regulations. Int J Mol Sci. 2021; 22(20):10952. [DOI:10.3390/ijms222010952] [PMID]
- [36] D'Acunto M, Cioni P, Gabellieri E, Presciuttini G. Exploiting gold nanoparticles for diagnosis and cancer treatments. Nanotechnology. 2021; 32(19):192001. [DOI:10.1088/1361-6528/abe1ed] [PMID]
- [37] Wang J, Wu X, Shen P, Wang J, Shen Y, Shen Y, et al. Applications of inorganic nanomaterials in photothermal therapy based on combinational cancer treatment. Int J Nanomedicine. 2020; 15:1903-14. [DOI:10.2147/IJN.S239751] [PMID]
- [38] Pal A. Photochemical synthesis of gold nanoparticles via controlled nucleation using a bioactive molecule. Mater Lett. 2004; 58(3-4):529-34. [DOI:10.1016/S0167-577X(03)00540-8]
- [39] Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006; 160(1):1-40. [DOI:10.1016/j.cbi.2005.12.009] [PMID]
- [40] Salata O. Applications of nanoparticles in biology and medicine. J Nanobiotechnology. 2004; 2(1):3. [DOI:10.1186/1477-3155-2-3] [PMID]
- [41] Clark AM, Rowe FWE. Monograph of shallow water indo west pacific echinoderms. London: British Museum; 2009. [Link]
- [42] Khoramizadeh MR, Falak R. [Fundamentals and preliminary principles of cell culture techniques (Persian)]. Tehran: Tehran University of Medical Sciences; 2009. [Link]
- [43] Kim SK, Himaya SW. Triterpene glycosides from sea cucumbers and their biological activities. Adv Food Nutr Res. 2012; 65:297-319. [DOI:10.1016/B978-0-12-416003-3.00020-2] [PMID]
- [44] Althunibat OY, Ridzwan BH, Taher M, Daud JM, Jauhari Arief Ichwan S, Qaralleh H. Antioxidant and cytotoxic properties of two sea cucumbers, *Holothuria edulis* lesson and *Stichopus horrens* Selenka. Acta Biol Hung. 2013; 64(1):10-20. [DOI:10.1556/ABiol.64.2013.1.2] [PMID]
- [45] Chludil HD, Murray AP, Seldes AM, Maier MS. Biologically active triterpene glycosides from sea cucumbers (Holothuroidea, Echinodermata). Stud nat prod chem. 2003; 28(Part I):587-615. [DOI:10.1016/S1572-5995(03)80150-3]
- [46] Moustafa RKA, Wu Y, El-Sayed M. Gold-Nanoparticle-assisted plasmonic photothermal therapy advances toward clinical application. J Phys Chem C. 2019; 123(25):15375-93. [DOI:10.1021/acs.jpcc.9b01961]
- [47] Wang S, Song Y, Cao K, Zhang L, Fang X, Chen F, et al. Photothermal therapy mediated by gold nanocages composed of anti-PDL1 and galunisertib for improved synergistic immunotherapy in colorectal cancer. Acta Biomater. 2021; 134:621-32. [DOI:10.1016/j.actbio.2021.07.051] [PMID]