

## بررسی تاثیر عصاره اتانولی آلوئه ورا بر برخی از بیومارکرهای بیماری های

### قلبی- عروقی در موش های تیمار شده با نانوذره دی اکسید تیتانیوم

فرشته جوان معصومی<sup>۱</sup>، ژیلا طلعت مهرآباد<sup>۲</sup>، رقیه ببری بناب<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، بناب، ایران. [javanfereshteh@gmail.com](mailto:javanfereshteh@gmail.com)

۲- استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، بناب، ایران.

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، بناب، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۵

#### چکیده

زمینه و هدف: بیماری های قلبی- عروق به ویژه آترواسکلروزیس نمونه ای از بیماری های التهابی می باشد که نقش تنش اکسیداتیو و اکسیداسیون لیپیدها در آن به خوبی اثبات شده است. با توجه به ایجاد آسیب های فراوان به وسیله رادیکال های آزاد، در دنیای امروزی مطالعات فراوانی روی گیاهانی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشند صورت می پذیرد. آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که باعث مهار سوبستراهای در معرض اکسیداسیون می شوند. در این تحقیق اثر عصاره اتانولی آلوئه ورا بر برخی از بیومارکرهای بیماری قلبی- عروقی در موش های تیمار شده با نانوذره دی اکسید تیتانیوم مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه از ۳۰ سر موش آزمایشگاهی در ۶ گروه استفاده شد. بر طبق برنامه، موش ها نانوذره دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و عصاره اتانولی گیاه آلوئه ورا با غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم را به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند. سطوح پلاسمایی مالون دی آلدئید، سیالیک اسید تام، تروپونین I و کراتین کیناز MB در انتهای دوره تیماردهی مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی آلوئه ورا با استفاده از رادیکال آزاد DPPH و نیز میزان فنل تام آن مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان داد که تجویز خوراکی نانوذره دی اکسید تیتانیوم از طریق تحریک فعالیت اکسیداتیو باعث افزایش معنی داری در سطوح پلاسمایی مالون دی آلدئید گردید. سطوح پلاسمایی تروپونین I، کراتین کیناز MB و سیالیک اسید تام نیز به طور معنی داری افزایش یافت. با افزایش غلظت عصاره آلوئه ورا، میزان فنل تام و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره افزایش نشان داد. تجویز خوراکی عصاره به طور معنی داری سطوح پلاسمایی بیومارکرهای آسیب قلبی- عروقی را در موش های تیمار شده با نانو ذره دی اکسید تیتانیوم کاهش داد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده عصاره اتانولی آلوئه ورا به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان قادر به کاهش سطوح آسیب های قلبی- عروقی در موش های تیمار شده با نانو ذره دی اکسید تیتانیوم می باشد.

واژه های کلیدی: نانوذره دی اکسید تیتانیوم، آلوئه ورا، بیماری قلبی- عروقی، مالون دی آلدئید، سیالیک اسید تام، تروپونین I، کراتین کیناز MB.

#### مقدمه

فرضیه های مطرح شده نسبت به آسیب های احتمالی حاصل از فناوری نانو به طرز تهدید آمیزی باعث کنندی روند رشد و توسعه فناوری نانو خواهد شد؛ مگر آن که اطلاعات صحیح، بی طرفانه و قانون مند درباره چستی خطر ها و چگونگی پرهیز از آن ها منتشر شود (۲۷، ۶، ۲). یکی از این ترکیبات، نانو ذره دی اکسید تیتانیوم می-

آلودگی های ناشی از نانو ذرات امروزه به عنوان مساله ای جدید و خطرناک مطرح شده است. نانو ذرات موادی هستند که امروزه کاربردهای فراوانی را در صنایع، کشاورزی و پزشکی به خود اختصاص داده اند. ماندگاری بالای این مواد در محیط و زنجیره غذایی موجب تداوم مسمومیت های ناشی از آن ها می شود.

باشد. دی اکسید تیتانیوم پودر سفید رنگی است (۳) که به دلیل دارا بودن ویژگی های منحصر به فردی که دارد در تولید انواع رنگ، لوازم آرایشی و بهداشتی، ساخت سرامیک، ساخت فتوکاتالیست ها، تصفیه آب و فاضلاب، فیلتراسیون گازها و بسیاری از صنایع دیگر کاربرد دارد (۱۴). تقریباً ۹۵ درصد تیتانیوم به صورت دی اکسید تیتانیوم مورد استفاده قرار می گیرد (۵). به نظر می رسد که نانوذره دی اکسید تیتانیوم فرآیندهای مختلفی را در بدن تحت تاثیر قرار می دهد، ولی یکی از مهم ترین تاثیراتی که این ذرات بر بدن می گذارند، تولید رادیکال های آزاد و تحریک فعالیت اکسیداتیو می باشد (۱۶، ۵). در شرایط طبیعی بین تولید و حذف گونه های فعال اکسیژن دار تعادل وجود دارد. عدم تعادل در این فرآیند موجب استرس اکسیداتیو خواهد شد (۱۳). در این حالت، بسیاری از ماکرومولکول ها آسیب می بینند و فرآیند پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون DNA، اکسیداسیون پروتئین ها، غیرفعال شدن آنزیم ها و اختلال عملکرد غشاء های مختلف، اتفاق می افتد. این نانوذره در محیط سلول با مولکول های آب واکنش داده و از طریق گیراندازی الکترونی، رادیکال آزاد تولید می کند. هم چنین در میتوکندری سلول تجمع یافته و باعث اختلال در زنجیره الکترونی و تخریب فعالیت میتوکندری می گردد (۸). شواهد موجود نشان می دهد که استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیش از یک صد بیماری مختلف دخالت دارد (۱). بیماری های قلبی- عروقی و به ویژه آترواسکلروزیس، نمونه ای از بیماری های التهابی می باشد که نقش فعالیت اکسیداتیو و فرآیندهای التهابی در آن به خوبی مشخص شده است (۱۱). سه تئوری عمده در مورد ایجاد آترواسکلروزیس وجود دارد که عبارتند از: اکسیداسیون لیپیدها و ایجاد آسیب توسط آن ها، مهاجرت و پرولیفراسیون ماکروفاژها، پرولیفراسیون عضلات صاف (۱۲). پذیرفته شده ترین مکانیسم موجود

برای این بیماری، ایجاد پلاک ها و زخم در عروق می باشد که توسط رادیکال های آزاد و اکسیداسیون لیپیدها و مهاجرت ماکروفاژها میانجی گری می گردد. دو پیامد عمده که به دنبال آترواسکلروزیس ایجاد می شوند عبارتند از بیماری ایسکمی قلبی و انفارکتوس میوکارد است (۲۰، ۱۹). با توجه به ایجاد آسیب های فراوان توسط رادیکال های آزاد، در دنیای امروزی مطالعات فراوانی بر روی گیاهانی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشند صورت می پذیرد تا به عنوان عوامل دارویی یا کمکی توسط افراد در معرض خطر مورد استفاده قرار گیرد. آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که باعث مهار سوسترهای در معرض اکسیداسیون می گردند. گیاه آلوئه ورا از خانواده Liliaceae یکی از گیاهان دارویی شناخته شده می باشد که خواص آنتی اکسیدانی بسیار بالایی دارد و قادر به کاهش سطح تولید رادیکال های آزاد در بدن می باشد (۱۰). آلوئه ورا گیاه شبه کاکتوس علفی چند ساله گرمسیری است که به سهوات در نواحی گرم و خشک آفریقا، آمریکای شمالی، اروپا و آسیا می روید (۷). آلوئه ورا حاوی ویتامین های مهم آنتی- اکسیدانی A، C، E، ویتامین های گروه B و ترکیبات پلی فنولیک می باشد. از این گیاه می توان به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی با پتانسیل بالا جهت کاهش سطح اکسیداسیون چربی ها و آسیب های ناشی از تنش های اکسیداتیو استفاده کرد (۱۳، ۷). به طور کلی باتوجه به کاربردهای زیاد نانو مواد در صنایع مختلف و وجود فرضیه های زیادی بر تاثیرات مخرب نانوذرات بر روی موجودات زنده، بررسی و پژوهش در این زمینه از اهمیت زیادی برخوردار است. برای سنجش آسیب قلبی و اختلال در عملکرد آن شاخص های متعددی مورد پایش قرار گرفته اند که تروپونین های قلبی و کراتین کیناز از مهم ترین شاخص های آسیب میوکارد می باشند (۴). کراتین کیناز از سلول های میوکارد آسیب دیده ترشح

گروه قرار گرفتند و علاوه بر دی اکسید تیتانیوم، غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آلوئه ورا را به صورت گاوژ معدی دریافت کردند (۹). تیماردهی به مدت ۱۴ روز ادامه یافت. برای تهیه عصاره اتانولی آلوئه ورا از دستگاه سوکسله استفاده شد، برگ های گوشتی گیاه آلوئه ورا پس از تایید توسط یک گیاه شناس، در هوای آزاد خشک و به تکه های کوچک تقسیم شد. ۲۰۰ گرم از تکه ها در داخل کارتوش قرار گرفته و به دستگاه سوکسله وصل شد و بعد از اضافه نمودن مقدار ۱ لیتر اتانول ۹۶ درصد به نمونه، استخراج طی ۶ ساعت انجام پذیرفت (۲۶). محلول به دست آمده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ عبور و نمونه ی به دست آمده در داخل آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از گذشت ۷۲ ساعت، عصاره خشک جمع آوری و تا پایان دوره ی آزمایش در ظرف شیشه ای قهوه ای رنگ و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای تهیه نانو ذره دی اکسید تیتانیوم از روش سل ژل استفاده شد؛ در این روش تیتانیوم تترا ایزوپروپوکساید (TTIP)، متانول و آب را با نسبت های مولی ۱، ۱، ۶۵ برداشته، در ابتدا TTIP را به متانول اضافه نموده، در شرایط رفلاکس در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت محلول هم زده می شود، آب در طول ۳ ساعت، زمان انجام واکنش قطره قطره به محلول گرم متانول و TTIP اضافه گردید. سوسپانسیون حاصل در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک و پودر به دست آمده در دمای ۴۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت کلسینه و بعد از خارج کردن از کوره آن را در هاون به طور کامل ساییده تا پودر نانوذرات  $TiO_2$  به دست آید. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه آلوئه ورا بر علیه رادیکال آزاد DPPH (۱۰۱ دی فیل ۲ پیکریل هیدرازیل) سنجش شد. بررسی محتوای فنولی عصاره با استفاده از روش Folin-Ciocalteu انجام گرفت.

می شود و ۴ ساعت بعد از انفارکتوس میزان آن افزایش می یابد و در طی ۱۲ الی ۲۴ ساعت به حداکثر میزان خود می رسد (۲۲). میوکارد حاوی دستجاتی از رشته های عضلانی مختلط می باشد. کار قلب با انقباض و استراحت متناوب این رشته های عضلانی انجام می شود. این رشته ها، حاوی پروتئین های انقباضی اکتین و میوزین هستند. هم چنین آن ها دارای تروپونین هستند که تنظیم کننده انقباض می باشند. دو نوع از این تروپونین ها (تروپونین-های T، I) شاخص های قطعی آسیب قلبی می باشند. مقدار سیالیک اسید سرم در بیماری ها و آسیب های قلبی به دلیل افزایش گلیکوپروتئین های فاز حاد دچار افزایش می شود (۱۵). در مطالعه حاضر تاثیر غلظت های مختلف عصاره آلوئه ورا بر بیومارکرهای بیماری قلبی-عروقی در موش های تغذیه شده با نانوذره دی اکسید تیتانیوم را مورد بررسی قرار گرفته است. در بسیاری از مطالعات، تروپونین I و کراتین کیناز-MB به عنوان بیومارکرهای بیماری قلبی-عروقی و سیالیک اسید تام پلاسما به عنوان بیومارکر آسیب بافتی و التهابی معرفی شده است.

### مواد و روش ها

در این مطالعه از ۳۰ سر موش آزمایشگاهی استفاده شد که به صورت زیر تقسیم بندی شدند: گروه یک: ۶ سر موش در این گروه قرار گرفتند که به عنوان گروه کنترل می باشند؛ گروه دو: ۶ سر موش در این گروه قرار گرفتند که فقط نانو ذره دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم را دریافت کردند (۲۵). گروه سه: ۶ سر موش در این گروه قرار گرفتند و علاوه بر دی اکسید تیتانیوم، غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آلوئه ورا را به صورت گاوژ معدی دریافت کردند؛ گروه چهار: ۶ سر موش در این گروه قرار گرفتند و علاوه بر دی اکسید تیتانیوم، غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آلوئه ورا را به صورت گاوژ معدی دریافت نمودند؛ گروه پنج: ۶ سر موش در این

### نحوه بررسی آسیب قلبی عروقی

بعد از ۱۴ روز تجویز نانو ذره و عصاره، از خون موجود در داخل قلب موش ها خون گیری به عمل آمد و پلاسمای آن ها جهت بررسی سطوح بیومارکرهای آسیب قلبی-عروقی جدا سازی شد. سطوح تروپونین I و کراتین کیناز MB با استفاده از کیت های تشخیصی رایج جهت سنجش این بیومارکرها به روش الایزا اندازه گیری گردید. اسید سیالیک تام نیز با استفاده از روش پیشنهادی Sydow مورد سنجش قرار گرفت. سطوح مالون دی آلدئید پلاسمای نیز به روش تیوباربتوریک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه آمارهای میانگین و انحراف معیار و خطای معیار در نمونه های مذکور با نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ تعیین و عملیات مقایسه میانگین- های هر یک از پارامترها توسط آزمون تجزیه واریانس و آزمون های همبستگی برای نشان دادن میزان همبستگی و شدت آن در بین پارامترها استفاده شد.

### نتایج

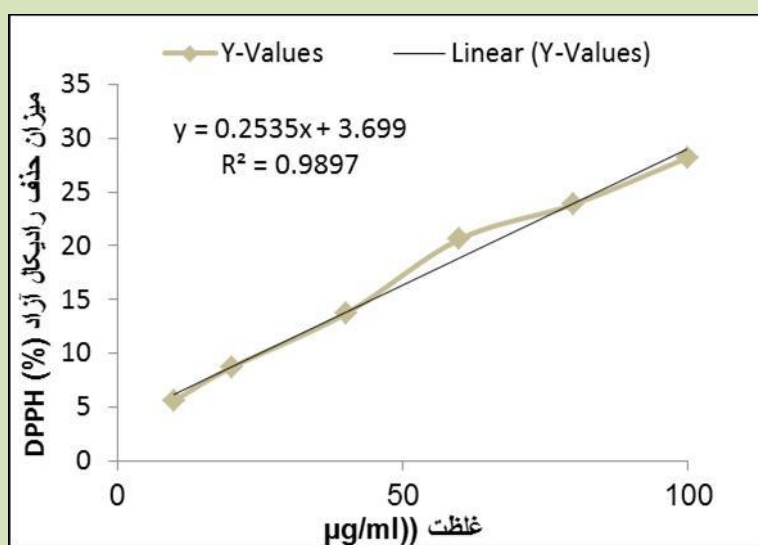
#### خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی آلوئه ورا

نمودار ۱ خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی آلوئه ورا را نشان می دهد که بر اساس میزان جاروب

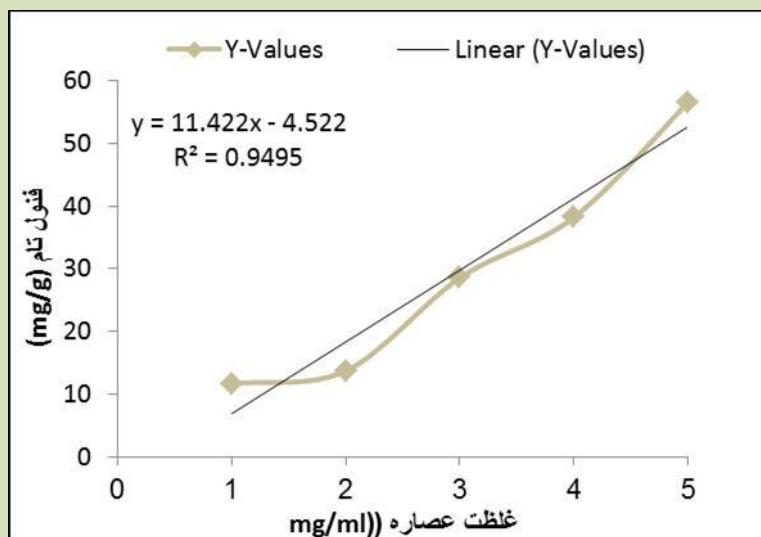
رادیکال آزاد DPPH از محیط به دست آمده است. در این نمودار با توجه به عدد به دست آمده برای ضریب  $R^2$  میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی آلوئه ورا با افزایش غلظت دچار افزایش می گردد و از یک نمودار خطی برخوردار می باشد. عدد به دست آمده برای ضریب  $R^2$  هرچه به عدد ۱ نزدیک تر باشد، نمودار خطی ترمی شود.

#### میزان فنول تام عصاره اتانولی آلوئه ورا

نمودار ۲ میزان فنول تام عصاره اتانولی آلوئه ورا را نشان می دهد. در این نمودار با توجه به عدد به دست آمده برای ضریب  $R^2$ ، میزان فنول تام عصاره اتانولی آلوئه ورا با افزایش غلظت دچار افزایش می گردد و از یک نمودار خطی برخوردار می شود. عدد به دست آمده برای ضریب  $R^2$  هرچه به عدد ۱ نزدیک تر باشد نمودار خطی تر می باش. با توجه به این نمودار، پیش بینی می- شود که با افزایش غلظت عصاره، افزایش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه آلوئه ورا صورت گیرد.



نمودار ۱- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه آلوئه ورا در حضور رادیکال آزاد DPPH



نمودار ۲- میزان فنول تام عصاره اتانولی گیاه آلوئه ورا در غلظت های مختلف

داری برخوردار بود ( $P \leq 0/05$ ). با افزایش دوز تجویزی عصاره اتانولی آلوئه ورا کاهش سطوح سیالیک اسید تام مشاهده گردید. به طوری که سیالیک اسید تام در گروه دریافت کننده دوز  $300 \text{ mg/kg}$  اختلاف آماری معنی داری با گروه کنترل داش ( $P \leq 0/05$ ). سطوح سیالیک اسید تام در سایر گروه ها از اختلاف آماری معنی داری برخوردار بود ( $P \leq 0/05$ ).

#### نتایج به دست آمده برای تروپونین I

نتایج به دست آمده برای تروپونین I در جدول ۱ و نمودار ۵ نشان می دهد که تجویز خوراکی نانوذره دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش سطوح تروپونین I گردیده است. سطوح تروپونین I در موش های گروه ۲ که تنها با نانو ذره دی اکسید تیتانیوم تیمار شده اند، نسبت به سایر گروه ها اختلاف آماری معنی داری برخوردار است ( $P \leq 0/05$ ). با افزایش دوز تجویزی عصاره اتانولی آلوئه ورا کاهش سطوح این پارامتر صورت گرفته است، به طوری که سطوح تروپونین I در گروه دریافت کننده دوز  $300 \text{ mg/kg}$  اختلاف آماری معنی داری با سطوح تروپونین I گروه کنترل مشاهده نشد ( $P \leq 0/05$ ). سطوح تروپونین I در گروه های ۳ و ۴ نیز اختلاف آماری معنی داری را نشان نداد ( $P \leq 0/05$ ).

#### نتایج به دست آمده برای کراتین کیناز MB

#### نتایج به دست آمده برای مالون دی آلدئید

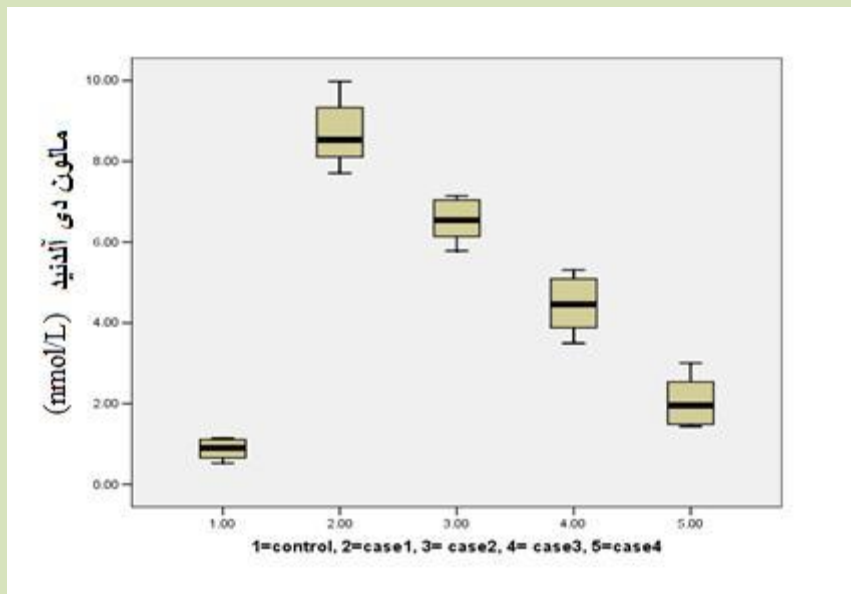
نتایج به دست آمده برای مالون دی آلدئید در جدول ۱ و نمودار ۳ نشان می دهد که سطوح مالون دی آلدئید تمام گروه ها دارای اختلاف آماری معنی داری می باشد ( $P \leq 0/05$ ). تجویز نانوذره دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش سطوح مالون دی آلدئید به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی در گروه دو نسبت به گروه کنترل گردید. این افزایش معنی دار، نشان دهنده تحریک فرآیند تنش اکسیداتیو توسط نانوذره دی اکسید تیتانیوم می باشد. تجویز خوراکی عصاره اتانولی آلوئه ورا باعث کاهش سطوح مالون دی آلدئید در گروه های دریافت کننده نانو ذره شد. با افزایش غلظت، کاهش سطوح مالون دی آلدئید صورت می گیرد، به طوری که سطوح مالون دی آلدئید موش های تیمار شده با غلظت  $300 \text{ mg/kg}$  از عصاره دارای کم ترین سطح در بین گروه های تیمار شده با نانو ذره بود.

#### نتایج به دست آمده برای سیالیک اسید تام

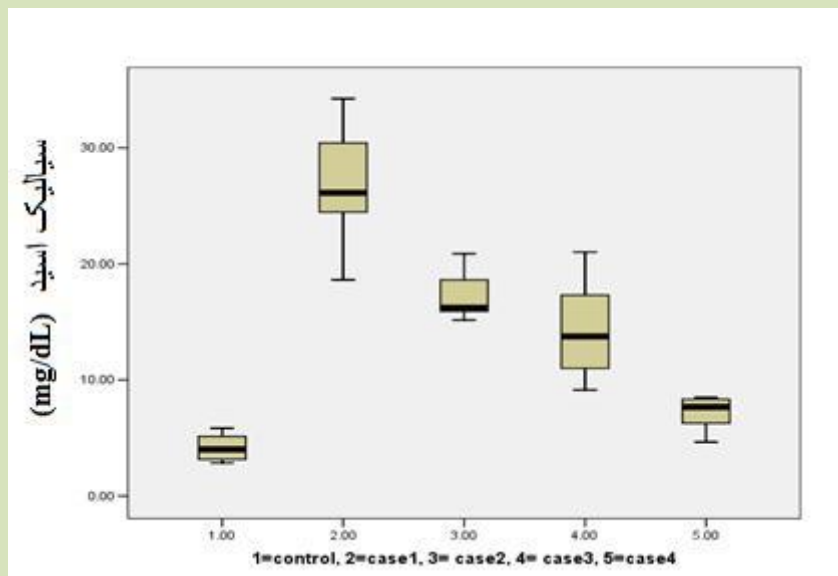
نتایج به دست آمده برای سیالیک اسید تام در جدول ۱ و نمودار ۴ نشان می دهد که تجویز خوراکی نانوذره دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش سطوح سیالیک اسید تام گردیده است. سطوح سیالیک اسید تام در موش های گروه ۲ که تنها با نانوذره دی اکسید تیتانیوم تیمار گشته است، نسبت به سایر گروه ها از اختلاف آماری معنی

گروه ها دارای اختلاف معنی دار بود ( $P \leq 0.05$ ). به جز گروه های ۲ با ۳ و ۴ با ۵ که فاقد اختلاف آماری معنی دار بودند. با افزایش دوز تجویزی عصاره اتانولی آلوئه ورا کاهش سطوح این پارامتر مشاهده شد.

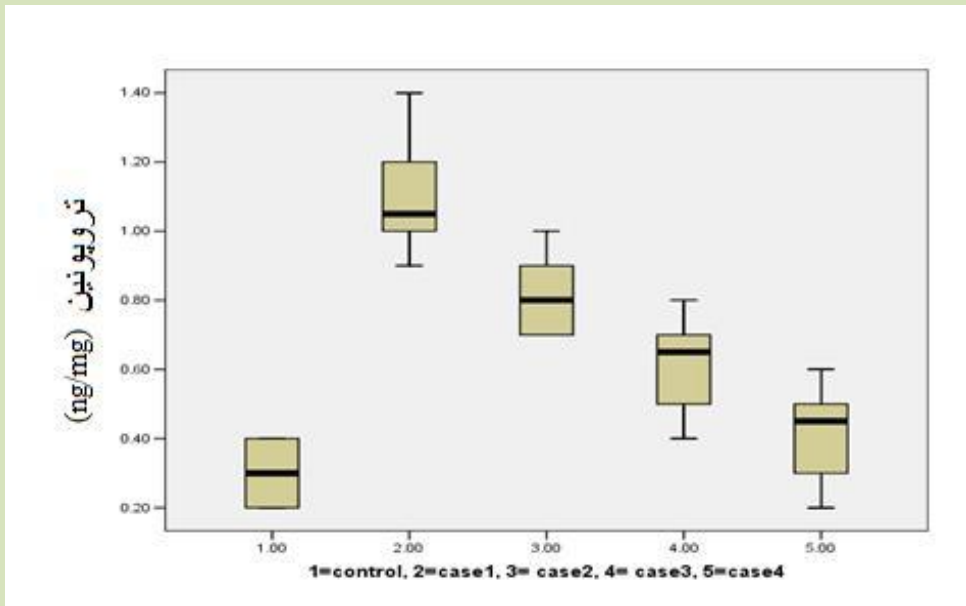
نتایج به دست آمده برای کراتین کیناز MB در جدول ۱ و نمودار ۶ نشان می دهد که تجویز خوراکی نانوذره دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش معنی دار سطوح کراتین کیناز MB در گروه ۲ نسبت به گروه ۱ گردیده است ( $P \leq 0.05$ ). سطوح کراتین کیناز MB در بین تمام



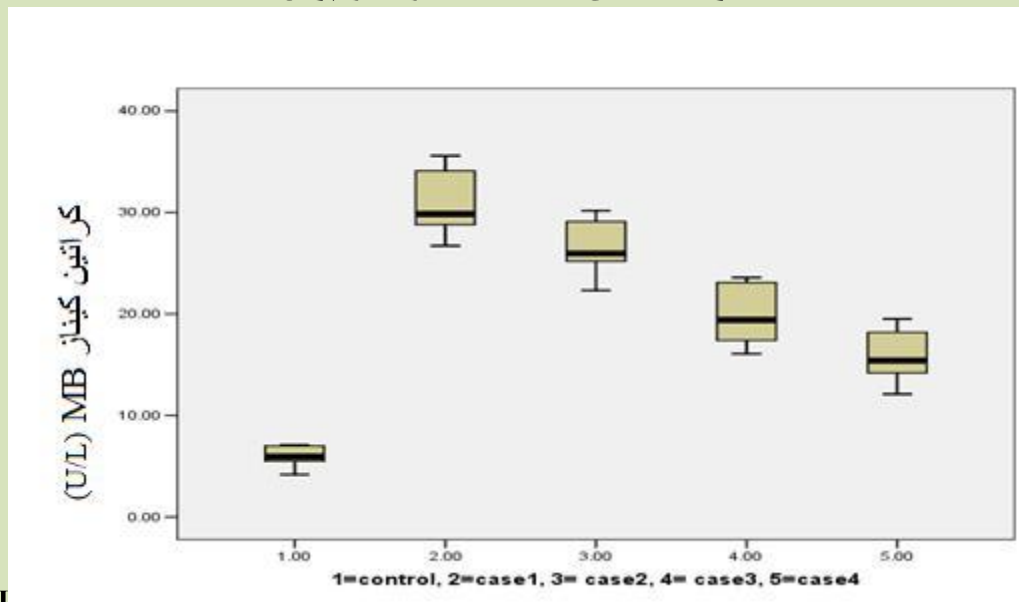
نمودار ۳- میزان مالون دی آلدئید در گروه های مختلف مورد آزمایش



نمودار ۴- نتایج به دست آمده برای سیالیک اسید تام



نمودار ۵ - نتایج به دست آمده برای تروپونین



نمودار ۶ - نتایج به دست آمده برای کراتین کیناز MB

جدول ۱- نتایج به دست آمده بر روی فاکتورهای التهابی

عدد P	F*	گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱ میانگین ± انحراف معیار	گروه ها فاکتورهای التهابی
/۰۰۰	۷۵/۷۰	۱۵/۸۰ ± ۲/۶۸	۱۹/۸۳ ± ۳/۰	۲۶/۴۸ ± ۲/۸۴	۳۰/۸۱ ± ۳/۸۳	۵/۹۵ ± ۱/۰۸	CPK
/۰۰۰	۱۵۴/۱۰	۲/۰۶ ± ۰/۶۳	۴/۴۴ ± ۰/۷۲	۶/۵۳ ± ۰/۵۴	۸/۷۰ ± ۰/۸۳	-/۸۷ ± ۰/۲۴	MDA
/۰۰۰	۴۲/۷۴	۷/۱۷ ± ۱/۴۷	۱۴/۳۳ ± ۴/۳۱	۱۷/۱۷ ± ۳/۱۵	۲۶/۶۷ ± ۵/۳۲	۴/۱۷ ± ۱/۱۶	Cialicacid
/۰۰۰	۳۱/۵۷	۰/۴۱ ± ۰/۱۴	۰/۶۱ ± ۰/۱۴	۰/۸۱ ± ۰/۱۱	۱/۱۰ ± ۰/۱۷	۰/۳۰ ± ۰/۰۸	TroponinI

F\* : ضریب آزمون One Way ANaI

## بحث و نتیجه گیری

امروزه آلودگی های ناشی از نانوذرات به عنوان مسئله ای جدید و خطرناک مطرح شده است. ماندگاری نانوذرات اکسیدهای فلزی در محیط و زنجیره غذایی زیاد می باشد که دلیل تداوم مسمومیت های ناشی از آن ها می باشد (۱۸). در پژوهش حاضر اثر سمیت نانوذرات اکسیدتیتانیوم و تاثیر عصاره اتانولی آلوئه ورا بر بیومارکرهای قلبی-عروقی موش بررسی شده است. نتایج مشخص نمود که تیمار نانوذره باعث آسیب قلبی-عروقی در موش های مورد آزمایش شده و این آسیب می تواند در اثر افزایش تنش اکسیداتیو ناشی از نانوذره باشد؛ به طوری که با افزایش غلظت عصاره، سطوح مالون دی آلدئید، تروپونین I، کراتین کیناز MB و سیالیک اسید تام کاهش یافت. بسیاری از مطالعات صورت گرفته بر روی این نانو ذره توانایی آن را در تولید رادیکال آزاد و تحریک فرآیندهای تنش اکسیداتیو گزارش نموده اند. Saquib و همکارانش در سال ۲۰۱۲ توانایی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم را در تحریک فرآیندهای تنش اکسیداتیو نشان دادند (۲۴، ۲۱). در جریان تنش اکسیداتیو و در اثر آسیب به بسیاری از ماکرومولکول ها و تحریک فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی، اکسیداسیون DNA، اکسیداسیون پروتئین ها، غیر فعال شدن آنزیم ها و اختلالات در عملکرد غشاهای مختلف، عملکرد بسیاری از بافت ها از جمله بافت کلیه، پوست، مغز، مفاصل، مجاری معدی روده ای، چشم ها، عروق، گلبول های قرمز و دیگر بافت ها تحت تاثیر قرار می گیرند. امروزه کاملاً مشخص شده است که رادیکال های آزاد در پاتوژنز بیش از یک صد نوع بیماری دخالت دارند و پروفایل فرآیند استرس اکسیداتیو با بیماری هایی مثل دیابت ملیتوس، آرتریت روماتوئید، آسم، سرطان، بیماری های قلبی-عروقی و پدیده پیری در ارتباط است (۱). بیماری های قلبی - عروقی و به خصوص

آترواسکلروزیس، نمونه ای از بیماری های التهابی می- باشد که نقش فعالیت اکسیداتیو و فرآیندهای التهابی در آن به خوبی مشخص شده است. در این بیماری، اکسیداسیون لیپیدها به عنوان عامل آغازگر بیماری از اهمیت به سزایی برخوردار می باشد که باعث ایجاد زخم در عروق می گردد. دو پیامد عمده که به دنبال آترواسکلروزیس ایجاد می شوند عبارتند از بیماری ایسکمی قلبی و انفارکتوس میوکارد (۲۰). آنتی اکسیدان ها سلول ها را در برابر آسیب های ناشی از رادیکال های آزاد محافظت می کنند. بررسی توانایی آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه آلوئه ورا نشان داد که این عصاره قادر به مهار رادیکال آزاد DPPH می باشد و یا افزایش غلظت عصاره، میزان جاروب رادیکال آزاد DPPH نیز از محیط بیشتر می شود. این امر نشان می دهد که این عصاره دارای ترکیبات با فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد. بررسی میزان ترکیبات فنولی تام عصاره اتانولی گیاه آلوئه ورا نشان داد که این عصاره دارای ترکیبات فنولی بوده و با افزایش غلظت میزان ترکیبات فنولی نیز افزایش می یابد. فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره را می توان به وجود این ترکیبات در عصاره نسبت داد. Miladi و Damak در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که آلوئه- ورا در شرایط *In vitro* به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولیک قادر به مهار فعالیت اکسیداتیو می باشد (۱۳). اسید های فنولی به عنوان ترکیبات آنتی اکسیدان قوی مطرح هستند و در بسیاری از گیاهان نیز به عنوان متابولیک ثانویه فعال، تولید می گردند. فعالیت آنتی- اکسیدانی این ترکیبات اساساً به دلیل خصوصیات اکسایش و کاهش آن ها بوده که این امکان را به آن ها می دهد تا به عنوان یک عامل احیا کننده، دهنده هیدروژن و خنثی کننده رادیکال اکسیژن عمل نماید. هم چنین این ترکیبات واکنش های اکسایشی روغن ها، لیپیدها و ترکیبات محلول در چربی را به تاخیر می



استاندارد طلایی برای تشخیص انفارکتوس میوکارد یاد کرده اند. تروپونین I نیز یکی از فرم های پروتئین تروپونین اختصاصی میوکارد قلبی بوده و افزایش سطوح آن تنها در زمان بروز آسیب عضله قلبی مشاهده می-گردد. احمدی و همکارانش در سال ۱۳۸۴ بیان نمودند که سنجش هم زمان تروپونین I و کراتین کیناز به عنوان حساس ترین روش برای تشخیص انفارکتوس می باشد. سطوح سیالیک اسید نیز به دلیل افزایش سطوح پروتئین های فاز حاد در هنگام آسیب بافتی- عروقی در بسیاری از بیماران قلبی دچار افزایش می گردد. سیالیک اسید کربوهیدراتی است که به پروتئین های فاز حاد متصل می باشد (۲۳). با توجه به نتایج به دست آمده به احتمال می-توان گفت که عصاره اتانولی گیاه آلوئه ورا قادر به مهار اکسیداسیون لیپیدی القایی توسط نانوذره دی اکسید تیتانیوم بوده و از این طریق باعث کاهش بروز بیماری قلبی- عروقی توسط این نانو ذره می گردد. این فعالیت آنتی اکسیدانی می تواند ناشی از ترکیبات فنولی موجود در عصاره اتانولی گیاه آلوئه ورا باشد.

اندازد (۱۷). برای تشخیص بیماری های قلبی-عروقی، بیومارکرهای مختلفی گزارش گردیده اند. در این مطالعه از تروپونین I، کراتین کیناز MB، سیالیک اسید تام و مالون دی آلدئید استفاده گردید. سطوح افزایش یافته مالون دی آلدئید به عنوان محصول نهایی پر اکسیداسیون لیپیدی در گروه مصرف کننده دی اکسید تیتانیوم، بیان-گر توانایی این نانو ذره در ایجاد تنش اکسیداتیو و اکسیداسیون لیپیدها می باشد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان چنین بیان نمود که کاهش میزان تنش اکسیداتیو در اثر مصرف عصاره، کاهش میزان اکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه مالون دی آلدئید را در پی داشته است و عصاره از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، میزان آسیب بافتی قلبی- عروقی را باعث شده است. هم چنین تیمار موش ها با این نانوذره، باعث افزایش سطوح تروپونین I، کراتین کیناز MB و سیالیک اسید تام گردیده و با توجه به نتایج به دست آمده به احتمال، موش های حاضر در گروه ۲ در معرض بروز بیماری های قلبی- عروقی، به ویژه سکته قلبی (MI) می-باشد. بسیاری از مطالعات از کراتین کیناز MB به عنوان

#### منابع

- Ahuja, A., Dev, K., Tanwar, RS., Selwal, KK., Tyagi, PK. (2015). Copper mediated neurological disorder: Visions into amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer and Menkes disease. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 29; 11-23.
- Aillon, KL., Xiea, Y., El-Gendy, N., Berkland, CJ., Forresta, ML. (2009). Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. *Adv Drug Deliv Rev*, 61(6); 457-66.
- Akiba, N., Hayakava, I., Keh, ES., Watanabe, A. (2005). Antifungal effect of a tissue conditioner coating agent with TiO<sub>2</sub> photo catalyst. *J Med Dent Sci*, 52; 223-7.
- Baradaran, A., Nasri, H., Nematbakhsh, M., Rafieian-Kopaei, M. (2013). Antioxidant activity and preventive effect of aqueous leaf extract of Aloe Vera on gentamicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. *La Clinica terapeutica*, 165(1); 7-11.
- Chen, J., Dong, X., Zhao, J., Tang, G. (2009). In vivo acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles to mice after intraperitoneal injection. *J. Appl. Toxicol*, 29; 330-337.
- Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G. (2006). Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters*, 163(2); 109-20.
- Davis, RH., Leitner, MG., Russo, JM., Maro, NP. (1987). Biological activity of *Aloe vera*. *Med. Sci*, 73(5); 583-589.
- Dolat, E., Hasanzadeh, H., RezaeiTavirany, M., Heidarikeshel, S., JabbariArfaee, A., Seyyedi, SS. (2013). Evaluation of synergistic effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles and gamma rays on human breast cancer cell line. *Scie J of IlamUni of Med Sci*, 223-230.
- Harita, K., Ramesh, B., Saralakumari, D. (2014). Effect of Alovera gel on antioxidant enzymes in streptozotocin-induced cataractogenesis in male and female wistar rates. *J. Acute Medicine*, 4(1); 38-44.

10. Hutter, JA., Salman, M., Stavinoha, WB., Satsangi, N., Willims, RF., Streeper, RT. (1996). Antiinflammatory C-glucosylchromone from *Aloe barbardensis*. *J Nat Prod*, 59; 541-543.
11. Liuzzo, G. (2001). Atherosclerosis: an inflammatory disease. *Rays*, 26; 221.
12. Mach, F. (2005). Inflammation is a crucial feature of atherosclerosis and a potential target to reduce cardiovascular events. *Handb Exp Pharmacol*, 170; 697-722.
13. Miladi, S., Damak, M. (2008). In vitro antioxidant activities of *Aloe vera* leaf skin extracts. *J. Soc. Chim. Tunisie*, 10; 101-109.
14. Mital, GS., Manoj, T. (2011). A review of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Chinese Sci Bull*, 56(16); 1639-57.
15. O'Brien, PJ. (2008). Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. *Toxicology*, 245; 206-18.
16. Olmedo, DG., Tasat, DR., Guglielmotti, MB. (2005). Effect of titanium dioxide on the oxidative metabolism of alveolar macrophages: An experimental study in rats. *J. Biomed. Mater. Res*, 73A; 142-149.
17. Pedrielli, P., Pedulli, GF., Skibsted, LH. (2001). Antioxidant mechanism of flavonoids. Solvent effect on rate constant for chain-breaking reaction of quercetin and epicatechin in autoxidation of methyl linoleate. *J Agric Food Chem*, 49; 3034-40.
18. Peter, HH., Irene, BH., Oleg, VS. (2004). Nanoparticles-known and unknown health risks. *J. Nanobiothechnol*, 2(1); 12-27.
19. Prasad, K. (2005). Hypercholesterolemia and ant atherosclerotic effect of flax lignin complex isolated from flaxseed. *National Center for Biotechnology Information*, 179; 269-75.
20. Prasad, K. (1999). Reduction of serum cholesterol and hypercholesterolemia atherosclerosis in rabbits by seco isolariciresinaldi glucosids. *Circulation*, 99; 1355-62.
21. Saquib, Q., Al-khedhairi, A., Siddiqui, M., Musarrat, J. (2012). Titanium dioxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in human amnion epithelial (Wish) cell. *Toxicology In Vitro*, 26; 351-361.
22. Saremi, A., Ahmadi, S. (2016). Cardiac troponin and creatine kinase response to the three modes of training (running, pedaling and swimming) in young girls. *Arak Medical University Journal (AMUJ)*, 19(106); 54-62.
23. Shafie, M., Kharrazi, H., Darabi, T., Moludi, AR. (2008). The relationship between serum sialic acid level and some cardiovascular markers in patients with myocardial infarctions. *The Journal of Qazvin Univ. of Med Sci*, 12; 57-61.
24. Shukla, RK., Kumar, A., Pandey, AK., Singh, S., Dhawan, A. (2011). Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress-mediated apoptosis in human keratinocyte cells. *J. Biomed. Nanotech*, 7; 100-102.
25. Stebounova, L., Adamcakova-Dodd, A., Sung Kim, J. (2011). Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model. *Particle and Fiber Toxicology*, 8(5); 1-2.
26. Wang, G., Su, P., Zhang, F., Hou, X., Yang, Y., Guo, Z. (2011). Comparison of microwave assisted extraction of aloe-emodin in aloe with Soxhlet extraction and ultrasound-assisted extraction. *Science China Chemistry*, 54(1); 231-236.
27. Zhang, XD., Wu, HY., Wu, D., Wang, YY., Chang, JH., Zhai, ZB. (2010). Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *Int J Nanomedicine*, 5; 771-81.



# The Effect of Ethanol Extraction of *Aloe vera* on Certain Biomarkers of Cardiovascular Disease in Mice Treated with Nanoparticles of Titanium Dioxide

F.Javan Masoomi<sup>1</sup>, J.TalatMehrabad<sup>2</sup>, R.Babri<sup>3</sup>

1.Department of Biology, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab. Iran. javanfereshteh@gmail.com

2.Department of Chemistry, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab. Iran.

3. Department of Biology, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab. Iran.

Received:2016. 5.9

Accepted: 2016.5. 11

## Abstract

**Introduction & Objective:** The effect of ethanol extraction of *Aloe vera* on certain biomarkers of cardiovascular disease in mice treated with titanium dioxide nanoparticles was studied.

**Material and Methods:** Mice were received titanium dioxide nanoparticles with density of 100 milligrams per kg and ethanol extraction of aloe vera plant with density of 100, 200 and 300 milligrams per kg for 30 days. Plasma levels of malondialdehyde, rich sialic acid, troponin I and creatine kinase MB at the end of treatment was evaluated. The antioxidant activity of ethanol extraction in Aloe Vera using free radical DPPH and total phenol levels were considered.

**Results:** The results showed that giving titanium dioxide nanoparticles through the stimulation of oxidative activity had a significant increase in plasma levels of malondialdehyde (MDA). Plasma levels of troponin I, creatine kinase MB and rich sialic acid also significantly increased. With increasing density of aloe vera, the total phenol and antioxidant activity of ethanol extraction increased. Giving the extraction significantly reduced the plasma levels of biomarkers of cardiovascular damage in mice treated with titanium dioxide nanoparticles.

**Conclusion:** According to the results, ethanol extraction of aloe vera as an antioxidant compound is able to reduce the levels of cardiovascular damage in mice treated with titanium dioxide nanoparticles.

**Keywords:** Nanoparticles of Titanium Dioxide, Aloe vera, Cardiovascular Disease, Malondialdehyde, Sialic Acid Tom, Troponin I, Creatine Kinase MB