doi.org/10.52866/esj.2020.04.16.03

تحضير ودراسة تاثير خواص جسيمات الفضة النانوية على الخلايا السرطانية نوع v-MCF

اسراء علي حميد 1، جاسم محمد منصور 2 ،عمار عايش حبيب 3
1 المديرية العامة للتربية في ديالى ، ديالى ، العراق
جامعة ديالى / قسم العلوم / الفيزياء / ،2،3

الخلاصة

تم تحضير المحاليل الغروية لجسيمات الفضة النانوية بوساطة الاستئصال بالليزر النبضي في السائل(PLAL) بدون استخدام الشد السطحي تم الاستئصال بالليزر لهدف من الفضة العالي النقاوة المغمور في (8) mL من الماء المقطر بطاقات مختلفة (500 -800) mJ ومعدل تردد (1) Hz وعرض نبضة (10 ns) والمحافظة على عدد نبضات الليزر ثابتة (100 pulse). درست الخصائص السطحية للجسيمات النانوية بوساطة المجهر الالكتروني الماسح بمجال الانبعاث (FESEM) وسجلت بيانات الخواص البصرية بمطياف الاشعة فوق البنفسجية- المرئية . وتم دراسة تأثير فعالية جسيمات الفضة النانوية في تثبيط نوع من انواع خطوط الخلايا السرطانية MCF-7.

الكلمات المفتاحية: جسيمات الفضة النانوية، الاستئصال بالليزر النبضي في السوائل، خلايا السرطان، الجسيمات النانوية

Preparation and Study of the Effect of Properties of Silver Nanoparticles on MCF-7 Cancer Cells

Israa Ali Hamead1, Jassim Mohammed Mansour2, Ammar Ayesh Habeeb3
1,2,3/Diyala University/Department of Science / Physics
1 Diyala General Directorate of Education, Diyala , Iraq
Israa-ali32@yahoo.com

Abstract

Colloidal solutions of silver nanoparticles were prepared by pulsed laser Ablation of (1064) nm Wavelength of Nd:YAG Laser in the liquid(PLAL). Without us any surface tension , Ablation of high purity Silver target immersed in distilled water at various laser energy (500-800) mJ with Frequency of 1Hz and 10 ns pulse width Laser Pulse was kept constant Pulse of (100). The prepared AgNP's were characterized by Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM), And optical Recorded Using UV-visible spectrometer. The effect of silver nanoparticles on the inhibition of MCF-7 cancer cell lines was studied.

Key Word : Silver Nanoparticles, pulsed laser Ablation in the Liquid, Cancer Cells, Nanoparticles

1 – المقدمة:

تقانة النانو لديها العديد من المجالات بمختلف التخصصات مثل الالكترونيات (electronics) والطب (medicine) والمواد الحيوية (bioma-terials). طب النانو(Nano medicine) يهدف إلى تحسين نظام الرعاية الصحية من خلال التعامل مع الأمراض البشرية بكفاءة اكثر. تقانة النانو، تتراوح في الحجم من 10 نانومتر إلى 100 نانومتر وتعتبر وسيلة لإنتاج وتخليق الجسيمات النانوية بطرق فيزيائية وكيميائية وبيولوجية (1،2). تحتوي الجسيمات النانوية على خصائص كيميائية وفيزيائية وبيولوجية فريدة من نوعها وتستخدم في الكثير من المجالات مثل العلاجات ومستحضرات التجميل وتوصيل الدواء(3). ويمكن تصنيف طرق التحضير الى تقانتين هي تقانة من اسفل الى اعلى والتي تعني بناء الجسيمات النانوية من الذرات والجزيئات وتقنية من اعلى الى اسفل والتي تعني تفكيك المواد بحجمها الكبير الى جزيئات اصغر والتي تؤدي بالنهاية للحصول على جسيمات نانوية(4). الاستئصال بالليزر النبضي في السائل هو مثال عن تقانة من اعلى الى اسفل اذ ان تشعيع منطقة المادة الصلبة المستهدفة بالليزر تؤدي الى ازالتها فتسمى هذه العملية بالاستئصال(5(. هذه الطريقة لديها العديد من المزايا مقارنة مع التقنيات التقليدية ومنها انتاج جسيمات نانوية نقية وكذلك امكانية التحكم بحجم الجسيمات من خلال التحكم بمعاملات الليزر والوسط المحيط اضافة لذلك يسهل الاستئصال بالليزر النبضي في السائل بانتاج جسيمات نانوية معدنية للتطبيقات الطبية والبيولوجية(6(

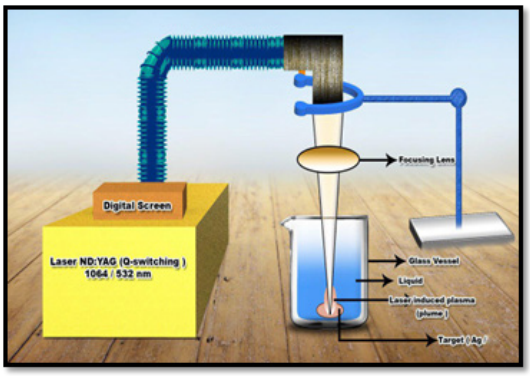
انتاج الجسيمات النانوية ظهرت كمساهمة جديدة في استراتيجيات علاج مرض السرطان الذي يعتبر اكبر مسبب للوفيات وفي جميع علاجات السرطان الحالية لا توجد طريقة لمنع السمية والاثار الجانبية فأصبحت الجسيمات النانوية هي الحل للتغلب على هذه المشكلة(7). بينت العديد من الدراسات ان الجسيمات النانوية للفضة قد وجدت طريقها الى التطبيقات العلاجية للسرطان كعوامل مضادة له (8). في بحثنا هذا سنركز على نوع من انواع خطوط الخلايا السرطانية التي تصيب النساء وفي جميع انحاء العالم وهو خط الخلايا السرطانية نوع MCF-7.

الجانب العملي :-

1 – تحضير الجسيمات النانوية للفضة

تم تحضير المحلول الغروي لجسيمات الفضة النانوية باستخدام تقانة الاستئصال بالليزر النبضي في السائل كما موضح بالشكل (1) باستخدام معدن الفضة العالي النقاوة اذ يوضع الهدف في اسفل اناء زجاجي مغمور بالماء المقطر وكان حجم الماء المستخدم في كل عمليات الاستئصال هو (3 ml) وارتفاع السائل فوق سطح الهدف هو (8)mm. تضمنت الدراسة تغيير طاقات نبض الليزراذ كانت الطاقات المستخدمة هي (500,600,700,800)mJ وعدد نبضات ثابتة مقدارها (100 Pulse). تم قصف هدف الفضة بواسطة ليزر (Nd : YAG) ذو الطول الموجي (1064 (nm وبزمن نبض مقداره (1)Hz وبتردد للحصول على محاليل غروية ملونة تحتوي على الجسيمات المعدنية النانوية للفضة التي تم استئصالها. تم قياس اطياف الامتصاص ورنين البلازمون السطحي SPR باستخدام مطياف الاشعة

المرئية والفوق بنفسجية UV-ViS والخواص السطحية والشكلية باستخدام المجهر الالكتروني الماسح بمجال الانبعاث FESEM. تم اختبار فعالية المحلول الغروي لجسيمات الفضة النانوية على تثبيط نوع من انواع الخلايا السرطانية نوع MCF-7 .



شكل (1): خطوات الاستئصال لهدف من الفضة

2 – طريقة الفحص ب MTT للخلايا السرطانية:

تم اختبار تأثير المحاليل على الخلايا السرطانية باستخدام الفحص اللوني MTT اذ تم زرع الخلايا (MCF-7 (1× 104 - 1× 106 Cells Ml-1 على لوح مسطح يحتوي على 96 حفرة سعته النهائية 200 µL وتم ترتيبها عند درجة حرارة 37°C لمدة 24 ساعة. بعد ذلك تم اضافة مزيج الاختبار الى الحفر وتمت الحضانة لمدة 24 ساعة اخرى وتم تقييم كل تركيز بالإضافة الى السيطرة السالبة (الخلايا التي عولجت بوسيلة خالية من المصل) في ثلاثة فترات تعريض بعد الحضانة اذ تمت اضافة 10 ML من محلول MTT وتم حضانة الخلايا بدرجة37C° في 5٪ من ثاني اوكسيد الكاربون لمدة 4 ساعات بعدها يتم ازالة الوسط بعناية واضافة 100 Ml من محلول Solubili-Sation الى كل حفرة وبحضانة لمدة 5 دقائق . تم تحديد تكوين formazan عن طريق قياس الامتصاصية عند570 nm باستخدام جهاز ELISA نوع (9)(Bio- Rad , USA)

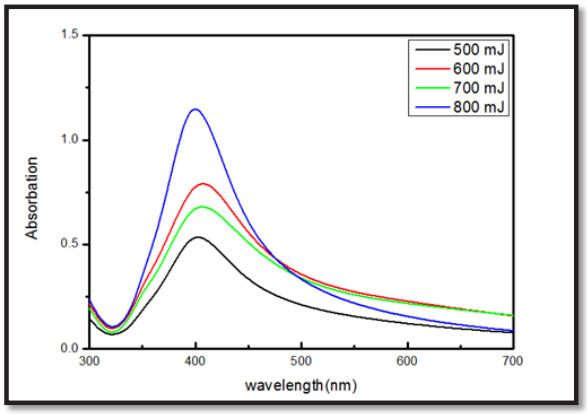
النتائج والمناقشة :-

1 – التحليل الطيفي للأشعة المرئية- فوق البنفسجية لجسيمات الفضة النانوية.

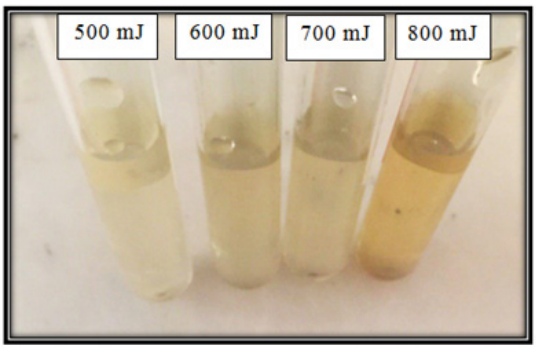
تعد طاقة الليزر هي العامل الاكثر اهمية والتي تؤثر على خصائص الجسيمات النانوية المعدنية المستأصلة وحجمها وتركيزها الشكل (2) يوضح اطياف الامتصاص لرنين البلازمون السطحي لمحاليل جسيمات الفضة النانوية التي تم تحضيرها بطاقات مختلفة للاستئصال تباينت بين (500- 800) mJ عند عدد نبضات ثابت Pulse(100) لكل العينات المحضرة بهذه الطاقات. يوضح الشكل (2) ان قمم SPR التي حدثت عند حوالي (400- 406) nm هي اشارة مميزة لتكوّن الجسيمات النانوية للفضة (10). تزداد شدة SPR وتتحول قليلا الى منطقة الطول الموجي الاكبر (Shifts to the red) وهذا قد يكون مؤشرا لتشكيل جسيمات الفضة النانوية بحجم اكبر او بالعكس(11).

الوان المحاليل النانوية لجسيمات الفضة المتكونة بطريقة الاستئصال بالليزر النبضي PLAL في الماء المقطر كدالة لتركيز الجسيمات النانوية عن طريق تغيير طاقة الليزر المقابلة لأطياف الامتصاص يوضحها الشكل (3) وهذه الخاصية البصرية المثيرة للاهتمام هي صفة مميزة للجسيمات النانوية المعدنية اذ نلاحظ تغير الوان المحاليل اعتمادا على حجم الجسيمات النانوية وتركيزها. (12) تغيير لون الفضة من

الاصفر الفاتح في طاقة mJ(500) الى اللون الاصفر الغامق في الطاقة mJ(800) يشير الى احتمالية حصول تجميع (Aggregation) للجسيمات النانوية للفضة ويحدد لون المحاليل الغروية بالاساس حجم توزيع وحالة تجميع الجسيمات النانوية(13).



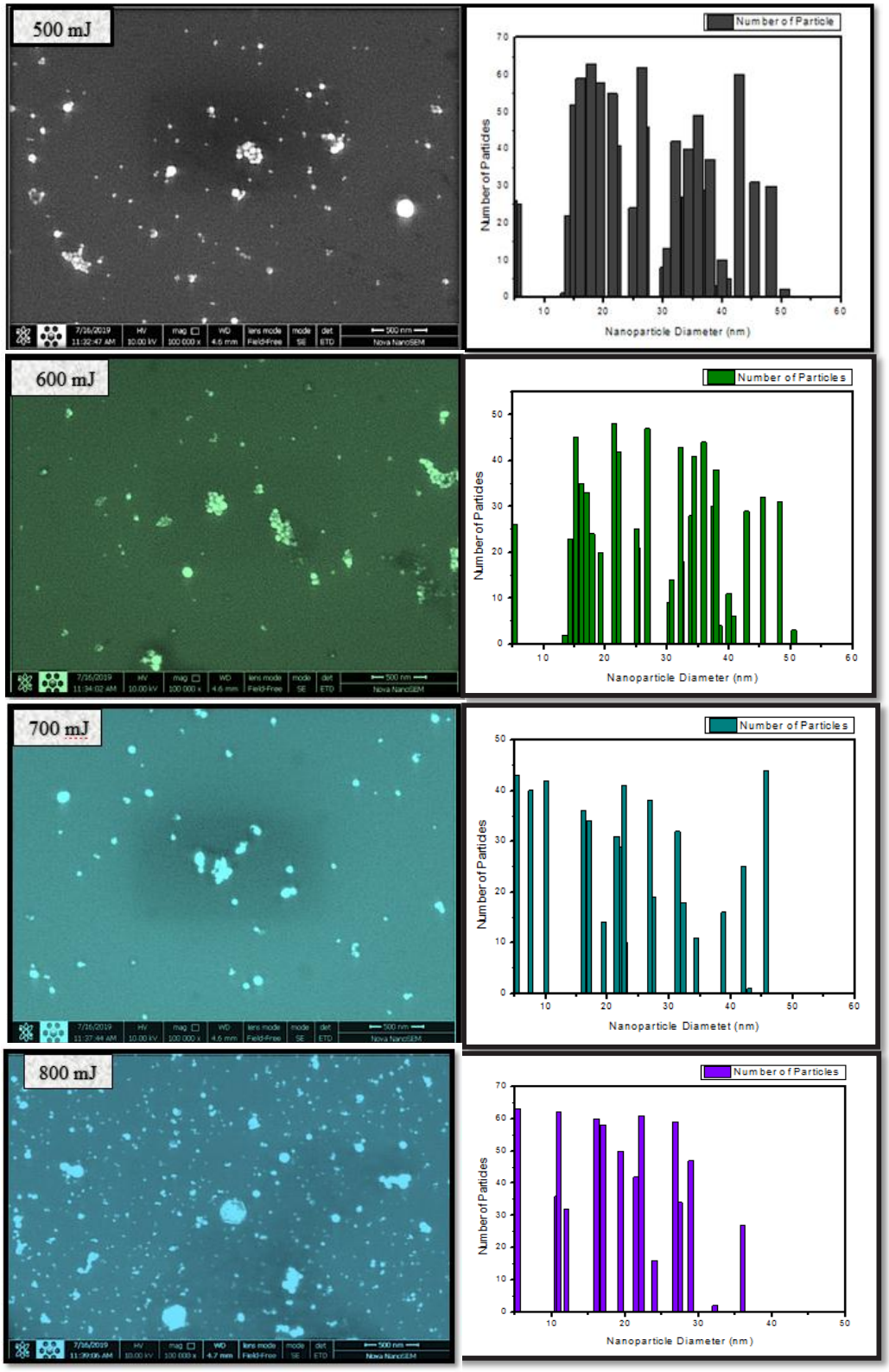
شكل(2):الامتصاصية كدالة للطول الموجي لمحلول جسيمات الفضة النانوية عند طاقات مختلفة وعدد نبضات ثابتة Pulse(100).



شكل (3) :- صورة فوتوغرفية لمحلول جسيمات الفضة النانوية بطاقات مختلفة وعدد نبضات ثابتة Pulse(100)

2 - نتائج الفحص بالمجهر الالكتروني الماسح بمجال الانبعاث (FESEM).

اجري فحص (FESEM) لجميع العينات التي تم الحصول عليها بطريقة الاستئصال الليزري في الماء المقطر عند طاقات متغيرة (mJ(500- 800 وعدد نبضات ثابتة Pulse 100 لدراسة طبوغرافية السطح ويبين الشكل (4) صور FESEM للتشكلات السطحية لجسيمات الفضة النانوية المترسبة على الزجاج في هذه الصور ممكن مراقبة التوزيع المورفولوجي للجسيمات النانوية وبأحجام مختلفة على الركائز. اذ نلاحظ زيادة في حجم الجسيمات النانوية مع زيادة طاقة الليزر ويعزى هذا الى تأثير طاقة الليزر على حالات البلازما اثناء عملية الاستئصال بالليزر في الماء النقي وهذه النتيجة تتفق مع ابحاث اخرى(14). يوضح الشكل كذلك التوزيع الحجمي وصور FESEM للجسيمات النانوية للفضة التي تم تحضيرها بطاقات متغيرة بأنها ذات شكل كروي مع وجود بعض التجمعات وزيادة بالحجم الحبيبي مع زيادة الطاقة كما نلاحظ من الصور عند الطاقة mJ(600) والطاقة mJ(700) ان حجم توزيع الجسيمات قد قل في السائل الغروي اذ انو عند الطاقات العالية تتكون سحابة من الجسيمات فوق سطح الهدف تعمل على اعاقة الليزر كاهداف جديدة متولدة (15).



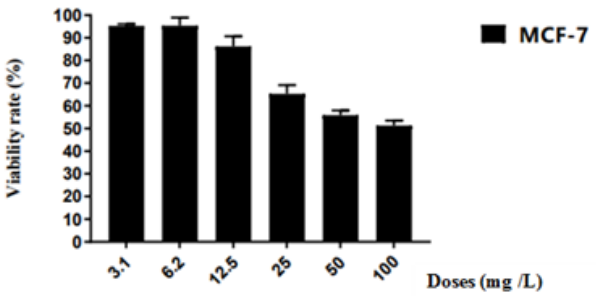
شكل(٤):صور FESEM والتوزيع الحجمي لجسيمات الذهب النانوية عند طاقات متغيرة ونبضات ثابتة

3 – تأثير جسيمات الفضة النانوية على الخلايا MCF-7

الجدول (1) يوضح نتائج اختلاف التراكيز لجسيمات الفضة النانوية وفعاليتها على تثبيط الخلايا السرطانية الحية اذ ان زيادة تركيز المادة يكون تأثيره اقوى على الخلايا الحيوية السرطانية فتزداد نسبة تأثيره وفعاليته مقارنة بالتراكيز القليلة ومن خلال الشكل (5) يتضح بأنه كان اقل تركيز لقتل 50٪ من الخلايا الحية مساويا الى (19.74) mg/L.

جدول (1) :يوضح نتائج اختلاف تراكيز محلول جسيمات الفضة النانوية على نمو الخلايا MCF-7.

Doses (mg / L)	Viability % (Mean ± SM)
3.1	95.331 ± 0.391
6.2	95.370 ±2.092
12.5	86.226 ±2.680
25	65.278 ± 2.215
50	55.864 ±1.225
100	51.273±1.252



شكل (5):رسم يوضح تأثير تراكيز المحاليل للجسيمات النانوية للفضة على الخلايا السرطانية الحية.

الاستنتاجات

هناك العديد من الطرق لتحضير الجسيمات النانوية المعدنية مثل الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية . طريقة الاستئصال بالليزر النبضي في السوائل لاقت الكثير من الاهتمام لأنها طريقة امنه وغير مكلفة والمواد المنتجة غير ملوثة. ويمكن تطبيق الجسيمات النانوية بالعديد من التطبيقات اعتمادا على خواصها الفيزيائية كالحجم والشكل وخواصها البصرية والكهربائية . الجسيمات النانوية للعناصر النبيلة كالجسيمات النانوية للفضة والذهب وجدت طريقها بالتطبيقات الطبية الحيوية . اذ تدخل هذه الجسيمات النانوية المعدنية على شكل تجمعات للخلايا بسبب صغر حجمها واختلاف خواصها الفيزيائية والكيميائية فأنها قد تؤثر على خلايا مختلفة من خلال عمليات خلوية مختلفة. تم اختيار جسيمات الذهب النانوية وجسيمات الفضة النانوية على نطاق واسع لسمية هذه المواد ضد الاورام والسرطانات المختلفة. وتشير العديد من الدراسات الى انه تم الحصول على نتائج ايجابية عند دمج الجسيمات النانوية الفضية في علاجات السرطان. وبينت الدراسة تأثير التراكيز المختلفة لمحاليل جسيمات الفضة النانوية على نمو الخلايا اذا كانت نسبة التثبيط 50٪ عند التركيز 100 mg/L .

المصادر

[1]- Albrecht MA, Evan CW, Raston CR. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. Green Chem 2006; 8: 417-432.

[2] - Osuwa JC, Anusionwu PC. Some ad-

[10] - X.P. Zhu, Tsuneo Suzuki , Tadachika Nakayama , Hisayuki Suematsu , Weihua, Koichi Niihara"Underwater laser ablation approach to fabricating monodisperse metallic nanoparticles." Chemical Physics Letters 427.1-3 (2006): 127-131.

[11] - Liu, Chunyi. A study of particle generation during laser ablation with applications. No. LBNL-58716. Lawrence Berkeley National Lab.(LBNL), Berkeley, CA (United States), 2005.

[12] - Blázquez Sánchez, David. "The Surface Plasmon Resonance of Supported Noble Metal Nanoparticles: Characterization, Laser Tailoring, and SERS Application". Diss. 2007.

[13] - Norsyuhada, W., Mohd Shukri, W., Bakhtiar, H., Islam, S., & Bidin, N.. "Synthesis and Characterization of Gold-Silver Nanoparticles in Deionized Water by Pulsed Laser Ablation (PLAL) Technique at Different Laser Parameter." International Journal of Nanoscience 18.01 (2018): 1850015

[14] - M. Faraday, "The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light", Philosophical Transactions of the Royal Society of London 147 (1857) 145-181.

[15] - . Imam, H.; K. Elsayed;M.A. Ahmed, and R. Ramdan.(2012). Effect of experimental parameters on the fabrication of gold nanoparticles via laser ablation. Optics and Photonics J.2;2:73-84

vances and prospects in nanotechnology: a review. Asian J Inf Technol 2011; 10: 96-100.

[3] - Sriram MI, Kalishwaralal K, Barathmanikanth S, Gurunathani S. Size-based cytotoxicity of silver nanoparticles in bovine retinal endothelial cells. Nanosci Methods 2012; 1: 56-77.

[4] - Pacioni NL, Borsarelli CD, Rey V, et al. Synthetic routes for the preparation of silver nanoparticles. Silver nanoparticle applications. Berlin (Germany): Springer; 2015. p. 13–46.

[5] - Yang G. Laser ablation in liquids: principles and applications in the preparation of nanomaterials. Boca Raton (FL): CRC Press; 2012

[6] - Anisimov, S. I. (1968). Zh. Eksp. Teor. Fiz. 54, 339 (Sov. Phys. JETP, 27, 182 (1968))

[7]- He Y, Li X, Wang J, et al Synthesis, characterization and evaluation cytotoxic activity of silver nanoparticles synthesized by Chinese herbal Cornus officinalis via environment friendly approach. Environ Toxicol Pharmacol 2017; 56: 56-60.

[8] - . Raghunandan D, Ravishankar B, Sharanbasava G, et al. Anti-cancer studies of noble metal nanoparticles synthesized using different plant extracts. Cancer Nanotechnol 2011; 2: 57-65.

[9] - Shamsee, Z.R., Al-Saffar, A.Z., Al-Shanon, A.F. et al. Mol Biol Rep (2019) 46: 381.