مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه
دوره ۸. شماره ۴. زمستان ۱۳۹۹

تاثیر حضور نانوذرات اکسید گرافن در افزایش اثر حرارتی امواج فراصوت بر آب به منظور درمان گرمایی سلول های سرطانی

الیاس شریفی[۱]، نجمه السادات حسینی مطلق[۲*]، بی بی فاطمه حقیرالسادات[۳]، محمد مجدی زاده[۴]

۱. کارشناسی ارشد بیوفیزیک، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور مرکز تفت، یزد، ایران
۲. استادیار، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه میبد، میبد، ایران
۳. استادیار، گروه علوم و فنون نوین، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران
۴. کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی مولکولی، گروه زیست فناوری، شرکت ریز زیست فناوران فردانگر، پارک علم و فناوری یزد، ایران

چکیده:

زمینه و هدف: درمان گرمایی سلول های سرطانی با امواج فراصوت و نانوذرات جهت مرگ جایگزیده سلول ها با عوارض جانبی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف بررسی اثر حرارتی دمای آب توسط امواج فراصوت در مجاورت نانوذرات اکسیدگرافن به منظور کاربرد در نابودی حرارتی سلول های سرطانی انجام شد.

روش‌ها: ابتدا تاثیر گرمای هیتر و سونیکیت حمامی بر تغییرات دمای آب دیونیزه و اکسید گرافن پگیله در زمان ۳۰ دقیقه بررسی شد. اثر امواج فراصوت حاصل از سونیکیت پروبی در توان های مختلف در زمان ۱۰ دقیقه بر تغییرات دمای آب دیونیزه و اکسید گرافن پگیله در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ میلی گرم بر میلی لیتر مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: در گرمایش با هیتر افزایش دمای محلول حاوی اکسید گرافن با آب تقریبا نزدیک بهم و از لحاظ آماری تفاوتی نداشت ($p>0/01$)، اما در سونیکیت حمامی افزایش دمایی اکسید گرافن پگیله نسبت به آب تا ۴ درجه سانتی گراد بیشتر بود. هنگام استفاده از سونیکیت پروبی با افزایش زمان و غلظت اکسید گرافن دما افزایش یافت، اما این افزایش در مقایسه با آب تفاوت معنی داری نداشت و حضور اکسید گرافن بصورت مطلوبی موجب افزایش دما نشد.

نتیجه گیری: بنظر میرسد نانو ذره اکسید گرافن با شرایط آزمایشگاهی در این پژوهش نمی تواند بصورت مطلوبی نقش مبدل حرارتی را برای امواج فراصوت بازی کند. ممکن است مطالعه برروی اکسید گرافن کاهیده یا عاملدار شده با شرایط آزمایشگاهی متفاوت نتایج متفاوتی داشته باشد که انجام آن پیشنهاد می‌شود.

کلید واژه‌ها:
فراصوت، نانوذرات اکسید گرافن، گرمادرمانی سرطان

مقدمه

سرطان بیماری کشنده‌ای است که طی آن سلول‌های سرطانی به مکانیسم‌های کنترل کننده‌ی چرخه‌ی سلولی پاسخ نمی‌دهند و توده‌ای از سلول‌ها را بنام تومور ایجاد می‌کنند که دما و اسیدیته‌ی سلول های آن با سلول های سالم بدن متفاوت است (۱). برای درمان این بدخیمی امروزه معمولا از روش‌هایی استفاده می‌شود که به دلیل غیر هدفمند بودن آن ها، سلول‌های سالم بدن نیز آسیب دیده و عوارض جانبی زیادی را ایجاد می‌کنند (۲). بنابراین دستیابی به روش‌های هدفمند با اثر بیشتر و عوارض جانبی کمتر، جهت درمان سرطان ضروری می‌باشد.

فراصوت، امواجی طولی با فرکانسی بیش از ۲۰ کیلو هرتز می‌باشند که برای انتشار برخلاف امواج الکترومغناطیسی نیاز به محیط مادی دارند (۳). از امواج فراصوت علاوه بر تصویر برداری از درون بدن، به منظور درمان برخی از بیماری‌ها نظیر

*آدرس نویسنده مسئول: میبد، دانشگاه میبد، گروه مهندسی پزشکی
آدرس پست الکترونیک: hosseinimotlagh@meybod.ac.ir

سنگ کلیه نیز استفاده می‌شود (٤). همچنین از امواج فراصوت در درمان سرطان‌های پروستات، پانکراس و پستان استفاده می شود (٥، ٤). این امواج مکانیکی اثر خود را بر روی بافت های سرطانی بصورت گرمایی آشکار می‌کنند. با انتشار امواج فراصوت، نواحی انقباضی و انبساطی در بافت سرطانی ایجاد می‌شود، که طی آن نواحی موضعی افزایش و کاهش متناوبی از فشار را تجربه می‌کنند، بنابراین حباب گاز ایجاد و بزرگ می‌شود، که به این پدیده کاویتاسیون اطلاق می‌گردد (٦). در ادامه با افزایش سیکل‌های امواج فراصوت، حجم حباب حاصل افزایش یافته و دچار رمبش می‌شود و انرژی حباب در محیط بافت آزاد شده و دمای محیط بافت را افزایش می‌دهد؛ در نتیجه بافت هدف تحت تاثیر افزایش دما قرار گرفته و به سمت نابودی پیش می‌رود (٧). Jane و همکاران ضمن بررسی اثر امواج فراصوت بر تومورهای سطحی، گزارش نمودند که امواج فراصوت میتواند دمای تومورهای سطحی را افزایش داده و شرایط را برای نابودی آن ها فراهم نماید (٨). Gelet و همکاران در پژوهشی نشان دادند که، امواج فراصوت با شدت بالا، راهبرد درمانی موثری برای بیماران مبتلا به سرطان پروستات می‌باشد (٩).

از آنجا که عمل کاویتاسیون در شدت بالا انجام می‌شود، و امواج فراصوت در شدت بالا می‌توانند به بافت های سالم آسیب برسانند، بنابراین استفاده از نانوذرات در محیط بافت هدف، میتواند مراکزی برای حباب های کاویتاسیون ایجاد نماید و بدین ترتیب از آستانه شدت امواج برای کاویتاسیون کاسته شده و بافت‌های سالم از اثرات مخرب امواج فراصوت در شدت‌های بالا حفظ شوند. Shanei و همکاران به بررسی اثر هم افزایی نانو ذرات نقره و امواج فراصوت بر میزان مرگ سلول های سرطان پستان رده‌ی MCF-7 پرداختند و گزارش نمودند که استفاده‌ی همزمان از نانوذرات نقره و امواج فراصوت، سمیت سلولی و به دنبال آن مرگ سلولی را افزایش می‌دهد (٦). همچنین بیک و همکاران در سال ٢٠١٦ نشان دادند نانوذرات طلا در افزایش دمای محیط تحت تابش امواج فراصوت با توان ١ وات مناسب است (١٠).

اکسید گرافن در بین تمام نانوذرات دارای ویژگی های منحصر بفردی چون پراکندگی و پایداری مناسب در آب، توانایی بارگیری بالای دارو، سمیت کم و زیست سازگاری بالا ، توانایی بارگذاری چندین دارو و ماکرومولکول بصورت همزمان، ساخت راحت و قیمت بسیار ارزانتر از نانوذراتی چون طلا و نقره می باشد (١١).

همچنین نانوذرات اکسید گرافن بصورت تک لایه با ساختار شش ضلعی دارای مساحت سطحی بالا، هدایت بسیار عالی و مقاومت مکانیکی قوی می‌باشد. این صفحات عامل‌دار شامل گروه زیادی از اپوکسی و هیدروکسیل میباشد و لبه های آن ها به گروه‌های OH و COOH ختم می‌شوند. ناتمام بودن یا باز بودن حلقه‌های انتهایی در اکسید گرافن می‌تواند خواص الکترونیکی و شیمیایی آن را تغییر دهد. اکسید گرافن با برخورداری از گروهای عاملی آبدوست نظیر اپوکسی، هیدروکسیل و کربوکسیل در آب و سایر حلال های قطبی محلول می‌باشد (١٣، ١٢). در نتیجه نانو ذرات اکسید گرافن با برخورداری از خواص مکانیکی و حرارتی عالی برای بررسی و درمان پدیده های بیوفیزیکی مناسب هستند. (١٤).

با توجه به آنچه بیان شد اگر این نانو ذره ویژه بتواند در افزایش دمای محیط تحت تابش امواج اولتراسوند تاثیر قابل توجهی داشته باشد نه تنها میتوان از اثرات جانبی این امواج بر بافت های سالم کم کرد بلکه میتوان با بارگذاری دارو بر روی سطح وسیع این نانو ذره دارو را بصورت جایگزیده به موضع سرطانی رساند و همزمان گرما درمانی با امواج فراصوت و شیمی درمانی جایگزیده را بر روی سلول‌های سرطانی اعمال کرد تا بازده درمان با کمترین عوارض جانبی بالا رود. این پژوهش با هدف بررسی تاثیر حضور نانو ذرات اکسید گرافن در مسیر امواج فراصوت جهت ایجاد افزایش دما در توان‌های کمتر امواج و ارتقاء بازده بمنظور گرما درمانی سلول های سرطانی انجام شد.

روش‌ها

نانوذره اکسید گرافن (GO) سه تا پنج لایه با ضخامت ۰.٤-۱.۷ نانومتر(شرکت گرافن X، ایران)، پلی اتیلن گلایکول دوسرآمین (NH_2-PEG-NH2)، شرکت مرک، آلمان)، مادهی 1-[3-(Dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimide، (EDC، شرکت سیگما آلدریچ، آمریکا)، اسید کلریدریک (HCl) و هیدروکسید سدیم (NaOH) از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

جهت افزایش زیست سازگاری و پایداری بیشتر نانوذره اکسید گرافن ابتدا پگیله شده است. برای پگیله کردن ابتدا ۲ میلی لیتر از محلول ۲ میلی گرم بر میلی لیتراکسید گرافن به مدت یک ساعت در دمای اتاق با سونیکیت حمامی (الما سونیک، آلمان) با توان ۲۰۰ وات سونیکیت شد. سپس ۰/۰۷۲ گرم هیدروکسید سدیم به اکسید گرافن اضافه شده و بمدت ٤ ساعت در دمای ۲۵درجه‌ی سانتی‌گراد هم‌زده شد. سپس ۰/۲٤ میلی لیتر از اسیدگلریدریک ۳۷٪ (حجمی-حجمی) برای خنثی‌سازی به محلول اضافه گردید. محلول حاصل٤ بار با آب دیونیزه شستشو داده تا نمک‌های آن حذف شود. در مرحله بعد، به ٥ میلی‌لیتر از محلول حاصل با غلظت ۱میلی گرم بر میلی لیتر، ۲٥ میلی‌گرم از پلی اتیلم گلایکول دو سرآمین افزوده و بمدت ۱٥ دقیقه در دمای اتاق با توان ۲۰۰ وات سونیکیت شد. به ترکیب حاصل ٥ میلی گرم از EDC اضافه نموده و بمدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق سونیکیت شود. سپس با افزودن ٥ میلی گرم دیگر از EDC به آن عمل سونیکیت بمدت ۲۰ دقیقه تداوم می یابد. پس از آن محلول حاصل ۱۲ ساعت در دمای کمتر از ۳٥ درجه سانتی‌گراد با یک همزن مغناطیسی هم زده می شود. در انتها ماده حاصل با استفاده از کیسه دیالیز ۱۰ کیلو دالتون در آب دیونیزه دیالیز گردید تا PEG و EDC اضافی از آن آزاد جدا شوند (۱۱). محصول نهایی نانوذره اکسید گرافن پگیله (GO-PEG) شده است.

همچنین برای انتخاب غلظت مناسب نانو ذره تست سمیت بر روی سلول های MG63 که یک رده سلولی سرطان استئوسارکوما است و از بانک سلولی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد گرفته شده است، انجام شد. تمام مراحل کشت سلول و تست سمیت بر اساس مرجع انجام شد (۱۵).

جهت بررسی تاثیر گرمای ناشی از هیتر بر تغییرات دمایی اکسید گرافن پگیله و حمام آب اطراف آن ۱ میلی‌لیتر از اکسید گرافن پگیله شده درون میکروتیوبی با حجم ۲ میلی‌لیتر ریخته و میکروتیوب در ویال شیشه ای که درون آن آب دیونیزه وجود داشت بر روی هیتر (شرکت پل ایده آل پارس، ایران) قرار گرفت (ایجاد حمام آب). سپس با استفاده از دماسنج (شرکت مولتی متریکس، ایران و دقت ۰/۰٥ درجه سانتی گراد) تغییرات دمای درون میکروتیوب نسبت به بیرون آن طی ۱۰ دقیقه ثبت گردید.

همچنین برای بررسی تاثیر سونیکیت حمامی بر تغییرات دمای اکسید گرافن پگیله شده و حمام آب اطراف آن ۱ میلی‌لیتر از غلظت های ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محلول اکسید گرافن پگیله و ۱ میلی‌لیتر آب دیونیزه بطور جداگانه درون میکروتیوب‌هایی با حجم ۲ میلی‌لیتر ریخته شد. سپس میکروتیوب‌ها بصورت همزمان درون سونیکیت حمامی تحت تاثیر امواجی با فرکانس ٤۰ کیلو هرتز و توان ۲۰۰ وات به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. در طی این مدت با استفاده از دماسنج، تغییرات دمای درون میکروتیوب‌ها و تغییرات دمای مخزن آب سونیکیت اندازه گیری شد. نحوه قرارگیری میکروتیوب در سونیکیت حمامی بدین صورت بود که میکروتیوب به صورت عمود به طوری که ته میکروتیوب در مجاورت امواج ارتعاشی سونیکیت حمامی قرار گیرد و سر میکروتیوب بیرون از آب می‌باشد. این مرحله از پژوهش سه مرتبه تکرار گردید.

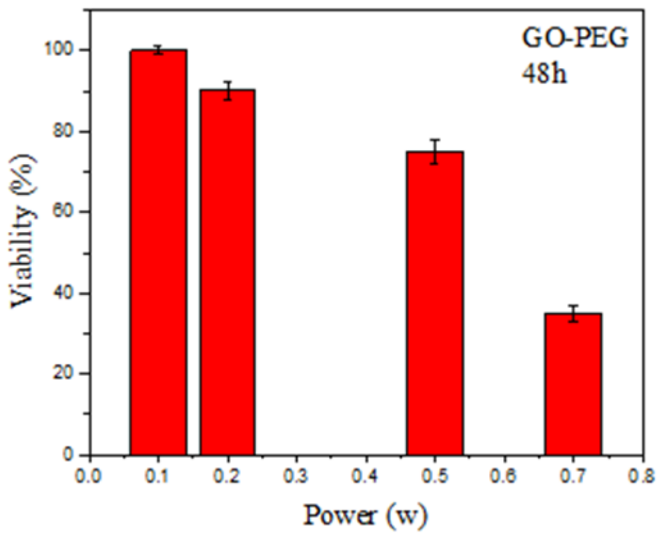
در مرحله آخر برای بررسی تاثیر سونیکیت پروبی بر تغییرات دمای اکسید گرافن پگیله و آب دیونیزه ۱ میلی‌لیتر ازغلظت های ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول اکسید گرافن پگیله شده و ۱میلی‌لیتر آب دیونیزه بصورت جداگانه درون میکروتیوب‌هایی با حجم ۲ میلی‌لیتر ریخته شد. سپس از میکروتیوب‌ها بصورت همزمان درون سونیکیت پروبی با قطر پروب ۳ میلی‌متر قرار داده تا عمل سونیکاسیون با توان های

۲/۲، ۲/۳، ۲/۵، ۲/۷، ۳/۱ و ۳/۵ وات طی ۱۰ دقیقه انجـام شـود. طی این زمان، تغییرات دمایی محلول اکسید گرافن با غلظت‌هـای ذکر شده و تغییرات دمای آب دیـونیزه بـا اسـتفاده از دماسـنج مـورد بررسـی قـرار گرفت. نحـوه قرارگیـری میکروتیـوب در سونیکیت پروبی بدین صورت میباشد که سر پـروب سـونیکیت بصورت عمود بدون اینکه بـا دیـواره و تـه میکروتیـوب تمـاس داشته باشد درون میکروتیوب قرار می‌گیرد.

در پژوهش حاضر تمام آزمایش ها سه مرتبه تکرار شده اسـت. بـه منظـور بررسـی معنـاداری داده‌هـا از روش One-way ANOVA و Two-way ANOVA در نرم افـزار SPSS اسـتفاده شده است که سطح معنا داری ۹۵٪ و ۰/۰۵ = آلفا می باشد.

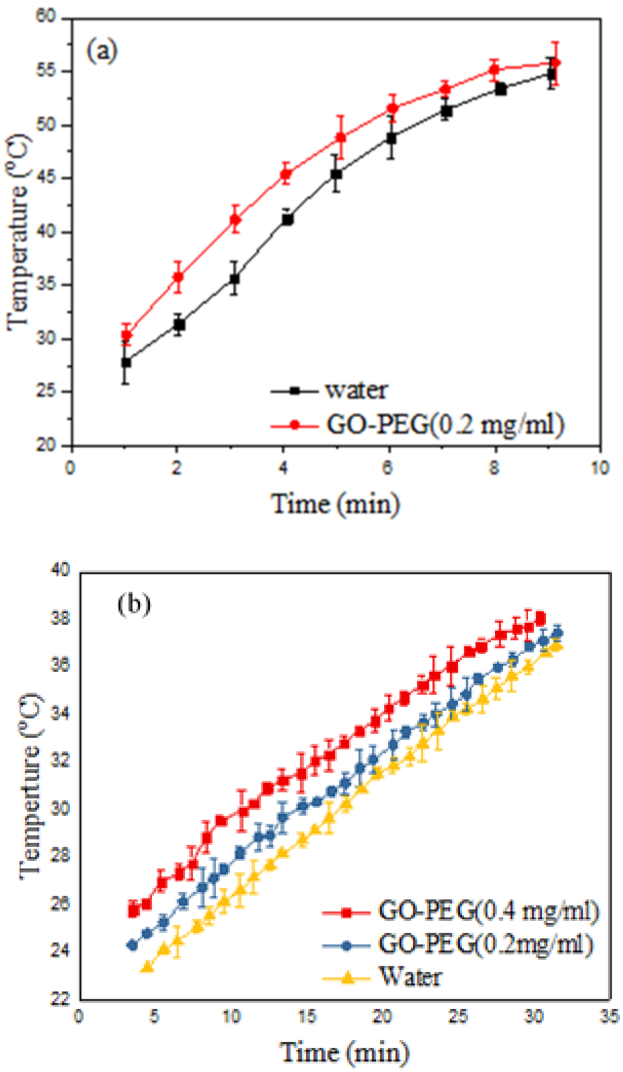
نتایج

شکل ۱ نشان می‌دهد که اکسید گرافن پگیله سمیت بسیار کم در حد کم تر از ۲۰٪ را بـرای سـلول هـای MG63 در غلظت هـای پایین تر ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر نشـان میدهـد. بنـابراین دو غلظت ۰/۲ و ۰/٤ میلی گرم برمیلی لیتر اکسـید گـرافن پگیلـه بـه دلیل سمیت کمتر برای مراحل بعدی انتخاب شدند.



شکل ۱. درصد سلول های زنده MG63 بعد از ۴۸ سـاعت در مجاورت نانو ذرات اکسید گرافن پگیله شده (GO-PEG).

شکل (a) ۲ نشان میدهد تغییرات دمـای محلـول اکسـید گـرافن پگیله و آب درون حمام آب بر اثـر گرمـای حاصـل از هیتـر بـا گذشت زمان بصورت خطی افزایش می یابـد ($p < ۰/۰۵$). البتـه میزان افزایش دمای اکسید گرافن پگیله درون میکروتیوب نسبت به دمای آب حمام کمتر است، اما با گذشت زمان هر دو نمـودار به یکدیگر نزدیک شده به گونه‌ای که در محدوده‌ی زمانی حدود ۱۰ دقیقـه دمـای محلـول درون میکروتیـوب و دمـای آب درون حمام تقریبا برابر می شود.

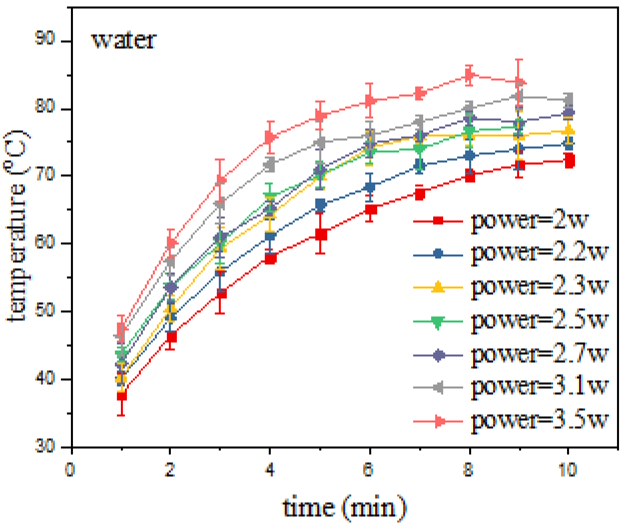


شکل ۲. (a) تغییرات دمای اکسید گرافن پگیله بـا غلظـت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر درون میکروتیوب و آب دیونیزه بـاز مان. (b) تغییرات دمای اکسید گرافن پگیله با غلظت های ۰/۴ و ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و آب دیونیزه.

بررسی اثر امـواج فراصـوت حاصـل از سـونیکیت حمـامی بـر تغییرات دمایی اکسید گرافن پگیله با غلظت‌های ۰/۲ و ۰/٤ میلی-گـرم بـر میلـی‌لیتـر و آب دیـونیزه در شـکل ۲(b) آمـده اسـت.

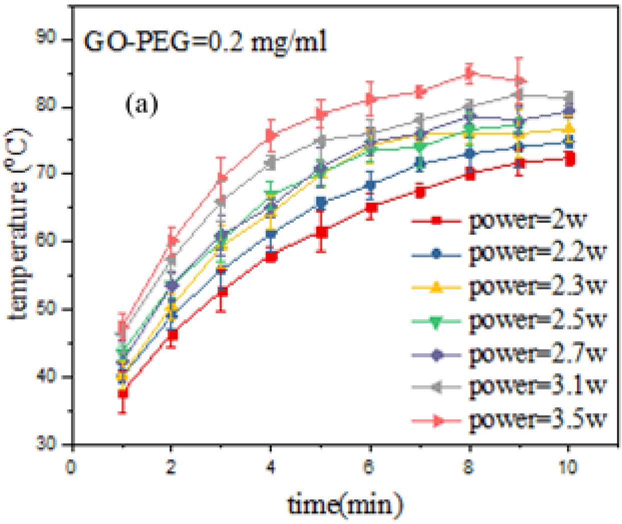
همان طور که نتایج نشان میدهد با افزایش زمان سونیکاسیون دمای آب و اکسید گرافن پگیله با غلظت های ۰/۲ و ۰/٤ میلی-گرم بر میلی‌لیتر در مدت ۳۰ دقیقه بصورت خطی افزایش می‌یابد. همچنین افزایش دمایی اکسید گرافن پگیله نسبت به آب دیونیزه بیشتر است، اما با توجه به نتایج آماری (p-value >0.005) اختلاف معناداری بین افزایش دمای محلول حاوی اکسید گرافن و آب وجود ندارد.

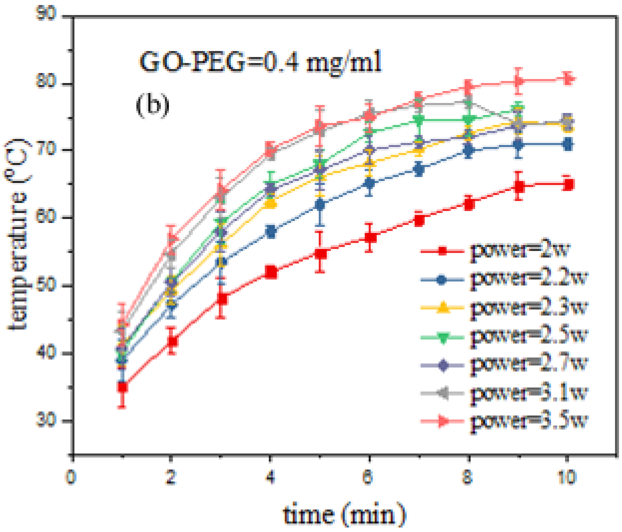
نتایج حاصل از اثر امواج فراصوت حاصل از سونیکیت پروبی در توان‌های مختلف بر تغییرات دمای آب دیونیزه در شکل ۳نشان داده شده است. دمای آب دیونیزه در همه‌ی توان‌های سونیکاسیون بصورت نمایی با زمان افزایش یافت. همچنین با افزایش توان سونیکیت پروبی، میزان تغییرات دمای آب دیونیزه افزایش می‌یابد. همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می شود با افزایش زمان سونیکاسیون (بیش از یک دقیقه) دمای آب افزایش چشمگیری پیدا نموده است که حداقل آن ٤٦/٥ درجه سانتی گراد که متعلق به دو دقیقه سونیکاسیون با توان ۲ وات و حداکثر آن حدود ٨٤ درجه سانتی‌گراد، متعلق به ۱۰ دقیقه سونیکاسیون با توان ۳/۵ وات می‌باشد. در آب دیونیزه بعد از ٦ دقیقه شیب دمایی تمامی نمودارها تقریبا یکسان می‌شود.



شکل ۳. تغییرات دمای آب دیونیزه با زمان در توان‌های مختلف سونیکیت پروبی

نتایج حاصل از اثر امواج فراصوت حاصل از سونیکیت پروبی در توان‌های مختلف بر تغییرات دمای اکسید گرافن پگیله با غلظت‌های ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر شکل (a و 4(b نشان داده شده است. همان طور که از اشکال ٤ (a و b) مشخص است دمای محلول اکسید گرافن پگیله در هر دو غلظت در همه‌ی توان‌های سونیکیت پروبی بصورت نمایی با زمان افزایش یافته است که این افزایش نسبت مستقیم با افزایش توان دارد. در پایان دقیقه‌ی اول عمل سونیکاسیون، دمای اکسید گرافن پگیله ۰/۲ گرم بر میلی‌لیتر در توان‌های ۲، ۲/۲، ۳/۲، ۲/۵، ۲/۷، ۳/۱ و

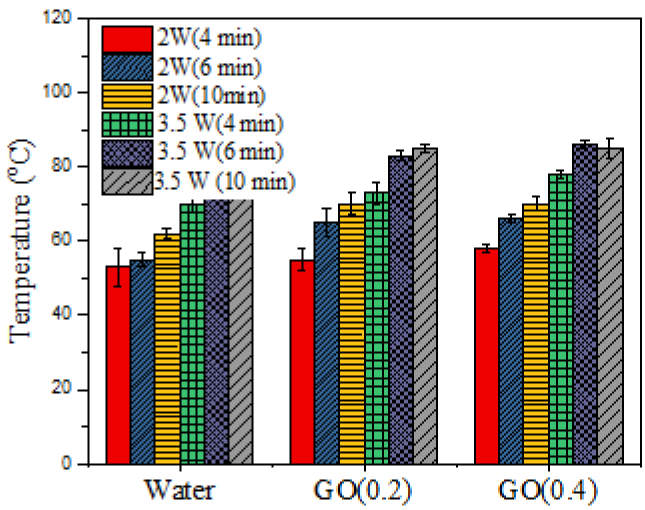




شکل ۴. تغییرات دمایی محلول اکسید گرافن پگیله در غلظت های (a) ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (b)۰/۴ میلی‌گرم بر میلی-لیتر در توان‌های مختلف سونیکیت پروبی با زمان

۳/۵ وات به ترتیب به دمایی حدود ۳۵/۱، ۳۹، ۴۱/۲، ۴۰/۲، ۴۰/۸، ۴۳/۳ و ۴۴/۳ درجه سانتی گراد رسیده است. در حالیکه بر اساس نمودار، با افزایش زمان سونیکاسیون (بیش از یک دقیقه) دمای اکسید گرافن پگیله ۰/۲ گرم بر میلی‌لیتر افزایش چشمگیری پیدا نموده است که حداقل آن ۴۱/۹ درجه سانتی گراد که متعلق به دو دقیقه سونیکاسیون با توان ۲ وات و حداکثر آن حدود ۸۰/۷ درجه سانتی‌گراد، متعلق به ۱۰ دقیقه سونیکاسیون با توان ۳/۵ وات می‌باشد. در پایان دقیقه‌ی اول عمل سونیکاسیون، دمای اکسید گرافن پگیله ۰/۴ گرم بر میلی‌لیتر در توان‌های ۲، ۲/۲، ۲/۳، ۲/۵، ۲/۷، ۳/۱، و ۳/۵ وات به ترتیب به دمایی حدود ۴۳، ۳۶، ۴۲، ۴۶، ۴۶، ۴۷ و ۴۷ درجه سانتی گراد رسیده است. در مقایسه دو غلظت اکسید گرافن پگیله در یک زمان و توان مشخص افزایش دمای اکسید گرافن با غلظت بیشتر (۰/۴ میلی گرم بر میلی لیتر) بیشتر است .

شکل ۵ مقایسه بین تغییرات دمایی آب و اکسید گرافن پگیله در غلظت های ۰/۲ . ۰/۴ میلی گرم بر میلیتر را در ۴، ۶ و ۱۰ دقیقه برای توان‌های کمینه و بیشینه ۲ و ۳.۵ وات نشان میدهد. همان طور که مشخص است اختلاف دمایی در حدود ۱ درجه سانتی گراد به ازای حضور نانوذرات اکسید گرافن با غلظت ۰/۲ و ۰/۴ میلی گرم بر میلی لیتر به وجود آمده است.



شکل ۵: مقایسه بین تغییرات دمایی آب و اکسید گرافن پگیله در غلظت های ۰/۲. ۰/۴ میلی گرم بر میلی لیتر را در ۴، ۶ و ۱۰ دقیقه برای توان‌های کمینه و بیشینه ۲ و ۳.۵ وات

بحث

هدف از این مطالعه بررسی اثر حضور نانوذره اکسید گرافن بر میزان گرمای ناشی از امواج فراصوت در توان‌های پایین‌تر بمنظور درمان گرمایی سلول های سرطانی با اثرات جانبی کمتر بود. در ابتدا نتایج حاصل از تاثیر گرمای هیتر بر تغییرات دمایی آب حمام و اکسید گرافن پگیله شده‌ی درون میکروتیوب نشان داد که شار حرارتی از هیتر به سمت آب حمام بوده که نهایتا از طریق رسانش گرمایی و انرژی جنبشی ذرات به جدار میکروتیوب و اکسید گرافن پگیله درون میکروتیوب رسیده و باعث افزایش دمای آن شده است. در نتیجه دمای اکسید گرافن پگیله درون میکروتیوب به دلیل وجود این شار حرارتی و حضور دیواره میکروتیوب در ابتدای آزمایش نسبت به دمای آب حمام کاهش محسوسی دارد، ولی در ادامه آزمایش این تفاوت دمایی کاهش و در انتهای آزمایش این تفاوت دمایی تقریبا از بین رفته و دمای آب درون حمام و دمای اکسید گرافن پگیله تقریبا برابر شده است.

امواج سونیکیت حمامی طی ۳۰ دقیقه اگرچه باعث افزایش دمای غلظت‌های مختلف اکسید گرافن پگیله وآب دیونیزه شده است، اما تغییرات دمایی اکسید گرافن پگیله نسبت به آب دیونیزه بیشتر می‌باشد که شبیه روند آزمایش اول نیست و نشان میدهد که روش های انتقال گرما در هیتر و سونیکیت حمامی یکسان نمی باشد. همچنین این مرحله از آزمایش نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اکسید گرافن، تغییرات دمایی آن افزایش میابد، که این پدیده را میتوان به افزایش صفحات رسانای حرارتی اکسید گرافن نسبت داد که در مجموع گرمای بیشتری برای غلبه به پیوند های بین مولکولی صرف کرده است. در نهایت افزایش کم دمای اکسید گرافن پگیله (حدود ۳۸ درجه‌ی سانتی‌گراد) تحت تاثیر امواج التراسونیک حاصل از سونیکیت حمامی، طی ۳۰ دقیقه، و اختلاف ناچیز دما (حدود ۱ درجه‌ی سانتی‌گراد) میان آب و اکسیدهای گرافن ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، نشان می‌دهد که استفاده همزمان از امواج صوتی در محدوده امواج حاصل از سونیکیت حمامی و نانو ذرات اکسید گرافن جهت

رسانش گرما، به سلول‌های سرطانی و نابودی آن ها مناسب نیست. زیرا برای نابودی سلول‌های سرطانی به دمایی بیش از ۳۸ درجه سانتی‌گراد که دمای طبعی بدن بوده مورد نیاز است و افزایش ۳۸ درجه‌ای دما بوسیله‌ی اکسیدگرافن نمی‌تواند نیاز گرمایی جهت نابودی سلول‌های سرطانی را فراهم نماید.

مرحله سوم آزمایش نشان میدهد دمای آب و اکسیدگرافن پگیله با غلظت های ۰/۲ و ۰/٤ میلی گرم برمیلی لیتر با افزایش زمان و توان دستگاه فراصوت بصورت نمایی افزایش می یابد (بر خلاف افزایش دمایی خطی نمونه ها با سونیکیت حمامی و هیتر) و در ٤ دقیقه اول به بالای ٤٠ درجه سانتی گراد میرسد. همچنین بعد از ۱۰ دقیقه نمودار ها در آب و اکسیدگرافن پگیله با غلظت های ۰/۲ و ۰/٤ میلی گرم برمیلی لیتر به حالت تقریبا اشباع میرسد. نکته قابل توجه انکه همان طور که شکل ٥ نشان میدهد، افزایش دمای آب و اکسیدگرافن پگیله با غلظت های ۰.۲ و ۰/٤ میلی گرم برمیلی لیتر اختلاف قابل توجهی ندارد و حضور نانو ذره اکسید گرافن اثر حرارتی فراصوت را بصورت معناداری افزایش نداده است. در واقع اثر امواج التراسونیک در توان های ۲/۳، ۲/٥ و ۲/۷ وات بر تغییرات دمایی آب دیونیزه و اکسید گرافن ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نزدیک به هم و تقریبا یکسان بوده است که می‌توان به عوامل مختلفی از جمله نحوه‌ی توزیع نانو ذره و توان، کاویتاسیون، پیوندهای هیدروژنی حاصل از گروه های فعال سطح اکسید گرافن پگیله دانست. اگرچه بیک و همکارانش در سال ۲۰۱٦ نشان دادند که اثر نانو ذرات اکسید گرافن بر افزایش دمای محیط تحت تابش امواج فراصوت در توان ۱ وات در غلظت ۰/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر در زمان تابش ده دقیقه از اثر نانوذرات طلا کمتر است (۱۰). آنان همچنین نشان دادند که با افزایش غلظت اکسید گرافن و توان تابش دهی افزایش دمای محیط بیشتر می شود که کاملا تایید کننده نتایج این مقاله می باشد، گرچه این پژوهشگران مقایسه ای بر روی افزایش دمای محیط های آبی بدون اکسید گرافن و حاوی اکسید گرافن گزارش ننموده اند. در پژوهش حاضر این مقایسه انجام گردید و نتایج نشان داد که نانو ذرات اکسید گرافن در شرایط آزمایش بیان شده نمی‌تواند با بازدهی مطلوب و توجیه پذیری در مقایسه با آب دمای محیط تحت تابش امواج اولتراسوند را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

با توجه به تاثیر اندک نانوذرات اکسید گرافن با ویژگی های تعیین شده در این مقاله بر افزایش دمای محیطهای آبی تحت تابش امواج اولتراسوند بنظر میرسد این نانو ذره در محیط آبی نتوانسته انرژی حاصل از امواج فراصوت را با بازده بالایی بمنظور درمان حرارتی سلول های سرطانی به گرما تبدیل نمایند. ممکن است با تغییر شرایط آزمایش و اصلاح ویژگی های نانو ذره اکسید گرافن از جمله تغییر گروه های عاملی با استفاده از اکسید گرافن کاهیده در محیط های غیر آبی بتواند در این زمینه نتایج مطلوبی به همراه داشته باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر ضمن رعایت ملاحظات اخلاقی دارای تاییدیه کد اخلاق IR.SSU.RSI.REC.1398.047 می‌باشد. از پژوهشکده پوشش های نانو ساختار پیام نور یزد که در انجام آزمایش ها ما را صمیمانه یاری نمودند کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

(۱) مفهوم پردازی و طراحی مطالعه یا جمع آوری داده ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها: الیاس شریفی، نجمه السادات حسینی مطلق، بی بی فاطمه حقیرالسادات و محمد مجدی زاده

(۲) تهیه پیش نویس مقاله: محمد مجدی زاده، نجمه السادات حسینی مطلق، بی بی فاطمه حقیرالسادات

(۳) تایید دست نوشته پیش از ارسال به مجله: الیاس شریفی، محمد مجدی زاده، نجمه السادات حسینی مطلق، بی بی فاطمه حقیرالسادات

References

1. Sasani E, Shahi Malmir H, Daneshmand F, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. A new study on synthesize and optimization of PEGylated LipoNiosomal nanocarriers containing curcumin for use in cancer chemotherapy. SSU_Journals. 2018 ; 26(6):528-41.

2. Shahi Malmir H, Kalantar SM, Sasani E, Asgari M, Majdizadeh M, Haghiralsadat BF. Synthesis and optimization of niosomal carriers containing doxorubicin in order to achieve a final formulation with high potential in cancer cells temperature and acidity. SSU_Journals. 2019 ; 15;26(10):879-94.

3. Razavifar M. An overview of the application of ultrasound in the oil industry. Oil & gas exploration and production. 2017; 96(145): 36-42.

4. Miller DL, Smith NB, Bailey MR, Czarnota GJ, Hynynen K, Makin IR, Bioeffects Committee of the American Institute of Ultrasound in Medicine. Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations. Journal of Ultrasound in Medicine. 2012;31(4):623-34.

5. Yoshizawa S, Takagi R, Umemura SI. Enhancement of high-intensity focused ultrasound heating by short-pulse generated cavitation. Applied Sciences.2017;7(3):288.

6. Shanei A, Tavakoli MB, Salehi H, Ebrahimi-Fard A. Evaluating the Effects of Ultrasound Waves on MCF-7 Cells in the Presence of Ag Nanoparticles. Journal of Isfahan Medical School. 2016; 34(389): 763-8.

7. Alamolhoda M, Mokhtari-Dizaji M, Barati AH. Comparison the treatment effects between simultaneous dual frequency and single frequency irradiation of ultrasound in a murine model of breast adenocarcinoma. Iranian Journal of Medical Physics. 2010;7(4):47-59.

8. Marmor JB, Pounds D, Postic TB, Hahn GM. Treatment of superficial human neoplasms by local hyperthermia induced by ultrasound. Cancer.1979;43(1):188-97.

9. Gelet A, Chapelon JY, Bouvier R, Pangaud C, Lasne Y. Local control of prostate cancer by transrectal high intensity focused ultrasound therapy: preliminary results. The Journal of urology. 1999;161(1):156-62.

10. Beik J, Abed Z, Shakeri-Zadeh A, Nourbakhsh M, Shiran MB. Evaluation of the sonosensitizing properties of nano-graphene oxide in comparison with iron oxide and gold nanoparticles. Phys E Low-Dimensional Syst Nanostructures. 2016;81(1):308–14.

11. Motlagh NSH, Parvin P, Mirzaie ZH, Karimi R, Sanderson JH, Atyabi F. Synergistic performance of triggered drug release and photothermal therapy of MCF7 cells based on laser activated PEGylated GO + DOX. Biomed Opt Express. 2020;11(7):3783.

12. Wang Y, Li Z, Wang J, Li J, Lin Y. Graphene and graphene oxide: biofunctionalization and applications in biotechnology. Trends in biotechnology.2011; 29(5):205-12.

13. Teimoori S, Shirkhanloo H, mirzahoseyni SA. Investigation of Toluene absorption from air based on nano-graphene and nano-graphene oxide adsorbent through a pilot simulator of atmospheric air. Journal of Applied Chemistry. 2018; 13(46): 2013-218.

14. Li JL, Hou XL, Bao HC, Sun L, Tang B, Wang JF, Wang XG, Gu M. Graphene oxide nanoparticles for enhanced photothermal cancer cell therapy under the irradiation of a femtosecond laser beam. Journal of biomedical materials research Part A. 2014;102(7):2181-8.

15. Haghiralsadat F, Amoabediny G, Naderinezhad S, Zandieh-Doulabi B, Forouzanfar T. Codelivery of doxorubicin and JIP1 siRNA with novel EphA2-targeted pegylated cationic nanoliposomes to overcome osteosarcoma multidrug resistance. Nanomedicine. 2018;13(1):3853–66.

Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences
2021, Volume 8, No. 4: 46-54.

Original article

Experimental study :Investigation of graphene oxide nanoparticles effect on increasing the thermal effect of ultrasound waves on water for thermal therapy of cancer cells

Elyas Sharifi[1], Najmeh-alsadat Hoseini-Motlagh[2*], Bibi Fatemeh Haghiralsadat[3], Mohammad Majdizadeh[4]

1. MSc. Department of Biology, Taft Payame Noor University, Yazd, Iran

2. Assistant Professor, Department of Biomedical Engineerig, Meybod University, PO Box 89616-99557, Meybod, Iran

3. Assistant Professor, Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

4. MSc. Nano-Biotech Foresight Company Biotechnology Campus, Science & Technology Park of Yazd, Yazd, Iran

Corresponding author: hosseinimotlagh@meybod.ac.ir

Abstract

Background & Aim: Ultrasound hyperthermia with nanoparticles has been regarded as an effective method for localized death of cancerous cells with fewer side effects to the surrounding normal tissues. The aim of this study was to investigate the increasing of water temperature by ultrasound waves in the presence of graphene oxide (GO) nanoparticles in order to be used in thermal treatment of cancerous cells.

***Methods*:** At first, the thermal effect of heater and bath sonokit were investigated on variation of the deionized (DI) water and pegylated GO temperatures for 30 minutes. The effect of ultrasonic waves with different power over 10 minutes were also evaluated on pegylated GO solution and DI water with 0.2 and 0.4 mg/ml concentrations.

***Results*:** When the heater was used, the temperature rise of the GO and water was almost close to each other and there was no statistical difference **(**p-value>0.01). In bath sonokit, the temperature rise of GO was 4^0 C more than DI water. When probe sonokit was used, the temperature increased with the increase in time and GO concentration, but there was no significant difference in this increase compared to water and the presence of GO did not favorably increase the temperature.

***Conclusion*:** It seems that GO nanoparticles in laboratory conditions of this study cannot play the role of heat exchanger for ultrasonic waves. Further study of functionalized reduced GO nanoparticles with different laboratory conditions is recommended.

Keywords:
Ultrasonic,
Graphene Oxide nanoparticles,
Hyperthermia

How to Cite this Article: Sharifi E, Hoseini-Motlagh N, Haghiralsadat BF, Majdizadeh M. Experimental study :Investigation of graphene oxide nanoparticles effect on increasing the thermal effect of ultrasound waves on water for thermal therapy of cancer cells. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2021;8(4):46-54.