بیست و ششمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و دوازدهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه خوارزمی،
تهران، ایران.
۱۵-۱۶ بهمن ۱۳۹۸

بستگی طول موجی نرخ دارورسانی به سلولهای سرطانی پوست موش تحت اثرات حرارتی نانو ذرات طلا در برهمکنش با لیزر نانوثانیه

سیده هاجر حسینی‌کیا- محمد رضایی پندری- آتوسا سادات عربانیان- ندا سلیمانی- رضا مسعودی*

پژوهشکده‌ی لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران (*R-Massudi@sbu.ac.ir)

چکیده - برهمکنش پالسهای کوتاه لیزری با نانوذرات فلزی موجب ایجاد گرمای شدیدی در اطراف نانوذره می شود که امروزه جهت درمان سرطان، دارورسانی سلولی و دیگر کاربردهای پزشکی استفاده می شود. در این مقاله فرایند دارورسانی سلول های سرطانی پوســت موش تحت اثرات گرمایی ناشــی از نانوذرات طلا در برهم‌کنش با لیزر نانوثانیه‌ی Nd:YAG با ســه طول موج مختلف در محدوده‌ی فروسرخ، مریی و فرابنفش مورد بررسی قرار می‌گیرد و نرخ دارورسانی و درصد زیست‌پذیری سلول‌ها برای این سه طول موج اندازه گیری می‌شود و در نهایت مشاهده می‌شود که به ازای یک انرژی مشخص، نرخ دارورسانی انجام شده در محدوده ی مرئی بیشتر از محدوده‌ی فرابنفش و فروسرخ خواهد بود.

کلید واژه- دارورسانی سلولی، لیزر پالسی نانوثانیه، نانوذرات طلا

Wavelength dependence of rate of drug delivery to murine melanoma under the thermal effects of gold nanoparticles interaction with nanosecond laser

Seyyede Hajar Hosseinikia- Mohammad Rezaei Pandari- Atoosa Sadat Arabanian- Neda Soleimani- Reza Massudi*

Laser and Plasma Research Institute, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran
(R-Massudi@sbu.ac.ir*)

Abstract- Interaction of the short-pulse lasers with metal nanoparticles leads to produce a large amount of heat around the nanoparticles. Today, it is used for cancer therapy, drug delivery and other medical applications. In this article, the process of drug delivery to murine melanoma under the thermal effects of gold nanoparticle interaction with three different wavelengths of Nd:YAG nanosecond laser in infrared, visible and ultraviolet regimes, is investigated and drug delivery rate and cell viability rate for these three different wavelengths is measured and finally, it is observed that for a specific amount of energy, the drug delivery rate in visible regime is more than that in ultraviolet and infrared regimes.

Keywords: Cell drug delivery, nanosecond-pulse laser, gold nanoparticles

این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-11-02]

مقدمه

غشاء سلول‌های جانوری به عنوان یک لایه‌ی محافظ بین سیتوپلاسم و محیط خارج عمل می‌کند، بطوریکه تنها مولکول‌ها و یون‌های کوچک اجازه‌ی نفوذ به محیط درون سلول را دارند. بنابراین داروهایی با ابعاد مولکول‌های بزرگ‌تر اجازه‌ی نفوذ به درون سلول را ندارند. از طرفی تولید داروهای جدید در ابعاد کوچک‌تر کاری بسیار پر هزینه می‌باشد. امروزه محققان به دنبال یافتن روش‌های نوینی جهت انتقال دارو به درون سلول می‌باشند. روش‌های زیستی، شیمیایی و فیزیکی هم‌چون تزریق مستقیم، الکتروپریشن[1] و ... هر یک با معایبی نظیر درصد پایین زیست‌پذیری (درصد پایین زنده ماندن سلول‌ها) یا نرخ پایین دارورسانی (درصد پایین سلول‌های دارورسانی شده) روبه‌رو هستند. نتایج تجربی نشان می دهد که گرمای ایجاد شده در اثر برهمکنش پالس لیزری با نانوذرات طلا توانایی ذوب کردن لایه لیپیدی غشای سلولی و ایجاد روزنه روی آن را دارد[۱]. در سال ۲۰۰۳، برای اولین بار لین[2] و همکارانش با استفاده از ذرات پلاسمونی بر روی افزایش نفوذپذیری غشاء کار کردند و دو مشکل درصد پایین زیست‌پذیری و نرخ پایین دارورسانی را رفع کردند[۳]. تا سال ۲۰۱۳ تمامی تحقیقات با استفاده از طول موج ۵۳۲ nm انجام می‌گرفت تا این‌که در سال ۲۰۱۳ مونییر[3] و همکارانش اثر طول موج ۵۳۲nm و ۱۰۶۴nm لیزر نانوثانیه‌ی Nd:YAG و نانوذرات طلا را جهت انجام فرایند دارورسانی سلولی بررسی کردند و به مقایسه‌ی اثر این دو طول موج بر روی نتیجه‌ی آزمایشات مربوط به دارورسانی سلولی پرداختند[۱]. به دلیل وابستگی نرخ دارورسانی به طول موج لیزر ، در این مقاله به بررسی و مقایسه‌ی اثر برهمکنش سه طول موج ۱۰۶۴nm، ۵۳۲nm و ۳۵۵nm لیزر نانوثانیه ی Nd:YAG و نانوذرات طلا جهت انجام فرایند دارورسانی به سلول سرطانی پوست موش خواهیم پرداخت.

تئوری

۱-برهمکنش نور با نانوذرات فلزی

هنگامی‌که نانوذرات فلزی تحت تابش امواج الکترومغناطیسی با طول موج هایی بزرگ‌تر از ابعاد نانوذره قرار می‌گیرند، الکترون های آزاد آن‌ها تحت فرکانسی به نام فرکانس پلاسما شروع به نوسان می‌کنند. نوسان این الکترون‌ها موجب تولید یک میدان الکترومغناطیسی قوی و میزان زیادی گرما در فاصله‌ی کمی از نانوذره می‌شود که اندازه‌ی این میدان و گرما مستقیما به دو کمیت سطح مقطع پراش C_{sca} و سطح مقطع جذب C_{abs} مربوط میشود[۴].

$$C_{sca}=\frac{8}{3}\pi k^4 a\left|\frac{\varepsilon-\varepsilon_m}{\varepsilon+2\varepsilon_m}\right|^2 \qquad (۱)$$

$$C_{abs}=4\pi k a^3 \mathrm{Im}[\frac{\varepsilon-\varepsilon_m}{\varepsilon+2\varepsilon_m}] \qquad (۲)$$

که $\varepsilon=\varepsilon(\omega)$ گذردهی الکتریکی نانوذرات، ε_m گذردهی الکتریکی محیط، ω فرکانس نور فرودی، a شعاع نانوذرات و K تابعی از ضریب شکست نانوذره است. بنابراین اندازه‌ی گرما و میدان تولید شده به فرکانس نور فرودی بستگی دارد.

در اثر برهمکنش نانوذرات فلزی با امواج الکترومغناطیسی درون محیط های مایع هم‌چون محیط کشت سلول، بسته به میزان بزرگی میدان الکترومغناطیسی و گرمای تولید شده، امکان تولید حباب‌هایی در ابعاد نانومتری وجود دارد که به دو دسته‌ی نانوحباب‌های پلاسمایی و نانوحباب‌های گرمایی تقسیم میشود. برای تولید نانوحباب‌های پلاسمایی، شدت میدان نزدیک ایجاد شده حدود 10^{13} w/cm^2 و برای تولید نانوحباب‌های گرمایی، دمای آستانه‌ی ایجاد شده در فاصله‌ی بسیار کم از نانوذره حدود ۵۲۰K-۶۴۷ K می‌باشد. در اثر برهمکنش لیزر نانوثانیه با نانوذرات طلا، شدت میدان نزدیک ایجاد شده در حدود 10^7 W/ cm^2 می‌باشد که برای تولید نانوحباب پلاسمایی کافی نمی‌باشد. اما میزان گرمای ایجاد شده درحدی است که می‌تواند منجر به تولید نانوحباب گرمایی بشود[۱،۵].

1-Electroporation
2-Lin
3-Meunier

این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-11-02]

۲-غشاء سلول و ایجاد روزنه بر روی آن

جهت وارد کردن داروهایی با ابعاد بزرگ به درون سلول، باید روی غشاء آن روزنه ایجاد کنیم. نتایج تجربی نشان می دهد که گرمای ناشی از نانوحباب‌های ایجاد شده در اثر برهمکنش پالس لیزری با نانوذرات طلا توانایی ذوب کردن لایه لیپیدی غشای سلول و ایجاد روزنه روی آن را دارد و می‌تواند اجازه‌ی ورود مولکول‌های بزرگ‌تر اعم از انواع داروها را بدهند و ایده‌ی مناسبی جهت دارورسانی سلولی باشد به طوری که در نهایت میزان زیست‌پذیری سلولها و نرخ دارورسانی نتیجه‌ی مناسب‌تری را نسبت به روش های پیشین فراهم می‌کند[۱].

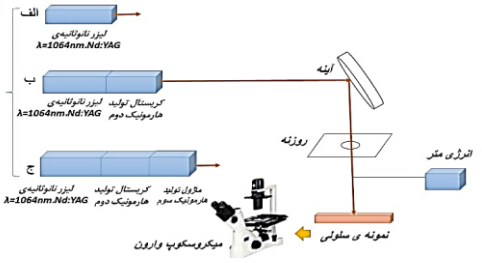
چیدمان تجربی

آماده سازی نمونه:

نانوذرات طلا به روش سنتز شیمیایی تهیه شده است که اندازه‌ی اکثر آن‌ها در بازه‌ی ۵۰-۶۰ nm می‌باشد. آزمایشات صورت گرفته در بخش بعد نیز، برای سه غلظت ۸، ۱۶ و ۲۴ µg/ml انجام گرفته است که برای غلظت ۸ µg/ml دارورسانی سلولی انجام نمی‌پذیرد و در غلظت ۲۴ µg/ml نیز تمامی سلول ها دچار مرگ سلولی می‌شوند. اما برای غلظت ۱۶ µg/ml درصد زیست‌پذیری سلول‌ها و نرخ دارورسانی در حالت بهینه می‌باشد. بنابر این تمامی آزمایش ها با نانوذرات با غلظت۱۶ µg/ml انجام می‌شود. چهار ساعت قبل از انجام آزمایش، سلول‌های سرطانی پوست موش کشت داده می‌شود و سپس تعداد ۵۰۰۰ سلول داخل چاهک های مورد مطالعه ریخته می‌شود. سپس سلول ها میان نانوذرات طلا با غلظت ۱۶ µg/ml خوابانده می‌شود. برای بررسی میزان دارورسانی صورت گرفته به جای دارو از رنگ تریپان‌بلو[۴] استفاده می‌شود تا سازوکار باز و بسته شدن غشاء توسط ورود رنگ به درون سیتوپلاسم بررسی شود. بررسی درصد زیست پذیری سلول‌ها و بسته شدن غشاء نیز، توسط اضافه کردن رنگ تریپان بلو به محیط کشت سلول، پس از گذشت ۲ ساعت صورت می‌گیرد[۲].

چیدمان اپتیکی:

چیدمان تجربی دارورسانی سلولی توسط برهمکنش لیزر با نانوذرات طلا برای سه طول موج الف)۱۰۶۴nm، ب)۵۳۲nm و ج)۳۵۵nm در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۱: چیدمان تجربی دارو رسانی سلولی توسط برهمکنش لیزر و نانوذرات طلا در طول موج الف)۱۰۶۴ nm، ب) ۵۳۲ nm، ج) ۳۵۵ nm

در این چیدمان، از یک لیزر Nd:YAG با طول پالس ۱۰ns و نرخ تکرار ۱۰Hz استفاده شده است. در هر سه آزمایش، باریکه‌ی لیزر پس از برخورد به یک آینه با ضریب بازتاب بالا و عبور از یک روزنه که قطر آن به اندازه ی قطر هر چاهک حاوی سلول است، به نمونه‌ی سلولی حاوی نانوذرات طلا برخورد می‌کند. انرژی پالس خروجی از روزنه توسط انرژی‌متر اندازه گیری می‌شود. جهت بررسی نرخ دارورسانی انجام شده، رنگ را قبل از پرتودهی سلول‌ها، به محیط کشت اضافه می‌کنیم. در اثر برهمکنش لیزر با نانوذرات طلا انتظار می‌رود بر روی غشاء سلول‌ها روزنه ایجاد شود و رنگ به عنوان دارو وارد سلول شود. سپس با استفاده از یک میکروسکوپ وارون تعداد سلول های رنگ شده (آبی) و رنگ نشده بررسی می‌شود. به این ترتیب سلول‌هایی که روی غشاء آن‌ها روزنه ایجاد شده و رنگ وارد آن‌ها شده یا به عبارتی دارورسانی شده است از سلول‌های بی‌رنگ دارورسانی نشده متمایز می‌گردد. برای بررسی میزان درصد زیست پذیری، ابتدا سلول‌ها تحت تابش لیزر قرار داده می‌شود و پس از گذشت دو ساعت و بسته شدن غشاء سلول‌ها، رنگ را به محیط کشت اضافه می‌کنیم و سلول‌ها را توسط میکروسکوپ بررسی می‌کنیم. به این ترتیب، سلول‌های رنگ شده نمایشگر سلول‌هایی هستند که غشاء آن‌ها پس از باز شدن، بسته نشده است، بنابراین سلول مرده محسوب می‌شوند. سلول های رنگ نشده نیز نمایشگر سلول های زنده می‌باشد. درصد زیست پذیری و نرخ دارورسانی با استفاده از روابط زیر محاسبه می‌شود:

4-Trypan blue

این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

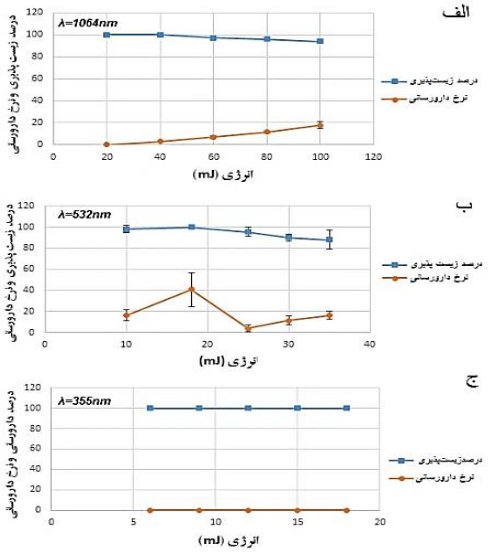
[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-11-02]

$$\text{درصد زیست پذیری} = \frac{\text{سلول‌های بدون رنگ}}{\text{کل سلول‌ها}} \times ۱۰۰٪$$

$$\text{نرخ دارو رسانی} = \frac{\text{سلول‌های رنگ‌شده}}{\text{کل سلول‌ها}} \times (\text{درصد زیست پذیری})$$

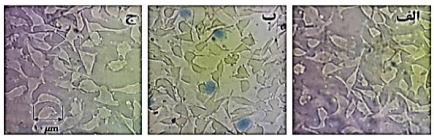
نتایج تجربی

نرخ دارورسانی سلولی و درصد زیست‌پذیری پس از گذشت دو ساعت برای سه آزمایش جداگانه در طول موج های ۱۰۶۴ nm، ۵۳۲nm و ۳۵۵nm لیزر نانوثانیه‌ی Nd:YAG به ازای تابش ۹۰ پالس برای هر چاهک حاوی سلول، محاسبه و در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲: نرخ دارورسانی(نقاط دایره) و درصد زیست پذیری (نقاط مربع) سلول های B16 برای سه طول موج الف) ۱۰۶۴ nm، ب) ۵۳۲ nm، ج)۳۵۵ nm به ازای انرژی های مختلف پالس(هر آزمایش سه بار تکرار شده است)

با محاسبه سطح مقطع های جذب توسط رابطه‌ی۲، سطح مقطع جذب در طول موج ۵۳۲ nm بیست برابر سطح مقطع جذب در طول موج ۱۰۶۴nm و دو برابر سطح مقطع جذب در طول موج ۳۵۵ nm می‌باشد که باعث می‌شود نانوذرات طلا در این طول موج گرمای بیشتری تولید کند و منجر به ذوب غشاء و ایجاد روزنه بر روی آن بشود. طبق نمودارهای شکل۲، نرخ دارورسانی سلولی در انرژی ۱۸mJ برای طول موج ۵۳۲ nm بیشترین میزان خود را دارد که نشان دهنده‌ی تولید گرمای بیشتر توسط نانوذرات می باشد. در حالی که به ازای این انرژی در دو طول موج دیگر دارورسانی انجام نشده است. شکل ۳ تصویر میکروسکوپی سلول های مورد مطالعه پس از برهمکنش لیزر و نانوذرات طلا برای سه طول موج الف)۱۰۶۴ nm، ب)۵۳۲ nm و ج)۳۵۵ nm را نشان می‌دهد. بزرگ نمایی میکروسکوپ نوری نیز، ۲۰۰X می‌باشد. طبق شکل ۳-ب، در اثر برهمکنش طول موج ۵۳۲nm لیزر با نانوذرات طلا، واکنش های لازم جهت تولید گرما و ایجاد روزنه بر روی غشاء رخ داده است و رنگ تریپان بلو وارد محیط سیتوپلاسم شده است. در حالی که به ازای طول موج های ۳۵۵nm و ۱۰۶۴nm میزان گرمای لازم جهت ایجاد روزنه بر روی غشاء تولید نشده است و رنگ وارد محیط سیتوپلاسم نشده است و سلول‌ها بی‌رنگ مانده‌اند.



شکل ۳: تصویر میکروسکوپی سلول های مورد مطالعه پس از برهمکنش لیزر و نانوذرات طلا برای سه طول موج الف)۱۰۶۴ nm، ب)۵۳۲ nm و ج)۳۵۵ nm

نتیجه‌گیری

سطح مقطع جذب بالای نانوذرات طلا در طول موج ۵۳۲nm نسبت به طول موج‌های ۳۵۵nm و ۱۰۶۴nm باعث تولید مقدار زیادی گرما در انرژی های نسبتا پایین شده، که سبب ذوب شدن غشاء و ایجاد روزنه بر روی آن می‌شود. نتایج این بررسی نشان میدهد که با استفاده از هارمونیک دوم لیزر Nd:YAG می توان در انرژی های پایین، نرخ بالایی از دارو رسانی و زیست پذیری برای سلول های زیستی را بدست آورد.

مرجع‌ها

[1] Lalonde, B. S.-L.; Boulais, É .; Lebrun, J.-J.; Meunier, M. Visible and Near Infrared Resonance Plasmonic Enhanced Nanosecond Laser Optoporation of Cancer Cells. Biomed. Opt. Express 2013, 4, 490–499

[2] Cell perforation mediated by plasmonic bubbles generated by a single near infrared femtosecond laser pulse

[3] Pitsillides CM, Joe EK, Wei X, Anderson RR, Lin CP (2003) Selective cell targeting with light-absorbing microparticles and nanoparticles. Biophys J 84:4023–4032

[4] Stefan A. Maier,Plasmonics:Fundamentals and applications

[5] Pustovalov VK, Smetannikov AS, Zharov VP. Photothermal and accompanied phenomena of selective nanophotothermolysis with gold nanoparticles and laser pulses. Laser Phys Lett 2008;5(11):775–92

این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-11-02]