خصوصیات، رو شهای سنتز و کاربردهای زیست پزشکی نانوذرات نقره

الهام احمدی، دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران(نویسنده مسئول)

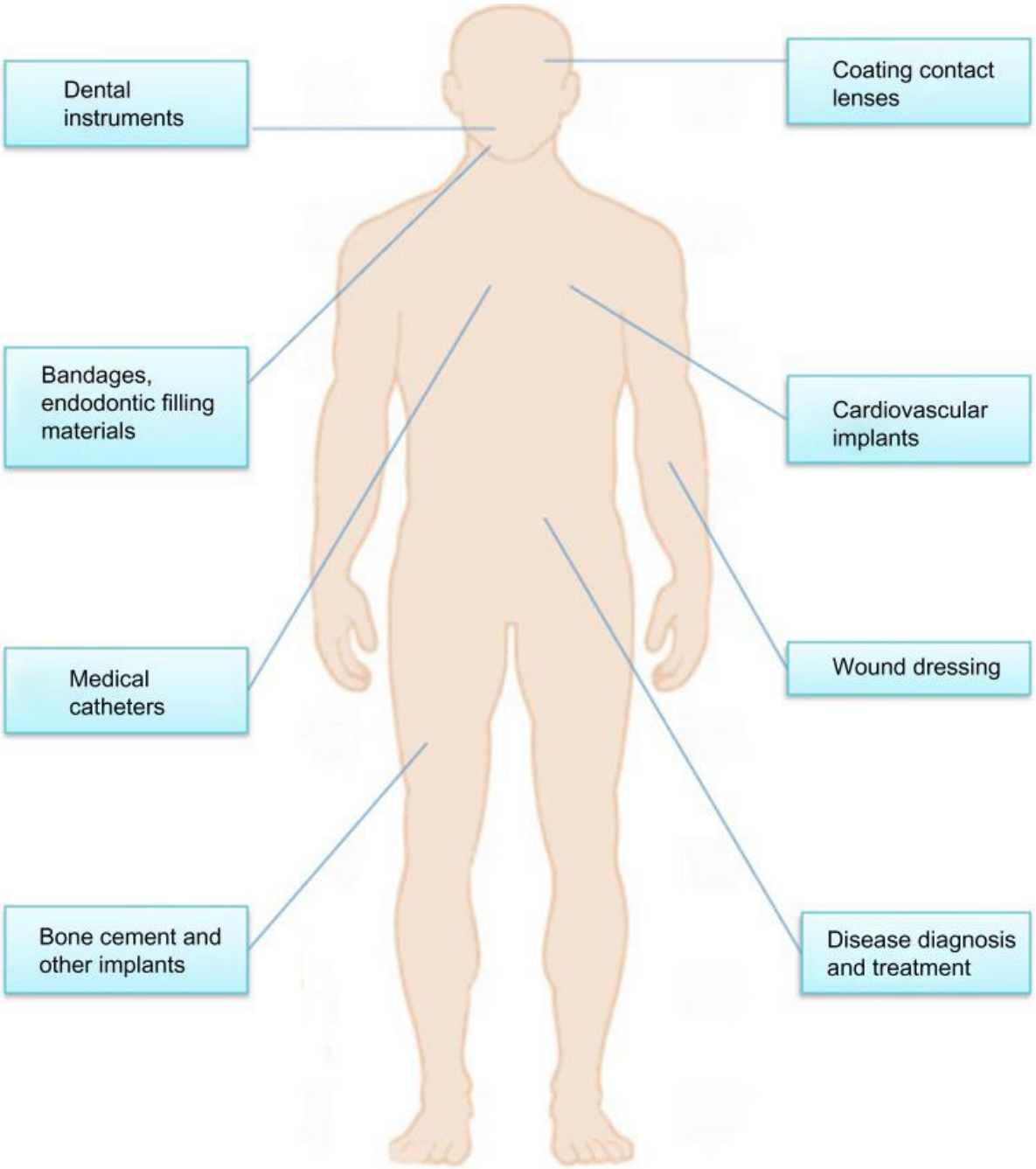
دکتر محمد رحمتی، عضو هیئت علمی گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

دکتر ابوالفضل اکبرزاده، عضو هیئت علمی گروه نانوتکنولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

محمد میری، کارشناس آزمایشگاه

علم نانو، یک علم بین رشته ای نسبتاً جدید است. این علم با تولید nanomaterials،nanobiomaterialsو nanodevices در ابعاد ۹- ۱۰ سروکار دارد. علم نانوتکنولوژی با یکسری مواد با خصوصیات جدید شیمیایی،فیزیکی، بیولوژیکی روبرو است که این خصوصیات یا قبلاً وجود نداشته یا خیلی جزئی وجود داشته اند. به دلیل سایز کوچک در ابعاد نانو، نسبت سطح به حجم ماده بیشتر می شود، بنابراین نانوذرات سطح بسیار فعالی داشته و قابلیت اتصال با سایر مواد را دارا می باشند. انواع گسترده ای از نانوذرات با داشتن ویژگی های خاص وقابل تنظیم فیزیکی و نوری و توانایی اتصال به گستره ی عظیمی از لیگاندها کاربردهای پزشکی بسیار متنوعی در تصویربرداری، تشخیص و درمان دارند.

در بین نانوذرات فلزی، نانوذرات نقره با داشتن ویژگی های منحصربه فرد در اندازه، خواص نوری، مغناطیسی و ضدباکتریایی، کاربرد بسیار وسیعی در طراحی بیوسنسورها، قطعات الکترونیکی، الیاف، مواد ابررسانای برودتی، محصولات آرایشی و بهداشتی و پزشکی در فرم نانومتری پیدا کرده اند و از زمان های قدیم نیزنقره به عنوان یک آنتی بیوتیک مورد استفاده قرار می گرفت. مقاومت پاتوژنها به مواد ضدباکتریایی به عنوان یک مشکل عمده بهداشتی مطرح است. نانوذرات نقره با داشتن ویژگی های منحصربه فرد آنتی میکروبی، به طور وسیعی در زمینه های زیست پزشکی، اسپری های حشره کش، وسایل جراحی مانند نوارهای زخم بندی مورد استفاده قرار می گیرند. نانوذرات نقره به دلیل واکنش با سلو لها و راه اندازی و تنظیم فرایندهای مولکولی داخل سلول، عملکرد سلول ها را تنظیم می کنند، از این رو نانوذرات نقره به عنوان عوامل درمانی ضد سرطان در درمان لوکمیا، سرطان سینه، سرطان ریه، سرطان پوست، کارسینومای کبد و کارسینومای دهان مورد استفاده قرار می گیرند، بنابراین جهت کاربردی کردن نانوذرات نقره در کاربردهای زیست پزشکی و به ویژه روی انسان ضروری است که خصوصیات آنها مورد مطالعه قرار بگیرد.در این مقاله انواع روش های سنتز، خصوصیات فیزیکی شیمیایی، خصوصیات رزونانس سطحی پلاسمونیک (Localized surface Plasmon resonance) LSPRو میزان سمیت toxicity نانوذرات نقره موردبحث قرار می گیرد و سپس براساس مکانیسم عملکرد نانوذرات نقره تأثیر آنها روی انسان مرور می شود



کاربردهای بیومدیکال نانوذرات نقره در بهداشت و سلامت انسان

رفتار نانوذرات نقره در محیط بیولوژیک و غیربیولوژیک:

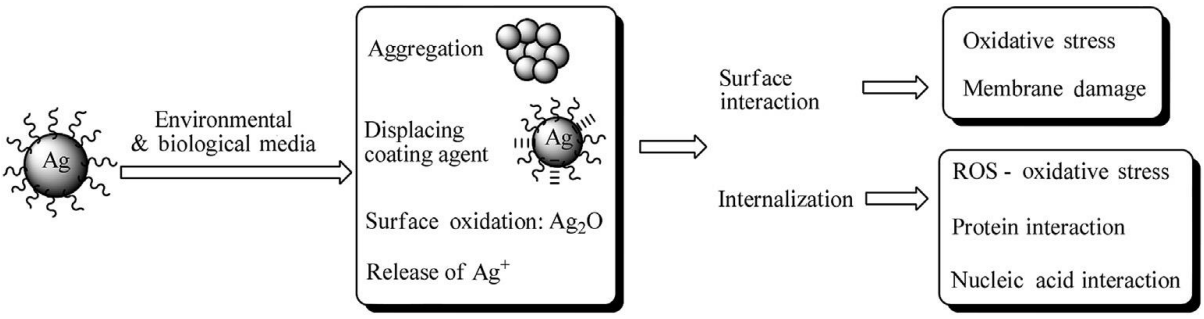
به سه حالت تغییرات اساسی روی نانوذرات نقره در محیط بیولوژیک و غیربیولوژیک رخ می دهد:

۱ - تغییر عوامل پوششی روی سطح نانوذرات نقره مانند اسیدسیتریک، آمینواسیدها، Cetyltrimethylammoniu bromide، سدیم دودسیل سولفات. این تغییرات منجر به حذف و جایگزینی عوامل اتصال یافته روی سطح نانوذره با مولکو لهای غیرارگانیک و یو نهای ارگانیک پیرامونی نانوذره می شود.

۲ - تغییرات روی سطح نانوذره منجر به ناپایداری و تجمع نانوذره در محیط می شود.

۳ - اتم های نقره روی سطح نانوذره در معرض اکسیژن مولکولی اکسید شده و اکسید نقره تولید می شود. اکسید نقره با مولکو لهای پیرامونی واکنش داده و یون نقره تولید می شود.

این تغییرات روی سطح نانوذره در محیط بیولوژیک و غیربیولوژیک تحت تأثیر یون های سولفور، اکسیژن نامحلول، کلر و ماکرومولکو لهای بیولوژیکی (پروتئین و DNA) می باشد.



مکانیسم سمیت نانوذرات نقره در محیط بیولوژیک و غیربیولوژیک

روش های سنتز نانوذرات نقره:

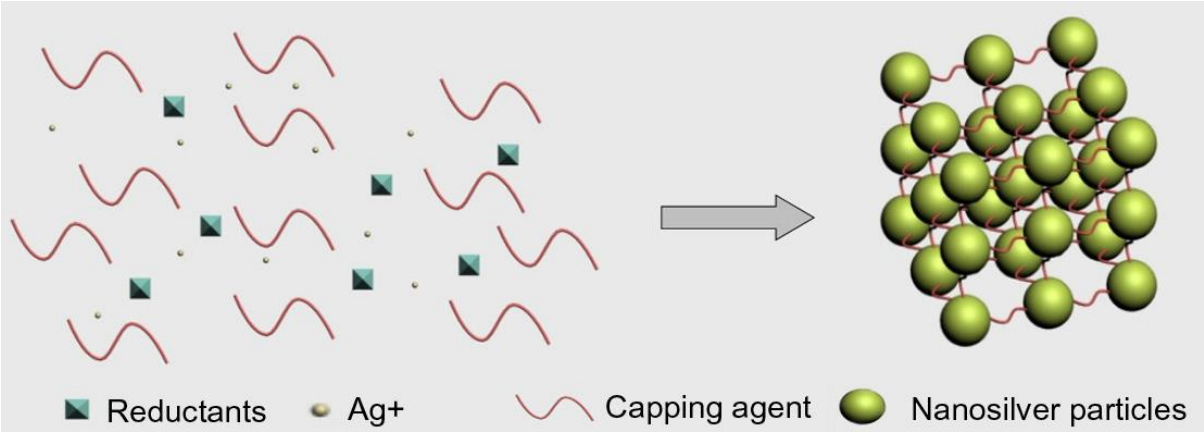
سه روش جهت سنتز به کار می رود: روش شیمیایی، روش فیزیکی و روش بیولوژیک سنتز به روش شیمیایی با احیای شیمیایی، تکنیک های الکتروشیمیایی، روش های مبتنی بر تابش پرتو وحرارت صورت می گیرد. محلولهای مورد استفاده در این روش در حضور سه جزء اصلی انجام می شود.

۱ - پیش سازهای فلزی

۲ - عوامل احیاکننده

۳ - عوامل پایدارکننده

از عوامل احیاکننده ی رایج می توان borohydride ، سدیم سیترات، اسید آسکوربیک و اجزای هیدرازین را نام برد

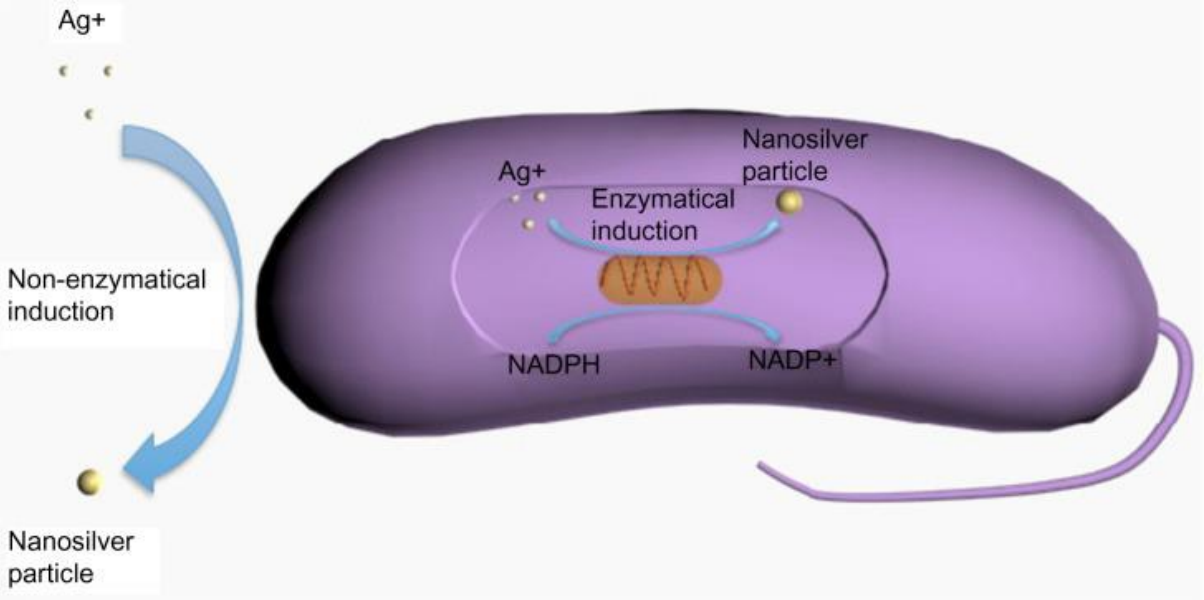


سنتز شیمیایی نانوذرات نقره

در مقایسه با روش شیمیایی، روش فیزیکی پروسه ی سریعی را طی می کند و هیچگونه نیازی به استفاده از مواد شیمیایی سمی ندارد. در روش فیزیکی از روش های physical vapor condensation direct current ، arcdischarg ، magnetron sputtering، energy ball milling method استفاده می شود. ازدیگر مزایای روش فیزیکی توزیع مناسب اندازه ی نانوذرات است درحالی که مصرف بسیار بالای انرژی از معایب آن به شمار می رود.

در روش بیولوژیکی به جای استفاده از عوامل احیاکننده و پایدارکننده ی سمی از مولکول های غیرسمی(پروتئین، کربوهیدرات و آنتی اکسیدان ها) تولیدشده توسط باکتری ها، مخمر، قارچ و گیاهان استفاده می شود.سنتز بیولوژیکی بر پایه ی دو روش آنزیمی و غیر آنزیمی استوار است که روش آنزیمی با استفاده از آنزیم NADPH ردوکتاز است.

(خصوصیات، رو شهای سنتز و کاربردهای زیست پزشکی نانوذرات نقره)



سنتز بیولوژیکی نانوذرات نقره

ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی نانوذرات نقره:

اندازه، شکل، بار سطحی، agglomeration و میزان حلالیت جهت تعیین میانکنش بیولوژیکی نانوذرات بسیار مهم می باشد. نانوذرات با اندازه ی کوچک سطح بزرگی دارند، بنابراین از پتانسیل سمیت بالایی برخوردارند. اشکال رایج نانوذرات نقره که در کارهای زیست پزشکی کاربرد دارند شامل nanocubs ، nanoplates، nanorods، nanowires می باشد.طبق تحقیقات تیمی Levard ، میانکش نانوذرات نقره با سولفید Sulfide سمیت را کاهش می دهد که این کاهش سمیت به دلیل کاهش حلالیت نانوذرات نقره می باشد.

خصوصیات پلاسمونیک رزونانس سطحی

(Localized surface Plasmon resonance) LSPR

به دلیل وجود الکترون های سطحی آزاد روی نانوذرات نقره به هنگام واکنش با نور و جذب نوری، بسته به اندازه ی نانوذره، پراکنش نوری با رنگ و طول موج جدید و بالقوه منعکس می کند که به این ویژگی خاصیت نوری رزونانس پلاسمونیک سطحی LSPR میگویند. پراکنش نوری قوی به علت تغییر سایز اتم های سطحی نانوذره و تغییر ضریب

انعکاسی سطحی است که منجر به مشاهده ی واضح تر نانوذرات نقره زیر میکروسکوپ های معمولی می شود. خصوصیت LSPR نانوذرات نقره بستگی به اندازه، شکل، محیط دی الکتریک و میانکنش الکترومگنتیک دوجانبه با ذرات پیرامون دارد. نوسان الکترون های سطحی آزاد منجر به تخریب همراه با تابش قوی و قابل دید یا بدون تابش نور می شود که این امر منجر به تبدیل انرژی فوتونی به انرژی حرارتی می شود. نورتابشی حاصل از پدیده ی LSPR در نانوذرات نقره در محدوده ی طیفی مادون قرمز قابل دید است. از این دو مکانیسم تخریبی نانوذرات نقره در فرایندهای تشخیصی، تصویربرداری، نوردرمانی و لیزردرمانی استفاده می شود. از خاصیت پرتودرمانی نانوذرات نقره در از بین بردن سلول های سرطانی هم استفاده می شود.

سمیت نانوذرات نقره

سطح نانوذرات نقره به آسانی توسط O2 در سیستم های بیولوژیک وغیربیولوژیک اکسید می شود که منجر به آزادسازی یون نقره+ Agمی گردد.+ Ag به عنوان یک یون سمی شناخته می شود به همین دلیل سمیت نانوذرات نقره با آزادسازی+ Ag همراه است. میزان اکسیداسیون سطحی به پوشش سطحی نانوذرات نقره، مولکول های پیرامونی به ویژه مولکول های حاوی گروه تیول، شرایط نوری و میانکنش با اسید نوکلئیک ها، مولکول های لیپیدی و پروتئین ها در سیستم های بیولوژیک وابسته است.یکی از مکانیسم های اساسی سمیت از طریق استرس اکسیداتیواست که منجر به تولید گونه های فعال واکنشی اکسیژن ROS (Reactive Oxygen Species) می شود. گونه های فعال اکسیژن با آسیب به DNA ، فعال سازی آنزیم های آنت یاکسیدانی وکاهش آنت یاکسیدان ها)گلوتاتیون، تیوردوکسین پراکسیداز(، اتصال به پروتئی نها و غیرفعال سازی و آسیب به غشای سلولی، به سلول ها آسیب می رسانند؛ به عبارت دیگر فعالیت ضدتکثیری روی سلول ها دارند.

سمیت نانوذرات نقره روی انسان

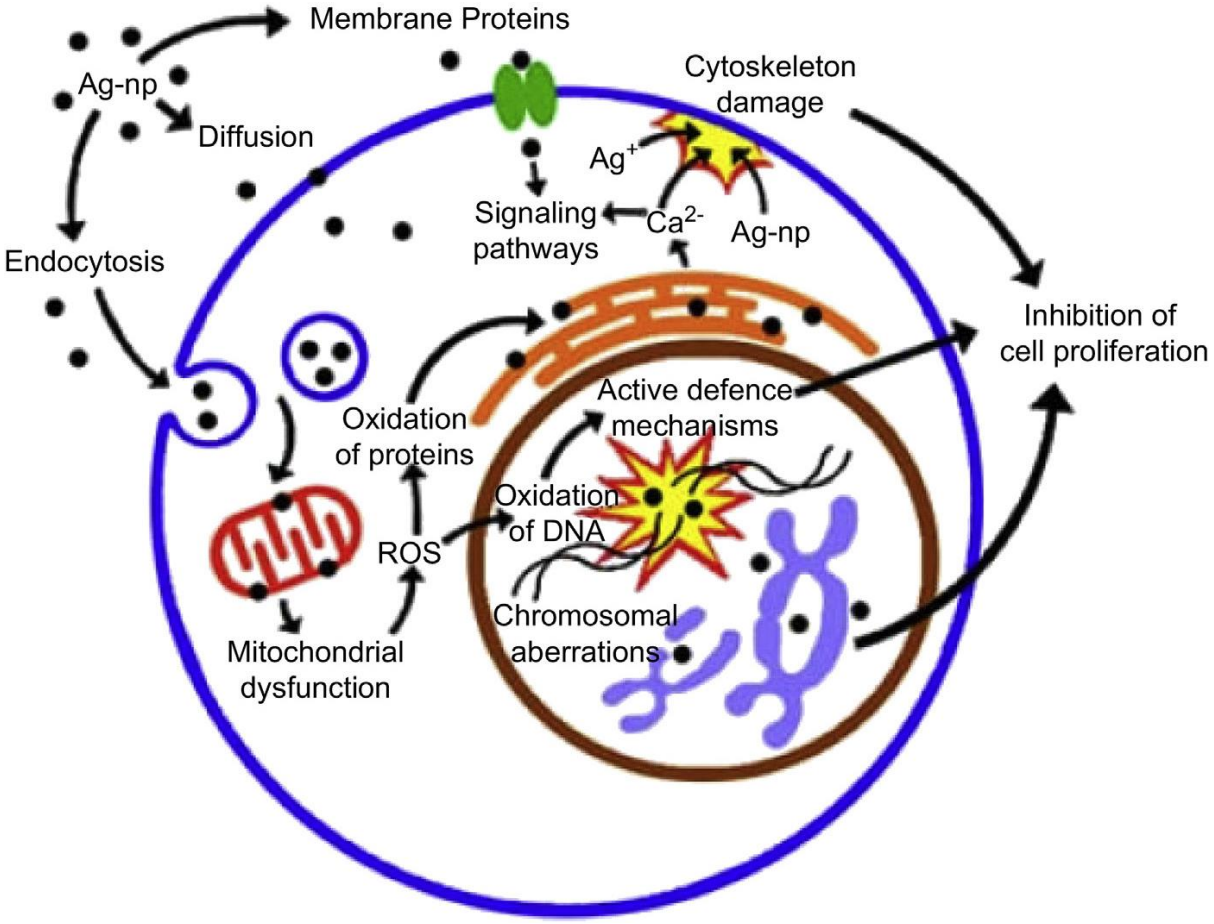
بیماران به روش های مختلفی مثلاً از طریق جریان تنفسی، جریان خون و از راه خوراکی در معرض نانوذرات نقره قرار می گیرند. ماکروفاژها به عنوان اولین سد دفاعی در برابر این نانوذرات مقابله م یکنند. سمیت نانوذرات نقره با اندازه کمتر از ۱۰ نانومتر به واسطه ی آزاد شدن یون های نقره+ Ag می باشد که منجر به آسیب های کبدی، طحال، ریه و کلیه می شود. درحالیکه سمیت نانوذرات نقره با اندازه ۲۰ نانومتر و ۱۰۰نانومتر بیشتر بروی طحال تأثیر گذاشته و منجر به بزرگ شدن طحال می شود. نانوذرات نقره به دلیل رو شهای مختلف سنتز و سایزهای گوناگون، در شرایط مختلف، اثرات سمیت متفاوتی روی انسان دارند.

مکانیسم القای سمیت

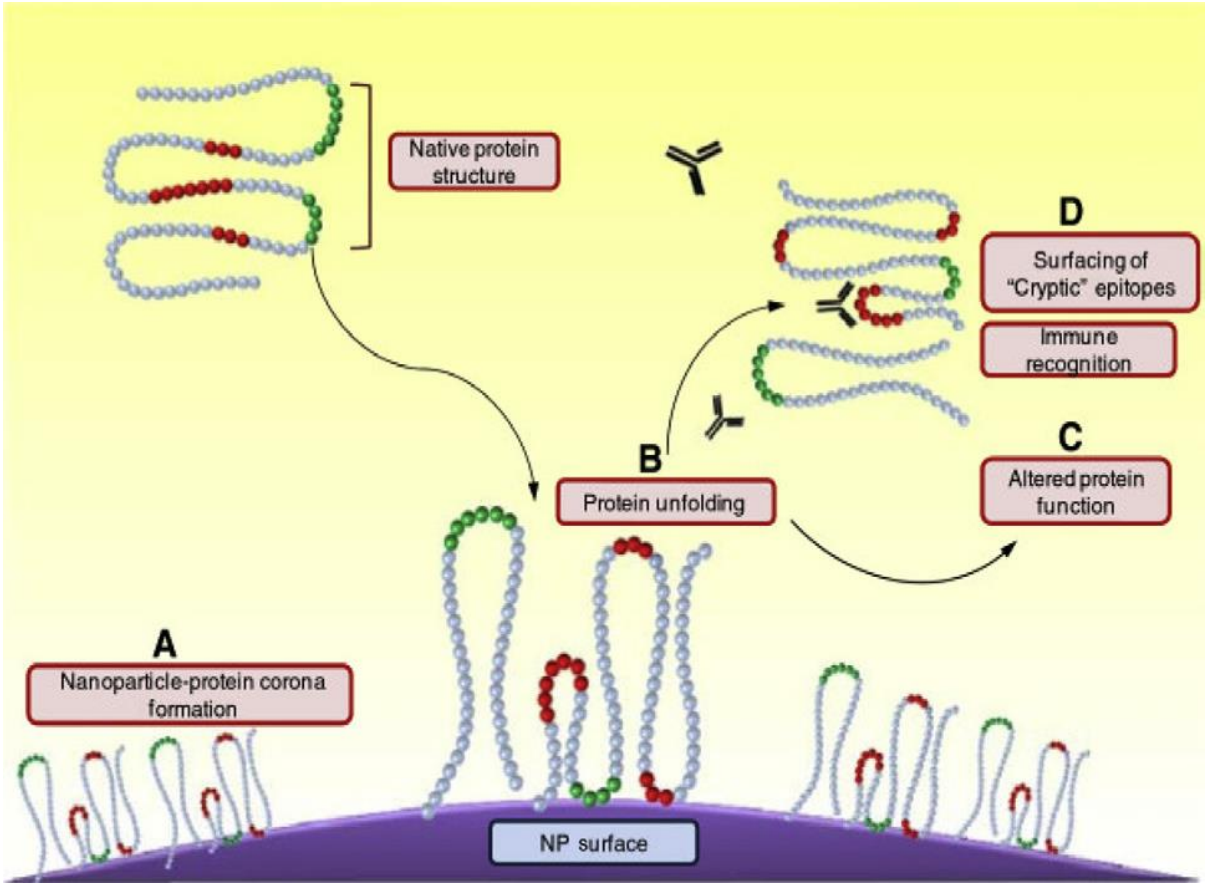
اندوسیتوز نانوذرات نقره به سلول، به مقدار نانوذرات، زمان جذب وانرژی نانوذرات بستگی دارد. دو اندامک لیزوزوم و اندوزوم بیشترین مقدار جذب را دارند. نانوذرات نقره در محیط اسیدی لیزوزوم باعث القای تولید گونه های فعال اکسیژن ROS می شوند. گونه های فعال اکسیژن شامل آنیون سوپراکسید (O-2)، رادیکال هیدروکسیل (OH)و هیدروژن پراکسید (H2O2)می باشد. میانکنش بین هیدروژن پراکسید و نانوذرات نقره یک فاکتور مؤثر در رهاسازی یون نقره در شرایط in vivo است. واکنش شیمیایی به قرار زیر است:

$$Ag + H2O2 + 2H+ \rightarrow 2Ag+ + 2H2O^{۲}$$

نانوذرات نقره و یون های نقره با خروج از لیزوزم و القای تولید گونه های فعال اکسیژن منجر به آسیب های اکسیداتیو در پروتئین و DNA واختلالات میتوکندریایی می شوند. نانوذرات نقره و یون های نقره با واکنش با گروه های تیول مولکول های داخل سیتوپلاسم، غشای سلول و غشای درونی میتوکندری باعث رهاسازی لیپید پراکسید و افزایش نفوذپذیری سلول می شوند که نهایتاً منجر به نکروزه شدن سلول، تخریب غشای لیزوزومال و القای آپاپتوز وابسته به لیزوزوم، آسیب به زنجیره ی جریان الکترون در میتوکندری و القای آپاپتوز وابسته به میتوکندری می شوند. آسیب به میتوکندری منجر به اختلال در سنتز ATP می شود.



تصویر شماتیک القای سمیت توسط نانوذرات نقره



مکانیسم واکنش نانوذرات نقره با پروتئی نهای سلول و آسیب به سلول

نانوذرات نقره و یون نقره قادر به واکنش با آمینواسیدها و پروتئین هاهستند. اغلب گروه تیول آمینواسید سیستئین با پوشش سطحی نانوذرات نقره واکنش می دهد کاربردهای درمانی

نانوذرات نقره نانوذرات نقره به عنوان عوامل ضدویروسی:

اثر ضدویروسی نانوذرات نقره روی ویروس های HIV-I، ویروس هپاتیت B، respiratory syncytial virus ، herpes simplex viruse type 1 مشاهده شده است. مکانیسم ضدویروسی نانوذرات نقره روی ویروس HIV-I براساس مهار مرحله ی آغازین چرخه HIV-I است. نانوذرات نقره با اتصال به گلیکوپروتئین۱۲۰ و مهار CD4 ، از اتصال و عفونت زایی ویروس ممانعت می کنند.علی رغم نقش ضدویروسی نانوذرات نقره در مرحله آغازین عفونت زایی، بعد از ورود ویروس به سلول را نیز مهار می کنند

نانوذرات نقره به عنوان عامل ضدآنژیوژنز:

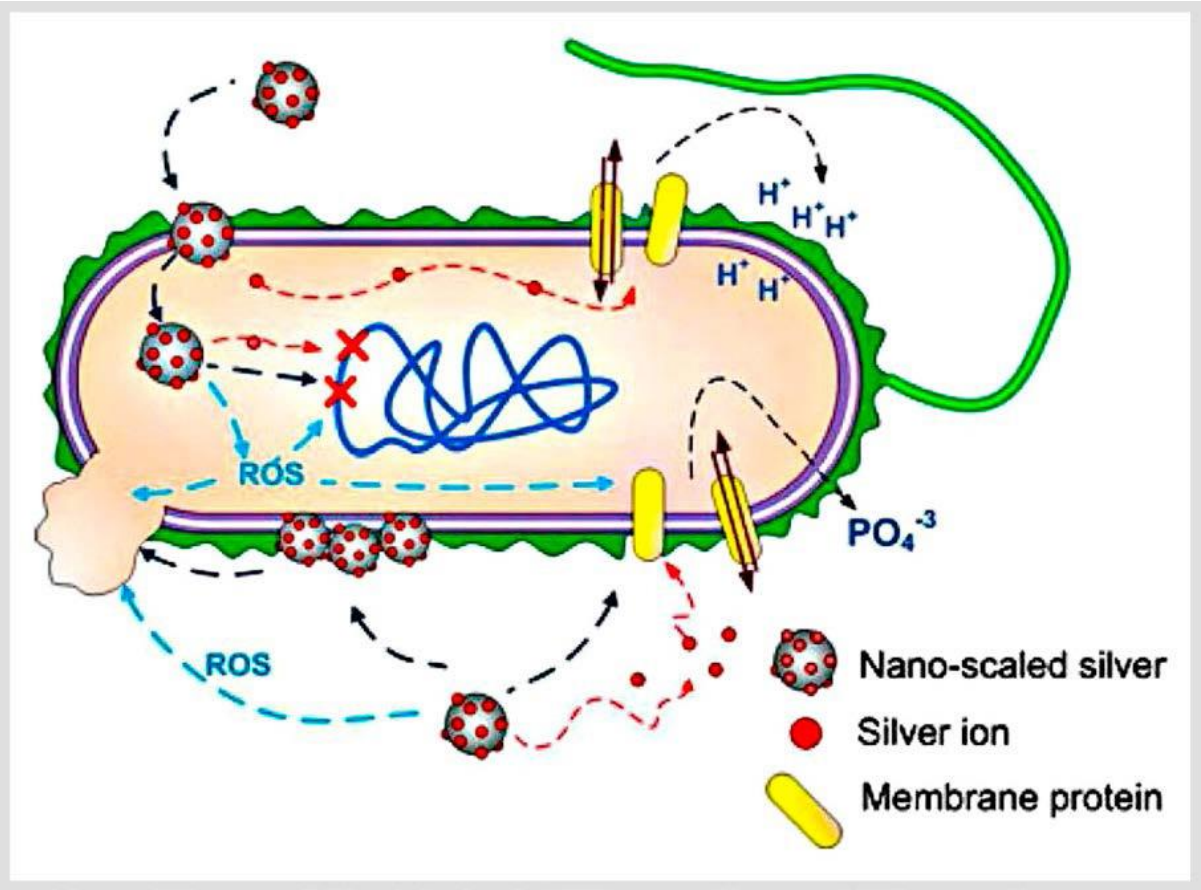
بنا بر گزارشی از گروه تحقیقی EMOS،۰ خاصیت ضد آنژیوژنزی نانوذرات نقره با تأثیر مهارکننده ای روی فاکتور VEGF است که از طریق مهار فسفوریلاسیون PI3K/AKT روی سرین ۴۷۳ عمل می کند.

ویژگیهای ضدباکتریایی نانوذرات نقره

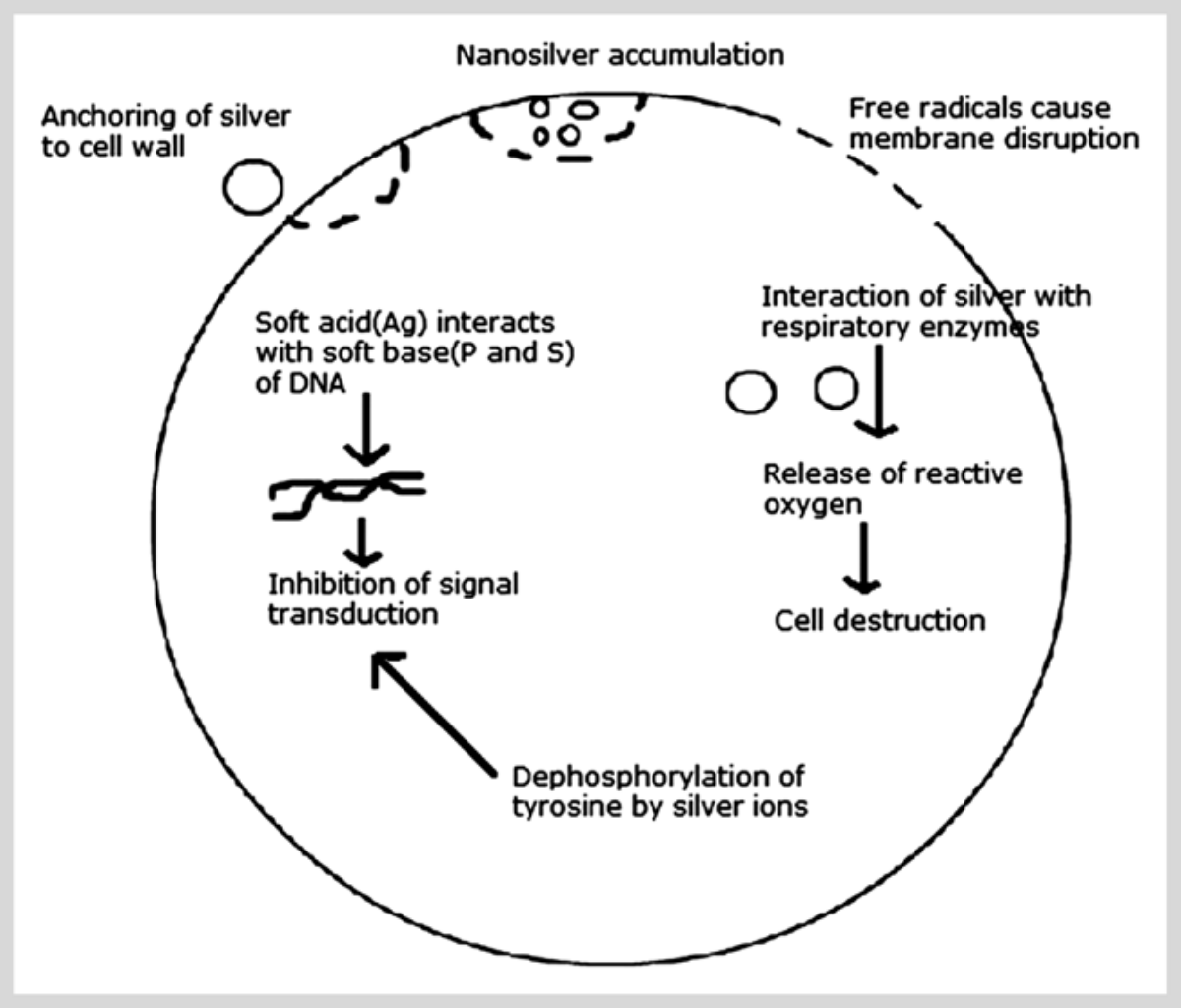
جذب نانوذرات نقره روی سطح باکتری و میانکنش با پروتئین های خارج سلولی به PH ، پتانسیل زتا و غلظت سدیم کلرید بستگی دارد. بارسطحی، فاکتور بسیار مهمی برای میانکنش بین نانوذرات نقره و باکتری است. نانوذرات نقره اثر آنتی باکتریال بسیار قوی روی باکتریهای گرم مثبت و منفی و باکتری های مقاوم به آنت یبیوتیک دارند. اثر آنتی باکتریالی به سایز و غلظت و شکل نانوذرات نقره بستگی دارد. هر قدر غلظت بیشتر و سایز کوچک تر و شکل nanoplate باشد، اثر ضدمیکروبی قوی تر است. اثر نانوذرات نقره ترکیب شده با آنتی بیوتیک بیشتر از نانوذرات

نقره خالص است؛ برای مثال اثر نانوذرات نقره ترکیب شده با آموکسی سیلین روی E.coli به مراتب بیشتر از نانوذرات نقره خالص است. مطالعات گروه Brown نشان می دهد که اتصال آمپی سیلین به نانوذرات نقره و طلا منجر به تقویت اثر ضدباکتریایی روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی می شود. همچنین مطالعات گروه Ansari نشان م یدهد که پوشش gum Arabic با نانوذرات نقره اثر مهارکنندگی روی تشکیل Biofilmحاصل از باکتری pseudomonas aeruginosa دارد.

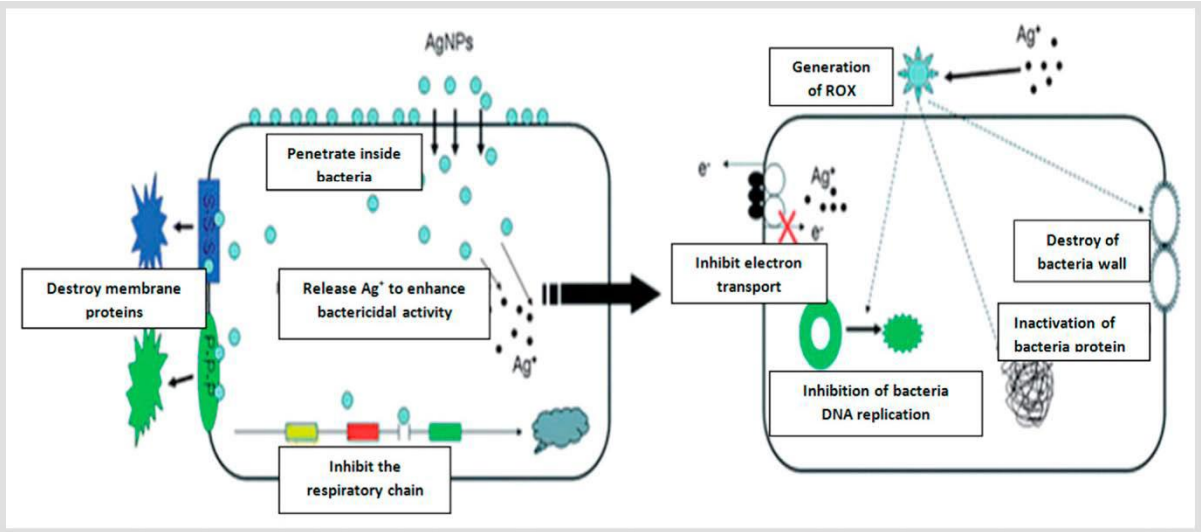
مکانیسم عملکردی به واسطه ی اتصال نانوذرات به دیواره ی سلولی باکتری و نفوذ در آن است که با تغییرات ساختاری در غشا باکتری و افزایش نفوذپذیری سلولی منجر به مرگ سلولی می شود. مکانیسم دیگر با تولید رادیکال های آزاد و تأثیر آنها روی غشا و آسیب های غشایی است. واکنش یون های نقره با گروه های تیول آمینواسیدهای موجود در آنزیم های حیاتی، از عملکردهای سلولی نظیر تقسیم سلولی و همانندسازی DNA ممانعت می کند.



تصویر شماتیک از میانکنش نانوذرات نقره با باکتری



حالتهای مختلف از نحوه ی عملکرد نانوذرات نقره در باکتری



مکانیسم رهایش پیوسته ی نانوذرات نقره داخل سلول باکتریایی

ویژگی های ضدالتهابی

نانوذرات نقره با تغییر در بیان سیتوکاین های التهابی و تغییر در بیان فاکتور رشد β و فاکتور α نکروز هکننده ی تومور نقش ضدالتهابی خود را ایفا م یکنند. مکانیسم ضدالتهابی نانوذرات نقره با کاهش رهاسازی سایتوکاین ها و ماتریکس متالوپروتئیناز منجر به کاهش آزادسازی لنفوسیت و ماس تسل و القای آپاپتوز می شود.

نتیجه گیری

کاربردهای زیست پزشکی نانوذرات، دانشمندان پزشکان و بیماران را شگف تزده کرده است، با این حال سیستم های کاربردی مبتنی برنانوذرات هنوز در مراحل اولیه ی توسعه هستند و تحقیقات بیشتریروی مسائل ایمنی و سمیت جهت سرمای هگذاری روی پتانسیل درمانی نانوذرات نیاز است. مزیت عمده استفاده از نانوذرات نقره به دلیل دو ویژگی بسیار مهم ضد باکتریایی و ضدالتهابی است که درزمینه های پزشکی کاربرد بسیار وسیعی دارد. مطالعات انجام شده نشان م یدهد که استفاده ی نادرست و آزادسازی بی رویه ی نانوذرات نقره در محیط، مشکلات اکولوژیک و اکوسیستمیک ایجاد می کند، بنابراین طرز استفاده ی صحیح و شناخت خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیولوژیکی-نوری و نحوه ی صحیح و اصولی سنتز نانوذرات نقره مزایای بی شماری برای انسان و محیط و کاربردهای پزشکی دارد.

References:

1. Abbasi E، Milani M، Fekri Aval S، Kouhi M،Akbarzadeh A، Tayefi Nasrabadi H، 1. et al. Silver nanoparticles: synthesis methods، bio-applications and properties. Critical reviews in microbiology. 2016;42(2):173-80

. 2 .Chen X، Schluesener H. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. Toxicology letters. 2008;176(1):1-12.

3 .Yohan D، Chithrani BD. Applications of nanoparticles in nanomedicine. Journal of biomedical nanotechnology. 2014;10(9):2371-92.

4 .Khalandi B، Asadi N، Milani M، Davaran S، AbadiA، Abasi E، et al. A Review on Potential Role of Silver Nanoparticles and Possible Mechanisms of their Actions on Bacteria. Drug research. 2016

5. McShan D، Ray PC5. McShan D، Ray PC، Yu H. Molecular toxicity mechanism of nanosilver. Journal of food and drug analysis. 2014;22(1):116-27

6 .Wei L، Lu J، Xu H، Patel A، Chen Z-S، Chen G. Silver nanoparticles: synthesis، properties، and therapeutic applications. Drug Discovery Today. 2015;20(5):595-601.

7. Ge L، Li Q، Wang M، Ouyang J، Li X، Xing MM. Nanosilver particles in medical applications: synthesis، performance، and toxicity. International journal of nanomedicine. 2014;9:2399

8. Prabhu S، Poulose EK. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action، synthesis، medical applications، and toxicity effects. International Nano Letters. 2012;2(1):32.

9. Tran QH، Le A-T. Silver nanoparticles: synthesis، properties، toxicology، applications and perspectives. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology. 2013;4(3):033001.