

بررسی تأثیر هم‌افزایی نانوذرات نقره و تابش امواج فراصوت در فرکانس ۱ MHz پیوسته بر میزان مرگ سلولی سلول‌های MCF-7 سرطان پستان

احمد شائنی^۱، محمدباقر توکلی^۲، حسین صالحی^۳، علی ابراهیمی‌فرد^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه، اثرات بیولوژیک و کاربردهای امواج فراصوت به خصوص در حضور نانوذرات به سرعت در حال گسترش است. در این پژوهش، به بررسی تأثیر تابش امواج فراصوت و نانوذرات نقره بر میزان مرگ سلول‌های MCF-7 پرداخته شد.

روش‌ها: سلول‌های توموری MCF-7 کشت داده شد. سلول‌ها به ۴ گروه تقسیم شدند. در گروه نانوذرات، سلول‌ها با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات با ابعاد ۲۰ نانومتر در محیط کشت تیمار شدند. در گروه تابش امواج فراصوت، سلول‌ها تحت تابش فراصوت با شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع به مدت ۳ دقیقه قرار گرفتند. در گروه نانوذرات همراه تابش امواج فراصوت، ابتدا سلول‌ها با غلظت‌های مختلف از نانوذرات در محیط کشت تیمار شدند و بعد از گذشت ۵ ساعت، تحت تابش فراصوت با همان مشخصات قرار گرفتند. در گروه شاهد، هیچ مداخله‌ای انجام نشد. سپس، درصد زنده ماندن سلول‌ها در هر چهار گروه با روش MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) در سه بازه‌ی زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعیین گردید.

یافته‌ها: درصد بقای سلول‌های MCF-7 در گروه فراصوت به همراه نانوذرات در غلظت‌های مختلف نسبت به گروه شاهد در هر سه بازه‌ی زمانی تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). در گروه نانوذرات نیز میزان بقای سلول‌ها با افزایش غلظت و گذشت زمان کاهش و تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت.

نتیجه‌گیری: میزان سمیت نانوذرات نقره همراه با تابش فراصوت اثر افزایشی داشت؛ می‌توان چنین نتیجه گرفت که استفاده‌ی هم‌زمان از نانوذرات نقره و امواج فراصوت، سمیت سلولی و به دنبال آن مرگ سلولی را افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: نانوذرات نقره، امواج فراصوت، سمیت سلولی، سلول‌های MCF-7

ارجاع: شائنی احمد، توکلی محمدباقر، صالحی حسین، ابراهیمی‌فرد علی. بررسی تأثیر هم‌افزایی نانوذرات نقره و تابش امواج فراصوت در فرکانس

1 MHz پیوسته بر میزان مرگ سلولی سلول‌های MCF-7 سرطان پستان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۸۹): ۷۶۵-۷۷۰

(Cavitation) می‌باشد (۲). وقتی امواج فراصوتی در محیط منتشر می‌شود، نواحی فشرده‌گی و انبساط ایجاد می‌گردد. بنا بر این، نواحی موضعی، افزایش و کاهش‌های متناوبی از فشار را تجربه می‌کنند که موجب تشکیل و بزرگ شدن حباب‌های گاز و بروز رفتار پویا می‌شود. این پدیده، به عنوان حفره‌سازی شناخته می‌شود و می‌تواند پایدار یا گذرا باشد. حفره‌سازی گذرا، شکل تهاجمی‌تری از پویایی ریز حباب‌ها می‌باشد. زمانی که حباب‌ها کولاپس شوند، دماهای بسیار زیاد و فشارهای بالای ناشی از این پدیده، موجب تجزیه‌ی آب

مقدمه

امواج فراصوت دارای آثار فیزیکی مهمی مثل اثرات مکانیکی، حرارتی و حفره‌سازی می‌باشند. از آن جایی که آثار حرارتی و مکانیکی امواج فراصوتی می‌تواند باعث تخریب بافت‌ها گردد، از آن به عنوان یک عامل درمانی جهت از بین بردن بافت‌های سرطانی استفاده می‌شود. از طرف دیگر، این امواج به دلیل غیر یونیزان بودن، اثرات جانبی کمتری بر روی بافت‌های سالم اطراف ناحیه‌ی درمان دارد (۱). یکی از اثرات غیر حرارتی امواج فراصوت، حفره‌سازی

- ۱- دانشیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- استادیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: علی ابراهیمی‌فرد

Email: a.ebrahimi2008@yahoo.com

گردید تا آنزیم اثر کند و سلول‌ها از کف فلاسک کنده شوند. پس از خارج کردن فلاسک از داخل انکوباتور و حصول اطمینان از کنده شدن سلول‌ها، به منظور خنثی‌سازی فعالیت بیشتر آنزیم به فلاسک حدود ۳ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه گردید. با افزایش محیط کشت سوسپانسیونی از سلول‌ها آماده شد. این سوسپانسیون سلولی، به فالکون انتقال یافت و به مدت ۵ دقیقه با شتاب ۱۵۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد تا رسوبی از سلول‌ها حاصل شود. سپس، محیط رویی رسوب سلولی، تخلیه گردید و محیط کشت جدید اضافه شد. تمامی این مراحل در زیر هود انجام شد.

اثردهی نمونه‌ها

سلول‌ها به ۴ گروه شامل گروه شاهد، گروه تزریق نانوذرات نقره، گروه تابش امواج فراصوت و نیز گروه تزریق نانوذرات و تابش امواج فراصوت تقسیم شدند.

بدین منظور، از پلیت ۹۶ خانه‌ای استفاده شد که در هر چاهک از آن، تعداد ۵۰۰۰ سلول سرطانی MCF-7 قرار داشت و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد انکوبه شد تا سلول‌ها به کف چاهک‌ها بچسبند.

سلول‌های گروه شاهد، هیچ‌گونه آزمایش و مداخله‌ای دریافت نکردند. برای گروه تزریق نانوذرات، از نانوذرات نقره با ابعاد ۲۰ نانومتر استفاده شد که با استفاده از روش محلول‌سازی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از آن ساخته شد و به چاهک‌ها اضافه گردید. برای گروه تابش امواج فراصوت، با استفاده از دستگاه TRASOUND 215X (Class1 Type BF) در فرکانس ۱ مگاهرتز و شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع به مدت زمان ۱ دقیقه تابش‌دهی انجام شد. در گروه نانوذرات و تابش، ابتدا تزریق نانوذرات در غلظت‌های مختلف انجام شد. سپس، به مدت ۵ ساعت انکوبه گردید و بعد از آن تابش‌دهی، در فرکانس فرکانس ۱ مگاهرتز و شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع به مدت زمان ۱ دقیقه شد.

رنگ‌آمیزی MTT

جهت تهیه‌ی محلول MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-) (diphenyltetrazolium bromide) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۵۰ میلی‌گرم از پودر MTT در ۱۰ میلی‌لیتر PBS ۰/۱ مولار حل شد. پس از انجام آزمایش‌های مربوط، مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول MTT به هر چاهک اضافه شد و پس از ۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، محلول رویی سلول‌ها خارج شد و به جای آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO به چاهک‌های مربوط اضافه شد. سپس، پلیت‌ها به مدت یک ساعت دیگر داخل انکوباتور قرار گرفت. میزان زنده بودن سلول‌ها با استفاده از روش MTT در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تابش‌دهی به دست آمد.

به رادیکال‌های آزاد و همچنین، وقوع واکنش‌های شیمیایی می‌گردد (۳). می‌توان امواج فراصوت را به سلول‌های سرطانی اعمال نمود که در نتیجه‌ی آن، رادیکال آزاد در محل بافت سرطانی ایجاد می‌گردد و به درمان توده‌ی سلولی سرطانی منجر می‌شود (۴).

نانوذرات طبق تعریف، به سازه‌هایی اطلاق می‌گردد که حداقل یکی از ابعاد آن‌ها در محدوده‌ی ۱۰۰-۱ نانومتر باشد. از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به نانوذرات فلزی اشاره کرد که در حال حاضر، توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. مطالعات مختلفی وجود دارد که اثبات می‌کند نانوذرات نقره، قادرند از طریق منسوجات، محصولات پوستی و ... وارد بدن شوند. در پزشکی، نانوذرات نقره جزء نانوذراتی هستند که اثر ضد میکروبی دارند. همین اثر، باعث توجه همگان به این نانوذره و استفاده‌ی گسترده از آن شده است (۵-۶).

تحقیقات نشان داده است که نقره به طور مستقیم با غشای سلولی تعامل می‌کند و باعث باز شدن غشای سلولی می‌شود. مطالعات زیادی وجود دارد که اثبات می‌کند حضور نقره در سلول، باعث مهار مکانیزم تنفسی سلول از طریق تولید اکسیژن فعال می‌شود و در نهایت، باعث مرگ سلول خواهد شد (۷-۹). استفاده از نانوذرات نقره و امواج فراصوت، این نظریه را مطرح می‌کند که بتوان از نتیجه‌ی هم‌زمانی این دو عامل در افزایش میزان سمیت و در نتیجه مرگ سلولی استفاده نمود. سؤال این است که «آیا استفاده‌ی هم‌زمان از امواج فراصوت در فرکانس درمانی و نانوذرات نقره، میزان مرگ سلولی را افزایش می‌دهد؟».

هدف از این پژوهش، تعیین بقای سلول‌های سرطانی پستان از رده‌ی MCF-7 بعد از اعمال نانوذرات نقره و تابش‌دهی توسط امواج فراصوت در فرکانس ۱ مگاهرتز می‌باشد.

روش‌ها

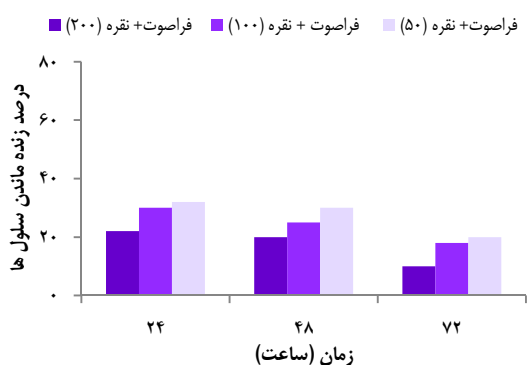
کشت سلول

در این پژوهش، سلول‌های سرطانی MCF-7 از انستیتو پاستور تهران خریداری گردید. سلول‌ها در محیط کشت DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium) همراه با ۱۰ درصد پنی‌سیلین - استرپتومایسین، در فلاسک T_{75} کشت داده شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد انکوبه شد. برای پاساژ سلول‌ها، ابتدا محیط کشت قدیمی از فلاسک‌ها خارج شد و سلول‌ها با استفاده از (PBS) Phosphate buffered saline شستشو داده شدند. سپس، به فلاسک‌ها مقدار ۳ میلی‌لیتر آنزیم تریپسین اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور نگهداری

پس از گذشت ۴۸ ساعت، میزان مرگ سلولی ناشی از نانوذرات نقره افزایش یافت که این افزایش، به ویژه در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشتر بود و بیانگر معنی‌دار بودن این افزایش در این دو غلظت و سمیت بیشتر نانوذرات در غلظت‌های بالاتر بوده است. از مقایسه‌ی نتایج در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت نیز به خوبی می‌توان اثر سمیت نانوذرات نقره را مشاهده کرد. در گروه تابش امواج فراصوت به همراه نانوذرات نیز کاهش معنی‌داری در میزان زنده بودن سلول‌ها مشاهده شد.

پس از ۷۲ ساعت، میزان مرگ سلولی برای گروه نانوذرات نقره در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به نتایج مربوط به ۴۸ ساعت به صورت معنی‌داری افزایش یافت. به علاوه، نمونه‌ای که تحت تأثیر امواج فراصوت قرار گرفته بود، در روز سوم با کاهش بسیار شدیدی در میزان زنده بودن سلول‌ها مواجه شد و این کاهش نسبت به روز اول و دوم بسیار مشخص بود.

شکل ۲، مقایسه‌ی درصد مرگ سلولی را از نظر زمان روش MTT نشان می‌دهد. بر اساس این شکل، بیشترین مرگ سلولی بعد از ۷۲ ساعت بوده است. همچنین، بیشترین میزان مرگ سلولی در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر همراه با تابش دهی امواج فراصوت بود.



شکل ۲. بررسی اثر نانوذرات نقره همراه با تابش امواج فراصوت بر میزان زنده بودن سلول‌ها بر حسب زمان

همچنین، قابل ذکر است که با افزایش غلظت نانوذرات، میزان مرگ سلولی در یک زمان ثابت افزایش یافته است. میزان مرگ سلولی با افزایش زمان و نیز با افزایش غلظت افزایش یافت که نشان دهنده‌ی مؤثر بودن عامل زمان در افزایش سمیت و مرگ سلولی بود.

بحث

در مطالعات مختلفی اثر سمیت نانوذرات نقره بر سلول‌های سالم و سرطانی مورد بررسی قرار گرفته و اثبات شده است که مکانیسم سمیت این ذرات، از طریق تولید اکسیژن فعال می‌باشد

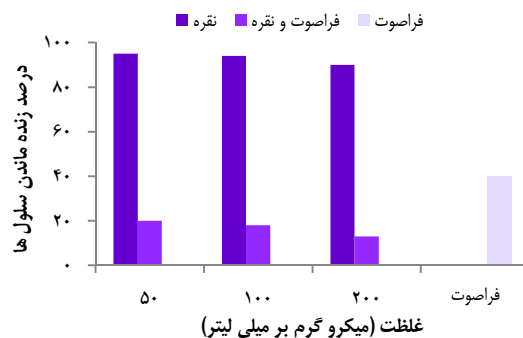
در انتها، جذب نوری هر چاهک توسط دستگاه ELISA reader (Enzyme-linked immunosorbent assay reader) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. درصد زنده بودن سلول‌ها با استفاده از فرمول مربوط (حاصل تقسیم میانگین جذب خوانده شده برای هر نمونه بر میانگین جذب خوانده شده برای نمونه‌ی شاهد ضرب در ۱۰۰) محاسبه گردید.

$$100 \times \frac{\text{میانگین جذب خوانده شده هر برای نمونه}}{\text{میانگین جذب خوانده شده نمونه کنترل}} = \text{بررسی آماری}$$

تمامی مراحل آزمایش ۳ بار تکرار شد و داده‌های به دست آمده، به صورت میانگین مورد ارزیابی قرار گرفت. از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای هر داده بررسی شد. $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. برای بررسی آماری از آزمون تعقیبی Tukey و نیز آزمون ANOVA استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از روش MTT بعد از گذشت ۲۴ ساعت در شکل ۱ آمده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت نانوذرات نقره از ۵۰ به ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان زنده بودن سلول‌ها کاهش یافته و به عبارت دیگر، میزان مرگ سلولی افزایش یافته است. نتایج حاصل، بیانگر عدم معنی‌داری این نتایج بود و این بدان معنا می‌باشد که اگر چه با افزایش غلظت نانوذرات نقره، میزان زنده بودن سلول‌ها کاهش می‌یابد، اما این کاهش چندان قابل توجه نبوده است. در نمونه‌هایی که تحت تأثیر امواج فراصوت قرار گرفتند، افت شدید در میزان زنده بودن سلول‌ها مشاهده شد که تأیید کننده‌ی اثر این امواج بر مرگ سلولی می‌باشد. از مقایسه‌ی این نتایج با نتایج مربوط به نمونه‌ای که تنها تحت تأثیر نانوذرات بود نیز اثر امواج به خوبی اثبات گردید.



شکل ۱. بررسی اثر نانوذرات نقره و امواج فراصوت بر میزان زنده بودن سلول‌های MCF-7 پس از ۲۴ ساعت

میزان مرگ سلولی با افزایش میزان غلظت نانوذرات افزایش یافت که دلیل آن، طبق گزارش‌هایی که Braydich-Stolle و همکاران اعلام کردند، افزایش در میزان تجمع نانوذرات در سلول و کاهش عملکرد میتوکندری می‌باشد. آن‌ها در مقاله‌ی خود بیان کردند که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، میزان عملکرد میتوکندری کاهش و مرگ سلولی افزایش می‌یابد (۱۲). همچنین، این نتیجه توسط Hussain و همکاران بیان شده است؛ آن‌ها نیز کاهش میزان عملکرد میتوکندری و افزایش مرگ سلولی را در نتیجه‌ی افزایش غلظت نانوذرات نقره می‌دانستند، اما غلظت تعیین شده برای این اثر سمیت، با غلظت گزارش شده از تحقیق حاضر متفاوت است. دلیل این اختلاف، اندازه‌ی نانوذرات به کار گرفته شده می‌باشد. آن‌ها در مطالعه‌ی خود از نانوذراتی با قطر ۱۵ نانومتر استفاده کردند، در صورتی که در این تحقیق، از نانوذراتی با قطر ۲۰ نانومتر استفاده گردید (۱۸).

Arora و همکاران، در دو مطالعه‌ی که انجام دادند، افزایش مرگ سلولی ناشی از افزایش در میزان غلظت نانوذرات را گزارش کردند، اما میزان این افزایش با نتایج مطالعه‌ی حاضر متفاوت بود. علت این تفاوت، در نوع سلول مورد آزمایش، میزان قطر نانوذرات به کار رفته و همچنین، تفاوت در انتخاب غلظت‌ها می‌باشد (۱۹). این نتیجه توسط Mukherjee و همکاران که آزمایش تعیین میزان سمیت نانوذرات نقره را بر روی سلول‌های سرطان سرویکس انجام دادند، منتشر شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد. آن‌ها گزارش دادند که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، مرگ سلولی افزایش می‌یابد (۲۰). نتایج به دست آمده در این پژوهش، می‌تواند توجه محققین در بخش درمان سرطان را که در جستجوی راه‌های درمانی جدید برای کاهش عوارض درمان و افزایش اثربخشی هستند، به خود جلب کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل از طرح پژوهشی به شماره‌ی ۱۹۴۰۶۹، مصوب شورای پژوهشی طرح‌های علوم پایه‌ی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. منابع مالی و اعتباری طرح توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شد. بدین وسیله، از مسؤولین و کارکنان محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در انجام این طرح کمال همکاری را داشتند، سپاسگزاری می‌شود. همچنین از خانم دکتر زارع پور از گروه بیوتکنولوژی دانشکده‌ی فناوری‌های نوین دانشگاه اصفهان بابت همکاری صادقانه ایشان سپاسگزاری می‌نماییم.

(۱۰). همچنین، مطالعات نشان دهنده‌ی اثر سمیت وابسته به اندازه‌ی نانوذرات نقره و همین‌طور غلظت آن‌ها بوده است که این اثرات، بر روی سلول‌های فیبروبلاست، اپی‌تلیال و ملانوما مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۱-۱۲). نانوذرات نقره در غلظت‌های ۳۶-۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث کاهش عملکرد میتوکندری می‌شود. نتایج مشابه برای سلول‌های کبد حیوانی در غلظت‌های ۵۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سلول‌های فیبروبلاست پوستی در موش ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است (۱۲). هر چند مطالعات برای کشف دقیق مکانیسم سمیت سلولی نانوذرات نقره همچنان ادامه دارد، اما همان‌طور که پیش از این نیز گفته شد، مهم‌ترین مواردی که می‌توان به آن اشاره کرد، عبارت از تجمع در میتوکندری، کاهش کارایی آن و تولید رادیکال آزاد اکسیژن می‌باشند (۱۳-۱۵). این افزایش در مقدار اکسیژن فعال، می‌تواند سبب شکست در مولکول DNA شود که این خود به مرگ سلولی منجر می‌گردد (۱۶).

با توجه به نتایج، سمیت سلولی در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده نشد و از غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این سمیت مشاهده گردید. امواج فراصوت با تولید رادیکال‌های آزاد در سلول، مانند نانوذرات نقره موجب بروز اثر سمیت بر سلول‌ها می‌شوند (۳-۲). هدف از انجام این پژوهش، بررسی میزان اثر هم‌افزایی در استفاده از نانوذرات نقره و امواج فراصوت بود؛ با توجه به نتایج، هم‌زمانی این دو عامل، موجب هم‌افزایی در میزان مرگ سلول‌های MCF-7 گردید. اثر تولید رادیکال آزاد توسط نانوذرات نقره و اضافه شدن اثر حفره‌سازی توسط امواج فراصوت، عامل افزایش سمیت سلولی نسبت به گروه نانوذرات نقره به تنهایی و تابش امواج فراصوت می‌باشد.

با توجه به غلظت‌های استفاده شده در این پژوهش، بیشینه‌ی این اثر در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به همراه تابش امواج فراصوت با فرکانس ۱ مگاهرتز و شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع گزارش می‌شود. علاوه بر موارد یاد شده، برای افزایش میزان مرگ سلولی، حضور امواج فراصوت باعث افزایش ورود نانوذرات به داخل سلول و در نتیجه‌ی آن، باعث افزایش اثر و سمیت بیشتر برای سلول‌ها می‌شود. Bernard و همکاران در مطالعه‌ی خود، این اثر را به خوبی نشان داده‌اند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت، اما در میزان مرگ سلولی متفاوت بود. دلیل این امر، تفاوت در سلول‌های به کار رفته است. آن‌ها همچنین، از امواج فراصوت با شدت‌های ۵/۰، ۱ و ۲ وات بر سانتی‌متر مربع استفاده کردند و بیشترین اثرگذاری امواج فراصوت را در شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع گزارش کرده‌اند که با نتیجه‌ی این پژوهش نیز همخوانی داشته است (۱۷).

References

1. Carstensen EL, Becroft SA, Law WK, Barbee DB. Finite amplitude effects on the thresholds for lesion production in tissues by unfocused ultrasound. *J Acoust Soc Am* 1981; 70(2): 302-9.
2. Sazgarnia A, Shanei A, Shanei MM. Monitoring of transient cavitation induced by ultrasound and intense pulsed light in presence of gold nanoparticles. *Ultrason Sonochem* 2014; 21(1): 268-74.
3. Yumita N, Nishigaki R, Umemura S. Sonodynamically induced antitumor effect of Photofrin II on colon 26 carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126(10): 601-6.
4. Sazgarnia A, Shanei A. Evaluation of acoustic cavitation in terephthalic acid solutions containing gold nanoparticles by the spectrofluorometry method. *Int J Photoenergy* 2012; 2012: 1-5.
5. Ahamed M, Alsalhi MS, Siddiqui MK. Silver nanoparticle applications and human health. *Clin Chim Acta* 2010; 411(23-24): 1841-8.
6. Bernard V, Skorpikova J, Mornstein V, Slaninova I. Biological effects of combined ultrasound and cisplatin treatment on ovarian carcinoma cells. *Ultrasonics* 2010; 50(3): 357-62.
7. Bernard V, Mornstein V, Skorpikova J, Jaros J. Ultrasound and cisplatin combined treatment of human melanoma cells A375--the study of sonodynamic therapy. *Ultrasound Med Biol* 2012; 38(7): 1205-11.
8. Fukumori Y, Ichikawa H. Nanoparticles for cancer therapy and diagnosis. *Adv Powder Technol* 2006; 17(1): 1-28.
9. Kim S, Choi JE, Choi J, Chung KH, Park K, Yi J, et al. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol In Vitro* 2009; 23(6): 1076-84.
10. Yoon KY, Hoon BJ, Park JH, Hwang J. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Sci Total Environ* 2007; 373(2-3): 572-5.
11. Pan Y, Neuss S, Leifert A, Fischler M, Wen F, Simon U, et al. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small* 2007; 3(11): 1941-9.
12. Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann MC. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicol Sci* 2005; 88(2): 412-9.
13. AshaRani PV, Low Kah MG, Hande MP, Valiyaveetil S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano* 2009; 3(2): 279-90.
14. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003; 552(Pt 2): 335-44.
15. Boonstra J, Post JA. Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene* 2004; 337: 1-13.
16. Foldbjerg R, Olesen P, Hougaard M, Dang DA, Hoffmann HJ, Autrup H. PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. *Toxicol Lett* 2009; 190(2): 156-62.
17. Bernard V, Mornstein V, Jaros J, Sedlackova M, Skorpikova J. Combined effect of silver nanoparticles and therapeutical ultrasound on ovarian carcinoma cells A2780. *Journal of Applied Biomedicine* 2014; 12(3): 137-45.
18. Hussain SM, Hess KL, Gearhart JM, Geiss KT, Schlager JJ. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro* 2005; 19(7): 975-83.
19. Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicol Lett* 2008; 179(2): 93-100.
20. Mukherjee SG, O'Clonadh N, Casey A, Chambers G. Comparative in vitro cytotoxicity study of silver nanoparticle on two mammalian cell lines. *Toxicol In Vitro* 2012; 26(2): 238-51.

Evaluating the Effects of Ultrasound Waves on MCF-7 Cells in the Presence of Ag Nanoparticles

Ahmad Shanei¹, Mohammad Bagher Tavakoli², Hossein Salehi³, Ali Ebrahimi-Fard⁴

Original Article

Abstract

Background: Biological effects of ultrasound waves and their applications in the presence of nanoparticles are a rapidly growing research area. In recent years, ultrasonic therapy of cancer cells has been developed successfully. In this study, effects of ultrasound waves in the presence of Ag nanoparticles on the MCF-7 cells were evaluated.

Methods: The MCF-7 cells were cultured. The cells were divided into 4 groups including: (1) control, (2) incubated with Ag nanoparticle, (3) treated using ultrasound alone and (4) treated using ultrasound at the presence of Ag nanoparticle. For groups of 2 and 4, nanoparticles were injected into the cells in 50, 100 and 200 µg/ml concentrations. Ultrasound irradiation at 2 W/cm² intensity was performed on the cells for 3 min.

Findings: Statistical comparison of the results showed that, there was a significant difference in the percent of cell viability between the US treated group at the presence of Ag and the control group ($P < 0.05$). On the basis of obtained results, the cell viability for the Ag incubated group at 200 µg/ml concentration was significantly different compared to the control group ($P < 0.05$).

Conclusion: Results of this study revealed that ultrasound in the presence of Ag nanoparticles can be efficiently used for MCF-7 cells treatment.

Keywords: Ag nanoparticles, Ultrasound waves, Cytotoxicity, MCF-7 cells

Citation: 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.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(389): 765-70.

1- Associated Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Ali Ebrahimi-Fard, Email: a.ebrahimi2008@yahoo.com