مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد التاسع عشر - المجلد الثاني - علوم الحياة - كانون الثاني 2022 م
doi.org/10.52866/esj.2022.02.19.06

تقييم فعالية جسيمات الذهب النانوية المنتجة بيولوجياً من حامض الغاليك المستخلص من بذور العنب على خلايا سرطان الدماغ

مالية حاتم هامل* رندة محمد ضاحي
وزارة التربية الجامعة العراقية / كلية التربية - قسم علوم الحياة

الخلاصة

تناولت هذه الدراسة تأثير جسيمات الذهب النانوية كروية الشكل المصنعة من المستخلص الكحولي لحامض الغاليك GA-GNPs والمحضرة بيولوجيا من مسحوق بذور العنب الأخضر على الخط السرطاني A172 وبحجم 62 نانومتر من خلال اختبار Caspase -Glo ® 9„ وأظهرت النتائج ان هذه الجسيمات تمتلك سمية خلوية ضد الأورام السرطانية وذلك من خلال تأثيرها على الخط الخلوي السرطاني A172 وان الفعالية المضادة للأورام تتناسب طرديا مع ازدياد التركيز للجسيمات الذهبية النانوية. وأظهرت النتائج بان تنشيط تحرير Caspase 9 من خط خلايا سرطان الدماغ اعتمد على نمط زيادة تركيز جسيمات الذهب النانوية ولم يؤشر سوى زيادة قليلة في تحرر ال السايتو كروم سي عند معاملة الخلايا بتراكيز قليلة حيث تمت معاملتها ب 100 و 200 مايكرو غرام/ مل من مستخلص GA-GNPs حيث كانت قيمة P<0.0001 مقارنه مع الخلايا المعاملة ب DMSO (سيطرة سالبة) التي لم تظهر اي نشاط وعند مقارنة المجموعة مع الخلايا المعاملة بعقار (Tamx) (سيطرة موجبة) والتي تمتلك تأثير كبيرا على الخلايا السرطانية .وكانت نسبة تحرر السايتو كروم سي تتناسب طرديا مع زيادة التركيز. وجد انه الجسيمات النانوية للذهب تحفز الموت المبرمج للخلايا من خلال التنظيم العكسي لجين Bcl – 2 وتحفيز تحرر بقية ال Caspases .

الكلمات المفتاحية : خط خلايا A172,Caspase 9 ، جسيمات الذهب النانوية ، سرطان الدماغ ، حامض الغاليك .

Evaluation of the efficacy of biologically produced gold nanoparticles from gallic acid extracted from grape seed on brain cancer cells

Maliah Hatem Hamel * Randa Muhammad Dhahi **
*Ministry of Education
** Department of Life Sciences / College of Education / Iraqi University

Abstract :

This study sheds light on the effect of spherical gold nanoparticles manufactured from the alcoholic extract of gallic acid GA-GNPs and biologically prepared from green grape seed powder on the cancer line A172 with a size of 62 nm through the Caspase -Glo ® 9 test, as it was found that these particles possess cytotoxicity. Against cancerous tumors through its effect on the cancer cell line A172, and the anti-tumor activity is directly proportional to the increase in concentration of golden nanoparticles. The results showed that activation of Caspase 9 release from the brain cancer cell line was dependent on the pattern of increasing the concentration of gold nanoparticles. Only a slight increase in cytocrom C release was indicated when cells were treated with low concentrations, as they were treated with 100 and 200 µg / ml GA-GNPs extract, where the P value was <0.0001 compared to cells treated with DMSO (negative control) that did not No activity appears, and when comparing the group with cells treated with Tamx (positive control), it has a significant effect on cancer cells. The percentage of cytocrom C release was directly proportional to the increase in concentration. It was found that the nanoparticles induce programmed cell death by reverse regulation of the Bcl-2 gene and stimulate the release of the rest of the Caspases.

Keywords: A172 Cell Line, Caspase 9, Gold Nanoparticles, Brain Cancer, Gallic Acid.

المقدمة:

السرطان هو مصطلح طبي يشمل مجموعة واسعة من الأمراض ويمكن وصفه بالتطور غير المنضبط للخلايا وان هذا التطور والانتشار اذا سمح له بالاستمرار سوف يؤدي الى الموت. ويعود سبب ٪90 من الوفيات المرتبطة بالسرطان الى انتشار الورم على شكل نقائل (1). والسرطان هو مرض متعدد الجينات ومتعدد الخطوات يبدأ من خلية واحدة غير طبيعية (2). وينتج عدم انتظام الخلايا السرطانية عادة بسبب طفرة في جينات ترميز البروتينات التي تدير انقسام الخلايا .ويؤدي تجمع الطفرات الى زيادة الخلايا بشكل غير طبيعي وينتج ما يسمى بالورم (3). ان الخلايا الطبيعية التي تعاني تحولا الى خلايا سرطانية تعاني وتمر بسلسلة من التحولات وهي البدء (Initiation) والترويج (Promotion) ومن ثم التقدم (Progression) وأخيراً الانتقال الى الغزو والانبثاث (Metastasis and Invasion) اي الهجرة عن طريق مجرى الدم الى مواقع أخرى في الجسم حيث تكون أوراما إضافية ومن ثم تتمركز في المكان الجديد وتبدا بالتكاثر مرة أخرى (4).

ان الورم الارومي الدبقي المتعدد هو من اكثر أنواع أورام الدماغ شيوعا (5). سرطانات الدماغ هي مجموعة غير متجانسة من الأورام الناتجة عن التحول الورمي لخلايا الدماغ (الورم الأولي) أو من غزو الخلايا السرطانية التي تنشأ من جزء آخر من الجسم (الورم الثانوي). البيانات المتعلقة بمعدلات الإصابة بالأورام الأولية للجهاز العصبي المركزي ليست مشجعة. على وجه التحديد، يمثل الورم الأرومي الدبقي، وهو أكثر أشكال الورم النجمي عدوانية، 50٪ من جميع الأورام الدبقية، وفي عام 2018، كان مسؤولاً عن 2.5٪ من الوفيات المرتبطة بالسرطان في جميع أنحاء العالم (7,6). باستخدام التقنيات الجزيئية والنسيجية، من الممكن التعرف على السمات المميزة المختلفة للأورام الخبيثة، مثل الانتشار المكثف، وعدم تجانس الخلايا، وانحرافات النقطة الجينية، وزيادة الأوعية (9,8).

إن تطوير علاجات مبتكرة واستراتيجيات علاجية جديدة هي مجالات بحث نشط، تهدف إلى تحسين نوعية الحياة ومتوسط العمر المتوقع لمرضى السرطان (11,10). ومع ذلك، على الرغم من التقدم الهائل في هذا المجال، حتى مع إدخال العلاج المناعي (12)، لا تزال أورام المخ مرتبطة بمعدلات وفيات عالية (13). يتطلب العلاج القياسي للورم الأرومي الدبقي ثلاث خطوات مختلفة: الاستئصال الجراحي والعلاج الإشعاعي الخارجي والعلاج الكيميائي (14).

وتجدر الإشارة إلى أن أحد مضاعفات العلاج المضاد للأورام هو الأمراض المعدية، بسبب كبت المناعة لدى مرضى السرطان. حيث أظهرت الدراسات أن العلاج الإشعاعي والكيميائي (تيموزولوميد) المصاحب يسبب قلة العدلات ونقص اللمفاويات، وبالتالي تعزيز العدوى الانتهازية بالالتهاب الرئوي بالمتكيسة الرئوية الجؤجؤية في المرضى الذين يعانون من الورم النجمي الكشمي من الدرجة الثالثة والورم الأرومي الدبقي من الدرجة الرابعة (15). لذلك فإن ظهور العدوى الانتهازية لدى مرضى السرطان يعتمد على التاثيرات السامة للعلاج الكيميائي، التي تمنع التكاثر النشط للخلايا السرطانية ومعها الخلايا في جهاز المناعة وهذا يؤدي الى انخفاض في نظام الدفاع (16).

تحتوي بذور العنب على بعض مركبات البوليفينول الموجودة في الطبيعة والتي تمتلك خواص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة للأورام، يمكن استخدامها في تطوير الأدوية المضادة السرطان (17). واكدت الدراسات بان حامض الغاليك (3

,4, 5 ثلاثي هيدروكسي بنزويك)، وهو بوليفينول سائد لمنع التسرطن في كل خطوط الخلايا السرطانية في النماذج المختبرية والحيوانية والاهم من ذلك ان حمض الغاليك يظهر سمية خلوية انتقائية ضد مجموعة متنوعة من الخلايا السرطانية بما في ذلك GBM وخلايا سرطان البروستاتا والرئة والقولون وجميع اورام الدماغ، ويؤدي الى موت الخلايا من خلال مسارات موت الخلايا المبرمج للميتوكوندريا من خلال تقليل مسارات ((AKT,MAPK 19,18)). وكذلك يعدل حمض الغاليك التعبير عن الجينات المرتبطة بدورة الخلية، والورم الخبيث وتكوين الاوعية (20). في الفترة الماضية اتجه العلماء للبحث عن أساليب جديدة لعلاج الأورام السرطانية خاصة تلك التي تكون محاطة بأعضاء أخرى طبيعية مثل سرطان الدماغ. وركز العلماء بأن تكون هذه الطريقة ليست لها أي آثار جانبية أو ضرر على مرضى السرطان او على خلايا الجسم السليمة، واحدى اهم هذه الطرق الواعدة لعلاج السرطان هي بأستخدام الدقائق النانوية التي يتم أنتاجها باستخدام عنصر الذهب إضافة الى المواد الطبيعية المستخلصة من النباتات عن طريق تقنية النانو Nanotechnology ان **الجسيمات النانوية** جذبت اهتمام العلماء بشكل كبير خاصة في مجال توصيل الأدوية لاستهداف امراض الدماغ، حيث انها قادرة على انجاز تسليم محكم ومخصص للموقع لمجموعة كبيرة من الادوية (22,21). ان اهم احدى المزايا للجسيمات النانوية هي زيادة المساحة السطحية بالمقارنة بحجمها (24,23). ان جسيمات الذهب النانوية (Gold nanoparticles) (GNPs) لها مساحة سطح كبيرة نسبة الى الحجم، مما يتيح طلاء سطحها بمئات الجزيئات. بالإضافة الى ذلك فان GNPs اقل سمية للخلايا وسهلة الاقتران مع المركبات النشطة بيولوجيا ذات الثبات العالي (26,25).

الغرض من الدراسة: لتقييم فعالية جسيمات الذهب النانوية المصنعة من حامض الغاليك المستخلص من بذور العنب على خط خلايا سرطان الدماغ A172.

المواد وطرائق العمل:

تم جمع كمية من بذور العنب من الاسواق المحلية وقد تم تشخيص النبات في معشب كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد، وبعد التنظيف والتجفيف والطحن تم اخذ 50 غم من المسحوق وإخذ 250 مل من كحول الهكسان بدرجة نقاوة اكثر من 95٪، تمت عملية الاستخلاص بواسطة جهاز الاستخلاص Soxhlet, تم التبخير بواسطة جهاز المبخر الدوار تحت درجة حرارة 50مْ ومن ثم جفف بواسطة الفرن الكهربائي (Oven). وبعد الحصول 1.150 mg من المستخلص المركز تمت التنقية بواسطة عمود السيليكا جل. وبعد الحصول على حامض الغاليك تم الكشف عنه بواسطة إضافة ثلاث قطرات من كلوريد الحديديك وملاحظة تغير اللون الى الاسود المخضر للدلالة على وجود حامض الغاليك (27).

التصنيع الحيوي لدقائق الذهب النانوية : تمت عملية اضافة حامض الغاليك الى كلوريد الذهب ($HAuCl_4.3H_2O$) والانتاج الاولي لجسيمات الذهب النانوية GA-AuNPs وفق طريقة Azhari وجماعته (2017) (28).

تشخيص جسيمات الذهب النانوي : يتم الكشف وتحديد الطول الموجي لجسيمات الذهب النانوية بواسطة جهاز المطياف الضوئي UV-Vis وتحليل طيف الاشعة فوق البنفسجية، وتم الاستدلال على التشكل من ملاحظة اعلى قمة لمنحنى الطول الموجي (29).

فحص المجهر الإلكتروني الماسح : يتم من خلال هذا المجهر توصيف شكل الجسيمات النانوية الذهبية وقياس حجمها (30). وكذلك التعرف على الخواص

التركيبية ورؤية التفاصيل الدقيقة للعينة من خلال الفحص بتقنية Energy Dispersive X-Ray (EDX) (31).

الفحص بمجهر القوة الذرية

(AFM) Atomic Force Microscope

يعطي هذا المجهر صورا ثلاثية وثنائية الابعاد عالية الدقة، ويستخدم لتحديد حجم الدقائق ومعدل خشونة السطح و رؤية التفاصيل الدقيقة للعينة (32). وكذلك يعطي صورا ثنائية وثلاثية الابعاد لشكل الجسيمات (33).

خطوط الخلايا السرطانية : استخدم في هذه الدراسة الخط الخلوي A172 (الورم الأرومي الدبقي) والذي هو نوع من انواع سرطان الدماغ وخط الخلايا WRL 68 الخلوي وهو خط الخلايا الكبدية البشرية الطبيعية والذي تم الحصول عليه من جامعة ملايا / كلية الطب / قسم الصيدلة / مركز التحري عن العلاجات الجديدة في ماليزيا Centre For Natural Product Research and Drug Discovery/Department of pharmacology/ Fsculty of Medicin University of Malaya Kuala Lumpur /Malaysia وقد تم ادامة وتنمية الخط السرطاني واجراء الفحوصات عليه في مركز بحوث التقنيات الاحيائية في جامعة النهرين.

ادامة وتنمية خلايا الخطوط السرطانية

تم اتباع طريقة (Freshney ,2012)(34) في تنمية خطوط الخلايا السرطانية.

فحص الـ Caspase -GLO ® 9 assay Kit Iumi-nescent

محتويات المجموعة Kit contents

1- Caspase -Glo ® 9 Buffer 10 ×1 ml

2- Caspase -Glo ® 9 Substrate (Lyophilized) وتم خزن جميع العناصر في 20مْ و MG-132 In-hibitor 30 µl.

3- MG-132 Inhibitor 30 µl وتم خزن جميع العناصر في درجة 20مْ.

تحضير الكاشف وخزنه

Reagent Preparation and storage

تم استخدام المخزن المؤقت Caspase -Glo ® 9 والمادة الأساس المجففة بالتجميد وفي درجة حرارة الغرفة ونقلت المحتويات من المخزن المؤقت الى زجاجات العنبر التي تحتوي على الركيزة او المادة الأساس Caspase -Glo ® 9 وتم خلط المحتويات عن طريق التقليب (10) مل حتى تم إذابة المادة الأساس او الركيزة لتكوين الكاشف Caspase -Glo 9 وأخيراً تم إضافة محتويات المثبط MG-132 (30) مايكرولتر ويخلط المزيج جيداً ويخزن في درجة حرارة 4مْ لمدة تصل الى 7 ايام مع الاحتفاظ بنشاطه .

تقييم فعالية جسيمات النانو الذهبية على خط خلايا سرطان الدماغ A172

زرعت الخلايا السرطانية بتركيز 1×10^{4} خلية ml^{-1} في طبق الزرع ذو 96 لوحة وبحجم نهائي 100مايرو لتر من الوسط الزرعي الكامل وبعدها تحضن الصفائح لمدة 24 ساعة في الحاضنة وعند درجة حرارة 37مْ، 5٪ من ثاني اوكسيد الكربون. بعد الحضانة تمت إزالة الوسيط واثنان من Fold وتم تخفيف المحلول المطلوب (200، 100، 50، 25، ميكروغرام / مل) وأضيفت إلى الحفر. تم استخدام ثلاث مكررات ومحلول سيطرة الخلايا control بوسط خالي من المصل لكل تركيز وثم تم حضن الصفائح عند درجة حرارة 37مْ، 5٪ ثاني اوكسيد الكاربون ولمدة 24 ساعة وتم تعريض الخلايا الى DMSO وهذه تعتبر محاليل سيطرة سلبية للخلايا المعالجة. وبعد الحضانة، تترك الصفائح بدرجة حرارة الغرفة. تمت اضافة 100ميكرولتر من كاشف Cas-

pase -Glo لكل منها. مزجت اللوحة برفق عند 500– 300 دورة في الدقيقة لمدة 0.5 –2 دقيقة باستخدام Plate shaker . بعدها تحضن اللوحة في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة. تم قياس تالق كل عينة باستخدام قارئ ELISA وعند 504 طول موجي نانوميتر.

النتائج والمناقشة

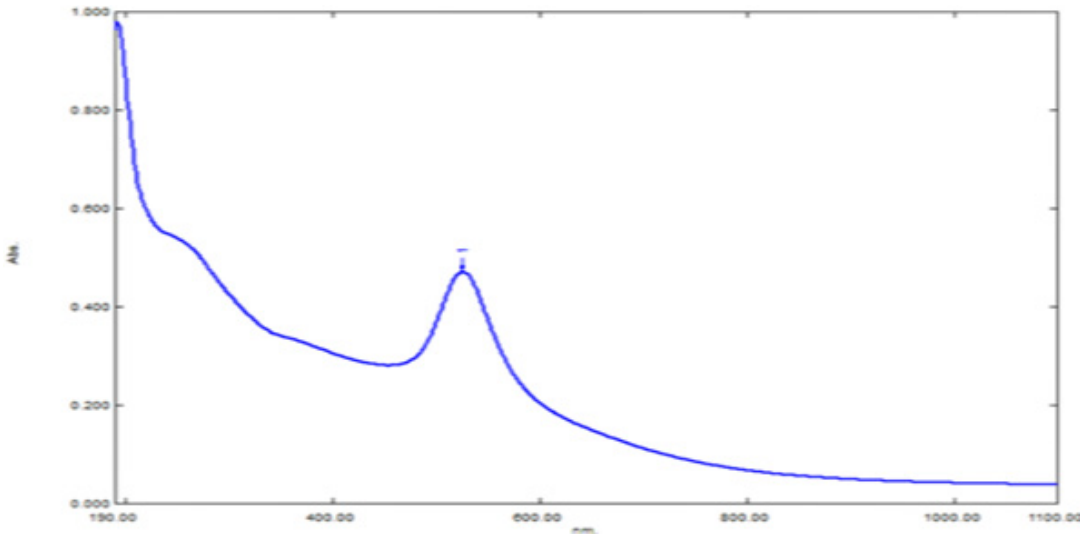
اختبار طيف الاشعة المرئية - فوق البنفسجية (UV-Visible Spectroscopy)

أظهرت نتائج الكشف عن الجسيمات النانوية لمستخلص بذور العنب بتحليل فحص طيف الاشعة المرئية - فوق البنفسجية الشكل (1) عند الاطوال الموجية 1100–200 نانومتر باستخدام UV-Vis ظهور امتصاص طيفي عند الطول الموجي الواقع بين 520– 570 نانومتر وكان اقصى امتصاص (λ max 530) نانومتر وهذا ما يؤكد وجود الذهب في العينة (35). وذلك لان قمم الامتصاص التي تظهر عند الاطوال الموجية التي تتراوح 600–500 نانومتر تعتبر خاصية من الخواص التشخيصية لجسيمات الذهب النانوية بسبب امتصاص سطح البلازمون (36).

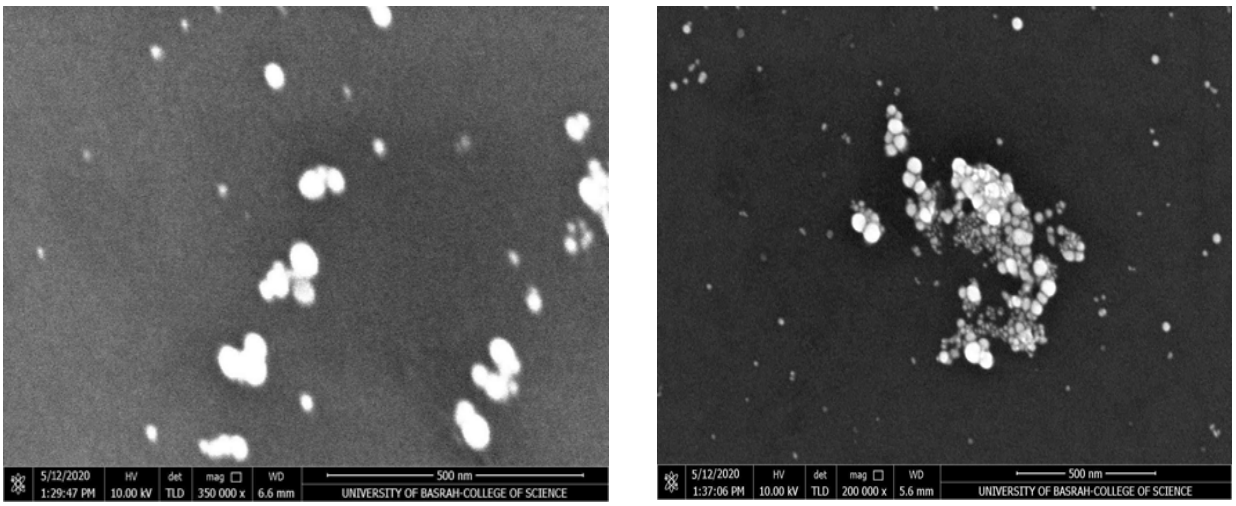
الفحص بواسطة المجهر الإلكتروني الماسح المرتبط مع جهاز Scanning Electeon Microscope Coupled With Energy Dispersive X-Ray (EDX)

تم من خلال استخدام المجهر الإلكتروني الماسح (Scanning Electron Microscopy) توصيف وتحديد شكل وهيئة جسيمات الذهب النانوية وقد تبين من خلال الصور ان الجسيمات كانت كروية أو ذات شكل كروي نسبياً وقد قسم منها متكتل بعض الشيء وان معدل حجم الجسيمات التي تمت مشاهدتها يبلغ (62 nm).

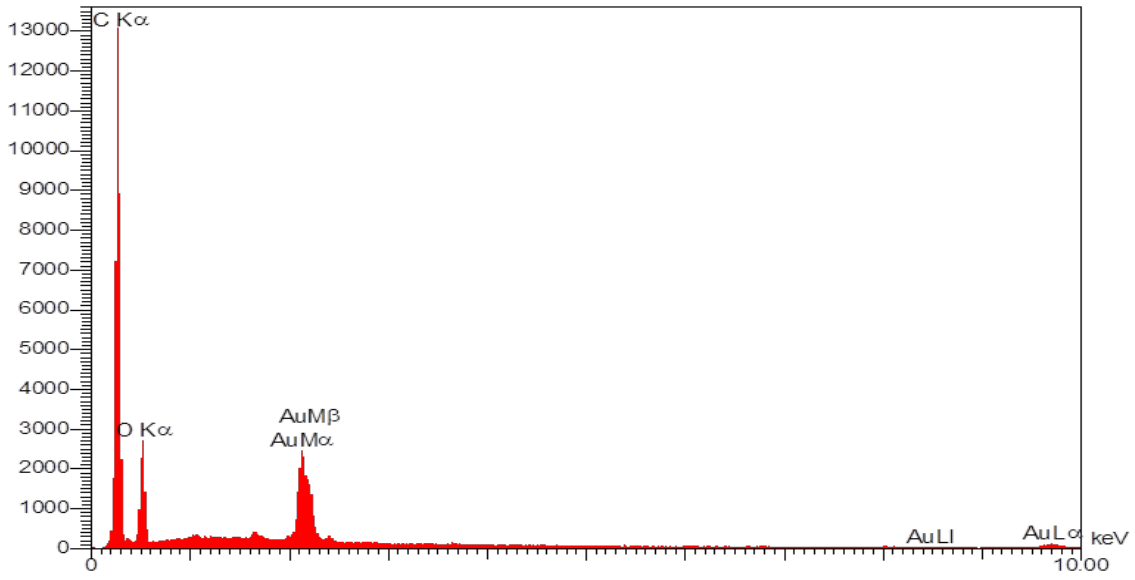
وهذا من ضمن حدود احجام الجسيمات النانوية (100–1) nm اي كانت النتائج متقاربة مع الدراسة التي أجراها (Raja., 2017) (37) وجماعته كما في الشكل (2) كما اظهر الشكل (3) وجود عنصر الذهب بالاضافة إلى عناصر أخرى في عينة جسيمات الذهب النانوية باستخدام EDX .



شكل رقم (1) يوضح طيف امتصاص جسيمات الذهب النانوية باستخدام جهاز المطياف الضوئي
(UV- Visible Scanning Spectrophotometer)



شكل (2) يبين شكل جسيمات الذهب النانوية باستعمال المجهر الإلكتروني الماسح

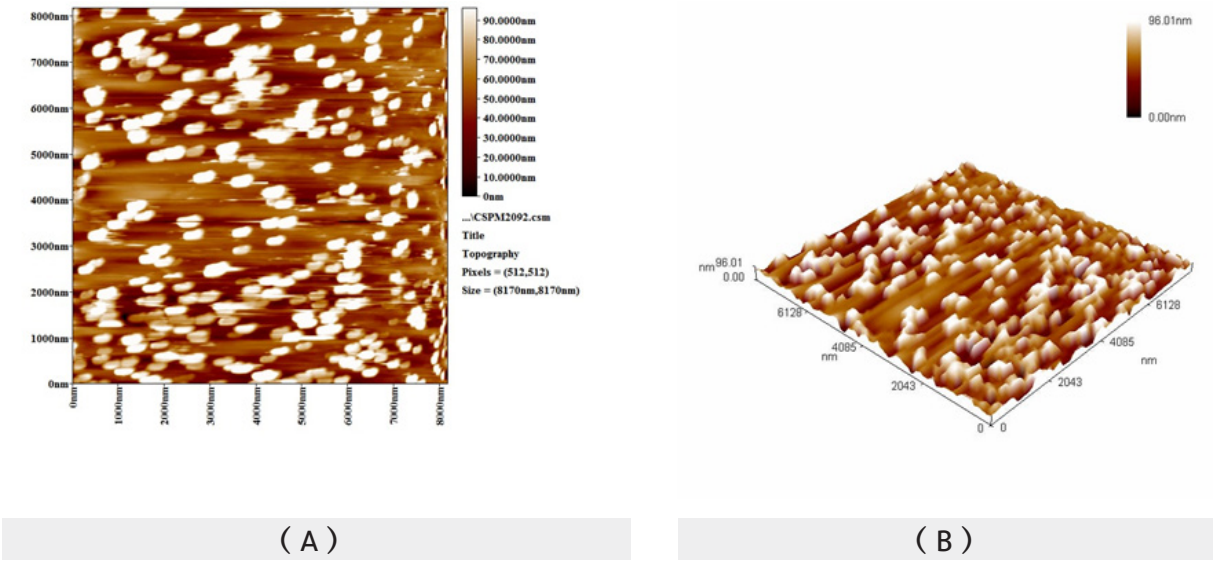


شكل (3) يبين تحليل EDX للتحري عن العناصر الموجودة ضمن دقائق الذهب النانوية

مجهر القوة الذرية

(AFM) Atomic Force Microscpe

يبين صورة ثلاثية وثنائية الابعاد لتضاريس سطح الجسيمات الذهبية النانوية والتي تم تحضيرها ونلاحظ توزيع الدقائق بشكل منتظم وكروي على السطح وهناك بعض التجمعات ويبلغ معدل حجم الجسيمات المتكونة (nm 62). وكما هو موضح في الشكل (4) A,B.



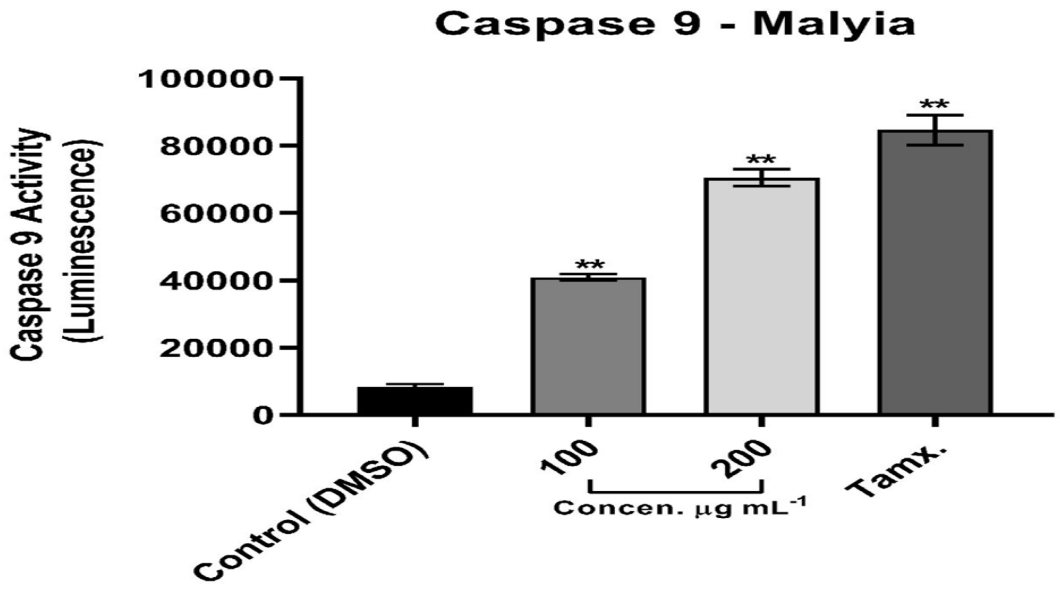
(A) (B)

الشكل (4) يبين صورة لجسيمات الذهب النانوية باستخدام مجهر القوة الذرية:
A : ثنائية الأبعاد B : ثلاثية الأبعاد

نشاط Caspase -GIO ® 9 على خط الخلايا السرطاني A172 المعامل بواسطة المستخلص النباتي النانوي لبذور العنب

ان اختبار Caspase-Glo ® - 9 هو اختبار تألقي متجانس يقيس نشاط الكايسبيز 9 الذي يلعب دوراً رئيسياً في مسار الموت المبرمج في الثديات (38). وقد أشارت النتائج التي تم الحصول عليها الى ان خلايا الخط الخلوي السرطاني A 172 التي تمت معاملتها بمستخلص بذور العنب النانوي GA-GNPs تخضع لموت خلوي مبرمج عن طريق تثبيط نفاذية غشاء الخلية واطلاق سايتوكروم C نظراً لان هذه المؤشرين يرتبطان ارتباط وثيقا بتنشيط Caspase 9 وبقية الكايسبيسات (39). وان الكايسبيز 9هو المحفز الرئيسي لتنشيط بقية Caspases الاخرى مثل (3,7)، والتي تؤدي الى موت الخلايا المبرمج (40).

وقد تم دراسة تاثير جسيمات الذهب النانوية المصنعة من مستخلص بذور العنب على حث الموت المبرمج الفعلي لخلايا الخط السرطاني A172 حيث تم القياس باستخدام فحص Caspase -Glo 9 وكشفت النتائج بان تنشيط تحرير Caspase 9 من خلايا الورم الاروومي الدبقي A172 اعتمد على نمط زيادة (الجرعة) تركيز الجسيمات النانوية، حيث ان الزيادة المفرطة في تحرير Caspase 9 تمت ملاحظتها معنويا بعد معاملة الخلايا السرطانية بتراكيز (100–200) مايكرو غرام/مل بزيادة مايقارب الضعف بالمقارنة مع الخلايا المعاملة بمادة DMSO التي لم تظهر اي تاثير ومقارنة النتائج مع العقار (Tamx) الذي يعد سيطرة موجبة ونسبة تحريره لل، 9 Caspase عالية. ومما نستنتج ان الجسيمات الذهبية تحفز الموت المبرمج للخلايا من خلال التنظيم العكسي لجين Bcl-2 وتحرير باقي الـ Caspases (41) وكما هو واضح في الشكل (5) والجدول رقم (1) .



شكل (5) نشاط Caspase 9 على خط الخلايا السرطاني A172 المعامل بواسطة مستخلص بذور العنب النانوي الذهبي بالمقارنة مع الخلايا المعاملة DMSO (سيطرة سالبة) والخلايا المعاملة ب Tamx سيطرة (موجبة)

جدول (1) مقارنة متعددة في نشاط Caspase- 9 في خط الخلايا السرطاني A172 بين المستخلص النانوي و DMSO و Tamx

Adjusted P Value	Significant	Std.Deviation	activity±Mean SD	التراكيز µg/ml
P<0.0001	**	949.8	40855	µg/mlGA-GNPs 100
P<0.0001	**	2543	70502	µg/mlGA-GNPs 200
P<0.0001	**	4432	84652	Tamx µg/ml
……	……	885.0	8317	DMSO

ان الـ Caspase 9 هي جزء من عائلة Cysteinyl aspartaic-Specific proreases الذي ينشط خلال الموت الخلوي المبرمج وهو من عائلة الأنزيمات التي تؤدي دوراً أساسياً في برمجة موت الخلايا (42). وقد اكتشف 12-11 نوعاً من caspases في الأنسان. ان دور الكاسبيز في موت الخلايا المبرمج ذو أهمية كبيرة في حماية الكائن الحي من الإجهاد والالتهابات من خلال تحفيز الانترلوكين -1- بيتا مما يؤدي إلى نقل الإشارة الى الخلايا المناعية، كما وجد ان للكايسبيز دوراً في استئصال الأورام وتطور الأعصاب وتمايز الخلايا وكذلك الشيخوخة .

ويعد نقص بروتينات الـ Caspase من أسباب تطور الأورام وعلى العكس من ذلك فان فرط تنشيط الكايسبيز (3) يؤدي الى موت مبرمج مفرط في الخلايا، ولأهميته في موت الخلايا المبرمج والاستجابات المناعية فقد أصبح هدفاً للعديد من الأدوية. وقد استخدم

الكايسبيز كعلاج لقتل الخلايا السرطانية. عند معاملة الخط الخلوي السرطاني A 172 بجسيمات الذهب النانوية المصنعة من تفاعل مستخلص بذور العنب مع كلوريد الذهب أظهرت الخلايا زيادة في نشاط الـ Caspase – 9 وهذة الزيادة تعتمد على الجرعة، بعد 24 ساعة ظهرت زيادة كبيرة في نشاط البروتين عند التراكيز 100,200مايكرو غرام / مل وكانت قيمة P< 0.0001 كما موضح في الجدول رقم (1) بالمقارنة مع الخلايا المعاملة بـ DMSO (سيطرة سالبة) التي لم تظهر اي نشاط وعند مقارنة المجموعة مع الخلايا المعاملة بعقار (Tamx) سيطرة موجبة حيث يمتلك هذا العقار تاثير كبير على الخلايا السرطانية.

الاستنتاجات:

1. ساهمت هذه الدراسة في الكشف عن فعالية تثبيطيه لجسيمات الذهب النانوية المصنعة من المستخلص الكحولي لمسحوق بذور العنب مضادة لأورام الدماغ تعتمد على الجرعة .
2. تسببت جسيمات الذهب النانوية في تحفيز نشاط Caspase 9 بطريقة تعتمد على التركيز والحث على الموت المبرمج لخلايا الخط السرطاني قيد الدراسة.
3. تم تسجيل نشاط سام للخلايا يعتمد على الجرعة ضد خلايا سرطان الدماغ وبمعدلات مختلفة .

المصادر

1. Kuchenbaecker, K. B.; Ramus, S. J.; Tyrer, J.; Lee, A.; Shen, H. C.; Beesley, J.; Lawrenson, K.; McGuffog, L.; Healey, S. andLee, J. M. J. N. g. (2015). Identification of six new susceptibility loci for invasive epithelial ovarian cancer. 47(2) 164-171.
2. DeSantis, C.; Howlader, N.; Cronin, K. A. and Jemal, A. (2011). Breast cancer incidence rates in US women are no longer declining. Cancer Epidemiology Biomarkers and Presentation. 20: 733-739.
3. Lancet, E. B. C. T. C. G. J. T. (2015). Adjuvant bisphosphonate treatment in early breast cancer: meta-analyses of individual patient data from randomised trials. 386(10001), 1353-1361.
4. Stupp, R., Hegi, M. E., Mason, W. P., Van Den Bent, M. J., Taphoorn, M. J., Janzer, R. C., ... & National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. (2009). Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The lancet oncology,* 10(5), 459-466.
5. Visovsky, C., & Workman, M. (2000). Cancer biology. A nurses guide to cancer care, 31.
6. , Hanif, F., Muzaffar, K., Perveen, K., Malhi, S. M., & Simjee, S. U. (2017). Glioblastoma multiforme: a review of its epidemiology and pathogenesis through clinical presentation and treatment. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 18(1), 3.
7. Rock K, McArdle O, Forde P, Dunne M, Fitzpatrick D, O'Neill B and Faul C: A clinical review of treatment outcomes in glioblastoma multiforme--the validation in a non-trial population of the results of a randomised Phase III clinical trial.
8. Motta, C., D'Angeli, F., Scalia, M., Satriano, C., Barbagallo, D., Naletova, I., ... & Spina-Purrello, V. (2015). PJ-34 inhibits PARP-1 expression and ERK phosphorylation in glioma-conditioned brain microvascular endothelial cells. *European journal of pharmacology*, 761, 55-64.
9. Van Tellingen, O., Yetkin-Arik, B., De Gooijer, M. C., Wesseling, P., Wurdinger, T., &

17. Taplitz, R. A., Kennedy, E. B., Bow, E. J., Crews, J., Gleason, C., Hawley, D. K., ... & Flowers, C. R. (2018). Antimicrobial prophylaxis for adult patients with cancer-related immunosuppression: ASCO and IDSA clinical practice guideline update. *Journal of Clinical Oncology*, 36(30), 3043-3054.
18. . Galati, G., & O'brien, P. J. (2004). Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(3), 287-303.
19. Lee, S. H., Kim, J. K., Kim, D. W., Hwang, H. S., Eum, W. S., Park, J., ... & Choi, S. Y. (2013). Antitumor activity of methyl gallate by inhibition of focal adhesion formation and Akt phosphorylation in glioma cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(8), 4017-4029.
20. . Paolini, A., Curti, V., Pasi, F., Mazzini, G., Nano, R., & Capelli, E. (2015). Gallic acid exerts a protective or an anti-proliferative effect on glioma T98G cells via dose-dependent epigenetic regulation mediated by miRNAs. *International journal of oncology*, 46(4), 1491-1497.
21. Verma, S., Singh, A., & Mishra, A. (2013). Gallic acid: molecular rival of cancer. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35(3), 473-485.
22. Sahni, J. K., Doggui, S., Ali, J., Baboota, S., Dao, L., & Ramassamy, C. (2011). Neurotherapeutic applications of nanoparticles in Alzheimer's disease. *Journal of Controlled Release*, 152(2), 208-231.
23. Mendes, M., Sousa, J. J., Pais, A., & Vitorino, C. (2018). Targeted theranostic nanoparticles for brain tumor treatment. *Pharmaceutics*, 10(4), 181.
24. Foster, C., Watson, A., Kaplinsky, J., & Ka-De Vries, H. E. (2015). Overcoming the blood-brain tumor barrier for effective glioblastoma treatment. *Drug Resistance Updates*, 19, 1-12.
10. De Matteis, V., Rizzello, L., Ingrosso, C., Liatsi-Douvitsa, E., De Giorgi, M. L., De Matteis, G., & Rinaldi, R. (2019). Cultivar-dependent anticancer and antibacterial properties of silver nanoparticles synthesized using leaves of different Olea Europaea trees. *Nanomaterials*, 9(11), 1544.
11. Woo, K. V., & Baldwin, H. S. (2011). Role of Tie1 in shear stress and atherosclerosis. Trends in cardiovascular medicine, 21(4), 118-123
12. Falzone, L., Salomone, S., & Libra, M. (2018). Evolution of cancer pharmacological treatments at the turn of the third millennium. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1300.
13. Christofi, T., Baritaki, S., Falzone, L., Libra, M., & Zaravinos, A. (2019). Current perspectives in cancer immunotherapy. *Cancers*, 11(10), 1472.
14. Abarca-Merlin, D. M., Maldonado-Bernal, C., & Alvarez-Arellano, L. (2019). Toll-like receptors as therapeutic targets in central nervous system tumors. *BioMed research international*, 2019. -
15. Bush, N. A. O., Hervey-Jumper, S. L., & Berger, M. S. (2019). Management of glioblastoma, present and future. *World neurosurgery*, 131, 328-338.
16. Stupp, R., Dietrich, P. Y., Kraljevic, S. O., Pica, A., Maillard, I., Maeder, P., ... & Leyvraz, S. (2002). Promising survival for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme treated with concomitant radiation plus temozolomide followed by adjuvant temozolomide. *Journal of Clinical Oncology*, 20(5), 1375-1382.

bacteria Escherichia coli. Nanotechnology, 28(19), 195501

32. Sugimoto, Y., Pou, P., Abe, M., Jelinek, P., Pérez, R., Morita, S., & Custance, O. (2007). Chemical identification of individual surface atoms by atomic force microscopy. *Nature*, 446(7131), 64-67.
33. Scimeca, M., Salustri, A., Bonanno, E., Nardozi, D., Rao, C., Piccirilli, E., ... & Tarantino, U. (2017). Impairment of PTX3 expression in osteoblasts: a key element for osteoporosis. Cell death & disease, 8(10), e3125-e3125
34. Freshney, R., & Freshney, M. (2012). Isolation and culture of animal and human hepatocytes. Culture of epithelial cells. Second Edition. New York: Wiley-Liss Press, 1, 365.
35. Zhang, J., Terrones, M., Park, C. R., Mukherjee, R., Monthioux, M., Koratkar, N., ... & Bianco, A. (2016). Carbon science in 2016: Status, challenges and perspectives. Carbon, 98(70), 708-732.
36. Jaluse K., Sakthisree K.(2017). Eco-friendly synthesis and characterization of gold nanoparticles using Zingiber officinal. Sep.; 5 (3):391-395
37. Raja, A., Chaves, A., Yu, J., Arefe, G., Hill, H. M., Rigosi, A. F., ... & Chernikov, A. (2017). Coulomb engineering of the bandgap and excitons in two-dimensional materials. Nature communications, 8(1),1-7.
38. Earnshaw, W. C., Martins, L. M., & Kaufmann, S. H. (1999). Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. Annual review of biochemistry, 68(1), 383-424.
39. Loong, T. C., & Idris, A. (2014). Rapid alkali catalyzed transesterification of microalgae lipids to biodiesel using simultaneous cooling and microwave heating and maly, N. (2017). Improved targeting of cancers with nanotherapeutics. In *Cancer Nanotechnology* (pp. 13-37). Humana Press, New York, NY.
25. Swain, S., Kumar Sahu, P., Beg, S., & Manohar Babu, S. (2016). Nanoparticles for cancer targeting: current and future directions. *Current drug delivery*, 13(8), 1290-1302.
26. Ning, L., Zhu, B., & Gao, T. (2017). Gold nanoparticles: promising agent to improve the diagnosis and therapy of cancer. *Current drug metabolism*, 18(11), 1055-1067.
27. Shukla, R., Bansal, V., Chaudhary, M., Basu, A., Bhonde, R. R., & Sastry, M. (2005). Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview. *Langmuir*, 21(23), 10644-10654.
28. Al-Mosawe, E. H., & Al-Saadi, I. (2012). The extraction and purification of gallic acid from the pomegranate rind. J Sci Al-Mustansiriyah, 23, 53-60
29. Azhari, H. N., Yap, S. S., & Nour, A. H. (2017). Extraction and chemical compositions of ginger (Zingiber officinale Roscoe) essential oils as cockroaches repellent. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(3), 1-8.
30. Kareem, F. A. A., Shariff, A. M., Ullah, S., Dreisbach, F., Keong, L. K., Mellon, N., & Garg, S. (2018). Experimental measurements and modeling of supercritical CO2 adsorption on 13X and 5A zeolites. Journal of Natural Gas Science and Engineering, 50, 115-127
31. Das, P., Bose, M., Ganguly, S., Mondal, S., Das, A. K., Banerjee, S., & Das, N. C. (2017). Green approach to photoluminescent carbon dots for imaging of gram-negative

its optimization. Bioresource technology, 174, 311-315.

40. Kassi, E., Sourlingas, T. G., Spiliotaki, M., Papoutsi, Z., Pratsinis, H., Aligiannis, N., & Moutsatsou, P. (2009). Ursolic acid triggers apoptosis and Bcl-2 downregulation in MCF-7 breast cancer cells. Cancer investigation, 27(7), 723-733.
41. Plas, D. R., & Thompson, C. B. (2002). Cell metabolism in the regulation of programmed cell death. Trends in Endocrinology & Metabolism, 13(2), 75-78.
42. Srinivasula, S. M., Ahmad, M., Fernandes-Alnemri, T., & Alnemri, E. S. (1998). Autoactivation of procaspase-9 by Apaf-1-mediated oligomerization. Molecular cell, 1(7), 949-957.