

درمان سلول‌های سرطانی پروستات رده DU145 به وسیله تابش پرتوگاما و نانو ذرات نقره

علیرضا شمس^{۱*}، سامان ابراهیمی^۲،
عاطفه شموسی^۱، شهرزاد پهلوان^۱

^۱گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی البرز، کرج، ایران
^۲دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۲/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱۶

چکیده

مقدمه: سرطان پروستات دومین سرطان رایج مردان در امریکا است که موجب بروز آسیب و اتلاف هزینه‌های فراوان می‌شود. همچنین درتومورهای تهاجمی سرطان پروستات انجام بیشتر درمان‌ها غیر موثر است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات درمانی و ضریب افزایش دوز جذبی پرتو گاما با کمک نانوذرات نقره در درمان سلول‌های سرطانی پروستات رده DU145 است.

مواد و روش‌ها: سلول‌های سرطانی رده DU145 با منشا پروستات انسانی از انستیتو پاستور خریداری شد. پس از دفریز کردن نمونه‌ها با محیط کشت مناسب DMEM انکوبه شدند و به آنها سرم ۱۵٪ FBS، آنتی بیوتیک آمفوتریسین B با غلظت ۲۵ M μ نیز اضافه گردید. در طی یک دوره ۳ تا ۵ روزه سلول‌ها تیمار شده و به تراکم با تعداد مناسب رسیدند. سپس سلول‌ها سانتریفیوژ و شمارش شدند. سلول‌های حاصل در پلیت ۹۶ خانه قرار گرفتند و به ۴ گروه آزمایشی تقسیم شدند. گروه کنترل، گروه تیمار با پرتو گاما که خود شامل سه زیر گروه درمانی با دوزهای ۲، ۶ و ۱۰ گری، گروه سوم شامل تیمار با محلول نانو ذرات نقره با غلظت ۵۳g/ml μ و گروه چهارم شامل تیمار همزمان با همان دوز درمانی و محلول نانو ذرات نقره بود. در نهایت سلول‌ها با رنگ آمیزی سلولی تریپان بلو و نیز با سنجش MTT و با دستگاه الایزا ریدر بررسی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که استفاده همزمان از پرتو گاما و نانو ذرات نقره موجب کاهش معنی دار تعداد سلول‌های سرطانی در گروه‌های تیمار نسبت به سایر گروه‌های تیمار و گروه کنترل گردید.

بحث: در تابش پرتو فوتونی گاما به سلول‌های سرطانی و نانو ذرات انکوبه شده احتمال رخداد فرآیند فتوالکتریک به عنوان یک فرآیند اصلی جذب انرژی، بسیار بالا است. هنگام برخورد فوتون‌های گاما با سلول‌های سرطانی و نانوذرات نقره فتوالکترون‌ها، الکترون‌های اوژه (Auger Electrons) و الکترون‌های ثانویه تولید می‌شود که این ذرات ثانویه می‌توانند به طور بسیار مؤثری منجر به شکست‌های رشته DNA و در نتیجه باعث آسیب و مرگ سلول‌های سرطانی شوند لذا از این فرآیند می‌توان برای درمان سلول‌های سرطانی بهره گرفت. به علاوه استفاده از نانو ذرات نقره به عنوان حساس کننده پرتوی و درمان کننده در پرتودهی سلول‌های سرطانی پروستات رده DU145 منجر به افزایش بهره درمانی در انرژی‌های فوتونی پرتوگاما بادوزهای ۶ و ۱۰ گری گردید.

کلمات کلیدی: سرطان پروستات، پرتو گاما، نانو ذرات نقره، DU145، کشت سلول

*نویسنده مسئول:

گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی البرز، کرج، ایران

۰۲۶-۳۴۳۰۶۰۰۱
E-mail: alirezashams2014@gmail.com

مقدمه

میزان ابتلا به سرطان در کشورهای در حال توسعه و همچنین در جهان صنعتی در حال افزایش است به طوری که برآورد می‌گردد تا سال ۲۰۲۰ موارد جدید سرطان به بیش از ۱۵ میلیون نفر در سال افزایش یابد. چالش‌های فراوانی در زمینه تحقیقات سرطان و مدیریت بیماری وجود دارد. سرطان پروستات می‌تواند باعث انسداد دستگاه ادراری یا متاستاز به سایر اعضای بدن شود و شایعترین سرطان پس از پوست است. در سطح جهانی سرطان پروستات به عنوان دومین علت اصلی مرگ میر مرتبط با سرطان در مردان است.^۱ تلاش محققان در توسعه دودمان‌های سلولی اپی تلیال و کارسینوماهای سرطان بدخیم پروستات انسانی تا حد زیادی به درک ما از چگونگی روند بیماری سرطان پروستات کمک کرده است. تاکنون رده‌های سلولی DU-145، LNCaP، PC-3 و HPC-36 به عنوان الگو توسعه پیدا کرده اند. البته در هنگام استفاده از این رده‌های سلولی به عنوان یک مدل و توسعه آنها و ایجاد سلول‌ها با منشا اپی تلیال و کارسینوما، باید پاسخ به آندروژن و بیان گیرنده های آندروژنی و آنتی ژن اختصاصی پروستات تحت شرایط کشت دقیق مورد بررسی قرار گیرد.^{۲،۳} در سرطان پروستات متاستاز به استخوان معمولاً علت اصلی مرگ است.^۴

درمان استاندارد برای بسیاری از سرطان‌ها جراحی است با این حال در تعداد زیادی از موارد به دلیل موقعیت نامطلوب تومور، وجود تومورهای متعدد و یا ترجیح بیمار که جراحی امکان پذیر نمی باشد، از روش‌های درمانی دیگر مانند شیمی درمانی و پرتو درمانی استفاده می‌شود.^۶ پرتو درمانی استفاده از اشعه یونیزان برای درمان، تسکین، و پیشگیری کننده برای تقریباً هر نوع سرطان جامد است. سلول‌های سالم دارای مکانیزم ترمیمی برای تعمیر شکستگی DNA، می‌باشند در حالی که سلول‌های سرطانی ظرفیت کمتری برای این عمل دارند. پرتو درمانی باعث آسیب به DNA سلول‌های سرطانی و در نتیجه کاهش تقسیم سلولی و نابودی تومور می‌شود.^{۸-۱۱} پرتودهی ممکن است توسط دستگاهی خارج از بدن و یا توسط منبع پرتو در داخل بدن و یا توسط مواد رادیواکتیو باز در داخل بدن انجام شود. گزینه‌های درمان سنتی برای کاهش مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات انجام دوز کم پرتو درمانی

خارجی است. هر چند در چند دهه گذشته پیشرفت‌های قابل توجهی در تکنیک‌های تابش و به ویژه با تابش دوز بالا (High radiation rate) (HDR)، برای تراپی (Brachy therapy) همراه با جراحی تشعشعی در راس نوآوری در زمینه پرتو درمانی است ولی پرتو درمانی خارجی یک روش درمانی معمول برای انواع زیادی از سرطان‌ها است.^{۱۱} در پرتو درمانی خارجی هم بافت‌های سالم و هم بدخیم تحت تابش قرار می‌گیرند و با وجود تحقیقات و تلاش‌های زیادی که برای افزایش بازدهی درمان و کاهش دریافت دوز بافت‌های سالم در پرتو درمانی در طول سال‌های اخیر انجام گرفته است، آثار جانبی ناشی از تابش یونیزان همچنان به عنوان یک عامل محدود کننده دوز تابشی باقی مانده است. همچنین ثابت شده است که افزایش دوز در سلول‌های سرطانی، درمان سرطان را به طور معنی داری بهبود خواهد بخشید^۶ و می‌توان از حساس کننده‌های پرتویی برای افزایش دوز در سلول‌های سرطانی استفاده کرد. حساس کننده‌های پرتویی مواد شیمیایی هستند که پاسخ سلول به تشعشع را تغییر می‌دهند. این داروها سلول‌های سرطانی را نسبت به تشعشع حساس تر می‌کنند. تا به امروز چند ماده شیمیایی به عنوان حساس کننده پرتوی از قبیل پیریمیدین‌های هالوژن دار (Halogen Pyrimidines) مثل یدویدئوکسی یوریدین (Iodo-deoxyuridine) و حساس کننده سلول‌های هیپوکسیک (Hypoxic Cells) مانند میزونیدازول (Misonidazole) که از طریق گرفتن الکترون تولید شده فعال می‌شوند معرفی شده است.^{۱۲-۱۴} تحقیقات استفاده از نانوذرات را به عنوان حساس کننده پرتویی تایید کرده است. نانوذرات از مجموعه ای از اتم‌ها و یا مولکول و با اندازه‌ها و شکل‌های مختلف و به روش‌های مختلف سنتز می‌شوند.^{۱۵} اکثر فرایندهای زیستی، مانند فرایند سرطانی شدن سلول‌ها در مقیاس نانو صورت می‌گیرد. تلاش محققان برای درمان سرطان، آن‌ها را به سمت طراحی ابزارهایی در مقیاس نانو و ورود به درون سلول‌های زنده، ترغیب کرده است. ابزار مقیاس نانو می‌تواند فناوری تعیین کننده ای باشند که امکان درمان‌های فردی سرطان را فراهم کنند، یعنی بیمار سرطانی آن داروهایی را دریافت کند که دقیقاً در ارتباط با ویژگی‌های ژنتیکی و ملکولی نوع مشخص سرطان فرد ساخته شده باشند. توانایی تعامل همزمان، در مقیاس‌های ملکولی،

مورد توجه قرار گیرند. در سطح جهانی سرطان پروستات به عنوان دومین علت اصلی مرگ میر مرتبط با سرطان در مردان است.^{۱۸} آمار نشان می‌دهد سرطان پروستات بالاترین میزان شیوع در میان تمام موارد جدید ابتلا به سرطان در مردان آمریکا را دارا می‌باشد. درمان‌های کنونی برای سرطان پروستات در بیمارانی که دارای تومورهای سرطانی تهاجمی باشند، غیر موثر است. سرطان پروستات در اکثر اوقات دارای رشد کند و محدود و قابل کنترل است. با این حال، شکل‌های تهاجمی این بیماری به سایر قسمت‌های بدن منتشر می‌شود که بسیار خطرناک می‌باشد. در اثر پیشرفت‌های اخیر در فناوری نانو، می‌توان نانو موادی با عدد اتمی بالا نظیر نانو ذرات نقره، رادر سلول‌های سرطانی متمرکز کرد و از خصوصیت افزایش دوز جذبی آنها به عنوان درمان کننده بهره گرفت.^{۲۲-۲۵} هدف از این مطالعه با این فرض که نانو ذرات نقره با غلظت 53 g/ml باعث افزایش دوز موثر درمانی می‌شوند، گام‌تراپی با دوزهای ۲، ۶، ۱۰ گری در سرطان پروستات است تا بتوان از آن به عنوان یک روش جدی در درمان این نوع سرطان استفاده درمانی نمود.

مواد و روش‌ها

کشت سلول‌های سرطانی پروستات

سلول‌های سرطانی پروستات رده DU145 با منشأ پروستات انسانی از مرکز تحقیقات انستیتو پاستور ایران خریداری شد. پس از دفریز کردن نمونه‌ها با محیط کشت DMEM انکوبه شدند و به محیط کشت FBS 15% اضافه شد. جهت جلوگیری از آلودگی به محیط کشت آنتی بیوتیک پنی سیلین با غلظت $50 \text{ M}\mu$ نیز اضافه گردید. سپس نمونه سلول‌ها در فلاسک‌های کشت در انکوباتور قرار گرفتند و در طی یک دوره ۳ تا ۵ روزه سلول‌ها تیمار شده و به تجمع (Confluency) با تعداد مناسب رسیدند و برای جدا نمودن سلول‌ها از کف ظرف کشت سلول از محلول تریپسین که حاوی 0.25 mg پودر تریپسین (Merck) و 0.03 mg پودر EDTA (Merck) در 100 ml بافر نمکی فسفات (Fluka) است استفاده شد. سپس سلول‌ها با دور 1200 rpm سانتریفیوژ و شمارش سلول‌ها با رنگ آمیزی سلول توسط تریپان بلو که حاوی 9 mg (Merck) NaCl، 0.6 mg (Merck) (K_2HPO_4) و 0.5 Mg متیل هیدروکسی

با تعدادی از پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک، شناخت بهتری را از طرح‌های پیچیده نظم دهی و علامت‌دهی ناظر بر رفتار سلول‌ها در حالت‌های عادی و غیرعادی فراهم می‌کند.^{۱۶-۱۸} به عنوان مثال نانو ذرات اکسیدسیدیم با در اختیار داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک عامل درمان محسوب می‌شوند. این نانو ذرات نقش قابل توجهی در مهار گونه‌های اکسیژن فعال Reactive Oxygen species (Ros) در سلول‌های رده تخمدان موش A2780 را نشان می‌دهد. در درمان با کمک این نانو ذرات با تزریق داخل صفاقی کاهش معناداری در تعداد سلول‌ها این رده رخ داد. برش‌های بافتی از تجمع نانو ذرات اکسیدسیدیم در تومورهای جدا شده از گروه تحت درمان، و مطالعه‌ی آن با میکروسکوپ الکترونی عبوری و طیف سنجی جرمی کاهش توده را تایید کرد. همچنین کاهش آنژیوژنز و آپوپتوزیس سلول‌های اندوتلیال عروق دیده شد که نشان می‌دهد نانو ذرات درمان بالقوه‌ای در درمان سرطان تخمدان اند.^{۱۹} در مطالعه‌ی دیگر به موش‌های دارای تومورهای زیرجلدی، غلظت مشخصی از نانو ذرات طلا با قطر $1/9$ نانومتر به صورت درون رگی تزریق شد و سپس آن‌ها را تحت پرتودرمانی با پرتوی ایکس با شدت 250 کیلوولت قرار دادند. نتایج نشان داد که پارامتر بقا در طول یک سال در گروه تابش به همراه تزریق نانو ذرات 86 درصد در مقابل میزان بقا 20 درصد در گروه تابش تنها به دست آمد.^{۲۰} همان گونه که ذکر شد از راهکارهای موثر برای افزایش دوز در سلول‌های سرطانی بدون تجاوز از حد دوز قابل تحمل اندام‌های در معرض خطر، استفاده از حساس کننده‌های پرتوی در سلول‌های سرطانی است. امروزه با پیشرفت فناوری نانو امکان بهره مندی از ویژگی افزایش دوز مواد با عدد اتمی بالا به واسطه تجمع نانو ذراتی مانند نانو ذرات طلا و نانو ذرات نقره در تومورها فراهم آمده است.^{۲۱} پیشرفت در زمینه‌های زیست شناسی تومور و ژنتیک ملکولی منجر به توسعه درمان دارویی موثر در آینده خواهد شد. هم زمان با این پیشرفت‌ها، پیشرفت در نانو فن آوری و اقدام آن با بیو تکنولوژی پزشکی به معنای توانایی برای کشف ساختار و عملکرد بیوسیستم سلولی می‌باشد که ذاتاً دارای یک سطح سازمانی در مقیاس نانو است، خواص فیزیکی و شیمیایی نانو ذرات یعنی اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا باعث شده است که برای بسیاری از برنامه‌های کاربردی در پزشکی شیمی، فیزیک، علم مواد

سنجش MTT یا تترازولیوم اندازه گیری متابولیسم اکسیداتیو سلولی بوده و مخصوص سلول‌های زنده است. رنگ تترازولیوم MTT با فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز شکسته شده و رنگی تولید می‌کند که نشان دهنده فعالیت بالای میتوکندریایی در سلول هاست. دامنه رنگ (زرد تا آبی) بسته به تعداد سلول‌هایی که از لحاظ متابولیکی فعال می‌باشند، نسبی است. هرچند بین رده‌های سلولی مختلف که تعداد کمی از سلول‌های آنها پاسخ خیلی ضعیفی تولید می‌کنند، تنوع زیادی وجود دارد و به سنجش MTT پاسخ خوبی می‌دهند. برای سنجش MTT بعد از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت از گاما دهی ۲۰ میکرولیتر از ماده MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به هر کدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه حاوی سلول‌های تیمار شده و نیز سلول‌های گروه کنترل اضافه شد و سپس پلیت‌ها در انکوباتور در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و ۵ درصد CO₂ قرار گرفتند و در ادامه با دستگاه الیزا در طول موج ۵۷۰ nm قرائت شدند.

نتایج

مقایسه سمیت زایی با نانو ذرات نقره و پرتو گاما بین تمام گروه‌های سلولی سرطانی پروستات رده DU145 تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل:

به منظور سنجش سمیت زایی نانو ذرات نقره و همچنین سنجش میزان حساس کنندگی پرتویی نانو ذرات نقره مقدار ۳۰ μ l از این نانو ذرات با غلظت ۵۳ μ g/ml به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت با تعداد ۵۰۰۰ سلول DU145 موجود در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه انکوبه شد.

بنزوات است تعیین گردید. سلول‌های حاصل در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه قرار گرفتند و ۴ گروه آزمایشی شامل یک گروه کنترل یک گروه تیمار با اشعه گاما شامل ۳ زیر گروه که با دوزهای ۲، ۶، و ۱۰ گری و یک گروه تیمار با محلول ۵۳g/ml از نانو ذرات نقره و یک گروه تیمار همزمان با اشعه گاما با دوز ۲، ۶، و ۱۰ گری و محلول ۵۳g/ml از نانو ذرات نقره تشکیل شد.

محلول نانو ذرات نقره مورد نیاز برای تیمار سلول

۳۰ میکرولیتر از محلول ۵۳ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر از نانو ذرات نقره در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه که دارای ۵۰۰۰ سلول هستند اضافه و سپس انکوبه گردید. نانو ذرات نقره سنتز شده به روش gel-sol و دارای ابعاد ۳۰-۲۰ nm از شرکت نانو نصب پارس خریداری شد.

تابش دهی و دوزیمتری

برای تابش دهی نمونه‌ها از دستگاه گاما دهنده سازمان انرژی اتمی ایران استفاده شد و پارامترهای انرژی معادل با استفاده از فیلتری از جنس سرب بدست آمد. همچنین در این مطالعه جهت بررسی‌های آماری از نرم افزار اکسل ۲۰۰۷ برای تفسیر نتایج استفاده شد.

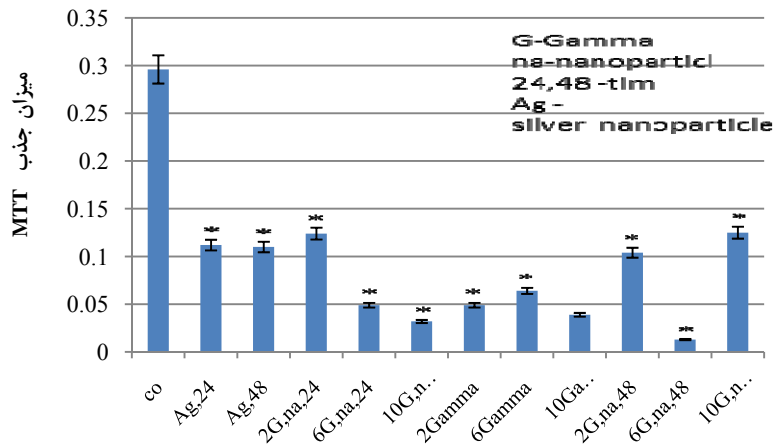
اندازه گیری میزان اثر تیمارها

سنجش تترازولیوم

میزان افزایش دوز درمانی با پرتوگاما و نانو ذرات نقره روی سلول‌های DU145 با استفاده از روش سنجش MTT انجام شد.

جدول ۱: پارامترهای پرتو دهی با دستگاه پرتو دهنده گاما

انرژی معادل keV	انرژی معادل j/kg	آهنگ دوز (گری بر ثانیه)	اکتیویته کوری	نوع چشمه	سامانه پرتو دهنده	دوز اعمالی بر حسب گری
۱/۲۴۸	۲	۲/۷۴	۱۱۱۷۴	Co60	Gamma cell G-220	۲
۳/۷۴۵	۶	۲/۷۴	۱۱۱۷۴	Co60	Gamma cell G-220	۶
۶/۲۴۲	۱۰	۲/۷۴	۱۱۱۷۷	Co60	Gamma cell G-220	۱۰

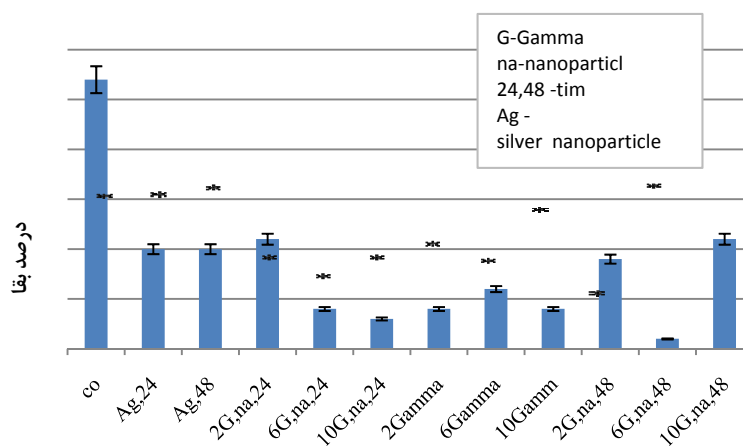


نمودار ۱: میانگین میزان جذب MTT سلول‌های سرطانی پروستات رده Du145 شامل گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده به طور همزمان با پرتو گاما با دزهای ۲, ۶ و ۱۰گری و نانو ذرات نقره ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شده

بعد از ۶ گری به همراه نانو ذرات نقره با مدت زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت است. نتایج حاصل به صورت درصد زنده بودن سلول‌ها در نمودار شماره ۱ آمده است. برای مقایسه میزان درصد زنده بودن سلولی بین گروه‌ها با یکدیگر و گروه کنترل از آزمون آماری ANOVA و آزمون مکمل Tukey با سطح معنی داری P-value < 0/05 استفاده شد و نمودارهای حاصل با نرم افزار Excel ترسیم شد. نتایج آماری افزایش سمیت معنی داری در سلول‌های گروه تیمار نسبت به گروه‌های کنترل را نشان می‌دهد. به عبارت دیگر اختلاف معنی داری در زنده بودن سلول‌ها بین هر گروه با گروه کنترل وجود دارد. (P < 0.05)

سپس سلول‌های تیمار شده و سلول‌های گروه کنترل (سلول‌های بدون نانو ذرات نقره) به طور همزمان کشت داده شدند و سنجش MTT برای همه گروه‌ها صورت گرفت.

مقایسه بین دزهای مختلف ۲, ۶ و ۱۰گری پرتو گاما استفاده شده نشان می‌دهد که در استفاده از تیمار با پرتو گاما به طور همزمان همراه با نانو ذرات نقره با مدت زمان انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت بر روی سلول‌های سرطانی پروستات رده DU145 با منشأ انسانی بیشترین ضریب افزایش دوز و سمیت مربوط به دز ۶ گری به همراه نانو ذرات نقره با مدت زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت و سپس دز ۱۰گری به همراه نانو ذرات نقره با مدت زمان انکوباسیون ۲۴



نمودار ۲: میانگین درصد زنده بودن سلول‌های سرطانی پروستات رده Du145 شامل گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده به طور همزمان با پرتو گاما با دزهای ۲, ۶ و ۱۰گری و نانو ذرات نقره ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شده را نشان می‌دهد.

بحث

در تحقیق حاضر درمان سلول‌های سرطانی پروستات با استفاده از تابش اشعه گاما موجب کاهش و مرگ سلول‌ها گردید. بعلاوه درمان همزمان با اشعه گاما با نانوذرات نقره موجب افزایش دوز جذبی و درمان بهتر سلول‌های سرطانی گردید. با وجود پیشرفت‌های زیاد اخیر، سرطان پروستات همچنان به مثابه یک علت عمده و دومین علت اصلی مرگ و میر در مردان است. درمان سرطان، در سرطان‌های مختلف مشابه یکدیگر نیست بلکه این بسته به نوع، مرحله و تشخیص پزشک، نوع درمانی که با توجه به شواهد علمی با نوع سرطان مطابقت دارد را تعیین می‌نماید. در بیشتر موارد درمان‌های ترکیبی برای بیماران توصیه می‌گردد.^{۷۶}

در سرطان پروستات استفاده از روش رادیوتراپی برای درمان به علت پراکندگی اشعه یونیزان باعث آسیب موضعی بافت‌های اطراف می‌شود. این باعث افزایش عوارض و کاهش اثرات درمانی به خاطر عدم استفاده از دوز بالا می‌گردد. لذا استفاده از روش‌های جدید درمانی ضروری می‌باشد. بیش از نیمی از بیماران مبتلا به سرطان طی مراحل درمانی تحت درمان با تابش یونیزان قرار می‌گیرند. پرتودرمانی خارجی عملی وسیع است و می‌تواند با عوارضی مثل درد همراه باشد. با وجود تلاش‌ها و پیشرفت‌های زیادی که در راستای افزایش بازدهی درمان و کاهش دوز بافت‌های سالم در پرتودرمانی در طول چند دهه اخیر انجام گرفته است، آثار جانبی ناشی از تابش یونیزان همچنان به عنوان یک عامل محدودکننده دوز تابشی باقی مانده است. همچنین ثابت شده است که افزایش دوز فقط در سلول‌های سرطانی، درمان سرطان را به طور معنی داری بهبود خواهد بخشید. استفاده از حساس‌کننده‌های پرتوی در سلول‌های سرطانی از راهکارهای افزایش دوز درمانی اشعه سلول‌های سرطانی بدون تجاوز از حد دز قابل تحمل اندام‌های در معرض خطر، است.^{۸-۱۱} افزایش دوز موضعی حاصل از مواد با عدد اتمی بالا نیز مدت زمان زیادی است که شناخته شده است. در مطالعه حاضر از نانوذرات نقره به عنوان حساس‌کننده پرتوی استفاده شد. امروزه با پیشرفت فناوری نانو امکان بهره‌مندی از ویژگی افزایش دوز مواد با عدد اتمی بالا به واسطه تجمع نانوذراتی مانند نانوذرات طلا و نانوذرات نقره در تومورها فراهم آمده است.^{۲۶-}

^{۲۸}. می‌توان نانو موادی با عدد اتمی بالا نظیر نانوذرات نقره، را در سلول‌های سرطانی متمرکز کرد و از خصوصیت افزایش دوز جذبی آنها به عنوان حساس‌کننده پرتویی بهره گرفت. در تحقیق حاضر این ویژگی نانو ذرات مورد مطالعه قرار گرفته است. در تابش پرتو فوتونی گاما به ماده احتمال رخداد فرآیند فتوالکتریک که فرآیند اصلی جذب انرژی می‌باشد بسیار بالا است. در برخورد فوتون‌های گاما با نانوذرات نقره، فتوالکترون‌ها، الکترون‌های اوژه (Auger Electrons) و الکترون‌های ثانویه ای تولید می‌شود. ذرات ثانویه می‌تواند به طور بسیار مؤثری منجر به شکست‌های رشته DNA و در نتیجه باعث آسیب رساندن به سلول‌ها شوند. الکترون‌های ثانویه می‌تواند با مولکول‌های آب برهم کنش کرده و رادیکال‌های آزاد را تولید نماید به طوری که نانوذرات را می‌توان به عنوان چشمه‌های رادیکال هیدروکسیل به شمار آورد. حتی این تحقیق نشان می‌دهد که انرژی زیر آستانه یونیزاسیون باعث القای سریع رزونانس مولکولی در DNA و آسیب‌های ژنوتوکسیک می‌شود که به این مفهوم که آسیب در DNA فقط توسط الکترون‌های ثانویه ایجاد می‌شود پایان می‌دهد.^{۲۹} بنابراین انتظار می‌رود که در تحقیق حاضر حضور نانوذرات نقره به همراه پرتودرمانی گاما منجر به افزایش احتمال برهم کنش‌های فتوالکتریک و در نتیجه افزایش دوز جذبی و در نهایت افزایش آسیب در سلول‌های سرطانی شود. این عمل از طریق سه فرایند جذب موضعی از پرتو گاما توسط نانو ساختارها، انتشار موثر الکترون‌های کم انرژی، نانو ساختارهای کوچک و انتقال کارآمد از انرژی در آب به شکل رادیکال و الکترون صورت می‌گیرد. این انتقال انرژی و ترکیب موضعی اشعه ایکس را نانو ذرات ایجاد می‌کنند. نخستین مطالعه *In Vivo* درباره حساس‌کنندگی پرتویی نانوذرات طلا در سال ۲۰۰۴ انجام شد. در این مطالعه به موش‌های دارای تومورهای زیرجلدی، غلظت مشخصی از نانوذرات طلا با قطر ۱/۹ نانومتر به صورت درون رگی تزریق شد و سپس آن‌ها را تحت پرتودرمانی با پرتوی ایکس ۲۵۰ کیلوولت پیک قرار دادند؛ پارامتر بقا در یک سال در گروه تابش به همراه تزریق، برابر ۸۶ درصد در مقابل ۲۰ درصد در گروه تابش تنها به دست آمد. در ادامه، این اثر در مطالعات *In Vitro* و در تابش دهی‌های سلول‌ها و DNA پلاسمیدی مشاهده شده

ضریب افزایش دوز و سمیت مربوط به دوز ۶ گری به همراه نانوذرات نقره با مدت زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت است. پس از آن دوز ۱۰ گری به همراه نانوذرات نقره با مدت زمان انکوباسیون ۲۴ و سپس دوز ۶ گری به همراه نقره با مدت زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت بر روی سلولها موثر است .

در توضیح این نتایج می‌توان گفت که فوتون‌های گاما به دو صورت اثر مستقیم و غیر مستقیم پرتو باعث آسیب رساندن به سلول‌های سرطانی می‌شود. اثر مستقیم ناشی از پرتو زمانی اتفاق می‌افتد که یک مولکول مستقیماً مورد اصابت پرتو قرار گرفته و به اجزای غیر مفید زیست شناختی تقسیم شود. احتمالاً مهمترین مولکول در سلول زنده مولکول DNA هسته است و در نتیجه نابودی مستقیم سلول قادر به تقسیم نیست اما میتواند مدتی زنده بماند. اثر غیرمستقیم زمانی رخ می‌دهد که مولکولی مانند آب که اهمیت کمتری دارد به یون‌ها یا رادیکال‌های فعال تبدیل شود. اگر این اجزای تجزیه شده به حرکت در آیند و با مولکول‌های مهمی مانند DNA ایجاد واکنش کنند، آسیب وارده همانند یک اثر مستقیم است. در اثر مستقیم بین برخورد و نابودی فاصله زمانی وجود ندارد. اما در اثر غیر مستقیم انتقال یون‌ها و رادیکال‌ها ممکن است آنقدر به آهستگی صورت گیرد که بتوان با قرار دادن عوامل حفاظت کننده شیمیایی در برابر آنها به حفاظت از مولکول‌ها پرداخت. مطالعات زیادی وجود دارد که حساس کنندگی پرتویی نانوذرات نقره را تایید می‌کند، به علت اینکه شرایط مطالعات انجام شده از یک مطالعه به مطالعه دیگر بسیار متفاوت است. بنابراین میزان حساس کنندگی گزارش شده در اینگونه مطالعات نیز از یکدیگر متفاوت است.^{۳۱-۳۴} برای مثال در یک مطالعه *In vitro*، با استفاده از نانوذرات طلا پوشانده شده با گلوکز به همراه پرتو دهی با منبع ۲۰۰ کیلو ولت پیک در سلول‌های سرطانی سینه، ضریب افزایش دوز جذبی حدود ۱/۵ تا ۲ به دست آمده است.^{۳۵ و ۳۶} در این مطالعه هم اثر مستقیم و هم اثر غیر مستقیم پرتو گاما می‌تواند انجام شود که اثر مستقیم ناشی از برخورد بدون واسطه پرتو گاما با مولکول DNA سلول‌های سرطانی پروستات می‌باشد و اثر غیر مستقیم پرتو گاما با یون‌های حاصل از یونیزاسیون نانو ذرات نقره و مولکول‌های آب بدست می‌آید .

انرژی فوتونی مورد استفاده در مطالعه حاضر برای ارزیابی اثر

است.^{۲۹ و ۳۰} Butterworth و همکاران ضریب افزایشی برابر ۲/۲۹ و ۱/۲۵ در شکست‌های تک رشته ای و دو رشته ای DNA پلاسمیدی بعد از تابش در حضور نانوذرات طلا ۵ نانومتری را گزارش کردند. این آسیب به شدت وابسته به تفاوت در اندازه و عدد اتمی نانوذرات است.^{۲۹ و ۳۱}

در مطالعه حاضر ضریب افزایشی ۱/۳۰۶ برای پرتو دهی با گاما با دوز ۶ گری به همراه نانوذرات نقره ۲۴ ساعت انکوبه شده و ضریب افزایشی ۱/۱۸۱ برای پرتو دهی با گاما با دوز ۱۰ گری به همراه نانوذرات نقره ۲۴ ساعت انکوبه شده بدست آمد. بیشترین ضریب افزایش دوز مربوط به پرتو دهی با گاما با دوز ۶ گری همراه با نانو ذرات نقره ۴۸ ساعت انکوبه شده بود و ضریب افزایشی ۴/۹۲۳ را به همراه داشت. در مطالعه ای اثر هم‌زمان نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم و پرتو گاما بر رده سلولی سرطان معده انسانی مورد بررسی قرار گرفته است که پس از کشت سلول‌ها به صورت هم‌زمان تحت تابش گاما با دوز ۲ Gy و غلظت ۳۰ μg/ml از کریستال‌های آنتاز و روتایل نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفتند و درصد بقای سلول‌ها توسط سنجش MTT محاسبه شد. بر اساس یافته‌های این پژوهش، کاربرد نانوذره به‌تنهایی باعث کاهش ۷۰ درصدی بقا در کلیه گروه‌های آزمایشی شد. سلول‌هایی که به‌طور هم‌زمان تحت تابش و نانوذره قرار گرفته بودند، درصد بقای کمتری از سلول‌هایی که تنها تحت تابش یا نانوذره بودند، نشان دادند. میزان تأثیر بر بقا سلول‌ها وابسته به نوع کریستال و دوز درمانی نانوذره بود. نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم به دلیل ایجاد ROS و افزایش سمیت سلولی، باعث افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی معده به تابش گاما می‌شود. کریستال آنتاز به دلیل داشتن ناحیه سطحی بزرگ‌تر و تولید بیشتر رادیکال آزاد، اثر شدیدتری نسبت به کریستال روتایل داشت.^{۳۰} در مطالعه حاضر از نانوذرات نقره با غلظت ۵۳ μg/ml استفاده شد و درصد بقای سلولی توسط سنجش MTT محاسبه شد. ضریب افزایشی در پرتو دهی با گاما با دوز ۲ گری مشاهده نشد که احتمالاً به دلیل تجمع و کلوخه شدن نانوذرات این نتیجه حاصل شده است.

در این تحقیق مقایسه بین دوزهای مختلف پرتو گاما نشان می‌دهد که در استفاده از تیمار با پرتو گاما به طور هم‌زمان همراه با نانوذرات نقره بر روی سلول‌های سرطانی پروستات بیشترین

داری برای سلولها داشته باشد، به دست آمد. یکی از مهمترین ملاحظات در پرتو درمانی موثر انتخاب انرژی مناسب تابشی است؛ در مطالعه ای نشان داده شده است که ترکیب درمانی داروی شیمی درمانی حاوی عنصر پلاتین سیس پلاتین (Dichloroplatin(II) و تابش دهی سلول های سرطانی گلیوما در موش صحرایی با چشمه تک انرژی، (۷۸/۴ کیلو الکترون ولت)، باعث ایجاد آسیب های یکسان می شود. در دیدگاه دیگر می توان بر تفاوت بین ضرایب جذب جرمی انرژی (مقادیر μ_{en}/p)، مقادیر جذب جرمی انرژی (نانو ذرات نسبت به بافت نرم یا به طور تقریبا معادل، آب توجه نمود و با داشتن ضریب جذب جرمی انرژی می توان میزان انرژی واگذار شده در حجم موضعی راتعیین نمود.^{۳۰،۳۸}

درمان کنندگی و حساس کنندگی نانو ذرات نقره در این رده سلولی استفاده شده است اما به طور کلی اختلاف در ضریب افزایش دوز جذبی در مطالعات تجربی دیگر با مطالعه حاضر را می توان به اختلاف در غلظت نانو ذرات، نوع پوشش نانو ذرات و نوع رده سلولی اندازه و شکل نانو ذرات، مدت زمان انکوباسیون یا ترکیبی از این عوامل نسبت داد. می توان با افزایش غلظت نانو ذرات نقره تا حد مشخصی، به ضریب افزایش دوز بالاتری دست یافت اما در استفاده از اندازه بزرگتر نانو ذرات برای افزایش دوز باید تناسبی بین ورود و تجمع بیشتر نانو ذرات در داخل سلول و اندازه قطر نانو ذرات باشد. مطالعات نشان می دهد که نانو ذرات کروی با قطر حدود ۵۰ نانومتر بیشترین نفوذ به داخل سلول را دارد.^{۳۷،۳۶،۳۰} مطالعه حاضر نیز نانو ذراتی به قطر حدود ۵۰ تا ۲۰ نانومتر استفاده شد و بیشینه دوز پرتو و مدت زمان انکوباسیون با غلظت مشخصی که سمیت معنی

منابع

1. Khoshgard K, Hashemi B, Arbabi A, Rasaei M J, Soleimani M. Radio sensitization effect of Paginated Gold Nan particles in Ortho voltage X-ray Irradiation of the MCF-7 Cancerous Cell Line. J. Medical Sciences: Patho biology 2012; 15(3): 11-22.
2. Shibamoto Y, Zhou L, Hatta H, Mori M, Nishimoto S. In vivo evaluation of a novel anti tumor pro drug, 1-(2'-oxopropyl)-5-fluorouracil (OFU001), which releases 5-fluorouracil up on hypoxic irradiation. Int. J Radiat. Oncol. Biol. Phys 2001; 49(2): 407-13.
3. Webberm M, Bello D, Quader S. Immortalized and tumorigenic adult human prostatic epithelial cell lines: characteristics and applications. Part I. Cell markers and immortalized non tumorigenic cell lines. J. Urol. 1996; 29(6):386-94.
4. Lubaroff DM. Development of an epithelial tissue culture line from human prostatic. Adeno carcinoma. J. Urol. 1977; 118(4):612-5.
5. Jin J K. Steps in Prostate Cancer Progression that lead to Bone Metastasis. J. Cancer Center 2011; 28(11): 2545-2561.
6. Kamel S, de Jong MC, Schulick RD, Diaz-Montes TP, Wolfgang C L, Hirose K, Edil B H, Choti M A, Anders R A, Pawlik T M. The Role of Liver-directed Surgery in Patients with Hepatic Metastasis from a Gynecologic Primary Carcinoma. J. peer review 2011 ; 35(6): 1345-1354.
7. Manthe RL, Foy S P, Krishnamurthy N, Sharma B, Labhasetwar V. Tumor Ablation and Nanotechnology .J. peer review 2010; 7(6): 1880-1898.
8. Krishnan S, Diagaradjane P, Hyuncho S. Nanoparticle-mediated thermal therapy: Evolving strategies for prostate cancer therapy. J. Hyperthermia 2010; 26(8): 775-789
9. Takaoka EI, Kawai K, Ando S, Shimazui T, Akaza H. Neutropenic Colitis during Standard Dose Combination Chemotherapy with Nedaplatin and Irinotecan for Testicular Cancer. J Clin. Oncol. 2006; 36(1): 60-63
10. Shadad AK, Sullivan F, JD Martin J, Egan L J. Gastrointestinal radiation injury: Prevention and treatment. J. Gastroenterol. 2013; 19(2): 199-208
11. Chaliapalli A, Jones E, Mphys, Harvey C, Hellowell G O, Mangar S A. High dose rate prostate brachytherapy: an overview of the rationale, experience and emerging applications in the treatment of prostate Cancer. J. Radiology 2012; 85(1): 18-27.
12. Hammad Aziz M, Schneider F, Clausen S, Blank E, Herskind C, Afzal M, Wenz F. Can the risk of secondary cancer induction after breast conserving therapy be reduced using intra operative radiotherapy (IORT) with low energy x-rays. J. Radiation Oncology 2011; 6(174): 1-9.
13. A Kaliberov S A, Buchsbaum D J. Cancer Treatment with Gene Therapy and Radiation Therapy .J. peer review 2012 ; 115: 221-263.
14. Challapalli A, Jones E, Charvey, Hellowell GO, Mangar S A. High dose rate prostate brachytherapy: an overview of the rationale, experience and emerging applications in the treatment of prostate cancer .J. Radiology 2012; 85: 18-27.

15. Kaliberov AS, Buchsbaum D J .Cancer Treatment with Gene Therapy and Radiation Therapy. *J. Adv Cancer Res.* 2012; 115: 221–263.
16. Tauran Y, Brioude A, Coleman W A, Rhimi M, KimB. Molecular recognition by gold, silver and copper nanoparticles. *J. Biological Chemistry* 2013; 4(3): 35-63.
17. Sotiriou G A, Pratsinis SE. Engineering nano silver as an antibacterial, biosensor and bio imaging material. *J. Peer review* 2011; 1(1): 3–10.
18. Doktycz M J, Simpson ML . Nano-enabled synthetic biology. *J. Molecular Systems Biology* 2007; 3(125):1-7.
19. Choi Y J, Kim SY, OhJ M, Juhnn1 YS. Stimulatory hetero trimeric G protein augments gamma ray-induced apoptosis by up-regulation of Bak expression via CREB and AP-1 in H1299 human lung cancer cells. *J. Experimental and Molecular Medicine* 2009;41(8): 592-600.
20. Liu C, Lin J, Zhao L, Yang Y, Gao F, Li B, Cui J, Cai J. Gamma-ray irradiation impairs dendritic cell Migration to CCL19 by Down-regulation of CCR7 and Induction of Cell Apoptosis 2011; 7(2):168-179.
21. Basel MT, Balivada S, Wang H, Shrestha TB, Seo GM, Pyle M, Abayaweera G, Dani R, Koper OB, Tamura M, Chikan V, Bossmann SH, Troyer DL. Cell-delivered magnetic nanoparticles caused hyperthermia-mediated increased survival in a murine pancreatic cancer model. *J. Nano medicine* 2012; 7(17):297–306.
22. Miyake K, Shimada M, Nishioka M, Sugimoto K, Batmunkh E, Uto Y, Nagasawa H, Hori H, The novel hypoxic cell radio sensitizer, TX-1877 has anti tumor activity through suppression of angiogenesis and inhibits liver metastasis on xeno graft model of pancreatic cancer. *J. Cancer Lett.* 2008; 272(2): 325-35.
23. Castillo MH, Button TM, Doerr R, Homs MI, Pruett CW, Pearce JI . Effects of radio therapy on mandibular reconstruction plates. *J. Am. J Surg.* 1988 ; 156(4): 261-3.
24. Shukla R, Bansal V, Chaudhary M, Basu A, Bhonde RR, Sastry M. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview. *J. Langmuir* 2009; 21(23): 106-44.
25. Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nano particles. *J. Small* 2008; 4(1): 26-49.
26. Govender R, Phulukdaree A, Gengan RM, Anand K, Chuturgoon AA, Silver nanoparticles of *Albizia adianthifolia*: the induction of apoptosis in human lung carcinoma cell line. *J. Nanobiotechnology.*2013 ; 11(5) :1-9.
27. Sriram MI, Kanth SB, Kalishwaralal K, Gurunathan S, Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. *J nanomedicine* 2010; 5(5): 753–762.
28. Giri S, Karakoti A, Graham RP, Maguire JL, Reilly CM, Seal S, Rattan R, Shridhar V. Nanoceria: A Rare-Earth Nano particle as a Novel Anti-Angiogenic Therapeutic Agent in Ovarian Cancer. *J PLOSONE.*2013; 8(1):1-13.
29. Juzenasa P, Chenb W, Sunc YP, Coelhodman,. Generalova. R, Generalovaa. N, Christensen. I.L. Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer. *J Adv Drug Deliv. Rev.*2008; 60(15):1600–1614.
30. Butterworth KT, Wyer JA, Brennan-Fournet M, Latimer CJ, Shah MB, Currell FJ, Hirst DG. Variation of strand break yield for plasmid DNA irradiated with high-Z metal nanoparticles. *J Radiat Res* 2008; 170(3): 381-7.
31. Carter JD, Cheng NN, Qu Y, Suarez GD, .Guo T. Nano scale energy deposition by X ray absorbing nanostructures. *J Phys Chem. B* 2007; 111(40): 116-25.
32. Hainfeld JF, Slatkin DN, Smilowitz HM. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *J Phys Med Biol.* 2004; 49(18): N309-15.
33. Rahman WN, Bishara N, Ackerly T, HeCF, Jackson P, Wong C, Davidson R, Geso M. Enhancement of radiation effects by gold nanoparticles for superficial radiation therapy. *J Nano medicine* 2009; 5(2): 136-42.
34. Brun E, Sanche L, Sicard-RoselliC. Parameters governing gold nanoparticle X-ray radio sensitization of DNA in solution, .*J. Colloids Surf B Bio interfaces* 2009; 72(1): 128-34.
35. Zheng Y, Hunting DJ, Ayotte P, Sanche L,. Radio sensitization of DNA by gold nanoparticles irradiated with high-energy electrons. *J. Radiat Res* 2008; 169(1): 19-27.
36. Chang MY, Shiau AL, Chen YH, Chang CJ, Chen HH, Wu CL. Increased apoptotic potential and dose-enhancing effect of gold nanoparticles in combination with single-dose clinical electron beams on tumor-bearing mice. *J Cancer Sci* 2008; 99(7): 1479-84.
37. Roa W, Zhang X, Guo L, Shaw A, HuX, Xiong Y, Gulavita S, Patel S, Sun X, Chen J, Moore R, XingJ Z. Gold nanoparticle sensitize radiotherapy of prostate cancer cells by regulation of the cell cycle. *J Nanotechnology* 2009; 20(37): 375.
38. Chithrani BD, Ghazani AA, Chan WC. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *J Nano Lett* 2006; 6(4): 662-8.