ORIGINAL ARTICLE

Effect of Gold Nanoparticles Conjugated with Folic Acid on the Absorption and Radiosensitization of Cervical Cancer Cells Under 6 MV Photon Irradiation

Bahare Amini Kadijani[1],
Bijan Hashemi[2],
Seied Rabi Mahdavi[3],
Masoud Soleimani[4]

[1] PhD in Medical Physics, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2] Associate Professor, Department of Medical Physics, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3] Associate Professor, Department of Medical Physics, Faculty of Medicine, Iran Universityof Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] Professor, Department of Hematology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received April 8, 2023 ; Accepted June 7, 2023)

Abstract

Background and purpose: Radiation therapy is one of the most important methods in treatment of cancer. Targeted metal nanoparticles (NPs) play an effective role in reducing ionizing radiation side effects through increasing the effect of ionizing radiation on cancer cells and controlling the harmful effect of radiation on healthy cells. The purpose of this study was to investigate the effect of targeted folic acid gold NPs (GNPs) using linker bovine serum albumin in the absorption and sensitivity of gold NPs in HeLa cervical cancer cells compared to non-targeted gold NPs.

Materials and methods: In this study, GNPs were conjugated with folic acid by bovine serum albumin as the linker. The binding of bovine serum albumin and folic acid to GNPs was investigated by infrared (IR) spectroscopy. Toxicity was measured by the MTT method and based on the results, the GNPs' non-toxic concentration was determined. The effect of targeted synthesized GNPs on their absorption and sensitivity were evaluated on HeLa cells.

Results: The non-toxic concentration of GNPs was 12 μg/ml. Incubation of the cells with this concentration was performed for 2, 4, and 24 hours and it was observed that in 4 hours, the absorption rate of targeted GNPs was about 4 times higher than that of non-targeted GNPs. The radiosensitization ratios of targeted and non-targeted GNPs in the studied cancer cells relative to the control group (without NPs) exposed to 6 MV photon radiation were 1.32±0.02 and 1.19±0.02, respectively.

Conclusion: The use of bovine serum albumin linker to target GNPs has a significant effect on increasing the absorption of GNPs and the effect of ionizing radiation on HeLa cells under 6 MV photon beams.

Keywords: radiation therapy, radiation sensitizers, targeted radiotherapy, gold nanoparticles (GNPs), cervical cancer

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (222): 15-30 (Persian).

Corresponding Author: Bijan Hashemi - Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
(E-mail: bhashemi@modares.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره 222 تیر سال 1402 (30-15)

تاثیر نانوذرات طلای کانژوگه شده با اسید فولیک بر جذب و حساس‌کنندگی پرتوی سلول‌های سرطانی دهانه رحم تحت تابش فوتون‌های 6 مگاولتی

بهاره امینی کادیجانی[1]
بیژن هاشمی[2]
سید ربیع مهدوی[3]
مسعود سلیمانی[4]

چکیده

سابقه و هدف: پرتودرمانی یکی از مهم‌ترین روش‌های درمان سرطان است. استفاده از نانوذرات فلزی هدفمند با افزایش اثر پرتوهای یونیزان بر سلول‌های سرطانی و کنترل اثر زیانبار پرتو بر سلول‌های سالم، عاملی موثر در کاهش عوارض جانبی پرتودرمانی است. هدف این مطالعه بررسی اثر هدفمندی نانوذرات طلای کانژوگه شده با اسید فولیک توسط لینکر آلبومین سرم گاوی در جذب و حساس‌کنندگی نانوذرات طلا در سلول‌های سرطانی HeLa در مقایسه با نانوذرت طلای غیرهدفمند است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، نانوذرات طلا توسط لینکر آلبومین سرم گاوی با اسید فولیک کانژوگه شد. اتصال آلبومین سرم گاوی و اسید فولیک به نانوذرات طلا با روش طیف سنجی فروسرخ بررسی شد. سنجش سمیت‌زایی با روش MTT انجام گرفت و بر اساس آن غلظت غیرسمی نانوذرات به‌دست آمد. سپس اثر نانوذرات هدفمند سنتز شده بر میزان جذب و حساس‌کنندگی آن‌ها بر روی سلول‌های HeLa ارزیابی شد.

یافته‌ها: غلظت غیر سمی نانوذرات برابر 12 µg/ml به‌دست آمد. انکوباسیون سلول‌ها با این غلظت نانوذرات به‌مدت 2، 4 و 24 ساعت انجام گرفت و مشاهده شد در 4 ساعت میزان جذب نانوذرات هدفمند به چهار برابر میزان جذب نانوذرات غیرهدفمند می‌رسد. نسبت حساس‌کنندگی نانوذرات هدفمند و غیر هدفمند در سلول‌های مورد مطالعه تحت تابش فوتون‌های 6 مگاولتی به گروه کنترل (بدون نانوذرات) به‌ترتیب 1/32±0/02 و 1/19±0/02 به‌دست آمد.

استنتاج: استفاده از لینکر آلبومین سرم گاوی برای هدفمند سازی نانوذرات طلا در افزایش جذب نانوذرات طلا و افزایش اثر پرتوی یونیزان بر سلول‌های HeLa تحت تابش فوتون‌های 6 مگاولتی تاثیر محسوسی دارد.

واژه‌های کلیدی: پرتودرمانی، حساس‌کننده‌های پرتوی، درمان هدفمند، نانوذرات فلزی، سرطان دهانه رحم

مقدمه

سرطان یا تومور بدخیم به گروه بزرگی از بیماری‌ها اطلاق می‌شود که تقریبا می‌تواند از تمامی اندام‌ها و بافت‌های بدن آغاز شود و سلول‌های غیرطبیعی به صورت غیرقابل کنترلی رشد و تکثیر شوند. درمان سرطان می‌تواند با روش‌های جراحی، درمان سیستمیک (نظیر شیمی درمانی، سیستم ایمنی درمانی، درمان هورمونی)، پرتودرمانی، پیوند مغز استخوان، سلول درمانی و یا ترکیبی از این‌ها انجام شود.

مولف مسئول: بیژن هاشمی - تهران بزرگراه آل احمد، کوی نصر، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی E-mail: bhashemi@modares.ac.ir
1. دکتری تخصصی فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
2. دانشیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
3. دانشیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
4. استاد، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1402/1/19 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1402/3/10 تاریخ تصویب : 1402/3/17

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

در پرتودرمانی (Radiotherapy) با تابش پرتوهای یونیزان پرانرژی به یک تومور یا هدف مورد نظر، سعی در درمان/کنترل سرطان می‌شود. در پرتودرمانی با تحویل دوز دقیقی از پرتوهای یونساز برای آسیب زدن/نابودی سلول‌های سرطانی یا توقف توانایی تولیدمثل و رشد و تکثیر غیرقابل کنترل آن‌ها استفاده می‌شود. محدودیت کنترل دقیق موضع تحویل دوز در داخل بدن و احتمال نفوذ پرتو به بافت‌های سالم از چالش‌های مستمر این روش درمانی بوده است. برای غلبه بر این چالش‌ها استراتژی‌های متعددی در نظر گرفته شده است. یکی از این روش‌های مورد توجه برای مقابله و رفع این چالش‌ها در سال‌های اخیر، استفاده از تصاویر عملکردی/ فانکشنال برای شناسایی/تشخیص دقیق و کنترل تومورهای ناهمگن و استفاده از دوز غیریکنواخت برای درمان و کنترل بیش‌تر این نوع تومورها بوده است(1،2). هم‌چنین ترکیب پروتکل‌های متفاوت تابش‌دهی در رادیوتراپی برای انطباق بیش‌تر دوز بر بافت تومورال و حفظ و کاهش/ جلوگیری از قرارگیری بافت سالم در معرض تابش یکی دیگر از راهبردهای مورد توجه و تحقیق در رادیوتراپی است(3،4). در این راستا استفاده از حساس‌کننده‌های پرتوی نظیر نانوذارت طلا در ترکیب با هایپرترمی نتایج امیدوار کننده و مثبتی به همراه داشته است(5). علاوه بر این‌ها، مطالعات اخیر سلولی در زمینه کاربرد نانوذرات اکسید هافنیوم به‌عنوان یک حساس‌کننده پرتوی جدید و آزمایش‌های پیش بالینی مرتبط زمینه ورود این نانوذرات را به پروتکل‌های معمول در درمان سلول‌های سرطانی در رادیوتراپی بالینی فراهم کرده است(6،7). حساس کننده‌های پرتوی به‌طور عام مولکول‌ها و موادی هستند که بتوانند به‌طور انتخابی جذب انرژی پرتوی یونیزان در سلول‌های سرطانی را افزایش دهند. نانوساختارها و به‌طور خاص نانومواد فلزی با عدد اتمی بالا مانند طلا به دلیل خواص منحصربفرد نانومواد، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در میان حساس‌کنندگی پرتوی یافته‌اند(8،9). نانوذرات طلا به دلیل زیست سازگاری و خواص فیزیکی و شیمیایی منحصربفرد خود بسیار مورد توجه قرار دارند. فرآیند تاثیر نانوذرات طلا بر افزایش اثر پرتو بر سیستم‌های بیولوژیکی به طور کلی از سه جنبه فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفته است(10،11). مشخصات و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات به‌کار گرفته شده بر پاسخ بیولوژیکی سلول‌ها، جذب سلولی و برهم‌کنش نانوذرات با پرتوهای یونیزان موثر است. از بین ویژگی‌های مختلف، نوع پوشش نانوذرات می‌تواند برای هدف قرار دادن انتخابی سلول‌های تومور در بدن استفاده شود. استراتژی‌های هدفمندسازی که برای فراهم آوردن غلظتی کافی از نانوذرات در سلول‌های تومور به‌کار گرفته می‌شوند به دو دسته تقسیم می‌شوند: هدفمندسازی منفعل و فعال. در هدفمندسازی منفعل، نانوذرات از جذب اندوسیتیک بالاتر سلول‌های سرطانی و عروق نشتی اطراف تومورها سود می‌برند و این ویژگی باعث جذب بیش‌تر نانوذرات در سلول‌های سرطانی نسبت به بافت‌ها و سلول‌های سالم می‌شود(12)، در حالی که در هدفمندسازی فعال، نانوذرات را با استفاده از مولکول‌های ویژه‌ای دارای عملکردی اختصاصی می‌کنند تا با گیرنده‌های شناخته شده‌ای برهم‌کنش کنند که در سطح سلول‌های سرطانی به‌صورت انتخابی حضور دارند(13). به عبارت دیگر هدفمندسازی فعال مستلزم اتصال مولکول‌های دیگری به سطح نانوذرات است که وابستگی خاصی برای تعامل با بافت های سرطانی داشته باشند. انگیزه اصلی چنین فرآیندی استفاده از پتانسیل هدفمندسازی فعال نانوذرات برای افزایش تجمع نانوذرات در سلول و بافت هدف و عدم اتکای صرف به جذب منفعل از طریق اثر EPR (Enhanced Permeability and Retention effect) است(14). این امر توسط مولکول‌هایی مثل آنتی‌بادی‌ها، پپتیدها، فولات، آپتامر، هورمون‌ها و مولکول‌های گلوکز انجام پذیرفته است(15،16). از میان این مولکول‌ها، فولات عامل هدفمند ساز مناسبی به‌دلیل پایداری، عدم ایمنی‌زایی، اختصاصی بودن برای سلول سرطانی و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

ترکیب شیمیایی ساده آن است. برخی ازسلول‌های سرطانی کـه بـه سـرعت تقسـیم مـی‌شـوند، سـطوح گیرنـده‌های فولات را افزایش می‌دهند تا نیاز افـزایش یافتـه فـولات برای سنتز DNA و رشد سریع سلول‌ها را برآورده کنند، که اساس استراتژی‌های هدف‌گیری آن‌ها فولات است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تومورهای سـر و گـردن، دهانه رحم و تخمدان، مدل‌های مناسبی بـرای مطالعـات هـدف‌گیری فـولات هسـتند(17). روی غشـای سـلولی سـلول‌های HeLa در سـرطان دهانـه رحـم گیرنـده‌های فراوانی بـرای اسـید فولیـک وجـود دارد. بـا پیونـد زدن نانوذرات یـا هـر عامـل درمـانی دیگـر بـه اسـید فولیـک می‌توان از مزایـای درمـان هدفمنـد سـلول‌های سـرطانی HeLa بهره بـرد. اسـتفاده از نـانوذرات طـلای کانژوگـه شده با اسید فولیک درچندین مطالعه بر روی سـلول‌های سرطانی بررسی شده است. در یک مطالعه بـرای اتصـال اسید فولیک به نـانوذرات طـلا لینکـر 4-Aminophenol بـه‌کـار گرفتـه شـده اسـت(18). در ایـن مطالعـه غلظـت غیرسمی نانوذرات هدفمند سنتز شده بر روی سـلول‌های HeLa در حدود 50µM گزارش شده، در حالی‌کـه غلظـت غیرسمی نانوذرات هدفمند نشده که به همان روش سـنتز شده‌اند حداقل برابر 100µg/ml بـوده و هدفمنـد نمـودن نانوذرات طـلا بـه روش انجـام شـده در مطالعـه مـذکور سمیت نانوذرات را به مقدار زیادی بالا برده اسـت. ولـی اثر حساس‌کنندگی این نـانوذرات در دوزهـای مختلـف تحـت تـابش فوتون‌هـای 6MV معمـول در پرتودرمـانی سرطان دهانه رحم بررسی نشـده اسـت. در یـک مطالعـه دیگر نانوکلاسترهای طلا توسط لینکر آلبومین سرم گـاوی (Bovine Serum Albumin:BSA) کانژوگـه شـده‌اند(19). در این مطالعه از غلظت غیر ایمـن 160µg/ml نـانوذرات در سلول‌های C6 اسـتفاده شـده و ضـریب افـزایش دوز پرتویی در مجاورت سلول‌های مورد مطالعه بدست آمده است. اما اثر این لینکر در میزان تغییر در غلظت غیرسمی نانوذرات هدفمند و اثر آن در افزایش جذب توسـط سـلول نسبت به نانوذرات غیر هدفمند مورد بررسی قرار نگرفتـه است. هم‌چنین اثر حساس‌کنندگی آن نسبت به نانوذرات غیرهدفمند مطالعه نشده است. Gao و همکاران(20)، اثـر حساس‌کننده‌های نانومیله‌های طلای هدفمند شـده بـا اسـید فولیک به‌واسطه لینکرسیلیس را بر روی سلول‌هـای HepG2 تحت تابش I-125 نشان دادنـد. Huang و همکـاران(21) برای هدفمند نمودن نانومیله‌های طلا با اسـید فولیـک از لینکر سیلیس استفاده نمودند. آن‌ها اثر حساس‌کننـدگی پرتوی نانومیله‌های طلا را بر روی سلول‌های MGC803 تحت تابش پرتوی الکترونی بررسی کردند.

جمـع‌بنـدی پیشـینه پـژوهش و بررسـی مطالعـات مختلف نشان می‌دهد که هدفمند نمودن نانوذرات طلا با شکل‌های هندسی متفاوت و از طریـق کانژوگاسـیون بـا فولیک اسید توسط لینکرهای مختلـف انجـام شـده و در پرتودرمانی استفاده شده است، اما اثر استفاده از غلظـت ایمن نانوذرات هدفمند شده بـه واسـطه لینکـر BSA کـه پروتئین در دسترس، زیست سازگار و فراوانی است، بـر افزایش جذب نانوذرات هدفمند نسبت به غیر هدفمنـد و حسـاس‌کنندگی پرتـوی ایـن نـانوذرات در سـلول‌های HeLa تحـت تـابش فوتون‌هـای 6MV تـاکنون بررسـی نشده که جنبه برجسته‌ای از نوآوری مطالعه حاضر است. همان‌طورکه بیان شد سلول‌های سرطانیHeLa سطح بـالایی از گیرنده‌های اسید فولیک دارند. این ویژگی سلول‌های HeLa آن‌ها را قادر می‌سازد تا از مزیت جـذب بـیش‌تـر نانوذرات هدفمند شده با اسید فولیک برخـوردار شـوند. بنابراین هدف عمده این مطالعه کانژوگاسیون نـانوذرات طلا با اسید فولیک توسط ماده BSA ، تعیین غلظت غیر سمی IC_{10} (10 درصد Inhibitory Concentration) آن و مقایسه با غلظت غیر سمی نانوذرات طلای غیرهدفمند بوده است. هم‌چنین بررسی اثر نـانوذرات هدفمنـد شـده مذکور با اسید فولیک به واسطه لینکر BSA در افـزایش جذب نانوذرات در سلول و افزایش اثر حساس‌کننـدگی پرتویی سلول‌های HeLa تحـت تـابش پرتوهـای 6 MV هدف دیگر مطالعه ما بود، که مـی‌توانـد در پرتودرمـانی سرطان دهانه رحم مورد استفاده قرار گیرد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ابتدا غلظت غیرسمی (IC_{10}) دو نوع نانوذرات طلا تعیین شد. سپس برای بررسی و مقایسه میزان جذب نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند با یک غلظت مساوی غیرسمی از هر دو نوع برای انکوباسیون سلولی استفاده شد. با این روش توانستیم پی ببریم که کدام یک از انواع نانوذرات در جذب آن‌ها توسط سلول‌های مورد نظر بر دیگری برتری دارد. درنهایت نسبت حساس‌کنندگی پرتوی نانوذرات هدفمند با نانوذرات غیرهدفمند با همان غلظت انکوباسیون یکسان از طریق تعیین کمیت SER (Sensitizing Enhancement Ratio) مقایسه شد. این کمیت (نسبت افزایش حساسیت) از متوسط دوز غیرفعال کننده منحنی بقای سلولی بدون نانوذره به متوسط دوز غیر فعال‌کننده منحنی بقای سلولی با نانوذره به‌دست آمد.

نحوه کشت سلول

ابتدا سلول‌های فریز شده را به آرامی از انجماد خارج کردیم. سپس یک میلی‌لیتر از سلول‌های دفریز شده را در فالکون حاوی 3 میلی‌لیتر محیط کشت کامل (بر پایه DMEM و شامل 10درصد FBS) ریختیم و به مدت 5 دقیقه با شتاب g 300 سانتریفیوژ کردیم. پس از سانتریفیوژ که سلول‌ها در پایین لوله فالکون ته نشین می‌شوند، محیط رویی را دور ریختیم و 3 میلی‌لیتر محیط کشت تازه به سلول‌های باقیمانده در فالکون افزودیم و با کمک پیپتاژ، سلول‌ها را به‌طور همگن در محیط کشت پخش کردیم. در انتها محتویات فالکون را به داخل فلاسک منتقل نمودیم و 3 میلی‌لیتر محیط کشت به فلاسک اضافه کردیم. فلاسک را داخل انکوباتور C 37 و دی‌اکسیدکربن 5 درصد و رطوبت 98 درصد قرار دادیم تا سلول‌ها شروع به رشد و تولید مثل کنند. پس از این‌که سلول‌ها 80 درصد کف ظرف را پرکردند، فلاسک از انکوباتور خارج و محیط رویی دور ریخته شد. سپس کف فلاسک با محلول PBS شسته و محلول تریپسین (EDTA) به آن اضافه شد. فلاسک به مدت 2 تا 3 دقیقه در انکوباتور قرار داده شد تا سلول‌ها از کف کنده شوند. برای خنثی‌سازی تریپسین، به فلاسک حاوی سلول‌های کنده شده، محیط کشت کامل اضافه می‌شد. محتویات فلاسک را به یک فالکون 15 میلی‌لیتری منتقل کردیم و به‌مدت 5 دقیقه تحت سانتریفیوژ با نیروی 300g قرار دادیم. سپس محیط رویی سلول‌ها از فالکون خارج و محیط کشت جدید به فالکون افزوده شد و با پیپتاژ کردن محلول به صورت سوسپانسیون سلولی در آمد و به فلاسک یا پلیت منتقل شد(22).

روش تهیه نانوذرات طلای کانژوگه شده با PVP و اسید فولیک

ابتدا 20 میلی لیتر محلول یک صدم درصد نمک طلا ($HAuCl_4.H_2O$) در آب دو بار تقطیر تهیه شد. سپس پودر PVP (Polyvinylpyrrolidone) با نسبت جرمی دو برابر نمک طلا به محلول افزوده و حل شد. همچنین محلول یک درصد سیترات سدیم در آب دو بار تقطیر برای احیای نمک طلا آماده شد. دمای محلول نمک طلا و PVP بر روی استیرر تا حد نقطه جوش بالا برده و همزمان توسط مگنت به شدت استیرر شد. در حالی که محلول در حال استیرر می‌جوشید، 50 میکرولیتر از محلول سیترات سدیم به آن افزوده شد. طی زمان 10 دقیقه پس از افزودن محلول سیترات سدیم سنتز نانوذرات کامل شد، به گونه‌ای که رنگ محلول ابتدا تیره شد و بتدریج تغییر کرد تا در نهایت به رنگ قرمز شرابی درآمد(25-23). برای تهیه نانوذرات کانژوگه شده با اسید فولیک ابتدا 20 میلی‌لیتر محلول یک صدم درصد نمک طلا ($HAuCl_4.H_2O$) در آب دو بار تقطیر تهیه شد. هم‌چنین محلول یک درصد سیترات سدیم آب دو بار تقطیر برای احیای نمک طلا آماده شد. دمای محلول نمک طلا بر روی استیرر تا حد نقطه‌جوش بالا برده شد و همزمان توسط مگنت به شدت استیرر شد. سپس 200 میکرولیتر از محلول سیترات سدیم به محلول

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

درحال استیرر طلا افزوده شد. طی زمان 10 دقیقه پس از افزودن محلول سیترات سدیم سنتز نانوذرات کامل شد، به گونه‌ای که رنگ محلول ابتدا تیره شد و به تدریج تغییر کرد تا در نهایت به رنگ قرمز شرابی در آمد(23). در یک بالن 50 میلی گرم اسید فولیک در 1 میلی‌لیتر DMSO حل شد. سپس 95 میلی گرم EDC و 60 میلی گرم NHS و یک قطره محلول سه مولار NaOH افزوده و به‌مدت نیم ساعت استیرر شد. در یک بالن دیگر 200 میلی گرم BSA در 4 میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل شد. در حالی که محلول BSA روی استیرر هم می‌خورد، محلول فولیک اسید فعال شده قطره قطره به آن افزوده شد و به‌مدت 24 ساعت در همین حالت باقی ماند. سپس محلول را داخل فیلتر آمیکون 30kDa ریخته و به‌مدت 30 دقیقه با سرعت g 4000 (طبق پروتکل پیشنهاد شده توسط سازنده فیلتر) سانتریفیوژ شد تا مولکول‌های متصل نشده به BSA از محلول جدا شوند و ماده BSA و فولیک اسید متصل شده به آن باقی بماند. محلول باقیمانده روی غشای فیلتر را با پیپت جمع‌آوری کردیم که متشکل از کمپلکس FA@BSA بود. نانوذرات طلای سنتز شده به روش Turkevich را به نسبت وزنی 1 به 3 کمپلکس FA@BSA اضافه و یک شبانه‌روز استیرر شد. در نهایت محلول به‌دست آمده به مدت 20 دقیقه با سرعت g 18000سانتریفیوژ و محلول رویی تخلیه شد و نانوذراتی که به ته میکروتیوپ چسبیده بودند چندین بار با آب دوبار تقطیر شستشو داده و سانتریفیوژ شدند تا مواد اضافی خارج شود و نانوذرات کانژوگه شده با اسید فولیک باقی بماند(29-26).

نحوه بررسی اندازه نانوذرات طلای سنتز شده و اتصال آلبومین سرم گاوی و فولیک اسید به نانوذرات طلا

برای تایید اندازه(Size) نانوذرات طلای سنتز شده، روش طیف سنجی UV-VIS (دستگاه طیف سنجی UV-VIS مدل T70، ساخت شرکت PG Instrument Ltd، انگلستان) به‌کار برده شد. هم‌چنین از تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (Field Emission: FESEM Scattering Electron Microscopy)، (دستگاه FESEM مدل S4160، ساخت شرکت HITACHI، ژاپن) برای تعیین مورفولوژی و اندازه تقریبی نانوذرات طلای سنتز شده استفاده شد. برای بررسی اندازه آبپوشی شده (Hydrodynamic) نانوذرات سیستم اندازه گیری پراکندگی نور پویا (DLS:Dynamic Light Scattering) به‌کار گرفته شد (دستگاه 90 Plus Nanoparticle size analyzer، ساخت شرکت Brookhaven Instruments، ایالات متحده امریکا). براساس مبانی نظری پذیرفته شده، پیوندهای شیمیایی در فواصل آنگستترومی ارتعاش می‌کنند که نوسان‌های بسیار ضعیف و قابل چشم‌پوشی هستند. با برخورد نور فروسرخ دارای فرکانس ارتعاشی یک پیوند مشخص، فرکانس مربوط توسط پیوند جذب و به‌صورت پیک‌های جذبی در طیف‌های IR مشاهده می‌شود(30). در این تحقیق، برای بررسی تایید پوشش‌دهی نانوذرات از دستگاه FT-IR (مدل 10.03.06، ساخت شرکت PerkinElmer، امریکا) استفاده شد.

نحوه بررسی سمیت‌زایی نانوذرات طلای هدفمند بر روی سلول‌های HeLa و تعیین کمیت IC_{10}

از سنجش MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) برای اندازه‌گیری فعالیت متابولیکی سلول‌ها در شرایط برون‌تنی استفاده می‌شود. این سنجش یک روش رنگ سنجی است که در آن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم محلول در آب در سیستم سلولی زنده توسط میتوکندری احیا می‌شود و کریستال‌های آبی رنگ نامحلول را تشکیل می‌دهد. برای تهیه محلول MTT با غلظت 5 mg/ml، براساس حجم مورد نیاز در هر آزمایش، مقدار مشخصی (به‌طور مثال 50 میلی گرم) از ماده خشک MTT در حجم مورد نیاز (به‌طور مثال 10 میلی‌لیتر) بافر نمکی فسفات (PBS) حل و سپس با فیلتر 0/22 میکرومتری فیلتر گردید. مقدار

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

حجمی که از محلول تازه تهیه شده MTT به هر چاهک حاوی سلول و نانوذره ریخته می‌شد به میزان محیط کشت وابسته بود، به گونه‌ای که از نسبت 1 به حداکثر 10 از محلول به محیط کشت در همه‌ی آزمایش‌ها استفاده گردید. برای انجام این سنجش، از یک پلیت 96 خانه‌ای استفاده شد. برای هر یک از انواع نانوذرات هدفمند و غیر هدفمند، درهر یک از خانه‌های واقع در 10 ستون و سه ردیف پلیت مورد استفاده 10000 سلول در محیط کشت قرار داده شد. بعد از گذشت 24 ساعت که سلول‌ها به کف پلیت چسبیدند، محیط کشت رویی توسط سمپلر تخلیه شد. پس از آن نانوذرات هدفمند و غیر هدفمند در 10 غلظت مختلف (صفر تا 45µg/ml) در محیط کشت جدید آماده و سلول‌ها با این نانوذرات انکوبه شدند. پس از گذشت 24 ساعت از انکوباسیون سلول‌ها و نانوذرات، ابتدا محیط رویی هر خانه به کمک سمپلر با دقت تخلیه و سپس 100 میکرولیتر از محلول ماده MTT با غلظت 10درصد به هر یک از خانه‌های پلیت 96 خانه اضافه گردید و در نهایت پلیت‌ها به‌مدت 4 ساعت در انکوباتور 37 درجه و 5 درصد دیاکسیدکربن قرار داده شدند. سپس، به کمک یک سمپلر محیط کشت حاوی ماده‌ی MTT از خانه‌ها برداشته شد. بعد از برداشتن محیط رویی، 100 میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) به هر چاهک اضافه و به‌مدت 15 دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. سپس، پلیت در دستگاه لرزاننده به‌مدت 5 دقیقه قرار داده شد تا بلورهای تشکیل شده در DMSO حل و یکنواخت گردد. در انتها، جذب نوری در دستگاه خوانشگر میکروپلیت فتومتر یا خوانشگر الایزا در طول موج 570 نانومتر قرائت و میزان رنگ تولید شده توسط سلول‌ها در گروه‌های مختلف مقایسه و سمیت هر یک از نانوذرات بررسی شد(31). از این روش برای تعیین غلظتی از نانوذرات که به کاهش 10 درصدی بقای سلول‌ها می‌انجامد (IC_{10}) و سنجش MTT استفاده کردیم.

روش سنجش میزان جذب نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند طلا در سلول‌های HeLa

طیف سنجی نشر اتمی با پلاسمای جفت شده القایی (ICP-AES) معمولا برای تعیین جذب سلولی نانوذرات فلزی قابل استفاده است. برای سنجش میزان جذب نانوذرات توسط سلول‌های مورد مطالعه، از دستگاه طیف سنجی نشر اتمی با پلاسمای جفت شده القایی (ساخت شرکت SPECTRO ARCOS، آلمان) با دقت یک در میلیارد(ppb) استفاده شد. به این منظور تعداد 300000 سلول در فلاسک‌های cm^2 25 کشت داده شدند و پس از 24 ساعت، انکوباسیون نانوذرات در غلظت‌های موردنظر انجام شد. قبل از انجام آزمایش جذب اتمی، محیط کشت رویی هر یک از خانه‌ها خارج و سه مرتبه با محلول بافر نمکی فسفات (PBS) شسته شدند تا نانوذراتی که وارد سلول نشده بودند به‌طور کامل از روی سلول‌ها شسته شوند. سپس سلول‌ها با استفاده از تریپسین از کف فلاسک کنده شدند. نمونه‌ها در محلولی متشکل از اسیدنیتریک (HNO3) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به‌مدت 12 ساعت قرار گرفتند تا کاملا هضم شوند و سپس یک ساعت در دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در نهایت به حجم لازم رسانده شدند. نمونه‌های آماده شده در دستگاه ICP قرار داده شدند و شدت طول موج منتشر شده از هر نمونه اندازه‌گیری شد. برای نانوذرات طلا شدت در طول موج مشخصه 242/795 nm اندازه‌گیری شد. از قبل نمونه‌های بدون مداخله/خالی (blank) و غلظت‌های استاندارد به دستگاه داده و دستگاه کالیبره شد. در انتها، غلظت عنصر مورد نظر در هر نمونه به‌دست آمد. آزمایش‌ها به‌صورت سه بار تکرار انجام و نتایج نهایی از میانگین‌گیری نتایج گزارش شدند(32).

تابش‌دهی سلول‌ها در حضور نانوذرات هدفمند و غیر هدفمند طلا و در عدم حضور نانوذرات

به منظور تابش‌دهی از دستگاه شتابدهنده خطی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

ساخت شرکت SIEMENS، آلمان واقع در کلینیک پرتودرمانی امید استفاده شد. پرتودهی نمونه‌ها در گروه‌های آزمایشی مربوط با باریکه فوتونی 6 مگاولتی انجام شد. اندازه میدان به ابعاد cm^2 18×20 و فاصله منبع و نمونه سلولی به اندازه SAD=100 cm تنظیم شد. آهنگ دوز تابش‌دهی دستگاه MU/min 200 بود و برای هر گروه از پلیت‌ها زمان تابش‌دهی به گونه‌ای تنظیم شد که گروه‌های مختلف پرتوی به طور جداگانه تحت تابش دوزهای 0/5 ، 1 ، 2 ، 3 و 4 Gray (Gy) قرار گیرند. گیرند. ضخامت ورقه پلکسی گلس در مسیر برخورد پرتو به سلول‌ها 3 سانتی‌متر بود و زاویه گنتری شتاب‌دهنده در 180 درجه تنظیم شد.

سنجش کلونی زایی سلول‌ها

روش سنجش کلونی‌زایی به‌عنوان ابزاری مفید برای ارزیابی تفاوت در تولید مثل سلولی بین گروه‌های کنترل وگروه‌های تحت درمان‌های مختلف، مثل سلول‌های تحت تابش پرتوی یونیزان استفاده می‌شود. منظور از کلونی‌زایی توانایی یک سلول در تولید مثل و تشکیل یک مجموعه حداقل 50 سلولی است. برای بررسی اثر تابش سلول‌ها در حضور نانوذرات مختلف، ابتدا سلول‌ها در 6 پلیت 12 خانه کشت داده شدند. تعداد سلول‌ها در هر پلیت متناسب با مقدار تابش درنظرگرفته شده برای آن پلیت کشت داده شد. پس از 24 ساعت پلیت‌ها را به سه گروه مجزای سلول‌های تنها، سلول‌های انکوبه شده با نانوذرات طلای هدفمند و سلول‌های انکوبه شده با نانوذرات طلای غیزهدفمند تقسیم‌بندی کردیم. انکوباسیون نانوذرات با غلظت IC_{10} و به‌مدت 24 ساعت انجام شد. در هر گروه یک پلیت به‌عنوان نمونه کنترل تحت تابش قرار نگرفت. از هر گروه سایر پلیت‌ها تحت تابش پرتو فوتونی MV 6 با دوزهای 0/5 و 1 و 2 و 3 و 4 Gy تحت تابش قرار گرفتند. پس از تابش‌دهی، سلول‌ها در انکوباتور قرارداده شدند و هر دو روز یک بار محیط کشت سلولی تعویض شد. پس از 14 روز که سلول‌های سالم سبب تشکیل کلونی‌های سلولی شدند، توسط فورمازان و کریستال ویوله تثبیت و رنگ‌آمیزی و تعداد کلونی‌ها شمرده شدند. نسبت بقای سلولی در هر گروه نسبت به گروه کنترل مربوط محاسبه شد(33).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism8 انجام شد. داده‌ها در هر گروه با سه بار تکرار جمع‌آوری شد. مقایسه داده‌ها با استفاده از روش‌های آماری پارامتریک انجام شد. میزان معنی‌داری اختلاف در مقدار بقای سلولی در هر یک از گروه‌های تیمار و کنترل با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه بررسی و سطح $P<0/05$ برای معنی‌داری در نظرگرفته شد.

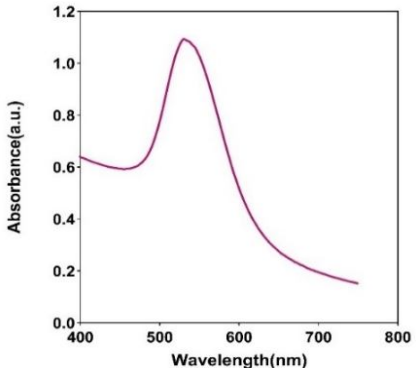
یافته ها

تعیین طیف UV-VIS نانوذرات طلای سنتز شده و نتایج مربوط به اندازه‌گیری قطر و مورفولوژی نانوذرات طلا در طیف UV-VIS به‌دست آمده از نانوذرات طول موج پیک در طیف پلاسمون سطحی در 530 نانومتر مشاهده شد که مربوط به نانوذرات طلای کروی 50 نانومتری است (تصویر شماره1، الف). هم‌چنین تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی نشان داد نانوذرات طلا با شکل کروی و قطر تقریبی 50 نانومتر سنتز شده است (تصور شماره1، ب).

نمودار شماره 1 توزیع اندازه آبپوشی شده قطر نانوذرات طلای سنتز شده را نشان می‌دهد. مقدار متوسط قطر هیدرودینامیکی نانوذرات طلای کانژوگه شده با PVP و نانوذرات کانژوگه شده با اسید فولیک به‌ترتیب 57/4 nm و 67/7 nm با شاخص پراکندگی 0/15 و 0/17 به‌دست آمد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

الف

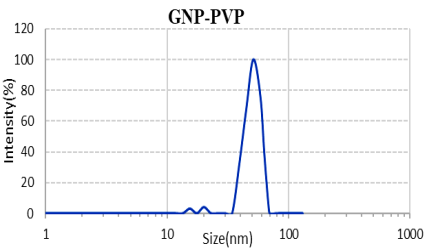


ب

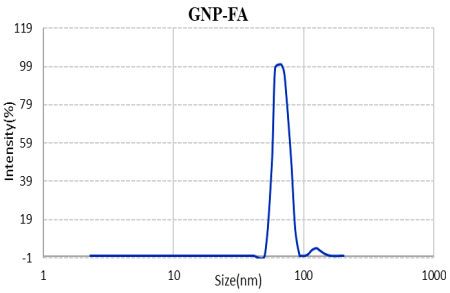


تصویر شماره 2: طیف جذبی نانوذرات طلای سنتز شده در گستره فرابنفش-مرئی (شکل بالا) و تصویر FESEM نانوذرات سنتز شده

الف



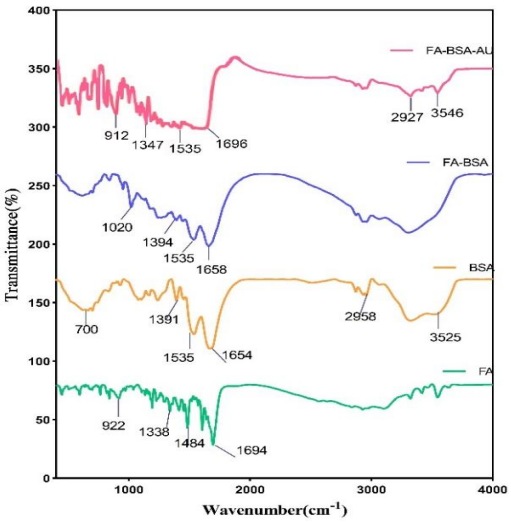
ب



نمودار شماره 1: توزیع اندازه قطر آبپوشی شده نانوذرات طلا در آزمون DLS

تایید اتصال آلبومین سرم گاوی و فولیک اسید به نانوذرات طلا

همان‌گونه که بیان شد برای اتصال نانوذرات طلا به فولیک اسید از پروتئین BSA به‌عنوان لینکر استفاده شد. پس از فعالسازی گروه کربوکسیل مولکول‌های فولیک اسید، مولکول‌های BSA از طریق پیوند پپتیدی به مولکول‌های فولیک اسید متصل می‌شوند. سپس از طریق گروه‌های سولفیدریل مولکول BSA نانوذرات طلا به سمت دیگر BSA متصل می‌شوند و به این ترتیب نانوذرات طلای کانژوگه با اسید فولیک سنتز می‌شوند. به منظور تایید اتصال مولکول‌ها به یکدیگر، پس از انجام هر مرحله، طیف سنجی فروسرخ انجام شد (تصویر شماره 2).



تصویر شماره 2: طیف FT-IR نانوذرات طلای کانژوگه شده با اسیدفولیک

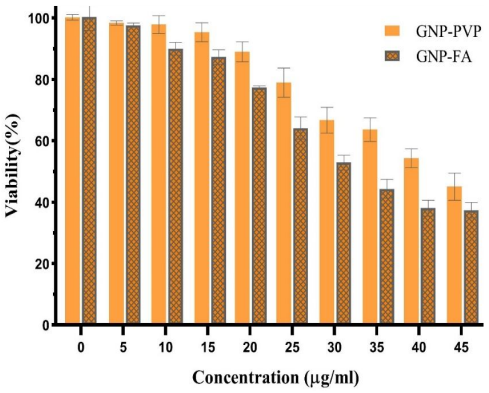
در طیف BSA-FA پیک‌های جذبی در فرکانس‌های $1658\ cm^{-1}$ و $1535\ cm^{-1}$ و $1020 cm^{-1}$ قرار داشتند، که به ترتیب مربوط به فرکانس نوسان پیوندهای C=O و N-H و C-N هستند و وجود پیوند جدید آمینی را در ترکیب نشان می‌دهد. هم‌چنین انتقال پیک جذبی $1391\ cm^{-1}$ در طیف BSA به $1394 cm^{-1}$ در طیف BSA-FA نشان‌دهنده

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

اتصال دو مولکول است. درمحصول نهایی پیک‌های جذبی در فرکانس‌های $2927\ cm^{-1}$ و $1347\ cm^{-1}$ و $912\ cm^{-1}$ به‌ترتیب متعلق به فرکانس نوسان کششی پیوند C-H، نوسان خمشی داخل صفحه‌ای و خارج صفحه‌ای پیوند O-H حلقه آروماتیک مولکول اسید فولیک هستند و نشان می‌دهد مولکول اسید فولیک به نانوذرات طلا کانژوگه شده‌است(35،34).

اثر غلظت نانوذرات طلای هدفمند و غیرهدفمند در ایجاد سمیت بر سلول‌های HeLa

برای سنجش میزان سمیت‌زایی، نانوذرات هدفمند و غیر هدفمند در ده غلظت مختلف (از غلظت صفر به عنوان نمونه کنترل تا غلظت 45 میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌مدت 24 ساعت با سلول‌های HeLa انکوبه نمودیم. سپس سنجش MTT برای همه گروه‌ها با سه بار تکرار انجام شد و میانگین زنده مانی سلول‌ها در هر گروه با توجه به چگالی نوری (Optical Density) خوانده شده توسط دستگاه خوانش الایزا استخراج گردید (نمودار شماره 2).



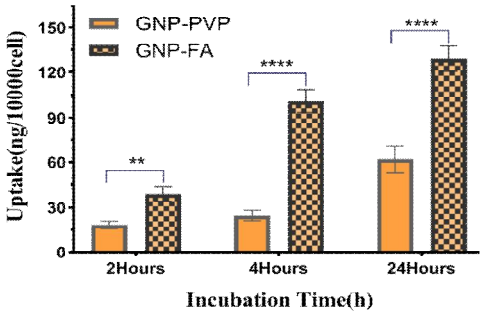
نمودار شماره 2: میزان سمیت زایی نانوذرات طلای پوشش داده شده با PVP (نمودار بالا) و اسید فولیک (نمودار پایین) در غلظت‌های مختلف بر روی سلول‌های HeLa

نتایج به‌دست آمده در نرم‌افزار GraphPad Prism وارد و از بخش Nonlinear Regression مدل [Agonist] vs. response--Find ECanything برای تحلیل پاسخ سلول به عامل بازدارنده (نانوذرات) انتخاب و غلظتی از نانوذرات که منجر به 10 درصد کاهش در پاسخ سلول گردید و توسط نرم افزار تعیین شد. کمیت IC_{10} نانوذرات طلای کانژوگه‌شده با PVP و کانژوگه شده با اسید فولیک برای سلول‌های HeLa به‌ترتیب مقادیر $18/5\pm1/5\ \mu g/ml$ و $12/0\pm1/1\ \mu g/ml$ با ضریب رگرسیون 0/97 و 0/98 به‌دست آمد. در ادامه مطالعه برای بررسی مقایسه‌ای میزان جذب و میزان حساس‌کنندگی بین نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند از غلظت غیرسمی مساوی $12\mu g/ml$ در هر دو نوع نانوذرات استفاده کردیم.

مقایسه میزان جذب نانوذرات طلای کانژوگه شده با PVP و اسید فولیک در سلول‌های HeLa

سنجش میزان جذب سلولی نانوذرات طلا توسط طیف سنجی ICP-AES با حساسیت ppb اندازه‌گیری شد. ابتدا تعداد معینی از سلول‌های HeLa در پلیت‌های 6 خانه کشت داده شد و پس از 24 ساعت دو نوع نانوذرات طلا در شرایط یکسان و با غلظت مساوی $12\ \mu g/ml$ با سلول‌ها انکوبه شدند. انکوباسیون هر یک از نانوذرات در سه بازه زمانی 2، 4 و 24 ساعت انجام شد. برای تعیین غلظت عنصر طلا در هر نمونه از طیف سنجی ICP-AES استفاده شد. با تقسیم مقدار نانوذرات داخل نمونه بر تعداد سلول‌های نمونه میزان جذب نانوذرات توسط سلول‌ها محاسبه شد. همان‌طورکه در تصویر شماره 5 مشاهده می‌شود، تفاوت میزان جذب نانوذرات طلا کانژوگه شده با اسید فولیک در سلول‌های HeLa با میزان جذب نانوذرات طلا گانژوگه شده با PVP در سلول‌های مذکور در دو ساعت اول کاملا مشهود است، در چهار ساعت میزان جذب نانوذرات طلا کانژوگه شده با اسید فولیک نسبت به جذب نانوذرات طلا گانژوگه شده با PVP بیش از 4 برابر افزایش می‌یابد و با گذشت 24 ساعت این مقدار به عدد 2 می‌رسد (نمودار شماره3).

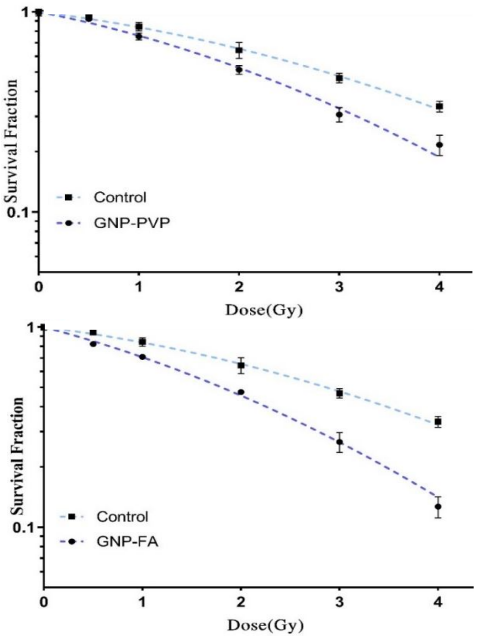
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]



نمودار شماره3: مقایسه میزان جذب نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند توسط سلول‌های HeLa در مدت زمان انکوباسیون متفاوت

منحنی بقای سلول‌های HeLa تحت تابش فوتون‌های 6 مگاولتی در حضور و عدم حضور نانوذرات طلا برپایه مدل رادیوبیولوژیکی خطی-توانی درجه 2

همان‌طورکه در بخش قبلی مشاهده شد، کسر بقای سلولی پس از پرتودهی سلول‌ها به تنهایی و هم‌چنین در مجاورت نانوذرات محاسبه شده است. اثر پرتو بر سلول به شکل منحنی دوز-پاسخ به صورت لگاریتم طبیعی کسر بقا بر حسب دوز رسم شده است (نمودار شماره4).



نمودار شماره 4: منحنی دوز-پاسخ سلول‌های HeLa تحت تابش پرتو، در حضور نانوذرات طلای کانژوگه شده با PVP (نمودار بالا) و در حضور نانوذرات طلای کانژوگه شده با اسید فولیک (نمودار پایین)

سپس منحنی بقا با استفاده از نرم‌افزار Prism GraphPad به مدل رادیوبیولوژیکی خطی-توانی درجه دو فیت شده است و ضرایب آلفا و بتای هر منحنی به‌دست آمده است (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: مقادیر ضرایب آلفا و بتا در مدل خطی-توانی درجه دو بدست آمده از منحنی بقای سلول‌های HeLa در حضور و عدم حضور نانوذرات

گروه	α	β
کنترل	0/143 ±0/044	0/035 ± 0/016
GNP-PVP	0/225 ±0/032	0/048 ±0/017
GNP-FA	0/299 ±030	0/048 ±0/016

برای مقایسه اثر نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند بر حساس‌کنندگی پرتوی سلول‌های موردنظر کمیت SER (نسبت افزایش حساسیت پرتوی) مورد استفاده قرار گرفت. مقدار کمیت SER برای نانوذرات هدفمند 1/32±0/02 و برای نانوذرات غیر هدفمند 1/19±0/02 به دست آمده است.

بحث

پرتودرمانی یکی از روش‌های درمان سرطان و مبتنی بر پرتوهای یونیزان است که برای درمان تومورهای اولیه و هم‌چنین برای جلوگیری از عود سرطان پس از برداشتن تومور اصلی با جراحی استفاده می‌شود. پرتوهای یونیزان از طریق یونیزاسیون مولکولی که منجر به ایجاد آبشاری از رادیکال‌های آزاد می‌شود به اجزای متعدد درون سلولی مانند DNA آسیب می‌رساند. اگرچه پرتوهای یونیزان در آسیب رساندن به سلول‌های توموری بسیار مؤثر است، اما بر بافت‌های سالم اطراف نیز تأثیر می‌گذارد. از این رو، کنترل دوز پرتوی تجویز شده برای به حداقل رساندن سمیت برای بافت‌های طبیعی ضروری است و استراتژی‌های جدید برای هدف‌گیری سلول‌های سرطانی برای دستیابی به پرتودرمانی خاص تومور در دست بررسی هستند. استراتژی‌های مبتنی بر استفاده از تکنولوژی‌های نوین کامپیوتری، دستگاه‌های پیشرفته، ترکیب

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

پروتکل‌های پرتودرمانی و استفاده از روش‌های ترکیبی با سایر مدالیته‌ها مثل هایپرترمیا(5-1) نیاز به استفاده از دستگاه‌ها و تجهیزات و تکنولوژی‌های پرهزینه در کلینیک را دارند. در مقابل استفاده از حساس‌کننده‌های پرتوی مثل نانوذرات فلزی(6) به دلیل زیست سازگاری، قابلیت‌های افزایش جذب سلولی و سهولت عملکرد با مولکول‌های زیستی و عوامل درمانی، در سال‌های اخیر به‌عنوان سیستم‌های تحویل داروی استثنایی ظهور کرده‌اند. استفاده از این روش برای افزایش بازده پرتودرمانی و حفاظت بافت سالم از قرار گرفتن در معرض پرتو، با چالش کم‌تر و عدم نیاز به تجهیزات گرانقیمت در مرکز درمانی نسبت به سایر استراتژی‌ها برتری دارد. علاوه بر این، خواص فیزیکوشیمیایی منحصر به فرد نانوذرات در پروتکل‌های درمانی مختلف می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد و امکان درمان‌های هم‌افزایی را فراهم کند. درپرتودرمانی خارجی نانوذرات از عناصر با عدد اتمی بالا (مانند طلا، هافنیوم، بیسموت و گادولینیوم) برای افزایش سطح مقطع جذب تشعشع استفاده می‌شود. با عملکردی کردن سطح نانوذرات با مولکول‌های هدفمند (مانند اسید فولیک، آپتامر، گلوکز و...)، می‌توان به تحویل دوز درمانی اختصاصی تومور (اصطلاحا هدفمندی فعال نامیده می‌شود) دست یافت. عملکردی کردن نانوذرات طلا با مولکول‌ها هدفمند اسید فولیک به واسطه یک لینکر انجام می‌شود. مطالعه بررسی‌های انجام شده با لینکرهای مختلف نشان می‌دهد که نوع لینکر مورد استفاده بر سمیت سلولی، میزان جذب درسلول‌ها و حساس‌کنندگی پرتوی نانوذرات طلا اثرگذار است. در یک مطالعه، از نانوذرات طلای هدفمند شده با فولیک اسید توسط لینکر 4-آمینوتیوفنول (4-aminothiophenol) برای حساس‌کنندگی پرتوی سلول‌های HeLa استفاده شد(18). نتایج این مطالعه نشان داد که هدفمند نمودن نانوذرات طلا در این روش غلظت غیر سمی این نانوذرات را نسبت به نانوذرات غیرهدفمند به شدت کاهش می‌دهد و به مقدار کم‌تر از 10 µg/ml می‌رساند. شایان توجه است که در مطالعه مذکور حساس‌کنندگی پرتوی نانوذرات طلا تحت تابش پرتوهای فوتونی اورتوولتاژ و Co-60 بررسی شده است، در حالی که امروزه سرطان دهانه رحم غالبا با فوتون‌های 6 MV پرتودرمانی می‌شود. در مطالعه دیگری نانوکلاسترهای طلا به‌واسطه‌ی لینکر BSA با مولکول‌های اسیدفولیک هدفمند شدند(19). در این مطالعه نیز اثر هدفمند نمودن نانوکریستال‌های طلا با اسید فولیک بر افزایش جذب آن نسبت به میزان جذب نانوذرات غیرهدفمند بررسی نشده است. در مطالعه‌ای که توسط نانومیله‌های طلای کانژوگه شده با اسیدفولیک به واسطه لینکرسیلیس انجام شد، در4 ساعت میزان جذب نانوذرات هدفمند نسبت به غیر هدفمند با نسبت 2/65 افزایش داشت(20). مطالعه دیگری توسط Huang و همکاران(21) نیز نشان داد که در مدت انکوباسیون 2 تا 8 ساعت میزان جذب نانوذرات هدفمند در سلول‌های MGC803 حدود 3 برابر افزایش پیدا می‌کند.

در مطالعه ما نانوذرات طلا از طریق احیای ذرات طلا توسط سیترات سدیم سنتز شدند که طیف جذبی UV-VIS و تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی آن‌ها نشاندهنده نانوذرات کروی با قطر تقریبی 50 نانومتر است. به عنوان نانوذرات غیرهدفمند نانوذرات طلا با PVP کانژوگه شد و نانوذرات هدفمند از طریق اتصال نانوذرات طلا با اسیدفولیک به‌واسطه لینکر BSA تهیه شدند و صحت اتصال فولیک اسید به نانوذرات طلا با استفاده از طیف سنجی FT-IR مورد بررسی و تایید قرار گرفت. مقادیر کمیت IC_{10} با استفاده از روش سمیت سنجی MTT برای نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند به‌ترتیب 12µg/ml و 20µg/ml به‌دست آمد. بررسی اختلاف جذب نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند در سلول‌های مورد نظر نشان داد که افزایش در جذب نانوذرات هدفمند از حدود 2 ساعت پس از انکوباسیون مشهود است و پس از 4 ساعت جذب نانوذرات هدفمند به بیش از 4 برابر جذب نانوذرات غیر هدفمند در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

سلول‌های HeLa افزایش می‌یابد. تجمع مقدار بیش‌تر نانوذرات هدفمند در سلول‌های مورد مطالعه منجر به افزایش فرآیندهای حساس‌کنندگی ناشی از نانوذرات و افزایش جذب انرژی پرتوی یونیزان در داخل سلول شد. نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد زمانی که سلول‌های مورد نظر با غلظت یکسان از نانوذرات هدفمند و غیرهدفمند انکوبه می‌شوند میزان مرگ و میر سلول‌های انکوبه شده با نانوذرات هدفمند تحت تابش پرتوهای 6MV بیش‌تر است، به‌طوری‌که نسبت حساس‌کنندگی نانوذرات هدفمند و نانوذرات غیر هدفمند به گروه کنترل (بدون نانوذرات) به ترتیب 0/02±1/32 و 0/02±1/19 به‌دست آمد. هم‌چنین کمیت α در سلول‌های HeLa تحت تابش فوتون‌های 6MV که معیاری از آسیب‌های غیر قابل ترمیم DNA می‌باشد از مقدار 0/143 در گروه بدون نانوذره به 0/225 در گروه دارای نانوذرات غیرهدفمند و 0/299 در گروه دارای نانوذرات هدفمند افزایش پیدا کرد. همان‌طورکه نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد نسبت β/α در حضور نانوذرات هدفمند در مقایسه با نانوذرات غیرهدفمند بیش‌تر افزایش پیدا کرده است که بیانگر افزایش حساسیت پرتوی سلول‌های موردنظر است(36). برمبنای نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، استفاده از نانوذرات طلای فولاته شده با لینکر BSA به میزان قابل قبولی سبب افزایش جذب نانوذرات در داخل سلول‌های HeLa نسبت به جذب نانوذرات غیرهدفمند می‌شود که دلیل آن می‌تواند کانژوگاسیون موثر مولکول‌های فولیک اسید به واسطه لینکر BSA به‌دلیل فراوانی تعداد گروه‌های آمین در هر یک از مولکول‌های BSA باشد و می‌تواند منجر به بارگیری تعداد بیش‌تری از مولکول‌های فولیک اسید شود. البته برای تعیین جزئیات بیش‌تر، اندازه‌گیری مقدار اسید فولیک بارگیری شده روی لینکر BSA ضروری است و می‌توان با بررسی‌های بیش‌تری به نتیجه‌گیری دقیق‌تری دست یافت. در نهایت نتیجه‌گیری می‌شود که با استفاده از غلظت غیرسمی نانوذرات هدفمند می‌توان اثر کشندگی پرتوهای یونیزان در مقایسه با بکارگیری نانوذرات غیرهدفمند با همان غلظت افزایش داد و با استفاده از دوزهای کنترل شده در پرتودرمانی موفق به مهار بیش‌تر رشد سلول‌های سرطانی و در عین حال کاهش آسیب به بافت‌های سالم شد. با توجه به هزینه پایین، زیست سازگاری و در دسترس بودن ماده BSA و همچنین سهولت تهیه نانوذرات طلا و امکان استفاده از حساس‌کننده‌ها در رادیوتراپی بالینی با کم‌ترین هزینه و تجهیزات می‌توان از این ماده به عنوان لینکر برای اتصال اسید فولیک به نانوذرات طلا استفاده کرد و از مزایای درمان هدفمند در سلول‌های HeLa در پرتودرمانی بالینی با فوتون‌های 6MV بهره برد.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب یک طرح پژوهشی رساله دکتری فیزیک پزشکی با اعتبارات تخصیص یافته از دانشگاه تربیت مدرس و هم‌چنین صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (به شماره: 98016816) مصوب شورای پژوهشی دانشگاه و صندوق به تصویب رسیده و انجام شده است. کد اخلاق در پژوهش این مطالعه (کد: IR.MODARES.REC.1398.036) نیز از کمیته دانشگاهی/منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه تربیت مدرس دریافت و در سامانه ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی (https://ethics.research.ac.ir) نیز ثبت شده است.

References

1. Rezaeijo SM, Hashemi B, Mofid B, Bakhshandeh M, Mahdavi A, Hashemi MS. The feasibility of a dose painting procedure to treat prostate cancer based on mpMR images and hierarchical clustering. Radiat Oncol 2021; 16(1): 182.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

2. Moradi S, Hashemi B, Bakhshandeh M, Banaei A, Mofid BJRO. Introducing new plan evaluation indices for prostate dose painting IMRT plans based on apparent diffusion coefficient images. Radiat Oncol 2022; 17(1): 193.
3. Rezaeijo S, Hashemi B, Mofid B, Bakhshandeh M, Rostami A ,Molana S. Comparison of various common whole pelvic radiotherapy (WPRT) and local radiotherapy (LRT) procedures to treat prostate cancer based on dosimetric parameters and radiobiological models. Int J Radiat Res 2021; 19(4): 843-852.
4. Sharbo G, Hashemi B, Bakhshandeh M, Rakhsha AJJoRi P. Radiobiological assessment of nasopharyngeal cancer IMRT using various collimator angles and non-coplanar fields. J Radiother Pract 2021; 20(2): 168-175.
5. Hatamian M, Hashemi B, Mahdavi SR, Soleimani M, Khalafi L. Therapeutics. Effect of 13.56 MHz radiofrequency hyperthermia on mitotic cell cycle arrest in MCF7 breast cancer cell line and suggest a time interval for radiotherapy. J Cancer Res Ther 2023; 19(2): 447-451.
6. Hashemi B, Amini Kadijani B, Mahdavi SR, Soleimani M. Evaluation of the Radiosensitization effect of Gold and Hafnium Oxide Nanoparticles on HeLa Cancer Cells under 6 MV Photon Radiation. AOCMP-2021, 21st Asia-Oceania Congress of Medical Physics; United International University (UIU), Dhaka, Bangladesh; 10-12 December 2021.
7. Le Tourneau C, Calugaru V, Takacsi-Nagy Z, Liem X, Papai Z, Fijuth J, et al. Phase I study of functionalized hafnium oxide nanoparticles (NBTXR3) activated by radiotherapy in cisplatin-ineligible locally advanced HNSCC patients. Int J Radiat Oncol Biol 2021; 111(3): 392.
8. Wang H, Mu X, He H, Zhang X-D. Cancer radiosensitizers. Trends Pharmacol Sci 2018; 39(1): 24-48.
9. Tsai S-W, Lo C-Y, Yu S-Y, Chen F-H, Huang H-C, Wang L-K, et al. Gold Nanoparticles Enhancing Generation of ROS for Cs-137 Radiotherapy. Nanoscale Res Lett 2022; 17(1): 123.
10. Her S, Jaffray DA, Allen CJAddr. Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: Mechanisms and recent advancements. Adv Drug Deliv Rev 2017; 109: 84-101.
11. Tremi I, Spyratou E, Souli M, Efstathopoulos EP, Makropoulou M, Georgakilas AG, et al. Requirements for designing an effective metallic nanoparticle (NP)-boosted radiation therapy (RT). Cancers 2021; 13(13): 3185.
12. Barreto JA, O'Malley W, Kubeil M, Graham B, Stephan H, Spiccia LJAm. Nanomaterials: applications in cancer imaging and therapy. Adv Mater 2011; 23(12): H18-H40.
13. Salvati A, Pitek AS, Monopoli MP, Prapainop K, Bombelli FB, Hristov DR, et al. Transferrin-functionalized nanoparticles lose their targeting capabilities when a biomolecule corona adsorbs on the surface. Nat Nanotechnol 2013; 8(2): 137-143.
14. Shen H, Huang H, Jiang ZJFiP. Nanoparticle-based radiosensitization strategies for improving radiation therapy. Front Pharmacol 2023; 14: 310.
15. Haume K, Rosa S, Grellet S, Śmiałek MA, Butterworth KT, Solov'yov AV, et al. Gold nanoparticles for cancer radiotherapy: a review. Cancer Nanotechnol 2016; 7(1): 8.
16. Mehrnia SS, Hashemi B, Mowla SJ, Nikkhah M, Arbabi AJRO. Radiosensitization of

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

breast cancer cells using AS1411 aptamer-conjugated gold nanoparticles. Radiat Oncol 2021; 16: 33.

17. Chen Y, Yang J, Fu S, Wu JJIJon. Gold nanoparticles as radiosensitizers in cancer radiotherapy. Int J Nanomedicine 2020: 9407-9430.
18. Khoshgard K, Hashemi B, Arbabi A, Rasaee MJ, Soleimani M. Radiosensitization effect of folate-conjugated gold nanoparticles on HeLa cancer cells under orthovoltage superficial radiotherapy techniques. Phys Med Biol 2014; 59(9): 2249-2263.
19. Kefayat A, Ghahremani F, Motaghi H, Amouheidari A. Biology, Medicine. Ultra-small but ultra-effective: Folic acid-targeted gold nanoclusters for enhancement of intracranial glioma tumors' radiation therapy efficacy. Nanomedicine 2019; 16: 173-184.
20. Gao B, Shen L, He KW, Xiao WH. GNRs@ SiO_2-FA in combination with radiotherapy induces the apoptosis of HepG2 cells by modulating the expression of apoptosis-related proteins. Int J Mol Med 2015; 36(5): 1282-1290.
21. Huang P, Bao L, Zhang C, Lin J, Luo T, Yang D, et al. Folic acid-conjugated silica-modified gold nanorods for X-ray/CT imaging-guided dual-mode radiation and photo-thermal therapy. Biomaterials 2011; 32(36): 9796-9809.
22. Chandra V, Tiwari A, Pant KK, Bhatt R. Animal Cell Culture: Basics and Applications. In: Industrial Microbiology and Biotechnology. Singapore: Springer; 2022. p. 691-719.
23. Turkevich J, Stevenson PC, Hillier JJDotFS. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. Discuss Faraday Soc 1951; 11: 55-75.
24. Mahl D, Greulich C, Meyer-Zaika W, Köller M, Epple M. Gold nanoparticles: dispersibility in biological media and cell-biological effect. J Mater Chem 2010; 20(29): 6176-6181.
25. Zhou M ,Wang B, Rozynek Z, Xie Z, Fossum JO, Yu X, et al. Minute synthesis of extremely stable gold nanoparticles. Nanotechnology 2009; 20(50): 505606.
26. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. Nat Phys Sci 1973; 241(105): 20-22.
27. Abhari F, Charmi J, Rezaeejam H, Karimimoghaddam Z, Nosrati H, Danafar H, et al. Folic acid modified bismuth sulfide and gold heterodimers for enhancing radiosensitization of mice tumors to X-ray radiation. ACS Sustain Chem Eng 2020; 8(13): 5260-5269.
28. Nosrati H, Abbasi R, Charmi J, Rakhshbahar A, Aliakbarzadeh F, Danafar H, et al. Folic acid conjugated bovine serum albumin: An efficient smart and tumor targeted biomacromolecule for inhibition folate receptor positive cancer cells. Int J Biol Macromol 2018; 117: 1125-1132.
29. Robertson JD, Rizzello L, Avila-Olias M, Gaitzsch J, Contini C, Magoń MS, et al. Purification of nanoparticles by size and shape. Sci Rep 2016; 6: 27494.
30. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Principles of instrumental analysis. 7th ed. New York: Cengage Pub; 2017.
31. Tolosa L, Donato MT, Gómez-Lechón MJ. General cytotoxicity assessment by means of the MTT assay. Protocols in in vitro hepatocyte research. Methods Mol Biol 2015; 1250: 333-348.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

32. Sharma I. ICP-OES: an advance tool in biological research. J Environ Biol 2020; 5(1): 027-033.
33. Rafehi H, Orlowski C, Georgiadis GT, Ververis K, El-Osta A, Karagiannis TC. Clonogenic assay: adherent cells. J Vis Exp 2011; (49): 2573.
34. Ma N, Liu J, He W, Li Z, Luan Y, Song Y, et al. Folic acid-grafted bovine serum albumin decorated graphene oxide: an efficient drug carrier for targeted cancer therapy. J Colloid Interface Sci 2017; 490: 598-607.
35. Retnakumari A, Setua S, Menon D, Ravindran P, Muhammed H, Pradeep T, et al. Molecular-receptor-specific, non-toxic, near-infrared-emitting Au cluster-protein nanoconjugates for targeted cancer imaging. Nanotechnology 2009; 21(5): 055103.
36. Rashid RA, Razak KA, Geso M, Abdullah R, Dollah N, Rahman WJB. Radiobiological characterization of the radiosensitization effects by gold nanoparticles for megavoltage clinical radiotherapy beams. BioNanoScience 2018; 8(3): 713-722.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]