

بررسی اثر درمانی تابش پرتوی ایکس ۶ مگا الکترون ولت در حضور نانوذرات بر روی ردهی سلولی HeLa

احمد شائنی^۱، هادی اکبری زاده^۲، حمید فخری کبیر^۳، ندا عطاران^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه، استفاده از روش‌های ترکیبی برای افزایش بازده درمان جهت تخریب بافت سرطانی مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این روش‌ها، استفاده از پرتوهای ایکس در حضور نانوذرات می‌باشد. در این پژوهش، به بررسی تأثیر تابش پرتوهای ایکس ۶ مگا الکترون ولت (MV) در حضور نانوذرات طلا بر میزان مرگ سلول‌های HeLa پرداخته شد.

روش‌ها: سلول‌های توموری HeLa پس از کشت به چهار گروه شامل گروه شاهد، گروه نانوذرات طلا، گروه تابش پرتوی ایکس و گروه تابش در حضور نانوذرات تقسیم شدند. در گروه شاهد، هیچ گونه مداخله‌ای انجام نشد. در گروه نانوذرات طلا، سلول‌ها با غلظت‌های ۰/۲، ۱ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. در گروه تابش اشعه‌ی ایکس، سلول‌ها تحت تابش پرتوی ایکس با انرژی ۶ مگا الکترون ولت در دزهای ۰/۵، ۱ و ۲ گری قرار گرفتند. در گروه تابش ایکس در حضور نانوذرات، ابتدا سلول‌ها ۲۴ ساعت توسط نانوذرات تیمار شدند و سپس، تحت تابش پرتوی ایکس تحت همان شرایط قرار گرفتند. سپس، درصد بقای سلول‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از روش MTT در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از مداخله مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: درصد بقای سلول‌های HeLa در گروه پرتوی ایکس در حضور نانوذرات طلا در غلظت‌های مختلف نسبت به گروه شاهد در هر دو زمان تا ۵۰ درصد کاهش یافت. با افزایش غلظت در یک دز مشخص، بقای سلولی می‌تواند تا ۱۵ درصد جا به جا شود، اما در غلظت یکسان، مقدار دز ۲ گری تفاوت معنی‌داری با سایر دزها داشت.

نتیجه‌گیری: میزان بقای سلول‌های HeLa هنگام تابش پرتوی ایکس در حضور نانوذرات طلا، کاهش معنی‌داری داشت و می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که استفاده‌ی هم‌زمان از نانوذرات طلا و اشعه‌ی ایکس، مرگ سلولی را افزایش می‌دهد و نانوذرات اثرات حساس‌کنندگی دارند.

واژگان کلیدی: نانوذرات، درمان با پرتوی ایکس، سلول‌های HeLa

ارجاع: شائنی احمد، اکبری زاده هادی، فخری کبیر حمید، عطاران ندا. بررسی اثر درمانی تابش پرتوی ایکس ۶ مگا الکترون ولت در حضور نانوذرات

بر روی ردهی سلولی HeLa. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۸۰): ۵۳۴-۵۳۰

یکی از چالش‌های مهم کار با پرتوهای یونیزان، اثرات جانبی آن می‌باشد (۳). امروزه، محققین برای کاهش اثرات جانبی پرتوهای یونیزان و افزایش حساسیت در بافت سرطانی، استفاده از مواد حساس‌کننده را پیشنهاد می‌کنند. این مواد، در حضور تابش امواج، باعث تشدید اثر ضد سرطانی می‌شوند (۴). نانوذرات، موادی هستند که قادرند، نقش مواد حساس‌کننده را در هنگام تابش امواج ایفا نمایند. نانوذرات طلا، به دلیل بعضی خصوصیات نظیر سنتز راحت، زیست‌سازگاری بالا و افزایش دمای

مقدمه

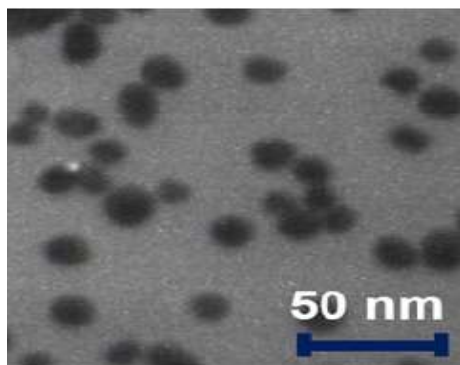
در دنیای امروز، سرطان روز به روز در حال افزایش می‌باشد و زندگی افراد بسیاری را از جهات مختلف، تحت‌الشعاع قرار می‌دهد. برای مقابله با سرطان، روش‌های درمانی متعددی وجود دارد که این درمان‌ها با توجه به نوع و مرحله‌ی سرطان و میزان درگیری سایر اعضا صورت می‌گیرد (۱). یکی از درمان‌های متداول سرطان، پرتودرمانی می‌باشد. در این روش، پرتوهای یونیزان برای از بین بردن سلول‌های سرطانی به کار می‌رود (۲).

۱- دانشیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی دکتری، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

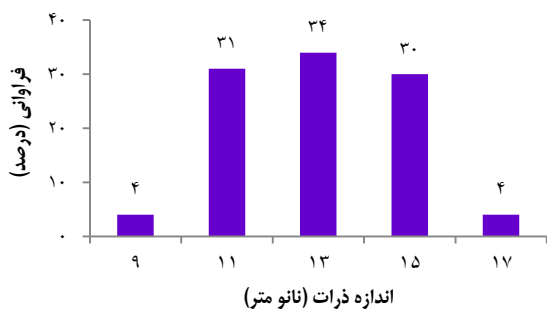
۴- استادیار، مرکز تحقیقات بیوفوتونیک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران



شکل ۱. تصویر Transmission electron microscopy

(TEM) از نانوذرات طلا

سنجش بقای سلولی: ماده‌ی [3-4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyl Tetrazolium bromide (MTT) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و با استفاده از PBS ساخته شد و سپس، با استفاده از محیط کشت بدون FBS، به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از برداشتن محیط کشت و شستن سلول‌ها با PBS، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک‌ها ریخته شد و به مدت ۳ ساعت دوباره انکوبه گردید. پس از آن، با برداشتن ماده‌ی MTT و اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر ماده‌ی Dimethyl sulfoxide (DMSO) به آن، با استفاده از دستگاه Enzyme linked immunosorbent assay reader (ELISA reader) و با طول موج ۵۷۰ نانومتر، میزان جذب نوری آن خوانده شد.



شکل ۲. توزیع اندازه‌ی نانوذرات طلا

روش انجام آزمایش: سلول‌ها بعد از کاشت در چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای، به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند تا به سطح چاهک‌ها بچسبند. سپس، نانوذراتی با غلظت‌های ۰/۲، ۱ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به آن‌ها اضافه گردید و دوباره به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از آن، با خارج کردن محیط کشت و شستن آن با PBS و اضافه کردن محیط کشت تازه، مورد تابش پرتوی ایکس قرار گرفت و میزان بقا برای گروه‌های مختلف در ۲۴

سریع در مدت چند نانوثانیه بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۵-۸). در برهم‌کنش پرتوهای یونیزان با مواد مختلف، بسته به انرژی پرتو و عدد اتمی ماده، می‌تواند یکی از برهم‌کنش‌های فوتوالکتریک، کامپتون و تولید جفت رخ دهد که به غیر از اثر کامپتون که با عدد اتمی تغییر نمی‌کند، سایر برهم‌کنش‌ها تحت تأثیر عدد اتمی می‌باشند و می‌توانند به علت جذب نانوذرات، اثر تقویت‌کنندگی داشته باشند (۹). با توجه به استفاده از انرژی ۶ مگا الکترون ولت (MV) به صورت متداول در پرتودرمانی (۱)، هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات حساس‌کنندگی نانوذرات طلا به همراه پرتوی ایکس بر روی رده‌ی سلولی HeLa بود.

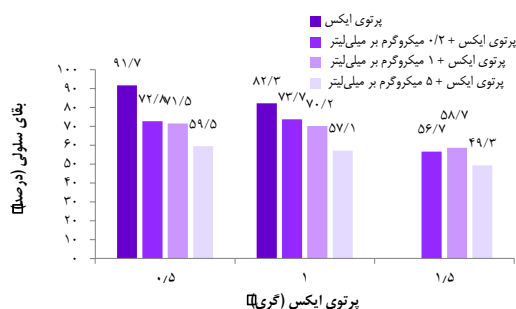
روش‌ها

کشت سلول: سلول‌های HeLa از انستیتو پاستور تهران تهیه گردید و در محیط کشت Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) با گلوکز بالا با ۱۰ درصد (FBS) Fetal bovine serum و ۱ درصد Pen-strep در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد CO₂ در فلاسک T25 کشت داده شدند و سپس، با Phosphate buffered saline (PBS) شسته و با تریپسین از سطح فلاسک جدا شدند. تعداد ۴۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ی Sorfa کاشته شد و بعد از ۲۴ ساعت قرارگیری مجدد در انکوباتور، مرحله‌ی مداخله‌ی نانوذرات و پرتوی ایکس شروع شد.

سنتر نانو ذرات طلا: برای سنتز نانوذرات طلا، در ابتدا مخلوطی حاوی ۵ میلی‌لیتر نمک طلا (۰/۲ w/w درصد) HAuCl₄ و ۹۰ میلی‌لیتر آب تحت شرایط رفلکس و در حال هم زدن قرار داده شد. سپس، مقدار ۵ میلی‌لیتر سدیم سیترات تری‌هیدرات C₆H₅Na₃O₇·2H₂O (۱ w/w درصد) به سرعت به آن اضافه گردید. به دنبال آن، رنگ زرد محلول شروع به تغییر به رنگ قرمز کرد. بعد از تغییر رنگ کامل محلول، به میزان ۱۵ دقیقه‌ی دیگر تحت رفلکس قرار داده شد تا به دمای اتاق رسید (۱۰). با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (Transmission electron microscopy) یا TEM) و پراکندگی نور دینامیکی (Dynamic light scattering) یا (DLS)، اندازه‌ی نانوذرات طلا در حدود ۱۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. تصویر TEM و توزیع اندازه‌ی نانوذرات طلا در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

تابش پرتوی ایکس: تابش پرتوی ایکس بر روی سلول‌ها با استفاده از شتاب دهنده‌ی خطی Siemens در مرکز پرتودرمانی بیمارستان میلاد اصفهان با انرژی ۶ مگا الکترون ولت و میدان ۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر مربع در دزهای ۰/۵، ۱ و ۲ گری و در Source to skin distance (SSD) صورت گرفته است (۱۱).

سلولی در بیشتر موارد ثابت مانده یا اندکی با گذشت زمان افزایش داشته است.



شکل ۴. اثر تابش پرتوی ایکس در حضور نانوذرات طلا، ۴۸ ساعت پس از مداخله

بحث

چالش‌های موجود در درمان و تخریب سلول‌های سرطانی توسط پرتوهای یونیزان، از جمله اثرات جانبی این پرتوها بر روی بافت‌ها و سلول‌های سالم اطراف تومور، محققان را بر آن داشته است که به دنبال روش‌هایی باشند تا بتوان هم‌زمان با افزایش اثرات تخریبی روی سلول‌های سرطانی، اثرات جانبی بر روی سلول‌های اطراف را کاهش دهند. یکی از راه‌های مورد استفاده برای این منظور، کاربرد نانوذرات می‌باشد. مطالعات متنوعی بر روی نانوذرات طلا صورت گرفته است که با وجود عدم بررسی تمامی مکانیسم‌های بیولوژیکی ممکن برای حساس‌کنندگی پرتویی این نانوذرات تا به امروز، مکانیسم‌های متفاوتی مانند متوقف کردن سلول در حساس‌ترین مرحله چرخه تکثیر سلولی (مرحله G_2/M) به پرتو، تولید رادیکال‌های آزاد نظیر گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive oxygen species یا ROS)، قطع سیتوکینزی و افزایش برهم‌کنش با پرتوی ایکس (فوتو الکتریک، تولید جفت) به علت عدد اتمی بالای آن نسبت به بافت سرطانی، برای آن ذکر شده است (۱۲-۱۳). این اثرات به غلظت و اندازه‌ی نانوذرات و پوشش نانوذرات وابسته است. Chithrani و همکاران، افزایش حساس‌کنندگی نانوذرات و کاهش بقای سلول‌های HeLa را در انرژی ۶ مگا الکترون ولت ناشی از متوقف کردن سلول در مرحله G_2/M و تولید گونه‌های اکسیژن فعال گزارش کرده‌اند (۱۴).

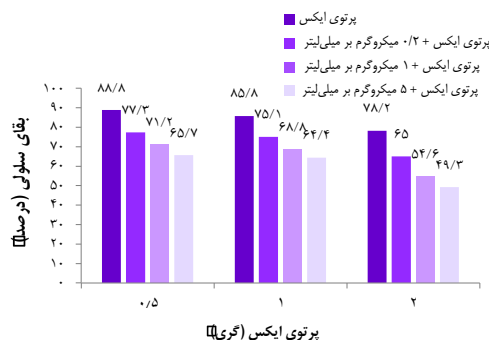
سمیت غلظت نانوذرات به کار رفته بر روی سلول‌های HeLa در حدود ۵ درصد بود که سایر پژوهش‌های انجام شده، تأیید کننده‌ی این مطلب است؛ به طوری که در مطالعه‌ی Liu و همکاران، غلظت‌های زیر ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سمیتی کمتر از ۸ درصد در ۲۴ ساعت داشته است که با یافته‌های این مطالعه، هم‌خوانی دارد (۱۵). با افزایش دز در یک غلظت معین، میزان بقا نیز کاهش می‌یابد که

۴۸ ساعت بعد، با استفاده از نمک MTT بررسی شد (۶).

واکاوی آماری: تمامی مراحل آزمایش حداقل ۳ بار تکرار گردید و اعداد به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون One-way ANOVA در سطح معنی‌داری $P < 0/05$ مورد واکاوی قرار گرفت. نرمال بودن داده‌ها نیز با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

تمامی غلظت‌های نانوذرات طلای مورد استفاده در این آزمایش، دارای سمیت بسیار پایین (حدود ۵ درصد) بودند؛ به گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان نداد. شکل ۳، اثرات تابش پرتوی ایکس در حضور نانوذرات طلا را بعد از ۲۴ ساعت نشان داد. از این نتایج، می‌توان دریافت که اثر ترکیب این دو، باعث کاهش بقای سلول‌ها در تمامی دزها در مقایسه با گروه پرتوی ایکس شده است. همچنین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش غلظت نانوذرات، باعث مرگ سلولی بیشتری نیز می‌گردد که بیشترین اثر را غلظت نانوذرات ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و دز ۲ گری دارا می‌باشد.



شکل ۳. اثر تابش پرتوی ایکس در حضور نانوذرات طلا، ۲۴ ساعت پس از مداخله

نتایج ترکیب تابش پرتوی ایکس در حضور نانوذرات طلا بعد از ۴۸ ساعت در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، همانند زمان ۲۴ ساعت، بقای گروه ترکیبی کمتر از گروه تابش پرتوی ایکس می‌باشد؛ اما اثر غلظت در یک انرژی مشخص، فقط در غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ظاهر می‌شود و دو غلظت دیگر، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. همچنین، از مقایسه‌ی میزان بقا در یک غلظت مشخص، می‌توان دریافت که به طور تقریبی تنها دز ۲ گری تفاوت معنی‌داری با دو دز دیگر در هر دو زمان داشته است. از طرفی، از مقایسه‌ی بقای سلولی در شرایط یکسان آزمایش در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت نیز مشخص می‌شود که بقای

از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ردهی سلولی BAECs و انرژی ۸۰ کیلو الکترون ولت (kVp) باشد؛ چرا که تأثیر هم‌زمان این غلظت و دز، منجر به افزایش تعداد برهم‌کنش‌های پرتوی ایکس (فوتوالکتریک) می‌شود (۱۷).

با توجه به بروز اثر حساس‌کنندگی نانوذرات طلا در انرژی ۶ مگا الکترون ولت، نتایج این مطالعه می‌تواند توجه پژوهشگران را در قسمت درمان سرطان، که به دنبال یافتن راه‌های جدیدی برای کاهش عوارض جانبی درمان و افزایش اثربخشی هستند، به خود جلب کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۶۲۰۴ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. بدین وسیله، از مسؤولین و کارکنان محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی سپاسگزاری می‌گردد.

بیشترین مقدار کاهش با توجه به دزهای به کار رفته در مطالعه، از ۰/۵ گری به ۲ گری و در غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در حدود ۲۰ درصد بوده است. Jain و همکاران نیز نشان داده‌اند که افزایش اثرات حساس‌کنندگی نانوذرات طلا در یک غلظت مشخص در دزهای بیش از ۲ گری انرژی ۶ مگا الکترون ولت رخ می‌دهد. حساس‌کنندگی کمتر در دزهای مشابه این دو مطالعه، می‌تواند به علت استفاده از ردهی سلولی DU 145 و همچنین، اندازه‌ی ۲ نانومتر به جای HeLa و ۱۳ نانومتر باشد (۱۶).

اضافه کردن نانوذرات به یک دز معین، می‌تواند باعث کاهش بقای سلولی تا ۳۰ درصد نسبت به تابش ایکس به تنهایی شود که تغییر غلظت، سهم ۱۵ درصدی در میزان بقا دارد. نتایج پژوهش Rahman و همکاران نیز نشان می‌دهد که با افزایش غلظت، اثرات حساس‌کنندگی افزایش می‌یابد، اما اثرات دو برابری حساس‌کنندگی نانوذرات در این مطالعه، می‌تواند به علت استفاده از غلظت‌های بالاتر

References

- Khan FM, Gibbons JP. Khan's the physics of radiation therapy. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2014.
- Her S, Jaffray DA, Allen C. Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: Mechanisms and recent advancements. *Adv Drug Deliv Rev* 2017; 109: 84-101.
- Sperling RA, Rivera GP, Zhang F, Zanella M, Parak WJ. Biological applications of gold nanoparticles. *Chem Soc Rev* 2008; 37(9): 1896-908.
- Chang MY, Shiao 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. *Cancer Sci* 2008; 99(7): 1479-84.
- Zhang XD, Wu D, Shen X, Chen J, Sun YM, Liu PX, et al. Size-dependent radiosensitization of PEG-coated gold nanoparticles for cancer radiation therapy. *Biomaterials* 2012; 33(27): 6408-19.
- Shanei A, Tavakoli MB, Salehi H, Ebrahimi-Fard A. Evaluating the effects of ultrasound waves on MCF-7 cells in the presence of AG nanoparticles. *J Isfahan Med Sch* 2016; 34(389): 763-8. [In Persian].
- Sazgarnia A, Shanei A, Taheri AR, Meibodi NT, Eshghi H, Attaran N, et al. Therapeutic effects of acoustic cavitation in the presence of gold nanoparticles on a colon tumor model. *J Ultrasound Med* 2013; 32(3): 475-83.
- Sazgarnia A, Shanei A, Meibodi NT, Eshghi H, Nassirli H. A novel nanosensitizer for sonodynamic therapy: in vivo study on a colon tumor model. *J Ultrasound Med* 2011; 30(10): 1321-9.
- Kaur H, Pujari G, Semwal MK, Sarma A, Avasthi DK. In vitro studies on radiosensitization effect of glucose capped gold nanoparticles in photon and ion irradiation of HeLa cells. *Nucl Instrum Met hods Phys Res B* 2013; 301: 7-11.
- Anshup A, Venkataraman JS, Subramaniam C, Kumar RR, Priya S, Kumar TR, et al. Growth of gold nanoparticles in human cells. *Langmuir* 2005; 21(25): 11562-7.
- Khoei S, Mahdavi SR, Fakhimikabir H, Shakeri-Zadeh A, Hashemian A. The role of iron oxide nanoparticles in the radiosensitization of human prostate carcinoma cell line DU145 at megavoltage radiation energies. *Int J Radiat Biol* 2014; 90(5): 351-6.
- Kong T, Zeng J, Wang X, Yang X, Yang J, McQuarrie S, et al. Enhancement of radiation cytotoxicity in breast-cancer cells by localized attachment of gold nanoparticles. *Small* 2008; 4(9): 1537-43.
- Khoshgard K, Hashemi B, Arbabi A, Rasaei 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): 2249-63.
- Chithrani DB, Jelveh S, Jalali F, van Pooijien M, Allen C, Bristow RG, et al. Gold nanoparticles as radiation sensitizers in cancer therapy. *Radiat Res* 2010; 173(6): 719-28.
- Liu Y, Liu X, Jin X, He P, Zheng X, Dai Z, et al. The dependence of radiation enhancement effect on the concentration of gold nanoparticles exposed to low- and high-LET radiations. *Phys Med* 2015; 31(3): 210-8.
- Jain S, Coulter JA, Hounsell AR, Butterworth KT, McMahon SJ, Hyland WB, et al. Cell-specific radiosensitization by gold nanoparticles at megavoltage radiation energies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 79(2): 531-9.
- Rahman WN, Bishara N, Ackerly T, He CF, Jackson P, Wong C, et al. Enhancement of radiation effects by gold nanoparticles for superficial radiation therapy. *Nanomedicine* 2009; 5(2): 136-42.

Evaluation of the Therapeutic Effect of 6-MV X-Ray Radiation on HeLa Cells, in the Presence of Nanoparticles

Ahmad Shanei¹, Hadi Akbari-Zadeh², Hamid Fakhimikabir³, Neda Attaran⁴

Original Article

Abstract

Background: Today, the use of a combination methods to increase the effectiveness of treatment is considered very much. One of these methods is the use of X-rays in the presence of nanoparticles. In this study, the effect of 6-MV X-ray radiation on the viability of HeLa cells, in the presence of gold nanoparticles, was investigated.

Methods: HeLa cells were cultured and divided in four groups including control, gold nanoparticle, X-ray, and X-ray in presence of gold nanoparticle. In the gold nanoparticle group, the cells were incubated with 0.2, 1, and 5 µg/ml for 24 hours. In the X-ray group, the cells were exposed to X-ray with energy of 6 MV, and doses of 0.5, 1, and 2 Gy. In the group of X-ray in presence of nanoparticles, the cells were first incubated with nanoparticles for 24 hours, and then exposed to X-ray radiation under the same conditions. The viability of cells was measured using MTT assay at 24 and 48 hours after the intervention.

Findings: In the group of X-ray in the presence of nanoparticles, the viability of the HeLa cells reduced up to 50% at both 24 and 48 hours, in different concentrations. With the increase in concentration in a certain dose, cell survival could change up to 15%, but dose change was only significant in 2 Gy compared to other doses.

Conclusion: The viability of the HeLa cells during X-ray radiation, in the presence of gold nanoparticles, has a significant reduction. It can be concluded that simultaneous use of gold nanoparticles and X-ray increases cell death.

Keywords: Nanoparticles, X-ray therapy, HeLa cells

Citation: Shanei A, Akbari-Zadeh H, Fakhimikabir H, Attaran N. **Evaluation of the Therapeutic Effect of 6-MV X-Ray Radiation on HeLa Cells, in the Presence of Nanoparticles.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(480): 530-4.

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

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

3- PhD Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Applied Biophotonics Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Hadi Akbari-Zadeh, Email: hadi.akbari.zadeh@gmail.com