

بررسی ویژگی‌های رادیوبیولوژیک سلول‌های طبیعی ریه‌ی بیمار شده با نانوساختارهای سریم اکساید به عنوان حفاظت‌کننده‌ی پرتویی در برابر پرتوهای ایکس مورد استفاده در پرتودرمانی

محمدحسین زارع^۱، اکرم آستانی^۲، نورالدین عبدی قوشبلاغ^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نانوذرات سریم اکساید یا نانوسریم به عنوان محافظ پرتویی، می‌توانند نقش مهمی در کاهش ناهنجاری‌های پرتوهای یونیزان داشته باشند. هدف از انجام این مطالعه، کاهش مرگ و میر سلول‌های طبیعی ریه در برابر تابش‌های فوتونی با انرژی ۶ مگاولت توسط نانوسریم بود تا با شناسایی غلظت بهینه‌ی نانوسریم بتوان از آن در پرتودرمانی استفاده کرد.

روش‌ها: سوسپانسیون نانوسریم با استفاده از الکل اتیلک ۷۰ درصد استریل شد. به منظور بهینه‌سازی توزیع نانوذرات در محیط آبی، سوسپانسیون تهیه شده به مدت ۳ دقیقه توسط دستگاه Vortex به هم زده شد و سپس، به مدت ۲ ساعت توسط امواج فراصوت سونیکاتور حمامی سونیکاسیون انجام شد. سلول‌های MRC-5 در محیط Dulbecco's modified eagle medium/F12 (DMEM/F12) کشت و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوباتور با رطوبت زیاد قرار داده شدند. به منظور تعیین غلظت غیر سمی نانوسریم، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ۵، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰، ۱۱۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار از نانوسریم تیمار شدند. کمی‌سازی اثر حفاظت پرتویی نانوسریم در غلظت غیر سمی از نانوسریم با دزهای تابشی ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ سانتی‌گری از پرتوهای ایکس مگاولتاژ انجام گرفت.

یافته‌ها: غلظت ۷۰ میکرومولار و غلظت‌های پایین، سمیتی برای سلول‌های MRC-5 نداشتند؛ به طوری که میانگین درصد بقای سلولی در این غلظت از نانوسریم برابر با $2/56 \pm 89/40$ بود. سلول‌های MRC-5 در حضور ۷۰ میکرومولار از نانوسریم در برابر دزهای تابشی ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ سانتی‌گری، نسبت به گروه شاهد، حفاظت پرتویی معنی‌داری داشتند ($P > 0/005$).

نتیجه‌گیری: استفاده از نانوذرات سریم اکساید، می‌تواند منجر به افزایش صحت درمان و کاهش اثرات ثانویه در پرتودرمانی شود.

واژگان کلیدی: پرتودرمانی، حفاظت پرتویی، نانوسریم، رادیوبیولوژی

ارجاع: زارع محمدحسین، آستانی اکرم، عبدی قوشبلاغ نورالدین. بررسی ویژگی‌های رادیوبیولوژیک سلول‌های طبیعی ریه‌ی بیمار شده با نانوساختارهای سریم اکساید به عنوان حفاظت‌کننده‌ی پرتویی در برابر پرتوهای ایکس مورد استفاده در پرتودرمانی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۸۱): ۵۸۷-۵۸۱

مقدمه

تابش‌گیری افراد از چشمه‌های رادیواکتیو و همچنین، استفاده از تابش‌های یونیزان در درمان و تشخیص با اهداف پزشکی، منجر به افزایش آثار کارسینوژنیک تابش در دهه‌ی گذشته شده است (۱). در اثر تابش و فرایند رادیولیز آب توسط پرتوهای یونیزان، رادیکال آزاد ایجاد می‌شود که این رادیکال‌های آزاد، با مولکول‌های DNA واکنش می‌دهد و منجر به جهش در DNA و حتی مرگ سلولی می‌شود. به طور تقریبی، ۱ گری اشعه می‌تواند باعث ایجاد

۴۰ شکست دو رشته‌ای شود. در پرتودرمانی هدفمند (Targeted radiotherapy) حفاظت‌کننده‌ها و حساس‌کننده‌های پرتویی منجر به تعدیل آسیب رادیکال‌های آزاد می‌شود (۲-۴). علت اصلی استفاده از نانوذرات به عنوان حفاظت‌کننده‌ی پرتویی، نیمه‌عمر بلند آن‌ها در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و ترکیبات حاوی توپل‌ها (Toils) می‌باشد. در صورت کوتاه بودن نیمه‌عمر داروی حفاظت پرتویی مورد استفاده (مثل آمیفوستین)، بایستی دز تجویزی دارو به بیمار را افزایش داد. نانوذرات سریم

۱- استادیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۲- استادیار، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

اکساید، علاوه بر این که ویژگی‌های کلی نانوذرات حفاظت کننده نظیر جاروبگر رادیکال‌های آزاد، زیست‌سازگاری، سمیت کمتر و توزیع بیولوژیک مطلوب را دارد، خاصیت خود احیا کنندگی از ویژگی‌های مهم نانوسریا (Nanoceria) می‌باشد (۸-۵)؛ به طوری که جایگاه‌های جاروبگر رادیکال‌های آزاد (3+) Ce، در یک چرخه‌ی معکوس پس از جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، دوباره بازتولید می‌شوند (۹-۱۰، ۲).

از لحاظ بیولوژیک، نانوذرات سریم اکساید همانند آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسمتاز، به عنوان کاتالیزور عمل می‌کنند و به علت بزرگ بودن نسبت سطح به حجم آن، دارای ساختار الکتریکی منحصر به فرد هستند؛ به طوری که منجر به کاهش اکسیژن می‌شوند. به دلیل جایگاه‌های فعال بر روی سطح نانوذرات سریم اکساید که می‌توانند به عنوان جاروبگرهای رادیکال آزاد عمل کنند، به تازگی، این نانوساختارها به عنوان درمان‌های مداخله‌ای در سیستم‌های بیولوژیک مورد بررسی قرار می‌گیرند. جاروب کردن رادیکال‌های آزاد با عملکرد نانوذرات، به صورت مهار گونه‌های فعال اکسیژن است. گونه‌های فعال اکسیژن بسیار ناپایدار می‌باشند و واکنش‌پذیری بالایی دارند؛ به طوری که الکترون‌های ماکرومولکول‌های سلولی را گیر می‌اندازند و منجر به ناکارآمدی آن‌ها می‌شوند (۱۱، ۷-۵).

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، کمی‌سازی اثر حفاظت پرتویی نانوذرات سریم اکساید در مقابل پرتوهای یونیزان مگاولتاژ بود. برای محقق کردن این هدف، سلول‌های طبیعی فیروبللاستی ریه (MRC-5) انتخاب شدند که عامل حساسیت پرتویی بالایی دارند و در مقابل پرتوهای یونیزان نسبت به سلول‌های دیگر آسیب‌پذیرتر هستند.

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، کمی‌سازی اثر حفاظت پرتویی نانوذرات سریم اکساید در مقابل پرتوهای یونیزان مگاولتاژ بود. برای محقق کردن این هدف، سلول‌های طبیعی فیروبللاستی ریه (MRC-5) انتخاب شدند که عامل حساسیت پرتویی بالایی دارند و در مقابل پرتوهای یونیزان نسبت به سلول‌های دیگر آسیب‌پذیرتر هستند.

روش‌ها

تعیین ویژگی نانوذرات سریم اکساید: نانوذرات سریم اکساید در حالت پودری (Cerium oxide nanopowder, CeO₂) از شرکت US Research Nanomaterials خریداری شد. تصاویر این نانوساختارها، توسط میکروسکوپ الکترونی رویشی (Scanning electron microscope) مدل PhenomProX در ابعاد ۶ میکرومتر ثبت و قطر نانوذرات تعیین شد. جهت تعیین ساختار شیمیایی نانوسریا و تعیین درصد وزنی عناصر تشکیل دهنده‌ی آن، از آنالیز شیمیایی طیف‌نگاری تفکیک انرژی (Energy-dispersive X-ray spectroscopy) در حالت (Mode) کاری نقطه‌ای (Spot analysis) استفاده شد. سوسپانسیون نانوسریا با غلظت ۳۰۰ میکروگرم/لیتر در آب دی‌یونیزه تهیه و طیف جذبی (UV-VIS) Ultraviolet-visible آن توسط اسپکتروفتومتر

کشت سلولی: سلول‌های MRC-5 در محیط کشت (DMEM/F12) Dulbecco's modified eagle medium/F12 حاوی ۱۰ درصد (FBS) Fetal bovine serum به همراه آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد بین‌المللی/میلی‌لیتر) و استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر)، در فلاسک T25 (مساحت سطح ۲۵ سانتی‌مترمربع) کشت داده شد و در انکوباتور دارای ۵ درصد CO₂ در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. محیط کشت سلول‌ها روزانه تعویض شد و زمانی که منولایر تشکیل شده به ۸۰ درصد پایداری رسید، سلول‌ها با استفاده از تریپسین ۰/۰۵ درصد تیمار و تکثیر مجدد شدند. سلول‌های MRC-5 مورد استفاده در این مطالعه، به مدت ۳ ماه با تعداد دفعات ۷ بار پاساژ داده شدند.

آزمون MTT در راستای تعیین غلظت IC₁₀ (Concentration of nanoparticles, which leads to 10% cell inhibition) نانوذرات سریم اکساید (غلظتی از نانوذرات سریم اکساید که منجر به مرگ و میسر ۱۰ درصد از سلول‌های کشت داده شده می‌شود)، آزمون 3- [4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) انجام شد. در این آزمون، تعداد ۲ × ۱۰^۵ سلول به هر کدام از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای تلقیح گردید. میکروپلیت تا زمان تشکیل منولایر با ۸۰ درصد پایداری در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با ۵ درصد CO₂ قرار گرفت. سلول‌ها با Phosphate buffered saline (PBS) از پیش گرم شده و شسته شد

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، کمی‌سازی اثر حفاظت پرتویی نانوذرات سریم اکساید در مقابل پرتوهای یونیزان مگاولتاژ بود. برای محقق کردن این هدف، سلول‌های طبیعی فیروبللاستی ریه (MRC-5) انتخاب شدند که عامل حساسیت پرتویی بالایی دارند و در مقابل پرتوهای یونیزان نسبت به سلول‌های دیگر آسیب‌پذیرتر هستند.

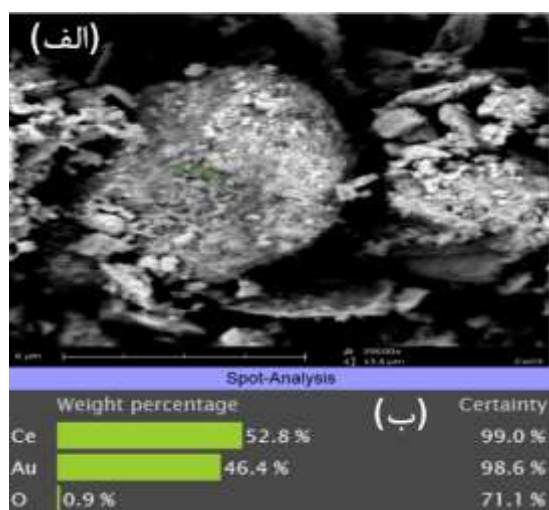
هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، کمی‌سازی اثر حفاظت پرتویی نانوذرات سریم اکساید در مقابل پرتوهای یونیزان مگاولتاژ بود. برای محقق کردن این هدف، سلول‌های طبیعی فیروبللاستی ریه (MRC-5) انتخاب شدند که عامل حساسیت پرتویی بالایی دارند و در مقابل پرتوهای یونیزان نسبت به سلول‌های دیگر آسیب‌پذیرتر هستند.

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، کمی‌سازی اثر حفاظت پرتویی نانوذرات سریم اکساید در مقابل پرتوهای یونیزان مگاولتاژ بود. برای محقق کردن این هدف، سلول‌های طبیعی فیروبللاستی ریه (MRC-5) انتخاب شدند که عامل حساسیت پرتویی بالایی دارند و در مقابل پرتوهای یونیزان نسبت به سلول‌های دیگر آسیب‌پذیرتر هستند.

روش‌ها

تعیین ویژگی نانوذرات سریم اکساید: نانوذرات سریم اکساید در حالت پودری (Cerium oxide nanopowder, CeO₂) از شرکت US Research Nanomaterials خریداری شد. تصاویر این نانوساختارها، توسط میکروسکوپ الکترونی رویشی (Scanning electron microscope) مدل PhenomProX در ابعاد ۶ میکرومتر ثبت و قطر نانوذرات تعیین شد. جهت تعیین ساختار شیمیایی نانوسریا و تعیین درصد وزنی عناصر تشکیل دهنده‌ی آن، از آنالیز شیمیایی طیف‌نگاری تفکیک انرژی (Energy-dispersive X-ray spectroscopy) در حالت (Mode) کاری نقطه‌ای (Spot analysis) استفاده شد. سوسپانسیون نانوسریا با غلظت ۳۰۰ میکروگرم/لیتر در آب دی‌یونیزه تهیه و طیف جذبی (UV-VIS) Ultraviolet-visible آن توسط اسپکتروفتومتر

میکروسکوپ الکترونی روبشی، نانوذرات دارای ساختاری کروی شکل بودند که قطر ریز دانه‌های نانو برابر با ۲۹/۳ نانومتر اندازه‌گیری شد (شکل ۱-الف). در آنالیز شیمیایی Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) مشخص شد که همواره بیشترین درصد وزنی نانوذرات پیش‌گفته را عنصر سریم تشکیل داده است؛ به طوری که مطابق شکل ۱-ب، نانوسریای پوشش‌دار شده توسط طلا، در حالت کاری نقطه‌ای، شامل سه عنصر تشکیل دهنده‌ی سریم، طلا و اکسید می‌باشد. عنصر سریم با درصد وزنی ۵۲/۸ با درصد اطمینان ۹۹، بیشترین درصد وزنی را داشت.



شکل ۱. الف) تصاویر ثبت شده از نانوذرات سریم اکساید (Cerium oxide nanoparticles یا CONPs) در ابعاد ۶ میکرون توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning electron microscope یا SEM). ب) نتایج آنالیز شیمیایی طیف‌نگاری تفکیک انرژی (Energy-dispersive X-ray spectroscopy یا EDS) در حالت کاری نقطه‌ای (Spot analysis).

به منظور تعیین غلظت IC₁₀ سوسپانسیون نانوسریای تهیه شده با محیط کشت سلول‌های MRC-5 در غلظت‌های مختلف به سلول‌ها اضافه شدند. مطابق نتایج آزمون MTT در شکل ۲، نانوذرات سریم اکساید تا غلظت ۷۰ میکرومولار هیچ نوع سمیتی برای رده‌ی سلولی مذکور نداشت؛ به طوری که میانگین درصد بقای سلولی در این غلظت از نانوسریا برابر با ۲/۵۶ ± ۸۹/۴۰ بود.

با توجه به نتایج تعیین سمیت نانوسریا برای رده‌های سلولی MRC-5، در ادامه‌ی مطالعه به منظور تعیین اثر حفاظت پرتویی نانوسریا از غلظت غیر سمی ۷۰ میکرومولار استفاده شد. مطابق شکل ۳، نتایج آزمون MTT در قسمت رادیوبیولوژی مطالعه نشان داد که همواره میانگین درصد بقای سلولی برای گروه‌هایی که نانوسریا

و سپس، ۱۰۰ میکرولیتر نانوسریای تهیه شده در محیط کشت با غلظت‌های مختلف ۵، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰، ۱۱۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار به چاهک‌های حاوی سلول‌های طبیعی ریه (MRC-5) اضافه گردید و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با ۵ درصد CO₂ انکوبه شد. سپس، محیط چاهک‌ها خارج و با بافر PBS شسته شد و محیط کشت تازه به همراه ۲ درصد FBS اضافه و انکوبه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت سلول‌ها با بافر PBS شسته شدند و رنگ MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به میزان ۲۰ میکرولیتر به تمام چاهک‌ها اضافه شد و به مدت ۳-۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد. سپس، سلول‌ها با بافر PBS شسته شدند و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول دی‌متیل سولفوکسید (Dimethyl sulfoxide) (Cinagen®, Iran) به عنوان حلال اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و روی Shaker قرار گرفت. در مرحله‌ی بعد، Optical density (OD) چاهک‌ها توسط دستگاه (ELISA) Enzyme linked immunosorbent assay (Biotech Instrument Model: Box998) در طول موج مرجع ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. آزمایش برای هر غلظت، سه بار تکرار شد.

تابش دهی با پرتوهای ایکس مگائولتاژ: سلول‌ها در بخش

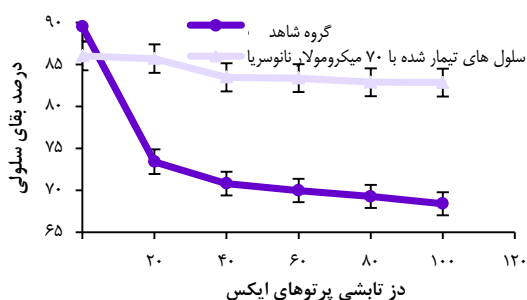
تابش دهی با غلظت غیر سمی نانوسریا تیمار و تحت تابش دزهای ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ سانتی‌گری (همراه با گروه شاهد بدون تابش دهی) قرار گرفتند. جهت تابش دهی به سلول‌ها، از فوتون‌های ایکس دستگاه شتاب دهنده‌ی خطی درمانی (Siemens healthcare, Erlangen, Germany) با انرژی ۶ مگاولت و آهنگ دز ۳۰۰ سانتی‌گری/دقیقه، واقع در مرکز پرتودرمانی شهید رمضان‌زاده در شهر یزد استفاده شد. در نهایت، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان تابش دهی آزمون MTT با سه بار تکرار برای هر دز تابشی انجام و میزان بقای سلولی (Cell viability) تعیین شد.

تحلیل داده‌های آماری: داده‌های به دست آمده به صورت نمودار دز-پاسخ جداگانه برای هر کدام از غلظت‌های نانوذرات سریم اکساید تعیین شد. درصد بقای سلولی به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند و جهت بررسی معنی‌داری اختلاف میان میانگین گروه‌های تابش دیده با دزهای تابشی متفاوت از آزمون One-way ANOVA و نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. لازم به ذکر است سطح اطمینان ۹۵ درصد به عنوان سطح معنی‌دار بودن آماری نتایج در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطابق تصاویر ثبت شده از نانوسریا در ابعاد ۴ میکرومتر توسط

مطابق نتایج آزمون MTT نمودار دز-پاسخ سلول‌های طبیعی ریه رسم شد (شکل ۳). همان‌طور که شکل ۴ نشان می‌دهد، با افزایش دز پرتوهای ایکس مگاولتاژ، میانگین درصد بقای سلولی کاهش پیدا کرد؛ در صورتی که روند تغییرات میانگین درصد بقای سلولی با گروه تیمار بسیار متفاوت بود و کاهش کندتری را نشان داد. مطابق این نمودار، میانگین درصد بقای سلولی برای سلول‌های تیمار شده با نانوسریا در دز تابشی صفر گری نسبت به گروه شاهد کمتر بود که این کاهش درصد بقای سلولی به علت سمیت ایجاد شده در اثر نانوسریا بوده است.



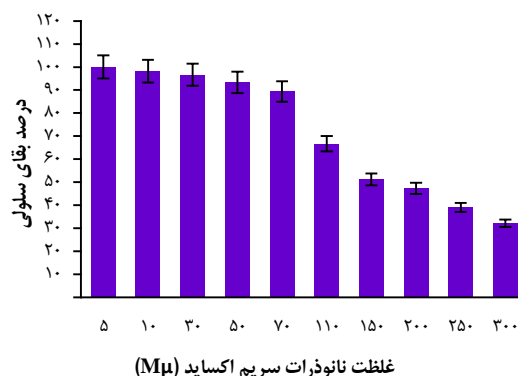
شکل ۴. نمودار دز- پاسخ سلول‌های MRC-5 تیمار شده با نانوسریا در برابر تابش‌های یونیزان مگاولتاژ

بحث

پرتودرمانی یک بخش جدایی ناپذیر از درمان سرطان می‌باشد؛ به طوری که بیش از نیمی از بیماران مبتلا به سرطان تحت پرتودرمانی قرار می‌گیرند (۱۲، ۴). احتمال بروز سرطان ثانویه پس از پرتودرمانی سرطان پروستات با روش مدرن بیشتر از روش قدیمی Three dimensional conformal radiation therapy (IMRT) Intensity-modulated radiation therapy حدود ۳ برابر می‌باشد (۱۳). بنابراین، استفاده از نانوذرات محافظ پرتویی در غلظت‌های غیر سمی، می‌تواند منجر به کاهش آسیب‌های کروموزومی و کروماتیدی در اثر تابش‌های یونیزان گردد (۲).

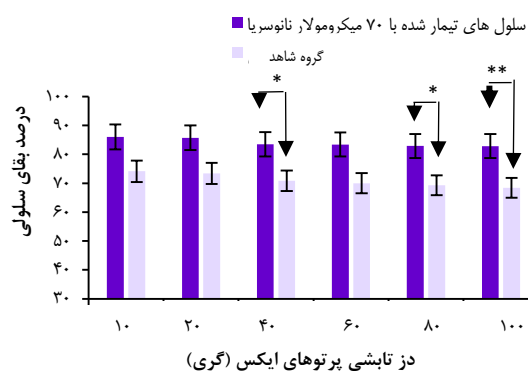
مطابق نتایج این مطالعه، غلظت غیر سمی برای سوسپانسیون نانوسریا، ۷۰ میکرومولار (۲۴/۰۸ میکروگرم/میلی‌لیتر) تعیین شد. طبق مطالعات مختلف انجام شده، نانوسریا در غلظت‌های ۲۳-۲/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر اثر سمیت ندارد (۱۶-۱۴، ۸). چگونگی توزیع نانوذرات، ابعاد نانوذرات، ردهی سلولی و آزمون ارزیابی مرگ و میر سلول‌ها، می‌تواند علت تفاوت مقدار غلظت غیر سمی سوسپانسیون نانوسریا در مطالعات مختلف با مطالعه‌ی حاضر باشد.

با غلظت ۷۰ میکرومولار دریافت کرده‌اند، نسبت به گروه شاهد افزایش داشت، اما این افزایش تنها در دزهای تابشی ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ سانتی‌گری معنی‌دار بود؛ به طوری که مقادیر P محاسبه شده برای گروه‌های تیمار با نانوسریا در دزهای تابشی ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ سانتی‌گری نسبت به گروه شاهد به ترتیب برابر با ۰/۰۴۹، ۰/۰۳۷ و ۰/۰۰۱ بود.



شکل ۲. نتایج آزمون $[4,5\text{-dimethylthiazol-2-yl}]-2,5\text{-difenyl-tetrazolium bromide}$ (MTT) جهت تعیین سمیت نانوذرات سریم اکساید. خط چین افقی، میانگین درصد بقای سلولی ۹۰ درصد را به منظور تعیین غلظت غیر سمی نانوسریا نمایش می‌دهد.

میانگین درصد بقای سلولی به دست آمده برای گروه‌های درمانی با غلظت ۷۰ میکرومولار از نانوسریا در دزهای تابشی ۲۰ و ۴۰ سانتی‌گری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).



شکل ۳. نتایج آزمون $[4,5\text{-dimethylthiazol-2-yl}]-2,5\text{-difenyl-tetrazolium bromide}$ (MTT) در تابش‌دهی به سلول‌های طبیعی ریه با دزهای تابشی ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ سانتی‌گری. گروه‌هایی که با علامت * و ** نشانه‌گذاری شده‌اند، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری در میانگین درصد بقای سلولی با $P < 0/05$ داشتند.

مهار ROS توسط نانوسریا و در نهایت، افزایش و یا کاهش درصد بقای سلولی باشد.

یکی از محدودیت‌های اصلی مطالعه‌ی حاضر، کمی‌سازی اثر حفاظت پرتویی نانوسریا تنها برای دزهای تابشی پایین از پرتوهای مگاولتاژ می‌باشد. بنابراین، نمی‌توان نتایج را برای دزهای بیشتر برون‌یابی کرد؛ چرا که ممکن است سلول‌ها پاسخ رادیوبیولوژیک متفاوتی داشته باشند. از این رو، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، پاسخ رادیوبیولوژیک سلول‌ها برای دزهای تابشی، بیشتر از ۱۰۰ سانتی‌گری با انرژی ۶ مگاولت بررسی گردد.

نانوذرات سریم اکساید، با توجه به سمیت کمتر و خاصیت خود احیاکنندگی که دارند، می‌توانند به عنوان یک محافظ پرتویی قدرتمند در مطالعات آینده و کاربردهای بالینی معرفی شوند. با توجه به این که در پرتودرمانی، تجهیزات مدرن درمان با دقت بالا گسترش پیدا کرده‌اند، اما همواره صحت درمان یک نگرانی اساسی برای انکولوژیست‌ها محسوب می‌شود که این عدم صحت دریافت دز به بافت‌های تومورال، می‌تواند منجر به دریافت دز در بافت‌های سالم بیماران مبتلا به سرطان شود. این تابش‌های ناخواسته، عوامل حیاتی در بروز ناهنجاری‌های زودرس و دیررس اشعه در بیمار می‌باشند. همچنین، با وجود دریافت دز با صحت و دقت بالا، همچنان دریافت دزهای پایین توسط بافت‌های سالم در خارج از فیلد درمانی یک مسأله‌ی مهم است و حضور نانوسریا در بافت‌های سالم، می‌تواند نقش مهمی در کاهش عوارض جانبی پس از پرتودرمانی داشته باشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان داد استفاده از نانوذرات سریم اکساید در غلظت غیر سمی ۷۰ میکرومولار، می‌تواند منجر به افزایش درصد بقای سلولی پس از تابش‌دهی سلول‌ها شود. این یافته، می‌تواند منجر به افزایش صحت درمان و به دنبال آن افزایش بهره‌ی درمان در پرتودرمانی شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی فیزیک پزشکی در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد با کد اخلاقی IR.SSU.MEDICINE.REC.1396.72 می‌باشد. بدین وسیله، از همکاری کارکنان مرکز پرتودرمانی شهید رمضان‌زاده و همچنین، کارشناس آزمایشگاه ویروس گروه میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، سپاسگزاری می‌گردد.

مطابق نتایج قسمت رادیوبیولوژی مطالعه‌ی حاضر، همواره حضور ۷۰ میکرومولار از نانوسریا می‌تواند اثر حفاظت پرتویی معنی‌داری در سلول‌های نرمال ریه ایجاد کند. نانوذرات سریم اکساید در دزهای پایین تابشی از پرتوهای فوتونی با انرژی ۶ مگاولت اثر حفاظت پرتویی معنی‌داری از خود نشان ندادند. این مشاهده، می‌تواند بدین دلیل باشد که در دزهای جذبی پایین از اشعه، احتمال تولید رادیکال‌های آزاد در اثر فرایند رادیولیز آب پایین می‌باشد؛ به گونه‌ای که عمل جاروب کردن رادیکال‌های آزاد توسط نانوذرات سریم اکساید، منجر به افزایش معنی‌دار درصد بقای سلولی نسبت به گروه شاهد نمی‌شود.

مطالعات بسیاری جهت بررسی و ارزیابی اثر حفاظت پرتویی نانوذرات سریم اکساید در دزهای پرتویی متفاوت برای انواع پرتوهای مختلف انجام گرفته است که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارند؛ با این تفاوت که در هیچ مطالعه‌ای، اثر حفاظت پرتویی نانوسریا در دزهای تابشی از پرتوهای با انرژی ۶ مگاولت که انرژی پرکاربرد در پرتودرمانی است، گزارش نشده است؛ به طوری که ۹۹ درصد سلول‌های طبیعی غیر چسبنده‌ی پستان (CRL8798)، تیمار شده با غلظت ۱۰ نانومولار نانوسریا پس از ۲۴ ساعت از تابش دهی با دز ۱۰ گری زنده باقی ماندند (۱۷).

نتایج مطالعه‌ی دیگری نشان دهنده‌ی مهار معنی‌دار Reactive oxygen species (ROS) در اثر افزایش غلظت نانوسریا می‌باشد که می‌تواند شاهی برای اثبات مکانیسم اثر حفاظت پرتویی نانوسریا باشد. همچنین، در سلول‌های طبیعی روده‌ی انسانی (CRL 1541) با افزایش غلظت نانوسریا (۱، ۱۰ و ۱۰۰ نانومولار) اثر حفاظت پرتویی معنی‌داری در برابر تک دز ۲۰ گری مشاهده شده است (۱۸). در مطالعه‌ی دیگری، اثر حفاظت پرتویی نانوسریا در سلول‌های طبیعی ریه (CCL 135) در غلظت ۱۰ نانومولار (۰/۰۱۷ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در دو حالت قبل و بعد از تابش‌دهی، با دز تابشی ۲۰ گری مورد بررسی قرار گرفته و در هر دو حالت، اثر حفاظتی معنی‌داری از نانوسریا مشاهده شده است (۱۹).

اثر حفاظت پرتویی نانوسریا مطابق مطالعات صورت گرفته اثبات شده است. تفاوت اصلی مطالعات صورت گرفته و مطالعه‌ی حاضر، بررسی رفتار رادیوبیولوژیک در رده‌های سلولی متفاوت می‌باشد. میزان بروز آسیب‌های کشنده در سلول‌ها، رابطه‌ی مستقیمی با انرژی و دز پرتوهای تابشی دارد (۲۰). با این حال، نوع رده‌ی سلولی مورد مطالعه و انرژی و دز پرتویی متفاوت، می‌تواند علت تفاوت در میزان

References

1. Sountoulides P, Koletsas N, Kikidakis D, Paschalidis K, Sofikitis N. Secondary malignancies following

radiotherapy for prostate cancer. *Ther Adv Urol* 2010; 2(3): 119-25.

2. Velpula N, Ugrappa S, Kodangal S. A role of radioprotective agents in cancer therapeutics: a review. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*; Vol 2, No 6 (2013): November-December 2013 2017.
3. Prise KM, Schettino G, Folkard M, Held KD. New insights on cell death from radiation exposure. *Lancet Oncol* 2005; 6(7): 520-8.
4. Wu Q, Allouch A, Martins I, Brenner C, Modjtahedi N, Deutsch E, et al. Modulating Both Tumor Cell Death and Innate Immunity Is Essential for Improving Radiation Therapy Effectiveness. *Front Immunol* 2017; 8: 613.
5. Niu J, Wang K, Kolattukudy PE. Cerium oxide nanoparticles inhibit oxidative stress and nuclear factor-kappaB activation in H9c2 cardiomyocytes exposed to cigarette smoke extract. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 338(1): 53-61.
6. Nelson BC, Johnson ME, Walker ML, Riley KR, Sims CM. Antioxidant Cerium Oxide Nanoparticles in Biology and Medicine. *Antioxidants (Basel)* 2016; 5(2).
7. Xu C, Qu X. Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications. *Npg Asia Materials* 2014; 6: e90.
8. Pesic M, Podolski-Renic A, Stojkovic S, Matovic B, Zmejkoski D, Kojic V, et al. Anti-cancer effects of cerium oxide nanoparticles and its intracellular redox activity. *Chem Biol Interact* 2015; 232: 85-93.
9. Baker CH. Harnessing cerium oxide nanoparticles to protect normal tissue from radiation damage. *Translational Cancer Research*; Vol 2, No 4 (August 2013): *Translational Cancer Research (Nanotechnology in Radiation Research)* 2013; 343(358).
10. Abdi Goushbolagh N, Farhood B, Astani A, Nikfarjam A, Kalantari M, Zare MH. Quantitative cytotoxicity, cellular uptake and radioprotection effect of cerium oxide nanoparticles in MRC-5 normal cells and MCF-7 cancerous cells. *BioNanoScience* 2018; 1-9.
11. Hirst SM, Karakoti AS, Tyler RD, Sriranganathan N, Seal S, Reilly CM. Anti-inflammatory properties of cerium oxide nanoparticles. *Small* 2009; 5(24): 2848-56.
12. Kumar S. Second malignant neoplasms following radiotherapy. *Int J Environ Res Public Health* 2012; 9(12): 4744-59.
13. Sountoulides P, Koletsas N, Kikidakis D, Paschalidis K, Sofikitis N. Secondary malignancies following radiotherapy for prostate cancer. *Therapeutic Advances in Urology* 2010; 2(3): 119-25.
14. Lin W, Huang YW, Zhou XD, Ma Y. Toxicity of cerium oxide nanoparticles in human lung cancer cells. *Int J Toxicol* 2006; 25(6): 451-7.
15. Park EJ, Choi J, Park YK, Park K. Oxidative stress induced by cerium oxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology* 2008; 245(1-2): 90-100.
16. Rubio L, Annangi B, Vila L, Hernandez A, Marcos R. Antioxidant and anti-genotoxic properties of cerium oxide nanoparticles in a pulmonary-like cell system. *Arch Toxicol* 2016; 90(2): 269-78.
17. Tarnuzzer RW, Colon J, Patil S, Seal S. Vacancy engineered ceria nanostructures for protection from radiation-induced cellular damage. *Nano Lett* 2005; 5(12): 2573-7.
18. Colon J, Hsieh N, Ferguson A, Kupelian P, Seal S, Jenkins DW, et al. Cerium oxide nanoparticles protect gastrointestinal epithelium from radiation-induced damage by reduction of reactive oxygen species and upregulation of superoxide dismutase 2. *Nanomedicine* 2010; 6(5): 698-705.
19. Colon J, Herrera L, Smith J, Patil S, Komanski C, Kupelian P, et al. Protection from radiation-induced pneumonitis using cerium oxide nanoparticles. *Nanomedicine* 2009; 5(2): 225-31.
20. Hall EJ, Giaccia AJ. *Radiobiology for the radiologist*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2006.

The Radiobiologic Characterizations of Normal Lung Cells Treated with Cerium Oxide Nanostructures as Radioprotector against X-Rays Used in Radiotherapy

Mohammad Hosein Zare¹, Akram Astani², Nouraddin Abdi-Goushbolagh³

Original Article

Abstract

Background: Cerium oxide nanoparticles, or nanoceria, as radioprotectors can play an important role in reducing complication of ionizing radiation. The aim of this study was to reduce the mortality of normal lung cells against 6-MV photon beams by using nanoceria; so that through identifying optimal concentration of nanoceria, it could be used in radiation therapy.

Methods: Nanoceria suspensions were sterilized with 70% ethyl alcohol. In order to optimize the nanoparticles distribution in aqueous medium, suspension was shaken by vortex for 3 minutes. Then, the sonication was performed for 2 hours using ultrasound sonicator. MRC-5 cells were cultured in Dulbecco's modified eagle medium/F12 (DMEM/F12) medium, and placed in a high-humidity incubator at 37 °C. To determine the non-toxic concentration, the cells were treated with serial concentrations of 5, 10, 30, 50, 70, 90, 110, 150, 200, 250, and 300 μM of nanoceria. Quantitative radio-protection effect of nanoceria was performed in non-toxic concentrations against 6-MV X-ray with doses of 20, 40, 60, 80, and 100 cGy.

Findings: The concentration of 70 μM and low concentrations did not have toxicity for MRC-5 cells. The mean cell viability (%) in this concentration of nanoceria was 89.4 ± 2.6 percent. MRC-5 cells at presence of 70 μM nanoceria had significant radiation protection against radiation doses of 40, 80, and 100 cGy compared to the control group.

Conclusion: Using cerium oxide nanoparticles can increase the precision of treatment, and reduce secondary effects of radiotherapy.

Keywords: Radiotherapy, Radiation protection, Nanoceria, Radiobiology

Citation: Zare MH, Astani A, Abdi-Goushbolagh N. **The Radiobiologic Characterizations of Normal Lung Cells Treated with Cerium Oxide Nanostructures as Radioprotector against X-Rays Used in Radiotherapy.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(481): 581-7.

1- Assistant Professor, Department of Medical Physics, School of Medical Sciences, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medical Sciences, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

3- MSc Student, Department of Medical Physics, School of Medical Sciences, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Corresponding Author: Nouraddin Abdi-Goushbolagh, Email: nouraddiin@gmail.com