NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.13/51 , 2023

Scan online to view this article

The Xray effect on pancreatic caner cell line in concomitant therapy with nano sheets of grapheme oxide and hyperthermia

Mohammad Hosein Haqiqian[1], Dariush Sardari[1*], Mohammad Houshyari[2], Reza Moghadasali[3]
Mohammad Hosein Haqiqian[1], Dariush Sardari[1*], Mohammad Houshyari[2], Reza Moghadasali[3]

1. Department of Medical Radiation Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Radiation Oncology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Sciences Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

Abstract

Aim and Background: Pancreatic cancer leaves little hope for survival among patients. This is due to its cancerous cell resistance to radiation and chemicals.

Materials & Methods: Synergistic effect between three modalities of pancreatic cancer treatment is investigated. These are radiation therapy, Hyperthermia and graphene oxide nanosheets. The aim is to overcome resistance of pancreatic cancer cell against radiation therapy.Cancerous cell lines were treated by each one of three modalities separately. Other samples were treated with various combinations of these modalities. Hyperthermia accomplished with placing cell lines for 15 min in 42°C. In the course of radiation therapy, the cancerous cells were irradiated by 6 MV Linac for two cases of 2 Gy and 3 Gy. The cell line viability was readout by MTT assay in 24 hours and 48 hours after treatment.

Results: In single modality treatment it was shown that 24h after the treatment, the group treated by RT 3 Gy had the highest cell killing result. Following up the result in 48h readout, hyperthermia and 3 Gy radiotherapy had similar result. In double modality treatment, for both 24h and 48h viability readout, the group graphene-oxide plus 2 Gy radiotherapy showed cell survival amounting to 67.07% and 43.23% respectively being the lowest cell survival among all double combinations.

Conclusion: In triple modality treatment, the cell viability for 24h showed no significant improvement but in 48h the hyperthermia plus Graphene-oxide and 3 Gy radiotherapy had very low cell viability. Significant sensitizing effect for GO when combined by radiation therapy was observed.

Keywords: Graphene oxide nano-sheets; Radiotherapy ; Hyperthermia; pancreatic cancer cell lines; combinational therapy, Iau Science

Corresponding author:
Department of Medical Radiation Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: Dariush.sardari@gmail.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۳ - شماره۵۱ - تابستان ۱۴۰۲
NCMBJ
مقاله پژوهشی

بررسی اثر درمانی تابش اشعه ایکس بر روی سلول سرطانی پانکراس در ترکیب با هایپرترمیا و نانو صفحه اکسید گرافن

محمد حسین حقیقیان[۱]، داریوش سرداری[۱*]، محمد هوشیاری[۲]، رضا مقدسعلی[۳]

۱. گروه مهندسی هسته‌ای – پرتوپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲ . گروه رادیوتراپی و آنکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. گروه سلول‌های بنیادی و سلول درمانی، مرکز تحقیقات رویان، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: سرطان پانکراس امید چندانی برای زنده ماندن در بین بیماران باقی نمی‌گذارد. این به دلیل مقاومت سلول این سرطان در برابر اشعه یون ساز و داروهای شیمی درمانی است. اثر هم افزایی ترکیب سه روش درمانی بروی سلول سرطانی پانکراس بررسی شده است. پرتودرمانی، هایپرترمیا و نانو صفحات اکسید گرافن روش‌های درمانی این مطالعه هستند. هدف از این کار غلبه بر مقاومت سلول سرطانی پانکراسی در برابرتابش یون ساز می‌باشد.

مواد و روش‌ها: رده‌ی سلول سرطانی 1-ASPc، توسط هر یک از سه روش زیر جداگانه با یک عامل درمانی تحت درمان قرار گرفت. همچنین این مطالعه درمان‌های مذکور را نیز به صورت ترکیبی مورد بررسی قرار داد. درمان با اکسید گرافن به مدت ۲ ساعت در دوز انتخابی ۳۰ ppm . هایپرترمیا به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۲ درجه‌ی سلسیوس انجام شد. پرتودرمانی، توسط لینک MV 6 برای دو دوز 2 Gy و 3 Gy تابش‌دهی شد. نرخ بقا رده‌ی سلول با روش MTT در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از هر درمان قرائت شد.

یافته‌ها: در گروه با یک عامل درمانی نشان داده شد که ۲۴ ساعت پس از درمان، گروه تحت درمان با رادیوتراپی3 Gy بالاترین نتیجه کشتار سلولی را داشت. در درمان با ترکیب دو روش، برای هر دو بازخوانی زنده ماندن ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت، گروه گرافن اکسید به علاوه رادیوتراپی ۲ Gy بقای سلول را به ترتیب ۶۷/۰۷٪ و۴۳/۲۳٪ درصد در سطح معنی داری ۰/۰۵ نشان داد که به ترتیب کمترین بقای سلول در میان تمام گروه‌های درمانی دو ترکیبی است. در درمان ترکیب سه روش، زنده ماندن سلول به مدت ۲۴ ساعت هیچ پیشرفت قابل توجهی نشان نداد اما در ۴۸ ساعت هایپرترمیا و گرافن اکسید و رادیوتراپی ۳ Gy دارای بیش ترین میزان مرگ سلولی سلولی در تمامی آزمایشات بود.

نتیجه‌گیری: هنگامی که هایپرترمیا با پرتودرمانی همراه بود، اثر هم‌افزایی قابل توجهی با اکسید گرافن مشاهده شد. اکسید گرافن می‌تواند به عنوان یک حساسیت‌زا برای تابش یون‌ساز استفاده شود.

واژگان کلیدی: نانو صفحه‌ی اکسید گرافن، رادیوتراپی، هایپرترمیا، سلول سرطانی پانکراس، درمان ترکیبی، Iau Science

مقدمه

ابتلا به سرطان پانکراس یکی از مهم‌ترین دلایل از دست دادن امید بیمار در سراسر جهان است.متداول ترین نوع این سرطان آدنوکارسینومای پانکراس است که بسیار تهاجمی است و میزان بقا کم‌تر از ۵٪ دارد (۱،۴). این امر ماهیت کشنده این بیماری را برجسته می‌کند (۵). بهترین راهکار برای درمان این نوع سرطان، تشخیص زود هنگام همراه با

نویسنده مسئول:
گروه مهندسی هسته‌ای – پرتوپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
پست الکترونیکی: Dariush.sardari@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۶

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

رویکرد جراحی مقطع برداری رادیکالی است (۶). جراحی به-طور برجسته تنها گزینه درمانی این بیماری است اما فقط تعداد محدودی از بیماران که تحت عمل جراحی قرار می-گیرند، بقا می‌یابند. رادیوتراپی برای سرطان پانکراس که گزینه کار ساز نیست، یک موضوع بحث برانگیز است. تاکنون نتایج حاصل از رادیوتراپی به عنوان درمان کمکی هنوز برای این نوع سرطان نامشخص است (۷). بنابراین، اگر اثر هم افزایی هایپرترمیا بتواند پرتودرمانی را بهبود بخشد، گام بزرگی برای پیشبرد این درمان خواهد بود (۸). هایپرترمیا با سابقه طولانی در درمان‌های خاص و به عنوان روش اصلی درمانی شناخته نمی‌شود (۹،۱۱). از آنجا که هایپرترمیا می‌تواند یک عامل در افزایش اثر پرتودرمانی باشد (۱۲،۱۳) در مطالعات سلولی[1] و حیوانی[2] نشانه‌هایی مشاهده شده است که بافت سرطانی نسبت به استفاده از هر دو روش درمانی با دمای بالا و تابش اشعه ایکس به صورت ترکیبی، موثرتر است (۸،۱۲،۱۴،۱۵). نانو صفحه اکسید گرافن، با خواص فیزیکی عالی به‌صورت صفحه‌های نانو با ساختار دو و خاصیت سازگاری با بدن و سطح ویژه زیاد[3] (۲۶۳۰ متر مربع در گرم)، هدایت الکتریکی استثنایی (تحرک حامل‌های بار ، ۲۰۰۰۰۰ سانتی متر مربع $V^{-1} s^{-1}$) ، هدایت حرارتی (۵۰۰۰ W / m / K)، باعث کاربردهای عظیمی در تحقیقات و آزمایشات زیست پزشکی شده است (۱۶،۱۸). کاربرد این نانو صفحه در ترکیب با هایپرترمیا با استفاده از تابش لیزر بستر مطالعات بسیاری در مورد فوتوترمال تراپی بوده است (۱۹). همچنین از این نانو صفحه برای انتقال دارو (انتقال هدفمند) در تصویربرداری سلولی یا درمان به عنوان عامل درمانی به همراه عامل تشخیصی(ترانوستیک)(۲۰) استفاده شده است. به منظور دستیابی به بخش جدیدی از تحقیقات و درمان سرطان، هدف از این مطالعه بررسی اثر ترکیبی سه روش درمانی برای افزایش اثر هم افزایی عوامل درمان به منظور بالا بردن نرخ مرگ سلولی سرطان پانکراس بود.

مواد و روش‌ها

گروه بندی های درمانی

نانو ذره به عنوان ابزاری مدرن برای تحویل دارو و هدف قرار دادن سلول سرطانی شناخته شده است (۲۴-۲۲). سلول‌ها در ۳ دسته تحت درمان قرار گرفتند. در گروه "تک درمانی"، رده سلولی با هر عامل درمانی مجزا تحت درمان قرار گرفت و با گروه کنترل (سلول بدون عامل درمانی) مقایسه شدند. گروه دو درمانی: ترکیب دو درمان شامل هایپرترمیا + رادیوتراپی 2Gy، هایپرترمیا + رادیوتراپی 3 Gy ، اکسید گرافن+ رادیوتراپی 2 Gy، + اکسید گرافن رادیوتراپی 3 Gy و هایپرترمیا + اکسید گرافن است. مطالعه نهایی در ترکیب سه عامل درمان است، که شامل هایپرترمیا + رادیوتراپی 2 Gy + اکسید گرافن و هایپرترمیا + رادیوتراپی 3 Gy+ اکسید گرافن بود.

سنتز و تعیین خصوصیات

برای تولید اکسید گرافن به روش هامر[4]، ابتدا گرافیت پوسته‌ای-لایه لایه‌ای(۱ گرم ، شرکت مرک) به محلول H_2SO_4 (۸۰ میلی لیتر ،شرکت مرک) اضافه شد و به مدت ۲ ساعت مخلوط و به هم زده شد. سپس $KMnO_4$ به مخلوط اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت مخلوط شد. سپس رنگ محلول در نتیجه فرآیند اکسیداسیون گرافیت به تیره تغییر کرد. برای رفع واکنش اکسیداسیون، آب دو بار تقطیر اضافه گردید. به منظور خنثی سازی اثر $KMnO_4$ باقیمانده (بدون واکنش)، محلول آبی H_2O_2 (۱۰ میلی لیتر، مرک) اضافه شد که باعث تغییر رنگ به زرد می‌شود. مخلوط سه بار با H_2O و HCL (۱ میلی متر ، مرک) در ۸۰۰۰ دور در دقیقه برای حذف یون‌ها و اسیدهای اضافی سانتریفیوژ شد. پس از فرآیند لایه برداری خود به خود، اکسید گرافین تشکیل می‌شود. در انتها برای بدست آوردن اکسید گرافن بدون ناخالصی عاری از هرگونه ذره اضافی، محلول از طریق فرآیند دیالیز (لوله ۱۲ کیلو دالتون) به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس خالص سازی گردید (۲۷). به دنبال رسوب محلول اکسیدگرافن بر روی سطح میکا شکافته شده، تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی[5](DME ، دانمارک) توسط یک دامنه دوگانه ۹۵-۲۰۰ گرفته شد تا درک دقیق اندازه ورق‌های اکسید گرافن را نشان دهد. الگوی پراش اشعه[6] X با استفاده از طیف سنج اشعه ایکس فیلیپس (هلند) پس از خشک کردن در یک لیوفیلیزر بدست آمد. طیف ماورا بنفش با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Nicolet (Evolution

[1] In vitro
[2] In vivo
[3] Specific surface area

[4] Hummer
[5] Atomic force microscopy (AFM)
[6] X-ray Powder Diffraction (XRD

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

Thermo Scientific)، در محدوده طول موج ۲۰۰-۸۰۰ نانومتر بدست آمد. برای ارزیابی ناهمگنی، میکروسکوپ نوری قطبی شده[1] (Leica DMR) برای بررسی میکروسکوپیک استفاده شد. برای توصیف اندازه دانه‌ها و توزیع آن، از روش تصویربرداری الکترون ثانویه[2] با میکروسکوپ الکترونی پرتو دوگانه (FEI Helios NanoLab 600) بررسی شد. برای ارزیابی نوع شناسی و معماری، نمونه ها توسط میکروسکوپ الکترونی انتشار میدانی مشاهده شدند (FE-SEM، FEI Nova NanoSEM 230، USA). ضخامت نانو گرافن (به شکل پوسته) ۰/.۸ نانومتر و عرض آن‌ها در محدوده ۲۰۰ - ۵۰۰ نانومتر اندازه گیری شد (۳۷).

مدت زمان درمان و دوز مصرفی

سلول سرطانی پانکراس در محیط کشت خود به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شد و آزمایش بر روی آن‌ها انجام شد. به منظور حصول غلظت کشنده سلولی، غلظت‌های ۱۰۰،۸۰،۶۰،۵۰،۴۰،۳۰،۲۰،۱۰میکروگرم در میلی‌لیتر اکسید گرافن به سلول‌ها به مدت دو ساعت اضافه شد و سپس ۴۸ ساعت پس از این درمان، نتایج مطالعه گردید. همچنین به منظور بدست آوردن زمان درمان برای هایپرترمیا در دمای ۴۲ درجه سلول ها با ۴ مدت زمان مختلف ۱۵ ، ۳۰، ۶۰، ۹۰ دقیقه تحت درمان هایپرترمیا قرارگرفتند تا مدت زمان مناسب برای درمان ترکیبی بدست آید که پس از ۴۸ ساعت نتایج حاصله ثبت شد. با روش MTT در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از هر روش نتایج میزان مرگ سلولی استخراج شد. برای درک بهتر مکانیسم درمان و تاثیر عوامل درمانی بر روی مرگ سلولی، بازخوانی زنده ماندن سلول‌ها را در دو زمان مطالعاتی در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از آزمایش صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با SPSS Statistics انجام شد (۳۴). در مطالعه‌ی حاضر، میانگین انحراف معیار (SD) در بیان متغیرهای مداوم لحاظ شده است. به همین منظور از آزمون ANOVA یک طرفه (به دنبال آن آزمون تعقیبی دانکن) و آزمون t مستقل استفاده شد. مقایسه بین گروه‌ها، تمام آزمون‌های آماری دو طرفه بودند و P> ۰ / ۰۵ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

[1] polarized optical microscope (POM)

یافته‌ها

رده سلولی و گروه بندی

نمونه سلول‌های آدنوکارسینومای پانکراس انسانی در DMEM/F12 + 2mML-Glutamine +10FBS + 1mM پیروات سدیم در ۳۷ درجه‌ی سلسیوس رشد داده شد. برای تعیین غلظت مناسب و مدت زمان درمان در هایپرترمیا در دمای ۴۲ درجه‌ی سلسیوس، آزمایش در دوزهای مختلف که در زیر ذکر شده است، انجام شد. هر مطالعه شامل گروه کنترل بدون عامل درمانی بود. برای اهداف درمانی، نمونه‌ها با توجه به غلظت نانو ذرات ۱۰۰،۸۰،۶۰،۵۰،۴۰،۳۰،۲۰،۱۰ میکروگرم در میلی لیتر به علاوه یک گروه کنترل به هشت گروه تقسیم شدند. درمان هایپرترمیا همراه با گروه کنترل به مدت ۱۵، ۳۰ ، ۶۰ و ۹۰ دقیقه در ۴۲ درجه‌ی سلسیوس انجام شد (شکل ۱). سپس قسمت دیگر درمان یعنی اکسید گرافن به طور همزمان با زمان انکوباسیون ۲ ساعته و به دنبال آن رادیوتراپی اعمال شد. هایپرترمیا، توسط دستگاه بن ماری برای مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سلسیوس تنظیم شد.

روش اندازه گیری بقا سلولی

برای اندازه گیری نرخ بقا، از روش MTT استفاده شد. برای این منظور، سلول‌های سرطانی پانکراس رشد و در پتری دیش‌های شش خانه کاشته شدند. رده سلولی با تراکم ۳۰۰۰۰۰ سلول در هر محفظه قرار داده شد. این سلول‌ها در مرحله درمان تحت غلظت‌هایی که قبلاً ذکر شد با نانو گرافن اکساید درمان شدند (ترتیب اندازه ۱۰ - ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر). سپس رادیوتراپی انجام گرفت و نرخ بقای سلول‌ها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت با افزودن ۱ میلی لیتر محلول MTT به نمونه ها، اندازه گیری شد. همه آزمایش‌ها در هر گروه سه بار تکرار گردید.

توالی درمان‌ها

گروه‌های نمونه ابتدا با افزودن نانو گرافن اکساید با غلظت ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر با زمان انکوباسیون ۲ ساعت تحت درمان قرار گرفتند. سپس سلول ها به مدت ۱۵ دقیقه بدون وقفه توسط هایپرترمیا مجددا درمان گردیدند. درمان نهایی رادیوتراپی بود. به همین منظور سلول‌ها به کلینیک پرتودرمانی تحویل داده شدند تا در معرض اشعه ایکس ۶ MV لینک با دو دوز Gy۲ و ۳ Gy قرار بگیرند.

[2] Secondary electron image

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

هایپرترمیا

هایپرترمیا توسط بن ماری[1] از جنس فولاد ضد زنگ انجام شد که شامل گزینه تنظیم زمان و دما بود. محفظه بن ماری کاملاً عایق شده بود و از دماسنج و تایمر خارجی جهت کنترل کیفی در این روش استفاده گردید. در داخل بن ماری یک صفحه فولاد ضد زنگ ساخته شده است که از آن به عنوان یک سکوی نگهدارنده برای قرار دادن ظرف حاوی سلول‌ها استفاده شد.

پرتودرمانی

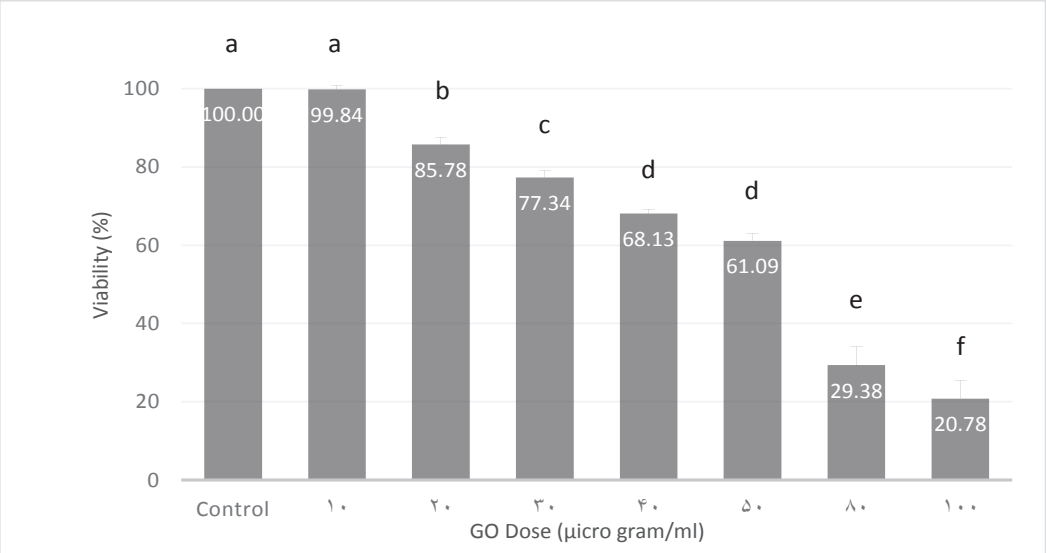
برای انجام پرتودرمانی ، نمونه‌ها را با Elekta compact 6 MV تحت تابش قرار داده شد و فاصله منبع تابش تا بر روی سطح پتری دیش[2] ۱۰۰۰ میلی متر تنظیم گردید.

نتایج

مطالعات در شرایط آزمایشگاهی کاهش جمعیت سلول‌های سرطانی پانکراس را با گذشت زمان پس از درمان ترکیبی نشان می‌دهد. نتایج به تفکیک به شرح زیر خواهد بود.

مطالعات دوز

نتایج در شکل های ۱ تا ۵ نشان داده شده است. در شکل (۱) مشاهده شده است که غلظت 100 ppm اکسید گرافن به خودی خود دوز کشنده‌ای است که در آن بقای سلول (۹/۱۳٪ ± ۲۹/۷۸٪) بود. با این حال، ماندگاری سلول در 80 ppm بسیار مشابه دوز کشنده (۹/۷۴٪ ± ۲۹/۳۸٪) بود. بنابراین غلظت اکسید گرافن بیش از 80 ppm بقا سلولی را پایین‌تر از ۳۰٪ می‌آورد و در نتیجه استفاده از این حدود دوز نمی‌تواند در درمان ترکیبی اثر بخش باشد، چرا که بخش عمده سلول‌ها بر اساس درمان با اکسید گرافن از بین خواهند رفت و عملا ترکیب با سایر درمان‌ها بی‌معنی خواهد بود. مطابق شکل (۱)، اثر اکسید گرافن به طور قابل توجهی بالاتر از ppm ۳۰ نشان می‌دهد که در آن بقای سلول (۳/۴ ٪ ±۳۴/۷۷٪) است. این غلظت اکسید گرافن برای درمان‌های ترکیبی دو حالته و سه حالته، در مراحل بعدی آزمایش استفاده شده است.



شکل شماره ۱ تاثیر اکسید گرافن بر روی نرخ بقا در دوزهای مختلف اکسید گرافن بر روی سلول سرطانی پانکراس

(a-d) زمان ۲۴: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

(A-E) زمان ۴۸: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

*** P<0.001 (مقایسه بین ۲۴ و ۴۸ H)

[1] Bain-marie

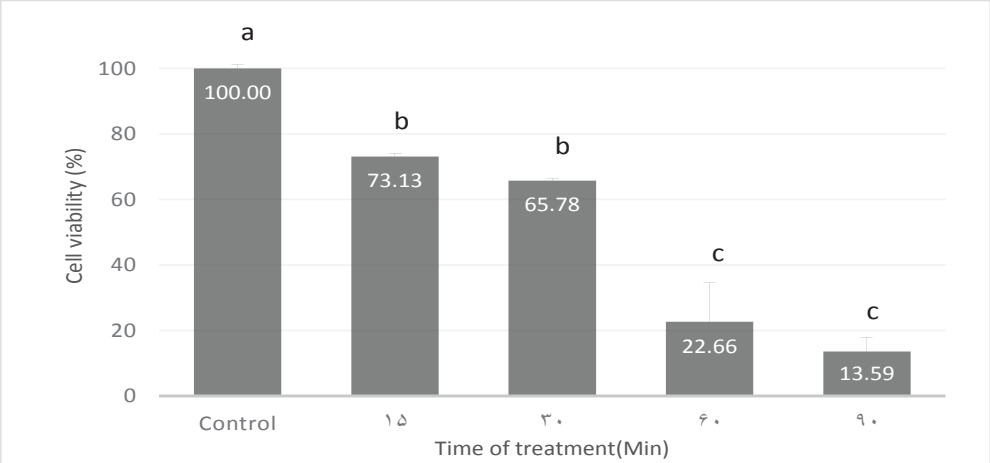
[2] SSD(Source surface distance)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

شکل (۲) نتایج زنده ماندن سلول را به عنوان تابعی از زمان فقط به دلیل تاثیر درمان با هایپرترمیا را نشان می‌دهد. در مدت زمان درمان ۹۰ دقیقه هایپرترمیا، بقای سلول (۸/۵۰ ٪± ۱۳ /۵۹ ٪) بود، با توجه به نتایج، مدت زمان ۱۵دقیقه می‌تواند به عنوان یک زمان متوسط درمان در نظر گرفته شود، که نشان دهنده زنده ماندن سلول (۱٪/۸۴ ± ۷۳/۱۲ ٪) است.

بنابراین این زمان درمان را می‌توان برای مطالعات بیشتر در درمان‌های ترکیبی مورد بررسی قرار داد. در حقیقت این میزان نرخ بقا حاشیه‌ای برای مطالعه را فراهم می‌کند که در آن اثر هم‌افزایی سایر عوامل درمانی را می‌توان بهتر مشاهده کرد.



شکل شماره ۲نرخ بقا سلولی در بکارگیری هایپرترمیا با دمای ۴۲ درجه در مدت زمان‌های مختلف

(a-d) زمان ۲۴: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

(A-E) زمان ۴۸: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

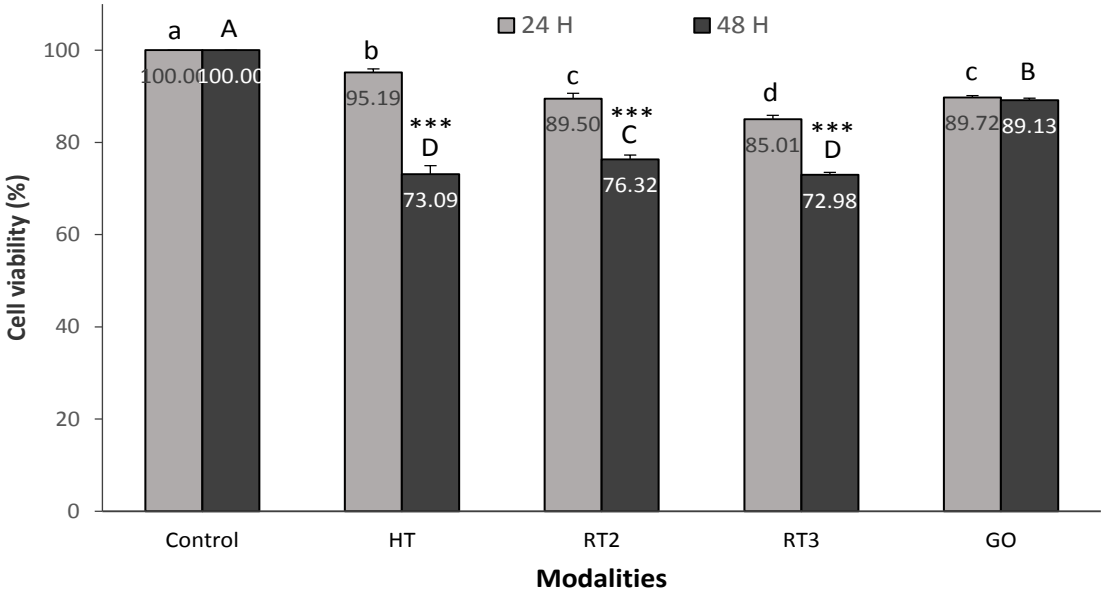
*** $P<0.001$ (مقایسه بین ۲۴ و ۴۸ H)

بررسی درمان با یک روش

شکل (۳) نرخ بقا سلول را در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از درمان یک روش برای اکسید گرافن، هایپرترمیا و دو دوز پرتودرمانی مقایسه می‌کند. مقایسه نتایج نشان می‌دهد که تفاوت قابل توجهی در زنده ماندن سلول برای هایپرترمیا و رادیوتراپی با دوز ۲ Gy و رادیوتراپی با دوز ۳ Gy برای مورد ۴۸ ساعت بعد از درمان وجود ندارد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]



شکل شماره ۳ نرخ بقا سلولی در بکارگیری درمان تکی در بازخوانی ۲۴ ساعه و ۴۸ ساعت پس از درمان

(a-d) زمان ۲۴: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

(A-E) زمان ۴۸: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

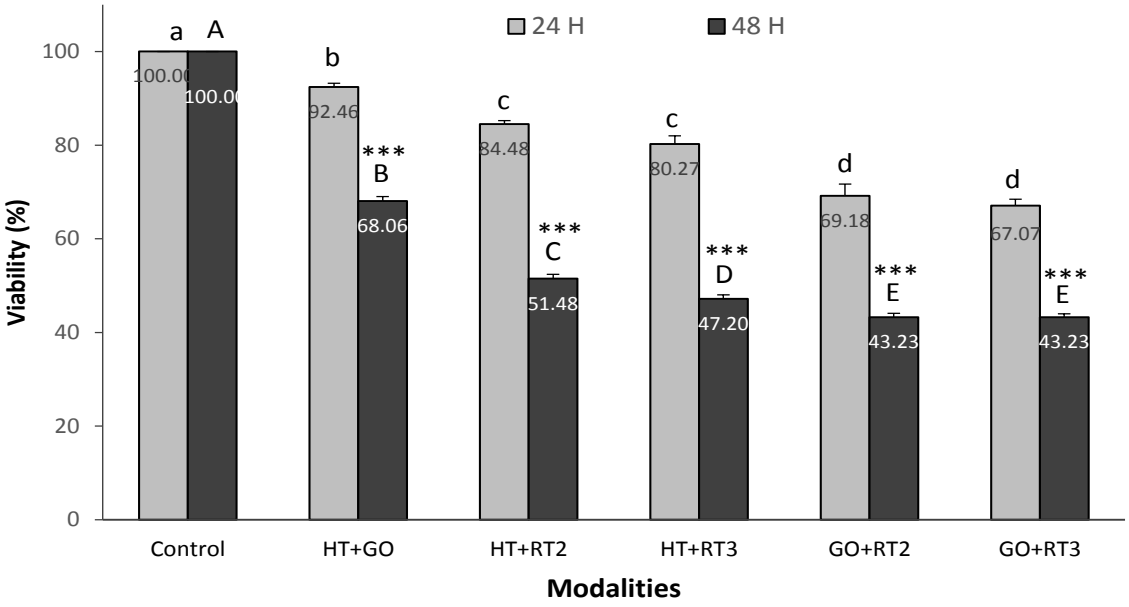
*** $P<0.001$ (مقایسه بین ۲۴ و ۴۸ H)

مطالعه روش‌های درمانی ترکیبی

مطابق شکل ۴، نتایج شمارش نرخ بقا سلول ۲۴ ساعت پس از درمان برای هایپرترمیا+رادیوتراپی با دوزGy ۲ و هایپرترمیا +رادیوتراپی با دوزGy ۳ تفاوت معنی داری نسبت به یکدیگر ندارد. شباهت نتایج بین اکسید گرافن+رادیوتراپی دو Gy و اکسید گرافن + رادیوتراپیGy ۳ مشاهده شده است. با این حال، به نظر می‌رسد که گروه‌های دیگر در سطح معناداری ۰/۰۵. بسیار متفاوت هستند. در بازخوانی ۴۸ ساعته، آزمایش MTT نتایج تقریباً یکسانی برای گروه‌های درمانی اکسید گرافن+رادیوتراپیGy ۲ و اکسید گرافن + رادیوتراپیGy ۳ نشان داد. گروه های دیگر به طور قابل توجهی نتایج متفاوتی دارند. در درمان ترکیبی سه حالته نتیجه ۲۴ ساعته هایپرترمیا+اکسید گرافن+ رادیوتراپی Gy 2 بسیار شبیه به هایپرترمیا+اکسید گرافن+ رادیوتراپی ۳ Gy است. بنابراین این نتایج قابل مقایسه نیستند. در این را ستا، نتایج ۴۸ ساعته برای گروه‌های ذکر شده نیز تفاوت معنی داری نسبت به یکدیگر ندارند. برای سادگی، مشاهده کمی به نتیجه بقای سلول در شکل ۵ نشان داده شده است. اما نکته حائز اهمیت که در مورد آن بحث خواهد شد گروه درمانی سه ترکیبی است که نتایج نرخ بقا آن بسیار موثر واقع شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

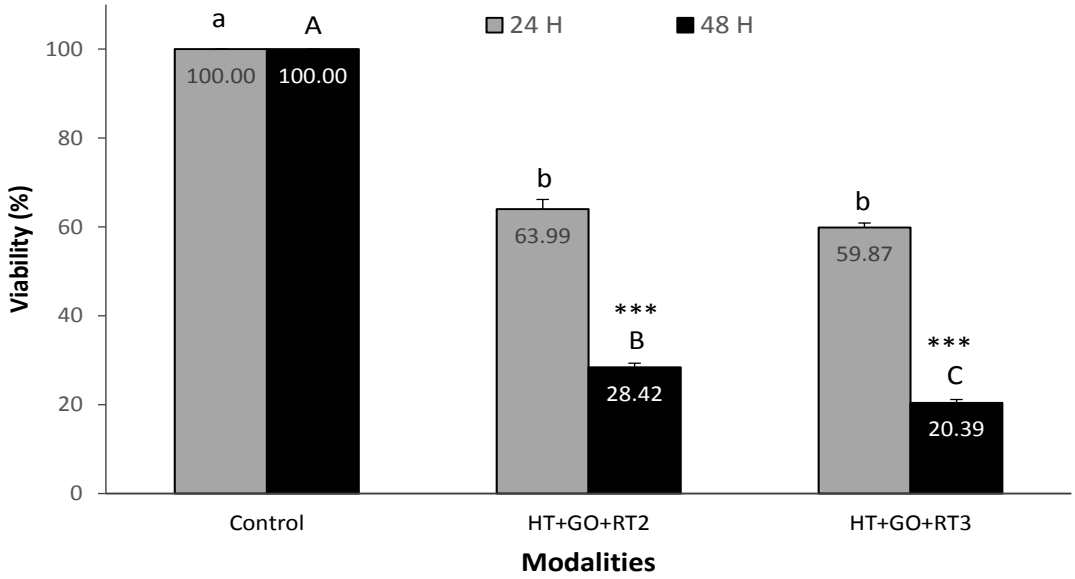


شکل شماره ۴ مقایسه‌ی اثر درمان ترکیبی دو حالته در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از درمان

(a-d) زمان ۲۴: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

(A-E) زمان ۴۸: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

*** $P<0.001$ (مقایسه بین ۲۴ و ۴۸ H)



شکل شماره ۵ میزان تاثیر درمان سه حالته در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از درمان

(a-d) زمان ۲۴: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

(A-E) زمان ۴۸: گروه هایی که با حرف یکسان تعیین شده اند در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند.

*** $P<0.001$ (مقایسه بین ۲۴ و ۴۸ H)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

بحث

نقطه عطف ترکیب پرتودرمانی با هایپرترمیا در پژوهش حاضر به سال ۲۰۰۰ میلادی برمی‌گردد (۳۰). در حقیقت هایپرترمیا سلول‌های سرطانی را که تابش یون ساز نمی‌تواند از بین ببرد، در شرایط کمبود اکسیژن دچار آسیب جدی می‌کند و به نوعی در جایی که تابش یونساز نمی‌تواند اثر کند این درمان اثر کرده و سبب کشته شدن نوع سلول می‌شود (۱۱). و این مهم منجر به بهبود نتایج پرتودرمانی خواهد شد. مشاهدات تجربی در تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ترکیب هایپرترمیا با اکسید گرافن می‌تواند انتخاب موفقی باشد. اکسید گرافن موضوع تحقیقات گسترده‌ای در زمینه درمان‌های ترکیبی و تشخیص برای مبارزه با سرطان بوده است (۲۱). برای درمان تک حالته، همان‌طور که نشان داده شد بر اساس دوزهای انتخابی هر درمان، تاثیر چندان موفقی جهت از بین بردن سلول‌ها نداشتند که این موضوع هم به دلیل انتخاب شدت دوز هم به دلیل مقاومت ذاتی نوع سلول در سرطان پانکراس است. به طور کلی تمایل به ترکیب روش‌های درمانی به منظور کاهش دوز، ویژگی مداخله‌گر و در نتیجه کاهش عوارض جانبی هر درمان، همواره وجود دارد. لذا، اولین مرحله از مطالعه حاضر می‌تواند به ما نشان دهد که هایپرترمیا با افزایش مدت زمان درمان می‌تواند موثرتر باشد که این موضوع نیز در مطالعات دیگر نیز دیده شده است (۳۱)، اما برعکس، عوارض جانبی به طرز چشمگیری افزایش خواهد بافت، چنانچه با استفاده از این روش درمانی در ۹۰ دقیقه برای ۴۲ درجه سلسیوس از نظر بالینی غیر ممکن خواهد بود. مشاهده شده است که ۱۵ دقیقه زمان درمان در ۴۲ درجه سلسیوس می‌تواند انتخاب بهینه در آزمایشات فعلی و حتی بالینی باشد. در حقیقت این مدت زمان درمان، به نوعی قابل درک برای شرایط بالینی است. در ابتدا قصد آن داریم تاثیر هر درمان به تنهایی را مورد بحث قرار داده سپس درمان‌های ترکیبی آن‌ها را ارزیابی و با سایر مطالعات مقایسه کنیم. به طور طبیعی، هایپرترمیا آپوپتوز سلول و پاسخ سیستم ایمنی بدن را افزایش می‌دهد و جریان خون را تحریک می‌کند. مهمترین عامل از بین بردن بافت سرطانی، نکروز مستقیم سلول با دمای بحرانی است که از ۴۱ درجه سلسیوس تا ۴۵ درجه سلسیوس افزایش می‌یابد (۱۱،۴۱).

در نتیجه، انتظار می‌رود که دمای ۴۲ درجه سلسیوس یک درجه حرارت بحرانی باشد و حدود ۳۰٪ مرگ و میر و میر سلول‌ها در ۴۸ ساعت پس از درمان ترکیبی می تواند یک اثر سلولی مستقیم توسط هایپرترمیا به دلیل نکروز باشد (۱۴). با این حال این یک نتیجه مشخص نیست، مطالعه نیاز به بررسی بیشتر دارد. در تحقیق حاضر نرخ بقا سلول فقط در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت اندازه گیری شد. این مدت زمان به عنوان شاخص اثربخشی درمان در مرگ میر سلول‌ها به حساب می‌آید (۳۳). هایپرترمیا حتی می‌تواند بر غشای سلول و نفوذ پذیری آن به مولکول‌ها و نانوذرات تأثیر بگذارد (۱۱)، که استفاده از نانو ذرات مانند اکسید گرافن در این آزمایش برای ما مطلوب است. علاوه بر این، درمان حرارتی می‌تواند سلول‌ها را نسبت به پرتودرمانی حساس کند. اگرچه مرگ سلول از طریق مکانیسم‌های مختلف در هایپرترمیا و اکسید گرافن انجام می‌شود، اما درصد زنده ماندن سلول در اکسید گرافن با دوزppm ۳۰ بسیار نزدیک به هایپرترمیا ۱۵ دقیقه در ۴۲ درجه سلسیوس است. در مطالعه ای دیگر تجزیه و تحلیل در سطح ژن نشان داد که ژن های مربوط به تنظیم رشد سلول و آپوپتوز، پاسخ به سطح اکسیژن و هایپوکسی و فرایندهای متابولیکی ممکن است به دلیل وجود اکسید گرافن تنظیم شوند (۳۴). علاوه بر این، شکل و اندازه اکسید گرافن می تواند بر زنده ماندن سلول تأثیر بگذارد، مشروط بر نفوذ اکسید گرافن از غشا سلول، اکسید گرافن قادر است به اجزای سلول متصل شود که در پی آن به عملکرد سلول آسیب رسیده تا جایی که باعث مرگ سلول می شود (۳۵). با مشاهده نتایجی که در اینجا گزارش می شود، غلظت بیشتر اکسید گرافن از طریق نفوذ آن به غشای سلولی سمیت سلولی بیشتری ایجاد می کند (۳۶). برای ایجاد تعادل بر اساس اصل کلی در هر درمان فی ما بین آسیب و منفعت در این نوع درمان ، اکسید گرافن با دوزppm ۳۰ تجویز شد.از طرفی این دوز نرخ مرگ سلولی قابل توجهی ندارد و به سهولت امکان بررسی و نرخ مرگ سلولی سایر درمان‌های ترکیبی در این مطالعه را نیز می تواند نشان دهد. شایان ذکر است که در میان گزینه های درمان تک حالته و پس از ۲۴ ساعت، رادیوتراپی با دوزGy ۳ بسیار کارآمدتر از دیگر درمان‌ها است (شکل ۳) اما بعد از ۴۸ ساعت تفاوت آن با هایپرترمیا و رادیوتراپی با دوز Gy ۲ تقریبا ناچیز است. در حالی که در ادامه مطالعه در ۴۸ ساعت پس از درمان نتیجه هایپرترمیا بسیار شبیه رادیوتراپی با دوزGy ۳ است و تفاوت معنی داری ندارد. اثر تأخیری که در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از درمان مشاهده شد، ممکن است به زمان دو برابر شدن سلول ، مانع در انتقال اکسید گرافن از طریق غشای سلول و صدمه به

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

میتوکندری، و همچنین زمان مورد نیاز برای ترشح پروتئین-های شوک گرمایی نسبت داده شود (۳۷) در تمام گروه‌های درمانی اثرات نرخ بقا توسط اکسیدگرافن در ۲۴ ساعت یا ۴۸ ساعت، نرخ بقا سلولی به طور نزدیک مشابه بود. برای درک درمان ترکیبی و اثربخشی آن، در هر دو مورد ۲۴ ساعته و ۴۸ ساعته بهترین نتیجه برای از بین بردن سلول‌های سرطانی در میان گزینه‌های دو روش اکسید گرافن+رادیوتراپی با دوزGy ۲ و اکسید گرافن+رادیوتراپی با دوزGy ۳ بود. با این وجود ، تفاوت معناداری بین دو گروه مشاهده نشد. بنابراین، دوزGy ۲ برای عملیاتی‌تر بودن بالینی توصیه می‌شود. همانند مطالعه روش تک درمانی، مشاهدات تفاوت‌هایی را در طول زمان نشان می‌دهد. در ۴۸ ساعت تمام درمان‌ها از بین بردن سلول‌های قابل توجهی را نشان داد و این بدان معنی است که تمام درمان های با گذشت زمان اثر بهتری دارند. نتایج حاصل از ترکیب هایپرترمیا +اکسید گرافن و هایپرترمیا+رادیوتراپی با دوز Gy۲ یا هایپرترمیا+رادیوتراپی با دوز ۳ Gy کاملاً راضی کننده بوده است. در این روش درمانی می‌توان دریافت که هایپرترمیا نمی‌تواند گزینه مناسبی برای ترکیب با اکسیدگرافن باشد اما می‌تواند گزینه مناسبی در ترکیب با رادیوتراپی باشد همان‌طور که در زمان ۴۸ ساعته در شکل شماره ۴ نشان می‌دهد. در همان شکل، مشاهده شده است که، نتایج حاصل از گروه‌های درمانی هایپرترمیا به دوز تابش در رادیوتراپی (۳۸) بستگی دارد و با افزایش دوز تابش ازGy 2 به۳ Gy به نسبت متناسب اثر کشندگی نیز افزایش می‌یابد. با این حال، این اثر اکسیدگرافن و تغییرات در دوز رادیوتراپی و بقای سلول نمی‌تواند همواره صادق باشد و می‌توان این موضوع را در شکل (۴) و شکل (۵) دریافت.بر اساس نتایج بدست آمده هایپرترمیا، حداقل تا ۴۲ درجه سلسیوس، برای ترکیب با اکسیدگرافن گزینه موثری نیست. درحالی که آزمایش‌ها به سمت گزینه‌های ترکیبی بیشتر انجام شده، مشخص گردید، رادیوتراپی در ترکیب با اکسیدگرافن توانایی کشتن سلول را دو برابر می‌کند. این موضوع در شکل (۳) و شکل (۴) نشان داده شده است. این بدان معناست که سلول‌ها به گونه‌ای آسیب می‌بینند که گویا نه بلافاصله بلکه با ۴۸ ساعت تأخیر می‌میرند. در واقع، آسیب سلولی به شکلی است که سلول نمی‌توانند به حالت طبیعی برگردد. با بررسی ساختار شیمیایی اکسیدگرافن یک نکته کلیدی را می‌توان درک کرد که این نانو ذره می‌تواند رادیکال‌های آزاد را در محیط سلول تولید کند به شرطی که با اشعه یون ساز در رادیوتراپی برخورد کند. در همین حال، سطح مقطع کوچک آنها سبب آن می-شود که سلول سرطانی آن را جذب کند (۲۱). از این رو اکسیدگرافن به‌طور قطعی می‌تواند به عنوان یک حساس کننده اشعه به کار گرفته شود. همچنین در اثر جذب در غشا التهاب سلولی ایجاد کرده و سبب آسیب به سلول می-شود(۴۸).

نکته جالب این است که تغییر دوز اشعه X ازGy 2 به۳ Gy نتایج را به طور قابل توجهی تغییر نمی‌دهد. این بدان معنی است که حتی با دوز کمتری از تابش ایکس نیز می‌توان سبب آزاد سازی رادیکال آزاد شد(۴۰،۴۲).

گروه درمانی نهایی، مهم‌ترین هدف این تحقیق، ترکیب هر سه روش با هم است. مشاهدات در آزمایش‌ها نشان می‌دهد که میزان بقای سلول‌های سرطانی نسبت به سایر ترکیبات بررسی شده با اختلاف $P<0.001$ به طور کلی کم تر گزارش می‌شود. طبق نتایج، درمان ترکیبی از هایپرترمیا + رادیوتراپی + اکسیدگرافن بالاترین میزان مرگ و میر را در سلول‌های سرطانی پانکراس ایجاد می‌کند اما میزان آسیب به سلول‌های طبیعی موجود در اندام برای تحقیقات بعدی باقی خواهد ماند. بنابراین تجزیه و تحلیل خطر در مقابل سود همچنان نیازمند آزمایش‌های بعدی خواهد بود. شکل (۵) ترکیب اکسیدگرافن، رادیوتراپی و هایپرترمیا می‌تواند درک بهتری از مرگ سلول به ما بدهد.

پیامدهای معنی داری در سطح $P<0.001$ در همه‌ی نتایج، به خصوص در ۴۸ ساعت پس از هر درمان وجود دارد. تمام درمان‌ها تأخیر عملکردی در زنده ماندن سلول‌های سرطانی را نشان داده‌اند. نتایج فوق ثابت می‌کند که میزان بقا در ۴۸ ساعت پس از درمان هم در مطالعه‌ی رادیوتراپی با دوزGy ۲ و هم به میزان قابل توجهی کمتر از ۲۴ ساعت است، تفاوت در مورد دوز بالاتر بیشتر است. بهترین و مطلوب ترین نتیجه با ترکیب هر سه روش درمانی هنگام استفاده از رادیوتراپ Gy و مطالعه ۴۸ ساعت پس از درمان به دست آمد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

نتیجه گیری

اکسید گرافن در ترکیب با پرتودرمانی اثر حساسیت رادیویی را در رده‌های سلولی سرطان پانکراس، به ویژه در ترکیب با هایپرترمیا نشان می‌دهد. اگرچه اثر هم افزایی اکسید گرافن با انرژی زیاد ایکس یا فوتون گاما هنوز سوال برانگیز است، اما با توجه به نتایج آزمایشات، تاثیر هم افزایی گزارش می‌شود. همچنین به عنوان یک روش کمکی، پرتودرمانی با دوز۲ Gy تفاوت معنی داری با۳ Gy نشان نداد.

سپاسگزاری

برخود لازم میدانیم مراتب تشکر و قدردانی از پژوهشگاه رویان و بیمارستان فجر که میزبان فاز عملی این تحقیق بودند را اعلام نمائیم.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

منابع

1. Haller, D.G. New perspectives in the management of pancreas cancer. *Seminars in oncology,* 2003; 30 S. 11: 3-10.
2. Ogawa, K.; Karasawa, K.; Ito, Y.; Ogawa, Y.; Jingu, K.; Onishi, H. Hiroshi Onishi,; et al. Intraoperative radiotherapy for resected pancreatic cancer: a multi-institutional retrospective analysis of 210 patients, *Int. J. of Rad. Oncol. Biol. Phys*, 2010; 77: 734-742.

3. Vincent, A.; Herman, J.; Schulick, R.; Hruban, R.H.; Goggins, M. Pancreatic cancer, *The Lancet,* 2011;378: 607-620.
4. Goral, V., Pancreatic cancer: Pathogenesis and diagnosis. *Asian Pac J. Cancer Prev.*, 2015, 16, 5619-24.

5. Horst, A.; Versteijne, E.; Besselink, M.; Daams, J.; Bulle, E.; Bijlsma, M.; Wilmink, J.; Delden, O.; Hooft, J.; Franken, N.; Laarhoven, H.; Crezee, H.; Tienhoven, G. The clinical benefit of hyperthermia in pancreaticcancer:asystematicreview.*Int.J.Hyperthermia*,2018;34:969–979. 10.1080/02656736.2017.1401126.

6. Le, N.; Sund, M.; Vinci, A.; Prognostic and predictive markers in pancreatic adenocarcinoma, *Dig. Liver Dis,* 2016; 48: 223-30.

7. Gall, T.M.; Tsakok, M.; Wasan, H.; Jiao, L.R. Pancreatic cancer: current management and treatment strategies. *Postgraduate Medical Journal*, 2015; 91: 594-600. doi: 10.1136/postgradmedj-2014-133161.

8. Hazard, L.J.G. The role of radiation therapy in pancreas cancer. *Gastrointest*. *Cancer Res*, 2009; 3: 20–28.

9. Petrelli, F.; Comito, T.; Ghidini, A.; Torri, V.; Scorsetti, M.; Barni, S. Stereotactic Body Radiation Therapy for Locally Advanced Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Pooled Analysis of 19 Trials. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys,* 2017; 97: 313–322.

10. Datta, N.R.; Ordonez, S.G.; Gaipl, U.S.; Paulides, M.M.; Crezee, H.; Gellermann, J. *et al*. Local hyperthermia combined with radiotherapy and/or chemotherapy: recent advances and promises for the future. *Cancer Treat*. *Rev,* 2015; 41: 742–53.

11. Rao, W.; Deng, Z.S.; Liu, J.; A review of hyperthermia combined with radiotherapy/chemotherapy on malignant tumors, *Crit. Rev. Biomed. Eng*, 2010; 38: 101-116.

12. Alexander, A.A. *Tripartite treatment by radiation, hyperthermia and anti-OX40 immunotherapy potentiates tumor growth delay and tumor microenvironment immunomodulation in pancreatic Cancer*, M.Sc. Thesis, University of Maryland, Baltimore, 2017.
13. Mahmood, J.; Shukla, H.; Soman, S.; Santanu, S.; Singh, P.; Kamlapurkar, S.; Saeed, A.; Amin, N.; Vujaskovic, Z. , Immunotherapy, radiotherapy and hyperthermia: A combined therapeutic approach in pancreatic cancer treatment. *Cancers*, 2018; 10: 469.

14. Kaur, P.; Hurwitz, M.D.; Krishnan, S.; Asea, A. Combined hyperthermia and radiotherapy for the treatment of cancer. *Cancers,* 2011; 3: 3799-3823.

15. Konings, A.W.T. Interaction of heat and radiation in vitro and in vivo in*: Thermoradiotherapy and thermochemotherapy*; Fessenden P., Vernon C.C., Eds. Springer, 1995; 89-102.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

16. De Haas-Kock D.F.M.; Buijsen, J.; Pijles-Johannesma, M.; Lutgens, L.; Lammering, G.;Van Mastrigt, A.P.G.; *et al*., Concomitant hyperthermia and radiation therapy for treating locally advanced rectal cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews,* 2009; Issue 3. Art. No.: CD006269: DOI: 10.1002/14651858.CD006269.pub2

17. Shibamoto, Y.; Nishimura, U.; Abe M. Intraoperative Radiotherapy and Hyperthermia. *Hepatogastroenterology.,* 1996; 43: 326-332.

18. Roesch, M.; Mueller-Huebenthal, B. Review: the role of hyperthermia in treating pancreatic tumors. *Indian J. Surg. Oncol.,* 2015; 6: 75-81.

19. Liu, J.; Cui, L.; Losic, D.; Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications. *Acta Biomateriala*, 2013; 9(12): 9243-9257. doi.org/10.1016/j.actbio

20. Ma, Y.; Sun, L.; Huang, W.; Zhang, L.; Zhao, J.; Fan, Q.; Huang, W. Three-dimensional nitrogen-doped carbon nanotubes/graphene structure used as a metal-free electrocatalyst for the oxygen reduction reaction. *J. Phys. Chem. C*, 2011; 115: 24592–24597.

21. Viseu, T.; Lopes, C.M.; Fernandes. E.; Oliveira M.E.; Lúcio, M. A systematic review and critical analysis of the role of graphene-based nanomaterials in cancer theranostics. *Pharmaceutics,* 2018; 10: 282, doi:10.3390/pharmaceutics10040282.

22. Gautam, S. Graphene Oxide: A Potential Drug Carrier for Cancer Therapy—Review. *Res. Rev. A J. Pharm. Sci*, 2018; 8(3): 20-31.

23. Stankovich S.; Dikin D.A.; Dommett, G. H.B; Kohlhaas, K.M.; Zimney, E.J.; Stach, E.A., *et al*, Graphene-based composite materials, *Nature*, 2006; 442: 282–286.

24. Tadyszak, K.; Wychowaniec, J.K.; Litowczenko, J. Biomedical applications of graphene-based structures. *Nanomaterials,* 2018; 8: 11.

25. Tang, L.; Li, X.; Ji, R.; Teng, K.S.; Tai, G.; Ye, J.; Wei, C.; Lau, S.P. Bottoms-up synthesis of large-scale graphene oxide nanosheets. *J. Mater. Chem.,* 2012; 22: 5676-5683.

26. Jalili-Firoozinezhad, S.; Moghadam, M. H. M.; Ghanian, M. H.; Ashtiani, M. K.; Alimadadi, H.; Baharvand, H.; Martin, I.; Scherbericha, A. Polycaprolactone-templated reduced-graphene oxide liquid crystal nanofibers towards biomedical application. *RSC Adv*. 2017; 7:39628−39634.

27. Mohit Chaudhary1, R.S. Sengar, Vaishali, M.K. Yadav, Mukesh Kumar and Pushpendra Kumar ; SYN THE SIS AND CHAR AC TER IZA TION OF GRAPHENE OX IDE, 2018; Agric. 19 (1) : 158-160.

28. Aliyev, E.; Filiz, V.; Khan, M.M.; Lee, Y.J.; Abetz, C.; Abetz, V. Structural Characterization of Graphene Oxide: Surface Functional Groups and Fractionated Oxidative Debris. Nanomaterials 2019; 9: 1180. https://doi.org/10.3390/nano9081180

29. Kumar, P.; Nagarajan, A.; Uchil, P.D. Analysis of cell viability by the lactate dehydrogenase assay. *Cold Spring Harb. Protoc*. 2018.

30. van der Zee J.; Gonzalez Gonzalez, D.; van Rhoon G.C.; van Dijk J.D.; van Putten W.L.; Hart, A.A. Comparison of radiotherapy alone with radiotherapy plus hyperthermia in locally advanced pelvic tumors: a prospective, randomised, multicentre trial. Dutch Deep Hyperthermia Group. *Lancet*. 2000; 355(9210): 1119–25.

31. Hildebrandt, B.; Wust, P.; Ahlers, O.; Daeing, A.; Sreenivasa, G.; Kerner, T.*et al*., The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.,* 2002;43: 33-56.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]

32. Cherukuri, P.; Glazer, E.S.; Curley, S.A. Targeted hyperthermia using metal nanoparticles. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2010; 62: 339-345.

33. Mittal S.; Kumar V.; Dhiman N.; Chauhan L.K.S.; Pasricha R.; Pandey A. K. Physico-chemical properties based differential toxicity of graphene oxide/reduced graphene oxide in human lung cells mediated through oxidative stress, *Sci. Rep.,* 2016; doi: 10.1038/srep39548.

34. Chang, Y.; Yang, S.T.; Liu, J.H.; Dong, E.; Wang, Y.; Cao, A.; Liu, Y.; Wang, H. In vitro toxicity evaluation of graphene oxide on A549 cells. *Toxicol. Lett.,* 2011; 200:201-10.

35. Wang, S.; Zhang, Q.; Luo, X.F.; Li, J.; He, H.; Yang, F.; Di, Y.; Jin, C; et al. Magnetic graphene-based nanotheranostic agent for dual-modality mapping guided photothermal therapy in regional lymph nodal metastasis of pancreatic cancer. *Biomaterials*. 2014; 35: 9473-83, 26.

36. Yang, D.; Feng, L.; Dougherty, C.A.; Luker, K.E.; Chen, D.; Cauble, M.A.; *et al*. In vivo targeting of metastatic breast cancer via tumor vasculature-specific nano-graphene oxide. *Biomaterials.* 2016;104: 361-371.

37. Ahmed, K.; Zaidi, S.F.; Rehman, M.R.; Rehman, R.; Kondo, T. Hyperthermia and protein homeostasis: cytoprotection and cell death. *J. Therm. Biol.,* 2020; 91: 102615.

38. Maluta, S.; Schaffer M.; Pioli, F.; Dall'Oglio, S.; Passeto, S.; Schaffer, P.M. *et al*.,Regional hyperthermia combined with chemoradiotherapy in primary or recurrent locally advanced pancreatic cancer, *Strahlenther. Onkol.,* 2011; 187: 619.

39. Yue, H.; Wei, W.; Yue, Z.; Wang, B.; Luo, N.; Gao, Y. *et al*. The role of the lateral dimension of graphene oxide in the regulation of cellular responses. *Biomaterials.*2012;33:4013-4021. doi:10.1016/j.biomaterials.

40. Liu, Y.; Luo, Y.; Wu, J.; Wang, Y.; Yang, X,; Yang, R. *et al*. Graphene oxide can induce in vitro and in vivo mutagenesis, *Sci. Rep.,* 2013; 3: 3469.

41. Robinson, J.T.; Tabakman, S.M.; Liang, Y.; Wang, H.; Casalongue H.S.; Vinh, D.; Dai, H. Ultrasmall reduced graphene oxide with high near-infrared absorbance for photothermal therapy. *J. Am. Chem. Soc,* 2011; 133: 6825-6831.

42. Podolska, M.J.; Barras, A.; Alexiou, C.; Frey, B.; Gaipl, U.; Boukherroub, R.; Szunerits, S.; Janko C.; Muñoz, L.E. Graphene oxide nanosheets for localized hyperthermia—physicochemical characterization biocompatibility, and induction of tumor cell death, *cells*, 2020; 9: 776.

43. Ahmad, N.; Kaur, G. Astudy of population dynamics of normal and immune cells in presence of tumor cells. *Int. J. Sci. Eng. Res*, 2013; 4(4): 770 – 775.

44.Yin, F.; Hu, K.; Chen, Y.; Yu, M.; Wang, D.; Wang, Q. *et al*. SiRNA Delivery with PEGylated graphene oxide nanosheets for combined photothermal and genetherapy for pancreatic cancer. *Theranostics*, 2017; 7: 1133-48.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.4.6]