Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2020 ;Vol.44; No 2

Investigating The Possibility Of Using Gold Nanoparticles For Early Detection Of Prostate Cancer

Mohamad Vahid AhmadianPour[1], Seyed Jawad Mowla[2], Fattah Sotoodehnejadnematalahi [1], Jamshid Raheb[*3]

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Molecular Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran
3. Molecular Medicine Group, National Institute of Genetics Engineering and Biotechnology ,Tehran

(Received: 2019/08/18 Accept: 2019/10/16)

Abstract

Background:*studies Studies that have been testedinvestigated on the blood of prostate cancer patients by using DLS method and examining the changes of protein size have shown the sensitivity of the method, but so far, this method has not been investigated in Iran so far; therefore, the present study was conducted , but this method is intended to determine the prostate cancer among Iranian patients by using gold nanoparticles.*

Materials and Methods: *In this the present study, descriptive study, method was used. Sserum samples were obtained fromof 60 Iranian men aged between 40 and 90, consisting includingof 20 healthy samples, 20 samples with hyperplasia, and 20 samples with prostate cancer. Optical scattering changes were measured by using DLS of the surface of gold nanoparticle blended with these tubes, and the responses were compared with the PSA index. testThe results are were analyzed performed using theusing t - test and anova ANOVAtests.*

Findings: *based Based on the results of this the present study , there was is no significant difference between the two groups ($p > 0.05$) and. the no relationship was found between the amount of light scattering and serum level of psa was not found .*

Conclusion: *It seems that performing this test requires advanced equipment to keep the temperature constant as well as DLS limitations for the diagnosis of prostate cancer. This test may not be a simple and accurate method for early detection of this cancer and it is suggested that other methods be used to diagnose it.*

Keywords: *Au-NPs, ; Cancer, ; Prostate, ; Early Detection, ; DLS*

* *Corresponding authors:Jamshid Raheb*
E-mail:jam@nigeb.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-01-29]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دور ٤٤، شماره ٢، ١٣٩٩، صفحات ٣٦٦ تا ٣٧٢

بررسی امکان استفاده از نانوذرات طلا برای تشخیص زودهنگام سرطان پروستات

محمدوحید احمدیانپور[1]، سیدجواد مولا[2]، فتاح ستوده نژاد نعمت اللهی[1]، جمشید راهب[3*]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد علوم وتحقیقات ، گروه تخصصی زیست شناسی ، تهران ، ایران
۲- دانشگاه تربیت مدرس ، دانشکده علوم پایه ، دانشکده علوم زیستی ، تهران ، ایران
۳- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری ، گروه پزشکی مولکولی ، تهران ، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۵/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۷/۲۴

چکیده:

سابقه و هدف: مطالعه‌هایی که در گذشته روی خون مبتلایان به سرطان پروستات با استفاده از روش *DLS* و بررسی تغییرهای اندازه پروتئین کرونا انجام شده، نشان داده است که این آزمایش با اختصاصیت و حساسیت زیاد، کاربردی است، اما این روش در ایران تاکنون بررسی نشده بود و بنابراین در این مطالعه قصد بر این است تا با انجام این روش توسط نانوذره طلا، به تشخیص سرطان پرستات در بین بیماران ایرانی بپردازیم.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش توصیفی انجام شد. سرم خون ۶۰ مرد ایرانی با سن بین ۴۰ تا ۹۰ سال شامل ۲۰ نمونه سالم، ۲۰ نمونه مبتلا به خوش‌خیمی و ۲۰ نمونه مبتلا به سرطان پروستات جمع‌آوری شد. تغییرهای پراکنش نوری توسط *DLS*از سطح نانوذرات طلا مخلوط شده با این سرم‌ها اندازه‌گیری شده و پاسخ‌ها با شاخص *PSA* افراد مقایسه شد. تحلیل نتایج نسبت *D2/D1* با استفاده از آزمون های *t-test & ANOVA* انجام شد.

یافته‌ها: بعد آزمون‌های آماری تفاوت معناداری در اندازه ساختار پروتوئین کرونا در بین سه گروه مردان مبتلا به سرطان و مردان مبتلا به خوش‌خیمی و مردان سالم مشاهده نشد. ارتباط بین میزان پراکنش نور و سطح سرم PSA نیز یافت ن شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد از آنجا که انجام این آزمون نیاز به تجهیزات پیشرفته ثابت نگه داشتن دما دارد و همچنین محدودیت‌هایی *DLS* برای تشخیص سرطان پروستات این آزمون نمی‌تواند روشی ساده و دقیق برای تشخیص زودهنگام این سرطان باشد، پیشنهاد می‌شود از روش‌های دیگری برای تشخیص استفاده شود.

واژگان کلیدی: نانوذره طلا، سرطان، پرستات، تشخیص زودهنگام، پراکنش فعال نور

مقدمه:

رشد غیرطبیعی، تکثیر پیوسته و نامتوازن نسبت به نرخ مرگ سلولی به‌عنوان سرطان شناخته می‌شود. این بیماری، یک اختلال ژنتیکی است که به دلیل به وجود آمدن جهش در DNA سلولی اتفاق می‌افتد و انواع سلول‌های بدن را مبتلا می‌کند. سرطان انواع تومورهای سلولی را نیز شامل می‌شود. در مردان، شایع‌ترین نوع سرطان، مربوط به پروستات است. بر اساس آخرین آمار منتشر شده در سال ۲۰۱۰، ۲۸ درصد موارد تشخیص داده شده، سرطان پروستات بوده و دومین دلیل مرگ و میر را پس از سرطان ریه با شیوع ۲۹ درصد به خود اختصاص داده است. مطالعه‌های اپیدیمولوژی نشان داده است که احتمال ابتلا به سرطان پروستات با افزایش سن، بیشتر شده و از هر شش مرد، یک نفر در طول زندگی به سرطان پروستات مبتلا می‌شود. این بیماری اغلب تا سن ۴۰تا۵۰ سالگی تشخیص داده نمی‌شود. تشخیص برپایه کشف نشانه‌های مولکولی یکی از روش‌های نوین تشخیص در پزشکی است. از مزیت‌های این روش، غیرتهاجمی بودن و اختصاصیت آن‌هاست. اما برای بیشتر سرطان‌ها، روش‌های تشخیص مولکولی غیرتهاجمی برای تشخیص زودهنگام سرطان یا وجود ندارد یا هنوز در مراحل اولیه آزمایش است. آنچه به‌طور شایع استفاده می‌شود، آزمون‌های بالینی مانند کولونوسکوپی برای سرطان روده، ماموگرافی برای سرطان سینه، سی تی اسکن (CT SCAN) برای سرطان ریه است. مشکل این روش‌ها، اختصاصیت و حساسیت‌های پایین برای تشخیص زودهنگام بوده و برخی از آن‌ها تا حدی نیز تهاجمی هستند. روش‌های تهاجمی و نیمه‌تهاجمی، روندی سخت، زمانبر و در مواردی هم پرهزینه همراه با خطر بالا برای بیمار و سیستم بهداشتی-درمانی محسوب می‌شوند(۱).

در حال حاضر از سه شاخص برای تشخیص سرطان پروستات استفاده می‌شود. آزمون سنجش میزان آنتی‌ژن اختصاصی پروستات در خون (PSA: Prostate

نویسنده مسئول: جمشید راهب
پست الکترونیک : *jam@nigeb.ac.ir*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-01-29]

Specific Antigen)، آزمایش رقمی راست روده (DRE :Digital Rectal Examination) و همچنین شاخص میزان گلیسون (GS : Gleason Score) که با نمونه برداری مستقیم از بافت پروستات به دست می‌آید(۲).

اما هیچ یک از این شاخصه‌ها معیار دقیقی برای تشخیص زودهنگام سرطان پروستات و همچنین امکان تمایز بین تومورهای موضعی و تومورهای تهاجمی که امکان تهاجم به بافت‌های اطراف و گسترده شدن در بدن را دارند به دست نمی‌دهند. شاخص PSA، که در حال حاضر بیشترین کاربرد را در کنار شاخص GS در تشخیص سرطان پروستات دارد، با محدودیت‌هایی مواجه است(۲). به‌عنوان مثال پاسخ منفی کاذب در ۱۵درصد از افرادی که سطح PSA آن‌ها در نمونه‌گیری خون از سطح معین ۴ng/ml کمتر بود، گزارش شده است. این افراد در نمونه‌برداری بافتی (Biopsy) مبتلا به سرطان پروستات تشخیص داده شدند. همچنین پاسخ‌های مثبت کاذب در بین نمونه‌برداری‌ها وجود داشته است. افرادی که دارای بزرگ‌شدگی پروستات هستند هم سطوح بالای PSA درخون‌شان گزارش شده است. این نکته حائز اهمیت است که افزایش کاذب میزان PSA در خون افراد خود می‌تواند به نمونه‌برداری‌های بافتی غیرضروری و حتی تشخیص اشتباه منجر شود. در گزارش‌های آسیب‌شناسی بعد عمل جراحی آمده است که ۳۰درصد از تومورهایی که به روش برداشتن پروستات با عمل جراحی حذف شده‌اند، از لحاظ بالینی غیر ضروری بوده و نیاز به درمان توسط جراحی و برداشتن بافت پروستات نداشته‌اند. لازم به ذکر است که این جراحی برای بیمار عوارض زیادی همچون از دست دادن قوای جنسی با نرخ بروز ۷۰ درصد را در پی داشته است(۳،۴).

در سال‌های اخیر و با پیشرفت فناوری‌های مولکولی، استفاده از زیست نشانگرها در تشخیص زودهنگام بیماری‌ها میسر شده است. از این رو یافتن یک زیست نشانگر که دارای اختصاصیت و حساسیت بالایی در تشخیص سرطان پروستات باشد، اهمیت زیادی پیدا کرده است(۳،۴). همین‌طور پیشرفت‌هایی جدید در زمینه کاربردهای فناوری نانو در علوم پزشکی، مسیری را برای استفاده از نانوذرات طلا (AuNP) در پزشکی مولکولی ایجاد کرده است. نانو ذرات طلا به خاطر سهولت ساخت، ارزیابی ساده تغییرهای سطح این ذرات در مواجهه با مولکول‌های دیگر و خواص نوری قابل تنظیم و قوی در خط مقدم تحقیق‌های تشخیص سرطان قرار گرفته‌اند(۱، ۵)

مطالعه‌های متفاوتی در جهان برای انجام این هدف انجام شده است. از جمله مطالعه‌هایی که بر مبنای استفاده از پروتئین‌های سرم و نانوذرات طلا و برای سنجش اندازه تغییرهای نانوذرات طلا با استفاده از DLS طراحی شده است مطالعه‌های Zheng و همکاران، Huo و همکاران و Wang است (۶،۸، ۱). این آزمایش‌ها با تمرکز روی سرطان پروستات، نتایج مثبتی به دست آورده بودند. آن‌هاتوانسته بودند با استفاده از روش ترکیب سرم بیماران و افراد سالم در سه گروه افراد سالم، مبتلا به خوش خیمی و سرطان پروستات با نانوذرات طلای سیتراته و دستگاه DLS انجام شد و در نهایت مشخص شد که بین اندازه پروتوئین کرونا در افراد سالم و مبتلا به بزرگ شدن خوش‌خیم پروستات با افراد مبتلا به سرطان پروستات تفاوت معناداری وجود دارد. بنابراین باتوجه به اهمیت موضوع در این مطالعه، تغییرهای اندازه سطح نانوذرات طلا با قطر متوسط ۷۵ نانومتر در مواجهه با سرم افراد سالم، مبتلا به هایپرپلازی خوش‌خیم پروستات (BPH) و افراد مبتلا به سرطان پروستات (RC) از قومیت ایرانی بررسی شد و همین‌طور رابطه این تغییر اندازه در حضور ایمونوگلوبین‌ها با شاخص دیگر تشخیص سرطان یعنی PSA مقایسه شد.

مواد و روش‌ها:

تحقیق به روش توصیفی انجام شد و از بین سه گروه از مردان که در سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ که به آزمایشگاه تشخیص طبی پاستور، بیمارستان امام خمینی(ره) و لبافی نژاد تهران مراجعه کرده بودند،انجام شد. نمونه‌ها به سه گروه سالم، افراد مبتلا به افزایش خوش‌خیم سرطان و افراد مبتلا به سرطان پروستات تقسیم شد. مدت هفت ماه از آبان ۱۳۹۷ تا اردیبهشت ۱۳۹۸خون مردان سالم بین ۴۰ تا ۹۰ سال که به هیچ نوع سرطانی مبتلا نبودند از آزمایشگاه تشخیص طبی پاستور استان تهران جمع‌آوری شد. برای جمع‌آوری نمونه‌ها از افراد داوطلب استفاده شد. به این صورت که ابتدا موضوع به‌صورت شفاهی برای افراد توضیح داده شده و سپس با تکمیل رضایتنامه کتبی، اجازه خون‌گیری دریافت شد. این نمونه‌ها با دریافت کد اخلاق A.۱۳۹۷,۸,۲۳.IR.NIGEB.EC از مرکز پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک ایران، جمع آوری شده اند. ملاک ورود نمونه‌های گروه سالم به آزمایش، رایج‌ترین آزمایش تشخیص سرطان پروستات یعنی اندازه‌گیری میزان آنزیم PSA موجود در سرم خون افراد سالم بود که این میزان برای تمامی افراد سالمی که در این تحقیق وارد شدند، کمتر از ۱ ng/ml بود و همچنین نداشتن مشکل پزشکی پروستات و معیار خروج افراد از گروه مطالعه کنترل یعنی افراد سالم بالاتر بودن میزان آنزیم PSA از میزان ۴ ng/ml بوده است و داشتن مشکل پزشکی پروستات. تعداد نمونه‌های افراد سالم بر اساس همان تعداد افرادی که مبتلا به سرطان پروستات و بزرگ شدن خوش‌خیم سرطان پروستات بودند یعنی ۲۰ نفر انتخاب شدند.

همچنین در این مدت براساس تشخیص پزشک معالج افراد، خون مردان مبتلا در دو دسته مبتلا به هایپرپلازی خوش‌خیم پروستات (BPH) و افراد مبتلا به سرطان پروستات (RC) جمع‌آوری شد. ملاک ورود نمونه‌ها رضایت بیمار و تشخیص قطعی بیماری بوده و نمونه خون افرادی ناراضی، مشکوک و افرادی که بعد از عمل جراحی، نمونه‌گیری انجام داده بودند، از مطالعه حذف شدند. در نهایت تلاش شد تا نمونه‌های جمع‌آوری شده در شرایط استاندارد، استریل و دمای ۴ درجه سلسیوس به آزمایشگاه پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک انتقال داده شوند. نمونه‌ها پس از ورود به بخش آزمایشگاه به مدت پنج دقیقه با سرعت ۵۰۰۰rpm (۲۹۹۹۱G) سانتریفیوژ شدند تا سرم از بقیه محتوای خون جدا شود. سرم خالص در دمای -۸۰ درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

اندازه‌گیری:(PSA: Prostate Specific Antigen)

در این مطالعه، PSA نمونه‌ها توسط آزمایشگاه بیوشیمی هر یک از بیمارستان‌ها و آزمایشگاه تشخیص طبی که نمونه از آن‌ها تهیه شد و بر اساس استانداردهای این آزمایشگاه‌ها که مورد تایید پزشک برای تشخیص سرطان پروستات است، انجام شد.

سنتز نانوذرات طلا:

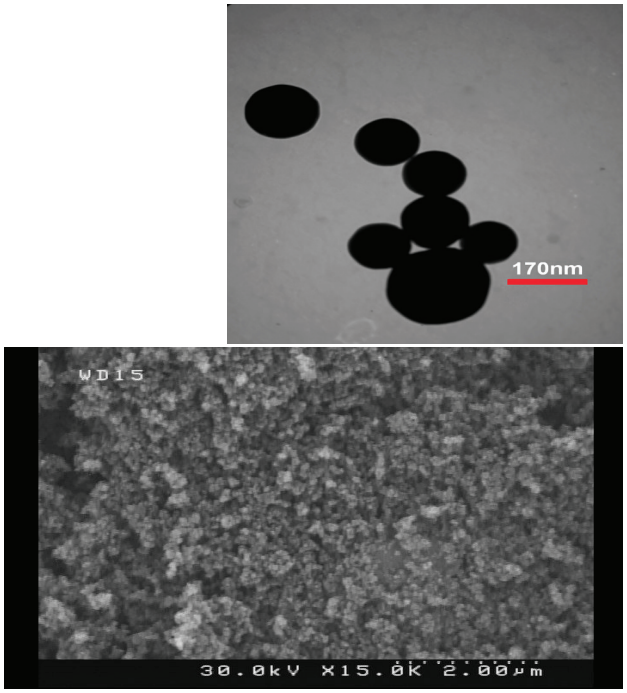
نانو ذرات کلوئیدی طلا ساخته شده که با روش احیای نمک طلا با سیترات دارای

Gold Nanoparticles APS	50-100 nm
Gold Nanoparticles SSA	3.394 m^2/g
Gold Nanoparticles color	Dark Brown
Gold Nanoparticles bulk density	~1.25 g/cm3
Gold Nanoparticles true density	19.32 g/cm3
Gold Nanoparticles melting point	1063 (nano-powder far below this point)
Gold Nanoparticles boiling point	2966 oC
Gold Nanoparticles morphology	Spherical
Gold Nanoparticles crystallographic structure	Cubic

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-01-29]

بار منفی شده‌اند به غلظت ppm۱۵۰ یا ۰/mM۸، درجه خلوص ۹۹/۹۹درصد، شکل کروی و به اندازه میانگین ۱۱۷ نانومتر از شرکت نانوذره ایرانیان خریداری شد. مشخصات فنی نانوذرات طلای خریداری شده در جدول یک درج شده است. همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است تصویر نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) تهیه شده و اندازه متوسط نانوذرات سیتراته ۷۵ نانومتر است.

مشخصات نانوذره طلا



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نانوذره طلا، اندازه نانوذرات با میانگین ۷۵ نانومتر مشخص شده است.

آنتی بادی بزی ضدIgG انسانی::

آنتی بادی پلی‌کلونال بزی ضد IgG انسانی سیگما (Sigma -Anti-human IgG-HRP from goat) از شرکت سیتومتین ژن به شماره کاتالوگ A۸۶۶۷ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر خریداری و سپس با آب مقطر دیونایز به میزان ml ۶/۹ مخلوط شد تا به حجم نهایی ml۷ برسد.

آماده‌سازی نمونه‌ها برای انجام :DLS

بعد از خارج کردن سرم‌ها از فریزر ۸۰- درجه سلسیوس و خارج شدن از حالت منجمد، ابتدا ۲۰ μ l از سرم نمونه‌های سه گروه مطالعه با ۴۰۰ μ l از نانوذره طلای سیتراته با غلظت pM۱۰ مخلوط شد(۱). سپس برای آزمون DLS به هر یک از محلول‌ها آب دیوناز استریل شده به میزان ml۴ اضافه شد. حجم نهایی نمونه‌ها برای انجام آزمون DLS، ۴/۶ میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. همچنین دوباره نمونه‌هایی به همین میزان از سرم و نانوذره تهیه شد و سپس به آن‌ها آنتی‌بادی بزی ضد انسانی اضافه شد.

در ادامه دو گروه اصلی یک شامل نمونه‌های (سالم، RC و BPH همراه با نانوذره طلا) و گروه اصلی دو شامل نمونه‌های سالم، RC و BPH همراه با نانوذره طلا و آنتی‌بادی بزی ضد انسانی تشکیل شد.

با توجه به طولانی بودن فاصله بین زمان انجام آزمون در آزمایشگاه مرکزی پردیس علوم دانشگاه تهران و آماده‌سازی نمونه‌ها در آزمایشگاه پزشکی مولکولی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک، قبل از انجام آزمون DLS هر یک از نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه با پروب اولتراسونیک، همگن شدند.

در نهایت نمونه‌های گروه اصلی یک، توسط دستگاه DLS سه بار اسکن شدند. میانگین پاسخ هر سه بار اسکن برای هر نمونه به‌عنوان D۱ در نظر گرفته شد. میانگین پاسخ هر سه بار اسکن برای هر نمونه گروه اصلی ۲ نیز به‌عنوان D۲ در نظر گرفته شد.

ترکیب سرم با نانوذرات طلای سیتراته سبب می‌شود که پروتئین‌های عادی موجود در سرم و آنتی‌ژن‌های خاص توموری موجود در سرم با یکدیگر بر سر جذب شدن به نانوذرات طلای سیتراته برای تشکیل پروتئین کرونا رقابت کنند. با توجه به غلظت بالای سرم و نانوذرات طلا، برهمکنش سبب اتصال و افزایش اندازه نانوذرات طلا به بیش از اندازه اولیه می‌شود که در مدت زمان حدود ۲۴ ساعت بعدی توسط آزمون DLS اندازه‌گیری شدند. نتایج DLS با استفاده از آزمون‌های آماری t-test و آزمون ANOVA در شکل‌های ۲ تا ۴ نشان داده شده است.

آزمون‌های آماری:

برای مقایسه نتایج حاصل از تقسیم D۲ (تغییرهای پروتوئین کرونا بعد از اضافه کردن آنتی بادی ضد انسانی) بر D۱ (مخلوط نانوذرات و سرم بدون اضافه کردن آنتی‌بادی) و مقایسه نتیجه D۱/D۲ در بین سه گروه سالم ،خوش‌خیم و مبتلا به سرطان پروستات از نرم افزارهای آماری SPSS Version ۱۶ و نرم‌افزار R Version ۳,۶ و آزمون‌های آماری t-test و ANOVA استفاده شد. در هر مورد نتایج بعد نرمال‌سازی به دست آمد.

مشخصات دستگاه DLS: (Dynamic Light Scattering)

نمونه ها توسط دستگاه DLS با مشخصات زیر در آزمایشگاه مرکزی پردیس علوم دانشگاه تهران ارزیابی شد.

HORIBA SZ100 Z Product Specifications: Dynamic Light Scattering Particle Size Distribution Analyzer· Range: 0.3nm to 8 microns· Light source: solid state laser diode, 532nm, 10mW· Detectors: 3 Photomultipliers tubes, (2 for size (rear/side PMT)

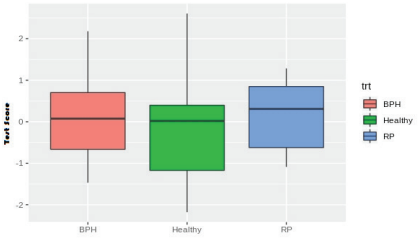
Measurement Temperature range: 1-90 degrees C· Sample concentration range: (*depends on sample scattering properties and size)· From 0.1ml/mg for lysozyme, 3nm· 10% in weight for latex at 100nm

Size Specifications. Principle: Photon correlation spectroscopy method.

Model: SZ-100z Dynamic Light Scattering & Zeta potential analyzer, **company:** Horiba Jobin Jyovin

یافته‌ها:

تحقیق روی تعداد ۶۰ نفر شامل: ۲۰ نفر سالم، ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات خوش‌خیم و ۲۰ نفر بیمار مبتلا به سرطان پروستات بدخیم انجام شد. نتایج حاصل از آزمون ANOVA نشان می‌دهد که P-value برابر ۰/۷ است که بسیار بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بوده و نشان‌دهنده بی‌معنی بودن ارتباط D۱/D۲ بین سه گروه است. بنابراین استفاده از اندازه ساختار پروتوئین کرونا در سرم خون افراد برای تشخیص سرطان پروستات در مقایسه با روش‌های موجود از جمله میزان آنزیم PSA در سرم خون نمی‌تواند معیار مناسبی باشد زیرا میزان تغییر اندازه ساختار پروتوئین کرونا از گروه سالم تا گروه مبتلا به سرطان بسیار اندک بوده و تفاوت معناداری گزارش نشد. نتایج دقیق تحلیل آماری در جدول ۲ آمده است.

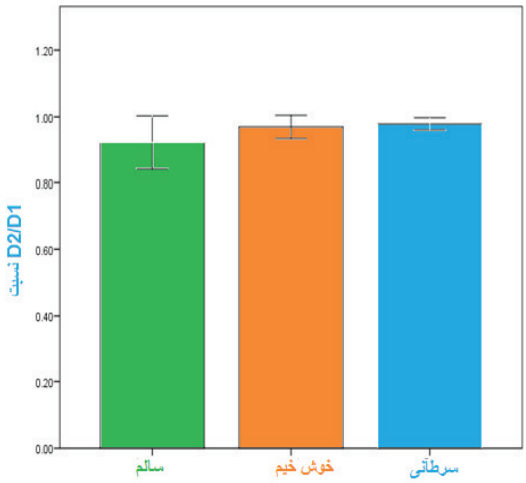


(الف)

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-01-29]

شاخص تغییر افزایش پروتئین کرونا زمانی که آنتی بادی به مجموعه سرم و نانوذرات اضافه می‌شود نسبت به زمانی که تنها سرم به نانوذرات اضافه شده است.

شکل ۲. (الف). نمودار box plot نشان می‌دهد تفاوت معناداری بین گروه سالم (سبز) و دو گروه دیگر مبتلا به خوش‌خیمی پروستات (قرمز) و گروه سرطان پروستات (آبی) وجود ندارد و نتایج حاصل از D۱/D۲ هر سه گروه بسیار نزدیک به هم هستند.(ب) در این شکل تنها مشخص شده که نتایج D۱/D۲ در گروه سالم پراکندگی بیشتری نسبت به نتایج D۱/D۲ دو گروه دیگر دارند. (۰/۷ < p= ۰,۹۸۵۳۸ , p-value = ۰,۶۹۹۶) W



شاخص تغییر افزایش پروتئین کرونا زمانی که آنتی بادی به مجموعه سرم و نانوذرات اضافه می‌شود نسبت به زمانی که تنها سرم به نانوذرات اضافه شده است.

شکل ۳. در این شکل که شامل سه گروه سالم و مبتلا به خوش‌خیمی و گروه مبتلا به سرطان پروستات هستند، میزان نسبت D۱/D۲ در هر یک از گروه‌ها به طور جداگانه اندازه‌گیری شد و میانگین حاصل از این نسبت D۱/D۲ در سه گروه تفاوت معناداری را نشان نداد. یعنی بین میزان نسبت D۱/D۲ در افرادی که مبتلا به سرطان پروستات هستند با افرادی که سالم هستند یا دچاربزرگ شدن خوش‌خیم پروستات هستند، تفاوت بسیار اندکی وجود دارد. (۰/۷ <p) .
W = 0.98538, p-value = 0.6996

بحث:

تحقیق نشان داد که تاثیر بیو مارکر نانوذرات طلا در سه گروه مشابه بوده و اختلافی نداشته است.

مطالعه‌های متفاوتی در جهان برای انجام این هدف انجام شده است. از جمله مطالعه‌هایی که بر مبنای استفاده از پروتئین‌های سرم و نانوذرات طلا و برای سنجش اندازه تغییرهای نانوذرات طلا با استفاده از DLS طراحی شده است. مطالعه‌های Zheng و همکاران، Huo و همکاران و Wang است (۸،۶، ۱). این آزمایش‌ها با تمرکز روی سرطان پروستات، نتایج مثبتی به دست آورده بودند. آن‌ها توانسته بودند با استفاده از روش ترکیب سرم بیماران و افراد سالم در سه گروه افراد سالم، مبتلا به خوش خیمی و سرطان پروستات با نانوذرات طلای سیتراته و دستگاه DLS انجام شد و در نهایت مشخص شد که بین اندازه پروتوئین کرونا در افراد سالم و مبتلا به بزرگ شدن خوش خیم پروستات با افراد مبتلا به سرطان پروستات تفاوت معناداری وجود دارد. همچنین از آزمایش‌های تخصصی‌تر برای تعیین نوع پروتئین‌ها با استفاده از روش ELISA نیز استفاده کردند و این تغییرهای پروتئینی بین این سه گروه را بهتر مشخص کرده و استفاده از تغییرهای اندازه پروتوئین کرونا را روشی مناسب برای تمایز افراد مبتلا به سرطان از سایر گروه‌ها است. پروتئین‌ها یکی از مهم‌ترین مولکول‌های زیستی در بدن موجودات زنده هستند که با طیف وسیعی از بیماری‌ها در ارتباط هستند. اما همین پروتئین‌های مرتبط با بیماری وقتی که بیماری در مراحل اولیه و ابتدایی است، سطح پایینی دارند که تشخیص را بسیار دشوار می‌سازد. بنابراین لازم است روش‌هایی برای تشخیص زودتر و بهتر پروتئین‌های خونی یافت شود که کم‌هزینه و دقیق باشد.

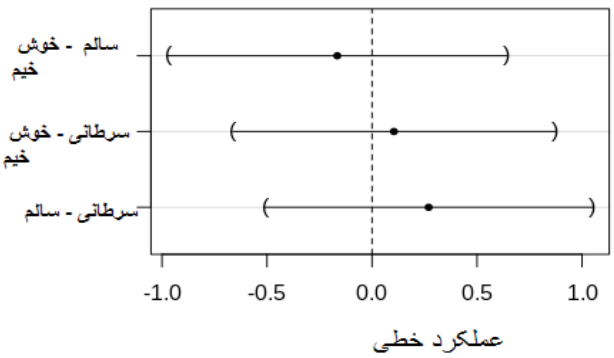
در سال ۲۰۱۲ Huo Q. و همکاران در تحقیقی که روی بافت پروستات موش و همچنین بافت پروستات انسان با استفاده از آنزیم تجزیه کننده بافت پروستات انجام دادن،د با استفاده از تکنیک پراکنش فعال نوری (DLS) از نانوذرات طلا استفاده کردند و نتیجه گرفتند که با توجه به رابطه معکوس میزان سایز متوسط نانوذرات محلول با شاخص بافتی (Gleason Score GS)، نانوذرات طلا به طور بالقوه توانایی تشخیصی بالاتر و دقیق تری نسبت به شاخصه‌های موجود دیگر دارند(۶).

در سال ۲۰۱۵ مطالعه‌ای بالینی که توسط Zheng و همکارانش روی سرم خون افراد سالم و افراد مبتلا به BPH (Benign Prostate Hyperplasia) و افراد مبتلا به سرطان پروستات RP (Radical Prostate) در بیمارستان‌های فلوریدای آمریکا انجام شد، با استفاده از تکنیک جذب ریزذرات طلا به ایمونوگلوبین‌های موجود در سرم و اندازه‌گیری تغییر اندازه ریزذرات با دو اندازه ۴۰ نانومتر و ۱۰۰ نانومتر با استفاده از روش DLS مشخص کردند که این آزمایش ساده می‌تواند با اختصاص ۹۰ تا ۹۵درصد و حساسیت ۵۰درصد بین بیماران سرطانی و افراد سالم تمایز پیدا کنند که همین برتری چنین آزمایشی را نسبت به آزمون سنجش PSA نشان می‌دهد(۱).

اما هیچ مطالعه مشابهی تاکنون روی مردان ایرانی انجام نشده است. بنابراین این آزمایش مشابه مطالعه‌های فوق طراحی و روی مردان ایرانی بالای ۴۰ سال در سه گروه سالم (بدون سرطان پروستات) و گروه بیماران دچار بزرگ شدگی خوش‌خیم پروستات یا BPH و افراد مبتلا به سرطان پروستات انجام شد. امروزه کشف شده است که سرم خون انسان حاوی مقادیر زیادی پروتئین همچون آلبومین (Albumin) و آپولیپوپروتئین (Apolipoprotein) است(۱).

مطالعه‌ها نشان داده‌اند که آتوآنتی بادی‌های اختصاصی علیه پادتن‌های توموری ماه‌ها حتی سال‌ها قبل از تشخیص بالینی سرطان پدیدار می‌شوند و اینکه آتوآنتی بادی‌ها در انواع مختلفی از سرطان‌ها یافت می‌شوند. آتوآنتی‌بادی‌ها زیست نشانگرهای عالی برای تشخیص اولیه سرطان و آزمایش بالینی هستند. فعالیت سیستم دفاعی میزبان علیه تومور از همان مراحل ابتدایی شکل‌گیری و پیشرفت تومور اتفاق می‌افتد. در مراحل بعدی ممکن است که تومور بتواند انقدر پیشرفت پیدا کند که قادر به فرار از سیستم ایمنی باشد. این یک نکته کلیدی است که نشان می‌دهد یک زمان طلایی برای تشخیص افزایش فعالیت سیستم ایمنی در بیماران سرطانی وجود دارد. ایمنوگلوبین G (IgG) یک آتوآنتی بادی است که در سرم خون افرادی که در مراحل اولیه یا ابتدایی ابتلا به سرطان پروستات هستند، افزایش داشته است. مشخص شده است که در افراد مبتلا به سرطان پروستات ایمنوگلولین G در بالاترین میزان نسبت به افراد سالم و یا بیماران تازه مبتلا شده قرار دارد(۲)اما نتایج مطالعه حاضر با هیچ یک از مطالعه‌های گذشته، همسو نبوده و تفاوت معناداری بین گروه‌های مطالعه مشاهده نشد. همان‌طور که در جدول ۱ گزارش شده است تغییرهای اندازه نانوذرات در بین سه گروه معنادار نبود. این مسئله خلاف آن چیزی است که طبق آزمایش‌های پیشین در تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های سالم و خوش‌خیم با گروه سرطان پروستات تایید شده بود(۲)به نظر می‌رسد آن چیزی که سبب شد اندازه نانوذرات در بین سه گروه تفاوت معناداری پیدا نکند، مربوط به تغییر دمای محیطی بوده که در آماده شدن محلول نانوذرات طلا و پروتئین‌های سرمی رخ داده است. در تحقیق‌های پیشین مشخص شده است که تغییر دمایی ناچیز هم می‌تواند شکل‌گیری پروتئین کرونا را در اطراف نانوذرات تحت تاثیر قرار دهد(۳). بنابراین احتمال دارد از زمان تهیه تا انتقال به آزمایشگاه برای انجام DLS تغییر دمایی قابل توجهی در نمونه‌ها به وجود آمده باشد. اگرچه بعد از تهیه نمونه‌ها، آن‌ها در دمای ۴ سلسیوس یخچال قرار گرفتند، اما در انتقال به آزمایشگاه با توجه به بعد مسافت و زیاد بودن تعداد

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-01-29]



شکل ۴. نمودار Rplot هر سه گروه مشخص شده است که دارای یک خط مشترک هستند.

این خط نشان می‌دهد نسبت D۱/D۲ در بین سه گروه تفاوت معناداری ندارد.

نمونه‌ها امکان برقراری دمای محیط یکسان و پایین برای نمونه‌ها، چه در زمان انتقال و چه در محیط محل تست DLS، وجود نداشت. بنابراین شاید همین موضوع سبب شده بود تشکیل پروتئین کرونا در اطراف نانوذرات تحت تاثیر تغییر دمایی قرار گرفته و حتی آنتی بادی پلی کلونال بزی که برای آزمون D۲ یعنی تغییر اندازه پروتئین کرونا بعد اضافه کردن آنتی‌بادی اضافه شده بود بر اثر همین تغییر دمایی به طور صحیح عمل نکرده باشد.

البته استفاده از روش اندازه‌گیری پراکنش نور از سطح نانوذرات به هم چسبیده، یک محدودت اساسی نیز دارد که ظرفیت این روش را برای تشخیص‌های زودهنگام بیماری‌ها محدود می‌کند. اساس تشخیص در این روش، تغییر اندازه سطح نانوذرات طلا در سرم تهیه شده از هر فرد است و از این رو به راحتی این امکان وجود داره که موادی غیراختصاصی هم بتوانند این تغییر اندازه رو تحت تاثیر قرار دهند، در حالی که هیچ ارتباطی با بیماری ندارند. وقتی که نانوذرات در تماس با مایعات زیستی قرار می‌گیرند، پروتئین‌ها و دیگر مولکول‌های زیستی به سرعت به سطح آن‌ها جذب می‌شوند و یک پوشش بر سطح نانوذرات به نام پروتوئین کرونا به وجود می‌آورند که می‌تواند به شدت اندازه نانوذرات و همچنین برهم‌کنش نانوذرات با دیگر مولکول‌های زیستی را تحت تاثیر قرار دهد.

ایراد اساسی روش‌های برپایه DLS احتمال واکنش با با مجموعه‌های پیچیده و ناهمگنی از مواد زیستی است. از جمله سرم رقیق نشده که حاوی مجموعه بزرگی از پروتئین‌هاست، یا اجزای سلولی مختلف خام که در سرم خون وجود دارند. در این روش مجموعه همگنی از نانوذرات در مقابل این مجموعه ناهمگن زیستی قرار می‌گیرند. همچنین این احتمال وجود دارد تغییری که در ساختار پروتئین کرونا در نمونه‌های افراد مبتلا به سرطان پروستات رخ داده، اجازه نداده شبکه‌ای از پروتئین کروناها تشکیل شوند و شاهد تغییر قابل توجه در سایز D۲ پروتئین کرونا افراد سرطان پروستات نسبت به دو گروه دیگر سالم و خوش‌خیمی پروستات باشیم. دلیل دیگری که می‌توان برای نبود تفاوت معنادار بین دوگروه سالم و خوش‌خیم با سرم بیماران سرطانی متصور شد، مربوط به زمان و تشکیل ساختارهای پروتئین کرونای نرم و پروتئین کرونای سخت است چرا که اجزای پروتئین کرونای نرم فقط برای چند دقیقه به نانوذرات متصل باقی می‌مانند و سپس جای خود را به پروتئین کرونای سخت که پروتئین‌های با تمایل اتصال بالا هستند، می‌دهند(۴،۱) این امر با توجه به طولانی بودن مدت زمانی که مخلوط سرم و نانوذرات طلا تهیه شد (نسبت به زمانی که تست DLS روی نمونه‌ها انجام شد، چیزی حدود ۲۴ ساعت فاصله زمانی) محتمل است، در حالی که در کارهای تحقیقاتی قبلی این زمان بین ۱۵ تا ۳۰ دقیقه بوده است(۲) این احتمال نیز وجود دارد که به دلیل طولانی بودن مدت زمان برهم‌کنش پروتئین‌ها و نانوذرات تجمع پروتئین‌ها در اطراف نانوذرات و اتصال آن‌ها به یکدیگر در سه گروه دچار تغییر شده و ضخامت کرونای سخت در ۲۴ ساعت در گروه‌های سالم و خوش‌خیم با گروه سرطانی یکسان شده باشد. از سوی دیگر در تحقیق‌های پیشین مشخص شده که برهم‌کنش بین نانوذرات سنتزی با پروتئین‌های سرم خون می‌تواند سبب فعال شدن دباره نانوذرات شده که این امر سبب تاثیرهاییی بر پروتئین کرونا می‌شود از جمله اینکه یا این برهم‌کنش ضعیف بوده و تاثیرچندانی نمی‌تواند روی پروتئین‌ها بگذارد و یا بالعکس به قدری این برهم‌کنش قوی است که می‌تواند سبب دناتوره شدن یا تغییر شکل و حتی تجزیه پروتئین‌ها شده و ساختارهای پلی پپتیدی تشکیل دهند که این ساختارها خود می‌توانند با یکدیگر بر هم‌کنش دهند و ساختار پروتئین کرونا را تغییر دهند و به‌هم بریزند و همچنین به صورت ذرات درشت در محلول ظاهر شوند.

همچنین بارهای منفی سیترات روی نانوذرات طلا هم می‌توانند بر اثر برهم‌کنش با پروتئین‌ها از دست بروند(۵) Inc. Most surfaces of engineered nanoparticles (NPs). از همین رو با توجه به مدت زمان طولانی برهم‌کنش بین پروتئین‌ها و نانوذرات طلای سیتراته، در آزمایش حاضر این احتمال وجود دارد که طی برهم‌کنش‌های طولانی، بارهای منفی سیترات با پروتئین‌ها، یون‌های بار منفی از سطح نانوذرات جدا شده باشند و با این فرض که میزان پروتئین‌های ایمونوگلوبین در سرم‌های سرطانی بیشتر از افراد سالم و خوش خیم است(۲) برهم‌کنش‌های گسترده و طولانی‌مدت در این دسته سرم‌ها سبب از دست رفتن یون‌های سیتراته شده و در نتیجه تجمع و اندازه پروتئین کرونا در افراد سرطانی با دو گروه دیگر تقریبن یکسان شده و تفاوت معناداری نشان ندادند. از سوی دیگر در تحقیق‌های گذشته ثابت شده است که در بیماری‌های مختلف سطح ایمونوگلوبین‌ها مثل IgG افزایش پیدا می‌کند و این افزایش حتی با افزایش ایمونوگلوبین‌های دیگری مثل IgM هم همراه است به عنوان مثال در بیماری آرتریت روماتوئید (۱۱)و از آنجا که در افرادی که به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شده‌اند فقط این افراد از لحاظ سرطان پروستات با در نظر گرفتن معیار رایج PSA که در همه این افراد بیشتر از یک بود سالم در نظر گرفته شدند و از لحاظ بیماری‌های دیگری مثل بیماری آرتریت روماتوئیت که در آن بیماری نیز میزان سطح ایمونوگلوبین IgG افزایش پیدا می‌کند و یا بیماری‌های قلبی یا بیماری‌های عفونی ساده مانند سرماخوردگی بررسی نشدند و این احتمال بالا بودن اندازه پروتئین کرونای افراد سالم را شاید بتواند توجیه کند.

نتیجه‌گیری

آزمون این مطالعه یک تست ساده و تاحدی ارزان قیمت است و در تحقیق‌هایی که در نقاط دیگر جهان روی افراد مبتلا به سرطان پروستات انجام شده، جواب مثبت گزارش شده است. اما با توجه به در دسترس نبودن آسان و ارزان دستگاه اندازه‌گیری‌کننده تغییرهای اندازه پروتوئین کرونا در سراسر کشور و شهر تهران و نبود امکان آماده‌سازی نمونه‌های بیولوژیکی در محل آزمایش نمی‌توان به راحتی از این روش آزمایشگاهی برای پیش‌بینی یا سنجش ابتلا به سرطان پروستات در ایران استفاده کرد. زیرا انجام این آزمایش با وجود اینکه ساده به نظر می‌رسد، ولی مستلزم در نظر گرفتن عوامل گوناگونی همچون نوع کیفیت نانوذرات یا جنس نانوذرات و همچنین ثابت نگه‌داشتن دمای محیط از زمان تهیه محلول سرم با نانوذرات طلا تا زمان انجام آزمون و همچنین دسترسی سریع به دستگاه DLS به دلیل اهمیت داشتن بازه زمانی بین تهیه محلول پروتئین کرونا و تست DLS است که انجام آن را سخت و حساس می‌کند. در نتیجه مطالعه‌های بیشتری باید روی تعداد مردان ایرانی مبتلا به سرطان و خوش‌خیمی پروستات و مردان سالم بالای ۴۰ سال با رعایت موارد ذکر شده انجام گیرد.

تشکر وقدردانی:

با تشکر و قدردانی از حمایت‌های مادی و معنوی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین المللی(ایکارد)

حمایت مالی

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین المللی با کد قرارداد شماره ۱۸۴۳ مورخ ۱۳۹۶/۱۰/۱۲ انجام شده است.

تعارض در منافع

بین نویسندگان این مقاله، تعارضی در منافع گزارش نشده است.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-01-29]

منـابع:

1. Zheng T, Pierre-pierre N, Yan X, Huo Q, Almodovar AJO, Valerio F, et al. Gold Nanoparticle-Enabled Blood Test for Early Stage Cancer Detection and Risk Assessment. Appl Mater interfaces. 2015;

2. Pin E, Fredolini C, Petricoin EF. The role of proteomics in prostate cancer research: Biomarker discovery and validation. Clin Biochem [Internet]. 2013;46(6):524–38. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.12.012

3. Huang X, El-sayed MA. Gold nanoparticles : Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. 2010;13–28. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123210000056

4. Huo Q, Colon J, Cordero A, Bogdanovic J, Baker CH, Goodison S, et al. A facile nanoparticle immunoassay for cancer biomarker discovery. J Nanobiotechnology. 2011;9:1–12.

5. Phyu K, Htoo P, Yamkamon V, Yainoy S, Suksrichavalit T. Clinica Chimica Acta Colorimetric detection of PCA3 in urine for prostate cancer diagnosis using thiol-labeled PCR primer and unmodi fi ed gold nanoparticles. Clin Chim Acta [Internet]. 2019;488(October 2018):40–9. Available from: https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.10.036

6. Q. H, S.A. L, S. S, H. H, D.A. D, I. R-R. Developing a nanoparticle test for prostate cancer scoring. J Transl Med [Internet]. 2012;44. Available from: http://www.embase.com/search/results?subaction =viewrecord&from=export&id=L51907248%5Cn http://dx.doi.org/10.1186/1479-5876-10-44

7. Huo Q, Colon J, Cordero A, Bogdanovic J, Baker CH, Goodison S, et al. A Facile Nanoparticle Immunoassay for Cancer Biomarker Discovery. 2011;1–12. Available from: https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-3155-9-20

8. Wang H, Lin Y, Nienhaus K, Nienhaus GU. The protein corona on nanoparticles as viewed from a nanoparticle-sizing perspective. Wiley Interdiscip Rev Nanomedicine Nanobiotechnology. 2018;10(4):1–9.

9. Li C, Ma J, Fan Q, Tao Y, Li G. Dynamic light scattering (DLS)-based immunoassay for ultra-sensitive detection of tumor marker protein. Chem Commun [Internet]. 2016;52(50):7850–3. Available from: http://dx.doi.org/10.1039/C6CC02633H

10. Nierenberg D, Khaled AR, Flores O. Formation of a protein corona influences the biological identity of nanomaterials. Reports Pract Oncol Radiother [Internet]. 2018;23(4):300–8. Available from: https://doi.org/10.1016/j.rpor.2018.05.005

11. Hajipour MJ, Raheb J, Akhavan O, Arjmand S, Mashinchian O, Rahman M, et al. Personalized disease-specific protein corona influences the therapeutic impact of graphene oxide. Nanoscale. 2015;7(19):8978–94.

12. Winzen S, Schoettler S, Baier G, Rosenauer C, Mailaender V, Landfester K, et al. Complementary analysis of the hard and soft protein corona: Sample preparation critically effects corona composition. Nanoscale. 2015;7(7):2992–3001.

13. Stefan T, Dominic D, J?Rg K, Anna M, Verena F, Rouven H, et al. Rapid formation of plasma protein corona critically affects nanoparticle pathophysiology. Vol. 8, Nature Nanotechnology. 2013. p. 772-U1000.

14. Wolfram J, Yang Y, Shen J, Moten A, Chen C, Shen H, et al. The nano-plasma interface: Implications of the protein corona. Colloids Surfaces B Biointerfaces [Internet]. 2014;124(11):17–24. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.035

15. Boes M, Schmidt T, Linkemann K, Beaudette BC, Marshak-Rothstein A, Chen J. Accelerated development of IgG autoantibodies and autoimmune disease in the absence of secreted IgM. Proc Natl Acad Sci. 2002;97(3):1184–9.

16. Corbo C, Mahmoudi M, Farokhzad OC. Abstract 4642: Personalized cancer-specific protein corona affects the therapeutic impact of nanoparticles. 2018. p. 4642–4642.

17. Shang L, Wang Y, Jiang J, Dong S. PH-dependent protein conformational changes in albumin:Gold nanoparticle bioconjugates: A spectroscopic study. Vol. 23, Langmuir. 2007. p. 2714–21.

18. Information S. wavelength (nm). :6–12.

19. Increased serum albumin, γ globulin, immunoglobulin IgG, and IgG2 and IgG4 in autism. Psychol Med. 2002;32(8):1457–63.

20. Kanoh Y, Mashiko T, Danbara M, Takayama Y, Ohtani S, Egawa S, et al. Changes in serum IgG oligosaccharide chains with prostate cancer progression. Vol. 24, Anticancer Research. 2004. p. 3135–9.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-01-29]