

## سنتز نانو ذرات متخلخل اکسید آهن و بررسی اثرات زیستی آن بر روی سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های لوسمی میلوئیدی مزمن (K562)

معصومه محرابی<sup>۱</sup>، محمد فائزی قاسمی<sup>۲\*</sup>، بهنام راستی<sup>۳</sup>، مجتبی فلاحی<sup>۴</sup>، امیر میرزایی<sup>۵</sup>

### چکیده

نانو ذرات اکسید آهن متخلخل کاربردهای مختلفی در صنایع پزشکی و دارویی دارند بنابراین بررسی اثرات آن‌ها روی سلول‌های سرطانی بسیار مهم است. بر این اساس، هدف از این مطالعه سنتز نانوذرات اکسید آهن متخلخل و مقایسه تأثیر آن‌ها بین سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های لوسمی میلوئیدی مزمن (K562) است. نانو ذرات اکسید آهن متخلخل توسط روش آبگرمایی ساخته شد و اثر غلظت‌های مختلف این نانو ذرات بر روی سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K562) با به‌کارگیری آزمون MTT و تجزیه و تحلیل فلوسایتومتری بررسی شد. مطالعه‌های پراش اشعه X، میکروسکوپ الکترونی عبوری و هیستوگرام پراکندگی نور پویا ساخته‌شدن نانو ذرات اکسید آهن متخلخل را تأیید کرد نتایج نشان داد که نانوذرات به شکل کروی با قطر متوسط حدود ۱۰۰ نانومتر هستند. آزمون MTT آشکار کرد که نانو ذرات اکسید آهن متخلخل باعث کاهش حیات سلول‌ها وابسته به دوز می‌شوند، این سمیت در سلول‌های نسبت (K562) به سلول‌های لنفوسیتی بیشتر بود. پس از مشخص شدن غلظت IC<sub>50</sub> نانو ذرات، تجزیه و تحلیل فلوسایتومتری به منظور بررسی مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی (آپوپتوزیس) بر روی سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K562) در مقایسه با سلول‌های بدون تیمار (کنترل)، انجام پذیرفت. میزان مرگ برنامه‌ریزی‌شده و نکروز در سلول‌های (K562) تیمار شده توسط نانوذرات اکسید آهن متخلخل نسبت به سلول‌های لنفوسیتی به مراتب بیشتر بود. می‌توان استنباط کرد که نانوذرات اکسید آهن متخلخل به‌عنوان عوامل ضد سرطان محتمل استفاده شوند.

**واژه‌های کلیدی:** سلول‌های لوسمی میلوئیدی مزمن (K562)، سلول‌های لنفوسیتی، فلوسایتومتری، مرگ

**برنامه‌ریزی‌شده سلولی، نانو ذرات اکسید آهن متخلخل**

- ۱- دانشجوی دکترا، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان
- ۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان  
\*نویسنده مسئول: [faezi\\_m@yahoo.com](mailto:faezi_m@yahoo.com)
- ۳- استادیار گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان
- ۴- استادیار گروه نانو تکنولوژی، دانشکده علوم پیشرفته، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران
- ۵- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرد

## مقدمه

توسعه فناوری در سطح نانو باعث گسترش کاربردهای مختلف آن در زمینه پزشکی از جمله تشخیص، شناسایی زیستی، درمان و تحویل دارو در محل شده است (Riviere et al., 2006; Suri et al., 2007). همچنین علم زیست‌شناسی پزشکی در حد نانو در حال توسعه بوده و علاوه بر آن استفاده از نانوذرات به‌عنوان مواد ضد سرطان در حال افزایش است (Nel et al., 2009). نانوذرات اکسید آهن دارای ویژگی‌های منحصر به فردی هستند که برای کاربردهای مختلف در پزشکی از جمله تشخیص، تصویربرداری، هایپرترمی، جداسازی مغناطیسی، تکثیر سلولی، ترمیم بافت و تحویل دارو در محل مورد استفاده قرار می‌گیرند (Rao et al., 2015). تحقیقات مختلفی روی ترکیبات اکسید آهن در زمینه تولید ساختارهایی با اندازه نانو مانند مگمیت (V- $Fe_2O_3$ ) یا مگنتیت ( $Fe_2O_3$ ) انجام شده که اندازه‌های مابین ۵ تا ۲۰ نانومتر قطر دارند و در این میان مگنتیت دارای اهمیت بیشتری است زیرا سازش‌پذیری زیستی آن ثابت شده است. همچنین این نانوذرات دارای ویژگی‌های چندمنظوره از جمله سایز بهینه و سطح تغییر یافته و تخلخل فراوان هستند. در این میان با توجه به خواص منحصر به فرد نانوذرات اکسید آهن متخلخل، از جمله: زیست‌سازگاری بالا، مساحت بالا و حجم حفره‌های متعدد، قابل تنظیم بودن اندازه حفره‌ها، قابلیت بارگذاری مولکول‌های دارویی، انعطاف‌پذیری در برابر اتصال گروه‌های شیمیایی مختلف بر روی سطح به‌منظور انتقال هدفمند دارو و پایداری شیمیایی، می‌تواند بسیار سودمند باشند (Gupta & Gupta, 2005; Huber, 2005). علاوه بر این، نانوذرات سوپر مغناطیس آهن به دلیل پایداری کلونیدی، زیست‌سازگاری و خاصیت مغناطیسی انتخاب مناسبی برای کاربردهای زیست پزشکی هستند (Hong et al., 2011). نانوذرات اکسید آهن در بدن می‌توانند متابولیزه شوند و به راحتی یون‌های آهن را آزاد کنند که این یون‌ها می‌توانند توسط پروتئین‌های فریتین، ترانس فریتین و هموسیدرین انتقال یابند و به‌عنوان ذخایر آهن برای استفاده‌های بعدی مورد استفاده قرار بگیرند (Santhosh & Ulrich, 2013). علاوه بر مزایای فوق، استفاده از نانوذرات متخلخل به دلیل افزایش در دسترس بودن دارو در سلول‌های سرطانی هدف و بارگذاری دارو بر روی نانوذرات بسیار مناسب هستند. در این رابطه سو و همکارانش (Su et al., 2015) و بنیتو و همکارانش (Benyettou et al., 2016) نشان دادند که علاوه بر افزایش بارگیری دارو در نانوذرات متخلخل اکسید آهن حاوی پوشش پروتئینی باعث تجمع و رهاسازی بیشتر دارو در سلول‌های سرطانی هدف در مقایسه با نانوذرات اکسید آهن به‌تنهایی می‌شوند. چن و همکارانش (Chen et al., 2016) با طراحی نانوذرات اکسید آهن حاوی هم علاوه بر تجمع دارویی بر روی سلول‌های لوسمی میلونیدی با فعال کردن کاسپاز ۳، کاسپاز ۸ و کاسپاز ۹ به‌طور قابل توجه باعث کاهش فعالیت سلول‌های فوق از طریق القای آپوپتوزیس شدند. با این وجود، چالش‌های مختلفی در رابطه با سمیت نانوذرات فلزی و آزادسازی سریع آن‌ها از خون به سیستم رتیکولاندوتلیال (Shen et al., 2018) وجود دارد که با استفاده از روکش‌های پلیمری و یا پروتئینی می‌توان بر آن غلبه کرد (Feng et al., 2018).

کانوار و همکارانش (Kanwar *et al.*, 2016) نشان دادند که استفاده از پروتئین لاکتوفرین به عنوان پوشش روی نانوذرات متخلخل اکسید آهن باعث افزایش ماندگاری نانوذره حاوی دارو بیش از ۲۴ ساعت بعد از تزریق می‌شود. به طور مشابه زو و همکارانش (Xue *et al.*, 2018) با استفاده از نانوذرات اکسید آهن چندمنظوره با تثبیت پلیمری منجر به مرگ سلول‌های لوسمی میلوئیدی حاد و ثبات طولانی داروی دوکسوروبیسین در خون شد. همچنین نشان داده شد که استفاده از پلیمرهای پلی اتیلن گلیکول یا پلورونیک باعث پایداری بیشتر نانوذرات در خون می‌شود (Benyettou *et al.*, 2016; Ostroverkhov *et al.*, 2019). نانوذرات آهن می‌توانند از طریق پدیده القا پدیده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و یا اتوفازی به واسطه میتوکندری، موجب از بین رفتن سلول‌های سرطانی سر، گردن (Huang *et al.*, 2017; Shieh *et al.*, 2017) و سلول‌های سرطانی تخمدان (Shieh *et al.*, 2017) شوند. تعیین عوارض جانبی و اثرات نانوذرات روی تغییرات ساختاری برخی پروتئین‌های حامل مثل آلبومین سرم انسانی (Tabish *et al.*, 2016) و سمیت بر سلول‌های طبیعی و سرطانی نیز از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

در دهه اخیر از نانوذرات اکسید آهن در تحقیقات زیست پزشکی بسیار استفاده شده است. این نانوذرات به عنوان حامل های دارویی و ژن به کار گرفته شده اند. اخیراً اثرات سمی این نانوذرات نیز مورد توجه قرار گرفته است، به ویژه غلظت های بالای این نانوذره روی پروتئین های اکتین در اسکلت سلولی تاثیرگذار است و موجب توقف تقسیم سلولی می شود. همچنین تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن (Reactive oxygen species) را تحریک می کند (Soenen *et al.*, 2011). به این ترتیب تنش اکسیداتیو باعث آسیب زدن به مولکول های زیستی شده و از این طریق باعث آسیب به سلول ها و در نهایت بافت ها می شود (Stroh *et al.*, 2004). امروزه مشخص شده است که نانو ذرات متخلخل توانایی نفوذپذیری عمیق تری در ساختار سلول های سرطانی دارند (Su *et al.*, 2015). از آنجائی که اطلاعات زیادی در زمینه اثرات نانو ذرات متخلخل اکسید آهن بر روی سلول های لنفوسیتی و سلول های لوسمی میلوئیدی مزمن در دسترس نیست لذا هدف این تحقیق بررسی اثرات سمیت نانو ذرات متخلخل اکسید آهن (MIONPs) (Mesoporous iron oxide nanoparticles) روی سلول های لنفوسیتی و سلول های (K562) است.

## مواد و روش ها

### سنتز نانو ذرات اکسید آهن متخلخل

نانو ذرات اکسید آهن متخلخل از طریق واکنش آبگرمایی با انجام بعضی تغییرات به روش سو و همکاران ساخته شد (Su *et al.*, 2015). به این منظور ۲ میلی لیتر اولئیک اسید (Sigma، آمریکا) و سیترات سدیم (Sigma، آمریکا) به عنوان ماده همراه کننده در ۵ میلی لیتر اتیلن گلیکول (Sigma، آمریکا) برای تشکیل محلول شفاف، حل شد و سپس ۲۰ میلی مولار  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Sigma، آمریکا) و ۲۰ میلی مولار سدیم استات (Sigma، آمریکا) بدون آب به مجموعه اضافه شد و این ترکیب

در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت به‌منظور تشکیل مخلوط یکنواخت همزده شد. این مجموعه با یک پوشش تفلون در اتوکلاو در ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور واکنش آب‌گرمایی به مدت ۱۲ ساعت حرارت داده شد. سپس پارتیکل‌های مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق در ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جمع‌آوری شد. شستشوی نانو ذرات تشکیل‌شده با اتانل (Merck، آلمان) در سه مرحله انجام و در شرایط خلا در دمای اتاق خشک و استریلیزاسیون با اشعه فرابنفش (UV) انجام شد.

### خصوصیات نانو ذرات متخلخل اکسید آهن

اندازه نانو ذرات متخلخل اکسید آهن با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل (FESEM EOL6700, Japan) تعیین گردید. برای بررسی اندازه منافذ و کانال‌های نانو ذرات اکسید آهن متخلخل از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) با مدل (HRTEM, JEM-2010, Japan) با قدرت تفکیک بالا با افزایش ولتاژ ۱۰۰ kV استفاده گردید. طیف پراش اشعه ایکس با کمک پراش سنج اشعه ایکس مدل (XRD-6000; Japan) با دامنه تصویربرداری ۵ درجه تا ۷۵ درجه با تابش  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda=1.54178$ ) انجام پذیرفت. نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم به ازای میلی‌لیتر در محلول ۱ درصد دی‌متیل سولفواکسید (DMSO) به ۲۰ دقیقه همزده شد و مقدار شعاع هیدرودینامیکی توسط دستگاه پراکندگی نور پویا مدل (DLS; Brookhaven Instrument, Holtsville, NY, USA) تعیین شد.

### تهیه و کشت سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های لوسمی میلوئیدی مزمن

جمع‌آوری سلول‌های لنفوسیتی نمونه خون طبیعی از افراد سالم براساس اصول مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران و دانشگاه آزاد اسلامی با استفاده از سانتریفیوژ شیب مدل (Ficoll- paque Plus, Sigma USA) انجام شد. سلول‌های لنفوسیت در محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ (Sigma، آمریکا) حاوی ۱۰ درصد FBS (Sigma، آمریکا) ۱۰۰ U/ml پنی‌سیلین و ۱۰۰  $\mu\text{g/ml}$  استرپتومایسین (Sigma، آمریکا) کشت داده شدند. سپس ۵  $\mu\text{g/ml}$  PHA (Sigma، آمریکا) برای تحریک تکثیر سلول‌های لنفوسیت اضافه شد. رده سلولی لوسمی میلوئیدی مزمن (K۵۶۲) از انستیتو پاستور تهران خریداری شد. سلول‌ها در محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ حاوی ۱۰ درصد FBS، ۱۰۰  $\mu\text{g/ml}$  استرپتومایسین، ۱۰۰ U/ml پنی‌سیلین در ۳۷°C در آنکوباتور حاوی ۵ درصد  $\text{CO}_2$  کشت داده شد.

### آزمون (MTT) 3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide

یکی از جنبه‌های کلیدی در زیست‌شناسی سلولی تعیین میزان تکثیر وزنده‌مانی سلول‌ها در زمان حضور عوامل مختلف است. یکی از آزمایش‌هایی که برای زنده‌مانی و تکثیر سلولی استفاده می‌شود آزمون MTT است. این آزمون به‌عنوان روشی برای

بررسی میزان زنده‌مانی سلول یا بررسی اثر سمیت داروها یا دیگر مکمل‌ها بر سلول است که با تأثیر بر روی اندامک‌های درون‌سلولی می‌تواند بین سلول زنده و مرده تمایز قائل شود. این آزمایش بر پایه تبدیل سوبسترای زردرنگ نمک تترازولیوم بروماید یا نمک‌های دیگر تترازولیوم به بلوره‌های ارغوانی فورمازان به‌وسیله سلول‌هایی که از نظر متابولیکی فعال هستند انجام می‌شود. واکنش احیای سلولی با واسطه فاکتورهای NADPH و NADH انجام و بلوره‌های فورمازان ساخته‌شده به کمک حلال دی متیل سولفوکسید به فرم محلول درآمده و محلول ارغوانی رنگ ایجاد می‌شود. جذب محلول رنگی حاصل را می‌توان با اسپکتروفتومتر و یا الایزا ریدر، قرائت کرد. میزان جذب با تعداد سلول‌های زنده رابطه مستقیم دارد. در این مطالعه اثر بیولوژیک و سمیت نانو ذرات اکسید آهن متخلخل بر روی سلول‌های (K562) و سلول‌های لنفوسیتی بررسی شد. سلول‌های K562 و لنفوسیت‌ها تحت تأثیر محدوده غلظت‌های مؤثر نانو ذرات اکسید آهن متخلخل (۰/۰۰۱ تا ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفت. در این مطالعه با توجه به احتمال اثرات سمیت بالا بر روی سلول‌های طبیعی، غلظت‌های بالاتر از ۲۰ میکروگرم به ازای میلی‌لیتر در نظر گرفته نشد. درصد زنده ماندن سلول‌ها با استفاده از روش MTT در طول موج ۵۷۰ nm با استفاده از دستگاه خوانش میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای مدل (Expert 96, Asys Hitch, Ec Austria) سنجش شد. برای هر تیمار سه تکرار انجام و غلظت IC<sub>۵۰</sub> نانو ذرات اکسید آهن متخلخل در برابر سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K562) تعیین شد.

### فلوسایتومتری

القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده در سلول‌های تیمار شده با نانو ذرات اکسید آهن متخلخل به مدت ۲۴ ساعت با غلظت ۵۰ IC (۵ µg/ml) برای سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K562) و مقایسه آن با گروه کنترل که هیچ‌گونه تیماری دریافت نکردند طبق پروتکل (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) انجام پذیرفت. کیت Annexin V-FITC (Abcam ab14085) (آمریکا) جهت تشخیص مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و رنگ‌آمیزی سلول‌ها برای تعیین درصد سلول‌های در حال مرگ و نکروز استفاده شد. بعد از تیمار سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K562) با غلظت IC<sub>۵۰</sub> نانوذره اکسید آهن متخلخل در ۵۰۰ میکرولیتر بافر اتصال‌دهنده 1X Annexin V-FITC مخلوط گردید سپس با ۵ میکرولیتر Annexin V-FITC و ۵ میکرولیتر یدید پروپیدیوم رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت تعیین کمیت مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و نکروز با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری مدل (FACSCalibur. BD Biosciences, San Jose, CA, USA) انجام شد.

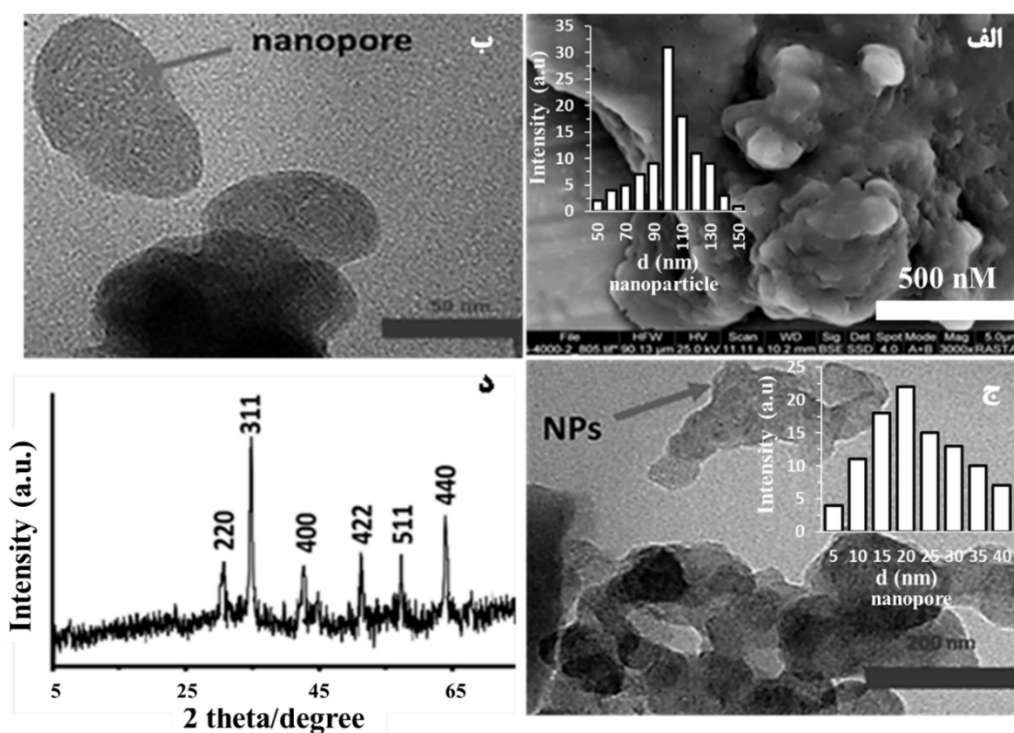
## تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS (Version 16.0) و آزمون آماری Tukey استفاده شد. نتایج به صورت (انحراف معیار  $\pm$  مقدار میانگین) برای هر داده نشان داده شد و معنی‌دار بودن نتایج براساس مقدار  $p < 0.05$  از نظر آماری دارای اهمیت گزارش شد.

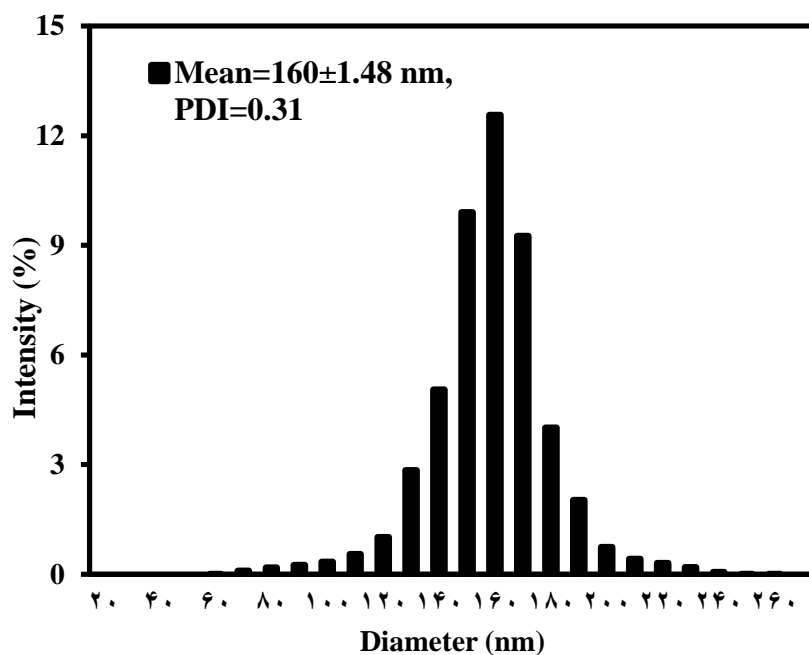
## نتایج و بحث

### خصوصیات نانو ذرات اکسید آهن متخلخل

خصوصیات نانو ذرات متخلخل اکسید آهن ساخته شده به روش آب‌گرمایی و ویژگی‌های آن توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۱-الف) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (شکل ۱-ب و ج) نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۱-الف نشان داده شده است نانو ذرات سنتز شده شکل کروی با قطر متوسط حدود ۱۰۰ نانومتر دارند. همان‌طوری که در نمودار هیستوگرام داخل شکل مشاهده می‌شود، توزیع نانو ذرات توسط نرم‌افزار ImageJ رسم و میانگین اندازه قطر ۱۰۰ نانومتری بیشترین توزیع را در نانو ذره اکسید آهن به خود اختصاص داد. همچنین برخی حفراتی که در سطح نانو ذرات مشاهده می‌شود نشان‌دهنده منافذ یا کانال‌ها در سطح نانو ذره است. در شکل ۱-ب و ج می‌توان منافذ و کانال‌های درون نانو ذرات را مشاهده کرد. هیستوگرام داخل شکل ۱-ج توزیع بیشتر منافذ و کانال‌ها را با قطر متوسط ۲۰ نانومتر نشان می‌دهد. شکل ۱-د طیف پراش اشعه X نانو ذرات متخلخل اکسید آهن را نشان می‌دهد. با توجه به طیف نتیجه می‌شود نانو ذره متخلخل اکسید آهن به خوبی تشکیل و پایداری خوبی داشت. پیک‌های پراش واقع در زاویه  $2\theta$  برابر ۳۰/۱، ۳۵/۵، ۴۲/۶، ۵۳/۶، ۵۷/۰ و ۶۲/۸ درجه که به ترتیب به صفحات (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۴۲۲)، (۵۱۱) و (۴۴۰) مربوط اند و به ساختار اسپاینل (Spinel) نانو ذرات مغناطیسی اکسید آهن نسبت داده می‌شوند (JCPDS card no.82-1533). شکل ۲ هیستوگرام پراکندگی نور پویا Dynamic light scattering (DLS) نانو ذرات اکسید آهن متخلخل را نشان می‌دهد. همان‌طوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود نانو ذرات متخلخل اکسید آهن به طور متوسط دارای شعاع هیدرودینامیک ۱۶۰ نانومتر با PDI ۰/۳۱ بوده که نشان‌دهنده یکنواختی مناسب محلول کلئیدی نانو ذرات تشکیل شده است. به طور مشخص هرچقدر میزان PDI پایین‌تر باشد تمایل به تجمع در نانو ذرات نیز پایین‌تر بوده و محلول کلئیدی نانو ذره یکنواخت‌تر هست.



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات متخلخل اکسید آهن (الف) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی به همراه هیستوگرام پراکندگی قطر متوسط نانوذرات تشکیل شده، (ب) و (ج) تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مربوط به قطر متوسط منافذ و کانال‌های تشکیل شده روی نانوذرات به ترتیب با بزرگ‌نمایی کوچک و بزرگ‌تر به همراه هیستوگرام (در تصویر ج) و (د) طیف پراش اشعه X نانوذرات اکسید آهن متخلخل



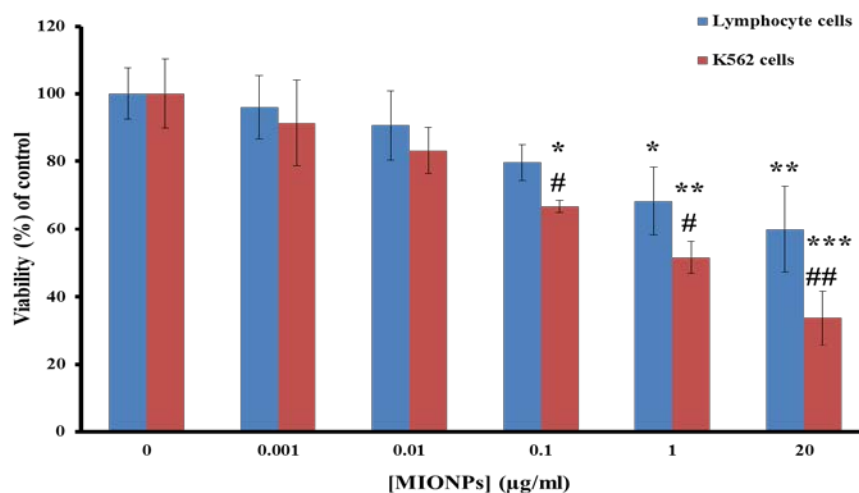
شکل ۲: هیستوگرام پراکندگی نور پویا (DLS) نانوذرات اکسید آهن متخلخل

## تجزیه و تحلیل نتایج آزمایش MTT

آزمون MTT برای تعیین میزان سمیت سلولی نانو ذرات متخلخل اکسید آهن در برابر سلول‌های لئوسیت و سلول‌های (K562) انجام شد. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده نانو ذرات متخلخل اکسید آهن باعث کاهش حیات سلولی به صورت وابسته به دوز می‌شوند. محور افقی نشان‌دهنده غلظت‌های صفر تا  $20 \mu\text{g/ml}$  نانو ذرات اکسید آهن متخلخل است. البته این سمیت در برابر سلول‌های لوسمی لئوئیدی مزمن نسبت به سلول‌های لئوسیتی شدیدتر است. در این روش درصد زنده ماندن سلولی بعد از انجام دوره گرماگذاری برای سلول‌های لئوسیتی و سلول‌های (K562) با غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید آهن متخلخل به ترتیب  $0/1$ ،  $0/01$ ،  $0/001$  و  $1 \mu\text{g/ml}$  محاسبه شد.

درصد زنده ماندن سلول‌ها برای سلول‌های لئوسیتی به ترتیب برای غلظت‌های ذکر شده  $96/12$  درصد،  $90/62$  درصد،  $80/73$  درصد،  $68/19$  درصد و  $59/97$  درصد و برای سلول‌های (K562) به ترتیب  $91/31$  درصد،  $83/28$  درصد،  $66/71$  درصد،  $51/71$  درصد و  $33/63$  درصد کاهش پیدا کرد. غلظت  $IC_{50}$  نانو ذرات متخلخل اکسید آهن در برابر سلول‌های لئوسیتی و سلول‌های (K562) به ترتیب به میزان  $20 \mu\text{g/ml}$  به بالا و  $5 \mu\text{g/ml}$  تعیین شد. شکل ۳ میزان زنده ماندن سلول‌های (K562) و سلول‌های لئوسیتی را بعد از آزمون MTT و ارتباط معناداری این دو را با نمونه‌ی کنترل (غلظت صفر نانو ذرات) نشان می‌دهد. با توجه به نتایج شکل ۳ نانو ذرات متخلخل اکسید آهن تا غلظت  $0/01 \mu\text{g/ml}$  بر روی دو گروه سلولی هیچ تأثیری نداشت. میزان سمیت نانو ذرات متخلخل اکسید آهن در غلظت  $0/1 \mu\text{g/ml}$  بر روی سلول‌های (K562)، بیشتر از سلول‌های کنترل ( $p < 0,05$ ) سلول‌های لئوسیت طبیعی ( $p < 0,05$ ) و معنی‌دار است. در غلظت  $1 \mu\text{g/ml}$  نانو ذرات اثر سمیت بر روی سلول‌های (K562) نسبت به سلول‌های کنترل ( $p < 0,001$ ) و لئوسیت طبیعی ( $p < 0,05$ ) بیشتر و معنی‌دار بود. در غلظت  $20 \mu\text{g/ml}$  نانو ذرات نیز اثر سمیت قابل توجهی بر روی سلول‌های (K562) نسبت به سلول‌های کنترل ( $p < 0,001$ ) و سلول‌های طبیعی ( $p < 0,05$ ) دیده شد و کاملاً معنی‌دار است. این نتایج نشان داد که نانو ذرات متخلخل اکسید آهن در یک‌روند وابسته به غلظت باعث کاهش حیات سلول‌های (K562) به صورت انتخابی شده‌اند. آزمون‌های مرگ برنامه‌ریزی شده برای سلول‌های لئوسیتی و سلول‌های (K562) در دو حالت تیمار نشده و تیمار شده با نانو ذرات متخلخل اکسید آهن با کمک سنجش فلوسایتومتری انجام پذیرفت.



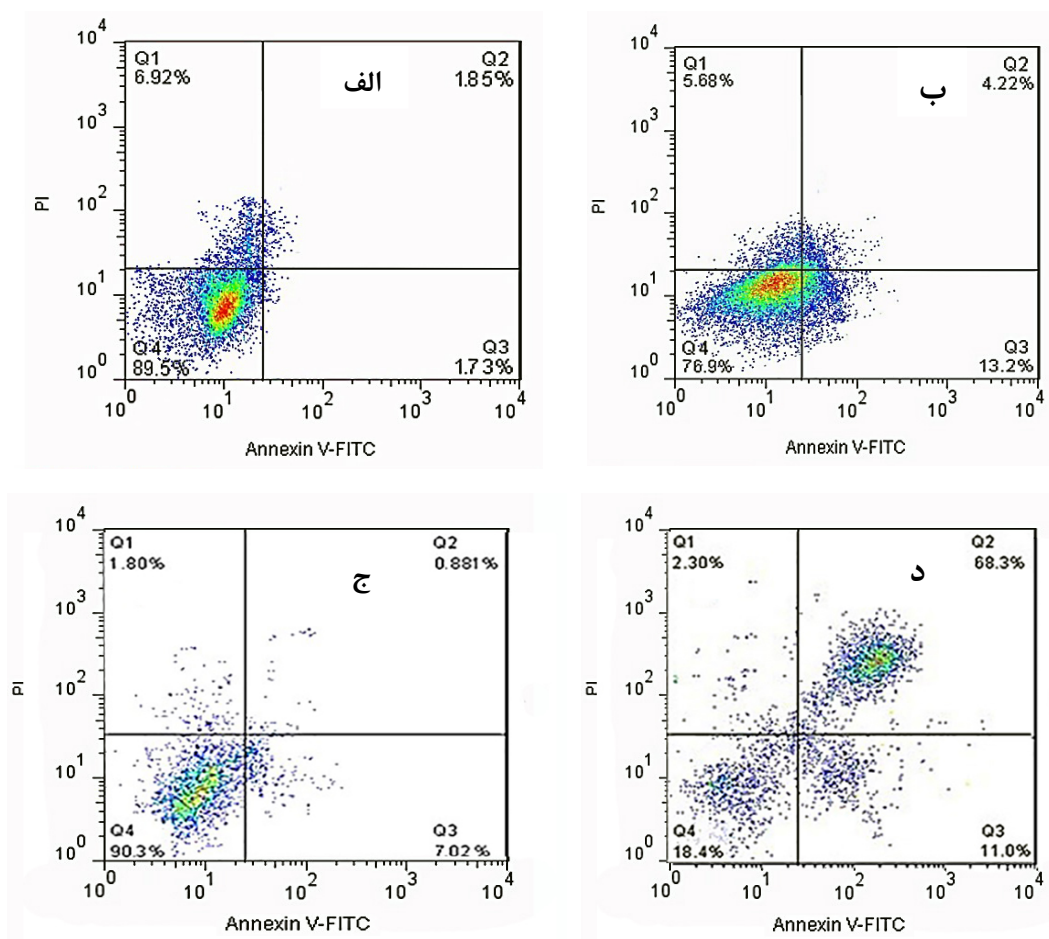


شکل ۳: نتایج اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات متخلخل اکسید آهن بر روی سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K562) نسبت به نمونه‌های کنترل برای هر دو نوع سلول (غلظت صفر نانو ذرات اکسید آهن) در مدت زمان ۲۴ ساعت. میزان سمیت بر روی سلول‌های لوسمی میلوئیدی مزمن ( $p < 0.05$ , #  $p < 0.05$  و  $### p < 0.05$ ) و سلول‌های لنفوسیتی ( $p < 0.05$ , \*  $p < 0.01$ , \*\*  $p < 0.001$ ) و نسبت به سلول‌های کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد.

### تجزیه و تحلیل فلوسایتومتری

به منظور بررسی شروع مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ناشی از اثر نانو ذرات متخلخل اکسید آهن فلوسایتومتری انجام شد. سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K562) به صورت کنترل و نمونه آزمایش با غلظت  $IC_{50}$  ( $5 \mu g/ml$ ) نانو ذرات متخلخل اکسید آهن مورد تیمار قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۴ (الف) نشان داده شده ۸۹/۵ درصد از سلول‌های لنفوسیتی کنترل (تیمار نشده با نانو ذرات) در وضعیت طبیعی ( $Q_4$ )، ۱/۷۳ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی شده اولیه ( $Q_3$ )، ۱/۸۵ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی شده تأخیری ( $Q_2$ ) و ۶/۹۲ درصد در وضعیت نکروز قرار دارند ( $Q_1$ ). وضعیت سلول‌های لنفوسیتی در حالت تیمار با نانو ذرات اکسید آهن متخلخل در شکل ۴ (ب) نشان داده شده است. در این شرایط ۷۶/۹ درصد از سلول‌های لنفوسیتی در وضعیت طبیعی ( $Q_4$ )، ۱۳/۲ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی شده اولیه ( $Q_3$ )، ۴/۲۲ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی شده تأخیری ( $Q_2$ ) و ۵/۶۸ درصد در وضعیت نکروز قرار دارند ( $Q_1$ ). نتایج تیمار سلول‌های (K562) با غلظت  $IC_{50}$  نانو ذرات متخلخل اکسید آهن، نشان داد که جمعیت سلول‌های زنده کاهش و تعداد سلول‌های دارای مرگ برنامه‌ریزی شده و نکروز شده به طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند، همان‌طوری که در شکل ۲ (ج) نشان داده شده است، ۹۰/۳ درصد سلول‌های (K562) در حالت کنترل در وضعیت طبیعی ( $Q_4$ )، ۷/۰۲ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی شده اولیه ( $Q_3$ )، ۰/۸۸ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی شده تأخیری ( $Q_2$ ) و ۱/۸۰ درصد در وضعیت نکروز قرار دارند ( $Q_1$ ). شکل ۲ (د) نشان می‌دهد که به ترتیب ۱۸/۴ درصد از سلول‌های (K562) تحت تیمار با نانوذره اکسید آهن در وضعیت طبیعی ( $Q_4$ )، ۱۱ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی شده

اولیه ( $Q_3$ )، ۶۸/۳ درصد در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی‌شده تأخیری ( $Q_2$ ) و ۲/۳۰ درصد در وضعیت نکروز قرار دارند ( $Q_1$ ). افزایش معنی‌دار سلول‌های در وضعیت مرگ برنامه‌ریزی‌شده تأخیری، نشان‌دهنده اثر قابل توجه نانو ذرات اکسید آهن متخلخل در غلظت  $IC_{50}$  بر سلول‌های (K562) نسبت به سلول‌های لنفوسیتی است.



شکل ۴: تجزیه و تحلیل فلوسایتومتری الف) سلول‌های لنفوسیتی کنترل (بدون حضور نانو ذرات متخلخل اکسید آهن)، ب) سلول‌های لنفوسیتی تحت تیمار با نانو ذرات اکسید آهن متخلخل ج) سلول‌های (K562) و د) سلول‌های (K562) تحت تیمار با نانو ذرات متخلخل اکسید آهن به مدت ۲۴ ساعت.

القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده، یکی از روش‌ها در از بین بردن سلول‌های سرطانی است و استفاده از نانو ذرات در این زمینه روزبه‌روز بیشتر می‌شود. در پژوهش حاضر نشان داده شد که نانو ذرات متخلخل اکسید آهن در غلظت  $IC_{50}$  به ایجاد اثرات القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده در سلول‌های (K562) هستند. همان‌طوری که در تجزیه و تحلیل فلوسایتومتری مشاهده می‌شود افزایش معنی‌داری در سلول‌های آپوپتوز شده نسبت به سلول‌های لنفوسیتی طبیعی وجود دارد. بررسی این نوع مرگ القاشده توسط نانوذره متخلخل اکسید آهن نشان داد که این ترکیب سلول‌های لوسمی میلوئیدی مزمن را به سمت آپوپتوز هدایت می‌کند و تمایل این نانوذره نسبت به نفوذ در سلول‌های سرطانی بیشتر از سلول‌های لنفوسیتی است. سمیت نانو ذرات

وابسته به اندازه دقیق آن‌ها است، هر چه اندازه نانو ذرات کوچک‌تر باشد راحت‌تر به ساختارهای بیولوژیکی نفوذ کرده و عملکرد طبیعی آن‌ها را مختل می‌کنند. با توجه به تغییرات ساختاری که به‌ویژه در سطح سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی اتفاق می‌افتد، نفوذ نانوذره با اندازه یکسان به درون آن‌ها نسبت به لنفوسیت‌های طبیعی مؤثرتر انجام می‌شود. در این تحقیق به نظر می‌رسد که همین مکانیسم موجب اثربخشی مؤثرتر این نانو ذرات بر روی سلول‌های سرطانی شده است. همچنین به نظر می‌رسد که وجود تخلخل بیشتر در ساختار نانوذره اکسید آهن به این فرآیند کمک می‌کند. اگرچه کاربردهای پزشکی مختلفی در مورد انواع نانو ذرات اکسید آهن مطالعه شده است، اما خصوصیات پزشکی نانو ذرات متخلخل اکسید آهن به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار نگرفته است. میزان نفوذپذیری نانو ذرات بستگی کامل به شرایط فیزیکی و شیمیایی آن‌ها دارد و ویژگی‌های سطحی نانوذره، داشتن ساختارهای تخلخلی می‌تواند متفاوت باشد که موجب افزایش نفوذپذیری، به‌ویژه در سلول‌های سرطانی می‌گردد. همچنین واکنش بین نانو ذرات و پروتئین، نقش مهمی در کاربرد دارویی نانو ذرات دارد. فعل‌وانفعالات بین نانو ذراتی مانند کربن با آلبومین سرم و گاماگلوبین‌ها توسط نیروهای آب‌گریز و واندروالسی هدایت می‌شوند و نانو ذرات فوق ساختار پروتئین را تغییر نمی‌دهند (Xue *et al.*, 2018). همچنین واکنش بین نانو ذرات نقره با آلبومین سرم گاوی BSA از طریق نیروهای آب‌گریز و الکترواستاتیک اتفاق می‌افتد و این تعاملات تغییرات ساختاری پروتئین را تحریک می‌کند (Wang *et al.*, 2017). تعامل بین نانوذره  $Fe_2O_3$  و BSA از طریق نیروهای آب‌گریز و آب‌دوست رخ می‌دهد که وابسته به گروه‌های عملکردی نانوذره می‌توانند منجر به تغییر قابل توجه در ساختار آلبومین سرم گاوی شوند (Hao *et al.*, 2017). انبوهی، بهزادی و رودبانه و همکارانشان نشان دادند که نانوذرات آهن بدون ظرفیت، نانو ذرات اکسید منیزیم و نانو ذرات اکسید سریم می‌توانند به آلبومین سرم خون انسان متصل شوند و فقط تغییرات جزئی در ساختار پروتئین ایجاد کنند (Anbouhi *et al.*, 2019; Behzadi *et al.*, 2019; Roudbaneh *et al.*, 2019).

کاربرد نانوذرات معدنی به‌عنوان آمیدی نو در جهت درمان سرطان‌ها است. در بین نانوذرات، نانوذرات متخلخل اکسید آهن به دلیل داشتن خاصیت مغناطیسی، جهت درمان سرطان‌های مختلف بسیار زیاد مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gobbo *et al.*, 2015; Nosrati *et al.*, 2018). بدین معنی که این نانوذرات با ایجاد یک میدان مغناطیسی می‌توانند دارو را به‌صورت هوشمند به بافت مورد نظر رسانده و بدون صدمه به بافت‌های دیگر، سبب بهبود بافت شوند. با در نظر گرفتن رفتار مغناطیسی نانو ذرات و همچنین توانایی حمل مواد دارویی، این ذرات کاربردهای چندگانه‌ای در زیست پزشکی از جمله دارورسانی هدفمند به تومورها، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی و درمان سرطان پیدا کرده‌اند. طبق گزارش‌های انجام‌شده نانوذرات اکسید آهن با قطر بیش از ۱۰۰ نانومتر به‌سرعت از طریق فاگوسیتوز، ماکروفاژها در کبد و طحال حذف می‌شوند، درحالی‌که نانوذرات اکسید آهن کوچک‌تر از قطر ۱۰ نانومتر احتمالاً از طریق ترشح کلیوی حذف می‌شوند.

همچنین مطالعات نشان داده که ساخت نانوذرات اکسید آهن بر پایه اکسید گرافن و به همراه آن می‌تواند فعالیت آنزیمی‌هایی مثل کاتالاز یا پراکسیداز را تقلید کرده و این فعالیت به شکل قوی وابسته به فاکتورهای مانند pH و دما است (Gao *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2017). از این جهت این نانوذرات می‌توانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز داشته باشند. همچنین اثر ممانعت‌کنندگی رشد سلول‌های سرطانی نانوذرات اکسید آهن همراه با هوموهارینگتونین (Homoharringtonine) که یک دارو جهت درمان لوسمی میلوئیدی مزمن است، مشخص شده است (Chen *et al.*, 2016). به این ترتیب از نانوذرات متخلخل اکسید آهن می‌توان در درمان انتخابی و هوشمند سرطان استفاده کرد. در واقع نانو ذرات به‌ویژه آن‌هایی که مغناطیسی هستند در کاربردهای پزشکی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما اثرات سوء آن‌ها نیز می‌بایست مدنظر قرار گیرد (Fard *et al.*, 2015). رخداد لوسمی میلوئیدی مزمن در میانسالان و سالمندان بیشتر است. همچنین گزارش‌هایی از سمیت‌های داروهای مورد استفاده جهت درمان این نوع سرطان وجود دارد. به‌طور مثال استفاده از داروهای مانند هوموهارینگتونین با توجه به اثرات بسیار سمی بر روی سلول‌های طبیعی با محدودیت‌های زیادی به‌ویژه در افراد سالمند مواجه است. لذا استفاده از نانو ذرات به‌عنوان حامل دارویی یا حتی جایگزین دارویی با اثرات کمتر سمی بسیار مورد توجه است. از میان رده‌های سلولی لوسمی میلوئیدی مزمن، رده‌ی (K۵۶۲) به‌عنوان یکی از معمول‌ترین رده‌های سلولی که در این‌گونه تحقیقات به‌کاربرده می‌شود انتخاب شد. در این مطالعه نشان داده شد که رفتار سلول‌های لنفوسیتی و سلول‌های (K۵۶۲) پس از قرارگیری در معرض نانوذرات متخلخل اکسید آهن متفاوت است. در واقع ساختارهای سلولی متفاوت که نانوذرات متخلخل اکسید آهن در آن نفوذ می‌کنند می‌تواند دلیل این رفتار متفاوت باشد. به نظر می‌رسد که این نانوذرات موجب تحریک تولید رادیکال‌های آزاد و شروع مرگ برنامه‌ریزی‌شده در سلول‌های لوسمی میلوئیدی مزمن می‌شوند و اثرات کشندگی آن‌ها بر روی سلول‌های (K۵۶۲) نسبت به سلول‌های لنفوسیتی معنی‌دار و بیشتر است.

## نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر نشان داده شد که نانوذرات متخلخل اکسید آهن به‌صورت انتخابی باعث القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده بیشتری در سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های لنفوسیتی می‌شوند، از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که از این نانو ذرات می‌توان در توسعه برنامه‌های دارویی به‌عنوان یک عامل یا داروی ضد سرطانی متحمل استفاده کرد.

## منابع

Anbouhi, T. S., Esfidvajani, E. M., Nemati, F., Haghghat, S., Sari, S., Attar, F., Falahati, M. (2019). Albumin binding, anticancer and antibacterial properties of synthesized zero valent iron nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 14, 243.

- Behzadi, E., Sarsharzadeh, R., Nouri, M., Attar, F., Akhtari, K., Shahpasand, K., & Falahati, M. (2019). Albumin binding and anticancer effect of magnesium oxide nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 14, 257.
- Benyettou, F., Ocadiz Flores, J. A., Ravaux, F., Rezgui, R., Jouiad, M., Nehme, S. I., Trabolsi, A. (2016). Mesoporous  $\gamma$ -iron oxide nanoparticles for magnetically triggered release of doxorubicin and hyperthermia treatment. *Chemistry–A European Journal*, 22(47), 17020-17028.
- Chen, M., Xiong, F., Ma, L., Yao, H., Wang, Q., Wen, L., Chen, S. (2016). Inhibitory effect of magnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles coloaded with homoharringtonine on human leukemia cells in vivo and in vitro. *International journal of nanomedicine*, 11, 4413.
- Fard, J. K., Jafari, S., & Eghbal, M. A. (2015). A review of molecular mechanisms involved in toxicity of nanoparticles. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(4), 447.
- Feng, Q., Liu, Y., Huang, J., Chen, K., Huang, J., & Xiao, K. (2018). Uptake, distribution, clearance, and toxicity of iron oxide nanoparticles with different sizes and coatings. *Scientific reports*, 8(1), 1-13.
- Gao, L., Fan, K., & Yan, X. (2017). Iron oxide nanozyme: a multifunctional enzyme mimetic for biomedical applications. *Theranostics* 7 (13): 3207–3227.
- Gobbo, O. L., Sjaastad, K., Radomski, M. W., Volkov, Y., & Prina-Mello, A. (2015). Magnetic nanoparticles in cancer theranostics. *Theranostics*, 5(11), 1249.
- Gupta, A. K., & Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26(18), 3995-4021.
- Hao, C., Xu, G., Feng, Y., Lu, L., Sun, W., & Sun, R. (2017). Fluorescence quenching study on the interaction of ferroferric oxide nanoparticles with bovine serum albumin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 184, 191-197.
- Hong, S. C., Lee, J. H., Lee, J., Kim, H. Y., Park, J. Y., Cho, J., Han, D.-W. (2011). Subtle cytotoxicity and genotoxicity differences in superparamagnetic iron oxide nanoparticles coated with various functional groups. *International journal of nanomedicine*, 6, 3219.
- Huang, K.-J., Wu, S.-R., & Shieh, D.-B. (2017). Zero-valent iron nanoparticles inhibited head and neck cancer cells growth: a pilot evaluation and mechanistic characterization. *Free Radical Biology and Medicine*, 108, S39.
- Huber, D. L. (2005). Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small*, 1(5), 482-501.
- Kanwar, J. R., Kamalapuram, S. K., Krishnakumar, S., & Kanwar, R. K. (2016). Multimodal iron oxide ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )-saturated lactoferrin nanocapsules as nanotheranostics for real-time imaging and breast cancer therapy of claudin-low, triple-negative (ER-/PR-/HER2-). *Nanomedicine*, 11(3), 249-268.
- Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M., Somasundaran, P., Thompson, M. (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature materials*, 8(7), 543-557.
- Nosrati, H., Salehiabar, M., Davaran, S., Danafar, H., & Manjili, H. K. (2018). Methotrexate-conjugated L-lysine coated iron oxide magnetic nanoparticles for inhibition of MCF-7 breast cancer cells. *Drug development and industrial pharmacy*, 44(6), 886-894.
- Ostroverkhov, P., Semkina, A., Naumenko, V., Plotnikova, E., Melnikov, P., Abakumova, T., Abakumov, A. (2019). Synthesis and characterization of bacteriochlorin loaded magnetic nanoparticles (MNP) for personalized MRI guided photosensitizers delivery to tumor. *Journal of colloid and interface science*, 537, 132-141.

- Rao, J. P., Gruenberg, P., & Geckeler, K. E. (2015). Magnetic zero-valent metal polymer nanoparticles: Current trends, scope, and perspectives. *Progress in Polymer Science*, 40, 138-147.
- Riviere, C., Roux, S., Tillement, O., Billotey, C., & Perriat, P. (2006). Nano-systems for medical applications: biological detection, drug delivery, diagnosis and therapy. *Annales de Chimie. Science des Materiaux (Paris)*, 31(3), 351-367.
- Roudbaneh, S. Z. K., Kahbasi, S., Sohrabi, M. J., Hasan, A., Salihi, A., Mirzaie, A., Aziz, F. M. (2019). Albumin binding, antioxidant and antibacterial effects of cerium oxide nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, 296, 111839.
- Santhosh, P. B., & Ulrih, N. P. (2013). Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promising tools in cancer theranostics. *Cancer letters*, 336(1), 8-17.
- Shen, L., Li, B., & Qiao, Y. (2018). Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in targeted drug/gene delivery systems. *Materials*, 11(2), 324.
- Shieh, D.-B., Yang, L.-X., Lee, W.-T., Huang, K. J., Wu, Y.-N., Su, W.-C., Tsang, B. (2017). Zero-valent iron based nanoparticles selectively inhibit cancerous cells through mitochondria-mediated autophagy. Paper presented at the 2017 IEEE 17th International Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO).
- Soenen, S. J., Himmelreich, U., Nuytten, N., & De Cuyper, M. (2011). Cytotoxic effects of iron oxide nanoparticles and implications for safety in cell labelling. *Biomaterials*, 32(1), 195-205.
- Song, L., Huang, C., Zhang, W., Ma, M., Chen, Z., Gu, N., & Zhang, Y. (2016). Graphene oxide-based Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hybrid enzyme mimetic with enhanced peroxidase and catalase-like activities. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 506, 747-755.
- Stroh, A., Zimmer, C., Gutzeit, C., Jakstadt, M., Marschinke, F., Jung, T., Grune, T. (2004). Iron oxide particles for molecular magnetic resonance imaging cause transient oxidative stress in rat macrophages. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(8), 976-984.
- Su, Y.-L., Fang, J.-H., Liao, C.-Y., Lin, C.-T., Li, Y.-T., & Hu, S.-H. (2015). Targeted mesoporous iron oxide nanoparticles-encapsulated perfluorohexane and a hydrophobic drug for deep tumor penetration and therapy. *Theranostics*, 5(11), 1233.
- Suri, S. S., Fenniri, H., & Singh, B. (2007). Nanotechnology-based drug delivery systems. *Journal of occupational medicine and toxicology*, 2(1), 16.
- Tabish, T. A., Ashiq, M. N., Ullah, M. A., Iqbal, S., Latif, M., Ali, M., Iqbal, F. (2016). Biocompatibility of cobalt iron oxide magnetic nanoparticles in male rabbits. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 33(7), 2222-2227.
- Wang, G., Lu, Y., Hou, H., & Liu, Y. (2017). Probing the binding behavior and kinetics of silver nanoparticles with bovine serum albumin. *RSC advances*, 7(15), 9393-9401.
- Xue, W., Liu, X.-L., Ma, H., Xie, W., Huang, S., Wen, H., Fan, H. M. (2018). AMF responsive DOX-loaded magnetic microspheres: transmembrane drug release mechanism and multimodality postsurgical treatment of breast cancer. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(15), 2289-2303.

## Mesoporous Iron Oxide Nanoparticle Synthesis: Study of Its Biological Effects on Lymphocytes and Chronic Myelogenous Leukemia Cells K562

M. Mehrabi<sup>1</sup>, M. Faezi Ghasemi<sup>2\*</sup>, B. Rasti<sup>3</sup>, M. Falahati<sup>4</sup>, A. Mirzaie<sup>5</sup>

Received:2020.9.29

Accepted:2021.2.23

### Abstract

Mesoporous iron oxide nanoparticles (MIONPs) have various applications in the medical and pharmaceutical industries. Therefore, investigating their effects on cancer cells could be of great essence. Accordingly, the aim of this study was to synthesize MIONPs and to compare their effect between lymphocytes and chronic myeloid leukemia cells (K562). MIONPs were made by the hydrothermal method. The effects of different concentrations of MIONPs on lymphocytes and K562 cells were then investigated using MTT and flow cytometry (FCM) approaches. X-ray diffraction, transmission electron microscope, and dynamic light scattering (DLS) analysis verified the synthesis of MIONPs. The results showed that the nanoparticles were spherical in shape with an average diameter of about 100 nanometres. The results of the MTT test showed that the MIONPs reduced the life of the cells in a dose-dependent manner, although this toxicity was higher for the K562 cells compared to the lymphocytes. After the determination of IC<sub>50</sub> concentration for MIONPs, flow cytometry was performed to investigate the programmed cell death (apoptosis) on K562 and lymphocytes cells. The rate of programmed death and necrosis in K562 cells treated with MIONPs was much higher than in lymphocytes. As a result, it can be concluded that porous iron oxide nanoparticles can be used as a possible anti-cancer agents.

**Keywords:** *Chronic myelogenous leukemia cells (K562), lymphocyte cells, flow cytometry, programmed cell death, Mesoporous iron oxide nanoparticles*

---

1- PhD Candidate of Microbiology, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University (IAU), Lahijan

2- Associate Professor of Microbiology, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University (IAU), Lahijan

\*(Corresponding author: [faezi\\_m@yahoo.com](mailto:faezi_m@yahoo.com))

3- Assistant Professor of Bioinformatics, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University (IAU), Lahijan

4- Assistant Professor of Biophysics, Department of Nanotechnology, Faculty of Advance Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran

5- Assistant Professor of Microbiology, Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand