

## مقاله پژوهشی

# بررسی مقایسه‌ای اثرات سمیت سلولی نانوذرات اکسید آهن، اکسید روی و نقره روی گلبول‌های سفید و رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL در Vitro

زهرا فراهانی<sup>۱</sup>، کاظم پریور<sup>۲</sup>، نسیم حیاتی رودباری<sup>۳</sup>، مونا فرهادی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
<sup>۳</sup> گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
<sup>۴</sup> گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

\* (نویسنده مسئول مکاتبات): kazemparivar2022@gmail.com

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۱

<https://doi.org/10.30495/jdb.2023.1975296.1344>

## چکیده

امروزه درمان با نانوذرات مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. نانوذرات به دلیل سایز کوچک و جذب آسان می‌توانند گزینه مناسبی برای موارد درمانی باشند، در این پژوهش بررسی مقایسه‌ای اثر ضد سرطانی نانوذرات نقره، اکسیدروی و اکسید آهن روی رده سلولی لوکمیایی و گلبول‌های سفید انسان HPB-ALL صورت گرفت. گلبول‌های سفید انسانی و رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL پاساژ داده شدند. نانوذرات اکسید آهن، اکسید روی و نقره با غلظت‌های مختلف به میکروپلیت‌های محتوی سلول‌ها اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت با نانوذرات تیمار شدند. توان حیاتی سلول‌ها با MTT و آپوپتوز با بررسی قطعه قطعه شدن DNA و سنجش Annexin و PI ارزیابی شد. نتایج به دست آمده برای رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL و گلبول‌های سفید با تأثیر سه نانوذره نقره، اکسیدروی و اکسید آهن در سطح معناداری ( $P > 0/05$ ) مورد تحلیل قرار گرفت. هر سه نانوذره، اثرات سمیت سلولی را در هر دو رده سلولی نشان دادند. اثرات سمیت سلولی نانوذرات در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL بیشتر از گلبول‌های سفید بود. در بین این نانوذرات، نانوذرات نقره نسبت به دو نانوذره دیگر اثر سمیت سلولی معنی‌دار در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL داشتند. بررسی میزان IC<sub>50</sub>، تخریب DNA و القای آپوپتوز در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL توسط نانوذرات نقره به میزان معنی‌داری بیشتر از دو نانوذره دیگر بود. با توجه به نتایج بالا و بررسی‌های بیشتر مکانیسم نفوذ هر کدام از نانوذرات می‌توان گفت که نانوذرات نقره دارای پتانسیل کاربردهای درمانی می‌باشند.

**کلیدواژه‌ها:** سلول‌های لوکمیایی، گلبول‌های سفید، نانوذرات نقره، نانوذرات اکسیدروی، نانوذرات اکسید آهن، آپوپتوز.

## مقدمه

سرطان یکی از عوامل مهم مرگ و میر به شمار می‌رود. گستردگی و تنوع شیوع سرطان طی زمان‌ها گذشته منجر به پیشرفت روش‌های متنوع درمانی شده است که بسته به میزان پیشرفت، نوع، وسعت بیماری و وضعیت بیمار، ترکیبی از روش‌های مختلف جهت مبارزه و درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱]. امروزه از روش‌های مختلفی جهت درمان سرطان استفاده می‌شود که شامل جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی می‌باشد و در اغلب موارد، سلول‌های سالم نیز از بین می‌روند و این می‌تواند باعث اثرات سمی و عوارض جانبی در بیمار شود. بنابراین یافتن روش‌های نوین درمان سرطان با کاهش عوارض جانبی ضروری به نظر می‌رسد [۲]. یکی از روش‌هایی که اخیراً در پروژدهای پزشکی سرطان بسیار گسترده شده است، استفاده از نانوذرات به عنوان حامل و هم‌چنین هدف‌دار نمودن داروهای ضد سرطانی جهت تحویل اختصاصی دارو به بافت سرطانی و کم نمودن عوارض جانبی می‌باشد [۳].

لوکمی براساس چگونگی پیشرفت بیماری و سرعت رشد آن نیز به دو دسته حاد (سریع) و مزمن (آهسته) تقسیم می‌شود. لوکمی حاد پیشرفت سریع دارد و باعث تجمع سلول‌های خونی نابالغ و بدون عملکرد در مغز استخوان می‌شود. لوکمی مزمن آرام‌تر پیشرفت می‌کند و منجر به تجمع گلبول‌های سفید نسبتاً بالغ و البته غیر طبیعی می‌شود [۴]. در این نوع لوکمی، لنفوسیت‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرند و روندی حاد دارد. این نوع سرطان در میان اطفال شایع‌تر است. سن کودکان مبتلا به این بیماری معمولاً زیر ۱۰ سال است و سفید پوستان دو برابر نژاد آمریکایی-آفریقایی به آن مبتلا می‌شوند [۵].

نانوذرات نقره به‌طور گسترده در زمینه‌های مختلف علم به‌ویژه در زمینه زیست‌پزشکی استفاده شده‌اند. آن‌ها همچنین برای اثرات ضد میکروبی آن‌ها [۶]، بهبود زخم [۷] و فعالیت‌های ضد سرطان [۸] مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. این نانوذرات به دلیل ویژگی‌های زیست‌پزشکی فوق‌العاده و همچنین ویژگی‌های سطحی خاص برای درمان انواع مختلف سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۹]. اثرات آپوپتوتیک نانوذرات نقره بر روی رده سلولی HT29 سرطان روده بزرگ [۱۰] و اثرات سیتوتوکسیک و فعالیت ضد سرطانی

نانوذرات نقره سنتزی گیاهی بر روی رده سلولی MCF-7 سرطان سینه و سلول‌های سرطانی دهانه رحم HeLa نشان داده شده است [۱۱ و ۱۲]. نتایج فعالیت ضد سرطانی و ضد تکثیر نانوذرات نقره سنتزی بیولوژیکی بر روی سلول‌های سرطان ریه A549 را نشان داد علت سمیت سلولی آن‌ها را می‌توان به توانایی آن‌ها در توقف چرخه سلولی در فاز G1 نسبت داد [۱۳ و ۱۴]. همچنین تأیید شد که نانوذرات نقره سنتز شده توسط برگ *Juniperus chinensis* اثر ضدسرطانی قوی بر روی رده‌های سلولی آدنوکارسینوم معده انسان (AGS) نشان می‌دهند [۱۵].

در بین انواع نانوذرات، نانوذرات مغناطیسی (MNPs)، قطر ۱۰۰nm (یا کمتر) به‌طور گسترده‌ای در زمینه زیست‌پزشکی پذیرفته شده‌اند به علت تنظیم‌پذیری اندازه و شکل، طبیعت سوپر پارامغناطیسی، سنتز ساده، نسبت سطح به حجم بالا و به‌طور مؤثر، طیف وسیعی برای لیگاندهای زیستی دارد [۱۶].

نانوذرات سوپر پارامغناطیسی اکسید آهن (مگنتیت،  $Fe_3O_4$  و مگمیت،  $\gamma Fe_2O_3$ ) کاربردهای متعدد در زیست‌پزشکی مانند تصویربرداری رزونانس مغناطیسی

(MRI)، انتقال دارو [۱۷] و درمان با گرما تخریب‌گری [۱۸] استفاده شده‌اند. مطالعه سمیت سلولی مرتبط با نانوذرات اکسید آهن، نشان می‌دهد که به تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) می‌انجامد و همین دلیل اصلی مرگ سلولی است که به دنبال آن رخ می‌دهد.

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذرات اکسید آهن مانند اندازه، شکل و سطح شیمیایی نیز در القای گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر در سلول‌ها نقش دارد. سطح مساحت بیشتر نانوذرات کوچک‌تر با افزایش سمیت سلولی این نانوذرات ارتباط دارد. به هر حال در بعضی مطالعات تفاوت معنی‌داری در سمیت سلولی وابسته به اندازه نانوذرات اکسید آهن یافت نشده است [۱۹]. شکل نانوذرات اکسید آهن هم درجات مختلفی از ایجاد سمیت سلولی دارد، مثلاً نانوذرات اکسید آهن میله‌ای شکل ( $Fe_2O_3$ ) درجه نکرور بیشتری در سلول‌های ماکروفاژ موش نسبت به نانوذرات اکسید آهن کروی نشان داد [۲۰]. نانوذرات اکسید روی به خوبی شناخته شده‌اند و به‌طور گسترده‌ای به عنوان اکسیدهای فلزی در بسیاری از محصولات گوناگون و همچنین به عنوان کاتالیزور در الکترونیک، لباس، رنگ، پوشش و

**خون گیری و جداسازی PBMC:**

به منظور جداسازی لنفوسیت از خون محیطی از انسان سالم ۱۰ میلی لیتر خون گرفته شد و درون لوله جمع کننده حاوی EDTA ریخته شد (ساخت شرکت BD) و PBMCs با استفاده از فایکول جدا شد. سپس توده حاوی PBMC از مرز میان فایکول و پلاسما برداشته شد. و به عنوان سلول نرمال در مقایسه با سلول های لوکمیایی استفاده شد.

**کشت سلول**

رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL از بانک سلول انستیتو پاستور ایران با کد C213 خریداری شد. رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL و لنفوسیت های جدا شده در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Fetal Bovin Serum: FBS) ۳/۷ گرم در لیتر بی کربنات، ۱۰۰ واحد در میلی لیتر آنتی بیوتیک پنی سیلین- استرپتومایسین در یک اتمسفر مرطوب با ۵ درصد دی اکسید کربن و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. برای اندازه گیری تخمینی تعداد سلول های زنده در محیط کشت RPMI1640، سلول ها با تریپان بلو ۰/۴٪ رنگ آمیزی و سپس با لام نئو بار شمارش شدند.

**نانوذرات**

نانوذرات مورد استفاده روی گلبول های سفید و رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL، به صورت آماده و با اندازه های مشخص تهیه شدند (US Research Nanomaterials, Inc) (جدول ۱).

محصولات آرایشی استفاده می شود [۲۱]. مطالعات قبلی سمیت سلولی نانوذرات اکسید روی را در انواع گوناگونی از سلول های سرطانی با استرس اکسیداتیو افزایش یافته، افزایش سطح  $Ca^{2+}$  درون سلول و کاهش MPT نشان داده اند. نانوذرات اکسید روی، تولید اینترلوکین ۸ (IL-8) را در سلول های اپیتلیال برونشیول BEAS-2B و سلول های آدنوکارسینوما آلئولار A549 تحریک می کند [۲۲]. نانوذرات اکسید روی نه تنها سمیت سلولی ایجاد می کنند بلکه باعث سمیت ژنی گوناگون در انواع مختلف سلول ها می شوند مانند تخریب DNA در سلول های اپیدرمی A431 [۲۳].

با توجه به موارد اشاره شده در راستای بررسی اثرات سمیت سلولی نانوذرات بر روی سلول های سرطانی و سالم و مقایسه آن ها با یکدیگر، این تحقیق انجام شد.

**مواد و روش ها****محیط کشت RPMI 1640**

آنتی بیوتیک پنی سیلین/استرپتومایسین (Penicillin/ Streptomycin (USA) (-sigma) 1x، Trypsin/EDTA (10X Gibco(USA) - سرم جنین گاوی (FBS (fetal bovine serum) Gibco (USA) - دی متیل سولفوکسید (DMSO) (Merck (Germany) - پیرووات سدیم (Sodium pyruvate)، Cell culture. این محیط کشت متعلق به شرکت Gibco(USA) بود.

جدول ۱: مشخصات نانوذرات

مشخصات	اندازه	نوع نانوذرات
Stock#:US3590,CAS#:1314-13-2,Net Weight:10g	99+%,10-30nm	اکسید روی (ZnO) Zinc Oxide
Stock#:US1038,CAS#:7440-22-4,Net Weight:1g	99.99+%,20nm,metalbasis	نقره (Ag) Silver
Stock#:US3220,CAS#:1317-61-4,Net Weight:10g	High purity,99.5+%,20-30nm	اکسید آهن Iron Oxide (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> )

شرکت: US Research Nanomaterials, Inc

آپوپتوز را به ترتیب در نواحی Q3، Q4 و Q2 مشاهده کرد.  $10^5 \times 5-1$  سلول در هر لوله ریخته شده و با  $1 \times \text{Binding Buffer}$  به حجم  $500 \mu\text{l}$  میکرولیتر رسانده شد. در ابتدا برای حذف محیط، سلول‌ها با PBS شستشو داده شدند. رنگ FITC با PI هم پوشانی دارند و برای تنظیم صحیح و رفع همپوشانی رنگ‌ها، باید تصحیح همپوشانی (Compensation) صورت گیرد. برای این منظور چهار لوله مورد نیاز است. به‌عنوان مثال یک لوله بدون رنگ، لوله حاوی Annexin V-FITC، لوله حاوی رنگ PI و لوله آخر که دارای هر دو رنگ FITC و PI است. لوله اول که همان سلول بدون رنگ است در ۴ درجه سانتیگراد نگه داری شد. به لوله دوم و لوله چهارم ۵ میکرولیتر Annexin V-FITC اضافه شده است و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در تاریکی انکوبه گردید. پس از اتمام زمان انکوباسیون، لوله‌ها با ۱ میلی‌لیتر  $1 \times \text{Binding Buffer}$  شستشو داده شده و سانتریفیوژ ( $1500 \text{ rpm}$  به مدت ۵ دقیقه) انجام می‌شود. محلول رویی خارج شده و  $500 \mu\text{l}$  میکرولیتر دیگر از  $1 \times \text{Binding Buffer}$  اضافه گردید. در زمان خواندن نمونه‌ها، به لوله سوم و چهارم ۳ میکرولیتر PI اضافه شد.

#### آنالیز آماری:

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۲/۰ و آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و ترسیم نمودار توسط نرم افزار Excel انجام شد. آزمایش‌های این تحقیق به صورت سه بار تکرار انجام گرفت.

#### نتایج

##### توان حیاتی سلول‌ها

نتایج میزان  $IC_{50}$  نانوذرات روی سلول‌های سالم (گلبول‌های سفید) و رده سلولی HPB-ALL لوکمیایی حاصل از ۳ تکرار تست MTT نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذرات موجب کاهش معنی داری در میزان توان حیاتی سلول‌ها نسبت به گروه کنترل گردیده است.

##### توان حیاتی نانوذرات نقره

با توجه به شکل A-1، افزایش غلظت نانوذرات نقره تا

بررسی میزان سمیت سلولی با استفاده از روش MTT: بررسی اثر نانوذرات نقره بر روی رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی و سالم، از روش رنگ‌سنجی با استفاده از MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) انجام شد. برای انجام آزمایش، لئوسیت‌ها و رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL با تراکم  $10^4$  سلول به هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه منتقل و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور  $CO_2$  دار در دمای  $37^\circ C$  نگهداری شدند. سپس نانوذرات نقره با غلظت‌های مختلف به هر کدام از چاهک‌ها اضافه شد پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار سلول‌ها با نانوذرات، به هر خانه پلیت ۲۰ میکرولیتر رنگ MTT (شرکت Atocel) اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در شرایط تاریکی انکوبه شد. پس از طی زمان مذکور محیط کشت حاوی MTT به دقت خارج شد و به هر خانه پلیت ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (DMSO) به منظور حل نمودن کریستال‌های فورمازان ارغوانی رنگ تشکیل شده توسط سلول‌های زنده اضافه شد. جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه قرائت گر الیزا (Stat Fax (ELISA Reader (Awareness) 2100 در طول موج  $570 \text{ nm}$  پس از گذشت ۱۵ دقیقه انکوباسیون، اندازه‌گیری شد. در پایان این مرحله در دوره زمانی مربوطه، نتایج حاصله به صورت غلظتی که سبب مهار رشد سلولی تا میزان ۵۰ درصد می‌شود به عنوان  $IC_{50}$  در نظر گرفته شد.

##### استخراج DNA

استخراج DNA، به روش استخراج ژنوم از سلول‌های خونی انجام شد [۲۴].

##### بررسی آپوپتوز با استفاده از کیت Annexin & PI:

فرآیند آپوپتوز به وسیله فلوسیتومتری با رنگ‌آمیزی Annexin-PI بررسی شد. در این روش به طور معمول از Annexin V الحاق شده با FITC به همراه رنگ PI استفاده می‌شود تا بتوان به وسیله آن سه جمعیت سلولی زنده (Viable cells)، مرحله آغازین آپوپتوز (Early Apoptosis) و مرحله نهایی آپوپتوز (late Apoptosis) را تشخیص داد. در نمودار رسم شده به وسیله فلوسایتمتر می‌توان جمعیت سلولی زنده، مرحله آغازی و نهایی

به غلظت‌های قبلی، کاهش زیادی در درصد زنده مانی سلول‌ها مشاهده می‌شود.

با توجه به شکل A-۳، در سلول‌های لوکمیایی HPB-ALL افزایش غلظت نانو ذره اکسید آهن تا  $150 \mu\text{g/ml}$  کاهش معنی‌داری را با گروه کنترل نشان می‌دهد در حالی است که در غلظت  $160 \mu\text{g/ml}$  درصد زنده مانی سلول‌ها نسبت به غلظت‌های قبلی کاهش بیشتری نشان می‌دهد. همچنین در غلظت  $170 \mu\text{g/ml}$  نانو ذره اکسید آهن، زنده ماندن کاهش معنی‌دار تری پیدا می‌کند.

در شکل B-۳، درصد زنده مانی گلبول‌های سفید تحت تیمار با نانو ذرات اکسید آهن، تا غلظت  $150 \mu\text{g/ml}$  دارای روند نزولی با شیب ملایم است که نشان دهنده تاثیر پذیری کم سلول‌های مورد نظر می‌باشد. در غلظت  $160 \mu\text{g/ml}$  نسبت به غلظت‌های قبلی، کاهش بیشتری در درصد زنده مانی سلول‌ها مشاهده می‌شود. کاهش زنده مانی گلبول‌های سفید در غلظت‌های  $170 \mu\text{g/ml}$  و  $180 \mu\text{g/ml}$  نانو ذره اکسید آهن نیز وجود دارد.

به دست آمده از اثر نانو ذرات نقره در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL،  $2/68 \mu\text{g/ml}$  و در مورد گلبول‌های سفید  $5/87 \mu\text{g/ml}$  می‌باشد.

به دست آمده از اثر نانو ذرات روی در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL،  $75 \mu\text{g/ml}$  و در مورد گلبول‌های سفید  $86 \mu\text{g/ml}$  باشد.

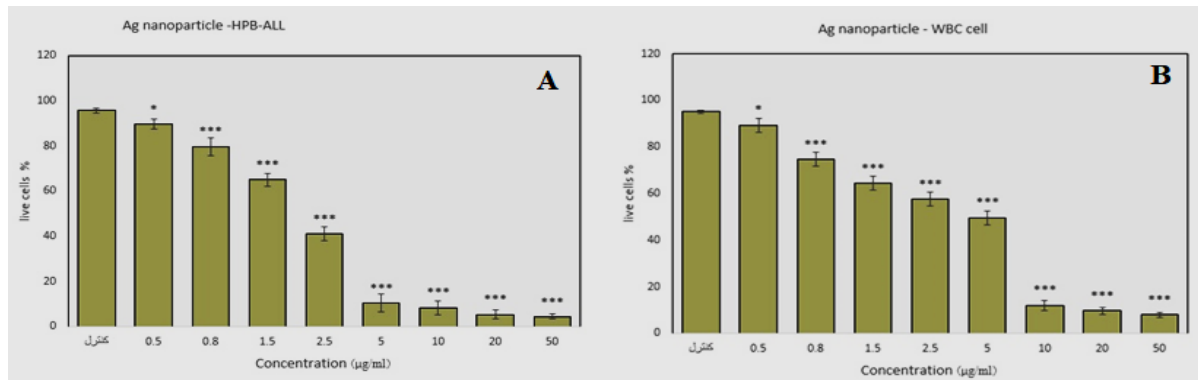
به دست آمده از اثر نانو ذرات آهن در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL،  $155 \mu\text{g/ml}$  باشد و در مورد گلبول‌های سفید  $156 \mu\text{g/ml}$  باشد (شکل ۴).

$1/5 \mu\text{g/ml}$ ، درصد سلول‌های زنده را با شیب ملایمی کاهش می‌دهد. در غلظت  $2/5 \mu\text{g/ml}$ ، درصد زنده مانی سلول‌ها کاهش شدیدی پیدا می‌کند که نشان دهنده تاثیر قابل توجه این غلظت از نانو ذره نقره بر زنده ماندن سلول‌های لوکمیایی HPB-ALL است و این کاهش در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر در مقایسه با گروه کنترل کاهش محسوسی دارد؛ ولی در بین این غلظت‌ها تفاوت قابل توجهی مشاهده نمی‌شود.

در شکل B-۱، درصد زنده مانی گلبول‌های سفید تیمار شده با نانو ذرات نقره، تا غلظت  $5 \mu\text{g/ml}$  کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل بود و این کاهش در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر، نسبت به گروه کنترل و همچنین غلظت‌های  $5/5$  تا  $5$  میکروگرم در میلی لیتر بسیار قابل توجه بود.

#### توان حیاتی نانو ذرات اکسید روی

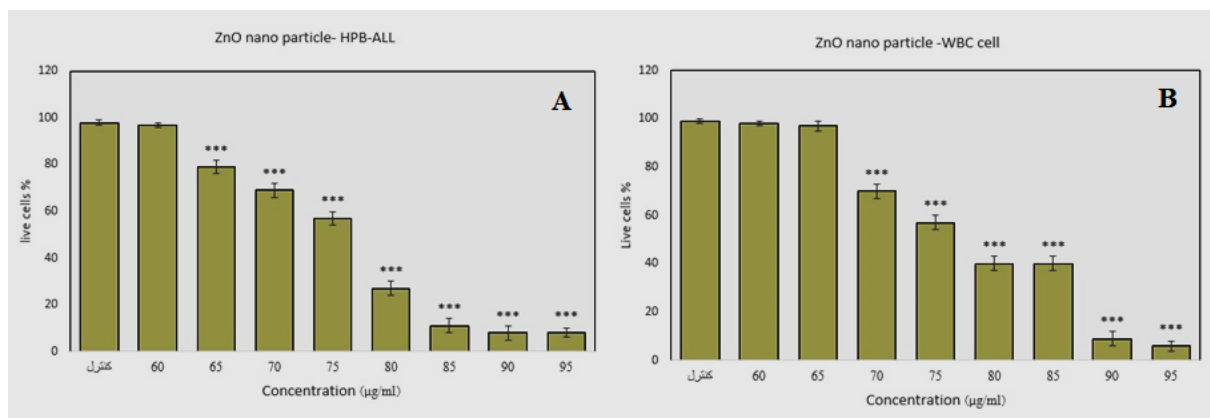
باتوجه به شکل A-۲، توان حیاتی سلول‌های لوکمیایی HPB-ALL با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی تا  $75 \mu\text{g/ml}$  نسبت به گروه کنترل کاهش نشان دادند و در غلظت  $80 \mu\text{g/ml}$  نیز، درصد زنده مانی سلول‌ها کاهش بسیار قابل توجهی نشان داد؛ که می‌تواند بیانگر تاثیر قابل توجه این غلظت از نانو ذره اکسید روی روی زنده ماندن سلول‌ها نسبت به سایر غلظت‌ها باشد. در شکل B-۲، درصد زنده مانی گلبول‌های سفید تحت تیمار با نانو ذرات اکسید روی، تا غلظت  $85 \mu\text{g/ml}$  دارای روند نزولی با شیب ملایم است که نشان دهنده تاثیر پذیری کم سلول‌های مورد نظر است. در غلظت  $90 \mu\text{g/ml}$  و همچنین  $95 \mu\text{g/ml}$  نسبت



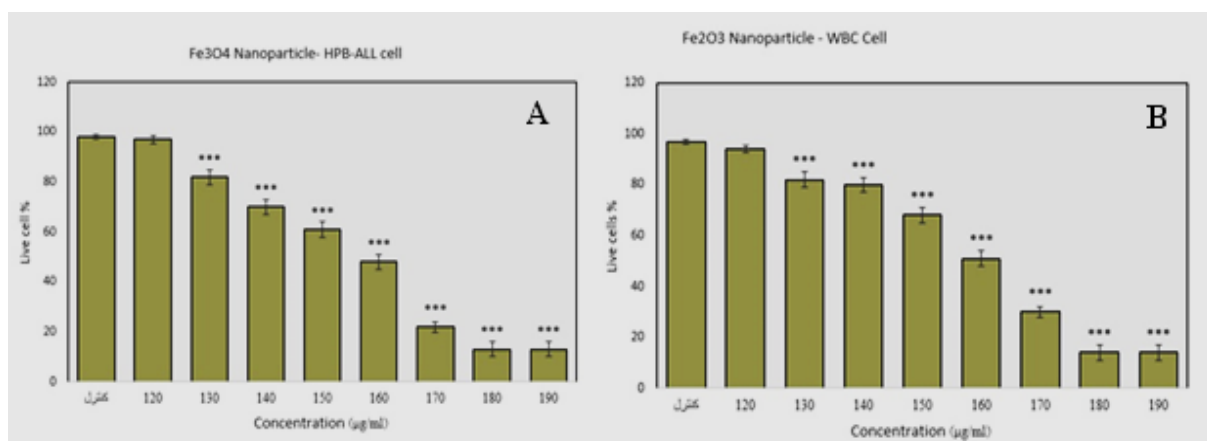
شکل ۱. A: درصد سلول‌های زنده مربوط به رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL و غلظت‌های مختلف نانو ذره نقره ( $\mu\text{g/ml}$ )؛ B: درصد سلول‌های زنده مربوط به

گلبول‌های سفید و غلظت‌های مختلف نانو ذره نقره ( $\mu\text{g/ml}$ ).

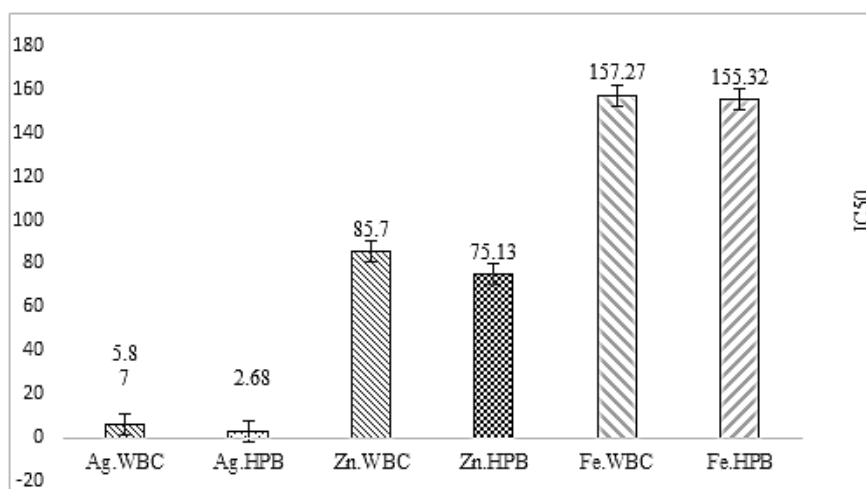
(\*  $P < 0/05$ , \*\*  $P < 0/01$ , \*\*\*  $P < 0/001$ )



شکل ۲. A: نتایج مربوط به درصد سلول‌های زنده مربوط به رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL و غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی (µg/ml): B: درصد سلول‌های زنده مربوط به گلیول‌های سفید و غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی. (\* P<۰/۰۵, \*\* P<۰/۰۱, \*\*\* P<۰/۰۰۱) (µg/ml)



شکل ۳. A: نتایج مربوط به درصد سلول‌های زنده مربوط به رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL و غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید آهن (µg/ml): B: درصد سلول‌های زنده مربوط به گلیول‌های سفید و غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید آهن. (\* P<۰/۰۵, \*\* P<۰/۰۱, \*\*\* P<۰/۰۰۱) (µg/ml)



شکل ۴. مقایسه IC50 نانوذرات اکسید روی، نقره و اکسید آهن در مواجهه با سلول‌های گلیول‌های سفید و رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL.

## نتایج استخراج DNA

همان طور که در شکل ۵- A، مشخص است نانوذرات توانسته اند باعث شکستن DNA ژنومی شوند. باندهای تشکیل شده در چاهک های شماره ۱، ۲ و ۴ به ترتیب بیانگر تاثیر نانوذرات اکسید روی، اکسید آهن و نقره روی گلبول های سفید است.

شکل ۵- B، باندهای تشکیل یافته در چاهک های شماره ۱، ۲ و ۴ به ترتیب بیانگر تاثیر نانوذرات اکسید روی، اکسید آهن و نقره روی رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL می باشد. با بررسی این مشاهدات، می توان نتیجه گرفت تاثیر نانوذره نقره در مقایسه با نانوذرات اکسید روی و اکسید آهن بر قطعه قطعه شدن DNA بیشتر است. همچنین تاثیر نانوذره نقره بر قطعه قطعه شدن DNA در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL بیشتر از گلبول های سفید است.

## نتایج بررسی میزان آپوپتوز با تست Annexin &amp; PI

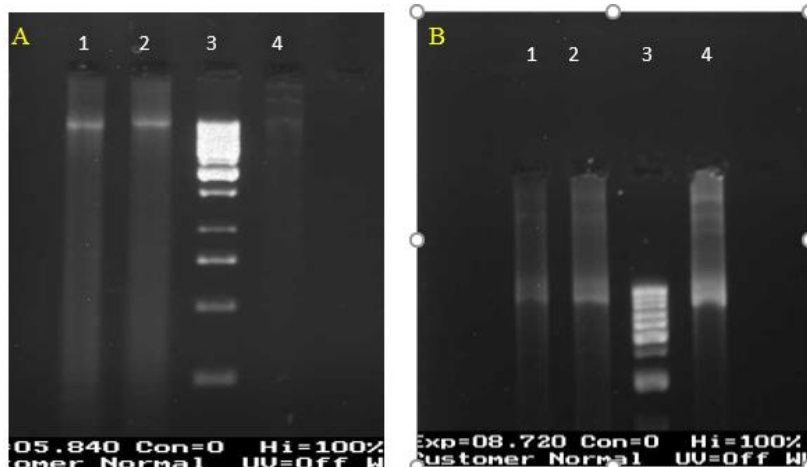
نتایج حاصل از بررسی میزان آپوپتوز توسط نانوذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن با روش فلوسایتومتری نشان داد که نانوذره نقره در مقایسه با دو نانوذره دیگر توانسته است در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL آپوپتوز بیشتری را القا کند. در شکل های شماره ۶ تا ۹، نمونه کنترل و نمونه های مورد سنجش به ترتیب نانوذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن نشان داده شده است.

در شکل ۷- B، میزان آپوپتوز اولیه (Q4) در سلول های سرطانی

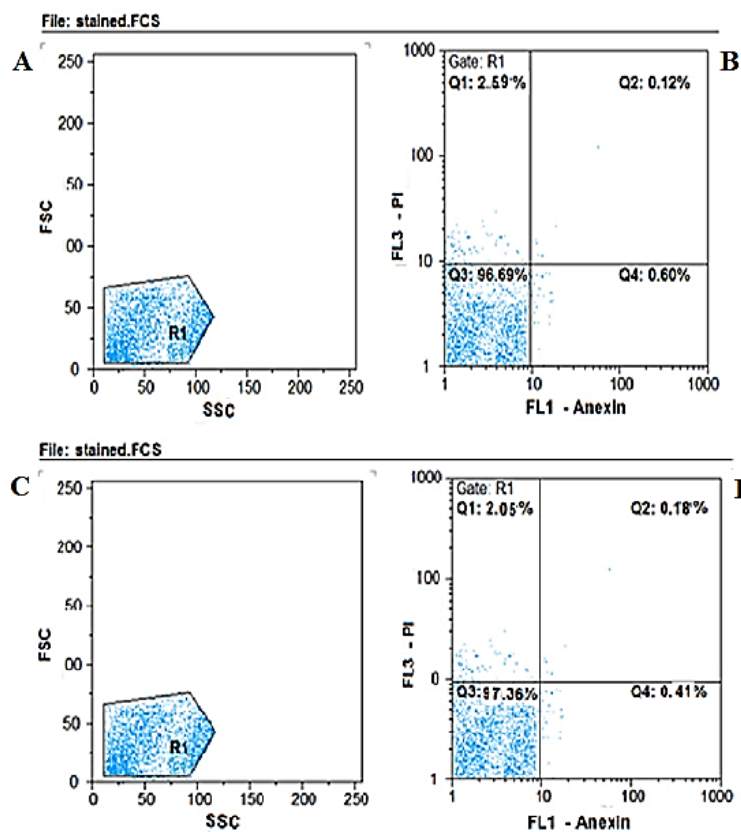
۲۲/۷۵٪ و میزان آپوپتوز ثانویه (Q2) ۱۶/۳۳٪ می باشد. با توجه به شکل ۷- D، میزان آپوپتوز اولیه (Q4) در گلبول های سفید ۶/۶۱٪ و میزان آپوپتوز ثانویه (Q2) ۱۷/۷۸٪ می باشد. در شکل ۸- B، میزان آپوپتوز اولیه (Q4) و آپوپتوز ثانویه (Q2) در سلول های سرطانی به ترتیب ۱۷/۶۶٪ و ۵/۰۶٪ اندازه گیری شد. در شکل ۸- D، میزان آپوپتوز اولیه (Q4) در گلبول های سفید ۶/۰۴٪ و میزان آپوپتوز ثانویه (Q2) ۱۰/۶۳٪ می باشد.

در شکل ۹- B، میزان آپوپتوز اولیه (Q4) در سلول های سرطانی ۵/۱۰٪ و میزان آپوپتوز ثانویه (Q2) ۱۵/۶۴٪ می باشد. در شکل ۹- D، میزان آپوپتوز اولیه (Q4) در گلبول های سفید ۳/۲۷٪ و میزان آپوپتوز ثانویه (Q2) آن ها ۱۲/۰۵٪ ثبت شد. نمودارهای مقایسه ای نتایج فلوسایتومتری

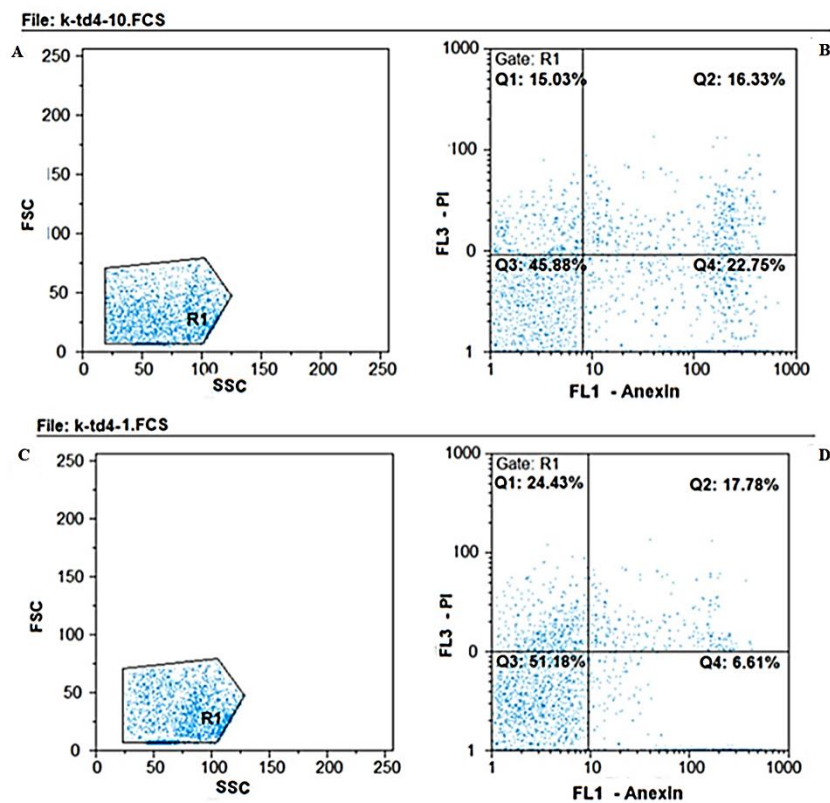
در شکل شماره ۱۰، نتایج فلوسایتومتری تاثیر نانوذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن روی رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL (A) و گلبول های سفید (B)، به صورت درصدی نشان داده شده است. با توجه به نتایج فلوسیتومتری و مقایسه مقادیر درصد آپوپتوز اولیه، آپوپتوز ثانویه و سلول های زنده در گلبول های سفید تیمار شده با نانوذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن، نشان می دهد، نانوذرات نقره نسبت به دو نانوذره دیگر در رده سلولی لوکمیایی، درصد آپوپتوز اولیه بیشتری دارند.



شکل ۵. باندهای DNA استخراج شده از گلبول های سفید (A) و رده سلولی HPB-ALL (B) بعد از تاثیر نانوذرات در ژل الکتروفورس، ستون ۱: نانوذره اکسید روی، ستون ۲: نانوذره اکسید آهن، ستون ۳: مارکر 1 Kb، ستون ۴: نانوذره نقره.

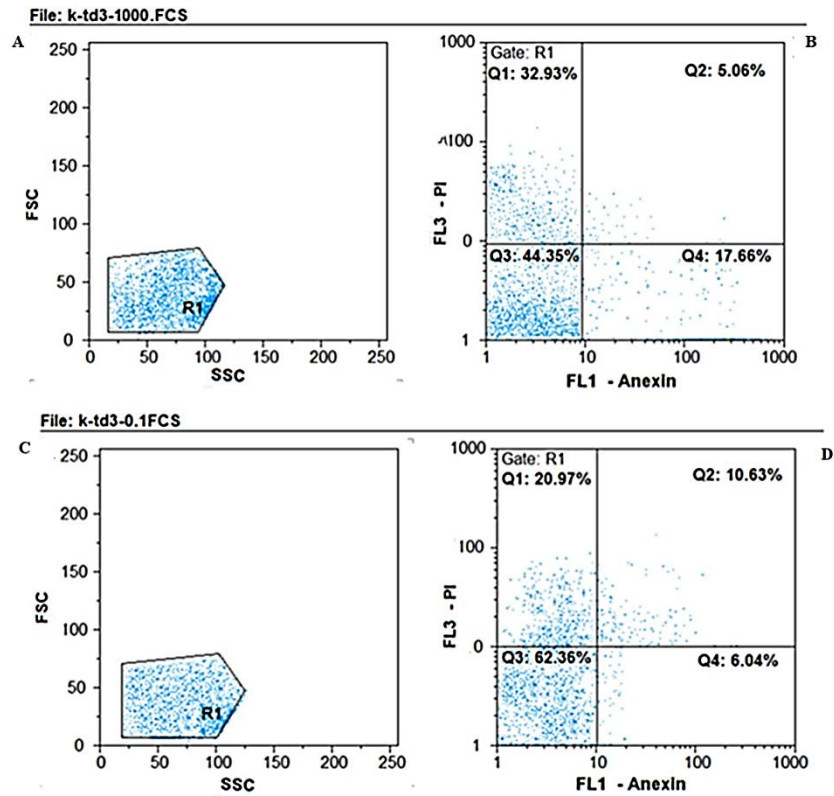


شکل ۶. نتایج فلوسایتومتری. (A) نمونه کنترل، (B) رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL گلبول‌های سفید (C) و (D).

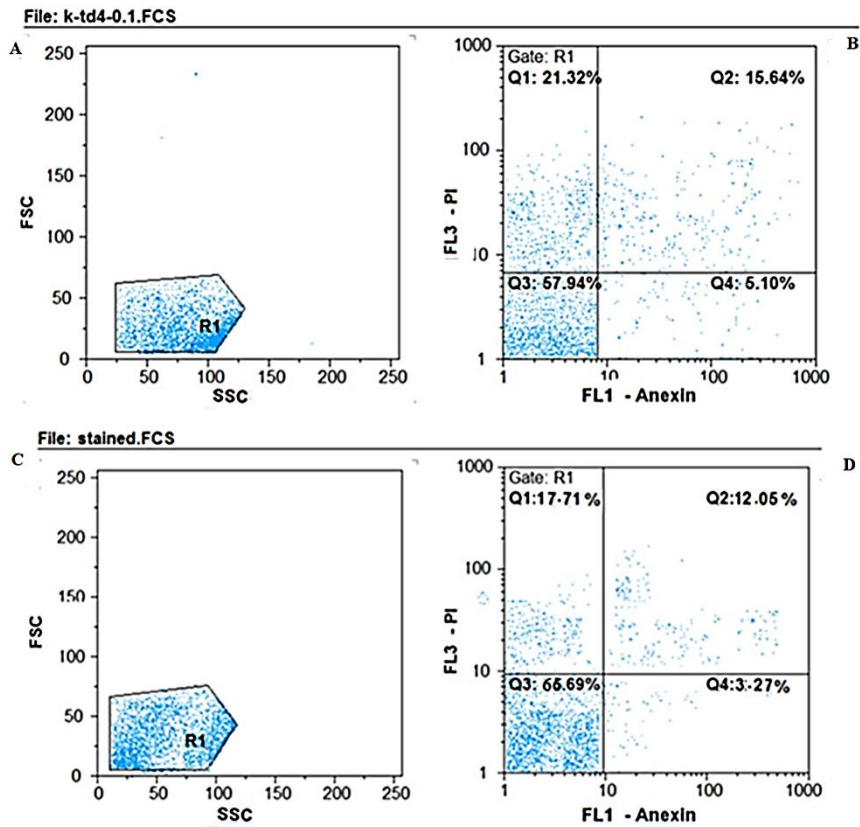


شکل ۷. نتایج فلوسایتومتری تاثیر نانوذره نقره، رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL، (A) و (B) و گلبول‌های سفید (C) و (D).

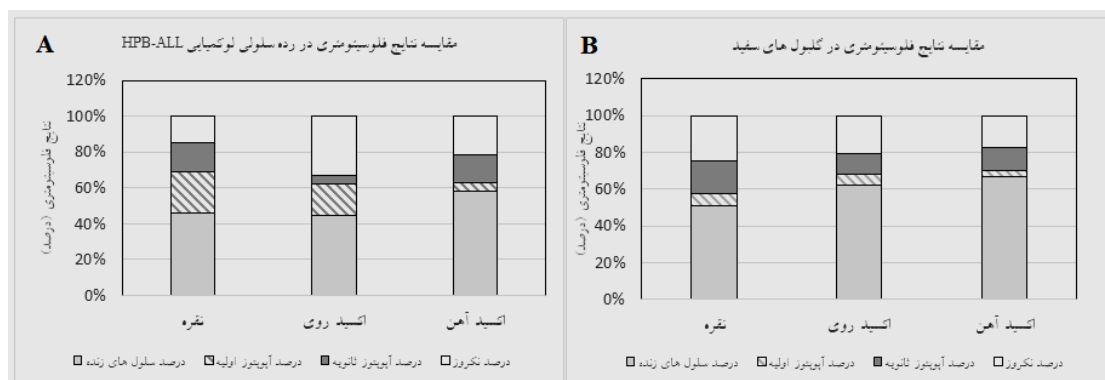




شکل ۸. نتایج فلوسایتومتری تاثیر نانوذره اکسیدروی، رده سلولی لوکمبایی HPB-ALL و (A و B) و گلبول‌های سفید (C و D)



شکل ۹. نتایج فلوسایتومتری تاثیر نانوذره اکسید آهن، رده سلولی لوکمبایی HPB-ALL و (A و B) و گلبول‌های سفید (C و D).



شکل ۱۰. مقایسه آپپتوز اولیه، آپپتوز ثانویه و سلول‌های زنده در سلول‌های رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL تیمار شده با نانوذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن.

بررسی آپپتوز روش فلوسیتومتری و رنگ‌آمیزی Annexin-V و PI به کارگرفته شد. نتایج به دست آمده از روش قطعه قطعه شدن DNA مشخص کرد نانو ذرات نقره توانسته‌اند باعث شکستن DNA ژنومی شوند. بر این اساس نانو ذرات نقره در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL نسبت به گلبول‌های سفید آپپتوز بیشتری را القا کردند. نانو ذرات اکسیدروی و اکسید آهن نیز در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL آپپتوز بیشتری را القا کردند. در رابطه با نانوذرات اکسیدروی، میزان  $IC_{50}$  برای گلبول‌های سفید و رده سلولی لوکمیایی، به ترتیب  $86 \mu g/ml$  و  $75 \mu g/ml$  به دست آمد. برطبق این مشاهدات می‌توان گفت، میزان  $IC_{50}$  نانوذرات اکسیدروی در سلول‌های سالم بیشتر از رده سلولی لوکمیایی است. میزان  $IC_{50}$  نانو ذرات اکسید آهن در سلول‌های سالم و رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL تفاوت بسیار زیادی نداشتند، به طوری که  $IC_{50}$  در سلول‌های سالم  $157/27 \mu g/ml$  و رده سلولی لوکمیایی  $155/32 \mu g/ml$  به دست آمد. اثر ضد سرطانی نانوذرات نقره روی سلول‌های سرطانی و در برخی موارد سلول‌های سالم در دیگر پژوهش‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت، Inbathamizh و همکاران (۲۰۱۳)، سلول‌های کارسینومای کبد HepG2؛ مؤدب و همکاران (۲۰۱۰)، رده سلول‌های سرطانی استئوبلاست (G292)، Aziz و همکاران (۲۰۱۸)، سلول‌های سرطانی MCF-7، Hep-G2 و HeLa، طبیعی HEK-293، پاک‌نژادی و همکاران (۲۰۱۸)، رده سلولی فیبروبلاست طبیعی انسان. Inbathamizh و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر تیمار نانوذرات نقره را در ۲۴ ساعت و کاهش  $16/39$  درصدی زنده ماندن رده سلولی سرطان کبد را نشان دادند [۲۸-۲۵]. پاک‌نژادی و همکاران (۲۰۱۸) در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت

## بحث

با شیوع انواع سرطان‌ها، در سال‌های اخیر، در کنار روش‌های شیمی درمانی و رادیوتراپی، شیوه‌های جدید برای کنترل سرطان توسط محققان مورد توجه قرار گرفته است. معیار استفاده از روش‌های جدید هدف‌دار نمودن و غلظت حداقلی داروها است، به گونه‌ای که اثرات سمی دارو روی سلول‌های طبیعی کاهش یابد.

در پژوهش حاضر خاصیت ضد سرطانی نانو ذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن بر رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL و گلبول‌های سفید سالم مورد ارزیابی قرار گرفته است.

اندازه نانو ذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن به ترتیب، ۲۰، ۳۰-۱۰ و ۳۰-۲۰ نانومتر انتخاب شد و در طی ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. میزان  $IC_{50}$  به دست آمده برای گلبول سفید  $6 \mu g/ml$  و برای رده سلولی لوکمیایی  $2/5 \mu g/ml$  بود.  $IC_{50}$  به دست آمده برای این سلول‌ها اختلاف معنی داری نشان داد و میزان آن در سلول‌های سالم از رده سلولی لوکمیایی بیشتر بود  $IC_{50}$  به دست آمده مربوط به نانوذره نقره برای سلول‌های سال محدود ۳ برابر رده سلولی لوکمیایی است که می‌توان نتیجه گرفت اثر سمیت سلولی نانو ذرات نقره بر سلول‌های سرطانی از سلول‌های سالم بیشتر بوده است و به این ترتیب غلظت کمتری از نانو ذرات نقره می‌تواند سلول‌های سرطانی را از بین ببرد. سمیت کمتر روی سلول‌های طبیعی می‌تواند نشان دهنده پتانسیل کاربرد این نانو ذرات در شیمی درمانی و پیشگیری شیمیایی سرطان باشد. علاوه بر این اثر سمیت نانو ذرات نقره، اکسید روی و اکسید آهن با استفاده از روش قطعه قطعه شدن و استخراج DNA نیز بررسی شد. علاوه بر این برای

آزمایشگاهی و در زمان‌های مختلف چرخه سلولی را متوقف کنند و باعث القای آپوپتوز و مرگ سلول‌های توموری شوند. تمایل بیشتر نانوذرات اکسیدروی به سمت سلول‌های سرطانی منجر به افزایش نفوذ پذیری و تعامل الکترواستاتیک و سمیت سلولی انتخابی به دلیل افزایش حضور ROS در سلول‌های سرطانی می‌شود. از این راه می‌توان برای نابودی اختصاصی سلول‌های سرطانی بهره برد.

یکی دیگر از نانوذرات، اکسید آهن است. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید آهن به راحتی می‌توانند در بافت‌های مختلف تجمع یابند و باعث القای سمیت در اندام‌ها و سیستم‌های مختلف شوند [۳۴]. به طور کلی بیشتر مطالعات آزمایشگاهی عدم سمیت یا سمیت کم نانوذرات اکسید آهن را گزارش کرده‌اند [۳۵]. این نانوذرات در ابتدا با دوزهای کم به عنوان زیست سازگار و بدون سمیت سلولی طبقه بندی شدند [۳۶]. با این حال برخی مطالعات نیز وجود دارند که حتی در چنین غلظت‌هایی اثرات سمی نانوذرات اکسید آهن را گزارش کردند؛ فعالیت ضد سرطانی نانوذرات اکسید آهن در سلول‌های سرطانی، کارسینومای روده بزرگ انسان [۳۶]، در چند رده سلولی سرطانی و سلول‌های سالم [۳۷]، سلولی سرطانی Hela و MCF-7 [۳۸] مورد بررسی قرار گرفته است. تعیین اندازه برای این نانوذرات در پژوهش‌ها مورد توجه قرار گرفته است [۳۲ و ۳۳]. بررسی غلظت‌ها و زمان‌های تاثیرگذاری متفاوتی برای نانوذرات نشان داده شده است [۳۸]. در تحقیق دیگر با افزایش غلظت و زمان تیمار با نانوذرات اکسید آهن، توانایی زنده ماندن سلول‌ها کاهش معنی‌دار نشان داد [۳۹]. نانوذرات اکسید آهن می‌توانند با ایجاد اختلال در ساختار و عملکرد میتوکندری باعث آسیب این اندامک شوند که منجر به پاسخ‌های متعدد در سلول می‌شود. تحقیق حاضر نشان داد که نانوذرات اکسید آهن نسبت به نانوذرات نقره و روی تاثیر بسیار کمی روی هر دو رده سلولی سرطانی و سالم داشتند که می‌تواند بیانگر سمیت پایین این نانوذرات روی سلول‌ها باشد و بیشترین و کمترین میزان آپوپتوز به ترتیب مربوط به نانوذرات نقره و اکسید آهن بود.

بررسی کردند که با زمان انتخاب شده در تحقیق حاضر مشابهت دارد. بررسی زنده مانی سلول‌ها پتانسیل بالای نانوذرات نقره در کاهش زنده مانی سلول‌ها را نشان داد [۲۷].  $IC_{50}$  نانوذرات نقره در تحقیقات مؤدب و همکاران (۲۰۱۰) بر رده سلول‌های سرطانی استئوبلاست (G292)  $3/42 \mu g/ml$  بود [۲۶]. در تحقیق Aziz و همکاران (۲۰۱۸) برای سلول‌های سالم و سرطانی به ترتیب  $IC_{50} > 50 \mu g/ml$  و  $IC_{50} > 3/6 \mu g/ml$  دست آمد [۲۸]. به پاکنازادی و همکاران (۲۰۱۸)،  $30/64 \mu g/ml$  گزارش کردند [۲۷]. Kulandaivelu و همکاران (۲۰۱۶) اثر سمیت سلولی نانوذرات نقره را بر رده سلولی MCF-7 بعد از ۲۴ ساعت بررسی کردند و آن‌ها نیز نتایج را باروش MTT و قطعه قطعه شدن DNA مورد ارزیابی قرار دادند [۲۹]. مشخص شد که نانوذرات نقره از غلظت  $94/91 \mu g/ml$  تا  $34/51 \mu g/ml$  اثر سمیت سلولی قابل توجهی دارند و در غلظت‌های کم نیز باعث آسیب DNA و قطعه قطعه شدن آن می‌شوند. در تحقیق Ebtesam و همکاران (۲۰۱۸) نیز به منظور بررسی تاثیر سمیت نانوذرات نقره بر سلول‌های Hela از روش فلوسیتومتری annexin V استفاده شد و نتایج آن با نتایج تحقیق حاضر را تایید نمود [۱۲]. اثر سمیت نانوذرات اکسید روی نیز در پژوهش‌های متعددی مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال Wang و همکاران (۲۰۱۸) رده سلولی سرطان دهان CAL27 را در تماس با این نانوذرات قرار دادند [۳۰]. Devashri و همکاران (۲۰۱۳) سلول‌های اپیتلیال شش انسان L-132 به مدت ۲۴ ساعت در معرض نانوذرات اکسیدروی  $50 \text{ nm}$  قرار دادند [۳۱]. بر اساس نتایج حاصل مشخص شد قرار گرفتن در معرض نانوذرات اکسید روی باعث قطعه قطعه شدن DNA و مرگ سلولی آپوپتوزی می‌شود که در این تحقیق نیز تایید شد. استفاده از غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی نیز بسیار مورد توجه است. Devashri و همکاران (۲۰۱۳)، Jamuna و همکاران (۲۰۱۸) نیز به طور مشابه از غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدروی در پژوهش‌های خود استفاده کردند و Jamuna و همکاران (۲۰۱۸)  $IC_{50} 17/12 \mu g/ml$  به دست آوردند. Namvar و همکاران (۲۰۱۵) از روش فلوسیتومتری AnnexinV-TITC برای بررسی آپوپتوز استفاده کردند [۳۳-۳۱]. نتایج نشان داد که نانوذرات اکسیدروی می‌توانند در شرایط

Qin. Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies. *International Journal of Nanomedicine* 2018;13 3311–3327.

- [8] Maheshkumar Prakash Patil & Gun-Do Kim- Eco-friendly approach for nanoparticles synthesis and mechanism behind antibacterial activity of silver and anticancer activity of gold nanoparticles- *Applied Microbiology and Biotechnology* volume 101. 2017; 79–92.
- [9] Alexandra-Cristina Burduşel-Oana Gherasim-Alexandru Mihai Grumezescu-Laurențiu Mogoantă-Anton Ficaï-Ecaterina Andronescu. *Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview- Nanomaterials* 2018, 8(9), 681.
- [10] Saeede Dehghanizade, Javad Arasteh & Amir Mirzaie- Green synthesis of silver nanoparticles using Anthemis atropatana extract: characterization and in vitro biological activities- *ARTIFICIAL CELLS, NANOMEDICINE, AND BIOTECHNOLOGY*, 2018 .VOL. 46, NO. 1, 160–168.
- [11] K. Venugopal, H., Rather, K Rajagopal, M P Shanthi, K Sheriff, M Illiyas, RA Rather, E Manikandan, S Uvarajan, M Bhaskar, MMAaza- Synthesis of silver nanoparticles (Ag NPs) for anticancer activities (MCF 7 breast and A549 lung cell lines) of the crude extract of *Syzygium aromaticum*- *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* Volume 167, February 2017, Pages 282-289.
- [12] Ebtesam S. Al-Sheddi, Nida N. Farshori, Mai M. Al-Oqail, Shaza M. Al-Massarani ,Quaiser Saquib, Rizwan Wahab, Javed Musarrat, Abdulaziz A. Al-Khedhairi, and Maqsood A. Siddiqui. *Anticancer Potential of Green Synthesized Silver Nanoparticles Using Extract of *Nepeta deflersiana* against Human Cervical Cancer Cells (HeLA)* *Hindawi Bioinorganic Chemistry and Applications*. Volume 2018, Article ID 9390784, 12 pages.
- [13] Renu Sankar, Arunachalam Karthik, Annamalai Prabu, Selvaraju Karthik,

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر سمیت سلولی سه نانو ذره مختلف بر سلول‌های سرطانی و سالم مقایسه شد. یافته‌های این تحقیق نشان داد که از نانو ذره نقره و روی میتوان پس از بررسی در مدل‌های حیوانی و بررسی مکانیسم‌های مولکولی در زمینه پزشکی و داروسازی به کار برده شود.

## منابع

- [1] Nazir S, Hussain T, Ayub A, Rashid U, Macrobert AJ. *Nanomaterials in combating cancer therapeutic applications and developments. Nanomedicine*, 2014 ; 10: 19-34.
- [2] Fock MM. *The epidemiology and prevention of gastric cancer. Ali pharmacol Ther* 2014; 40: 250-60.
- [3] Aswathy RavindranPreethyChandranS. SudheerKhan. *Biofunctionalized silver nanoparticles: Advances and prospects. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* Volume 105, 1 May 2013, Pages 342-352.
- [4] Subir Roy Chowdhury and Versha Banerji. *Targeting Mitochondrial Bioenergetics as a Therapeutic Strategy for Chronic Lymphocytic Leukemia. Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2018, Article ID 2426712, 10 pages.
- [5] Hagop Kantarjian M. D., Susan O'Brien M. D., Jorge Cortes M. D., Francis Giles M. D., Stefan Faderl M. D., Elias Jabbour M. D., Guillermo Garcia-Manero M. D., William Wierda M. D., Sherry Pierce R.N., Jianqin Shan Ph.D., Elihu Estey M.D. *Results of intensive chemotherapy in 998 patients age 65 years or older with acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome. Volume 106, Issue 5-1 March 2006- Pages 1090-1098.*
- [6] Suresh Kumar Kailasa, Tae-Jung Park, Jigneshkumar V. Rohit, Janardhan Reddy Koduru. *Chapter 14 - Antimicrobial activity of silver nanoparticles. Nanoparticles in Pharmacotherapy* 2019, Pages 461-484.
- [7] Yun'an Qing, Lin Cheng, Ruiyan Li, Guancong Liu, Yanbo Zhang, Xiongfeng Tang, Jincheng Wang, He Liu, Yanguo

- Kanchi Subramanian Shivashangari, Vilwanathan Ravikumar. Origanum vulgare mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* .Volume 108, 1 August 2013, Pages 80-84
- [14] Annu, Akbar Ali, and Shakeel Ahmed-Green Synthesis of Metal, Metal Oxide Nanoparticles, and Their Various Applications- Springer International Publishing AG 2018 L. M. T. Martínez et al. (eds.), Handbook of Ecomaterials.
- [15] Khamis Al-Dhafri, Chai LayChing-Phytosynthesis of silver nanoparticles and its bioactivity response towards nosocomial bacterial pathogens-Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Volume 18, March 2019, 101075
- [16] Kai Yan, Penghui Li, Haie Zhu, Yingjie Zhou, Jingde Ding, Jie Shen, Zheng Li, Zushun Xu, and Paul K. Chu-Recent advances in multifunctional magnetic nanoparticles and applications to biomedical diagnosis and treatment-RSC Advances-Issue 27, 2013
- [17] Joan Estelrich, María Jesús Sánchez-Martín, Maria Antònia Busquets-Nanoparticles in magnetic resonance imaging: from simple to dual contrast agents-Int J Nanomedicine. 2015; 10: 1727-1741.
- [18] Sawdon, A.; Weydemeyer, E.; Peng, C.A. Antitumor therapy using nanomaterial-mediated thermolysis. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2014, 10, 1894-1917.
- [19] Yang, L.; Kuang, H.; Zhang, W.; Aguilar, Z.P.; Xiong, Y.; Lai, W.; Xu, H.; Wei, H. Size dependent biodistribution and toxicokinetics of iron oxide magnetic nanoparticles in mice. *Nanoscale* 2015, 7, 625-636.
- [20] Jang Han Lee, Jae Eun Ju, Byung Il Kim, Pyo June Pak, Eun-Kyung Choi, Hoi-Seon Lee, Namhyun Chung, Rod-shaped iron oxide nanoparticles are more toxic than sphere-shaped nanoparticles to murine macrophage cells. *Environmental Toxicology and Chemistry* .Volume 33, Issue 12. p. 2759-2766
- [21] Viruntachar Kruefu, Anurat Wisitsoraat, Adisorn Tuantranont & Sukon Phanichphant. Gas sensing properties of conducting polymer/Au-loaded ZnO nanoparticle composite materials at room temperature. *Nanoscale Research Letters* volume 9, Article number: 467 (2014)
- [22] Muthuraman Pandurangan & Doo Hwan Kim. In vitro toxicity of zinc oxide nanoparticles: a review. *Journal of Nanoparticle Research* volume 17, Article number: 158 (2015).
- [23] Vyom Sharma, Ritesh K. Shukla, Neha Saxena, Devendra Parmar, Mukul Das, Alok D hawan. DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicology Letters* Volume 185, Issue 3, 28 March 2009, Pages 211-218.
- [24] Diego Chacon-Cortes & Lyn R Griffiths. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine* 2014, 2: 1-9
- [25] L. Inbathamizh, T. Mekalai Ponnu, E. Jancy Mary. In vitro evaluation of antioxidant and anticancer potential of Morinda pubescens synthesized silver nanoparticles. January 2013 *Journal of Pharmacy Research* 6(1): 32-38
- [26] Somayyeh Moaddab, Hamed Ahari, Delavar Shahbazzadeh, Abbas Ali Motallebi, Amir Ali Anvar, Jafar Rahman-Nya, Mohamad Reza Shokrgozar
- [27] Paknejadi Mansoureh, Bayat Mansour, Salimi Mona\*, Razavilar Vadood. Concentration- And Time-Dependent Cytotoxicity Of Silver Nanoparticles On Normal Human Skin Fibroblast Cell Line. *IRANIAN RED CRESCENT MEDICAL JOURNAL (IRCMJ)* OCTOBER 2018 , Volume 20 ,10.
- [28] Nafe Aziz, Mohd Faraz, Mohd Asif Sherwani, Tasneem Fatma, and Ram Prasad. Illuminating the Anticancerous Efficacy of a New Fungal Chassis for Silver Nanoparticle Synthesis. *Front Chem.* 2019; 7: 65. Published online 2019 Feb 8. doi: 10.3389/fchem. 2019. 00065.
- [29] Kulandaivelu, Balaji; Gothandam, K M. Cytotoxic Effect on Cancerous Cell Lines by Biologically Synthesized Silver Nanoparticles. *Braz. Arch. Biol. Technol.* v.59: e16150529, Jan/Dec 2016.
- [30] Jianfeng Wang, Shutao Gao, Shuyu Wang, Zhaonan Xu, Limin Wei. Zinc oxide

- nanoparticles induce toxicity in CAL27 oral cancer cell lines by activating PINK1/Parkin-mediated mitophagy *International Journal of Nanomedicine* 2018; 13 3441–3450
- [31] Devashri Sahu, G. M. Kannan, R. Vijayaraghavan, T. Anand, and Farhath Khanum. Nanosized Zinc Oxide Induces Toxicity in Human Lung Cells. *Hindawi Publishing Corporation ISRN Toxicology* Volume 2013, Article ID 316075, 8 pages
- [32] Jamuna Bai Aswathanarayan, Ravishankar Rai Vittal & Umashankar Muddegowda. Anticancer activity of metal nanoparticles and their peptide conjugates against human colon adenorectal carcinoma cells. *ARTIFICIAL CELLS, NANOMEDICINE, AND BIOTECHNOLOGY* 2018, VOL. 46, NO. 7, 1444–1451
- [33] Farideh Namvar, Heshu Sulaiman Rahman, Rosfarizan Mohamad, Susan Azizi, Paridah Mohd Tahir, Max Stanley Chartrand, Swee Keong Yeap. Cytotoxic effects of biosynthesized zinc oxide nanoparticles on murine cell lines. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2015, Article ID 593014, 11 pages.
- [34] Gunjan Bisht, Sagar Rayamajhi, Biplab KC, Siddhi Nath Paudel, Deepak Karna, and Bhupal G. Shrestha. Synthesis, Characterization, and Study of In Vitro Cytotoxicity of ZnO-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Composite Nanoparticles in Human Breast Cancer Cell Line (MDA-MB-231) and Mouse Fibroblast (NIH 3T3). *Nanoscale Res Lett.* 2016; 11: 537. Published online 2016 Dec 2. doi: 10.1186/s11671-016-1734-9
- [35] S M Hussain, K L Hess, J M Gearhart, K T Geiss, J J Schlager. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells *Toxicol In Vitro.* 2005 Oct;19(7):975-83.
- [36] Andrea Kunzmann, Britta Andersson, Carmen Vogt, Neus Feliu, Fei Yec Susanne Gabrielsson, Muhammet S. Toprak, Tina Buerki Thurnherr, Sophie Laurente Marie Vahter, Harald Krugd Mamoun Muhammed, Annika Scheynius, Bengt Fadeel
- [37] Shatha Salah Asad, Khalid Mahdi Salih, Nahi Yousif Yassen. Cytotoxic effect of iron nanoparticles in vitro on some cell lines. *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics (IJCMG)* Volume 10 - Number 1 – 2017
- [38] Masoud Rezaei, Hossein Mafakheri, Karim Khoshgard, Alireza Montazerabadi, Ahmad Mohammadbeigi, Farhad Oubari. The Cytotoxicity of Dextran-coated Iron Oxide Nanoparticles on Hela and MCF-7 Cancerous Cell Lines. *Iranian Journal of Toxicology* Volume 11, No 5, September-October 2017
- [39] Maqsood Ahamed, Mohd Javed Akhtara M. A. Majeed, Khana Hisham A. Alhadlaqab, Aws Alshamsan. Cobalt iron oxide nanoparticles induce cytotoxicity and regulate the apoptotic genes through ROS in human liver cells (HepG2). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* Volume 148, 1 December 2016, Pages 665-673.

## Comparative investigation of cytotoxicity effects of iron oxide, zinc oxide and silver nanoparticles on white blood cells and leukemic cell line HPB-ALL in Vitro

Farahani Z.<sup>1</sup>, Privar K.<sup>2\*</sup>, Hayati Roudbari N.<sup>3</sup>, Farhadi M.<sup>4</sup>

1 Department of Biology, Faculty of Convergent Sciences and Technologies, Tehran Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2\* Department of Biology, Faculty of Convergent Sciences and Technologies, Tehran Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3 Department of Biology, Faculty of Convergent Sciences and Technologies, Tehran Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4 Department of Microbiology, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran

\* (Corresponding author): kazemprivar2022@gmail.com

<https://doi.org/10.30495/jdb.2023.1975296.1344>

Received: November.2022

Accepted: February.2023

### Abstract

Today, treatment with nanoparticles has attracted the attention of many researchers. Due to their small size and easy absorption, nanoparticles can be a suitable option for treatment. In this study, a comparative study of the anticancer effect of silver nanoparticles, zinc oxide and iron oxide on leukemic cell line and white blood cells of HPB-ALL was done. Human white blood cells and leukemia cell line HPB-ALL were passaged. Iron oxide, zinc oxide and silver nanoparticles with different concentrations were added to the microplates containing the cells and the cells were treated with nanoparticles for 24 hours. PI was evaluated. The results obtained for leukemic cell line HPB-ALL and white blood cells were analyzed with the effect of three nanoparticles of silver, zinc oxide and iron oxide at a significant level ( $P < 0.05$ ). All three nanoparticles showed cytotoxic effects in both cell lines. The cytotoxicity effects of nanoparticles were higher in leukemic cell line HPB-ALL than in white blood cells. Among these nanoparticles, silver nanoparticles had a significant cytotoxic effect in HPB-ALL leukemic cell line compared to the other two nanoparticles. Evaluation of IC50, DNA damage and apoptosis induction in HPB-All leukemic cell line by silver nanoparticles was significantly higher than other two nanoparticles. According to the above results and further investigations of the penetration mechanism of each of the nanoparticles, it can be said that silver nanoparticles have the potential for therapeutic applications.

**Keywords:** leukemia cells, white blood cells, silver nanoparticles, zinc oxide nanoparticles, iron oxide nanoparticles, apoptosis.