

ارزیابی تأثیر نانو ذرات پلاتینیوم بر چرخه سلولی و بیان ژن‌های Oct-4 Sox-2 در سلول‌های بنیادی مزانشیمی

رؤیا ولیزاده^۱، الهام عباسی^۲، رقیه جلیلی^۳، نسرین مهاجری^۴، عفت علیزاده^{۵*}

تاریخ دریافت ۱۴۰۲/۱۱/۰۷ تاریخ پذیرش ۱۴۰۲/۱۲/۲۳

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) گروهی از سلول‌های مهم قابل‌استفاده در سلول/ژن‌درمانی هستند که نیاز به حفظ خواص بنیادینگی آن‌ها در سطح سلولی و مولکولی است تا عملکرد صحیح آن‌ها در کاربردهای پزشکی را تضمین نماید. یکی از موادی که کاربردهای مختلف در دنیای پزشکی دارد نانو ذرات پلاتینیوم می‌باشند. هدف از این کار بررسی تأثیر نانو ذرات پلاتینیوم بر چرخه سلولی و بیان ژن‌های Oct-4 و Sox-2 در سلول‌های بنیادی مزانشیمی در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی، پس از سنتز نانو ذرات پلاتینیوم، شکل و سایز دینامیکی آن‌ها با TEM و بار آن‌ها توسط تست DLS، چک گردید. سپس، کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی و زنده‌مانی آن‌ها پس از تیمار با نانو ذرات پلاتینیوم (pt) بررسی شد. علاوه بر این، میزان بیان ژن‌های Oct-4 و Sox-2 در سلول‌های تیمار شده با نانو ذرات ارزیابی شد. همچنین، اثرات نانو ذرات پلاتین بر چرخه سلولی و تشکیل کلنی در سلول‌های بنیادی مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیزهای آماری با نرم‌افزار Graph Pad prism نسخه ۱۰ انجام گردید. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تعریف گردید.

یافته‌ها: بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، مورفولوژی نانو ذرات کروی و اندازه آن‌ها ۱۸۰ نانومتر و بار آن‌ها $+25.8$ بود. تست سمیت سلولی نشان داد که اثرات این نانو ذرات‌ها بر سلول‌ها وابسته به دوز و زمان هستند. همچنین در حضور پلاتینیوم، چرخه سلولی سلول‌های بنیادی دچار تغییرات زیادی به‌ویژه افزایش درصد سلول‌ها در فاز S گردید. نتایج Real-time PCR نشان داد که در حضور نانو ذرات پلاتین، کاهش بیان ژن Oct-4 و Sox-2 وجود دارد که منجر به کاهش خواص بنیادینگی سلول‌های بنیادی مزانشیمی شده است. همچنین پتانسیل کلون زایی آن‌ها نیز تضعیف شد.

بحث و نتیجه‌گیری: در مجموع، به دلیل اثرات منفی احتمالی نانو ذرات پلاتینیوم بر بنیادینگی MSCs، بایستی از نانو ذرات پلاتین در مصارف پزشکی طولانی‌مدت با احتیاط استفاده شود. لذا پیشنهاد می‌شوند دوز، دفعات و مدت‌زمان استفاده از نانو ذرات پلاتینیوم حتی‌الامکان کاهش داده شود.

کلیدواژه‌ها: چرخه سلولی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، بیان ژن Oct-4، نانو ذرات پلاتین، بیان ژن Sox2

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و چهارم، شماره دوازدهم، ص ۷۵۲-۷۴۲، اسفند ۱۴۰۲

آدرس مکاتبه: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده علوم نوین پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی (زیست‌فناوری پزشکی)، تلفن: ۰۴۱۳۳۲۷۶۴۴

Email: alizadehe@tbzmed.ac.ir or e.alizadeh.2010@gmail.com

مقدمه

مزانشیمی عوامل درمانی جذابی هستند که در مغز استخوان، بافت چربی و بند ناف یافت می‌شوند که توانایی زیادی در رگ زایی و استخوان‌سازی در ترمیم نقایص استخوانی با شیوع کم بیماری پیوند در مقابل میزبان دارند (۱،۳). سلول‌های بنیادی مزانشیمی

پتانسیل درمانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی^۶ (MSCs) در بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده، منجر به ایجاد پاسخ ترمیمی در مجموعه‌های گسترده از آسیب‌ها شده است (۱،۲). سلول‌های بنیادی

^۱ کارشناسی ارشد زیست فناوری پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۲ کارشناسی ارشد شیمی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۳ دکترای شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۴ گروه پژوهشی پروتئین‌های نوترکیب در سرطان، پژوهشکده سرطان معتمد، جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ایران

^۵ دانشیار زیست فناوری پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

^۶ Mesenchymal Stem Cells (MSCs)

شاخص‌های ژنی و سلولی بنیادینگی (stemness) و چرخه سلولی MSCs بود.

مواد و روش کار

نوع مطالعه:

در این مطالعه علوم پایه و توصیفی که روی سلول‌های بنیادی انجام شد، تأثیر نانو ذرات پلاتینیوم بر مارکرهای ژنی بنیادینگی از جمله ژن‌های Sox-2 و Oct-4، همچنین چرخه سلولی آن‌ها و تشکیل کلنی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد شیمیایی و معرف‌ها:

نانو ذرات فلز پلاتین از شرکت نانوزیست فناوران، تترازولیوم MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenylterazolium bromide از سیگما آلدردیج خریداری شد. محیط کشت DMEM سرم جنین گاوی (FBS) و Trypsin/EDTA 0.25 درصد از Gibco USA به دست آمد. مواد استخراج RNA از شرکت یکتا تجهیز خریداری شد و همچنین کیت سنتز cDNA و Prime Script RT Master Mix از تاکارا (توکيو، ژاپن) تهیه شد. پرایمرهای اختصاصی پس از طراحی از پیشگام بیوتک خریداری شد. حلال‌های آلی از شرکت مرک یا سیگما همچنین propidium iodide (PI) از شرکت سیگما با واسطه شرکت‌های داخلی خریداری شد.

سنتز و شناسایی نانو ذرات پلاتین:

نانو ذرات پلاتین با احیای یون پلاتین با اتانول در حضور پلی وینیل پیرولیدون (PVP) سنتز شدند. ابتدا یک محلول حاوی ۱۵ میلی‌لیتر K_2PtCl_4 2 در آب دیونیزه تهیه شد. سپس ۰.۰۶۶۷ گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP) و ۱۰ میکرولیتر هیدروکلریک اسید (۱ مولار) به محلول مذکور اضافه شد و مخلوط به مدت ۵ دقیقه بهم زده شد. پس از افزایش ۱۴ میلی لیتر اتانول، رنگ محلول قهوه‌ای تیره شد. تمام آزمایش‌ها در دمای اتاق انجام شد (۲۳، ۲۴). نانو ذرات پلاتین به دست آمده برای بررسی‌های بیشتر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

مورفولوژی و اندازه ذرات نانو ذرات پلاتین سنتز شده به ترتیب با میکروسکوپ الکترونی عبوری (FEI TEC9G20، TEM) و پراکندگی نور دینامیکی (Malvern Zetasizer Nano) (DLS) (UK، ZS90) مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، میانگین قطر هیدرودینامیکی زتا برای نشان دادن تک پراکندگی نانو ذرات پلاتین که با آب فوق خالص رقیق شده بودند اندازه‌گیری شد اندازه گیری پتانسیل زتا در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد (۲۳، ۲۴).

(MSCs) توانایی زیادی برای انتقال سلول‌های تمایز یافته از طریق درمان با نانو ذرات دارند که عمدتاً تحت تأثیر اندازه، شکل، نسبت ابعاد، غلظت، بار سطحی و مساحت سطح نانو ذرات است (۴-۶). معرفی نانو ذرات در زمینه پزشکی بازساختی، مواد بیوشیمیایی پیشرفته‌ای را برای مهندسی بافت کنترل شده فراهم کرده است (۷). طیف گسترده‌ای از نانومواد در رویکردهای مبتنی بر سلول‌های بنیادی استفاده می‌شوند که نقش برجسته‌ای در بازسازی آسیب‌ها، شکستگی استخوان، پیری و بهبود زخم دارند. علاوه بر این، پایداری ساختاری و خواص برتر نانو ذرات آلیاژی کاربرد آن‌ها را در پزشکی احیاکننده و دارورسانی افزایش داده است (۸، ۶-۱۰). همچنین نانو ذرات پلاتین در درمان سرطان استفاده می‌شوند به‌ویژه داروهایی از قبیل سیس پلاتین، کرایوپلاتین و اگزالی پلاتین که پرکاربرد هستند (۱۱). بعلاوه، نانو ذرات پلاتین (PtNPs) از جمله نانو ذرات فلزی است که دارای ویژگی‌های منحصر به فردی مانند فعالیت کاتالیزوری بالا و کارایی بالا هست (۱۲). مطالعات متعددی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات پلاتین را نشان دادند (۱۳-۱۶). در این راستا، گزارش شده است که نانو ذرات پلاتین می‌تواند به‌طور قابل توجهی التهاب ناشی از لیپوپولی ساکارید را در ماکروفاژهای RAW 264.7 کاهش دهند که به خواص آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات پلاتین نسبت داده شده است (۱۷). علاوه بر این، ویژگی‌های درمانی نانو ذرات پلاتین به دلیل توانایی آن‌ها در کاهش استئوکلاستوژنز همراه با افزایش اتصال و تکثیر سلول‌ها برای کاربردهای ارتوپدی قابل توجه است (۱۸).

بسیاری از مطالعات صورت گرفته نشان داده‌اند که این نانومواد به درستی زیست سازگاری امیدوارکننده‌ای را نشان می‌دهند (۱۹، ۲۰). اگرچه توسعه نانو ذرات آلیاژی در ۲۰ سال گذشته تکامل یافته است، با این حال مطالعات دقیق‌تری در مورد کاربردهای زیست پزشکی این نانو ذرات مورد نیاز است. این نانو ذرات به شکل آزاد نیاز به مطالعه بیشتر دارند تا سایر عملکردهای آن‌ها نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) مانند تأثیر بر بنیادینگی (stemness) سلول‌های بنیادی و سمیت سلولی سلول‌های بنیادی مشخص شود. در واقع، محیط میکرو سلول‌های بنیادی نقش مهمی در فنوتیپ و عملکرد سلولی ایفا می‌کند (۱۹، ۲۱). در یک مطالعه اخیر مشخص شد که نانو ذرات پلاتینیوم باعث ایجاد سمیت سلولی، آپاپتوز و پاسخ‌های التهابی در سلول‌های لوکمیای انسانی شد (۲۲). بنابراین در این مطالعه بر آن شدیم که اثر این مواد بر پایه پلاتینیوم را بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌عنوان گروه مهمی از سلول‌های مورد استفاده در پزشکی بررسی نماییم. هدف این مطالعه بررسی تأثیرات بیولوژیکی نانو ذرات پلاتین، استفاده‌شده در پزشکی بر

کشت سلولی:

به مدت ۵ دقیقه، سلول‌های جمع‌آوری شده با ۲ سی سی PBS شسته شدند و در ۱۰ میکرولیتر محلول رنگ‌آمیزی یدید پروپیدوم (۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، RNase A 100 میکروگرم در میلی‌لیتر، و PBS) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه مجدداً معلق شدند. چرخه سلولی توسط فلوسایتومتر با استفاده از BD FACSCalibur تجزیه و تحلیل شد و درصد سلول‌ها در فازهای G0/G1، S و G2/M توسط نرم‌افزار Cell Quest برآورد شد (۲۹،۲۸).

بررسی زنده‌مانی سلول‌ها:

سنجش رنگ سنجی MTT برای ارزیابی سمیت و تأثیر نانو ذرات پلاتین بر زنده‌مانی سلول‌ها انجام شد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی در پلیت‌های ۹۶ چاهکی با تراکم سلولی ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک در پلیت ۹۶ خانه با استفاده از محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو و یک درصد اتی بیوتیک تلقیح شدند. پس از ۲۴ ساعت، وضعیت سلول‌ها زیر میکروسکوپ اینورت چک گردید و با در نظر گرفتن اینکه سلول‌ها به کف فلاسک چسبیده و تعداد سلول‌ها به حد کافی رسید غلظت‌های مختلف نانو ذرات پلاتین تهیه شد. در مرحله بعدی مایع رویی خارج و غلظت‌های مختلف به صورت سه تکرار به چاهک‌ها اضافه شد. پس از ۱۴۴ ساعت محیط کشت رویی خارج شد و سپس غلظت ۲ میلی گرم در میلی لیتر از پودر MTT در محیط کشت تهیه گردید و بعد مایع رویی سلول‌های آسپیره شد و محلول MTT به هر چاهک اضافه گردید. پس از ۴ ساعت انکوباسیون (۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵ درصد CO₂) مایع رویی خارج گردید و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به‌عنوان حلال کریستال‌های فورمازان جایگزین شد. پس از تکان دادن ملایم در دمای اتاق و تاریکی به مدت ۱۵ دقیقه، جذب نوری فورمازان در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت‌خوان (ELISA Reader) (سری CE۷۰۰۰-۷۲۵۰، انگلستان) اندازه‌گیری و ثبت شد (۲۷).

مطالعه چرخه سلولی:

سلول‌های بنیادی مزانشیمی با دوز نانو ذرات پلاتین ۳۰۰ میلی گرم در میلی لیتر به مدت ۱۴۴ ساعت تیمار شدند. پس از تریپسین کردن سلول‌ها، اثر تریپسین با محیط کشت حاوی FBS خنثی شد و سپس شستشو با ۲ سی سی Phosphate buffer saline (PBS). سلول‌ها در اتانول سرد ۷۰ درصد تثبیت شدند در این مطالعه PBS از ترکیب 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM EDTA ساخته شد و pH روی 7.2 تنظیم گردیده است. سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از سانتریفیوژ در ۱۵۰۰ rpm

سنجش تشکیل کلونی سلولی در شرایط آزمایشگاهی:

برای تعیین بقای سلولی در برابر نانو ذرات پلاتین روش تشکیل کلونی استفاده شد. برای این منظور، سلول‌های بنیادی مزانشیمی در سه تکرار و با ۲۰۰ سلول در هر چاهک در یک پتری دیش ۱۰۰ میلی متری در محیط استاندارد در پاساژ سوم (P3) کشت داده شدند. سپس محیط با محیط تازه حاوی ۱.۲۵ mg. ml⁻¹ از هر نانوذره تغییر یافت. پس از ۱۴ روز، کلنی‌های سلولی با گلو تار آلدئید ۲.۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه تثبیت شدند. سپس سلول‌ها با کریستال ویولت ۰.۵ درصد به مدت ۳۰ دقیقه رنگ آمیزی شدند و سپس با PBS شستشو شدند. کلنی‌ها در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل کمی (qPCR) Real-time PCR:

استخراج RNA تام توسط کیت استخراج RNA از کمپانی BioBasic بر اساس پروتوکل سازنده انجام شد. سپس کمیت RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ بررسی شد. در مرحله بعد ۱ میکروگرم از RNA تام برای سنتز cDNA از نمونه‌ها توسط کیت سنتز cDNA از کمپانی فرمنتاز بر اساس پروتوکل سازنده استفاده شد.

RT-qPCR بر روی Light Cycler 96 (روش، آلمان) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) و SYBR Green Real-Time PCR Master Mix (Amplicon) انجام شد. شرایط چرخه‌های دمایی به شرح زیر بود:

۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه (۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه)

توالی پرایمرها در جدول ۱ نشان داده شده است. ژن GAPDH به‌عنوان ژن house keeping استفاده شد. نتایج با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تجزیه و تحلیل شدند (۳۰).

جدول (۱): لیست پرایمرهای گونه موش مورد استفاده در Real time PCR

Gene	Primer Forward	Primer Reverse
Sox2	CAGGAGTTGTCAAGGCAGAGA	CTTAAGCCTCGGGCTCCAAA
Oct4	CCTTTCCTCTGTTCCTGTC	GTCTACCTCCCTTGCTTGG
GAPDH	AGAAGACTGTGGATGGCCC	AGATCCACGACGGACACATT

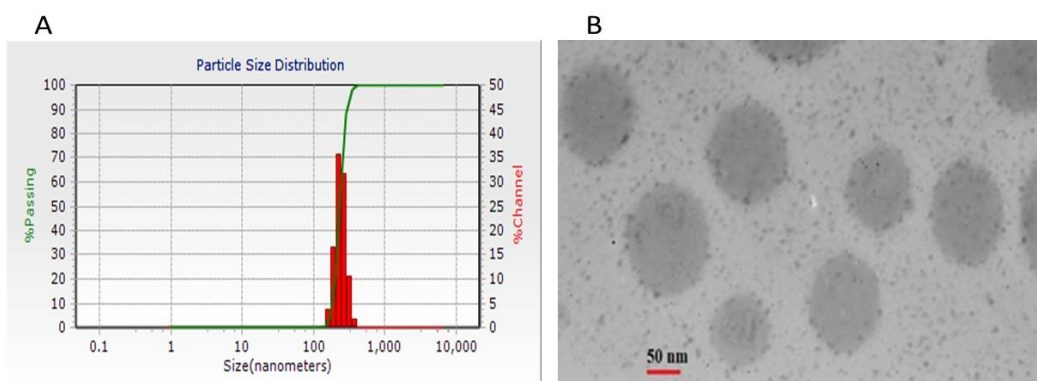
اندازه و پتانسیل زتا عوامل اصلی در سنتز نانو ذرات و کاربرد آن برای تحقیقات سلولی هستند (۳۱). ساختار و اندازه نانو ذرات پلاتین از طریق آنالیز TEM مورد بررسی قرار گرفت. مطابق شکل ۱، نانو ذرات پلاتین دارای ساختار کروی بوده و به درستی و بدون تجمع از یکدیگر جدا شده‌اند. تجزیه و تحلیل پتانسیل زتا نشان داد که بار سطحی نانو ذرات پلاتین $+25.8$ میلی ولت است (شکل ۱). و اندازه‌ی آن‌ها 180 نانومتر نتیجه پایداری مورفولوژیکی نانو ذرات سنتز شده را تأیید کرد.

تجزیه و تحلیل آماری و محاسبات:

نتایج بر اساس حداقل نمونه‌های سه تکراری \pm SD گزارش شده است. برای تجزیه و تحلیل از نرم‌افزار Graph Pad Prism (نسخه ۱۰) استفاده شد. نرمال سازی داده‌ها با استفاده از آزمون t-paired و ANOVA یک طرفه ارزیابی شد و مقدار p value <0.05 از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

خصوصیات نانو ذرات پلاتین:



شکل (۱): خصوصیات نانو ذرات پلاتینوم (A) پتانسیل زتا نانو ذرات پلاتین در دمای 25 درجه سانتی‌گراد. (B) تصویر TEM نانو ذرات پلاتین

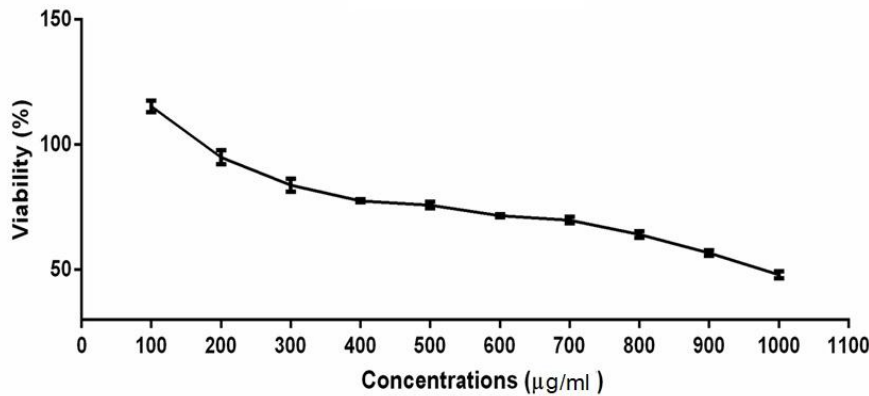
در حضور نانو ذرات پلاتین، از طریق روش MTT مبتنی بر تترازولیوم ارزیابی شد. با توجه به شکل ۲، اثرات نانو ذرات استفاده شده بر رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی به روشی وابسته به دوز و زمان بود. زمانی که سلول‌ها به مدت 144 ساعت در معرض 1000 میکروگرم در میلی لیتر پلاتین قرار گرفتند، زنده ماندن سلول‌های بنیادی مزانشیمی 50 درصد کاهش یافت. سمیت سلولی نانومواد به گروه‌های عاملی سطحی آن‌ها نسبت داده می‌شود (شکل ۲).

کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی:

سلول‌های بنیادی مزانشیمی به شکل تک لایه چسبنده کشت داده شدند و در P2 و P3 برداشت شدند. تصاویر میکروسکوپ نوری مورفولوژی دوکی مانند، کشیده و مسطح سلول‌های بنیادی مزانشیمی را نشان داد.

ارزیابی زنده ماندن سلول:

سمیت سلولی و فعالیت متابولیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

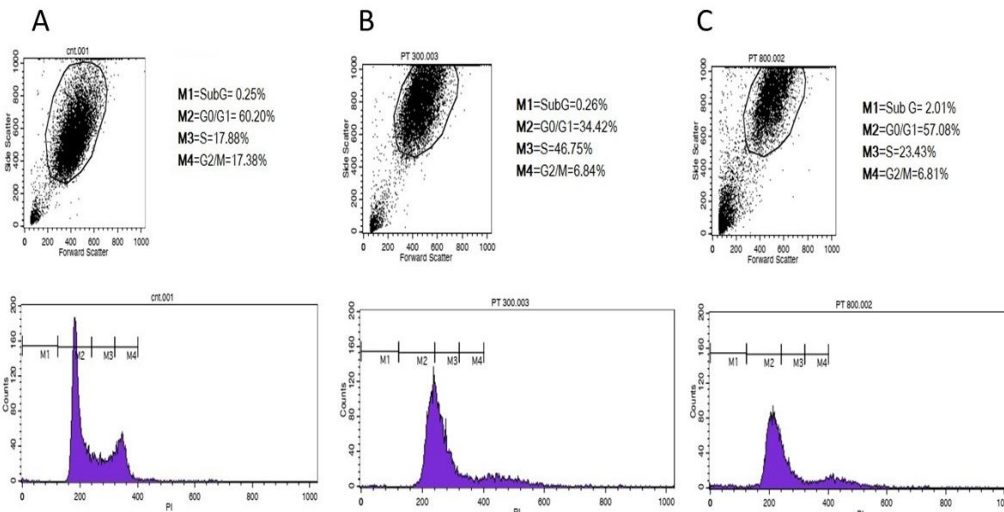


شکل (۲): تجزیه و تحلیل MTT سمیت سلولی و فعالیت متابولیکی سلولهای بنیادی مزانشیمی پس از ۱۴۴ ساعت تیمار با نانو ذرات پلاتین

کاهش شدید جمعیت سلولها در G0/G1 از ۶۰/۲ درصد در کنترل به ۳۴ درصد و ۵۷ درصد در گروههای تیمار شده موجب مشکلاتی در چرخه سلولی می‌گردد. که این اثرات هم در غلظت ۳۰۰ و هم در ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از نانو ذرات پلاتین مشهود است با افزایش دوز شدیدتر می‌باشد. (شکل ۳). در واقع، نانو ذرات پلاتین رشد و تکثیر سلولی را در مقایسه با گروه کنترل تیمار نشده کند و مشکل می‌کند.

تأثیر بر پیشرفت چرخه سلولی:

تجزیه و تحلیل چرخه سلولهای بنیادی تیمار شده با نانو ذرات پلاتین نشان داد که در این سلولها به شدت چرخه سلولی دچار تغییر می‌گردد به نحوی که با افزایش درصد سلولهای اپاپتوتیک در فاز S از ۰/۲۵ درصد به ۲/۱ درصد، تجمع سلولها در فاز S از ۱۷/۸۸ درصد در سلولهای کنترل به ۴۶/۷۵ و ۲۲/۴۳ درصد و



شکل (۳): تجزیه و تحلیل چرخه سلولی سلولهای بنیادی مزانشیمی پس از تیمار با نانو ذرات پلاتینوم. در مقایسه با گروه کنترل (A) نانو ذرات پلاتین باعث افزایش درصد سلولها در فاز S/در سلولهای بنیادی مزانشیمی شد که با ۳۰۰ (B) و ۸۰۰ (C) میکروگرم تیمار شده‌اند.

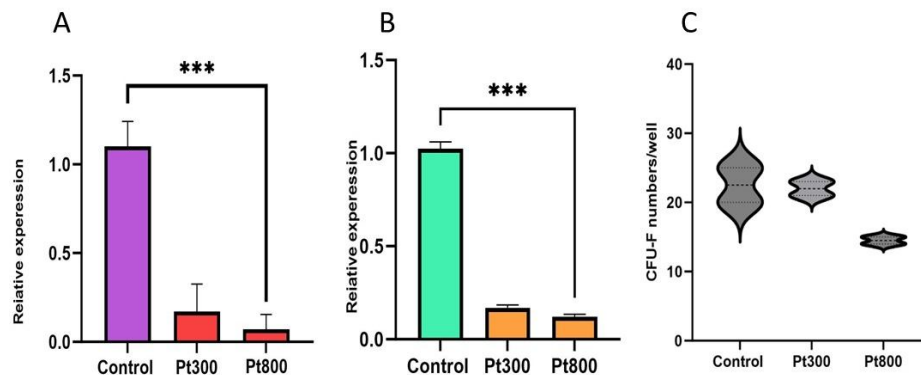
نتایج بیان ژن‌های بنیادینگی:

دو ژن اصلی که بیومارکرهای برجسته خودنوسازی و تنظیم کننده اصلی بنیادینگی در سلول‌های بنیادی هستند OCT4 و Sox-2 می‌باشند (۳۲،۳۳). بیان OCT4 ارتباط تنگاتنگی با حفظ پرتوانی در سلول‌های بنیادی دارد و پس از تمایز به سرعت کاهش می‌یابد. تجزیه و تحلیل Real-time PCR نشان داد که بیان Oct4 در سلول‌های بنیادی مزانشیمی تیمار شده با ۳۰۰ میکروگرم میلی لیتر از نانو ذرات پلاتین نسبت به گروه کنترل به شدت کاهش یافته است. بعلاوه بیان Sox-2 در سلول‌های بنیادی مزانشیمی تیمار شده به‌طور مشابه تغییر کرد. در مقایسه با گروه کنترل، بیان Sox-2 در سلول‌های بنیادی مزانشیمی که با ۳۰۰ میکروگرم میلی لیتر نانو ذرات پلاتین به مدت ۴۸ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند، به‌طور معنی‌داری کاهش ($p < 0.05$) یافت. نتایج شواهدی

را ارائه کردند که نانو ذرات پلاتین بیان ژن‌های بنیادینگی را کاهش می‌دهند (شکل ۴).

تجزیه و تحلیل تشکیل کلنی:

تشکیل کلونی که به‌عنوان یکی از مارکرهای بنیادینگی می‌باشد در سلول‌های بنیادی مزانشیمی پس از تیمار با نانو ذرات پلاتینیوم مورد ارزیابی قرار گرفت. مورفولوژی و تعداد کلنی‌های تشکیل شده توسط تعداد مشخصی از سلول‌های پیش‌ساز، اطلاعات اساسی در مورد توانایی سلول‌های ورودی برای تکثیر ارائه می‌دهد. نتایج کلون زایی در شکل ۴ مشخص شده است که نشان می‌دهد تعداد کلنی‌ها در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه کنترل کاهش دارد ($P < 0.05$). بنابراین نانو ذرات پلاتین توانایی تشکیل کلونی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را به‌ویژه در دوزهای بالاتر کم می‌کند.



شکل (۴): بررسی بیان Sox-2 در MSC های تیمار شده با نانو ذرات. نمودارهای (A) بیان Sox-2 و (B) Oct4 در سلول‌های بنیادی مزانشیمی در گروه کنترل و سلول‌های تیمار شده با نانو ذرات پلاتین ($P > 0.05$) به مدت ۴۸ ساعت. (C) تجزیه و تحلیل تشکیل کلونی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

شده‌اند. به‌ویژه سلول‌های بنیادی مدل حیوانی که از مغز استخوان یا بافت چربی در دسترس و قابل استخراج می‌باشند (۳۷)، سلول‌های بنیادی استخراج شده از مغز استخوان نسبت به انواع دیگر سلول‌ها از مزایای ویژه‌ای برخوردارند و موجب بقای سلول‌های عصبی شده و از آپوپتوز آن‌ها جلوگیری می‌کنند و به این ترتیب باعث بهبود عملکرد آن‌ها می‌شود (۳۸). در مطالعه حاضر، ما اثر نانو ذرات پلاتین را بر روی بنیادینگی (stemness) سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان موش بررسی کردیم. نانو ذرات پلاتین با اندازه متوسط تقریباً ۱۸۰ نانومتر و پتانسیل زتا +25.8 شناسایی شدند. پتانسیل زتا که به‌عنوان یک پارامتر اصلی برای مشخص نمودن پایداری سوسپانسیون نانو ذرات اندازه گیری می‌شود. به‌طور کلی وقتی پایداری نانو ذرات گزارش می‌گردد مقدار پتانسیل زتا بیشتر

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از آلیاژها و فلزات در دنیای پزشکی بسیار متداول شده است در این میان فلز پلاتین به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی خاصی که دارد و سبب پایداری آن می‌شود. فلز بسیار پرکاربرد و مفیدی محسوب می‌شود (۳۴). از این ماده و مشتقات آن در درمان سرطان استفاده می‌گردد (۳۵). همچنین در ساخت اقلامی مانند روکش‌های دندان، ابزارها و بین‌های جراحی استفاده می‌گردد. همچنین جهت درمان دیسک کمر، دیسک گردن، ستون فقرات، انواع شکستگی استخوان پا و مچ دست، معمولاً از پلاتین استفاده می‌شود (۳۶). در دهه اخیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی اتولوگ به‌عنوان منبع بسیار مهمی در مطالعات توکسیسیته متريالها استفاده

که در سلول‌های MCF-7 انجام شد که باز با روش سبز انجام شد اندازه نانوذره مشابه کار ما بود و پتانسیل زتا هم اندازه گیری شد که معادل 23- بود (۴۴).

در نهایت، یافته‌های ما نشان می‌دهد که نانو ذرات پلاتین می‌توانند تکثیر، چرخه سلولی و خواص بنیادینگی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را کاهش دهند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده در دوزهای بالا و مدت‌زمانهای طولانی ممکن است بتواند باعث ایجاد عوارض احتمالی در سلول‌های بنیادی بیماران باشد. در این مطالعه امکان بررسی بیشتر اثرات نانو ذرات پلاتینیوم در شرایط درون تن در حیوانات آزمایشگاهی و در انسان میسر نشد که می‌تواند در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد. همچنین پیشنهاد می‌شود نظر به اهمیت چک کردن امکان ایجاد کم خونی‌ها، در کارهای آینده مطالعه اثرات این نانو ذرات به‌ویژه اثر دراز مدت آن‌ها بر همولیز و سلول‌های خونی مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی خود را از گروه بیوتکنولوژی پزشکی و دانشکده علوم نوین پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و همچنین گروه شیمی دانشگاه تبریز به خاطر حمایت‌های معنوی این اثر اظهار دارند.

حمایت مالی تحقیق

این تحقیق توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تبریز حمایت مالی شده است.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ تضاد منافی اظهار ننمودند.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه دارای مجوز اخلاق با شماره IR.TBZMED.REC.1395.967 از دانشگاه علوم پزشکی تبریز است.

از ۳۰ میلی ولت پایداری خوب و کمتر از ۲ میلی ولت موجب اگرگاسیون و ناپایداری آن‌ها می‌شود (39). پتانسیل زتا برای نانو ذرات این مطالعه +۲۵.۸ بود که نشان‌دهنده پایداری مطلوب نانو ذرات پلاتین است.

پس از ارزیابی سمیت نانو ذرات پلاتین با آزمون MTT، سمیت وابسته به غلظت و زمان این نانو ذرات بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تعیین شد. این نتایج مطابق با یافته‌های یک مطالعه قبلی بود که هر چند در آن سلول‌های بنیادی مطالعه نشدند اما نانو ذرات پلاتینیوم تأثیر منفی بر زنده‌مانی سلول‌های لوکمیا نشان داد (۴۰). تجزیه و تحلیل فلوسایتومتری سلول‌های بنیادی مزانشیمی تیمار شده با نانو ذرات پلاتین افزایش درصد سلول‌ها در فاز S و کاهش سلول‌ها در G0/G1 را نشان داد که نقش منفی این نانو ذرات در مقایسه با گروه کنترل تیمار نشده را نشان می‌دهد. در یک مقاله مشابه که روی سلول‌های سرطانی MCF-7 انجام شد افزایش سلول‌ها در G0/G1 گزارش گردید (۴۵) که احتمالاً به دلیل متغیر بودن شرایط آزمایشات متفاوت از نتیجه این مطالعه است.

از آنجاییکه بسیاری از عملکردهای سلول‌ها با فعالیت ژن‌های آن‌ها انجام و مرتبط است در این مطالعه ارزیابی بیان ژن‌های بنیادی با روش Real-time PCR انجام شد که نشان داد که در سلول‌های تیمار شده، ژن‌های Sox-2 و Oct4 به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل سرکوب شدند. در مطالعه دیگری که توسط گروه ما انجام و در سال ۲۰۲۲ چاپ شد نانو ذرات تیتانیوم بر سلول‌های بنیادی انجام شد اثر منفی روی زنده‌مانی سلول‌های بنیادی نشان داد و حتی منجر به پیری گردید (۴۱) که نتایج این مطالعه را تأیید می‌نماید. همچنین مطالعه اثر نانو ذرات اکسید روی بر سلول‌های بنیادی نشان داد که سایز کوچکتر این نانو ذرات تأثیر منفی بیشتر بر زنده‌مانی و خواص بنیادینگی این سلول‌ها دارد که این یافته‌ها در راستای یافته‌های این مطالعه می‌باشد (۴۲). همچنین مطالعه عابد و همکاران نشان داد که استفاده از نانو ذرات پلاتینیوم می‌تواند شدت اثرات ضدسرطانی فوتوترمال را به‌صورت هم افزایی در سلول‌های MCF-7 افزایش دهد (۴۳). در این مطالعه از روش سنتز سبز برای تهیه نانو ذرات پلاتینیوم استفاده شد. در مطالعه دیگری

References:

1. Wu D, Chang X, Tian J, Kang L, Wu Y, Liu J et al. Bone mesenchymal stem cells stimulation by magnetic nanoparticles and a static magnetic field. release of exosomal miR-1260a improves osteogenesis and angiogenesis. *J Nanobiotechnol* 2021;19(1):1-19. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00958-6>
2. He F, Cao J, Qi J, Liu Z, Liu G, Deng W. Regulation of Stem Cell Differentiation by Inorganic Nanomaterials. *Recent Advances in Regenerative Medicine. Front Bioeng Biotechnol* 2021;9(September):1-10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.721581>

3. Fu X, Liu G, Halim A, Ju Y, Luo Q, Song G. Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells* 2019;8(8).
<https://doi.org/10.3390/cells8080784>
4. Ikono R, Li N, Pratama NH, Vibriani A, Yuniarni DR, Luthfansyah M et al. Enhanced bone regeneration capability of chitosan sponge coated with TiO2 nanoparticles. *Bioethanol Rep* 2019; 24.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00350>
5. Sun Y, Lu Y, Yin L, Liu Z. The Roles of Nanoparticles in Stem Cell-Based Therapy for Cardiovascular Disease. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8(August):1-12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00947>
6. Dong Y, Wu X, Chen X, Zhou P, Xu F, Liang W. Nanotechnology shaping stem cell therapy. Recent advances, application, challenges, and future outlook. *Biomed. Pharmacother* 2021;137(December 2020):111236.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111236>
7. Pan S, Yu H, Yang X, Wang Y, Liu Q, et al. Application of Nanomaterials in Stem Cell Regenerative Medicine of Orthopedic Surgery. *J Nanomater* 2017;2017:1985942.
<https://doi.org/10.1155/2017/1985942>
8. Huynh KH, Pham XH, Kim J, Lee SH, Chang H, Rho WY et al. Synthesis, properties, and biological applications of metallic alloy nanoparticles. *Int J Mol Sci* 2020;21(14):1-29.
<https://doi.org/10.3390/ijms21145174>
9. Zhang Z, Fu X, Xu L, Hu X, Deng F, Yang Z et al. Nanosized Alumina Particle and Proteasome Inhibitor Bortezomib Prevented inflammation and Osteolysis Induced by Titanium Particle via Autophagy and NF-κB Signaling. *Sci Rep* 2020;10(1):1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62254-x>
10. Soleimany L, Zare S, Hobbenaghi R, Delirez N, Hushmandi K. comparison effect of bone marrow derived mesenchymal stem cells and stimulated bone marrow mesenchymal stem cells with LPS on healing of induced third-degree skin burn in mouse. *Stud Med Sci* 2017;27(11):1012-24.
11. Zhang C, Xu C, Gao X, Yao Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics* 2022;12(5):2115-32.
<https://doi.org/10.7150/thno.69424>
12. Moon KS, Choi EJ, Bae JM, Park YB, Oh S. Visible light-enhanced antibacterial and osteogenic functionality of Au and Pt nanoparticles deposited on TiO2 nanotubes. *Materials* 2020;13(17).
<https://doi.org/10.3390/ma13173721>
13. Sathiyaraj G, Vinosha M, Sangeetha D, Manikandakrishnan M, Palanisamy S, Sonaimuthu M et al. Bio-directed synthesis of Pt-nanoparticles from aqueous extract of red algae *Halymenia dilatata* and their biomedical applications. *Colloids Surf. A [Internet]*. 2021;618(March):126434.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126434>
14. Ramkumar VS, Pugazhendhi A, Prakash S, Ahila NK, Vinoj G, Selvam S et al. Synthesis of platinum nanoparticles using seaweed *Padina gymnospora* and their catalytic activity as PVP/PtNPs nanocomposite towards biological applications. *Biomed Pharmacother* 2017; 92:479-90.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.076>
15. Selvi AM, Palanisamy S, Jeyanthi S, Vinosha M, Mohandoss S, Tabarsa M et al. Synthesis of *Tragia involucrata* mediated platinum nanoparticles for comprehensive therapeutic applications: Antioxidant, antibacterial and mitochondria-associated apoptosis in HeLa cells. *Process Biochem* 2020; 98:21-33.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.07.008>
16. Lee J-W, Son J, Yoo K-M, Lo YM, Moon B. Characterization of the antioxidant activity of gold@platinum nanoparticles. *RSC Adv* 2014;4(38):19824-30.
<https://doi.org/10.1039/c4ra01765j>
17. Zheng B, Kong T, Jing X, Odoom-Wubah T, Li X, Sun D et al. Plant-mediated synthesis of platinum nanoparticles and its bioreductive mechanism. *J*

- Colloid Interface Sci 2013;396:138-45.
<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.01.021>
18. Rehman MU, Yoshihisa Y, Miyamoto Y, Shimizu T. The anti-inflammatory effects of platinum nanoparticles on the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW 264.7 macrophages. *Inflammation Res* 2012;61:1177-85.
<https://doi.org/10.1007/s00011-012-0512-0>
19. Tan L, Liu X, Dou H, Hou Y. ScienceDirect Characteristics and regulation of mesenchymal stem cell plasticity by the microenvironment d specific factors involved in the regulation of MSC plasticity. *Genes Dis* 2020.
20. Moosavi MA, Moghtaran Bonab N, Hoseinpour Feizi MA, Asvadi Kermani I. study the effect of nucleostemin gene silencing by sirna on growth inhibition and differentiation in NB4 promyelocytic leukemia cell line. *Stud Med Sci* 2013;24(2):121-32.
21. Heib T, Gross C, Müller ML, Stegner D, Pleines I. Isolation of murine bone marrow by centrifugation or flushing for the analysis of hematopoietic cells-a comparative study. *Platelets* 2021;32(5):601-7.
<https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1797323>
22. Gurunathan S, Jeyaraj M, La H, Yoo H, Choi Y, Do JT et al. Anisotropic Platinum Nanoparticle-Induced Cytotoxicity, Apoptosis, Inflammatory Response, and Transcriptomic and Molecular Pathways in Human Acute Monocytic Leukemia Cells. *Int J Mol Sci* 2020;21(2):440.
<https://doi.org/10.3390/ijms21020440>
23. Long NV, Chien ND, Hayakawa T, Hirata H, Lakshminarayana G, Nogami M. The synthesis and characterization of platinum nanoparticles: a method of controlling the size and morphology. *Nanotechnology* 2009;21(3):035605.
<https://doi.org/10.1088/0957-4484/21/3/035605>
24. Rahman MS, Akhter S, Ahmed KN, Rahman MS, Saha RK, Hossain MJ. Tunable synthesis of platinum nanoparticles by EtOH reduction in presence of poly (vinylpyrrolidone). *Bangladesh J Sci Ind Res* 2015;50(2):87-92.
<https://doi.org/10.3329/bjsir.v50i2.24349>
25. Hassanlou L, Meshgini S, Alizadeh E. Evaluating adipocyte differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by a deep learning method for automatic lipid droplet counting. *Comput Biol Med* 2019;112(207).
<https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2019.103365>
26. Goldman SM, Henderson BEP, Corona BT. Evaluation of bone marrow mononuclear cells as an adjunct therapy to minced muscle graft for the treatment of volumetric muscle loss injuries. *Stem Cell Res Ther* 2017;8(1):1-6. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0589-z>
27. Hashemi F, Heidari F, Mohajeri N, Zarghami N. Fluorescence Intensity Enhancement of Green Carbon Dots : Synthesis, Characterization Cell Imaging Photochem Photobiol 2020; (18):1-9. 28. F. Pouremamali, F. Jeddi NS. Nrf2-ME-1 axis is associated with 5 FU resistance in gastric cancer cell line. *Process Biochem* 2020.
29. Arezoumand KS, Alizadeh E, Esmacillou M, Ghasemi M, Alipour S, Pilehvar-Soltanahmadi Y et al. The emu oil emulsified in egg lecithin and butylated hydroxytoluene enhanced the proliferation, stemness gene expression, and in vitro wound healing of adipose derived stem cells. *Vitr Cell Dev Biol Anim* 2018;54(3):205-16. <https://doi.org/10.1007/s11626-018-0228-8>
30. Asadi M, Lotfi H, Salehi R, Mehdipour A, Zarghami N, Akbarzadeh A, et al. Hepatic cell sheet fabrication of differentiated mesenchymal stem cells using decellularized extracellular matrix and thermoresponsive polymer. *Biomed Pharmacother* 2021;134(July 2020):111096.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111096>
31. Xu J, Zhang Y, Xu J, Wang M, Liu G, Wang J et al. Reversing tumor stemness via orally targeted nanoparticles achieves efficient colon cancer

- treatment. *Biomaterials* 2019;216(June):119247. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119247>
32. Heurtier V, Owens N, Gonzalez I, Mueller F, Proux C, Mornico D et al. The molecular logic of Sox-2-induced self-renewal in mouse embryonic stem cells. *Nat Commun* 2019;10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09041-z>
33. Rajanahalli P, Stucke CJ, Hong Y. The effects of silver nanoparticles on mouse embryonic stem cell self-renewal and proliferation. *Toxicol Rep* 2015; 2:758-64. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.05.005>
34. Cowley A. A healthy future: platinum in medical applications. *Platinum Met Rev* 2011;55(2):98-107. <https://doi.org/10.1595/147106711X566816>
35. Zhang C, Xu C, Gao X, Yao Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics* 2022;12(5):2115. <https://doi.org/10.7150/thno.69424>
36. Wang Z, Wang J, Liu J, Zhang Y, Zhang J, Yang R et al. Platinum nanoparticles enhance osteogenic differentiation of human dental follicle stem cells via scavenging ROS. *Smart Mater Med* 2023. <https://doi.org/10.1016/j.smam.2023.06.004>
37. Sarikhani M, Vaghefi Moghaddam S, Firouzmandi M, Hejazy M, Rahimi B, Moeini H, Alizadeh E. Harnessing rat derived model cells to assess the toxicity of TiO₂ nanoparticles. *J Mater Sci Mater Med*. 2022;33(5):41. <https://doi.org/10.1007/s10856-022-06662-7>
38. Pourheydar B, Shahi M, Farjah GH, Javanmard M, Karimipour M, Atabaki F. Evaluation of apoptosis in hippocampal cells of rat following intravenous injection of bone marrow stromal cells in ischemia-reperfusion model. *Stud Med Sci* 2014; 25(7):586-97.
39. Maleki Dizaj S, Lotfipour F, Barzegar-Jalali M, Zarrintan MH, Adibkia K. Ciprofloxacin HCl-loaded calcium carbonate nanoparticles: preparation, solid state characterization, and evaluation of antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus*. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2017;45(3):535-543. <https://doi.org/10.3109/21691401.2016.1161637>
40. Gurunathan S, Jeyaraj M, La H, Yoo H, Choi Y, Do JT et al. Anisotropic platinum nanoparticle-induced cytotoxicity, apoptosis, inflammatory response, and transcriptomic and molecular pathways in human acute monocytic leukemia cells. *Int J Mol Sci* 2020;21(2):440. <https://doi.org/10.3390/ijms21020440>
41. Sarikhani M, Vaghefi Moghaddam S, Firouzmandi M, Hejazy M, Rahimi B, Moeini H et al. Harnessing rat derived model cells to assess the toxicity of TiO₂ nanoparticles. *J Mater Sci Mater Med* 2022;33(5):41. <https://doi.org/10.1007/s10856-022-06662-7>
42. Deylam M, Alizadeh E, Sarikhani M, Hejazy M, Firouzmandi M. Zinc oxide nanoparticles promote the aging process in a size-dependent manner. *J Mater Sci Mater Med* 2021;32:1-0. <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06602-x>
43. Abed, A. S., Mishaal Mohammed, A., & Khalaf, Y. H. (2022). Novel photothermal therapy using platinum nanoparticles in synergy with near-infrared radiation (NIR) against human breast cancer MCF-7 cell line. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100591>
44. Manzoor S, Bashir DJ, Imtiaz K, Rizvi MMA, Ahamad I, Fatma T, Agarwal NB, Arora I, Samim M. Biofabricated platinum nanoparticles: therapeutic evaluation as a potential nanodrug against breast cancer cells and drug-resistant bacteria. *RSC Adv* 2021;11(40):24900-24916. <https://doi.org/10.1039/D1RA03133C>
45. Alyami NM, Almeer R, Alyami HM. Role of green synthesized platinum nanoparticles in cytotoxicity, oxidative stress, and apoptosis of human colon cancer cells (HCT-116). *Heliyon* 2022;8(12):e11917. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11917>

EVALUATION OF PLATINUM NANOPARTICLES EFFECTS ON CELL CYCLE AND EXPRESSION OF SOX2 AND OCT-4 GENES IN MESENCHYMAL STEM CELLS

Roya Valizadeh¹, Elham Abasi¹, Roghayyeh Jalili², Nasrin Mohajeri³, Effat Alizadeh^{4*}

Received: 27 January, 2024; Accepted: 13 March, 2024

Abstract

Background & Aims: The Mesenchymal Stem Cells (MSCs) are a population of widely used cells in cell/gene therapy which are necessary to maintain their stemness properties to guarantee their proper function in medical applications. Platinum nanoparticles are one of the materials that have various applications in the medical world. The aim of this work was to evaluate platinum nanoparticles effect on MSCs cell cycle and Oct-4 and Sox-2 expression *in vitro*.

Materials & Methods: In this experimental study, after the synthesis of platinum nanoparticles, their dynamic shape and size were checked by TEM and their charge by DLS test. Then, the culture of mesenchymal stem cells and their survival after treatment with platinum nanoparticles (pt) were investigated. In addition, the expression levels of Sox-2 and Oct-4 genes were evaluated in cells treated with nanoparticles. Also, the effects of platinum nanoparticles on cell cycle and colony formation in stem cells were evaluated. Statistical analyzes were performed with Graph Pad Prism version 10 software. The significance level was defined as $p < 0.05$.

Results: Based on the obtained results, the morphology of spherical nanoparticles and their size was 180 nm and their charge was +25.8. Cytotoxicity test showed that the effects of these nanoparticles on cells are dose and time dependent. Also, in the presence of platinum, the cell cycle of stem cells underwent many changes, especially the increase in the percentage of cells in the S phase. Real-time PCR results showed that in the presence of platinum nanoparticles, there is a decrease in Sox-2 and Oct4 gene expression, which has led to a decrease in the stemness properties of mesenchymal stem cells. Also, their clonogenic potential was also weakened.

Conclusion: We concluded that due to the possible negative effects of platinum nanoparticles on the stemness of MSCs, platinum nanoparticles should be used with caution in long-term medical applications. Therefore, it is suggested to reduce the dose, frequency and duration of using platinum nanoparticles as much as possible.

Keywords: Cell Cycle, Mesenchymal Stem Cells, Oct-4 Expression, Platinum Nanoparticle, Sox-2 Expression

Address: Department of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Tel: +984133377644

Email: alizadehe@tbzmed.ac.ir OR e.alizadeh.2010@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2024; 34(12): 752 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ Department of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

² Department of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

² PhD in Chemistry, Faculty of Chemistry, Tabriz University, Tabriz, Iran

³ Recombinant Proteins Department, Breast Cancer Research Center, Motamed Cancer Institute, ACECR, Tehran, Iran

⁴ Associate Professor of Medical Biotechnology, Department of Medical Biotechnology, Faculty of Modern Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (Corresponding Author)