

بررسی و مقایسه‌ی سمیت نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش و با پوشش پلی‌دوپامین در رده‌ی سلولی B16-F10 تحت شرایط برون‌تنی

فهیمة حسین بیگی^۱، سهیل فتاحیان^۲، داریوش شهبازی گهروی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر، استفاده از نانوذرات در تشخیص، تحویل دارو و درمان به دلیل کوچک بودن این ذرات و افزایش نسبت سطح به حجم بسیار مورد توجه قرار گرفته است. مهم‌ترین مشکل زمان درمان سرطان به وسیله‌ی شیمی‌درمانی، عدم دسترسی به قسمت‌های مرکزی توده به علت خون‌رسانی کمتر آن است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی میزان سمیت نانوذره‌ی اکسید آهن با پوشش پلی‌دوپامین و بدون پوشش پلی‌دوپامین بر روی سلول‌های سرطانی ملانوما B16-F10 بود.

روش‌ها: ابتدا، نانوذره‌ی اکسید آهن به روش هم‌رسوبی ساخته و به وسیله‌ی دوپامین پوشش‌دار گردید. سپس، با استفاده از روش MTT، اثر سیتوتوکسیسیته‌ی این نانوذره‌ی پوشش‌دار و بدون پوشش بر روی رده‌ی حیوانی B16-F10 مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: استفاده از نانوذره‌ی اکسید آهن بدون پوشش بر روی رده‌ی B16-F10 در غلظت ۴۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر و در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت سمیت نشان داد و در خصوص نانوذره با پوشش، در هیچ یک از غلظت‌ها و در هیچ یک از دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت، سمیت قابل توجهی وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: خاصیت سمیت سلولی نانوذره‌ی بدون پوشش در مقایسه با نانوذره‌ی با پوشش، به طور معنی‌داری بیشتر بود. با استفاده از پوشش، می‌توان سمیت نانوذره‌ی اکسید آهن را کمتر کرد و از آن برای باند کردن هدایت دارو و همچنین، به عنوان یک ماده‌ی کنتراست در تصویربرداری رزنانس مغناطیسی (Magnetic resonance imaging یا MRI) استفاده نمود.

واژگان کلیدی: نانوذره‌ی اکسید آهن، پلی‌دوپامین، ملانوما، سمیت سلولی

ارجاع: حسین بیگی فهیمة، فتاحیان سهیل، شهبازی گهروی داریوش. بررسی و مقایسه‌ی سمیت نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش و با پوشش پلی‌دوپامین در رده‌ی سلولی B16-F10 تحت شرایط برون‌تنی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۳): ۷۶۷-۷۶۲

مقدمه

نانوذرات به دلیل ویژگی افزایش نسبت سطح به حجم، نسبت به مواد کپه‌ای (Bulk)، دارای برتری‌هایی می‌باشند و باعث افزایش سطح تماس با لایه‌های بافت می‌شوند. استفاده از نانوذرات به عنوان حامل، می‌تواند باعث کاهش سمیت دارو شود. نانوذراتی که ابعادی زیر ۱۰۰ نانومتر دارند، قابلیت‌هایی اعم از افزایش احتمال جذب و انتقال سریع و قابلیت پراکندگی سریع و باند شدن مؤثر با بیومولکول‌ها را دارند (۱). نانوذرات مغناطیسی، از جمله نانوذراتی هستند که در تشخیص و درمان مورد استفاده قرار می‌گیرند که در این بین، نانوذره‌ی اکسید آهن به دلیل زیست سازگاری بالا و عدم سمیت،

بسیار مورد توجه است (۲-۳). یکی از مشکلات درمان تومور به وسیله‌ی شیمی‌درمانی، عدم دسترسی دارو به قسمت‌های مرکزی به علت خون‌رسانی کمتر این نواحی می‌باشد که در نتیجه‌ی آن، بیماری بار دیگر عود می‌کند؛ در صورتی که با استفاده از قدرت نفوذ بالای نانوذرات، می‌توان بر این مشکل فایز آمد (۴). نانوذره‌ی اکسید آهن، توانایی باند شدن با بسیاری از مواد بیواکتیو نظیر پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و آنتی‌بادی‌ها را دارد و از آن‌ها به عنوان ماده‌ی کنتراست در تصویربرداری رزنانس مغناطیسی (Magnetic resonance imaging یا MRI) استفاده می‌شود (۵)، اما این نانوذرات، به سرعت توسط سیستم رتیولوآندوتلیال شناسایی و حذف می‌شوند. در این میان،

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست سلولی و مولکولی (بیوفیزیک)، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

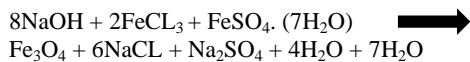
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی (بیوفیزیک)، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: سهیل فتاحیان

Email: fatahian@iaufala.ac.ir

روی مگنت گردان برداشته و ۵ بار با استفاده از آب‌مقطر شستشو داده شد که واکنش آن به صورت زیر می‌باشد (۱۰):



آن‌گاه، ۸۰ میلی‌گرم نانوذره‌ی آهن با ۸۰ میلی‌گرم دوپامین هیدروکلراید ساخت شرکت SIGMA و ۴۰ میلی‌لیتر Tris base buffer با pH معادل ۸/۵ مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت در هم‌زن گذاشته و چند بار نانوذره با آب‌مقطر و متانول شستشو داده شد (۱۱). برای ارزیابی مشخصه‌های شبکه‌ی کریستالی نمونه‌ی Fe_3O_4 از دستگاه پراش پرتوی ایکس (XRD یا X ray diffraction) استفاده شد و بررسی اندازه‌ی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM یا Transmission electron microscopy) انجام شد. جهت اطمینان از پوشش دار بودن نانوذرات اکسید آهن با پلی‌دوپامین، از سیستم تبدیل فوریه‌ی مادون قرمز (FTIR یا Fourier transform infrared spectroscopy) و اسپکتروفتومتری استفاده گردید.

بررسی میزان سمیت نانوذرات Fe_3O_4 و $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{PDA}$

رده‌ی سلولی B16-F10 با غلظت‌های ۱۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۱۵۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از نانوذره‌ی اکسید آهن خالص و بدون پوشش (Fe_3O_4) و در سه بازه‌ی زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اثردهی شد و بعد از اتمام بازه‌ی زمانی، از روش MTT نظیر برخی مطالعات قبلی استفاده گردید (۱۲). سپس، هم‌مین رده‌ی سلولی با نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با پلی‌دوپامین ($\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{PDA}$) با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت اثردهی شد و به روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

اندازه‌ی نانوذرات سنتز شده با کمک میکروسکوپ الکترونی عبوری در محدوده‌ی ۲۰-۱۵ نانومتر به دست آمد (شکل ۱). پس از بررسی میزان سمیت نانوذره‌ی Fe_3O_4 در سه بازه‌ی زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی رده‌ی سلولی ملانوما نتایجی به دست آمد که در ادامه شرح داده می‌شوند.

شکل ۲، نمایانگر منحنی تبدیل فوریه‌ی جذب در ناحیه‌ی مادون قرمز برای نمونه‌های اکسید آهن و پلی‌دوپامین و اکسید آهن پوشش داده شده با پلی‌دوپامین می‌باشد. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود، پیک‌های جذبی منحنی شماره‌ی ۲ که مربوط به اکسید آهن پوشش داده شده با پلی‌دوپامین به خصوص در ناحیه‌ی عدد موج حدود ۱۶۰۰ و ۳۵۰۰ سانتی‌متر هم‌پوشانی منحنی‌های شماره‌ی ۱ و ۳

تحقیقات بر روی بررسی نانوذرات با پوشش انجام شده است که حاکی از مناسب بودن این نانوذرات با پوشش می‌باشد و باعث زیست‌سازگار پذیری، کاهش انباشتگی و افزایش زمان ماندن در گردش خون آن‌ها شده است (۶).

یکی از پوشش‌هایی که به تازگی مورد توجه قرار گرفته‌اند، دوپامین می‌باشد. دوپامین، مولکول کوچکی شبیه به پروتئین گوشت خوک و یا صدف است که روی سطوح نانوذرات آهن به صورت یک لایه‌ی نازک پلی‌دوپامین (Polydopamine یا PDA) قرار می‌گیرد. دوپامین، در pHهای پایین دارای بار مثبت است و با مولکول‌هایی با بار منفی به خوبی باند می‌شود و در pHهای بالا، نفوذ پذیری خوبی برای مولکول‌های با بار مثبت دارند (۷). به نظر می‌رسد که یک روش غیر تهاجمی مناسب جهت ردیابی سلول در موجودات زنده، استفاده از عامل کتراست در MRI می‌باشد (۸). دوپامین، علاوه بر پایداری کلونیدی مناسب به علت حساسیت بالا نسبت به رزونانس مغناطیسی، علاوه بر پوشش‌دار کردن نانوذره، به تشدید رزونانس مغناطیسی نانوذرات مغناطیسی در هنگام تصویربرداری کمک می‌کند.

به علاوه، پوشش PDA روی اکسید آهن، باعث افزایش پایداری این نانوذره در دما و غلظت بالای نمک می‌شود که این پایداری، منجر به تبدیل این ماده به عنوان یک گزینه‌ی مناسب در هایپرترمی می‌شود (۹). هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان سمیت نانوذره‌ی اکسید آهن با پوشش پلی‌دوپامین و بدون پوشش پلی‌دوپامین بر روی سلول‌های سرطانی ملانوما B16-F10 بود.

روش‌ها

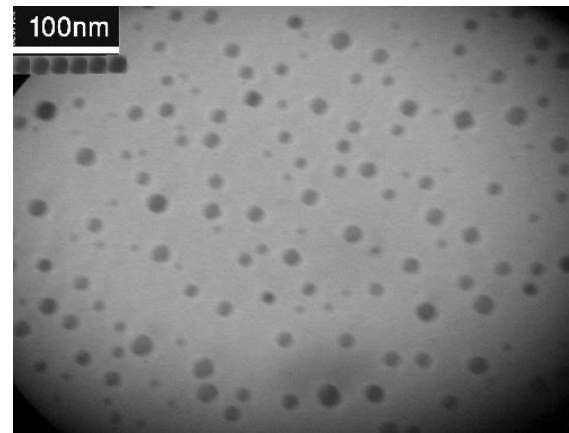
یک عدد فلاسک سلول سرطانی زنده‌ی ملانوما رده‌ی B16-F10 از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. سپس، در محیط کشت انستیتو پاستور ایر (DMEM) Dulbecco's modified Eagle medium با گلوکز بالا (High glucose) به همراه Fetal bovine serum (FBS) ۱۰ و ۱۰ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین و دی‌اکسید کربن ۵ درصد کشت داده شد.

ساخت نانوذره‌ی $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{PDA}$ از روش هم‌رسوبی برای ساخت نانوذره استفاده شد. برای این منظور، ۳-۲ گرم از NaOH و ۳ گرم از FeCl_3 و $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ درون ۳ بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری با ۱۰۰ سی‌سی آب‌مقطر مخلوط گردید و روی مگنت گردان قرار داده شد تا محلول یک‌دست شود. محلول حاوی FeCl_3 و $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ داخل یک بشر ۶۰۰ میلی‌لیتری ریخته و روی هیتر مگنت گردان قرار داده شد. هیتر مگنت گردان محلول حاوی NaOH نیز روشن گردید تا به جوش بیاید. بعد از رسیدن به نقطه‌ی جوش، محلول NaOH به آن اضافه شد تا بار دیگر مقداری هم بخورد. سپس، این محلول از

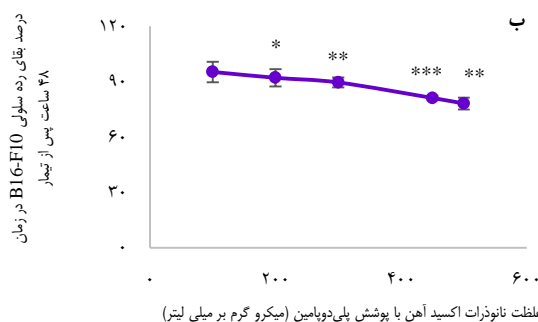
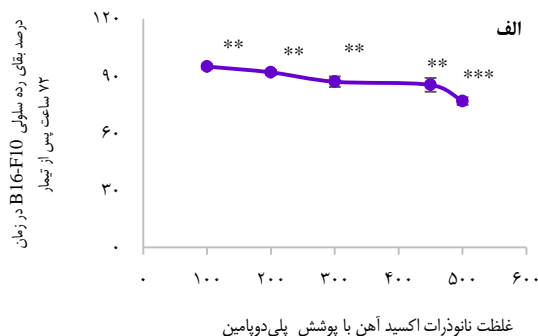
در بازه‌ی زمانی ۲۴ ساعت، بیشترین میزان تأثیر نانوذره مربوط به غلظت ۴۵۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای $9/84 \pm 77/2$ و کمترین میزان اثردهی، مربوط به غلظت ۱۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای بالای ۹۹ درصد به دست آمد و هیچ گونه سمیت معنی‌داری را نشان نداد.

با توجه به سمیت بسیار ناچیز نانوذره در ۲۴ ساعت، به منظور بررسی سمیت نانوذره‌ی اکسید آهن با پوشش پلی‌دوپامین ($Fe_3O_4@PDA$)، از اثردهی نانوذره با پوشش در ۲۴ ساعت صرف نظر شد و سمیت نانوذره با پوشش پلی‌دوپامین تنها در بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. در زمان ۷۲ ساعت، بیشترین اثر در غلظت ۵۰۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای $8/58 \pm 76/88$ (شکل ۳-الف) و کمترین اثر مربوط به غلظت ۱۰۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای بالای ۹۵ درصد مشاهده شد. در زمان ۴۸ ساعت نیز بیشترین اثر مربوط به غلظت ۵۰۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای $9/22 \pm 78/3$ و کمترین اثر مربوط به غلظت ۱۰۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای بالای ۹۵ درصد می‌باشد (شکل ۳-ب). با توجه به داده‌های به دست آمده در خصوص نانوذرات با پوشش پلی‌دوپامین، در هیچ یک از بازه‌های زمانی و هیچ یک از غلظت‌ها، سمیت قابل توجهی وجود نداشت.

(پلی‌دوپامین خالص و اکسید آهن خالص) می‌باشد که دال بر پوشش دهی صحیح است. پیک اصلی جذبی، مربوط به Fe_3O_4 در ۵۷۵/سانتی متر بود و پیک‌های جذبی مربوط به دوپامین در ۱۶۳۴، ۲۰۸۰ و ۳۴۳۵/سانتی متر به دست آمد. بعد از باند شدن این دو ماده و بررسی نمونه‌ی پوشش داده شده، پیک‌هایی در ۵۸۲، ۱۵۹۳ و ۳۳۳۶/سانتی متر ظاهر شده است که نشان دهنده‌ی باند شدن دو عنصر با یکدیگر می‌باشد.

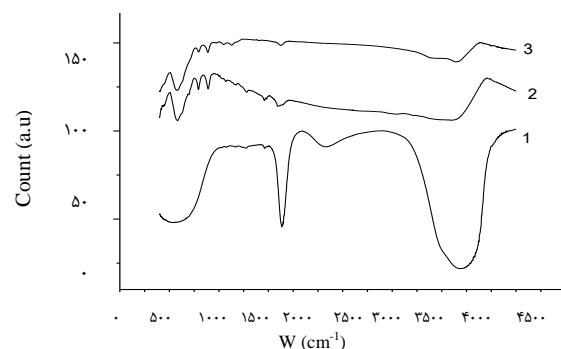


شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانوذره‌ی Fe_3O_4



شکل ۳. اثر سمیت در غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش پلی‌دوپامین بر رده‌ی سلولی B16-F10 در زمان‌های الف) ۷۲ و ب) ۴۸ ساعت پس از تیمار ($P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/001$). میانگین \pm انحراف معیار.

در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت، بیشترین سمیت مربوط به غلظت ۴۵۰ میکروگرم/میلی لیتر و با درصد بقای $2/20 \pm 55/35$ و کمترین سمیت مربوط به غلظت ۱۰ میکروگرم با درصد بقای بالای ۹۵ درصد به دست آمد. در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت نیز بیشترین سمیت مربوط به غلظت ۴۵۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای $7/84 \pm 77/2$ و کمترین میزان اثردهی مربوط به غلظت ۱۰ میکروگرم/میلی لیتر با درصد بقای بالای ۹۹ درصد به دست آمد و در حقیقت، هیچ گونه سمیت معنی‌داری را نشان نداد.



شکل ۲. منحنی‌های تبدیل فوریه‌ی مادون قرمز: شماره‌ی ۱: پلی‌دوپامین، شماره‌ی ۲: اکسید آهن پوشش داده شده با پلی‌دوپامین و شماره‌ی ۳: اکسید آهن

بحث

در سال‌های اخیر، پژوهشگران با کمک بسیاری از روش‌های فیزیکی و شیمیایی به عنوان تکنولوژی‌های درمانی متناوب و توأم، سعی بر تولید نانوداروها در درمان سرطان کرده‌اند (۱۳). اکسید آهن، به دلیل خاصیت سوپرپارامگنتیک و ویژگی‌های متغیر سطحی، کاندیدای مهمی در درمان سرطان در نظر گرفته می‌شود (۱۴).

هدف از انجام این آزمایش، بررسی میزان سمیت نانوذره‌ی اکسید آهن با پوشش و بدون پوشش بر روی رده‌ی B16-F10 بود. با توجه به نتایج به دست آمده، درصد زیستایی در نانوذره‌ی بدون پوشش در غلظت ۴۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت بوده است که به طور معنی‌داری نسبت به سایر بازه‌های زمانی کاهش نشان داده است و در غلظت حدود ۴۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر در رده‌ی B16-F10 بیشترین سمیت مشاهده گردید. سمیت سلولی بالقوه‌ی نانوذرات، ناشی از Reactive oxygen species یا ROS است (۱۵). بنابراین، استرس اکسیداتیو معیاس مناسبی برای مقایسه‌ی اثرات سمی نانوذرات مختل می‌باشد (۱۶). بیشتر مطالعات ثابت کرده‌اند که نانوذرات اکسید آهن از غلظت ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر به بالا، دارای اثر سمیت بر رده‌های سلولی مختلف می‌باشند (۱۷) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. در نهایت، نتایج این آزمایش ثابت نمود که خاصیت سمیت سلولی نانوذره‌ی اکسید آهن، وابسته به دز و زمان است.

بررسی سمیت سلولی ناشی از نانوذرات مغناطیسی حاوی غلظت‌های مختلفی از آهن نیز در سایر مطالعات نشان داده است که متابولیسم به طور معنی‌داری نسبت به سایر بازه‌های زمانی کاهش نشان داده شده‌ی آهن، سبب تخریب سطح نانوذرات مغناطیسی آهن و به دنبال آن، افزایش غلظت یون آهن و القای استرس اکسیداتیو می‌شود. بر این اساس، به نظر می‌رسد تزریق دز بالای این ذرات از طریق استرس اکسیداتیو، آسیب‌های گسترده‌ای را به همراه دارد (۱۸). همچنین، نانوذرات فلزی در بافت‌های انسانی و کشت‌های سلولی، سمومی را تولید می‌کنند که منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و افزایش فرآورده‌های التهابی همچون سیتوکاین‌ها می‌شود و در نهایت، منجر به مرگ سلولی می‌گردد. نانوذرات بزرگ‌تر توسط میتوکندری و هسته جذب می‌شوند و موجب ایجاد جهش در DNA و تخریب ساختار میتوکندری و حتی مرگ سلول می‌گردند. اندازه و ابعاد، ترکیب شیمیایی، شکل، ساختار سطحی، بار الکتریکی سطح، تراکم و میزان حلالیت، عوامل کلیدی در تعیین میزان سمیت نانوذرات می‌باشند (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر نیز با افزایش غلظت، میزان سمیت افزایش یافته است که با یافته‌های سایر مطالعات هم‌خوانی دارد. در مطالعه‌ی

حاضر، اثر سمیت سلولی نانوذره با پوشش دوپامین بررسی و مشاهده گردید که در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت و با افزایش غلظت، خاصیت سیتوتوکسیکی نانوذره افزایش و درصد زیستایی سلول‌های سرطانی کاهش می‌یابد، اما بین این دو بازه‌ی زمانی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

در مطالعات انجام شده بر روی نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش، مشخص شده است که بسیاری از این نانوذرات اثرات سمی زیادی در سیستم‌های بیولوژیک اعمال می‌کنند. بنابراین، برای کاهش سمیت، افزایش خواص زیست سازگاری و امکان کاربرد این نانوذرات در درمان هدف‌گیری شده، از پوشش‌های مناسب بر سطح آن‌ها استفاده می‌شود (۲۰).

نانوذرات مغناطیسی به صورت ذاتی آب دوست هستند و همین امر، از پراکنده شدن آن‌ها در آب جلوگیری می‌کند و باعث می‌شود آن‌ها به دور هم جمع و آگلومره شوند. با قرار گرفتن نشاسته بر سطح نانوذرات مغناطیسی، نانوذرات در آب پراکنده می‌شوند. پوشش نشاسته، از نانوذرات مغناطیسی در برابر اکسیداسیون محافظت به عمل می‌آورد و پایداری کلئیدی آن‌ها را تقویت می‌کند و همچنین، از ذرات هنگامی که در معرض سیستم بیولوژیکی قرار می‌گیرند، محافظت می‌کند. اصلاح سطوح نانوذرات مغناطیسی نه تنها از آگلومره شدن و اکسیداسیون آن‌ها ممانعت می‌کند؛ بلکه آن‌ها را زیست سازگار نیز می‌کند (۲۱). بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، نانوذره‌ی اکسید آهن با پوشش پلی‌دوپامین خاصیت سمیتی بر روی رده‌ی سلولی نداشته است که در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشته و در غلظت‌های حدود ۵۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر بیشترین اثر سمیت را داشته و درصد بقای حدود ۷۴ درصد را ایجاد کرده است.

تا زمان اجرای این مطالعه، پژوهش‌های چندانی جهت بررسی سیتوتوکسیک نانوذره با پوشش دوپامین صورت نگرفته بود، اما جهت محبوس‌سازی داروهای ضد سرطان در نانوذرات با پوشش‌های پلیمری تحقیقاتی انجام گرفته است که ثابت کرده‌اند که نانوذرات با پوشش در انتقال داروها به محل مورد نظر بسیار مناسب می‌باشند (۲۲).

با توجه به عدم سمیت این نانوذره‌ی بدون پوشش نسبت به حالت دارای پوشش، می‌توان به این نتیجه رسید که پوشش، باعث کاهش سمیت این نانوذره گردیده است.

نتیجه‌گیری نهایی این که با افزایش غلظت و زمان، نانوذره‌ی اکسید آهن بدون پوشش بر روی رده‌ی B16-F10 سمیت داشت که بعد از استفاده از پوشش، این سمیت کاهش یافته است. در نتیجه، می‌توان امیدوار بود که پوشش پلی‌دوپامین باعث افزایش زیست سازگاری نانوذره‌ی اکسید آهن شود و بتوان از آن برای باند کردن دارو و همچنین، به عنوان کتراست در MRI استفاده نمود.

۱۷۲۳۰۵۱۲۹۵۲۰۰۴ می‌باشد و توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان اصفهان مورد حمایت مالی قرار گرفته است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد بیوفیزیک گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی با شماره طرح

References

- Fatahian S, Shahbazi-Gahrouei D, Pouladian M, Yousefi MH, Amiri GR, Noori A. Biodistribution and toxicity assessment of radiolabeled and DMSA coated ferrite nanoparticles in mice. *J Radioanal Nucl Chem* 2012; 293(3): 915-21.
- Shahbazi-Gahrouei D, Moradi KP, Moradi KB, Shahbazi-Gahrouei S. Medical imaging modalities using nanoprobe for cancer diagnosis: A literature review on recent findings. *J Res Med Sci* 2019; 24: 38.
- Shahbazi-Gahrouei D, Moradi Khaniabadi P, Shahbazi-Gahrouei S, Khorasani A, Mahmoudi F. A literature review on multimodality molecular imaging nanoprobe for cancer detection. *Polish Journal of Medical Physics and Engineering* 2019; 25(2): 57-68.
- Pankhurst QA, Thanh NTK, Jones SK, Dobson J. Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *J Phys D Appl Phys* 2009; 42(22): 224001.
- Moradi KP, Shahbazi-Gahrouei D, Malik Shah Abdul Majid A, Suhaimi JM, Moradi KB, Shahbazi-Gahrouei S. In vitro study of SPIONs-C595 as molecular imaging probe for specific breast cancer (MCF-7) cells detection. *Iran Biomed J* 2017; 21(6): 360-8.
- Majewski AP, Schallon A, Jerome V, Freitag R, Muller AH, Schmalz H. Dual-responsive magnetic core-shell nanoparticles for nonviral gene delivery and cell separation. *Biomacromolecules* 2012; 13(3): 857-66.
- Gu X, Zhang Y, Sun H, Song X, Fu C, Dong P. Mussel-inspired polydopamine coated iron oxide nanoparticles for biomedical application. *J Nanomater* 2015; 2015: 154592.
- Liao N, Wu M, Pan F, Lin J, Li Z, Zhang D, et al. Poly (dopamine) coated superparamagnetic iron oxide nanocluster for noninvasive labeling, tracking, and targeted delivery of adipose tissue-derived stem cells. *Sci Rep* 2016; 6: 18746.
- Raeisi F, Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian E, Amiri M, Gholami M. Cytotoxicity effect of pineapple extract on breast cancer cells (4T1). *J Isfahan Med Sch* 2016; 34(394): 946-51. [In Persian].
- Fatahian S, Shahbazi-Gahrouei D, Pouladian M, Yousefi MH, Amiri G, Shahi Z, et al. Preparation and magnetic properties investigation of Fe₃O₄ nanoparticles ^{99m}Tc labeled and Fe₃O₄ nanoparticles DMSA coated. *Dig J Nanomater Bios* 2011; 6(3): 1161-5.
- Martin M, Salazar P, Villalonga R, Campuzano S, Pingarron JM, Gonzalez-Moraa JL. Preparation of core-shell Fe₃O₄@poly(dopamine) magnetic nanoparticles for biosensor construction. *J Mater Chem B* 2014; 2(6): 739-46.
- Butler M. *Animal cell culture and technology*. London, UK: Taylor and Francis; 2004.
- Yan W, Lien HL, Koel BE, Zhang WX. Iron nanoparticles for environmental clean-up: recent developments and future outlook. *Environ Sci Process Impacts* 2013; 15(1): 63-77.
- Mahdavi M, Ahmad MB, Haron MJ, Namvar F, Nadi B, Rahman MZ, et al. Synthesis, surface modification and characterisation of biocompatible magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Molecules* 2013; 18(7): 7533-48.
- Mai TT, Moon J, Song Y, Viet PQ, Phuc PV, Lee JM, et al. Ginsenoside F2 induces apoptosis accompanied by protective autophagy in breast cancer stem cells. *Cancer Lett* 2012; 321(2): 144-53.
- Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 942916.
- Ankamwar B, Lai TC, Huang JH, Liu RS, Hsiao M, Chen CH, et al. Biocompatibility of Fe₃O₄ nanoparticles evaluated by in vitro cytotoxicity assays using normal, glia and breast cancer cells. *Nanotechnology* 2010; 21(7): 75102.
- Khan MI, Mohammad A, Patil G, Naqvi SA, Chauhan LK, Ahmad I. Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles. *Biomaterials* 2012; 33(5): 1477-88.
- Wang LS, Chuang MC, Ho JA. Nanotheranostics--a review of recent publications. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 4679-95.
- Mahmoudi M, Simchi A, Vali H, Imani M, Shokrgozar MA, Azadmanesh K, et al. Cytotoxicity and cell cycle effects of bare and poly(vinyl alcohol)-coated iron oxide nanoparticles in mouse fibroblasts. *Adv Eng Mater* 2009; 11(12): B243-B250.
- Dung TT, Danh TM, Hoa LTM, Chien DM, Duc NH. Structural and magnetic properties of starch-coated magnetite nanoparticles. *J Exp Nanosci* 2009; 4(3): 259-67.
- Gahremani F, Shahbazi-Gahrouei D, Kefayat A, Motaghi H, Mehrgardi MA, Haghjooy Javanmard S. AS1411 aptamer conjugated gold nanoclusters as a targeted radiosensitizer for megavoltage radiation therapy of 4T1 breast cancer cells. *RSC Advances* 2018; 8(8): 4249-58.

In-vitro Toxicity Assessment of Polydopamine-Coated and Uncoated Fe₃O₄ Nanoparticles in Cell Line B16-F10 (Melanoma Cell)

Fahimeh Hossein-Beigi¹, Soheil Fatahian², Daryoush Shahbazi-Gahrouei³

Original Article

Abstract

Background: In recent years, due to their small size and increased surface-to-volume ratio, the use of nanoparticles in diagnosis, drug delivery, and treatment has received much attention. The most important problem in chemotherapy is the limited access to the central part of the tumor due to its low blood flow. The aim of this study was to investigate the toxicity of polydopamine-coated and uncoated Fe₃O₄ nanoparticles on melanoma B16-F10 cells.

Methods: Fe₃O₄ nanoparticles were co-precipitated and coated with dopamine. Then, the effect of cytotoxicity of the coated and uncoated nanoparticles on the B16-F10 cells was studied using MTT assay.

Findings: Uncoated Fe₃O₄ nanoparticles were toxic to B16-F10 at the concentration of 450 µg/ml and duration of 72 hours. Coated nanoparticles had no toxicity at any concentration at the duration of 48 and 72 hours.

Conclusion: The cytotoxic properties of uncoated nanoparticles were significantly higher than the coated nanoparticles. Polydopamine coating shell can reduce the toxicity of the nanoparticles, and it can be used for bonding the drugs, as well as a contrast agent in magnetic resonance imaging (MRI).

Keywords: Iron oxide, Nanoparticles, Polydopamine, Melanoma, Cytotoxicity

Citation: Hossein-Beigi F, Fatahian S, Shahbazi-Gahrouei D. **In-vitro Toxicity Assessment of Polydopamine-Coated and Uncoated Fe₃O₄ Nanoparticles in Cell Line B16-F10 (Melanoma Cell).** J Isfahan Med Sch 2019; 37(533): 762-7.

1- MSc Student, Department of Cellular and Molecular Biology (Biophysics), Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Biology (Biophysics), Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Soheil Fatahian, Email: fatahian@iaufala.ac.ir