



# بررسی اثر اندازه نانوذرات سوپر پارامغناطیسی $Fe_3O_4$ در میدان مغناطیسی متناوب بر سلول سرطانی ریه انسان

زاهد زمردی خانی<sup>۱</sup> | محمدمهدی عطار<sup>۲\*</sup> | علیرضا جهانگیری<sup>۳</sup> | فرزانه براتی<sup>۴</sup>

۱- دانشکده مهندسی، گروه مهندسی برق، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران  
۲- دانشکده مهندسی، گروه مهندسی مکانیک، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران  
۳- دانشکده مهندسی، گروه مهندسی برق، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران  
۴- دانشکده مهندسی، گروه مهندسی مکانیک، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

**چکیده:** هایپرترمیای سیال فرومغناطیسی روش جدیدی برای درمان سرطان است که در آن از نانوذرات سوپر پارامغناطیسی برای گرمادهی به بافت یا تومور استفاده می‌شود. نانوذرات سوپر پارامغناطیسی در بافت سرطانی تزریق یا پخش می‌شوند و در یک میدان مغناطیسی متناوب قوی قرار می‌گیرند. هدف از این مطالعه، بررسی دقیق تأثیر اندازه و دوز نانوذرات بکاررفته، فرکانس میدان مغناطیسی و همچنین، شدت میدان مغناطیسی بر سلول‌های سرطان ریه انسان است. در این مطالعه، پس از کشت سلول‌های سرطان ریه، سه قطر متفاوت از نانوذرات سوپر پارامغناطیسی  $Fe_3O_4$  در سه فرکانس متفاوت از میدان مغناطیسی و با سه شدت میدان مغناطیسی متفاوت مورد آزمایش قرار گرفتند. از نانوذرات در چهار غلظت در آزمایش‌ها استفاده شد. برای تولید میدان مغناطیسی مورد نیاز سخت افزار لازم طراحی و ساخته شد. با بررسی اهمیت پارامترهای متفاوت در فرایند کشتن سلول‌های سرطانی از جمله فرکانس تشدیدسیم پیچ، اندازه نانوذرات، غلظت نانو ذرات و شدت میدان مغناطیسی، ما تمایل داریم که این پارامترها نقشی محوری در اختلاف درجه حرارت در فرایند هایپرترمیای داشته باشند. در حالی که این اختلاف دما برابر با  $5 \pm 0.5^\circ C$  باشد، می‌تواند سلول‌های سرطانی A-549 را از بین ببرد. استفاده از نانوذرات  $Fe_3O_4$  با اندازه ۱۰ نانومتر در غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میکروگرم بر لیتر در فرکانس ۱۸۰ کیلوهرتز قادر به کشتن ۹۸ درصد سلول‌های سرطانی است.

**واژگان کلیدی:** نانوذرات سوپر پارامغناطیسی، میدان مغناطیسی، سرطان ریه، هایپرترمیای،  $Fe_3O_4$

\*d.attar.iauh@gmail.com

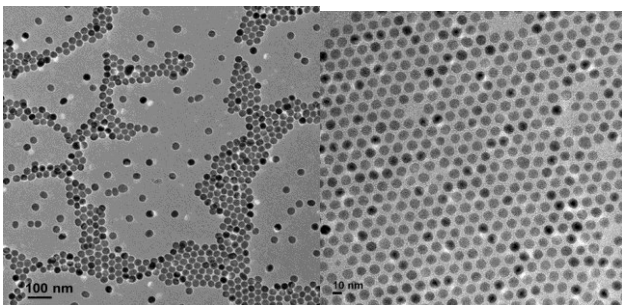
پارامغناطیس نیز برای این امر نتایج بسیار مفید و قابل قبولی داشته است [۲، ۳]. بهترین ویژگی نانو ذرات، کنترل آن بوده که با تزریق هدفمند این نانوذرات در داخل بافت می‌توان به نتیجه مطلوب رسید. این ذرات در اصل فرومغناطیس بوده که در نهایت ویژگی پارامغناطیس از خود نشان می‌دهند و چنانچه به صورت تعلیق مورد استفاده قرار گیرند، از خود تولید حرارت می‌کنند. دمای طبیعی بدن انسان حدود  $37^\circ C$  است. در این روش دمای یک

## ۱- مقدمه

یکی از روش‌های جدید درمان تومور سرطانی روش حرارت دهی آن با استفاده از سیال مغناطیسی است که در آن از حرارت ایجادشده با نانوذرات سوپر پارامغناطیس در حضور میدان مغناطیسی متناوب برای تولید حرارت و نابودی سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود [۱]. استفاده از نانوذرات سوپر

دنبال سایز بهینه در رنج اشاره شده بودند. آن‌ها هفت غلظت 5/6، 6/5، 8/9، 11/3، 13/7، 19/7 و 27/5 را انتخاب کردند و در شرایط یکسان تحت اثر میدان قراردادند. پژوهشگران دنبال اندازه‌هایی از نانوذرات بودند که نخست دمای آن به یک‌باره از ۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش نیابد و دوم، مقدار افزایش دما در گستره ۴۲ الی ۴۳ درجه سانتی‌گراد باشد [۹]. در پژوهش دیگری محققان ابراز داشتند که بهترین غلظت در حدود ۱۱ نانومتر است [۹، ۱۰]. شکل ۱ نانو ذرات  $Fe_3O_4$  را دو اندازه ۱۰ و ۱۰۰ نانومتر نشان می‌دهد.

در این پژوهش، برای بررسی اثر حرارتی نانوذرات سوپر پارامغناطیس با سه سایز ۵، ۱۰ و ۲۰ نانومتر و در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در نظر گرفته شده است. سه فرکانس ۸۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ کیلوهرتز برای انجام آزمایش‌ها انتخاب شده که در سه شدت میدان مغناطیسی ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلو آمپر بر متر در آزمایش‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرند که تاکنون در مقالات متفاوت از این منظر مورد بررسی قرار نگرفته است.



شکل ۱: شکل نانو ذرات  $Fe_3O_4$  در دو اندازه ۱۰ و ۱۰۰ نانومتر

## ۲- توان حرارتی تولیدشده با نانوذرات سوپر پارامغناطیس در میدان مغناطیسی متناوب

در این بخش اتلاف انرژی ناشی از حضور نانو ذرات در حضور میدان مغناطیسی متناوب محاسبه شده است. در ابتدا، به قوانین کلی حاکم بر میدان مغناطیسی اشاره می‌شود. قانون فارادی حکم می‌کند تغییرات شار مغناطیسی سبب ایجاد میدان الکتریکی می‌شود [۱۱]:

تومور را بدون آسیب به نواحی سالم بدن به حدود  $42^{\circ}C$  تا  $45^{\circ}C$  می‌رساند تا بتوان از گرمای ایجادشده بر فعالیت بافت تومور استفاده کرد، زیرا گرما باعث از بین رفتن و عدم رشد بافت می‌شود [۴].

روش درمان به صورت تزریق موضعی این نانوذرات به تومور و قرار دادن آن در یک میدان مغناطیسی متناوب است. این ذرات با قرار گرفتن در یک میدان مغناطیسی شروع به لرزش کرده که این لرزش با مکانیسم اصطکاک داخلی موجب تولید حرارت می‌شود که از این گرادیان دمای ایجادشده برای نابودی سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. گرمای ایجادشده به وسیله این روش به مواردی همچون مدت‌زمان فرایند گرمایش، نوع و قطر نانوذرات، غلظت استفاده‌شده نانوذرات و شدت جریان میدان مغناطیسی بستگی دارد [۵، ۶].

یکی از موارد مورد بحث در ارتباط با افزایش دمای تومور با نانوذرات، انرژی تومور بعد از مغناطیسی کردن آن است. نانو ذرات مغناطیسی اکسیدهای آهن به دلیل ویژگی‌های مناسب مغناطیسی و نسبت سازگاری با بدن و همچنین، قیمت مناسب یکی از پرکاربردترین مواد برای این روش هستند. این نانوذرات شامل  $Fe_2O_3$  یا مگنتیک و همچنین  $Fe_3O_4$  یا مگهمیت هستند [۷، ۸]. پژوهشگران در پی یافتن اثرات شگرف نانوذرات پایه آهن هستند. یکی از این اثرات نداشتن ریسک انعقاد خون و عدم آسیب‌رسانی به سلول‌های خونی فاگوسیتوز است. شاید یکی از موارد مهم قابل ذکر در ارتباط با بافت تومور نشت عروق خونی در داخل آن‌ها است که از این رخداد برای انتقال این نانوذرات به بافت هدف استفاده می‌کنند. همان‌طور که اشاره شد، نانوذرات به‌خوبی در جریان خون قرار گرفته و موجب انعقاد نمی‌شوند. پژوهشگران چندین بار سازگاری نانوذرات با بدن موجود زنده را مورد بررسی قرار داده‌اند. البته تعدادی از آن‌ها به دنبال حداکثر دوزی بودن که می‌تواند برای بدن موجود زنده اثرات زیان باری به‌جا بگذارد [۵].

در یک پژوهش، با تحلیل دقیق رفتار نانوذرات در میدان مغناطیسی متناوب سعی داشتند بهترین سایز (قطر نانوذرات) را برای نانو ذرات پایه آهن بیابند. که نانوذرات با قطر نامی بین ۵/۵ الی تا ۲۸ نانومتر را مورد بررسی قراردادند. این پژوهشگران، به

حرارت دهی با نانو ذرات مغناطیسی، نیازمند یک میدان مغناطیسی متناوب و قوی است. ایجاد چنین میدان متناوبی با خصوصیات رایج مستلزم سخت‌افزار خاصی است. در این بخش مختصری در ارتباط با ساخت و طراحی این سخت‌افزار ارائه خواهد شد.

از آنجاکه توزیع یکنواخت ذرات در بافت، سخت‌تر از توزیع یکنواخت میدان در فضا است، بایستی میدان مغناطیسی اعمال شده به بافت همواره یکنواخت باشد. به عبارتی یکنواختی میدان مغناطیسی در فرآیند حرارت دهی بافت بسیار مهم است. همچنین لازم است نسبت به سایر خصوصیات فنی و پزشکی اعمال کننده میدان مغناطیسی نظیر دقت و صحت شدت میدان و فرکانس آن، ایمنی و حجم قابل حصول میدان تأمل شود [۱۲].

شدت میدان مغناطیسی لازم برای فرایند هایپرترمیا نسبت به سایر روش‌های مرسوم بالاتر است. دامنه میدان مغناطیسی برای حرارت دهی نانو ذرات سوپر پارامغناطیس  $KA/m$  ۱۵ یا  $0/018$  تسلا است [۱۳]. این مختصات سبب شده که ساختار کوئل دستگاه تغییرات زیادی داشته باشد به‌عنوان مثال نوع هسته آن تنها می‌تواند از هسته‌های فریتی باشد زیرا سایر مواد مغناطیسی قابل استفاده در هسته در کسری از چنین میدانی اشباع می‌شوند. برای ایجاد این میدان مغناطیسی بایستی از یک کوئل با تعداد سیم‌پیچ کم و شدت جریان الکتریکی بالاتر استفاده کرد. برای تولید جریان الکتریکی زیاد متناوب نیازمند طراحی و ساخت اینورتر هستیم [۱۴].

اینورترهای رزونانسی یک‌شکل موج خروجی دلخواه را با استفاده از تعداد معینی منابع DC تولید می‌کنند. به‌طوری‌که یک‌شکل موج ولتاژ پله‌ای شبه سینوسی در خروجی پدید می‌آید. در سال‌های اخیر به‌طور چشمگیری اینورترهای رزونانسی مورد توجه قرار گرفته است و به‌طور وسیعی در کاربردهای عملی ولتاژ بالا و فشارقوی مورد استفاده قرار گرفته است. که این از ویژگی‌های اصلی اینورترهای رزونانسی است که می‌تواند در شرایط ولتاژ و توان بالا مورد استفاده قرار گیرند. همچنین، اینورترهای رزونانسی کیفیت ولتاژ خروجی را نیز با توجه به تعداد پله تولیدی بهبود می‌بخشند و سازگاری الکترومغناطیسی بهتری نیز دارند [۱۵، ۱۶]. اینورترهای رزونانسی در سیستم‌های قدرت نقش مهمی در تحویل توان به

$$\nabla \times E = -d \frac{dB}{dt} \quad (۱)$$

چنانچه معادلات ماکسول را از منظر بقای انرژی بازنویسی شود می‌توان نوشت:

$$\nabla \cdot (E \times H) + \frac{d}{dt} \left( \frac{1}{2} \mu H^2 + \frac{1}{2} \varepsilon E^2 \right) + E \cdot J = 0 \quad (۲)$$

در این رابطه عبارت  $\nabla \cdot (E \times H) + \frac{d}{dt} \left( \frac{1}{2} \mu H^2 + \frac{1}{2} \varepsilon E^2 \right)$  و  $E \cdot J$  به ترتیب معرف چگالی توان موج الکترومغناطیس بوده، تغییرات انرژی میدان مغناطیسی ذخیره شده در فضا، تغییرات انرژی میدان الکتریکی و تلفات اهمی در فضا است. اتلاف توان در نانو ذرات سوپر پارامغناطیس را به شکل دیفرانسیل انرژی میدان مغناطیسی مستتر است که به صورت زیر نوشته می‌شود.

$$\delta V = H \cdot \delta B \quad (۳)$$

با در نظر گرفتن رابط مابین میدان مغناطیسی با شار مغناطیسی می‌توان نوشت:

$$B = \mu_0 (1 + \chi) \times H = \mu_0 H + \mu_0 M \quad (۴)$$

$\mu_0$  ثابت گذردهی در خلأ بوده و در سیستم متریک برابر است با  $4\pi \times 10^{-7}$  و  $\chi$  مغناطش پذیری مواد و  $M$  مغناطش مواد است و هر دو عددی مختلط است:

$$\chi = \chi' - i \chi'' \Rightarrow \delta V = \mu_0 (1 + \chi) \times H \cdot \delta B \quad (۵)$$

با ادغام روابط و حل انتگرال رابطه (۵) برای یک سیکل کامل می‌توان نوشت:

$$\Delta V = 2\mu_0 H_0^2 \chi'' \int_0^{2\pi/\omega} \sin^2(\omega t) dt = \pi \mu_0 H_0^2 \chi'' \quad (۶)$$

پس، توان تلف شده به ازای  $f$  سیکل در واحد زمان برابر خواهد بود:

$$P = f \Delta V = 2\mu_0 H_0^2 \chi'' f \quad (۷)$$

می‌شود تغییرات دما در نانو ذرات سوپر پارامغناطیس ارتباط مستقیمی با فرکانس میدان مغناطیسی  $f$  و همچنین، شدت میدان مغناطیسی  $H$  دارد.

## ۱-۲- میدان مغناطیسی

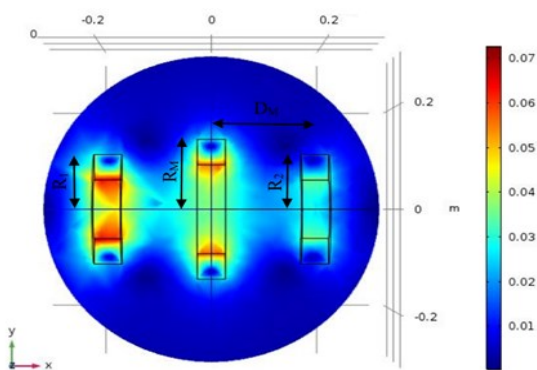
دایره‌های با شعاع و تعداد دور سیم‌پیچی دایروی یکسان تشکیل می‌شود. این دو سیم‌پیچ به صورت هم‌محور قرار گرفته و با عبور جریان الکتریکی  $I$  از آن‌ها، برآیند میدان مغناطیسی این دو سیم‌پیچ در حوالی نقطه میانی آن‌ها به صورتیکه میدان تقریباً یکنواخت و موازی با محور این سیم‌پیچ‌ها خواهد بود در هلمهولتز دایروی برای داشتن بیشترین مقدار یکنواختی، فاصله دو سیم‌پیچ از یکدیگر باید برابر با شعاع آن‌ها باشد. با قرار دادن یک حلقه میانی می‌توان شدت میدان را در مرکز کوئل تقویت کرد. شدت میدان مغناطیسی در کوئل هلمهولتز از رابطه زیر به دست می‌آید [۱۹، ۲۰]:

$$B(z) = \frac{\mu_0 N I R^2 h g^2}{2(R^2 + (z-h)^2)^{\frac{3}{2}}} \quad (۸)$$

رابطه بالا در کوئل هلمهولتز اصلاح شده به صورت زیر درمی‌آید:

$$B(z) = \frac{\mu_0 N I R^2}{2} \left\{ \begin{array}{l} k [R^2 + Z^2]^{\frac{3}{2}} \\ + [R^2 + (z+h)^2]^{\frac{3}{2}} \\ + [R^2 + (z-h)^2]^{\frac{3}{2}} \end{array} \right\} \quad (۹)$$

مقادیر بهینه در کوئل هلمهولتز اصلاح شده در جدول ۱ آورده شده است. کوئل هلمهولتز اصلاح شده شبیه‌سازی شده در نرم‌افزار کامسول در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است.

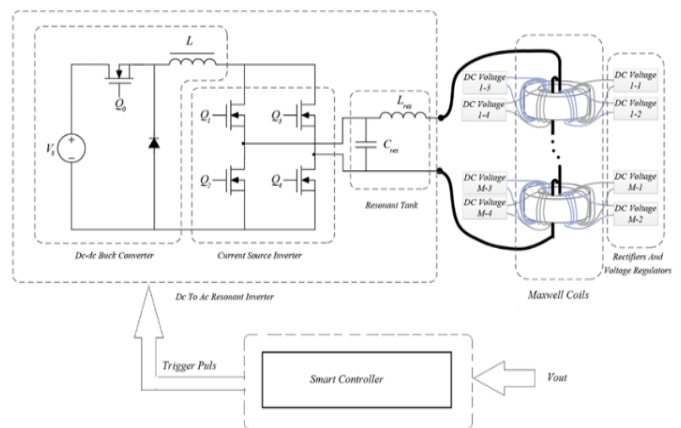


شکل ۴: شبیه‌سازی کوئل هلمهولتز بهبودیافته در ماکسول

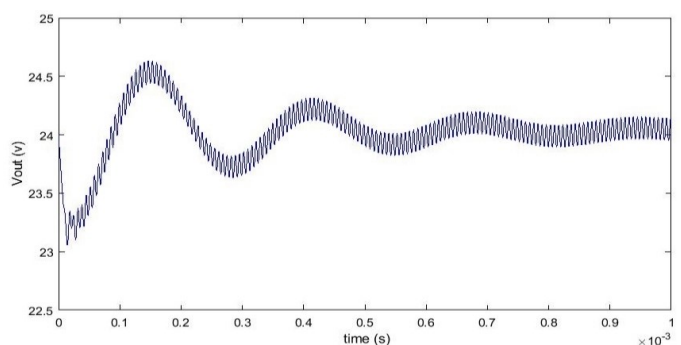
عده‌دارند. این نوع اینورترها دارای مزایای ذاتی از جمله توانایی عملکرد تحت ولتاژ و توان بالا، بهبود کیفیت شکل موج خروجی و انعطاف‌پذیری هستند که موجب جذب بیشتر آن‌ها در صنعت شده است [۱۷، ۱۸]. شکل ۲ اینورتر طراحی شده برای انجام آزمایش‌ها را نشان می‌دهد. همچنین، در شکل ۳ شکل موج ولتاژ خروجی اینورتر نشان داده شده است.

جدول ۱- مقادیر بهینه کوئل هلمهولتز

Radius	Relation	Size
$R_1$	$\sqrt{4/7}R_M$	100 mm
$R_2$	$\sqrt{4/7}R_M$	100 mm
$D_M$	$\sqrt{3/7}R_M$	132.3 mm
$R_M$	$\sqrt{4/7}R_1$	86.6 mm



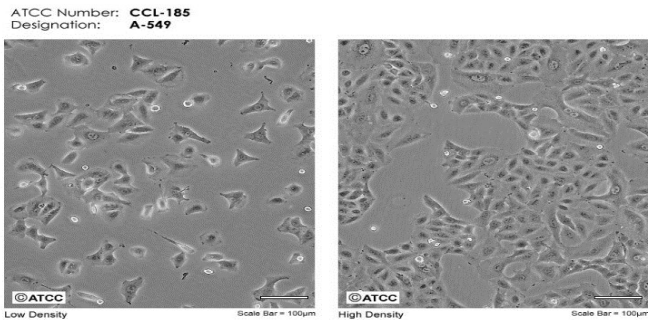
شکل ۲: مدار اینورتر رزونانسی



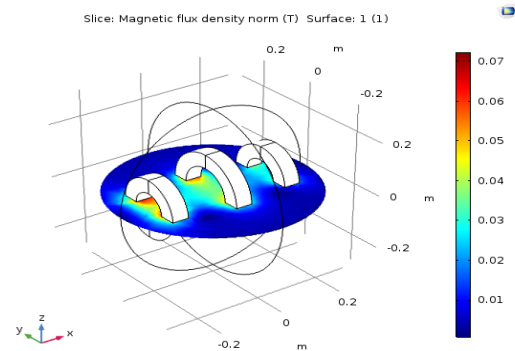
شکل ۳: شکل موج ولتاژ خروجی اینورتر رزونانسی

## ۲-۲- طراحی کوئل

کوئل هلمهولتز وسیله‌ای است که برای ایجاد میدان مغناطیسی یکنواخت مورد استفاده قرار می‌گیرد. هلمهولتز از دو سیم‌پیچ



شکل ۷: نمایی از سلول‌های سرطان انسانی ریه در دو چگالی متفاوت



شکل ۵: شبیه‌سازی کویل هلم هولتز بهبودیافته در ماکسول

### ۳- روند آماده‌سازی سلول‌های سرطانی برای انجام آزمایش‌ها

به‌منظور انجام آزمایش‌ها رده سلول سرطانی ریه انسانی A-459 از انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت RPMI1640، که حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum) و ۲٪ آنتی‌بیوتیک‌های پنسیلین-استرپتوماسین است تکثیر داده شدند. تعداد سلول‌ها با تریپان بلو شمارش شده و به تعداد ۱۰۴ سلول به‌طور یکسان در پتری دیش‌های با قطر دهانه ۳ سانتی‌متر کشت داده شدند. در ادامه به مدت یک شبانه‌روز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO<sub>2</sub> پنج درصد و ۹۵ درصد رطوبت قرار داده شدند تا به رشد کافی نیز برسند. شکل ۶ نمایی از انکوباتور را نشان می‌دهد [۲۱].



شکل ۶: نمایی از انکوباتور.

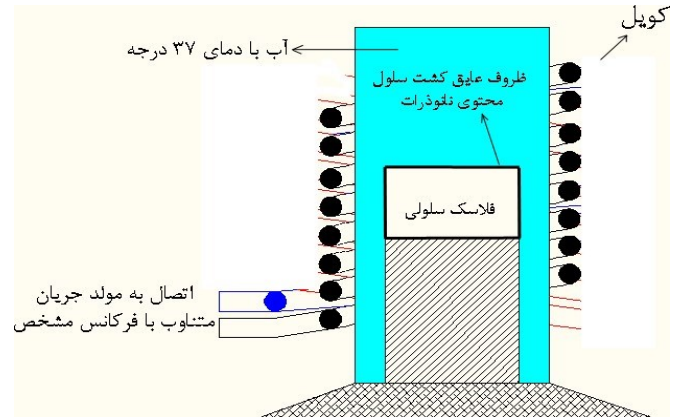
تصویری از رده سلول سرطان انسان بدون نانوذره در شکل ۷ نشان داده شده است.

برای بررسی اثر حرارتی نانوذرات سوپر پارامغناطیس با سه اندازه ۵، ۱۰ و ۲۰ نانومتر روی سلول‌ها، ابتدا آزمایش‌هایی بر محیط کشت سلولی بدون سلول انجام گرفت. به همین منظور، غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات در نظر گرفته شده، آماده کرده و در پتری دیش‌هایی با قطر ۳ سانتی‌متر حاوی ۳ سی سی محیط کشت سلولی قرار داده می‌شود. سه فرکانس ۸۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ کیلوهرتز برای انجام آزمایش‌ها انتخاب شده و برای هر غلظت، هر فرکانس و هر نانوذره دو نمونه/تکرار آماده می‌شود. مدت‌زمان انجام تست ۳۰ دقیقه انتخاب می‌شود. برای اندازه‌گیری دما از ترمومتر کالیبره شده، استفاده می‌شود. اندازه‌گیری دما به‌طور آبی و لحظه‌ای ممکن نیست زیرا میدان مغناطیسی تولیدشده با کویل عملکرد مدارات الکترونیکی بدون محافظ را مختل می‌کند. بنابراین فاصله زمانی ۵ دقیقه انتخاب می‌شود تا بتوان دما را با خاموش کردن لحظه‌ای مبدل به دست آورد. دمای سلول‌های انسانی باید در محدوده دمای طبیعی بدن باشد پس، بایستی شرایطی فراهم کرد که اثر عوامل طبیعی بی‌اثر و یا کم اثر شود. برای این منظور دو راه پیشنهاد می‌شود که درراه نخست ظروف کشت سلولی ابتدا کامل عایق شده و دمای محیط را بر ۳۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم کرده و سپس، پتری دیش در داخل کویل قرار می‌گیرد. این راه‌حل دو مشکل دارد که یکی سخت بودن شرایط کاری در این دما برای انسان است و دیگری گرم کردن مبدل طراحی شده به دلیل دمای بالای محیط است. درراه حل دوم در داخل کویل محفظه‌ای عایق تعبیه شده و در آن مقداری آب با دمای ۳۷ درجه سلسیوس ریخته می‌شود. این محفظه مجهز به یک المنت گرمایی با یک ترموستات بوده که دمای آب را دائم روی ۳۷

به دلیل عدم دستیابی به بافت زنده و یا مرده انسان، بهترین گزینه استفاده از سلول‌های سرطان انسانی است که در محیط آزمایشگاهی کشت داده شده‌اند. به همین دلیل، در این رساله از رده سلول سرطانی ریه انسان A-549 برای انجام آزمایش‌ها استفاده شد. رده سلولی آدنوکارسینوما اپیتلیال ریه انسانی، A-549 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سلول‌ها در محیط کشت در انکوباتور با شرایط  $CO_2$  ۵٪، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۵٪ کشت داده شدند. پس از ۴۸ ساعت محیط کشت تعویض و سلول‌ها پاساژ شد.

سه دسته نانوذره  $Fe_3O_4$  با متوسط قطرهای ۵، ۱۰ و ۲۰ نانومتر از برای انجام آزمایش‌ها انتخاب می‌شود. دوزهای ۱۶۰، ۸۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر سه نانوذره انتخاب شده و به محیط کشت سلولی افزوده می‌شود. برای تثبیت نانوذرات در محیط برای یک شبانه‌روز پتری دیش‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند.

درجه سانتی‌گراد ثابت نگه می‌دارد. ظروف کشت سلولی هم به نحوی عایق می‌شود که آب به داخل آن نفوذ نکند. در راه‌حل دوم، نیازی به تنظیم دمای محیط روی ۳۷ درجه سانتی‌گراد نیست. طرح‌واره‌ایی از نحوه انجام آزمایش‌ها بر سلول‌های سرطانی در شکل ۸ نشان داده شده است.



شکل ۸: طرح‌واره‌ایی از نحوه انجام آزمایش‌ها بر سلول‌های سرطانی.

مقادیر افزایش دما با دوزهای اشاره شده در بازه ۳۰ دقیقه در فصل بعدی آورده شده است. با در نظر داشتن این مطلب که در بیشتر مراجع از اختلاف دمای ۵ درجه سانتی‌گراد برای موفق آمیز بودن آزمایش‌ها سخن به میان آورده‌اند. پس، دوزهایی که توانایی تولید اختلاف دمای بیشتر از ۵ درجه سانتی‌گراد را هستند انتخاب می‌شوند.

در بیشتر مراجع، اثر میدان الکترومغناطیس با فرکانس برق شهری (۵۰ هرتز) بر رشد و بقای سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفته و در هیچ مرجعی اثر میدان‌های الکترومغناطیس با رنج فرکانس‌های ۶۰ الی ۱۸۰ کیلوهرتز مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین، بررسی دقیق اثر حرارتی نانوذرات بدون بررسی دقیق اثر میدان‌های الکترومغناطیس مقدور نیست. پس لذا سه فرکانس ۸۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ کیلوهرتز انتخاب شده و نمونه سلول سرطانی انسانی ریه بدون نانوذره برای مدت ۳۰ دقیقه در داخل کوئل با فرکانس‌های اشاره شده، قرار داده شد. برای بررسی اثر میدان‌های الکترومغناطیس بر سلول‌ها از روش *MTT* استفاده خواهد شد که نتایج حاصل از آن ارائه خواهد شد.

## ۴- نتایج و بحث

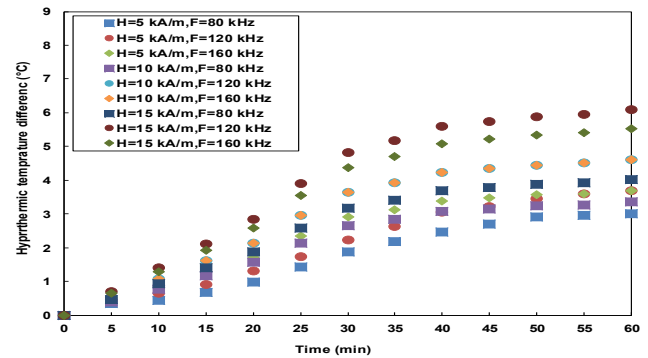
سونیک شده و اجازه داده می‌شود که نانوذرات توسط سلول‌ها جذب شوند. درنهایت به مقدار ۲۰ عدد رده سلول سرطانی در داخل پتری دیش‌هایی با قطر ۳ سانتیمتر سلول کشت داده می‌شود. پتری دیش‌های حاوی سلول‌های سرطانی باید در دمای ثابت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داشته باشند. در ادامه، با انجام آزمایش‌ها باید دوز مناسب، شدت میدان لازم و همچنین اندازه مناسب ذرات که بتواند تمام سلول‌ها را از بین ببرد و در حالت عادی سمیتی هم نداشته باشد، مشخص شود. برای انجام آزمایش‌ها سخت‌افزاری برای تولید میدان مغناطیسی متناوب طراحی و ساخته شده است. در انجام آزمایش‌ها چهار پارامتر مهم مورد بررسی و آزمایش قرار گرفت:

- شدت میدان مغناطیسی
- فرکانس میدان الکترومغناطیسی
- دوزهای متفاوت نانو ذرات
- اندازه نانو ذرات

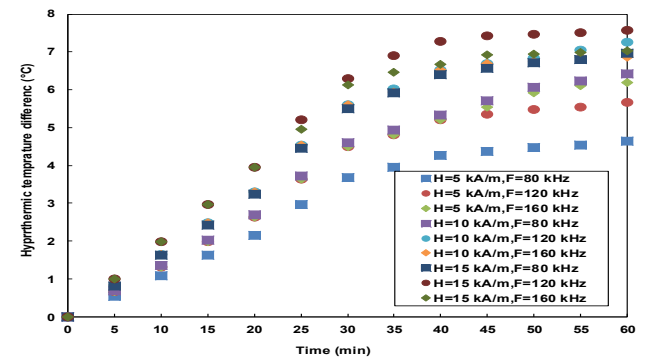
یکی از عواملی که بر رشد و حیات سلول‌ها اثر می‌گذارد میدان مغناطیسی متناوب است. دانشمندان مطالعات بسیاری برای تأثیر میدان مغناطیسی بر سلول‌ها داشته‌اند. برای بررسی تأثیر میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس‌های بالابر سلول‌های سرطانی، پیش از افزودن نانوذرات مغناطیسی به سلول‌های سرطانی ظروف حاوی آن‌ها را به مدت یک ساعت در میدان مغناطیسی با فرکانس‌های ۳۲۰، ۱۶۰، ۱۲۰، ۸۰، ۵۰ و ۴۰ کیلوهرتز قرار دادیم.

سپس، با روش تریپان بلو سلول‌های زنده را شمارش کردیم. هیچ اثری از مرگ سلول‌های سرطانی در ظروف مشاهده نشد. بنابراین می‌توان گفت در گستره فرکانسی بین ۵۰ الی ۶۴۰ کیلوهرتز و با حداکثر شدت میدان ۱۵ کیلو آمپر بر متر میدان مغناطیسی هیچ اثر مخربی بر سلول‌ها ندارد.

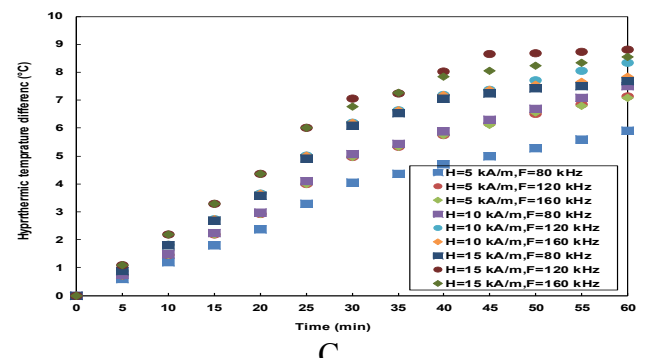
سه دسته نانوذره  $Fe_3O_4$  با متوسط قطرهای ۵، ۱۰ و ۲۰ نانومتر از برای انجام آزمایش‌ها انتخاب می‌شود. دوزهای ۸۰، ۴۰، ۱۰ و ۱۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر سه نانوذره انتخاب شده و به محیط کشت سلولی افزوده می‌شود. برای تثبیت نانوذرات در



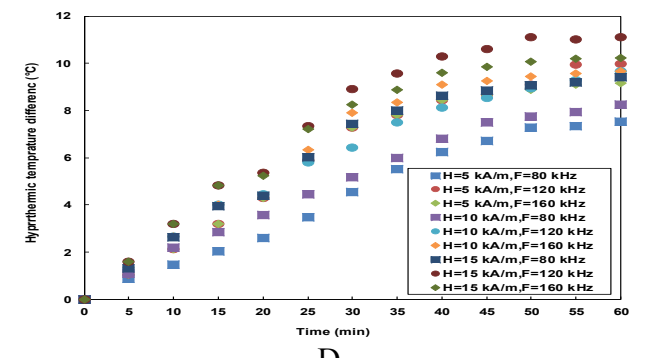
A



B



C

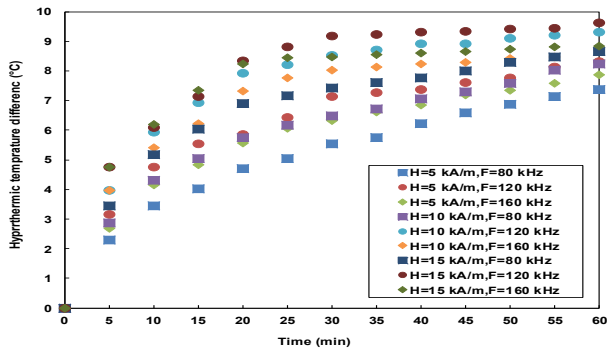


D

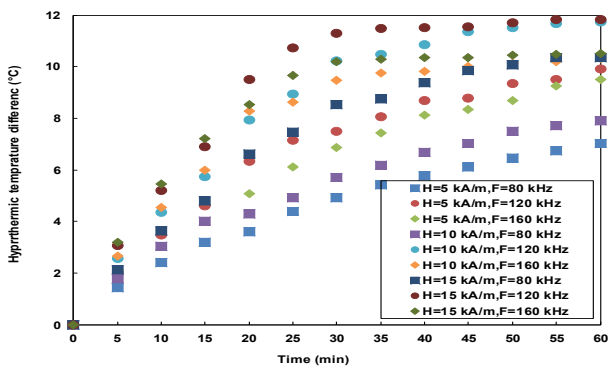
شکل ۹: اختلاف دمای ایجادشده از دمای اولیه ۳۷ درجه سانتی‌گراد در فرکانس‌های و شدت میدان و دوزهای متفاوت نانوذره پایه آهن با قطر متوسط ۵ نانومتر

در ادامه، بایستی فرصت داد که نانوذره تزریق شده با سلول‌ها جذب شوند. به همین منظور، پتری دیش‌های حاوی نانوذرات

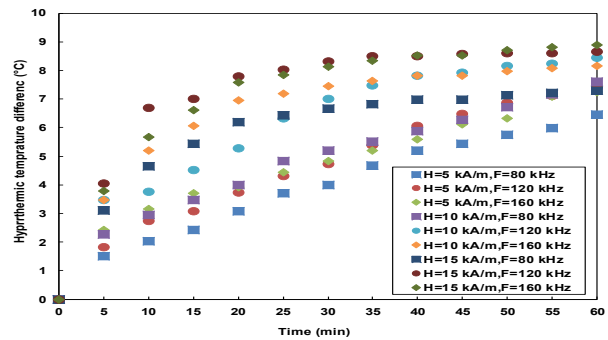
محیط برای یک شبانه‌روز پتری دیش‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند.



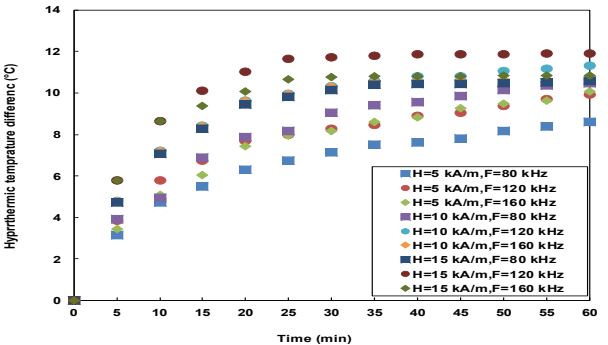
A



B

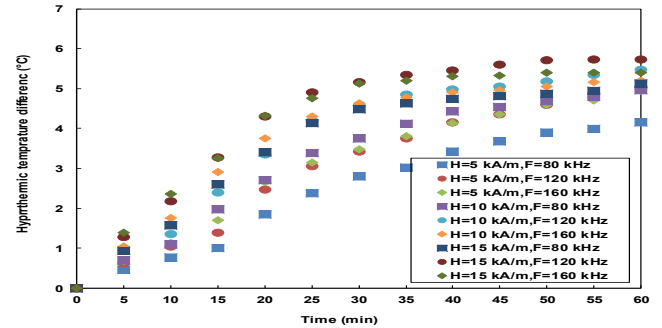


C

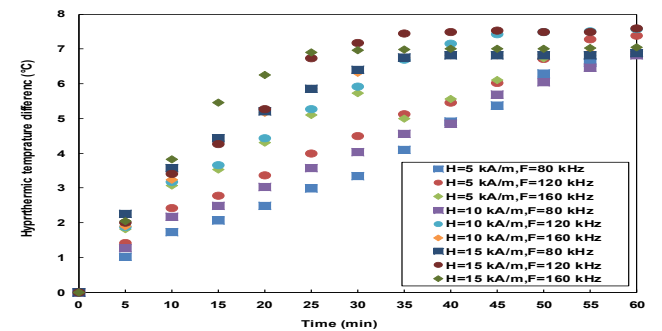


D

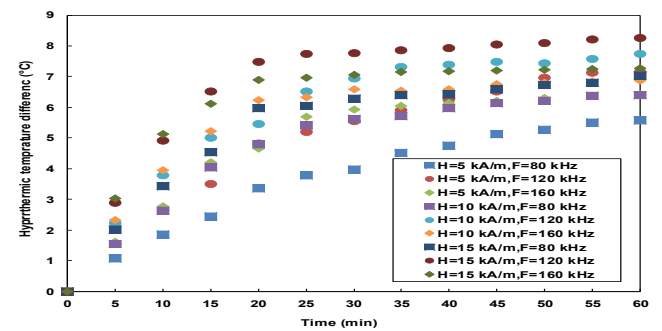
شکل ۱۱: اختلاف دمای ایجاد شده از دمای اولیه ۳۷ درجه سانتی‌گراد در فرکانس‌های و شدت میدان و دوزهای متفاوت از نانوذره پایه آهن با قطر متوسط ۲۰ نانومتر



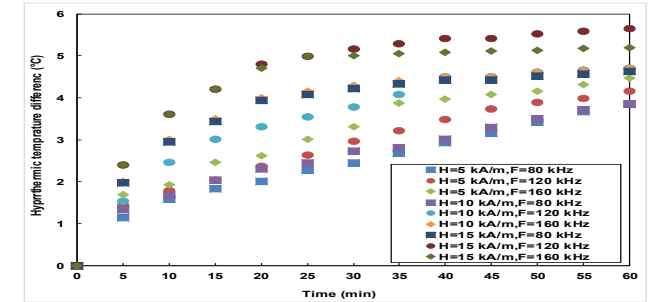
A



B



C



D

شکل ۱۰: اختلاف دمای ایجاد شده از دمای اولیه ۳۷ درجه سانتی‌گراد در فرکانس‌های و شدت میدان و پایه آهن با قطر متوسط ۱۰ نانومتر



ظروف حاوی سلول سرطانی به همراه نانوذرات در کویل ساخته شده قرار می‌گیرند.

مقدار افزایش دما هر ۵ دقیقه اندازه‌گیری می‌شود. برای اندازه‌گیری دما از یک ترمومتر نوری استفاده شده است. از آنجا که اندازه‌گیری دمای تک‌تک سلول‌ها امکان‌پذیر نیست، دمای متوسط ظرف حاوی سلول‌ها اندازه‌گیری می‌شود. گستره انجام آزمایش یک ساعت در نظر گرفته شده است. این روال برای تک‌تک ظروف در نظر گرفته می‌شود. شیب افزایش دما با افزایش شدت میدان افزایش می‌یابد و دلیل آن بسیار روشن است. از طرف دیگر دیده می‌شود که با زیاد شدن فرکانس میدان مغناطیسی شیب افزایش دما افزایش می‌یابد ولی این مقدار این افزایش از مقدار افزایش شدت میدان مغناطیسی کمتر است. این مورد تقریبی در همه آزمایش‌ها مشاهده شد. همچنین، با بررسی دقیق نتایج به نظر می‌رسد که با گذر زمان مقدار شیب افزایش دما از دمای اولیه ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا حدی کاهش می‌یابد، این روند تقریباً در تمامی دوزها دیده می‌شود.

همان‌طور که اشاره شد، شیب افزایش دما با گذر زمان کاهش می‌یابد که یکی از مهم‌ترین دلایل آن وجود دمای کوری پایین نانو ذرات است. خاصیت مغناطیسی نانو ذرات با رسیدن به دمای کوری کاهش می‌یابد. دمای کوری در واقع دمایی است که نانو ذرات به‌طور کامل خاصیت مغناطیسی خود را از دست داده و در معرض میدان‌های الکترومغناطیس دیگر تولید حرارت نمی‌کنند.

نانو ذرات سوپر پارامغناطیس حاضر با در نظر داشتن این مطلب که بیشتر مصارف درمانی دارند با دمای کوری حدودی ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد ساخته شده‌اند. پس، با نزدیک شدن به این رنج دما مقدار افزایش دما کاهش می‌یابد. از دیگر دلایل کاهش شیب افزایش دما، می‌توان به افت اندک شدت میدان مغناطیسی در داخل کویل اشاره کرد. با گذر زمان به دلیل گرم شدن ماسفت‌ها عملکرد آن‌ها دچار کاهش محسوسی می‌شود. از طرف دیگر، با گذر جریان از داخل سیم‌پیچ مقداری حرارت ایجاد می‌شود که با بالا رفتن دمای کویل اندوکتانس آن به همین ترتیب بالا رفته که لاجرم باعث کاهش سطح میدان مغناطیسی می‌شود.

در تمامی نمودارها، با افزایش شدت میدان مغناطیسی شیب افزایش دما تا رسیدن به دمای کوری همراه است. از آنجا که

در شدت میدان ۱۵ کیلو آمپر بر متر با اندازه نانوذره ۲۰ نانومتر شیب افزایش دما تا رسیدن به دمای کوری بسیار زیاد هست، در نتیجه از گزینه‌های انتخاب در درمان خارج می‌شود.

با بررسی شکل‌های بالا دیده شد، که نانوذره با قطر ۱۰ نانومتر برای مبدل و کویل یکسان، تغییر دمای مناسب‌تری را در خلال یک ساعت ایجاد می‌کند. براساس مراجع با رسیدن به دمای  $42 \pm 0.5$  سلول‌ها آسیب‌دیده و دیگر نمی‌توانند روند رشد و تکثیر قبلی را دنبال کنند.

با بررسی شکل‌های ۱۰ الی ۱۲، به نظر می‌رسد که در فرکانس کاری ۱۲۰ کیلوهرتز با شرایط فعلی بهترین مقدار افزایش دما در خلال یک ساعت در فرکانس کاری ۱۲۰ کیلوهرتز دیده می‌شود پس به نظر می‌رسد انجام آزمایش‌ها با فرکانس ۱۲۰ کیلوهرتز بهترین نتیجه را در پی خواهد داشت.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، دوزهای متفاوتی از هر سه دسته نانو ذرات توانایی کشتن تمامی سلول‌ها را خواند داشت. اما سؤال اساسی دقیقی اینجا است که از بین تمامی دوزهایی که این توانایی را دارند کدام دور بهترین است؟

با بررسی مراجع متفاوت و طبیعت سلول‌های سرطانی می‌توان اشاره کرد که سلول‌های سرطانی همیشه توسط سلول‌های سالم در برگرفته شده‌اند. پس بایستی دقت کرد که دقیقاً دمای سلول‌های سرطانی را بالا برد و نه همه سلول‌ها، پس به نظر می‌رسد استفاده از دوزهای بالا خطر انتقال این نانو ذرات را به بافت‌های مجاور و سلول‌های مجاور افزایش می‌دهد. بافت و یا سلول‌ها مشابه دیگر اجسام به طرق متفاوت حرارت را منتقل می‌کنند. کلیدی‌ترین مکانیسم انتقال حرارت در بافت هدایت بوده و جریان خون هم بیشتر نقش یک انتقال حرارت جابجایی (همرفت) در آن بازی می‌کند. پس با بالا رفتن بی‌اندازه دما در یک سلول‌ها بیشتر به دلیل وجود مکانیسم رسانش سلول‌های کناردستی هم متأثر خواند بود.

از طرف دیگر، هدف غیرفعال کردن سلول سرطانی است نه سوزاندن و زغال (نکروز) کردن آن پس بایستی توجه داشت که با بالا بردن بی‌اندازه دما امکان نکروزه شدن سلول‌ها وجود دارد و چنانچه سلولی دچار حالت نکروز شود، خود التهابی ایجاد می‌کند که بسیار مهم و مخرب بوده و بایستی با آن مقابله کرد.

f=80 kHz ,H=5 kA/m				
d µg/ml	10	20	30	40
Cell Viability %	95	71	87	15
f=80 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	52	47	19	11
f=80 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	37	2	4	2
f=120 kHz ,H=5 kA/m				
Cell Viability %	37	2	22	6
f=120 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	24	3	3	2
f=120 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	16	2	2	2
f=160 kHz ,H=5 kA/m				
Cell Viability %	78	27	12	5
f=160 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	17	2	3	2
f=160 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	21	3	2	3

جدول ۴ درصد سلول‌های زنده A-549 در انجام فرایند هایپرترمیا برای دوزهای متفاوت از نانوذرات با قطر ۲۰ نانومتر در فرکانس‌ها و شدت میدان‌های متفاوت.

f=80 kHz ,H=5 kA/m				
d µg/ml	10	20	20	40
Cell Viability %	96	43	52	12
f=80 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	83	2	9	2
f=80 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	47	4	2	2
f=120 kHz ,H=5 kA/m				
Cell Viability %	95	9	21	4
f=120 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	81	2	7	2
f=120 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	6	3	2	2
f=160 kHz ,H=5 kA/m				
Cell Viability %	92	10	21	3
f=160 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	80	2	2	2
f=160 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	9	2	3	2

## ۵- نتیجه‌گیری

جدول ۲- درصد سلول‌های زنده A-549 در انجام فرایند هایپرترمیا برای دوزهای متفاوت از نانوذرات با قطر ۵ نانومتر در فرکانس‌ها و شدت میدان‌های متفاوت.

f=80 kHz ,H=5 kA/m				
d µg/ml	10	20	30	40
Cell Viability %	97	91	36	27
f=80 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	94	15	17	13
f=80 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	93	13	14	9
f=120 kHz ,H=5 kA/m				
Cell Viability %	94	31	26	21
f=120 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	92	10	7	2
f=120 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	8	9	5	2
f=160 kHz ,H=5 kA/m				
Cell Viability %	93	25	8	2
f=160 kHz ,H=10 kA/m				
Cell Viability %	30	5	7	3
f=160 kHz ,H=15 kA/m				
Cell Viability %	10	8	9	6

جدول ۳- درصد سلول‌های زنده A-549 در انجام فرایند هایپرترمیا برای دوزهای متفاوت از نانو ذرات با قطر ۱۰ نانومتر در فرکانس‌ها و شدت میدان‌های متفاوت.

از نظر مقدار دوز استفاده از نانوذرات به نظر می‌رسد استفاده از دوزهای بالا خطر انتقال این نانوذرات را به بافت‌های مجاور و سلول‌های مجاور افزایش می‌دهد. بافت و یا سلول‌ها مشابه دیگر اجسام به طرق متفاوت حرارت را منتقل می‌کنند. کلیدی‌ترین مکانیسم انتقال حرارت در بافت هدایت بوده و جریان خون هم بیشتر نقش یک انتقال حرارت جابجایی (همرفت) در آن بازی می‌کند. پس با بالا رفتن بی‌اندازه دما در یک سلول‌ها بیشتر به دلیل وجود مکانیسم رسانش سلول‌های کناردستی هم متأثر خواهند بود. از این رو، استفاده از دوزهای بالا منطقی به نظر نمی‌رسد. دوز مناسب برای انجام هایپرترمیا در این مقاله دوزهای ۴۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هستند.

در رابطه با قطر نانوذرات به نظر می‌رسد نانو ذرات با قطر ۱۰ نانومتر مناسب‌ترین اندازه برای هایپرترمیا هست. در بررسی فرکانس‌های میدان مغناطیسی با در نظر داشتن این مطلب که فرکانس تشدید کویل ۸۰ کیلوهرتز است پس همان‌طور که انتظار می‌رفت بیشتر درصد سلول سرطانی آسیب‌دیده در این فرکانس بود.

## تقدیر و تشکر

این کار توسط تیم تحقیقاتی با حمایت دانشکده مهندسی، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران انجام می‌شود.

## مراجع

- [1]. Baronzio GF, Hager ED. *Hyperthermia in cancer treatment: a primer*. : Springer Science & Business Media, 2008.
- [2]. Byrne JD, Betancourt T, Brannon-Peppas LJ. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. 2008; 60: 1615-26.
3. Jordan A, Scholz R, Wust P, et al. Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles. 201, 413-9, 1999.
4. Bañobre-López M, Teijeiro A, Rivas JJRoPO, Radiotherapy. Magnetic nanoparticle-based

سرطان ریه از مهم‌ترین سرطان‌ها در جهان است که به دلیل شیوع بالا و خطرات ناشی از آن، بررسی روش‌های درمان ضروری است. یکی از روش‌های درمان هایپرترمیای الکترومغناطیسی است که به دلیل از بین بردن سلول‌های سرطانی مورد توجه قرار گرفته است. در این روش از نانوذرات مغناطیسی با پایه آهن استفاده شده است. برای تولید میدان الکترومغناطیسی متناوب از کویل هلم هولتز اصلاح‌شده استفاده شد از مزایای این کویل اصلاح‌شده قابلیت متمرکز شدن میدان مغناطیسی در یک نقطه هست. همچنین، به منظور تولید جریان لازم از یک اینورتر رزونانسی با کنترل‌کننده هوشمند استفاده شد که از مزایای آن سرعت و دقت بالا و هارمونیک کم هست. از نانوذرات با قطرهای متفاوت ۵،۱۰ و ۲۵ نانومتر با دوزهای ۱۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در آزمایش‌ها استفاده شد. به منظور بررسی اثر فرکانس و شدت میدان الکتریکی بر فرآیند درمان از سه فرکانس ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ کیلوهرتز و این آزمایش‌ها در سه شدت میدان متفاوت ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلو آمپر بر متر انجام شد. در نهایت، دوزهای متفاوتی از نانوذرات با قطرهای متفاوت قابلیت از بین بردن سلول‌های سرطانی را داشتند.

در میان انتخاب‌های به دست آمده استفاده از شدت میدان بالا منطقی به نظر نمی‌رسد زیرا اگر در مدت‌زمان کوتاه دما به یک‌باره بالا رود از یک طرف کنترل آن سخت‌تر بوده و از طرف دیگر باعث بروز التهاب و تشنج می‌شود. همچنین، معمولاً سلول‌ها در برابر افزایش آنی دما مقاومت می‌کنند و این امکان وجود دارد که اختلاف دما به ۴/۵ درجه سانتی‌گراد برسد اما هنوز تعداد زیادی از سلول‌ها از بین نرفته باشند. به عبارتی، حضور آنی سلول‌ها تحت این دما در مدت‌زمان کوتاه می‌تواند کشنده نباشد. پس بهتر است که برای زمان به نسبت طولانی بیشتر از ۱۰ الی ۱۵ دقیقه این فرآیند صورت گیرد. با بررسی بیشتر مراجع به نظر می‌رسد بهترین زمان برای درمان در حدود ۲۰ دقیقه الی یک ساعت است. به همین دلیل، شدت میدان مناسب برای انجام هایپرترمیا در این مقاله ۱۰ کیلو آمپر بر متر در نظر گرفته می‌شود.

- [18]. Murakami S, Kobayashi R, Nakagawa A, et al. Resonant inverter.: Google Patents, 2020.
- [19]. Attaluri A, Jackowski J, Sharma A, et al. Design and construction of a Maxwell-type induction coil for magnetic nanoparticle hyperthermia. 37, 1-14. 2020.
- [20]. Spoo T, McCammon D, Gruenke R, Melton C. Application of Helmholtz Coils in X-ray Instrumentation. American Astronomical Society 233, 32-40, 2019.
- [21]. Cooper S, Spiro SGJR. Small cell lung cancer: treatment review. 11, 241-8. 2006.
- hyperthermia for cancer treatment. 18,397-400, 2013.
- [5]. Bakoglidis K, Simeonidis K, Sakellari D, *et al.* Size-dependent mechanisms in AC magnetic hyperthermia response of iron-oxide nanoparticles. 48,1320-3, 2012.
- [6]. Azarmi S, Roa WH, Löbenberg RJAddr. Targeted delivery of nanoparticles for the treatment of lung diseases. 60, 863-75, 2008.
- [7]. Hilger I, Hergt R, Kaiser WAJr. Effects of magnetic thermoablation in muscle tissue using iron oxide particles: an in vitro study. 35, 170-9, 2000.
- [8]. Fortin J.P, Wilhelm C, Servais J, *et al.* Size-sorted anionic iron oxide nanomagnets as colloidal mediators for magnetic hyperthermia. 2007; 129: 2628-35.
- [9]. Meng Lin M, Kim H-H, Kim H, *et al.* Iron oxide-based nanomagnets in nanomedicine: fabrication and applications. 1, 4883, 2018.
- [10]. Zhang P, Ren Z, Chen Z, *et al.* Iron oxide nanoparticles as nanocarriers to improve chlorin e6-based sonosensitivity in sonodynamic therapy, 12, 4207, 2018.
- [11]. Attar MM, Amanpour S, Haghpanahi M, *et al.* Thermal analysis of magnetic nanoparticle in alternating magnetic field on human HCT-116 colon cancer cell line. 32, 858-67, 2016.
- [12]. Matsumine A, Kusuzaki K, Matsubara T, *et al.* Novel hyperthermia for metastatic bone tumors with magnetic materials by generating an alternating electromagnetic field. 24, 191-200, 2007.
- [13]. Shubitidze F, Kekalo K, Stigliano R, Baker IJJoap. Magnetic nanoparticles with high specific absorption rate of electromagnetic energy at low field strength for hyperthermia therapy. 117,094302-094312, 2015.
- [14]. Abbott JJJRosi. Parametric design of tri-axial nested Helmholtz coils. 86, 054701-054710, 2015.
- [15]. Colak I, Kabalci E, Bayindir R. Review of multilevel voltage source inverter topologies and control schemes, 114-28, 2011.
- [16]. Rajesh B, cp M. Comparison of harmonics and THD suppression with three and 5 level multilevel inverter-cascaded H-bridge. 1-6. 2016.
- [17]. Shigeno A, Koizumi HJIToPE. Voltage-Source Parallel Resonant Class E Inverter. 2019.



# Analysis of Superparamagnetic Nanoparticles Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> in Alternating Magnetic Field with Different Sizes on A-549 Human Lung Cancer Cell Line

Zahed Zomorodikhani, Mohammadmahdi Attar\*, Alireza Jahangiri and Farzan Barati  
Department of Engineering, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran

**Abstract:** Magnetic fluid hyperthermia is a new subclass of cancer treatment in which super-paramagnetic nanoparticles injected or diffused in cancerous tissue while exposing alternating magnetic field. The aim of this study is to scrutinize the effects of nanoparticles' concentration, resonance frequency, the coil's resonance frequency and time as well as the magnetic field intensity on A-549 human lung cancer line. In this study, after culturing A-549 human lung cancer line, the four different nanoparticles' diameters at three different frequencies, three different magnetic field intensities and four concentrations of nanoparticles were arranged to study the importance of them whilst a series of the three coils was designed to produce magnetic

Having weighed the importance of parameters including the resonance coil's frequency, nanoparticles' resonance frequency and sizes, nanoparticles concentrations, the magnetic field intensity and iron uptake of cell line, we are inclined to believe that these parameters play a pivotal role in the hyperthermic temperature difference whilst this temperature difference equal to  $5 \pm 0.5$  °C can able to kill all cancerous A-549 cells.

**Keywords:** magnetic fluid hyperthermia, A-549 cancer cell, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> concentrations, super-paramagnetic nanoparticles