



Investigation of Combination Effect of Doxorubicin and Zinc Oxide Nanoparticles on the Expression of Long Non-Coding RNA INXS in MCF-7 Breast Cancer Cells

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Baimani M.¹ MSc,
Mokhtari M.J.^{*1} PhD

How to cite this article

Baimani M, Mokhtari M.J. Investigation of Combination Effect of Doxorubicin and Zinc Oxide Nanoparticles on the Expression of Long Non-Coding RNA INXS in MCF-7 Breast Cancer Cells. Pathobiology Research. 2019;22(4):203-210.

¹Department of Biology, Zarghan Branch, Islamic Azad University, Zarghan, Iran

*Correspondence

Address: Department of Biology, Zarghan Branch, Islamic Azad University, Zarghan, Iran. Postal Code: 7341617184
Phone: +98 (71) 32626911
Fax: +98 (71) 32625133
mj_mokhtari@zariau.ac.ir

Article History

Received: October 28, 2019
Accepted: May 9, 2020
ePublished: June 8, 2020

ABSTRACT

Aims The combined therapy of cancer is more effective than using a single drug to treat. In the present study, the anticancer effects of doxorubicin and doxorubicin in combination with zinc oxide nanoparticles on the MCF-7 breast cancer cells were investigated.

Materials & Methods MCF-7 cells were cultured in RPMI1640 medium. The number of viable cells and the activity of mitochondrial dehydrogenase enzyme were evaluated by MTT assay for 24, 48, and 72 hours and IC₅₀ was determined. RNA was extracted and then cDNA was synthesized. Specific primers for the *INXS* and *TBP* genes were designed using proprietary software. The expression level of *INXS* gene compared with *TBP* reference gene using Real-Time PCR method was assessed.

Findings The expression of the *INXS* gene in doxorubicin-treated MCF-7 cells at 24, 48, and 72 hours was 7.93, 1.71, and 0.19, respectively, and in doxorubicin-treated cells with zinc oxide nanoparticles was changed 1.81, 6.34, and 15.96 at 24, 48, and 72 hours, respectively.

Conclusion Simultaneous treatment with doxorubicin and zinc oxide nanoparticles at low concentrations (3.125 and 6.25) can cause more cell death than doxorubicin treatment alone. This may be due to the facilitation of doxorubicin entry into the cell in the presence of zinc oxide nanoparticles.

Keywords Doxorubicin; Zinc Oxide Nanoparticle; Breast Cancer; *INXS*; LncRNA

CITATION LINKS

- [1] Epidemiology and histopathology of breast cancer in Iran versus other Middle Eastern ... [2] Breast cancer treatment: A ... [3] Adverse effects of cancer chemotherapy: Anything new to improve tolerance and reduce ... [4] Anticancer and cardio-protective effects of liposomal doxorubicin in the treatment of breast ... [5] Diffusion lung capacity changes in hodgkin lymphoma patients before and after ABVD ... [6] Oxidative stress and cellular response to doxorubicin: A common factor in the complex milieu of anthracycline ... [7] Smart nanoparticles for drug delivery application: Development of versatile nanocarrier platforms in biotechnology and ... [8] Hyperthermia effects in the presence of gold nanoparticles together with chemotherapy ... [9] The dark that matters: Long non-coding RNAs as master regulators of cellular metabolism in ... [10] Long non-coding RNAs and cancer: A new frontier of translational ... [11] Long non-coding RNA *INXS* is a critical mediator of BCL-XS induced ... [12] Nanoparticle-mediated combination therapy: Two-in-one approach for... [13] Study of new therapeutic strategies to combat breast cancer using drug ... [14] A comparison inhibitory effects of cisplatin and MNPs-PEG-cisplatin on the adhesion capacity of bone metastatic breast ... [15] Prospect and competence of quantitative methods via real-time PCR in a ... [16] Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer ... [17] Alkyl glucopyranoside-based niosomes containing methotrexate for pharmaceutical Zinc oxide nanoparticles exhibit cytotoxicity and genotoxicity through oxidative stress responses in human lung fibroblasts and *Drosophila* ... [18] Zinc oxide nanoparticles interfere with zinc ion homeostasis ... [19] Cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles on antioxidant enzyme activities and mRNA expression in the ... [20] The effects of silver nanoparticles and doxorubicin combination on DNA structure and its antiproliferative effect against ... [21] Quercetin-mediated synthesis of graphene oxide-silver nanoparticle nanocomposites: A suitable alternative ... [22] Genome-wide analysis of long noncoding RNA ... [23] Effect of doxorubicin, oxaliplatin, and methotrexate administration on the transcriptional activity of BCL-2 family gene members in stomach cancer

بررسی اثر ترکیبی دوکسوروبیسین و نانوذرات اکسید روی بر بیان RNA غیرکدکننده طویل INXS در سلول‌های MCF-7 سرطان پستان

مهسا پایمانی MSc

گروه زیست‌شناسی، واحد زرقان، دانشگاه آزاد اسلامی، زرقان، ایران

محمدجواد مختاری PhD

گروه زیست‌شناسی، واحد زرقان، دانشگاه آزاد اسلامی، زرقان، ایران

چکیده

اهداف: درمان ترکیبی سرطان موثرتر از استفاده از یک دارو به‌تنهایی است. در مطالعه حاضر، اثرات ضدسرطانی دوکسوروبیسین و دکسوروبیسین در ترکیب با نانوذرات اکسید روی بر سلول‌های MCF-7 سرطان پستان بررسی شد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های MCF-7 در محیط کشت RPMI1640 کشت داده شدند. تعداد سلول‌های زنده و فعالیت آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی با استفاده از سنجش MTT برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ارزیابی و IC_{50} تعیین شد. RNA استخراج و سپس cDNA ساخته شد. پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های *INXS* و *TBP* با استفاده از نرم‌افزار اختصاصی طراحی شد. میزان بیان ژن *INXS* در مقایسه با ژن مرجع *TBP* با استفاده از روش Real-Time PCR بررسی شد.

یافته‌ها: بیان ژن *INXS* در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با دکسوروبیسین در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۷/۹۳، ۱/۷۱ و ۰/۱۹٪ و در سلول‌های تیمار شده با دکسوروبیسین و نانوذرات اکسید روی در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱/۸۱، ۶/۳۴ و ۱۵/۹۶٪ تغییر یافت.

نتیجه‌گیری: تیمار همزمان دکسوروبیسین با نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های پایین (۳/۱۲۵ و ۶/۲۵ میکرومولار) می‌تواند موجب مرگ سلول بیشتری نسبت به دکسوروبیسین تنها شود. این امر ممکن است به دلیل تسهیل ورود دکسوروبیسین به سلول در حضور نانوذرات اکسید روی باشد.

کلیدواژه‌ها: دکسوروبیسین، نانوذره اکسید روی، سرطان پستان، *INXS*، *LncRNA*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۰

نویسنده مسئول: mj_mokhtari@zariau.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان رایج‌ترین سرطان در میان زنان است. براساس گزارش رصدخانه جهانی سرطان (GCO)، حدود ۱/۳۸ میلیون سرطان پستان جدید در سال ۲۰۰۸ و ۱/۶۷ میلیون در سال ۲۰۱۲ تشخیص داده شده است. میزان مرگ‌ومیر ناشی از سرطان پستان در ۳۰ سال گذشته در ایران تغییر نکرده است. نرخ مرگ‌ومیر ۱۴/۲ در ۱۰۰۰۰۰ با میانگین سن ۴۹/۸۴ سال است [1]. جراحی، ایمنی‌درمانی، پرتودرمانی، هورمون‌درمانی و شیمی‌درمانی روش‌های درمانی سرطان پستان هستند [2]. اگرچه شیمی‌درمانی در حال حاضر یکی از موثرترین روش‌ها برای درمان سرطان است ولی اثرات سمیت آن سبب ایجاد اثرات جانبی می‌شود. بنابراین آسیب بافت‌های طبیعی توسط داروهای ضدتوموری یکی از مهم‌ترین محدودیت‌ها برای افراد مبتلا به سرطان است [3].

دکسوروبیسین یک آنتی‌بیوتیک آنتراسیکلینی است که همانند همه آنتراسیکلین‌ها با برهم‌کنش با DNA عمل مهاری خود را اعمال

می‌کند. این دارو فعالیت ضدتوموری گسترده‌ای دارد و در درمان بسیاری از سرطان‌ها از جمله لوکمی حاد، لنفوم، سرطان‌های پستان و ریه به کار برده می‌شود [4,5]. دکسوروبیسین می‌تواند با اتصال به DNA به‌طور مستقیم روی نسخه‌برداری و ترجمه اثر بگذارد. همچنین می‌تواند به‌علت وجود گروه کینون، رادیکال آزاد محلول در بافت نرمال و سرطانی ایجاد کند [6].

از نانوذرات فلزی به‌طور گسترده‌ای در علوم زیست‌پزشکی و مهندسی استفاده می‌شود. به‌منظور استفاده از آنها برای کاربردهای مختلف زیست‌پزشکی نانوذرات می‌توانند با گروه‌های شیمیایی کاربردی مختلف سنتز و اصلاح شوند. نانوذرات اندازه متوسط بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارند. اتصال دارو به نانوذرات یکی از مهم‌ترین موضوعاتی است که بسیاری از تحقیقات روی آن متمرکز شده‌اند [7]. تلفیق شیمی‌درمانی و نانوذرات نیز می‌تواند باعث انتقال سریع‌تر حرارت به سلول‌ها شود. تابش در حضور نانوذرات بازده درمانی بالاتری را ایجاد می‌کند [8].

در سلول‌های جانوری بخش عمده‌ای از فرآورده‌های RNA تولید شده، RNAهای غیرکدکننده پروتئین (ncRNA) هستند که ظاهراً هیچ پروتئینی را کد نمی‌کنند [9]. برخی از ncRNAها طول بلندتری با بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید دارند و به مولکول‌های کوچکتر RNA شکسته نمی‌شوند. این نوع ncRNAها که تحت عنوان lncRNA نام‌گذاری می‌شوند، رونوشت‌های مشابه mRNA هستند که اندازه آنها در بازه ۲۰۰ نوکلئوتید تا کمتر از ۱۰۰۰ کیلو باز متغیر است و همه آنها به استثنای موارد اندکی، فاقد توانایی کدکردن پروتئین هستند [9, 10]. *INXS* یک RNA غیرکدکننده طویل است که از روی رشته ژنومیک مقابل *Bcl-x* رونویسی می‌شود. میزان *INXS* در سلول‌های توموری کلیه، کبد، پستان و پروستات نسبت به سلول‌های غیرتوموری ۵ تا ۹ برابر کمتر است. این ژن ۱۹۰۳ نوکلئوتید دارد که توسط RNA پلیمرز نوع II رونویسی می‌شود. عوامل القاکننده آپوپتوز می‌توانند بیان ژن *INXS* را افزایش دهند. افزایش بیان *INXS* می‌تواند سبب فعال‌کردن کاسپازهای ۳، ۷ و ۹ شود که در نتیجه منجر به مرگ سلولی می‌شود [11].

استفاده از نانوذرات می‌تواند سبب افزایش حلالیت و زیست‌مانایی داروهای شیمی‌درمانی شود. بازده درمانی داروهای شیمی‌درمانی و نانوذرات به‌تنهایی کمتر از ترکیب آنها با نانوذرات و داروهای ضدسرطانی است. درمان ترکیبی به‌طور کلی سبب القای افزایش اثر دارو و مانع مقاومت سلول‌های سرطانی به آن می‌شود. با درمان ترکیبی، اثرات هم‌افزایی دو یا چند عامل منجر به هدف‌گیری مسیرهای بیماری و ژن‌های متفاوت در سلول‌های سرطانی می‌شود که اهرمی برای افزایش احتمال از بین بردن سلول‌های سرطانی است [12]. به نظر می‌رسد با توجه به نقشی که *INXS* در القای آپوپتوز دارد می‌تواند به‌عنوان یک هدف در درمان سرطان استفاده شود. تاکنون مطالعه‌ای روی تغییرات بیان این ژن تحت تیمار با دکسوروبیسین انجام نشده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثربخشی درمان ترکیبی روی زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان و

پس از آن به فاز آبی بالایی، امیلی لیتر اتانول مطلق سرد افزوده و مخلوط شد. پس از مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای ۴°C با سرعت ۱۳۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس اتانول مطلق که روی رسوب RNA آنها قرار گرفته بود دور ریخته شد. میزان امیلی لیتر اتانول ۷۵٪ که از اتانول مطلق با افزودن آب تیمار شده با دی اتیل پیروکربنات (DEPC؛ سیناژن؛ ایران) تهیه شده بود به رسوب RNA افزوده شد. پس از یک ورتکس مختصر میکروتیوب ها به مدت ۸ دقیقه در دمای ۴°C و با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی آنها خارج و در مرحله آخر RNA در آب DEPC حل و در فریزر ۷۰°C نگه داری شد. لازم به ذکر است همه مراحل کار در زیر هود و در شرایط کاملاً استریل انجام شده است. پس از استخراج RNA کمیت و کیفیت آن با استفاده از فتونانومتر (IMPLEN GmbH؛ آلمان) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه های دارای OD مناسب (محدوده ۱/۸ تا ۲) برای انجام مراحل بعد انتخاب شدند.

مولکول های DNA مکمل با کیت سنتز cDNA (BioFact؛ کره جنوبی) ساخته شدند. مخلوط واکنش شامل یک میکروگرم RNA، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، یک میکرولیتر آغازگر (dNTP Oligo)، یک میکرولیتر آغازگر ۶ نوکلئوتیدی تصادفی و آب DEPC (تا حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر) بود. سپس برنامه دمایی- زمانی به صورت ۲۵°C به مدت ۵ دقیقه (برای اتصال آغازگر)، ۴۲°C به مدت ۶ دقیقه، ۷۰°C به مدت ۵ دقیقه و ۴°C به مدت ۵ دقیقه انجام شد. واکنش PCR با استفاده از دستگاه iCycler Thermal Cycler (Bio-Rad؛ ایالات متحده) انجام شد.

طراحی آغازگرها

در این مطالعه ژن *INXS* واقع بر کروموزوم ۲۰ (۲۰q۱۱/۲۱۱) به عنوان ژن هدف و ژن *TBP* (پروتئین متصل شونده به جعبه TATA) واقع بر کروموزوم ۶ (۶q۲۲) به عنوان ژن مرجع انتخاب شدند. طراحی آغازگر برای ژن *INXS* با استفاده از نرم افزار Primer Express 3.0 انجام شد. توالی آغازگرهای جلویی و برگشتی ژن هدف *INXS* به صورت '5' TGATGTTGAAGCCCGGAGAC 3' جلویی و '5' AATCCCCAACTGCCACGTTTC 3' برگشتی است. برای ژن مرجع *TBP* از آغازگرهای مورد استفاده در مطالعه دیگر استفاده شد [14]. توالی آغازگرها، برای اطمینان از صحت توالی و اطمینان از عدم اتصال آنها به توالی های غیراختصاصی در بخش های دیگر ژنوم، بلاست (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) شد.

Real-time RT-PCR

در این مطالعه از دستگاه Real-time PCR مدل Rotor-Gene 6000 (Corbett Research؛ استرالیا) استفاده و برنامه زمانی- دمایی دستگاه در سه مرحله انجام شد. دمای ۹۵°C به مدت ۱۰ دقیقه، مرحله دوم ۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰°C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه برای ۴۰ چرخه متوالی، و مرحله نهایی به منظور ترسیم منحنی ذوب به صورت ۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰°C به مدت ۱ دقیقه و ۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه انجام شد. واکنش های Real-Time

بیان ژن *INXS*، به عنوان ژنی که در القای آپوپتوز نقش دارد، انجام شد.

مواد و روش ها

کشت سلول

رده سلولی سرطان سینه انسانی (MCF-7) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد (NCBI C135). این سلول ها، در محیط کشت RPMI 1640 (انستیتو روزول پارک) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی، ۲ میلی مولار گلوتامین، ۲ گرم در لیتر بی کربنات، ۱۰۰ واحد در میلی لیتر پنی سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استرپتومایسین، در انکوباتور با دمای ۳۷°C که حاوی ۵٪ گاز دی اکسید کربن بود، کشت داده شدند [13].

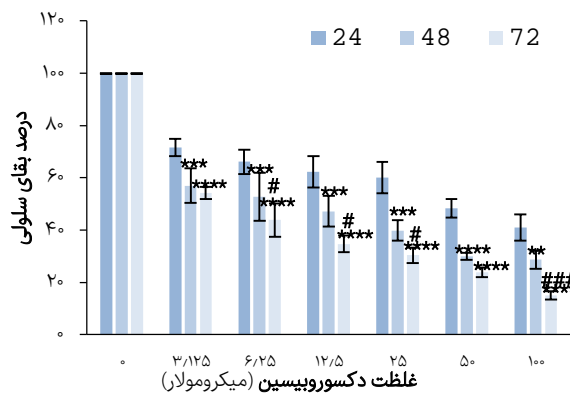
انکوباسیون سلول ها با دکسوروبیسین و دکسوروبیسین به همراه نانوذرات اکسید روی و تعیین غلظت مهارکنندگی ۵۰٪ رشد سلول ها (IC₅₀)

نانوذره اکسید روی از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان خریداری شد. اندازه نانوذرات ۱۰ تا ۳۰ نانومتر بود. در این مطالعه از غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذره اکسید روی استفاده شد. غلظت های مختلفی از دکسوروبیسین (صفر، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) در محیط کشت RPMI 1640 تهیه شدند. با استفاده از لام نئوپار شمارش سلولی انجام و تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت های ۹۶ خانه ریخته شد و بعد از ۱۲ ساعت با غلظت های مختلف دکسوروبیسین و نانوذره تیمار شدند. میزان سیتوتوکسیسیته بر اساس تکثیر سلولی و با استفاده از تست MTT (۳-۴ و ۵-دی متیل-۲-تترازولیل-۲-و۵-دی فنیل تترازولیوم بروماید) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین دوز ۵۰٪ کشندگی دکسوروبیسین و دکسوروبیسین به همراه نانوذره بر روی رده سلولی MCF-7، تمامی اطلاعات به دست آمده (درصد توکسیسیته) از نمونه ها و کنترل با استفاده از نرم افزار Pharm PCS statistical (Pharmacologic Calculation System) package بررسی و میزان دقیق IC₅₀ تعیین شد [14].

استخراج RNA و ساخت DNA مکمل (cDNA)

ابتدا تعداد یک میلیون سلول در هر فلاسک ریخته و بعد از یک شب با دکسوروبیسین و دکسوروبیسین به همراه نانوذره اکسید روی تیمار و پس از مدت زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت استخراج RNA انجام شد. برای جداسازی سلول ها از ته فلاسک، سلول ها با تریپسین جدا و با سرعت ۱۱۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ Eppendorf 5804R (Eppendorf؛ آلمان) شدند و سپس دو مرتبه با بافر فسفات سالین (PBS) مورد شست و شو قرار گرفتند. سپس برای لیز کردن سلول ها به آنها ۵۰۰ میکرولیتر محلول استخراج ترایزول (یکتاتجهیز؛ ایران) سرد اضافه شد. محتویات در میکروتیوب های فاقد RNase ریخته شد. نمونه های همگن به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس نمونه ها برای ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۵۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شدند.

روی با غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام شد. در مدت زمان ۲۴ ساعت به ترتیب کاهش بقای سلول‌ها به میزان $15/11 \pm 5/87$ ($p = 0/08$)، $31/7 \pm 0/30$ ($p = 0/06$)، $69/28 \pm 0/90$ ($p = 0/02$)، $40/98 \pm 5/41$ ($p = 0/05$)، $65/55 \pm 1/05$ ($p = 0/02$) و $67/11 \pm 4/72$ ($p = 0/01$) مشاهده شد. در ضمن میزان بقای سلول‌های سرطانی تیمار شده با نانوذره اکسید روی برابر با ۹۱/۲۷ بود که این تفاوت معنی‌دار نبود. در مدت زمان ۴۸ ساعت کاهش بقای سلول‌ها به ترتیب به میزان $18/4 \pm 11/31$ ($p = 0/06$)، $62/5 \pm 3/33$ ($p = 0/01$)، $58/65 \pm 1/63$ ($p = 0/06$)، $38/43 \pm 3/86$ ($p = 0/02$)، $67/98 \pm 2/85$ ($p = 0/01$) و $67/33 \pm 2/89$ ($p = 0/02$) گزارش شد. همچنین بقای سلول‌های سرطانی تیمار شده با نانوذره اکسید روی ۸۱/۱۷ بود که این تفاوت معنی‌دار نبود. در مدت زمان ۷۲ ساعت به ترتیب کاهش بقای سلول‌ها $30/65 \pm 14/68$ ($p = 0/02$)، $43/24 \pm 4/79$ ($p = 0/07$)، $65/49 \pm 3/36$ ($p = 0/02$)، $85/28 \pm 1/22$ ($p = 0/01$)، $82/96 \pm 1/22$ ($p = 0/01$) و $82/36 \pm 1/42$ ($p = 0/02$) می‌شود. در ضمن نانوذره اکسید روی به‌تنهایی در این مدت زمان سبب کاهش بقای سلول‌های سرطانی به میزان $15/87$ شد که این تفاوت معنی‌دار نبود. نتایج برای هر غلظت در هر بازه زمانی براساس ۵ تکرار استوار است (جدول ۲ و نمودار ۲).



نمودار ۱) درصد بقای سلول‌های MCF-7 در غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین
در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت؛ نتایج این نمودار به‌صورت درصد بقا و میانگین آماری گزارش شدند. هر ستون بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد است. $p < 0/01$ ، $p < 0/001$ و $p < 0/0001$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمار ۲۴ ساعت و $p < 0/05$ و $p < 0/001$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمار ۴۸ ساعت هستند.

جدول ۱) اثر غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین در مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر حیات سلول‌های MCF-7

غلظت دکسوروبیسین (میکرومولار)	کاهش بقای سلولی (درصد)		
	ساعت ۲۴	ساعت ۴۸	ساعت ۷۲
۳/۱۲۵	$28/76 \pm 3/70$	$42/88 \pm 9/72$	$47/07 \pm 7/00$
۶/۲۵	$34/40 \pm 1/73$	$47/27 \pm 1/03$	$57/29 \pm 4/18$
۱۲/۵	$38/48 \pm 2/29$	$49/47 \pm 0/73$	$60/93 \pm 3/01$
۲۵	$40/72 \pm 2/67$	$53/78 \pm 4/23$	$70/17 \pm 1/12$
۵۰	$52/09 \pm 2/31$	$63/77 \pm 1/08$	$77/00 \pm 1/27$
۱۰۰	$59/09 \pm 4/1$	$70/03 \pm 8/09$	$84/99 \pm 2/93$

PCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر با استفاده از کیت 2X Real-Time PCR Master Mix (BioFact؛ کره جنوبی) و به‌صورت تکرار سه‌تایی انجام شدند. برای ترسیم منحنی استاندارد از رقت‌های متوالی cDNA استاندارد به‌صورت غلظت‌های ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ نانوگرم در میکرولیتر استفاده شد. منحنی استاندارد براساس لگاریتم غلظت cDNA (محور افقی) و چرخه آستانه یا Ct محور عمودی برای هر ژن ترسیم شد. با استفاده از منحنی استاندارد دامنه غلظت بهینه cDNA الگو و میزان بازده PCR برای هر ژن تعیین شد. واکنش‌های رقت‌های متوالی برای پرایمرها و DNA استاندارد به همراه واکنش فاقد cDNA الگو برای هر ژن انجام شد. درصد کارایی واکنش تکثیر از طریق معادله زیر محاسبه شد:

$$100 \times [1 - 10^{(-1/SLPOE)}] = \text{درصد کارایی واکنش تکثیر}$$

در این مطالعه از روش کمی‌سنجی نسبی برای بررسی تغییرات بیان ژن استفاده و آنالیز داده‌ها براساس مقایسه چرخه آستانه انجام شد. همچنین اختلاف چرخه‌های آستانه حاصل از نمونه‌های مورد آزمایش (سلول‌های تیمار شده با دارو) و نمونه‌های کنترل (سلول‌های تیمار نشده با دارو) محاسبه و با استفاده از فرمول $\Delta\Delta Ct$ نسبت ژن هدف به ژن مرجع از طریق $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد [15].

آنالیزهای آماری

نتایج حاصل براساس حداقل سه تکرار استوار است. داده‌های آماری به‌صورت میانگین آماری و ضریب تعیین (R^2) نشان داده شد. آنالیزهای آماری با استفاده از آنالیز واریانس‌های دوطرفه (برای آزمایش MTT) و یک‌طرفه (برای نتایج بیان ژن) و به دنبال آن آزمون‌های مقایسه تعقیبی چندگانه توکی انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 19 انجام و $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

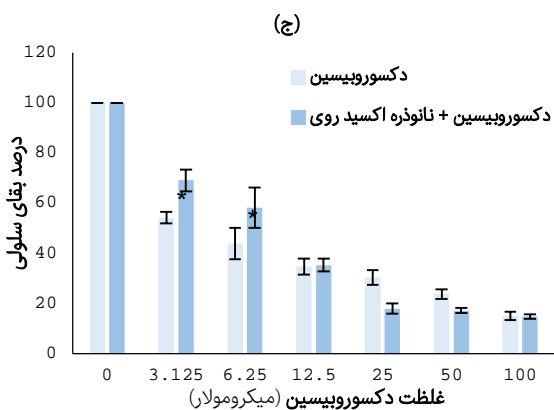
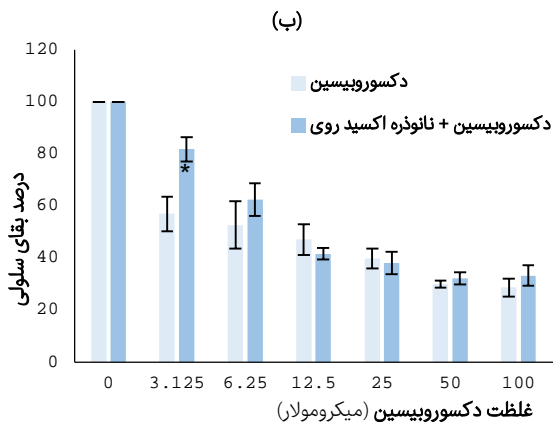
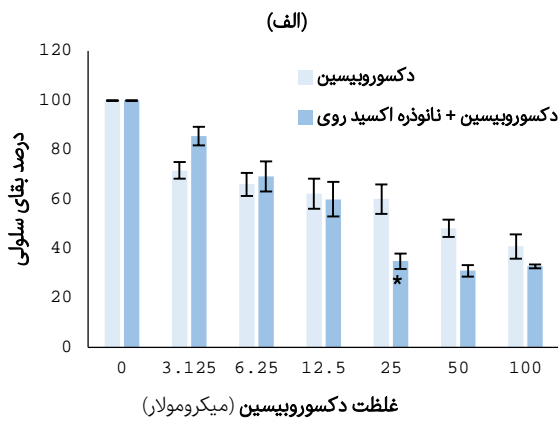
اثر دکسوروبیسین بر حیات سلول‌های MCF-7

تیمار سلول‌های MCF-7 با غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین ($3/125$ ، $6/25$ ، $12/5$ ، 25 ، 50 و 100 میکرومولار) در مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام شد. نتایج برای هر غلظت در هر بازه زمانی براساس ۵ تکرار استوار است ($p \leq 0/05$ ؛ نمودار ۱ و جدول ۱).

اثر دکسوروبیسین به همراه نانوذره اکسید روی

تیمار سلول‌های MCF-7 با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی (10 ، 25 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انجام شد. با توجه به اینکه قدرت بقای سلولی در تیمار با غلظت‌های ۲۵ و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذره اکسید روی معنی‌دار بود (نتایج نشان داده نشده است). بنابراین تیمار همزمان دکسوروبیسین و نانوذره اکسید روی با غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر انتخاب شد. تیمار سلول‌های MCF-7 با غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین ($3/125$ ، $6/25$ ، $12/5$ ، 25 ، 50 و 100 میکرومولار) و نانوذره اکسید

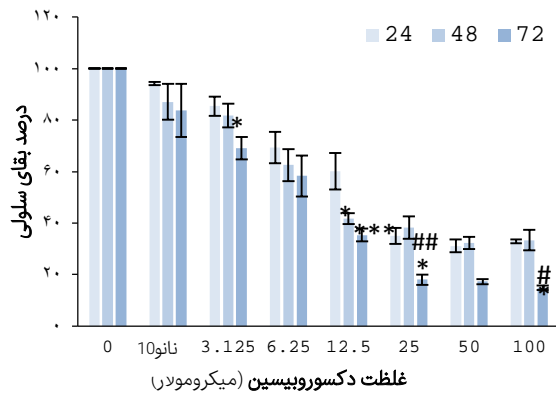
نتایج در زمان ۷۲ ساعت نشان داد که در غلظت‌های پایین (۳/۱۲۵ و ۶/۲۵ میکرومولار) خاصیت کشندگی دکسوروبیسین تنها بیشتر از دکسوروبیسین به همراه نانوذره است ($p < 0.05$). در غلظت‌های دیگر تفاوت معنی‌داری میان خاصیت کشندگی دکسوروبیسین تنها و دکسوروبیسین به همراه نانوذره مشاهده نشد. اگرچه در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار خاصیت کشندگی دکسوروبیسین به همراه نانوذره بیشتر از دکسوروبیسین تنها بود که البته این تفاوت معنی‌دار نبود (نمودار ۳-ج).



نمودار ۳) درصد بقای سلول‌های MCF-7 در غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین و نانوذره اکسید روی (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مدت زمان ۲۴ ساعت (الف)، ۴۸ ساعت (ب) و ۷۲ ساعت (ج): نتایج این نمودار به صورت درصد بقا و میانگین آماری گزارش شدند. هر ستون بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد است. $p < 0.05$ * و $p < 0.01$ ** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه تیمار شده با دکسوروبیسین هستند.

جدول ۲) تیمار همزمان غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین و نانوذره اکسید روی (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)

غلظت دکسوروبیسین (میکرومولار)	کاهش بقای سلولی (درصد)		
	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت
۳/۱۲۵	۳۰/۶۵±۱۴/۶۸	۱۸/۴۱±۱۱/۳۱	۱۵/۱۱±۵/۸۷
۶/۲۵	۴۳/۲۴±۴/۷۹	۳۸/۴۳±۳/۸۶	۳۱/۷±۵/۳۰
۱۲/۵	۶۵/۴۹±۳/۳۶	۵۸/۶۵±۱/۶۳	۴۰/۹۸±۵/۴۱
۲۵	۸۲/۳۶±۱/۴۲	۶۲/۵۵±۳/۳۳	۶۵/۵۵±۱/۰۵
۵۰	۸۲/۹۶±۱/۲۲	۶۷/۹۸±۲/۸۵	۶۹/۲۸±۵/۹۰
۱۰۰	۸۵/۴۸±۱/۲۲	۶۷/۳۳±۲/۸۹	۶۷/۱۱±۴/۷۲



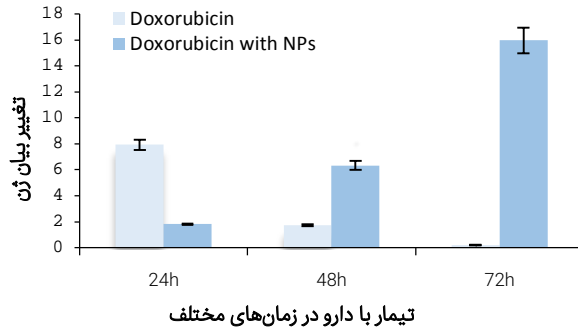
نمودار ۲) درصد بقای سلول‌های MCF-7 در برابر غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین و نانوذره اکسید روی (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت؛ نتایج این نمودار به صورت درصد بقا و میانگین آماری گزارش شدند. هر ستون بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد است. $p < 0.05$ * و $p < 0.01$ ** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمار ۲۴ ساعت و $p < 0.05$ # و $p < 0.01$ ## نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمار ۴۸ ساعت هستند.

مقایسه تیمار غلظت‌های ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار دکسوروبیسین و دکسوروبیسین به همراه نانوذره اکسید روی (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در سلول‌های MCF-7 بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

مقایسه تیمار سلول‌های MCF-7 با غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین تنها و دکسوروبیسین به همراه نانوذره در زمان ۲۴ ساعت نشان داد که در غلظت‌های پایین (۳/۱۲۵ و ۶/۲۵ میکرومولار) خاصیت کشندگی دکسوروبیسین تنها بیشتر از دکسوروبیسین به همراه نانوذره است. البته این تفاوت معنی‌دار نبود. در غلظت‌های دیگر خاصیت کشندگی دکسوروبیسین همراه نانوذره بیشتر از دکسوروبیسین تنها است که این تفاوت در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار دکسوروبیسین معنی‌دار است (نمودار ۳-الف).

در زمان ۴۸ ساعت مشخص شد که در غلظت‌های پایین (۳/۱۲۵ و ۶/۲۵ میکرومولار) و غلظت‌های بالا (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) خاصیت کشندگی دکسوروبیسین تنها بیشتر از دکسوروبیسین به همراه نانوذره است که این تفاوت در غلظت ۳/۱۲۵ میکرومولار دکسوروبیسین معنی‌دار بود ($p < 0.01$). در غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ میکرومولار خاصیت کشندگی دکسوروبیسین همراه نانوذره بیشتر از دکسوروبیسین تنها است ($p < 0.05$; نمودار ۳-ب).

ترتیب به میزان ۱/۸۱، ۶/۳۴ و ۱۵/۹۶ تغییر یافت (p < ۰/۰۵) نمودار ۵). البته تغییر بیان ژن *INXS* در سلول‌های تیمار شده با نانوذره اکسید روی (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بعد از زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱/۱۵، ۱/۲۸ و ۱/۳۷ بود که این تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند. نتایج در هر بازه زمانی براساس ۳ تکرار استوار است.



نمودار ۵) منحنی تغییر بیان ژن *INXS* در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با دکسوروبیسین تنها و دکسوروبیسین به همراه نانوذره در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

بحث

درمان ترکیبی سرطان موثرتر از استفاده از یک داروی تنها برای درمان این بیماری است. کاهش اثرات سمی دارو و مهار مقاومت چنددارویی از اثرات درمان ترکیبی است. بنابراین استفاده از دو روش برای درمان یا استفاده از یک روش برای کمک به روش دیگر یک روند جدید در درمان سرطان است. در این مطالعه از نانوذره به همراه داروی شیمی‌درمانی استفاده شد که می‌تواند منجر به کاهش اثرات جانبی دارو و افزایش کارایی آن شود. با همه این تفصیلات هنوز موانع زیادی برای استفاده موفق از نانوذرات در محیط درون تن وجود دارد که از جمله آن می‌توان به تغییر گروه‌های عملکردی داروها در اثر اتصال به نانوذرات، میزان بارگذاری کم، ناتوانی نانومواد برای ورود به تومور از طریق عروق خونی، انتقال داروها به اندوزوم/لیزوزوم به جای سیتوپلاسم و هسته، کاهش توانایی انتقال هدفمند به دلیل اتصال‌های ضعیف با لیگاند و ازدست‌رفتن ویژگی‌های مغناطیسی اشاره کرد [16].

در مطالعه حاضر از نانوذره اکسید روی به دلیل اینکه مهم‌ترین فراوان‌ترین عنصر موثر در بدن بعد از آهن است و نقش حیاتی در فرآیند ضدآغاز و پیشرفت سرطان دارد و همچنین به سبب زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری آن به همراه دکسوروبیسین استفاده شد. به‌طور کلی در این مطالعه می‌توان چند محور اصلی را به‌منظور بحث روی نتایج حاصل در نظر گرفت که شامل سمیت یا عدم سمیت نانوذرات اکسید روی بر رده سلولی MCF-7 و همچنین اثر همیاری نانوذرات اکسید روی با شیمی‌درمانی توسط دکسوروبیسین است. در این مطالعه تفاوت معنی‌داری بین سلول‌های MCF-7 تیمار شده با نانوذرات اکسید روی ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و سلول‌های MCF-7 تیمار نشده مشاهده نشد. اگرچه

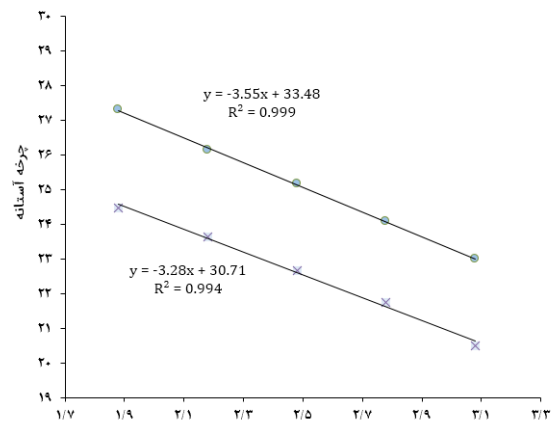
پس از تیمار سلول‌های MCF-7 با غلظت‌های مختلف دکسوروبیسین و دکسوروبیسین با نانوذرات اکسید روی (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از نرم‌افزار Pharm میزان IC₅₀ محاسبه شد (جدول ۳).

جدول ۳) IC₅₀ دکسوروبیسین و دکسوروبیسین به همراه نانوذره در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت (برحسب میکرومولار)

تیمار	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
دکسوروبیسین	۴۲/۶۷	۲۰/۴۴	۱۲/۹۴
دکسوروبیسین به همراه نانوذره	۲۰/۳۹	۱۵/۷۴	۷/۰۸

رسم منحنی استاندارد و محاسبه کارایی PCR

پس از ترسیم منحنی استاندارد برای ژن‌های *INXS* و *TBP* دامنه مقدار مناسب cDNA الگو ۷۵ تا ۶۰۰ نانوگرم به دست آمد. شیب منحنی استاندارد برای ژن‌های *INXS* و *TBP* به ترتیب -۳/۵۵ و -۳/۲۸ محاسبه شد. میزان کارایی واکنش تکثیر با استفاده از شیب منحنی استاندارد برای این ژن‌ها ۹۸/۹ و ۱۰۰٪ به دست آمد (نمودار ۴).



لگاریتم غلظت cDNA

نمودار ۴) نمودار منحنی استاندارد ژن‌های *INXS* و *TBP* (به ترتیب از بالا به پایین)؛ این منحنی استاندارد براساس رقت‌های ۰/۷۵، ۱/۱۵، ۳/۰۰، ۶/۰۰ و ۱۲/۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر cDNA الگو ترسیم شده است.

پروفایل (mRNA) بیان ژن INXS در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با دکسوروبیسین تنها و دکسوروبیسین به همراه نانوذره اکسید روی

تغییر در بیان ژن *INXS* در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با غلظت IC₅₀ دکسوروبیسین تنها و دکسوروبیسین به همراه نانوذره بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ارزیابی شد. بیان ژن *INXS* در سلول‌های تیمار شده با دکسوروبیسین بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، به ترتیب به میزان ۷/۹۳، ۱/۷۱ و ۰/۱۹ و در سلول‌های تیمار شده با دکسوروبیسین به همراه نانوذره بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، به

قدرت بقای سلول‌های تیمار شده با نانوذره با افزایش زمان کاهش یافت ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. ولی با افزایش غلظت نانوذره کاهش قدرت بقای سلول‌های MCF-7 مشاهده شد. در مطالعه‌ای مشخص شد که نانوذرات اکسید روی از طریق القای استرس‌های اکسیداتیو سبب کاهش تعداد سلول‌های فیبروبلاست ریه انسانی می‌شوند [17]. یون روی در غلظت‌های پایین برای متابولیسم‌های سلولی ضروری ولی در غلظت‌های بالا برای سلول سمی است. همچنین در مطالعه کائو و همکاران مشخص شد که خاصیت سیتوتوکسیک نانوذرات روی از طریق القای مسیر داخل سلول آپوپتوز است [18]. در یک مقاله مروری نتایج مطالعات انجام شده در خصوص سمیت نانوذرات اکسید روی در محیط برون‌تن بررسی شد. مطالعات در این زمینه نشان داد که خاصیت سمی نانوذرات اکسید روی به دلیل حلالیت آنها است. نانوذرات اکسید روی در محیط خارج سلولی حل و سبب افزایش غلظت یون روی در داخل سلول می‌شوند. البته مکانیسم افزایش یون روی در داخل سلول و حل شدن نانوذرات اکسید روی در محیط مشخص نیست. به‌طور کلی مکانیسم اثر نانوذرات اکسید روی بر روی سلول‌های مختلف افزایش استرس‌های اکسیداتیو، افزایش میزان یون کلسیم داخل سلول، کاهش پتانسیل غشای میتوکندری، نشت غشای سلولی، القای سیتوتوکسیتی، اختلال در عملکرد میتوکندری و بروز آپوپتوز است. در این مطالعه مشخص شد که برخی سلول‌ها از جمله سلول‌های C2CL2 مقاومت بیشتری نسبت به نانوذرات اکسید روی دارند [19].

در مطالعه حاضر مشخص شد که میزان IC_{50} همزمان دوکسوروبیسین و نانوذرات اکسید روی کمتر از IC_{50} دوکسوروبیسین در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت است. این موضوع نشان‌دهنده این است که آنکوباسیون همزمان دوکسوروبیسین و نانوذرات اکسید روی موجبات مرگ سلولی بیشتری را در مقایسه با شیمی‌درمانی به تنهایی فراهم می‌کند. شاید این اثر ناشی از تسهیل ورود دوکسوروبیسین به سلول با حضور نانوذرات اکسید روی باشد. این نتایج با نتایج سازگاری و همکاران که تیمار همزمان نانوذرات طلا و دوکسوروبیسین را روی سلول‌های Saos-2 بررسی کردند مطابقت دارد [8]. اگر فرضیه تسهیل ورود دوکسوروبیسین به سلول‌ها در حضور نانوذرات مورد قبول واقع شده باشد، شاید این تسهیل ناشی از چسبیدن نانوذرات به مولکول‌های دوکسوروبیسین باشد. به عبارت دیگر اتصال مذکور توانسته است موجب افزایش ورود دوکسوروبیسین به داخل سلول‌ها شود. به هر حال قبول یا رد فرضیه اخیر نیاز به مطالعات بیشتری دارد. در مطالعه حکمت و همکاران مشخص شد که ترکیبی از نانوذرات نقره و دوکسوروبیسین می‌تواند کمپلکس‌های پایدار را ایجاد کند و به‌شدت با DNA در تعامل باشد. این نشان می‌دهد که نانوذرات نقره و دوکسوروبیسین قادر به تغییر ساختار DNA هستند، به‌گونه‌ای که در مقایسه با یک درمان واحد یا با دوکسوروبیسین یا با نانوذره نقره منجر به مهار بیشتر تکثیر سلولی در سلول‌های T47D و MCF7 می‌شوند [20]. همچنین یون و همکاران گزارش کردند که درمان ترکیبی جم‌سیتابین و نانوذره

نقره از طریق استرس اکسیداتیو و افزایش بیان ژن‌های آپوپتوز و مهار ژن‌های ضد آپوپتوزی باعث افزایش سمیت سلولی و آپوپتوز در سلول‌های A2780 می‌شود [21]. در مطالعه دیگر مشخص شد که انکپسوله‌شدن دوکسوروبیسین با لیپوزوم به‌طور خاص سبب کاهش اثرات سمیت دارو می‌شود. همچنین لیپوزوم حاوی دوکسوروبیسین دارای خاصیت سمی کمتر از دوکسوروبیسین تنها است [12].

به نظر می‌رسد با توجه به نقشی که *INXS* در القای آپوپتوز دارد می‌تواند به‌عنوان یک هدف در درمان سرطان استفاده شود. تاکنون مطالعه‌ای بر روی تغییرات بیان این ژن تحت تیمار با دوکسوروبیسین انجام نشده است. در مطالعه حاضر اثرات دوکسوروبیسین تنها و دوکسوروبیسین به همراه نانوذره روی بیان ژن *INXS* در سلول‌های تیمار شده در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی شد. دوکسوروبیسین در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت سبب افزایش بیان ژن *INXS* شد که این افزایش بیان در زمان ۲۴ ساعت بیشتر بود. ژن *INXS* در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با دوکسوروبیسین در مدت زمان ۷۲ ساعت کاهش بیان را نشان داد. در مطالعات گذشته مشخص شد که نیمه‌عمر *lncRNA* ها خیلی متغیر است ولی به‌طور میانگین کمتر از نیمه‌عمر *mRNA* است. برخی از *lncRNA* ها ناپایدار هستند و نیمه‌عمر کمتر از دو ساعت دارند در حالی که عده‌ای از آنها پایدار و دارای نیمه‌عمر بیشتر از ۱۶ ساعت هستند [22]. شاید تفاوت میزان بیان ژن *INXS* در زمان‌های مختلف در مطالعه حاضر به دلیل نیمه‌عمر این *lncRNA* باشد. در مطالعه‌ای که روی ژن‌های خانواده *Bcl2* انجام گرفت مشخص شد که تیمار سلول‌های *AGS* با دوکسوروبیسین در زمان ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت سبب کاهش بیان ژن *BCL2L12* می‌شود و بیشترین کاهش در زمان ۴۸ ساعت بود. در خصوص ژن *BAX* افزایش بیان ژن در تمامی زمان‌ها مشاهده شد که بیشترین میزان بیان در زمان ۲۴ ساعت بود. در مورد ژن *Bcl2* در زمان‌های ۲۴ و ۷۲ ساعت افزایش بیان مشاهده شد ولی در زمان‌های ۳۶ و ۴۸ ساعت کاهش بیان رخ داد که این کاهش در زمان ۳۶ ساعت حدود ۲ برابر بیشتر از زمان ۴۸ ساعت بود [23].

- 8- Sazgarnia A, Bahreyni Toossi MH, Haji Ghahremani F, Rajabi O, Aledavood SA, Esmaily HO. Hyperthermia effects in the presence of gold nanoparticles together with chemotherapy on Saos-2 Cell Line. Iran J Med Phys. 2011;8(1):19-29. [Persian]
- 9- Mongelli A, Gaetano C, Farsetti A, Martelli F. The dark that matters: Long non-coding RNAs as master regulators of cellular metabolism in non-communicable diseases. Front Physiol. 2019;10:369.
- 10- Spizzo R, Almeida MI, Colombatti A, Calin GA. Long non-coding RNAs and cancer: A new frontier of translational research?. Oncogene. 2012;31(43):4577-87.
- 11- DeOcesano-Pereira C, Amaral MS, Parreira KS, Ayupe AC, Jacysyn JF, Amarante-Mendes GP, et al. Long non-coding RNA INXS is a critical mediator of BCL-XS induced apoptosis. Nucleic Acids Res. 2014;42(13):8343-55.
- 12- Gurunathan S, Kang MH, Qasim M, Kim JH. Nanoparticle-mediated combination therapy: Two-in-one approach for cancer. Int J Mol Sci. 2018;19(10):3264.
- 13- Correia A, Silva D, Correia A, Vilanova M, Gärtner F, Vale N. Study of new therapeutic strategies to combat breast cancer using drug combinations. Biomolecules. 2018;8(4):175.
- 14- Mokhtari MJ, Koohpeima F, Mohammadi H. A comparison inhibitory effects of cisplatin and MNPs-PEG-cisplatin on the adhesion capacity of bone metastatic breast cancer. Chem Biol Drug Des. 2017;90(4):618-28.
- 15- Mahboudi H, Heidari NM, Rashidabadi ZI, Anbarestani AH, Karimi S, Darestani KD. Prospect and competence of quantitative methods via real-time PCR in a comparative manner: An experimental review of current methods. Open Bioinform J. 2018;11(1):1-11.
- 16- Jain TK, Morales MA, Sahoo SK, Leslie-Pelecky DL, Labhasetwar V. Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer agents. Mol Pharm. 2005;2(3):194-205.
- 17- Ng CT, Yong LQ, Hande MP, Ong CN, Yu LE, Bay BH, et al. Zinc oxide nanoparticles exhibit cytotoxicity and genotoxicity through oxidative stress responses in human lung fibroblasts and Drosophila melanogaster. Int J Nanomed. 2017;12:1621-37.
- 18- Kao YY, Chen YC, Cheng TJ, Chiung YM, Liu PS. Zinc oxide nanoparticles interfere with zinc ion homeostasis to cause cytotoxicity. Toxicol Sci. 2012;125(2):462-72.
- 19- Pandurangan M, Veerappan M, Kim DH. Cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles on antioxidant enzyme activities and mRNA expression in the cocultured C2C12 and 3T3-L1 cells. Appl Biochem Biotechnol. 2015;175(3):1270-80.
- 20- Hekmat A, Saboury AA, Divsalar A. The effects of silver nanoparticles and doxorubicin combination on DNA structure and its antiproliferative effect against T47D and MCF7 cell lines. J Biomed Nanotechnol. 2012;8(6):968-82.
- 21- Yuan YG, Wang YH, Xing HH, Gurunathan S. Quercetin-mediated synthesis of graphene oxide-silver nanoparticle nanocomposites: A suitable alternative nanotherapy for neuroblastoma. Int J Nanomed. 2017;12:5819-39.
- 22- Clark MB, Johnston RL, Inostroza-Ponta M, Fox AH, Fortini E, Moscato P, et al. Genome-wide analysis of long noncoding RNA stability. Genome Res. 2012;22(5):885-98.
- 23- Florou D, Patsis Ch, Ardavanis A, Scorilas A. Effect of doxorubicin, oxaliplatin, and methotrexate administration on the transcriptional activity of BCL-2 family gene members in stomach cancer cells. Cancer Biol Ther. 2013;14(7):587-96.

شایع‌ترین بیماری بدخیم در مردان و زنان جهان است اما درمان دارویی فعلی دارای محدودیت‌هایی است. برای غلبه بر محدودیت‌ها بخش جدیدی از نانوتکنولوژی به نام نانوپزشکی راهکار جایگزینی برای درمان سرطان ارایه می‌دهد. در حال حاضر نانوداروهای محدودی برای مصارف بالینی وجود دارند که گران‌تر از داروهای ضدسرطانی در دسترس است. همچنین هزینه این نانوداروهای ترکیبی بسیار بیشتر از هزینه نانوذره و دارو به‌تنهایی است. به‌طور کلی استفاده همزمان داروی شیمی‌درمانی و نانوذره می‌تواند منجر به کاهش غلظت داروی شیمی‌درمانی مصرفی شود و تبعاً سبب کاهش عوارض جانبی این داروها و از بین بردن مقاومت در برابر دارو شود. بنابراین امید است در آینده محصولات بیشتری با کارایی بالا و عوارض جانبی کمتر در عرضه بالینی برای درمان سرطان وارد شوند.

تشکر و قدردانی: این مقاله مستخرج از پایان‌نامه مهسا بایمانی دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد زرقان است که بدین وسیله از کلیه زحمات و مساعدت‌های حوزه معاونت پژوهش و فناوری واحد زرقان سپاسگزاری می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان ذکر نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: مهسا بایمانی (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۴۰٪)؛ محمدجواد مختاری (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۶۰٪)

منابع مالی: کلیه هزینه‌های مطالعه حاضر به‌صورت شخصی توسط مهسا بایمانی به‌عنوان دانشجو تامین شده است.

منابع

- 1- Nafissi N, Khayamzadeh M, Zeinali Z, Pazooki D, Hosseini M, Akbari ME. Epidemiology and histopathology of breast cancer in Iran versus other Middle Eastern countries. Middle East J Cancer. 2018;9(3):243-51.
- 2- Waks AG, Winer EP. Breast cancer treatment: A review. Jama. 2019;321(3):288-300.
- 3- Nurgali K, Jagoe RT, Abalo R. Adverse effects of cancer chemotherapy: Anything new to improve tolerance and reduce sequelae?. Front Pharmacol. 2018;9:245.
- 4- Franco YL, Vaidya TR, Ait-Oudhia S. Anticancer and cardio-protective effects of liposomal doxorubicin in the treatment of breast cancer. Breast Cancer. 2018;10:131-41.
- 5- Abdullah M, Alam S, Zafar W, Majid A. Diffusion lung capacity changes in hodgkin lymphoma patients before and after ABVD chemotherapy. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2016;28(2):289-92.
- 6- Cappelletta D, De Angelis A, Sapio L, Prezioso L, Illiano M, Quaini F, et al. Oxidative stress and cellular response to doxorubicin: A common factor in the complex milieu of anthracycline cardiotoxicity. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:1521020.
- 7- Lombardo D, Kiselev MA, Caccamo MT. Smart nanoparticles for drug delivery application: Development of versatile nanocarrier platforms in biotechnology and nanomedicine. J Nanomater. 2019;2019:3702518.