Iranian Journal of Breast Diseases. 2022; 15(1):71-86.

Original Article

Evaluating the Toxicity of Doxorubicin-Silk Fibroin Nanoparticles and Its Effect on *P53* Gene Expression in Breast Cancer Cell Line

Vojdani Nejad Yazdi Sh[1], Zare-Zardini H[2], Miresmaeili M[1], Fesahat F[3*]

[1]Department of Biology, Science and Arts University, Yazd, Iran
[2]Hematology and Oncology Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
[3]Reproductive Immunology Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Receive: 23/8/2021
Accepted: 22/12/2021

[*]**Corresponding Author:**
farzaneh.fesahat@gmail.com

Ethics Approval:
IR.ACECR.JDM.REC.1400.008

Abstract

Introduction: The use of drug delivery systems can increase the effectiveness of chemotherapy and reduce its side effects in the treatment of breast cancer. This study aimed to evaluate the effect of doxorubicin-containing silk fibroin nanoparticles (NF-DOX) on *P53* gene expression in breast cancer cell lines and to measure its toxicity in vitro.

Methods: NF-DOX was synthesized and characterized. The breast cancer cell line MCF-7 and normal HFF cell line were treated with different concentrations of NF-DOX, and its toxicity and relative expression of *P53* were measured.

Results: Examination and characterization of the synthesized compound of NF-DOX indicated its nanometer dimension. The drug's cytotoxic effect on MCF-7 cells was significantly greater compared with HFF cells and the control group ($P < 0.001$). The IC_{50} values (half-maximal inhibitory concentration) for MCF-7 and HFF cells treated with NF-DOX were 229 and 647 µg/ml, respectively. The relative gene expression levels of *P53* in MCF-7 and HFF cell lines compared with the controls were measured as 27.09 ± 0.51 and 0.57 ± 0.07, respectively. The relative gene expression of *P53* in MCF-7 and HFF cell lines showed a significant increase ($P < 0.0001$) and decrease ($P < 0.0006$) compared with controls, respectively.

Conclusion: Differential and significant changes in *P53* gene expression in cell lines indicate that NF-DOX may play an effective role in inhibition of breast cancer metastasis. The results showed a dose- and time-dependent anticancer effect of NF-DOX, and it can be considered as a candidate for a new anticancer drug.

Keywords: Gene Expression, Tumor Protein 53, Cytotoxicity, Breast Cancer, Silk Nanofibroin, Doxorubicin, Cell Cultur

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-12-06]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

Introduction

Fibroin nanoparticles (NF) derived from silk are one of the peptide nanoparticles with biological properties such as stimulating the immune system, the possibility of simultaneous loading of various drugs, preventing drug degradation, and performing aqueous processes with high load and stability (1-3). Due to the special properties of NF, these structures can be used to target the delivery of chemotherapeutic drugs, including doxorubicin. In this study, NF was used as a delivery system for doxorubicin, and the cytotoxicity of doxorubicin-containing silk fibroin nanoparticles (NF-DOX) in human foreskin fibroblast (HFF) and the cancer cell line MCF-7 was examined at different concentrations and treatment times. We also assessed the *P53* gene expression in treated cells.

Materials & Methods

In this study, the cytotoxicity of synthesized NF and its effect on gene expression of treated cells were evaluated in vitro. The extraction of NF, nanocarrier preparation, and drug loading and release assessment were done according to our pervious study (4). For the evaluation of toxicity, we treated MCF-7 and HFF cells with different doses of NF-DOX. RNA extraction, cDNA synthesis, and *P53* gene expression assessment were performed on cell lines treated with IC_{50} dose of the drug for 24 h. The *ACTB* gene (encoding β-actin) was used as an internal control. Statistical analysis was performed using SPSS 20 (Chicago, IL, USA) and GraphPad Prism (GraphPad Software Company, USA). The data were presented as mean± SD. The Mann-Whitney U test was used to compare groups with controls at a significance level of 0.01.

Results

Drug release was evaluated in normal and breast cancer cells. The maximum release of NF-DOX in 48 hours in HFF cells and MCF-7 cells was 37.9% and 59.6%, respectively. The viability of MCF-7 and HFF cells after NF-DOX treatment was assessed using the MTT assay. A significant dose-dependent inhibition of cell growth in a was observed compared with the control group ($P< 0.01$). The results showed that the toxicity of recombinant NF-DOX was dose and time dependent, with IC_{50} values for MCF-7 cells and HFF cells being 229 μg/ml and 647 μg/ml, respectively. In the NF-DOX group, the highest toxicity was observed in MCF-7 cells. Cytotoxicity increased with the improvement of the drug release system and the increase of the drug release stability at 72 hours after cell treatment. *P53* gene expression in comparison with the reference gene was significantly higher in MCF-7 cells ($P< 0.0001$) but was significantly lower in HFF cells ($P= 0.0006$).

Discussion

Doxorubicin effectively induced the apoptosis of cancer cells through a *P53*-dependent pathway. In our study, the significant change in the expression of this gene in MCF-7 cells could prove this important point. The use of a slow and targeted drug delivery system can double the effect of apoptosis in cancer cells compared with controls. On the other hand, some nanoparticles, especially metal oxide nanoparticles, carbon nanostructures, and protein nanoparticles, can also alter the expression of some genes. A noteworthy point about the effect of these nanostructures is the difference in their effect on gene expression in normal and cancer cells due to the different physiological conditions of these cells (5-9). In addition to the effect of NF on the slow and targeted release of doxorubicin, its competence in regulating apoptotic gene expression could increase both toxicity and effectiveness of such chemotherapy drugs in cancer cells.

In conclusion, the results show that the anticancer effect depends on the dose and exposure time of NF, and because of cytotoxic effects and induction of apoptosis in cancer cells, it can be considered a candidate for a new anticancer drug. On the other hand, distinct and significant changes in *P53* gene expression in cell lines indicates that NF-DOX is likely to play an effective role in inhibiting cancer cell metastasis. Further research in laboratory and living environments using animal models is needed to understand other properties of NF and its mechanisms of drug action.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

References

1. Silva JM, Videira M, Gaspar R, Préat V, Florindo HF. Immune system targeting by biodegradable nanoparticles for cancer vaccines. Journal of controlled release. 2013; 168(2):179-99.
2. .Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. Colloids and surfaces B: biointerfaces. 2010; 75(1):1-18.
3. Mottaghitalab F, Farokhi M, Shokrgozar MA, Atyabi F, Hosseinkhani H. Silk fibroin nanoparticle as a novel drug delivery system. Journal of Controlled Release. 2015; 206:161-76.
4. Zare-Zardini H, Yazdi SV, Zandian A, Zare F, Miresmaeili SM, Dehghan-Manshadi M, Fesahat F. Synthesis, characterization, and biological evaluation of doxorubicin containing silk fibroin micro-and nanoparticles. Journal of the Indian Chemical Society. 202; 98(10):100161.
5. Sharifian A, Baghbani-Arani F, Sahebjami H. Effect of topotycan and zinc oxide nanoparticles combination on cytotoxicity and P53 gene expression against breast cancer (MCF-7) cell line. Koomesh journal. 2020; 22(1):192-7.
6. Lee M-H, Thomas JL, Chen J-Z, Jan J-S, Lin H-Y. Activation of tumor suppressor p53 gene expression by magnetic thymine-imprinted chitosan nanoparticles. Chemical Communications. 2016; 52(10):2137-40.
7. Sangour MH, Ali IM, Atwan ZW, Al Ali AAALA. Effect of Ag nanoparticles on viability of MCF-7 and Vero cell lines and gene expression of apoptotic genes. Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 2021; 22(1):9.
8. Bassiony H, Sabet S, Salah El-Din TA, Mohamed MM, El-Ghor AA. Magnetite Nanoparticles Inhibit Tumor Growth and Upregulate the Expression of P53/P16 in Ehrlich Solid Carcinoma Bearing Mice. PLOS ONE. 2014; 9(11):e111960.
9. Chen D, Stueckle TA, Luanpitpong S, Rojanasakul Y, Lu Y, Wang L. Gene expression profile of human lung epithelial cells chronically exposed to single-walled carbon nanotubes. Nanoscale Research Letters. 2015; 10(1):12.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-12-06]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]

[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

فصلنامه بیماری های پستان ایران
۱۴۰۱؛ ۱۵(۱): ۷۱-۸۶

مقاله پژوهشی

بررسی میزان سمیت نانوذرات فیبروئین ابریشم حاوی داروی دوکسوروبیسین و تأثیر آن بر بیان ژن P53 در رده سلولی سرطان پستان

شقایق وجدانی نژاد یزدی[۱]، هادی زارع زردینی[۲]، سید محسن میر اسماعیلی[۱]، فرزانه فصاحت[۳*]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران
[۲] مرکز تحقیقات خون و انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران
[۳] مرکز تحقیقات ایمونولوژی تولیدمثل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۶/۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱

* نویسنده مسئول:
farzaneh.fesahat@gmail.com

چکیده

مقدمه: استفاده از سیستم‌های تحویل دارو می‌تواند کارایی شیمی‌درمانی را افزایش و عوارض جانبی آن را در درمان سرطان پستان کاهش دهد. هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر نانوذرات فیبروئین ابریشم حامل داروی دوکسوروبیسین (NF-DOX) بر بیان ژن *p53* در رده سلولی مبتلا به سرطان پستان و سنجش میزان سمیت آن در محیط آزمایشگاهی است.

روش بررسی: نانوذرات فیبروئین ابریشم حاوی داروی دوکسوروبیسین سنتز و مشخصه‌یابی شدند. رده سلولی سرطان پستان MCF-7 و رده سلولی نرمالHFF تحت تیمار با غلظت‌های مختلف NF-DOX قرار گرفتند و سمیت آن و بیان نسبی ژن *P53* اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بررسی و مشخصه‌یابی ترکیب سنتز شده NF-DOX نشان‌دهنده بعد نانومتری آن بود. میزان سمیت سلولی بر روی سلول‌های سرطانی MCF-7 در مقایسه با سلول‌های HFF و گروه کنترل افزایش معناداری را نشان داد (P< ۰/۰۰۱). همچنین، مقادیر IC50 (۵۰٪ رشد سلولی) به‌دست آمده از تیمار دارویی سلول‌های MCF7 و HFF با NF-DOX به‌ترتیب ۲۲۹، ۶۴۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. میانگین و انحراف معیار *p53* در رده‌های سلولی MCF7 و HFF در مقایسه با گروه کنترل به‌ترتیب ۰/۵۱± ۲۷/۰۹، ۰/۰۷±۰/۵۷ اندازه‌گیری شد. میزان بیان نسبی ژن *p53* در رده‌های سلولی MCF7 (P< ۰/۰۰۰۱) و HFF (P< ۰/۰۰۰۶) در مقایسه با سلول‌های کنترل به‌ترتیب افزایش و کاهش معناداری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: تغییرات متمایز و معنادار بیان ژن *P53* در رده‌های سلولی نشان‌دهنده آن است که NF-DOX احتمالاً در مهار متاستاز در سلول‌های سرطانی پستان نقش مؤثری ایفا می‌کنند. نتایج تحقیق نشان‌دهنده اثر ضد سرطانی وابسته به دوز و زمان NF-DOX بود و به دلیل اثرات سیتوتوکسیک در سلول‌های سرطانی، می‌توان آن را به‌عنوان کاندیدای یک دارویی جدید ضدسرطان در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، پروتئین ضد توموری ۵۳، سمیت سلولی، سرطان پستان، نانو فیبروئین ابریشم، دوکسوروبیسین، کشت سلول

[Downloaded from ijbd.ir on 2023-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

مقدمه

سرطان پستان شامل رشد بی‌رویه بدون کنترل سلول‌های غیرطبیعی است که شایع‌ترین سرطان در میان زنان مبتلا به سرطان پستان است (۱، ۲). روش‌های مرسوم درمان شامل جراحی، پرتودرمانی، هورمون‌درمانی، شیمی‌درمانی است (۳، ۴). مؤثرترین روش درمانی سرطان، شیمی‌درمانی است که به مدت زمان طولانی در درمان سرطان مؤثر است و دارای عوارض جانبی از قبیل کمبود آب، حلالیت و هدف‌گذاری غیراختصاصی و همچنین مقاومت دارویی پایین بعد درمان اولیه هستند (۵، ۶). در اوایل دهه ۱۹۶۰ آنتراسایکلین از رنگدانه تولیدکننده استرپتومایسین جدا گردید و دوکسوروبیسین نام‌گذاری شد (۷). شواهد حاکی از آن است که فرایندهای مولکولی نظیر آپوپتوز و استرس اکسیداتیو، چه از طریق مکانیسم‌های داخل سلولی و چه القای خارج سلولی باعث بروز آسیب DNA در سلول‌های جنسی و سوماتیک بدن می‌گردد (۸). یکی از عمده‌ترین مکانیسم‌های اثر ضدسرطانی ترکیبات مختلف، دخالت در تغییر بیان ژن در سلول‌های سرطانی است. یکی از اصلی‌ترین ژن‌های دخیل در سرطان، ژن *P53* است. ژن *P53* به‌عنوان یک سرکوب تومور عمل می‌کند و در سلول‌های فاقد استرس دارای عملکرد و بیان پائینی است (۹). در فرایندهایی همچون آسیب DNA، شوک حرارتی، وجود آنکوژن و سرکوب تومور نیز نقش دارد (۱۰، ۱۱). با وجود مؤثر بودن دوکسوروبیسین در انواع سرطان‌ها مصرف بالینی با دوز محدود نیز منجر به اختلال در عملکرد قلب می‌گردد (۱۲، ۱۳). دوکسوروبیسین با مهار آنزیم‌های توپوایزومراز باعث آسیب DNA و تشکیل گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS)[1] می‌شود. همچنین، دوکسوروبیسین باعث فعال شدن کاسپازها و در نهایت منجر به آپوپتوز می‌گردد (۱۴). کاهش سمیت داروی دوکسوروبیسین یکی از چالش‌های مهم در زمینه استفاده از این دارو است (۱۵، ۱۶). در راستای کاهش سمیت این دارو، استفاده از سیستم‌هایی که به‌صورت هدفمند دارو را به سلول سرطانی تحویل می دهند و از توزیع دارو در بافت‌های نرمال جلوگیری می‌کنند، یک راهکار منحصر به فرد و قابل توجه است. در این زمینه، نانو فناوری پزشکی با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد ترکیبات نانو (نسبت سطح به حجم بالا و اندازه کوچک) به‌عنوان یکی از روش‌های نوین به شمار می‌آید (۱۷، ۱۸). استفاده از نانوساختارهای مختلف و هدفمندسازی غیرفعال و فعال دارو برای ارسال دارو به بافت سرطانی، سبب می‌شود تا دارو به میزان کمتری در بافت‌های نرمال توزیع شود و اثر سمیت را بر بافت‌های نرمال از خود به‌جای بگذارد (۱۹، ۲۰). در بین انواع نانوساختارها، استفاده از نانوذرات پروتئینی به دلیل خواص ویژه از جمله زیست سازگاری و زیست تخریب‌پذیری، مورد توجه قرار گرفته است (۲۱، ۲۲). استفاده از نانوذرات پروتئینی در عرصه‌های مختلف طراحی دارو، به‌ویژه طراحی سامانه‌های دارو رسانی، جایگاه ویژه‌ای دارد. نانوذرات فیبروئین ابریشم[2] (NF)، یکی از انواع نانوذرات پروتئینی با ویژگی‌های زیستی نظیر تحریک سیستم ایمنی، امکان بارگذاری هم زمان داروهای متنوع، جلوگیری از تخریب دارو، انجام فرایندهای آبی برای بارگذاری و پایداری بالا است (۲۳-۲۵). با توجه به خواص ویژه NF، این ساختارها می‌توانند در هدفمندسازی تحویل داروهای شیمی‌درمانی از جمله داروی دوکسوروبیسین استفاده شوند. لذا با توجه به اهمیت کاهش سمیت داروی دوکسوروبیسین به‌عنوان یک داروی رایج شیمی‌درمانی و همچنین قابلیت‌های منحصر به فرد NF، در این مطالعه، از NF به‌عنوان یک سامانه تحویل برای داروی دوکسوروبیسین استفاده شد و سمیت سلولی نانو داروی فیبروئین ابریشم حاوی داروی دوکسوروبیسین[3] (Dox-NF) بر روی رده‌های سلولی نرمال[4] (HFF) و سرطانی[5] (MCF-7) در غلظت‌ها و

[1] Reactive Oxygen Species

[2] Silk Fibroin Nanoparticles
[3] Doxorubicin Containing Silk Fibroin Nanoparticles
[4] Human Foreskin Fibroblasts
[5] Michigan Cancer Foundation-7

[Downloaded from ijbd.ir on 2023-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

زمان‌های تیمار مختلف و همچنین بیان ژن *P53* در سلول‌های تیمار شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه از نوع تجربی است که از کمیته اخلاق در پژوهش جهاد دانشگاهی مشهد کد اخلاق به شماره IR.ACECR.JDM.REC.1400.008 را دریافت کرده است.

در این مطالعه، تمام داده‌های حاصل از بررسی عملکردهای نانوساختارهای سنتز شده مشتمل بر سمیت سلولی و تغییر بیان ژن، در محیط آزمایشگاهی[6] به‌دست آمد. لذا جامعه مورد بررسی، رده‌های سلولی HFF و MCF-7 است.

آماده‌سازی نانو حامل

سنتز نانوذرات توسط روش رسوب و خشک‌کردن انجمادی[7] انجام شد. پروتئین فیبروئین ابریشم مورد استفاده در این مطالعه از ۵ گرم پیله کرم ابریشم خالص‌سازی گردید. بدین منظور، پیله کرم ابریشم در آب مقطر حاوی کربنات سدیم ریخته شد و به مدت ۴۰ دقیقه حرارت داده و هم زده شد. فیبروئین استخراج شده جمع‌آوری و در آب مقطر خنک شد. محلول حاوی فیبروئین در زیر هود خشک شد. پروتئین فیبروئین خشک‌شده در محلول لیتیوم بروماید روی همزن به مدت ۷۰ دقیقه در دمای $70^{o}C$ حل شد و پس از این زمان، نمک‌زدایی توسط کیسه دیالیز به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. برای بارگذاری دارو، غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین با غلظت‌های مختلف محلول پروتئین فیبروئین آماده مخلوط شد. این محلول به روش خشک کردن انجمادی به مدت ۴۸ ساعت فرآوری و NF-DOX به‌دست آمد. سپس، نمونه‌ها در ویال‌های جداگانه جمع‌آوری و در یخچال نگهداری شدند. برای کاهش اندازه، از امواج فراصوت استفاده شد. نمونه‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)[8]، طیف سنجی مادون قرمز فوریه ترانسفر (FTIR)[9] و پراکندگی دینامیک نور (DLS)[10] مشخصه‌یابی شدند.

ارزیابی بارگیری و رهاسازی دارو

برای ارزیابی بارگذاری و رهاسازی دارو، ابتدا یک منحنی استاندارد بر اساس غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و جذب در ۴۸۰ نانومتر تهیه شد. برای ارزیابی بارگذاری دارو، ۱۵ میلی‌لیتر از محلول حاوی نانوسیستم طراحی شده، سانتریفیوژ و محلول رویی رقیق شد و میزان جذب در ۴۸۰ نانومتر خوانش شد. غلظت داروهای لود شده با منحنی استاندارد محاسبه شد. درصد بازده محبوس شدن (درصد دارویی که با موفقیت در نانوذرات محبوس می‌شود =٪EE) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

کل داروی اضافه شده به محلول - داروی محبوس نشده در سامانه نانویی/ کل داروی اضافه شده به محلول ×۱۰۰

ظرفیت بارگیری (درصد وزنی از ذرات نانو که از دارو تشکیل شده است= ٪ LC) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

٪LC = [داروی به دام افتاده/ وزن دارو]×۱۰۰

برای ارزیابی رهایش دارو، ۱۵ میلی‌گرم نانو ساختار طراحی شده در بافر فسفات سالین (PBS)[11] با PH=۷/۴ حل شد و در کیسه دیالیز ریخته شد. کیسه دیالیز به مدت ۴۸ ساعت در دمای $37^{o}C$ در بافر PBS غوطه‌ور شد. نمونه‌برداری از محیط بافر در اطراف کیسه دیالیز در زمان‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام شد. شرایط مشابه در بافر با PH= ۵/۴ در $40^{o}C$ تکرار شد. شرایط اول و دوم به عنوان محیط طبیعی و سرطانی سلول در نظر گرفته شد. غلظت داروی

[6] In-Vitro
[7] Spray–Freeze–Drying
[8] Scanning Electron Microscope
[9] Fourier-Tansform Infrared Spectroscopy
[10] Dynamic Light Scattering
[11] Phosphate Buffered Saline

[Downloaded from ijbd.ir on 2025-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

آزاد شده در محیط بافر بر اساس میزان جذب در nm ۴۸۰ و منحنی استاندارد محاسبه شد.

بررسی سمیت سلولی

رده‌های سلولی MCF-7 و HFF براساس پروتکل استاندارد در محیط کشت DMEM حاوی ۲۰٪ سرم جنین گاوی و ۰/۱٪ پنی‌سیلین به‌صورت تک لایه در فلاسک و در دمای $37^{\circ}C$، ۵٪ دی‌اکسید کربن و رطوبت اشباع انکوبه شدند. زمانی که سلول‌های کشت داده شده به تراکم سلولی ۹۰٪ در فلاسک رسیدند با استفاده از آنزیم تریپسین از کف فلاسک جدا شده و سپس به تعداد ۱۰۰۰۰ سلول زنده در هر چاهک در پلیت‌های جداگانه ۹۶ خانه‌ای، به مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه شدند. در طی مراحل کشت، رشد و تکثیر سلول‌ها توسط میکروسکوپ نوری معکوس مورد بررسی قرار گرفت. سپس سلول‌ها با میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف NF-DOX (۱۳۳۰، ۶۶۵، ۳۳۰، ۱۶۰، ۸۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تحت تیمار قرار گرفتند. گروه کنترل شامل رده‌های سلولی MCF-7 و HFF کشت داده شده و فاقد هرگونه تیمار دارویی NF-DOX بودند. تست بررسی سمیت سلولی[12](MTT) بعد از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از زمان تیمار دارویی با استفاده از روش MTT انجام شد. محلول MTT با غلظت نهایی ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در حجم ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک سلولی اضافه گردید. بعد از گذشت ۴ ساعت، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول DMSO به همه چاهک‌ها اضافه شده و بعد از ۱۰ دقیقه میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه الایزاریدر و در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

سلول‌های تیمار شده با نانو دارو در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف تحت استخراج RNA با استفاده از کیت Total RNA Extraction kit تهیه شده از شرکت پارس طوس قرار گرفتند. غلظت و خلوص RNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری[13] اندازه‌گیری شد. جهت سنتز cDNA از کیت Easy ™ cDNA Synthesis Kit(New) شرکت پارس طوس و مطابق دستورعمل آن استفاده گردید.

بررسی بیان ژن

برای اندازه‌گیری سطح mRNA از روش Quantitative real-time PCR و مستر میکس سایبرگرین حاوی رنگ زمینه ROX (شرکت یکتا تجهیز) و پرایمرهای ژنی *P53* و بتا اکتین[14](*ACTB*) به‌عنوان ژن‌های هدف و رفرنس استفاده شد (جدول ۱).

بررسی میزان بیان نسبی ژن *P53* در مقایسه با ژن رفرنس درهمه نمونه‌ها و به‌صورت دوبار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر واکنش با استفاده از مستر میکس (۱۰ میکرولیتر)، پرایمرها (۲ میکرولیتر)، cDNA (۱ میکرولیتر) و آب مقطر فاقد نوکلئاز (۷ میکرولیتر) با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و توسط دستگاه ABI [15] انجام شد.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۰، گراف پد نسخه ۸ و اکسل انجام شد. با توجه به غیرنرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون آماری مان-ویتنی[16] برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد. همچنین، سطوح $P< ۰/۰۱$ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

[12] MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5diphenyltetrazolium Bromide

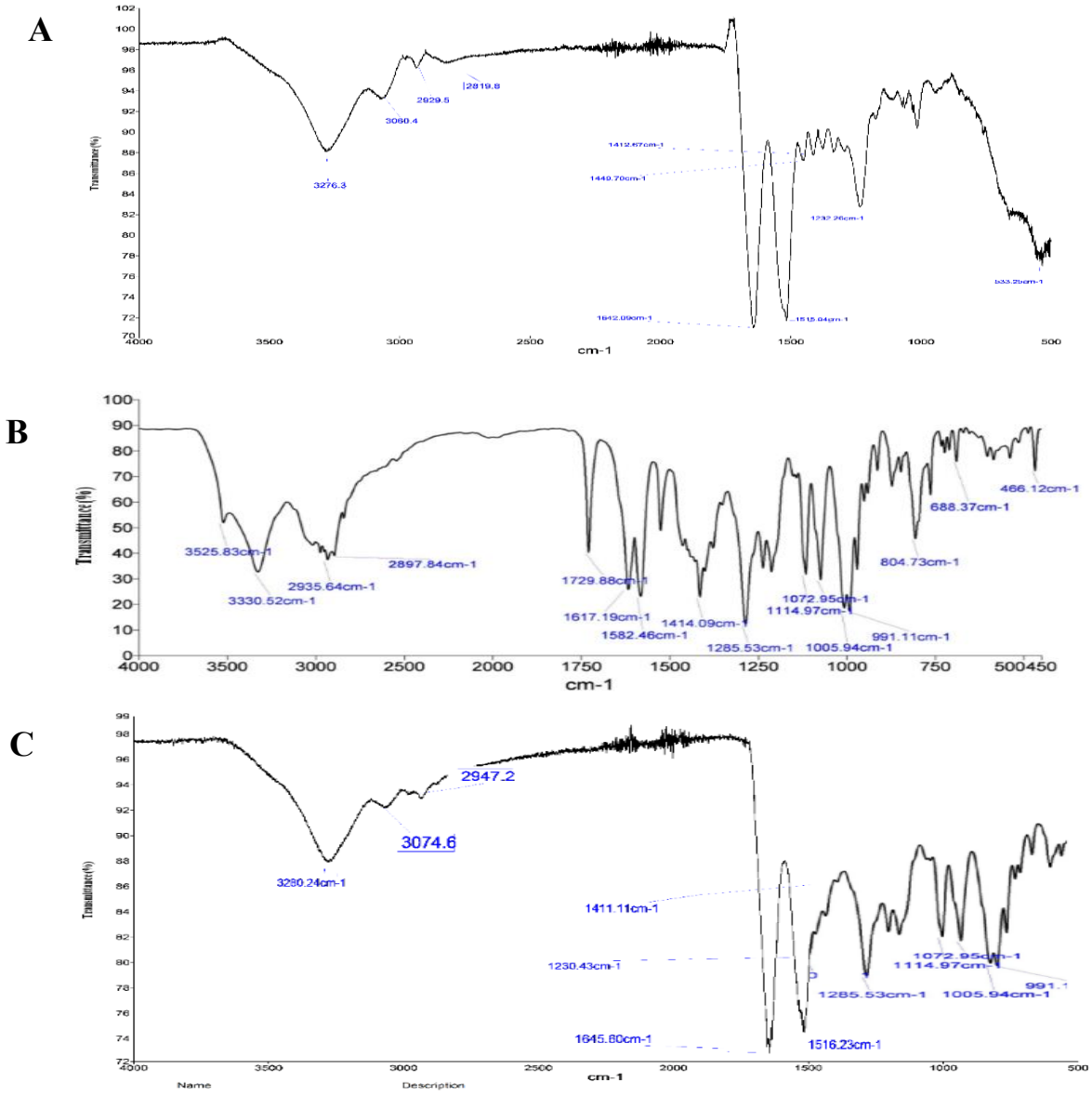
[13] Eppendorf Biophotometer
[14] Actin Beta
[15] Applied Biosystems Thermal Cyclers
[16] Mann–Whitney U Test

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

جدول۱: توالی‌های پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی مورد استفاده برای بررسی بیان ژن

ژن	توالی پرایمر ('3-'5)	کد شناسه NCBI	اندازه محصول (جفت باز)
P53	Forward- AGGTTGGCTCTGACTGTACC Reverse - GATTCTCTTCCTCTGTGCGC	NM_001126118.2	۱۹۵
ACTB	Forward - CTGGAACGGTGAAGGTGACA Reverse -AAGGGACTTCCTGTAACAATGCA	NM-011577.2	۱۴۰

P53: Antitumor protein 53
ACTB: Actin Beta



شکل۱: نانو ساختارهای طراحی‌شده نانوذرات فیبروئین ابریشم (A)، دوکسوروبیسین (B) و نانوذرات فیبروئین ابریشم-دوکسوروبیسین (C). در این نمودار درصد نور عبوری از نمونه در طول موج‌های مختلف نور مادون قرمز سنجش شده است. پیک‌ها، نشان‌دهنده کاهش درصد نور عبوری و افزایش میزان جذب نور در طول موج مذکور توسط نمونه آنالیز شده است که این افزایش جذب نشان‌دهنده وجود یک گروه عاملی مشخص است.

[Downloaded from ijbd.ir on 2020-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

یافته‌ها

نتایج تجزیه و تحلیل FTIR در شکل ۱ نشان داده شده است. تفاوت الگوی پیک‌ها در فیبروئین، دوکسوروبیسین و ترکیب NF-DOX، نشان‌دهنده موفقیت در کونژوگاسیون دوکسوروبیسین و فیبروئین است. وجود پیک‌های شاخص ۲۸۴۵، ۱۲۸۲، ۱۲۱۲ و ۹۸۸ cm^{-1} در طیف NF-DOX که مربوط به گروه‌های عملکردی دوکسوروبیسین (کینون و کربونیل‌ها) و همچنین تشکیل پیوندهای آمید بین گروه کربوکسیلیک اسید دوکسوروبیسین و گروه آمین نانوفیبرین است، نشان‌دهنده بارگذاری موفق دارو است.

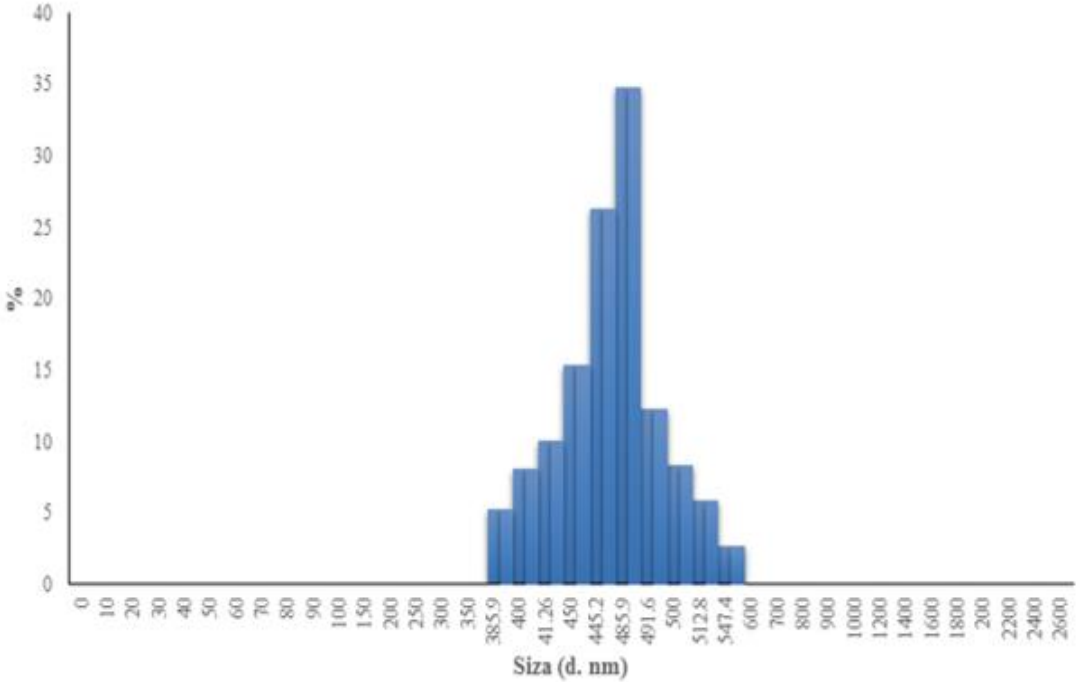
ارزیابی اندازه ذرات توسط DLS نشان داد که اندازه نانوفیبرین ۴۸۵/۹ نانومتر بوده است (شکل ۲). ارزیابی مورفولوژی و اندازه توسط SEM انجام شد و ابعاد ذرات سنتز شده مشخص گردید (شکل ۳).

پتانسیل زتا و شاخص PDI برای ذرات سنتز شده به‌ترتیب ۲۱/۳- و ۰/۱۸۷ بود. NF-DOX کوچک‌تر از NF بودند. بر اساس شکل ۴ و معادلات ۱ و ۲درصد EE و LC به‌ترتیب ۹۵/۲٪ و ۳۴/۵٪ بود.

ما همچنین رهاسازی دارو را در دو شرایط مختلف ارزیابی کردیم: سلول‌های طبیعی و سرطانی (شکل ۵).

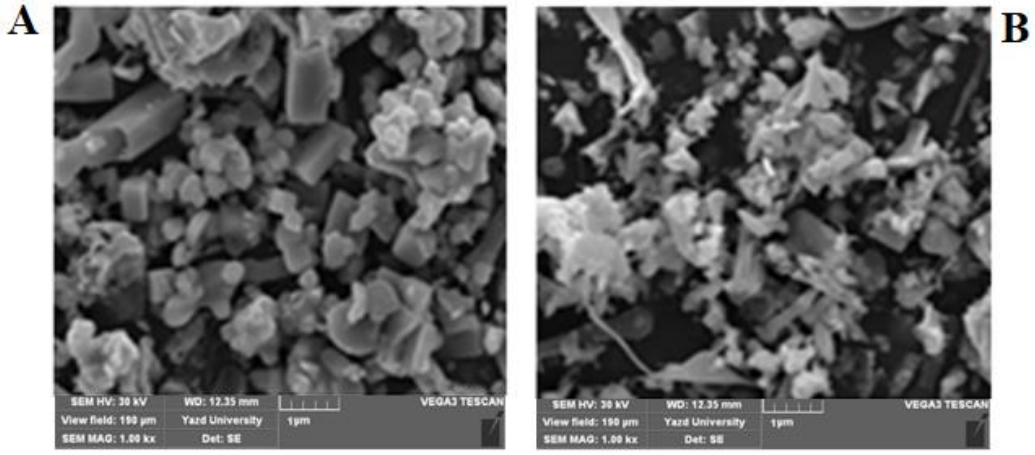
معنی‌دار رشد سلول‌ها به‌صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل گردید (P< ۰/۰۱) (شکل ۶ و جدول ۲).

بر اساس این شکل، حداکثر رهایش داروی NF-DOX، طی ۴۸ ساعت به‌ترتیب در شرایط طبیعی و سلول‌های سرطانی ۳۷/۹ و ۵۹/۶٪ بود. فعالیت متابولیک سلول‌های زنده که نشان‌دهنده گسترش و زنده ماندن است، پس از تیمار دارویی NF-DOX بر روی سلول‌های MCF-7 و HFF، با استفاده از آزمون MTT انجام شد و میزان زیست‌تایی سلول محاسبه گردید که منجر به مهار معنی‌دار رشد سلول‌ها به‌صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل گردید (P< ۰/۰۱) (شکل ۶ و جدول ۲).

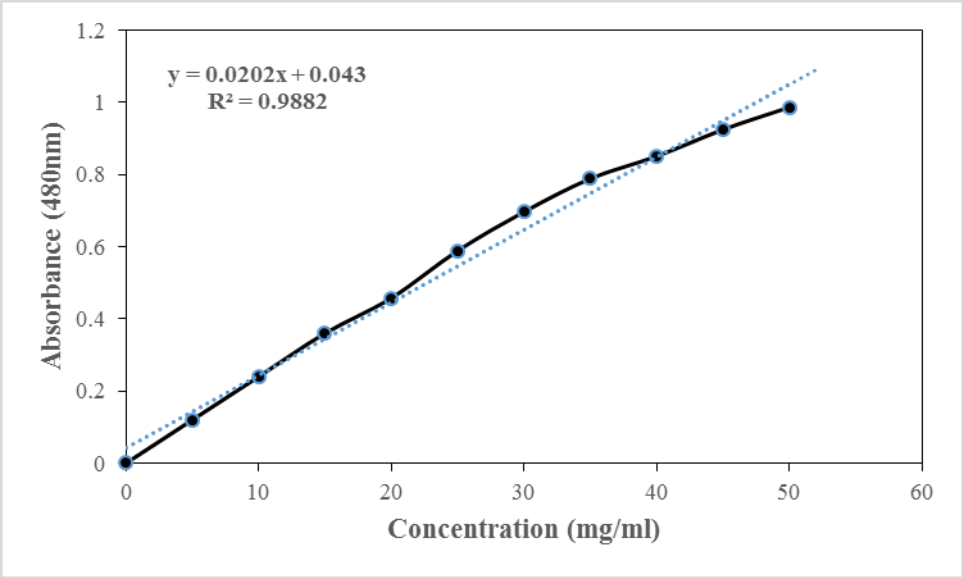


شکل۲: داده‌های DLS نانوذرات فیبروئین ابریشم-دوکسوروبیسین. در این نمودار توزیع درصد فراوانی نانوذرات بر اساس اندازه مشخص شده است. بیشترین فراوانی در این نمودار مربوط به ذرات با اندازه ۴۸۵/۹ نانومتر است.

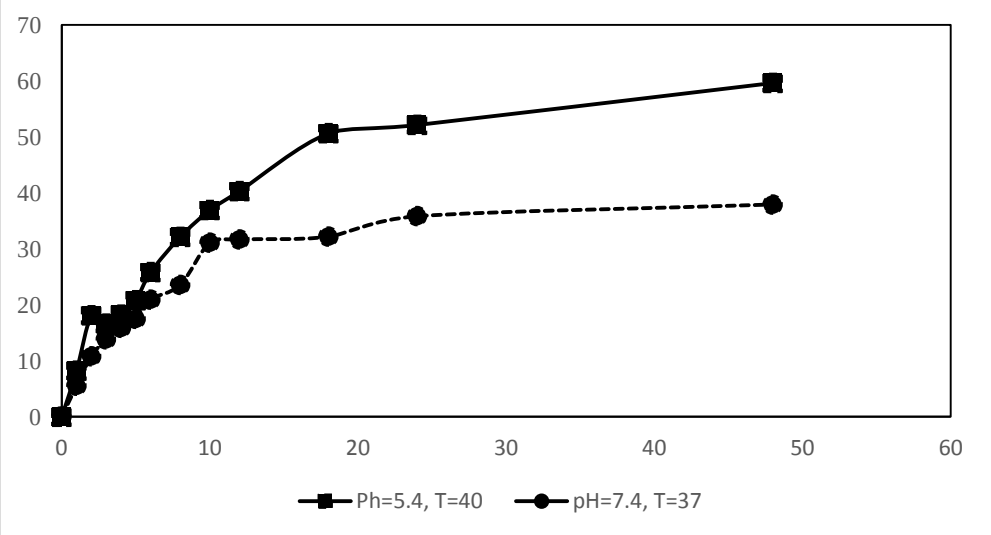
[Downloaded from ijbd.ir on 2026-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]



شکل ۳: تصاویر SEM از نانوذرات فیبروئین ابریشم (A)، نانوذرات فیبروئین ابریشم-دوکسوروبیسین (B)

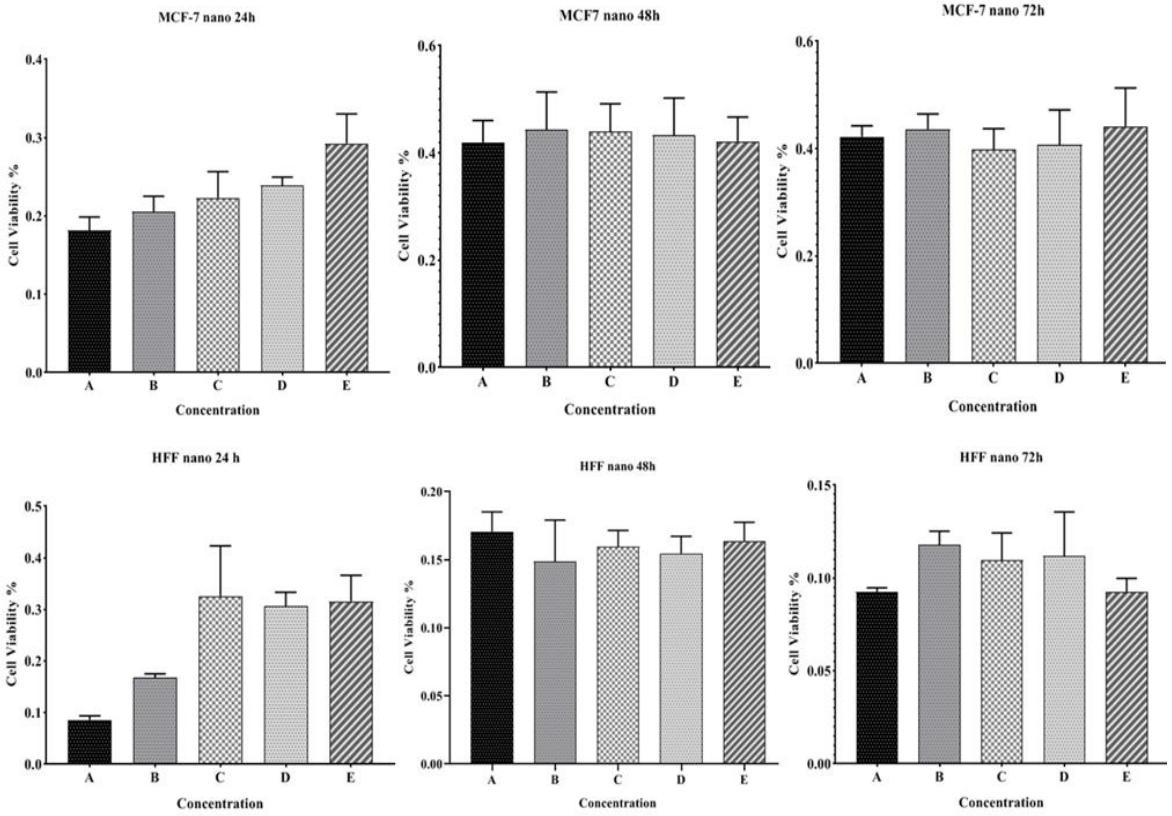


شکل ۴: منحنی استاندارد دوکسوروبیسین بر اساس جذب در ۴۸۰ nm



شکل۵: نمودار رهایش دارو از منحنی استاندارد دوکسوروبیسین بر اساس میزان جذب نانوذرات فیبروئین ابریشم-دوکسوروبیسین در ۴۸۰ nm و در شرایط عادی سلول (PH= ۷/۳ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) و سرطان (PH= ۴/۵ و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد)

[Downloaded from ijbd.ir on 2023-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]



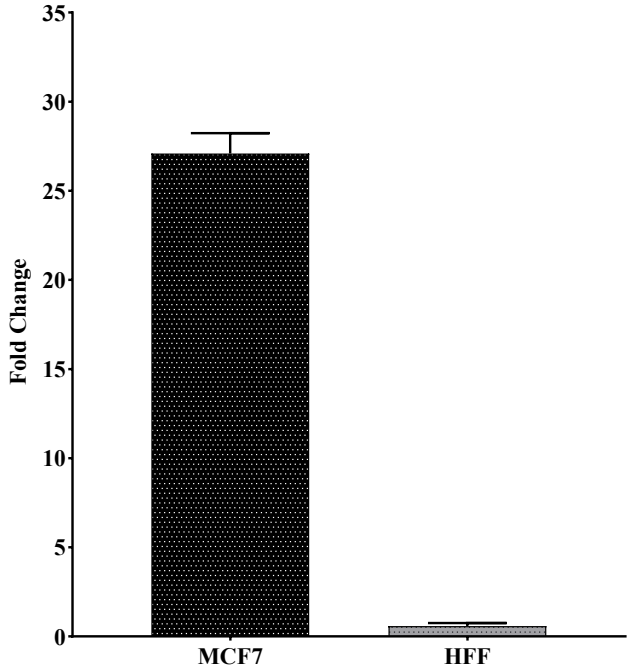
شکل ۶: محور افقی نمودارها: A) غلظت ۱۳۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر B) غلظت ۶۶۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر C) غلظت ۳۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر D) غلظت ۱۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر E) غلظت ۸۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر. داده‌ها میانگین درصد زنده‌مانی سلولی ۳ بار تکرار مستقل به همراه انحراف از میانگین هستند.

جدول ۲: نتایج IC50 به‌دست‌آمده از اثر Dox-NF بر روی رده سلولی MCF-7،HFF برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر

رده سلولی مورد آزمایش	IC50
MCF7	۰/۲۳
HFF	۰/۶۵

نتایج حاصل از سمیت سلولی نشان می‌دهد که سمیت داروی نوترکیب Dox-NF وابسته به غلظت و زمان است، به‌گونه‌ای که کمترین بقای سلول‌های سرطانی رده MCF-7 تیمار شده مربوط به غلظت ۲۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر است و رده سلولی HFF برابر ۶۴۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد و با کاهش غلظت NF-DOX از میزان سمیت کاسته و بر میزان بقای سلول‌ها افزوده می‌شود. در گروه Dox-NF بیشترین سمیت مربوط به MCF-7 است از طرفی با بهبود سیستم رهایش دارو و افزایش میزان پایداری رهایش دارو در زمان ۷۲ ساعت پس از تیمار سلول‌ها میزان سمیت سلولی افزایش یافت. افزایش معنادار بیان ژن *P53* در مقایسه با ژن رفرنس در رده سلولی MCF-7 (P<۰/۰۰۰۱) و کاهش معنادار HFF (P< ۰/۰۰۰۶) نسبت به سلول‌های کنترل مشاهده گردید (شکل ۷).

[Downloaded from ijbd.ir on 2020-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]



شکل۷: مقایسه میزان بیان ژن *P53* در بین سلول‌های مختلف تیمار شده با NF.

سطح معنی‌داری P< ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شده است. داده‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در بیان سطح ژن *P53* در رده سلولی MCF-7 (P< ۰/۰۰۰۱) و HFF (P< ۰/۰۰۰۶) است

بحث

سیستم دارورسانی نوین به‌منظور کاهش عوارض جانبی داروها موردتوجه قرار گرفته است (۲۶). برای تهیه نانوذرات از مواد مختلف بیولوژیکی استفاده می‌شود (۲۷). NF دارای خواصی از قبیل قدرت مکانیکی قوی، سازگاری زیستی و تجزیه بیولوژیکی برای کاربرد در مهندسی بافت و سیستم‌های تحویل دارو است (۲۵). هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر NF-DOX بر بیان ژن *P53* در رده سلولی سرطان پستان و سنجش میزان سمیت آن در محیط آزمایشگاهی بود. بررسی سینتیک رهایش دارو از سامانه نشان داد که NF منجر به‌سرعت رهایش متفاوتی در محیط‌های مختلف می‌گردند؛ به‌گونه‌ای که در محیط اسیدی، انتشار دارو سریع‌تر از محیط خنثی رخ می‌دهد. پس از ۴۸ ساعت، ۵۹/۶ NF-DOX در PH= ۵/۴ و در دمای ۴۰°C آزاد شد، درحالی‌که ۳۷/۹٪ از NF-DOX در PH= ۷/۳ و در دمای ۳۷°C آزاد شد. یکی از نواقص داروهای شیمی‌درمانی توزیع یکنواخت آن‌ها در تمام سلول‌ها و چینی‌جاها، اعم از طبیعی و سرطانی است (۵۴). انتشار هدفمند این داروها، بر اساس خواص بیوفیزیکی و بیوشیمیایی مختلف سلول‌های سرطانی، یکی از راه‌های اصلی رفع این نقص است (۵۵، ۵۶). یکی از این تفاوت‌های قابل‌توجه این است که سیستم‌های تحویل حساس به PH طراحی گردد (۵۷، ۵۸). این سیستم‌های تحویل دارویی حساس به PH می‌توانند داروی بارگذاری شده را در زمان و مکان خاصی تحویل دهند و در نتیجه باعث افزایش اثر درمانی و کاهش عوارض جانبی شود (۵۹). از سوی دیگر، آزادسازی آهسته دارو منجر به کاهش دوزهای تجویز شده دارو در همان زمان می‌شود (۶۰). این امر همچنین منجر به کاهش هزینه درمان و عوارض جانبی می‌گردد (۶۱). نرخ آزادسازی بیشتر دوکسوروبیسین از Dox-NF در PH اسیدی ممکن است به دلیل اتصال بین گروه کربوکسیلیک دوکسوروبیسین و NF باشد. در محیط اسیدی، به دلیل غلظت بالای

[Downloaded from ijbd.ir on 2023-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

پروتون، پروتون‌دهی مجدد گروه‌های آمینه، می‌تواند منجر به آزاد شدن دارو شود. یافته‌های به‌دست آمده از نتایج، MTTنشان داد که NF-DOX اثر ضد سرطانی معنی‌داری بر روی سلول MCF-7 دارند که این اثر در مقایسه با سلول‌های HFF و کنترل معنی‌دار بود. اثر مشاهده شده به‌صورت وابسته به دوز داروها و زمان مشاهده گردید. مقادیر IC50 برای سلول سرطانی کمتر از سلول‌های نرمال بود. لی و همکاران در مطالعه خود در NF برای بارگذاری هم‌زمان دو دارو استفاده کردند و نشان دادند که NF حاوی داروی ۵-فلورواوراسیل و کورکومین در مقایسه با حامل‌های تک دارویی، اثرات ضدسرطانی مؤثرتری برای مهار رشد سلول‌های سرطان پستان دارد. این گروه نشان دادند که سمیت این سامانه‌های دو دارویی به همان میزان بر روی سلول‌های نرمال نیز بیشتر است (۲۸). در مطالعه ما، استفاده از NF برای بارگذاری داروی دوکسوروبیسین منجر به اختلاف معنی‌دار سمیت دارو بر روی سلول‌های نرمال و سرطانی شد. با توجه به مطالعه ما و مطالعات مشابه، چون رهایش داروهای مختلف بارگذاری شده بر روی سامانه NF با مکانیسم و آهنگ زمانی مختلف رخ می‌دهد، لذا بارگذاری هم‌زمان چند دارو در مقایسه با بارگذاری یک دارو، می‌تواند چالش‌های رهایش در زمان‌های مختلف را به دنبال داشته باشد و داروها با آهنگ زمانی متفاوت و تمایل متفاوت در سلول‌های سرطانی و نرمال آزاد شوند و این امر کنترل دسترس‌پذیری دارو را دشوارتر سازد (۲۹). وو و همکاران با ارزیابی NF الحاق شده به هیدروژل‌های فیبروئینی نشان دادند که این نانوساختار می‌تواند یک پلتفرم تحویل داروی مؤثر برای مهار رشد تحویل هدفمند داروها و مهار رشد تومورها باشد (۳۰). مطالعه ما نیز، این مهم را در مورد داورسانی داروی NF-DOX نشان داد. زمانی و همکاران در سال ۱۳۹۷ به مطالعه بر روی اثرات ضدمتاستاتیک و کشندگی نانو ذرات اکسید سریم در رده سلولی سرطان پستان MCF-7 و T47D پرداختند. رده‌های سلولی سرطان پستان MCF-7، T47D و سلول نرمال HEK-239 تحت تیمار با نانوذرات مشابه قرار گرفتند و تحت آنالیز MTT برای ارزیابی سمیت نانوذرات قرار گرفتند. سپس میزان بیان ژن‌های *NM23* و*kal-1* اندازه‌گیری شد. میزان بیان پروتئین P53 یک فاکتور مهم نشان‌دهنده سمیت سلول در شیمی‌درمانی است (۳۱). پروتئین P53 نقش تنظیم‌کننده اصلی در تغییرات رونویسی ناشی از دوکسوروبیسین را دارد (۳۲). نشان داده شده که استفاده بالینی از دوکسوروبیسین با عوارضی از قبیل اختلال قلب یا نارسایی قلبی همراه است (۳۳). گزارش شده است که دوکسوروبیسین به‌واسطه ژن *P53* اثر متفاوتی بر رده‌های سلولی مختلف دارد (۳۴). kelkal و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که پروتئین P53 منجر به تنظیم رونویسی منفی ژن پروتئین انتقال‌دهنده سدیم یدید انسانی در سرطان پستان می‌شود و همین امر می‌تواند اثر درمانی تکنیک‌های مختلف مانند رادیوتراپی و کموتراپی را تغییر دهد (۳۵). Sun و همکاران نشان دادند که فعالیت القای آپوپتوز توسط داروی دوکسوروبیسین در سلول‌های سرطانی با واسطه ژن *P53* انجام می‌شود (۳۶). در مورد سایر ترکیبات ضدسرطانی مشابه نیز، ژن *P53* به‌عنوان یک میانجی‌گر کلیدی در آپوپتوز القا شده از طریق تخریب DNA در نظر گرفته شده است و به عنوان یک فاکتور اساسی برای سمیت سلولی این ترکیبات شناخته شده است (۳۷-۴۰). داروی دوکسوروبیسین با القای مؤثر آپوپتوز از طریق مسیری وابسته به ژن *P53* منجر به مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود. در مطالعه ما نیز تغییر بیان این ژن در رده سرطانی مورد مطالعه، این مهم را اثبات می‌کند. استفاده از سیستم تحویل دارو و رهایش آهسته و هدفمند دارو می‌تواند این اثر را دو چندان کند که این تأثیر در مطالعه ما با مقایسه سلول‌های نرمال و سرطانی مشخص گردید. یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر، افزایش معنادار بیان ژن *P53* در رده سلولی MCF-7 نسبت به گروه سلول نرمال و گروه کنترل را نشان داد. در این مطالعه NF در رده سلولی HFF کاهش یافته که نشان‌دهنده تأثیر کم *P53* در رده

[Downloaded from ijbd.ir on 2023-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

سلولی است. از طرف دیگر، برخی از نانو ذرات به‌ویژه نانوذرات اکسید فلزی، نانو ساختارهای کربنی و نانو ذرات پروتئینی نیز می‌توانند در بیان برخی ژن‌ها تغییر ایجاد کنند. مطالعات مختلف این اثر را در مورد این نانوساختارها نشان داده است. نکته قابل‌توجه در مورد این اثر نانو ساختارها، تفاوت تأثیر آن‌ها بر روی بیان ژن در سلول‌های نرمال و سرطانی به دلیل شرایط فیزیولوژیکی متفاوت این سلول‌هاست (۴۱-۴۶). در مطالعه ما نیز این تفاوت مشهود است، به‌گونه‌ای که تأثیر نانو ذرات مورد بررسی بر روی بیان ژن *P53* در سلول‌های نرمال و سرطانی به طور معنی‌داری متفاوت است. این سبب می‌شود تا علاوه بر تأثیر NF برای رهایش آهسته و هدفمند داروی دوکسوروبیسین، بتوان از تفاوت ایجاد شده در بیان ژن نیز در راستای افزایش کارایی داروهای شیمی‌درمانی استفاده کرد و میزان سمیت دارو بر روی سلول‌های سرطانی را افزایش داد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان‌دهنده اثر ضدسرطانی وابسته به دوز و زمان NF است و به دلیل اثرات سیتوتوکسیک و القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی، می‌توان آن را به عنوان کاندیدای یک دارویی جدید ضدسرطان در نظر گرفت. از طرف دیگر تغییرات متمایز و معنادار بیان ژن *P53* در رده‌های سلولی نشان‌دهنده آن است که Dox-NF احتمالاً در مهار متاستاز سلول‌های سرطانی نقش مؤثری ایفا خواهند کرد. برای پی بردن به دیگر خواص NF و مکانیسم‌های عملکرد دارویی آن تحقیقات بیشتری در محیط آزمایشگاهی و محیط زنده با استفاده از مدل‌های حیوانی مورد نیاز است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Mitra AK, Agrahari V, Mandal A, Cholkar K, Natarajan C, Shah S, et al. Novel delivery approaches for cancer therapeutics. Journal of controlled release. 2015; 219:248-68.
2. Luis C, Castaño-Guerrero Y, Soares R, Sales G, Fernandes R. Avoiding the interference of doxorubicin with MTT measurements on the MCF-7 breast cancer cell line. Methods and protocols. 2019; 2(2):29.
3. Kandoth C, McLellan MD, Vandin F, Ye K, Niu B, Lu C, et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. Nature. 2013; 502(7471):333-9.
4. Wang C, Yang W, Dong F, Guo Y, Tan J, Ruan S, et al. The prognostic role of Sirt1 expression in solid malignancies: a meta-analysis. Oncotarget. 2017; 8(39):66343.
5. Wyss A, Hashibe M, Chuang S-C, Lee Y-CA, Zhang Z-F, Yu G-P, et al. Cigarette, cigar, and pipe smoking and the risk of head and neck cancers: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. American journal of epidemiology. 2013; 178(5):679-90.
6. Biswas S, Torchilin VP. Nanopreparations for organelle-specific delivery in cancer. Advanced drug delivery reviews. 2014; 66:26-41.
7. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. Pharmacological reviews. 2004; 56(2):185-229.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

8. Talebi AR, Fesahat F, Mangoli E, Ghasemzadeh J, Nayeri M, Sadeghian-Nodoshan F. Relationship between sperm protamine deficiency and apoptosis in couples with unexplained repeated spontaneous abortions. International Journal of Reproductive BioMedicine. 2016; 14(3):199.
9. Yue X, Zhao Y, Xu Y, Zheng M, Feng Z, Hu W. Mutant p53 in cancer: accumulation, gain-of-function, and therapy. Journal of molecular biology. 2017; 429(11):1595-606.
10. Pappas K, Xu J, Zairis S, Resnick-Silverman L, Abate F, Steinbach N, et al. p53 maintains baseline expression of multiple tumor suppressor genes. Molecular Cancer Research. 2017; 15(8):1051-62.
11. Gupta A, Shah K, Oza MJ, Behl T. Reactivation of p53 gene by MDM2 inhibitors: A novel therapy for cancer treatment. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019; 109:484-92.
12. Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, McLeod H, Klein TE, et al. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. Pharmacogenetics and genomics. 2011; 21(7):440.
13. Iarussi D, Pisacane C, Indolfi P, Casale F, Martino V, Di Tullio MT. Evaluation of left ventricular function in long- term survivors of childhood Hodgkin disease. Pediatric blood & cancer. 2005; 45(5):700-5.
14. Goodnow Jr RA, Davie CP. DNA-encoded library technology: a brief guide to its evolution and impact on drug discovery. Annual Reports in Medicinal Chemistry. 2017; 50:1-15.
15. Rawat PS, Jaiswal A, Khurana A, Bhatti JS, Navik U. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2021; 139:111708.
16. Dallons M, Schepkens C, Dupuis A, Tagliatti V, Colet J-M. New Insights About Doxorubicin-Induced Toxicity to Cardiomyoblast-Derived H9C2 Cells and Dexrazoxane Cytoprotective Effect: Contribution of In Vitro1H-NMR Metabonomics. Frontiers in Pharmacology. 2020; 11(79).
17. Sanna V, Pala N, Sechi M. Targeted therapy using nanotechnology: focus on cancer. International journal of nanomedicine. 2014; 9:467.
18. Xu X, Ho W, Zhang X, Bertrand N, Farokhzad O. Cancer nanomedicine: from targeted delivery to combination therapy. Trends in molecular medicine. 2015; 21(4): 223-32.
19. Danmaigoro A, Selvarajah GT, Mohd Noor MH, Mahmud R, Abu Bakar MZ. Toxicity and Safety Evaluation of Doxorubicin-Loaded Cockleshell-Derived Calcium Carbonate Nanoparticle in Dogs. Advances in Pharmacological Sciences. 2018; 2018:4848602.
20. Chen J, Qian C, Ren P, Yu H, Kong X, Huang C, et al. Light-Responsive Micelles Loaded With Doxorubicin for Osteosarcoma Suppression. Frontiers in Pharmacology. 2021; 12(1378).
21. Kianfar E. Protein nanoparticles in drug delivery: animal protein, plant proteins and protein cages, albumin nanoparticles. Journal of Nanobiotechnology. 2021; 19(1):159.
22. Nguyen B, Tolia NH. Protein-based antigen presentation platforms for nanoparticle vaccines. npj Vaccines. 2021; 6(1):70.
23. Silva JM, Videira M, Gaspar R, Préat V, Florindo HF. Immune system targeting by biodegradable nanoparticles for cancer vaccines. Journal of controlled release. 2013; 168(2):179-99.
24. Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. Colloids and surfaces B: biointerfaces. 2010; 75(1):1-18.
25. Mottaghitalab F, Farokhi M, Shokrgozar MA, Atyabi F, Hosseinkhani H. Silk fibroin nanoparticle as a novel drug delivery system. Journal of Controlled Release. 2015; 206:161-76.
26. Mottaghitalab F, Hosseinkhani H, Shokrgozar MA, Mao C, Yang M, Farokhi M. Silk as a potential candidate for bone tissue engineering .Journal of controlled release. 2015; 215:112-28.
27. Hao Y, Wang L, Zhao Y, Meng D, Li D, Li H, et al. Targeted imaging and chemo-phototherapy of brain cancer by a multifunctional drug delivery system. Macromolecular bioscience. 2015; 15(11): 1571-85.
28. Li H, Tian J, Wu A, Wang J, Ge C, Sun Z. Self-assembled silk fibroin nanoparticles loaded with binary drugs in the treatment of breast carcinoma. International journal of nanomedicine. 2016; 11:4373-80.
29. Mottaghitalab F, Kiani M, Farokhi M, Kundu SC, Reis RL, Gholami M, et al. Targeted Delivery System Based on Gemcitabine-Loaded Silk Fibroin Nanoparticles for Lung Cancer Therapy. ACS applied materials & interfaces. 2017; 9(37):31600-11.

[Downloaded from ijbd.ir on 2023-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]

30. Wu P, Liu Q, Wang Q, Qian H, Yu L, Liu B, et al. Novel silk fibroin nanoparticles incorporated silk fibroin hydrogel for inhibition of cancer stem cells and tumor growth. International journal of nanomedicine. 2018; 13:5405.
31. Varley J. Germline TP53 mutations and Li-Fraumeni syndrome. Human mutation. 2003; 21(3):313-20.
32. McSweeney KM, Bozza WP, Alterovitz W-L, Zhang B. Transcriptomic profiling reveals p53 as a key regulator of doxorubicin-induced cardiotoxicity. Cell death discovery. 2019; 5(1):1-11.
33. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, Lu L-S, Lyu YL, Liu LF, et al .Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. Nature medicine. 2012; 18(11): 1639-42.
34. Moslehi J, Amgalan D, Kitsis RN. Grounding cardio-oncology in basic and clinical science. Circulation. 2017;136(1):3-5.
35. Kelkar MG ,Thakur B, Derle A, Chatterjee S, Ray P, De A. Tumor suppressor protein p53 exerts negative transcriptional regulation on human sodium iodide symporter gene expression in breast cancer. Breast cancer research and treatment. 2017; 164(3):603-15.
36. Sun Y, Xia P, Zhang H, Liu B, Shi Y. P53 is required for Doxorubicin-induced apoptosis via the TGF-beta signaling pathway in osteosarcoma-derived cells. Am J Cancer Res. 2015; 6(1):114-25.
37. Guo W, Wang X, Feng C. P53 gene abnormalities in osteosarcoma. Chinese medical journal. 1996; 109(10):752-5.
38. Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, Housman DE. p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. Cell. 1993; 74(6):957-67.
39. Overholtzer M, Rao PH, Favis R, Lu XY, Elowitz MB, Barany F, et al. The presence of p53 mutations in human osteosarcomas correlates with high levels of genomic instability. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2003; 100(20):11547-52.
40. Spina A, Sorvillo L, Di Maiolo F, Esposito A , D'Auria R, Di Gesto D, et al. Inorganic phosphate enhances sensitivity of human osteosarcoma U2OS cells to doxorubicin via a p53-dependent pathway. Journal of cellular physiology. 2013; 228(1):198-206.
41. Sharifian A, Baghbani-Arani F, Sahebjami H. Effect of topotycan and zinc oxide nanoparticles combination on cytotoxicity and P53 gene expression against breast cancer (MCF-7) cell line. Koomesh journal. 2020; 22(1):192-7.
42. Lee M-H, Thomas JL, Chen J-Z, Jan J-S, Lin H-Y. Activation of tumor suppressor p ٥٣gene expression by magnetic thymine-imprinted chitosan nanoparticles. Chemical Communications. 2016; 52(10):2137-40.
43. Sangour MH, Ali IM, Atwan ZW, Al Ali AAALA. Effect of Ag nanoparticles on viability of MCF-7 and Vero cell lines and gene expression of apoptotic genes. Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 2021; 22(1):9.
44. Prabha S, Sharma B, Labhasetwar V. Inhibition of tumor angiogenesis and growth by nanoparticle-mediated p53 gene therapy in mice. Cancer Gene Therapy. 2012; 19(8):530-7.
45. Bassiony H, Sabet S, Salah El-Din TA, Mohamed MM, El-Ghor AA. Magnetite Nanoparticles Inhibit Tumor Growth and Upregulate the Expression of P53/P16 in Ehrlich Solid Carcinoma Bearing Mice. PLOS ONE. 2014; 9(11):e111960.
46. Chen D, Stueckle TA, Luanpitpong S, Rojanasakul Y, Lu Y, Wang L. Gene expression profile of human lung epithelial cells chronically exposed to single-walled carbon nanotubes. Nanoscale Research Letters. 2015; 10(1):12.

[Downloaded from ijbd.ir on 2020-12-06]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1401.15.1.2.6]
[DOI: 10.30699/ijbd.15.1.71]