IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران
سال ۱۴۰۴، دوره ۹، پیاپی ۱۹، صفحه ۲۰۲-۱۸۵

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضد سرطانی مهار فاکتور رونویسی Sox2 با استفاده از نانوحامل نیوزومی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله در رده سلولی سرطان پستان (MDA-MB-231)

بهروز جوهری[۱]، فرزاد سردارزاده[۲]، وحیده سلیمی[۲]، هستی سروش‌نسب[۲]، سعید کابلی[۲]، محمود غرباوی[۳،*]

۱. مرکز تحقیقات نانوفناوری دارویی زنجان، دانشگاه علـوم پزشـکی زنجان، زنجان، ایران
۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانـشکده پزشـکی، دانشگاه علـوم پزشـکی زنجان، زنجان، ایران
۳. مرکز تحقیقات نانوفناوری، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۵ آذر ۱۴۰۴ پذیرش: ۱۳ بهمن ۱۴۰۴

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان، شایع‌ترین نوع سرطان در جمعیت زنان در ایران به شمار می‌آید. با توجه به نقش فاکتورهای کلیدی رونویسی مانند Sox2 در حفظ وضعیت پرتوانی، رویکرد «تمایز درمانی» به‌عنوان استراتژی هدفمند و با سمیت کمتر، جهت برهم‌زدن حالت بنیادینگی سلول‌های سرطانی پیشنهادشده است. در این مطالعه، فاکتور رونویسی Sox2 با استفاده از الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله انکپسوله شده در نانوحامل‌های نیوزومی تحت هدف و مهار قرار گرفت و متعاقباً اثرات ضد سرطانی آن بررسی شد.

روش‌ها: نیوزوم‌ها با استفاده از روش هیدراتاسیون لایه‌نازک تهیه‌شده و تحت انکپسولاسیون با الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله برای فاکتور رونویسی Sox2 قرار گرفتند. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها با استفاده از سنجش‌های مختلف نظیر FT-IR، DLS و آزادسازی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها ارزیابی شد. در پایان، زیست سازگاری خونی، میزان جذب سلولی، زنده‌مانی سلولی نانوحامل‌های سنتز شده حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها بر روی رده سلولی سه‌گانه منفی سرطان پستان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج فیزیکوشیمیایی نشان داد که نانوحامل نیوزومی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله با موفقیت سنتز شد. بررسی همولیز و جذب سلولی به ترتیب نشان داد که نانوحامل سنتز شده زیست سازگار بوده (همولیز کمتر از ۱۰ درصد) و با کارایی بالا (۹۷/۷ درصد) وارد سلول‌ها می‌شوند. آزمون MTT بر روی سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 نشان داد که فرمولاسیون نهایی (نیوزوم حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله) با غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار در مقایسه با سایر گروه‌های تیمار، منجر به کاهش معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۰۱$) در بقای سلولی به‌صورت وابسته به مقدار می‌شود.

نتیجه‌گیری: این نانوسامانه می‌تواند به‌عنوان یک نانوحامل بالقوه در دارورسانی و تمایز درمانی برای سرطان پستان مورداستفاده قرار گیرد. آزمایش‌های سلولی بیشتر و *in vivo* برای تأیید اثربخشی این سامانه‌های نانویی در تحقیقات آینده ضروری است.

واژه‌های کلیدی: الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله، سرطان پستان، فاکتور رونویسی Sox2، نیوزوم

مقدمه

سرطان پستان، شایع‌ترین نوع سرطان در جمعیت زنان در ایران به شمار می‌آید. بیشترین میزان شیوع سرطان پستان در نواحی شمال و غرب کشور ایران است. فاکتورهای زیادی در افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان نقش دارند که شامل افزایش سن، سابقه خانوادگی، نوع تغذیه، یائسگی دیرهنگام، چاقی پس از یائسگی، فعالیت کم جسمانی، قاعدگی زودرس و غیره می‌باشد. اگرچه درمان‌های ضد توموری در سال‌های گذشته به‌شدت پیشرفت کرده‌اند اما عود مجدد بیماری به همراه متاستاز سلول‌های سرطانی به نواحی دورتر همچون کلیه و کبد غیرقابل درمان بوده و علت اصلی مرگ‌ومیرهای مربوط به این بیماری است [۱]. دسته‌بندی سرطان پستان بر اساس ویژگی‌های سلولی آن انجام گرفته است. این ویژگی‌ها شامل بیان گیرنده استروژن[۱]

[1] Estrogen receptor

* نویسندگان مسئول مکاتبات: Gharbavi1981@gmail.com (ORCID: 0000-0002-9580-1999)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

و پروژسترون[2] و افزایش محصول انکوژن Her2/neo می‌باشد [۲]. سرطان پستان سه‌گانه منفی[3] فاقد سه گیرنده سلولی فوق‌الذکر است و یک بیماری هتروژن بوده که از لحاظ زیستی به شدت تهاجمی و متاستاتیک می‌باشد و اغلب با پیش‌آگهی ضعیفی گزارش می‌شود. بسیاری از تومورها حاوی سلول‌های سرطانی هستند که از لحاظ فنوتیپی و عملکردی جمعیتی هتروژن بوده که در مواردی همچون توانایی متاستاز، رگ زایی و مقاومت دارویی متفاوت می‌باشند. قسمتی از این جمعیت سلولی را سلول‌های بنیادی سرطانی[4] تشکیل می‌دهند که تمایز نیافته هستند. یک زیرمجموعه از سلول‌های سرطانی که ویژگی‌هایی مرتبط با سلول‌های بنیادی را دارند و قابلیت ایجاد تومور، متاستاز و مقاومت به درمان‌ها را نشان می‌دهند که از روش‌های درمانی سنتی همچون شیمی‌درمانی فرار کرده و باعث عود سرطان می‌شوند که این خود یکی از دلایل اصلی مرگ‌ومیر در بیماران سرطانی می‌باشد [۴، ۳].

Sox2 یک فاکتور رونویسی است که نقش اساسی در تنظیم برنامه سلولی همچون تقسیم سلولی و تمایزهای اختصاصی با همکاری فاکتورهای دیگر رونویسی همچون Oct4 و c-Myc دارد و در این مفهوم می‌تواند به عنوان انکوژن هم عملکرد داشته باشد. [۵]. ژن انسانی Sox2 در ناحیه 3q263-q27 واقع شده است [۶] و مکرراً در انواع مختلف سرطان نظیر سرطان‌های گلیوبلاستوما و پستان و نیز ریه دچار افزایش بیان می‌شود.

از آنجا که تغییر در بیان ژن‌ها نقش اصلی را در پاتوژنز[5] بیماری‌ها ایفا می‌کند، بنابراین فاکتورهای رونویسی و دیگر تنظیم‌کننده‌های بیان ژن می‌توانند به عنوان هدف به منظور تداخل‌های درمانی در نظر گرفته شوند. برای سرکوب بیان ژن‌های دخیل در حفظ بنیادینگی سلول‌های بنیادی سرطان می‌توان از رویکردهای جدید درمانی نظیر استفاده از miRNAها، siRNAها و استراتژی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله فاکتور رونویسی[6] به منظور تمایز درمانی سرطان به علت اختصاصی بودن آن‌ها می‌تواند جایگزین مواد شیمیایی باشد استفاده کرد [۷]. استفاده از الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله می‌تواند به‌صورت رقابتی مانع از اتصال فاکتور رونویسی به نواحی موجود در پروموتر ژن‌های هدف شود و بدین صورت باعث کاهش بیان ژن‌های مورد هدف مربوط به آن فاکتور رونویسی در سطح پیش از رونویسی می‌شوند [۸].

درحال‌حاضر، به دلیل پایداری ضعیف الیگودئوکسی نوکلئوتیدها در محیط بیولوژیکی و نفوذ داخل سلولی ضعیف آن‌ها، از نانوحامل‌ها برای انتقال الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها به سلول استفاده می‌شود. نیوزوم‌ها، وزیکول‌هایی متشکل از سورفکتانت‌های غیریونی به همراه کلسترول هستند و ازآنجایی‌که ساختاری دولایه دارند، به عنوان یک نانوحامل کاربردی برای انتقال داروهای آب‌گریز و آب‌دوست به صورت هم‌زمان شناخته می‌شوند. مطالعات زیادی نشان می‌دهد که عوامل درمانی مختلف از قبیل مواد شیمی‌درمانی، ژن‌ها، هورمون‌ها، آنتی‌ژن‌ها و پپتیدها، با موفقیت در وزیکول‌های نیوزومی انکپسوله می‌شوند. امکان انتقال دو دارو به‌صورت هم‌زمان در وزیکول‌های نیوزومی، این نانوحامل را به عنوان یک کاندید کارا جهت انتقال عوامل شیمی‌درمانی به همراه عوامل آنتی‌اکسیدان معرفی می‌کند [۱۰، ۹]. هضم آنزیمی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها تقریباً از نظر کمی توسط این مجموعه نانوحامل‌ها کاهش‌یافته و جذب سلولی توسط رده‌های سلولی مختلف افزایش می‌یابد [۱۱].

جوهری و همکاران در سال ۲۰۱۷ به منظور بررسی پتانسیل رویکرد تله فاکتور رونویسی برای تمایز درمانی، از سلول‌های بنیادی جنینی موش[7] به عنوان الگویی از سلول‌های بنیادی سرطانی استفاده کردند. نتایج حاصل از سنجش تأخیر حرکتی در ژل[8] نشان داد که الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله برای فاکتورهای رونویسی Sox2 و Oct4 به طور اختصاصی به پروتئین‌های نوترکیب خود متصل می‌شوند و کمپلکس تله سنتز شده می‌تواند هم‌زمان فاکتورهای رونویسی فوق‌الذکر را هدف قرار دهد که متعاقباً باعث سرکوب ویژگی‌های بنیادینگی سلول‌های بنیادی جنینی موش در مقایسه با گروه کنترل از طریق کاهش زنده‌مانی سلول، توقف چرخه سلولی در فازهای G0/G1، القای آپوپتوز و تعدیل تمایز در این سلول‌ها با وجود حضور 2i/LIF در کشت سلولی می‌شود [۱۲]. در سال ۲۰۲۰، غرباوی و همکاران یک سامانه نوین دارورسانی مبتنی بر نیوزوم‌های پوشش داده‌شده با آلبومین سرم گاوی و نانوذرات

[2] Progesterone receptor
[3] Triple-negative breast cancer-TNBC
[4] Cancer stem cells-CSCs
[5] Pathogenesis
[6] Transcription factor decoy-TFD
[7] Mouse embryonic stem cells-mESCs
[8] Gel retardation assay

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

سلنیوم را تحت بررسی قرار دادند و اثرات زیستی و سمیت سلولی آن را در رده سلولی A549 (سرطان ریه) از طریق آزمون‌های زنده‌مانی سلولی (MTT)، فلوسایتومتری برای تشخیص آپوپتوز و بیان ژن‌های Bax، Bcl-2 و MDR-1 با RT-PCR تحت ارزیابی قرار دادند [۱۳]. همچنین در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۳، نانوساختار هدفمند سلنیوم- متوترکسات حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله Myc با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مطلوب، سازگاری خونی مناسب و رهایش وابسته به pH سنتز گردید و همراه با پرتودهی اشعه ایکس (X) بر روی سلول‌های سرطان پروستات LNCaP توسط قربانی و همکاران بررسی شد. این نانوساختار از طریق هدف‌گیری PSMA به طور مؤثری جذب سلول‌ها شد [۱۴].

روی‌هم‌رفته، با توجه به اینکه سلول‌های بنیادی سرطانی نقش مهمی در بدخیمی و مقاومت دارویی تومورها دارند، بنابراین استفاده از الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله می‌تواند راهکاری مناسب به حساب آید. لذا در این تحقیق قصد داریم تا با تیمار سلول‌های سرطانی پستان MDA-MB-231 با استفاده از نانوحامل‌های نیوزومی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله بر ضد فاکتور رونویسی Sox2، اثرات ضد سرطانی را در این سلول‌ها مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

مواد

ماده MTT، آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین، سرم جنین گاوی (FBS) و تریپسین-EDTA از شرکت سیگما آلدریچ- آمریکا تهیه شد. الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله (ODNs) از شرکت MicroSYnth سوئیس و محیط کشت DMEM از شرکت گیبکو اسکاتلند خریداری شد. دی متیل سولفوکسید (DMSO)، متانول و استون از شرکت Emertat ایران و رده سلولی MDA-MB-231 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد.

فرایند کشت سلولی

رده سلولی سرطان پستان انسان MDA-MB-231 در محیط کشت DMEM با گلوکز بالا، سرم جنین گاوی ۱۰ درصد، ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین کشت داده شده و در انکوباتور با رطوبت ۹۵ درصد، CO_2 پنج درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

طراحی و سنتز الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله و اسکرامبل برای فاکتور رونویسی Sox2

طراحی توالی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله (DEC) با طول ۱۱ نوکلئوتید برای فاکتور رونویسی Sox2 از طریق تارنمای Cistrome Data Browser و بر اساس توالی حفاظت‌شده جایگاه اتصال این فاکتور در ژن Sox2 صورت گرفت [۱۵]. برای طراحی توالی اسکرامبل (SCR) اقدام به ایجاد جهش در سه نوکلئوتید از توالی جایگاه اتصال اصلی مربوط به فاکتور رونویسی Sox2 شد. بررسی توانایی اتصال توالی تله به فاکتور رونویسی Sox2 با استفاده از تارنمای tfbind.hgc.jp به‌صورت آنلاین (*in silico*) انجام گرفت که بر پایه TRANSFAC® database برنامه‌ریزی و طراحی شده است. همچنین برای جلوگیری از تخریب نوکلئازی توالی‌های دو رشته‌ای تله و اسکرامبل طراحی شده در شرایط داخل سلولی به تعداد یک نوکلئوتید از هر دو انتهای '۳ و '۵ فسفوروتیوئیده[9] شد که در این حالت سولفور جایگزین اکسیژن آزاد در گروه فسفات موجود در دئوکسی‌نوکلئوتید می‌شود. در نهایت الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای طراحی شده برای سنتز به شرکت سوئیسی MicroSYnth ارسال گردید. در پایان برای بررسی میزان کارایی ورود (ترانسفکشن) الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله به داخل سلول‌ها با استفاده از فلوسایتومتری، انتهای '۳ هر رشته با Cy3 نشان‌دار شده بود. در توالی‌های مربوط به الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای DEC و SCR، جایگاه اتصال اصلی، تغییرات فسفوروتیوئیده در '۳ و '۵ و جهش‌های ایجاد شده به ترتیب با حالت نوکلئوتیدهای پررنگ، نوکلئوتیدهای ستاره‌دار و نوکلئوتیدهای ایتالیک/زیرخط نمایش داده شدند (جدول ۱).

تهیه نانوحامل نیوزومی

تهیه نانوحامل‌های نیوزومی بر اساس روش استاندارد هیدراتاسیون لایه نازک و مطابق با دستورالعمل منتشرشده در کار پیشین گروه پژوهشی ما انجام شد [۱۶]. در این روش،

[9] Phosphorothioate

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

جدول ۱- مشخصات توالی‌های الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله و اسکرامبل

	توالی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله (DEC)	توالی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای اسکرامبل (SCR)
پیشرو	[5′-G*CCATTGTAA*T-3′]	[5′-G*CCA*GGC*TAA*T-3′]
معکوس	[3′-C*GGTAACATT*A-5′]	[3′-C*GGTCCGATT*A-5′]

سورفکتانت‌های غیریونی توئین ۸۰ (۳۰۰ میلی‌گرم)، اسپن ۸۰ (۳۰۰ میلی‌گرم) و کلسترول (۱۵۰ میلی‌گرم)—به نسبت وزنی ۲:۲:۱ —با دقت وزن شده و در حجم کافی از حلال کلروفرم حل شدند تا یک محلول کاملاً شفاف و همگن به‌دست آمد. این محلول سپس در یک بالن ته‌گرد تمیز و خشک منتقل شد. حلال کلروفرم موجود در بالن با استفاده از روتاری اواپراتور تحت فشار کاهش‌یافته تبخیر شد، درنتیجه یک لایه نازک و یکنواخت از اجزای لیپیدی روی دیواره داخلی بالن تشکیل شد. برای حذف کامل باقیمانده حلال و افزایش پایداری سیستم، بالن حاوی فیلم لیپیدی در آون خلأ قرار داده شد تا اثری از حلال آلی باقی نماند. در مرحله هیدراتاسیون، به لایه لیپیدی خشک‌شده آب مقطر به‌آرامی و به صورت قطره–قطره افزوده شد. هم‌زمان با افزودن آب، بالن روی هیتر استیرر با هم‌زدن ملایم قرار گرفت تا لایه لیپیدی از روی دیواره جدا شده و به‌تدریج به صورت وزیکول‌های نیوزومی در محیط آبی پخش شود. هم‌زدن تا تشکیل سوسپانسیون کدر و یکنواخت از وزیکول‌ها ادامه یافت. پس از اتمام هیدراتاسیون، سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد، ۴۰ کیلوهرتز و توان ۱۵۰ وات قرار گرفت تا وزیکول‌های بزرگ‌تر و چندلایه شکسته شده و اندازه ذرات کاهش یافت، به‌نحوی‌که توزیع اندازه یکنواخت‌تری برای نانوحامل‌های نیوزومی به دست آمد. در مرحله نهایی، سوسپانسیون به مدت یک ساعت در دمای محیط تحت هم‌زدن ملایم نگهداری شد تا فرایند خودآرایی و پایدارسازی کامل نانوساختارها تکمیل شود و تشکیل نیوزوم‌های پایدار تأیید گردد. پس از کنترل ظاهری (یکنواختی سوسپانسیون و عدم وجود فاز جداشده)، نانوحامل‌های نیوزومی سنتز شده برای مراحل بعدی شامل پوشش‌دهی با آلبومین سرم گاوی (BSA)، بارگذاری الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله/اسکرامبل و سنجش‌های فیزیکوشیمیایی و زیستی مورد استفاده قرار گرفتند.

سنجش ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوحامل

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوحامل‌ها با استفاده از روش‌های اسپکتروسکوپی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FT-IR[10]) و پراکندگی نور دینامیکی (DLS[11]) طبق مطالعات گذشته ما مورد بررسی قرار گرفت [۱۷]. برای این منظور نمونه‌های نیوزوم به مقدار کافی در آب فوق‌العاده خالص رقیق شدند تا در طول‌موج ۶۳۳ نانومتر، جذب نوری نمونه در محدوده ۰/۰۵ تا ۰/۰۹ قرار گیرد. این محدوده‌ی جذب تضمین‌کننده‌ی کمینه‌سازی اثرات پراکندگی چندگانه و اثرات برهم‌کنش ذرات است. از روش DLS و دستگاه سایزر نانو–زتا (مدل Nano ZS ساخت Malvern انگلستان) برای تعیین اندازه هیدرودینامیکی متوسط نانوذرات، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی (PDI)[12] استفاده گردید. از طیف‌سنجی FT-IR (مدل Tensor 27 ساخت بروکر آلمان) برای تعیین ساختار شیمیایی گروه‌های مختلف نانوحامل نظیر نیوزوم[13] ، آلبومین سرم گاوی[14]، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی[15] ، الیگودئوکسی نوکلئوتید[16] و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید[17] استفاده شد. برای این منظور نمونه‌های نیوزومی تحت خلأ خشک کردیم تا پودر خالصی به‌دست آید. پودر خشک‌شده‌ی نیوزوم را با پودر KBr خالص با نسبت وزنی ۱:۱۰۰ مخلوط شده و در یک هاون به مدت ۵–۳ دقیقه به‌آرامی و یکنواخت آسیاب گردید تا ذرات نمونه کاملاً در کریستال‌های KBr پخش شوند. پودر تهیه شده تحت فشار مکانیکی بالا (حدود ۱۰ تن) به‌مدت ۲–۱ دقیقه فشرده شد تا قرص شفاف و تشکیل شکل‌دهنده شود.

[10] Fourier-transform infrared spectroscopy
[11] Dynamic light scattering
[12] Polydispersity Index
[13] Niosome
[14] Bovin serum albomin (BSA)
[15] Niosome@BSA
[16] Oligodeoxynucleotide (ODN)
[17] Niosome@BSA-ODN

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

سنجش میزان انکپسولاسیون الیگودئوکسی نوکلئوتیدها در نانوحامل

راندمان انکپسولاسیون الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله (%EE) در نانوحامل‌ها با رقیق کردن آن‌ها در بافر فسفات سالین (PBS[18]) و سانتریفیوژ (۱۴۰۰۰ دور در دقیقه معادل تقریبی ۱۸۰۰۰ فورس جی، به مدت ۳۰ دقیقه) برای جمع‌آوری الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای آزاد محاسبه شد (این فرایند سه بار تکرار گردید). مقدار الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله آزاد با استفاده از دستگاه نانودراپ در طول‌موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۵]. درصد کارایی انکپسولاسیون الیگودئوکسی نوکلئوتید (%EE[19]) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصدکارایی انکپسولاسیون}(\%EE) = \frac{\text{مقدار الیگودئوکسی نوکلئوتیدهای آزادشده} - \text{مقدار کل الیگودئوکسی نوکلئوتیدهای اولیه}}{\text{مقدار کل الیگودئوکسی نوکلئوتیدهای اولیه}} \times 100$$

سنجش میزان رهش الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها از نانوحامل

برای ارزیابی رفتار رهش الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها از نانوحامل‌های تهیه شده، نمونه‌های خالص شده نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید اسکرامبل[20] یا نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید تله[21] در ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول PBS در pH های ۷/۴ و ۵/۸ پراکنده شده و در انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در بازه‌های زمانی بین ۰ تا ۹۶ ساعت، محیط رهش خارج و با حجم برابر از محلول PBS تازه جایگزین گردید. مقدار الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله رهش‌یافته با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و توسط دستگاه نانودراپ (ویلمینگتون، آمریکا) اندازه‌گیری شد [۱۶].

سنجش زیست سازگاری خونی نانوحامل

خون سالم انسانی تهیه شده و در لوله‌ها ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر EDTA[22] افزوده شد، سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پلاسما جدا شده و گلبول‌های قرمز سه بار با PBS سرد شستشو داده شدند. سپس گلبول‌های قرمز خالص‌شده در محلول ایزوتونیک PBS با رقت ۱:۱۰ مجدداً سوسپانسیون شدند. برای انجام آزمون، از غلظت‌های مختلف نانوحامل‌ها (۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) استفاده گردید. پس از انکوباسیون، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و جذب در طول‌موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در این مطالعه نیز دو نمونه‌های گلبول‌های قرمز تیمار شده با محلول ایزوتونیک PBS و Triton X-100 (1% v/v) به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت در نظر گرفته شدند [۱۴].

سنجش جذب سلولی نانوحامل

تعیین راندمان جذب نانوحامل در سلول‌های سرطان پستان با استفاده از الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله نشان‌دار شده با فلوروفور Cy3 انکپسوله شده در نانوحامل صورت گرفت. سلول‌ها به تعداد ۳۰ هزار در پلیت‌های ۲۴ چاهکی کشت داده شده و تا رسیدن به تراکم حدود ۷۵ درصد انکوبه شدند. سپس محیط کشت تخلیه گردید و سلول‌ها دو بار با PBS شستشو داده شدند تا بقایای سلولی حذف شوند. سلول‌های کشت داده شده با محیط کشت حاوی مقادیر مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار) از نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید نشان‌دار شده (کنترل مثبت)، نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی با غلظت ۳۰۰ نانومولار تیمار شده (کنترل منفی) و همچنین سلول‌های بدون تیمار (کنترل منفی) تحت شرایط استاندارد کشت به مدت ۶ ساعت انکوبه شدند. پس از این دوره، محیط از چاهک‌ها تخلیه و با ۲۵۰ میکرولیتر محیط کشت تازه و کامل جایگزین گردید. در نهایت، سلول‌ها جمع‌آوری‌شده و با استفاده از فلوسایتومتری (شرکت BD Biosciences، سان خوزه، کالیفرنیا) برای تعیین میزان جذب سلولی سامانه نانوحامل مورد آنالیز قرار گرفتند [۱۶].

[18] Phosphate-buffered saline
[19] Encapsulation efficiency percent
[20] Niosome@BSA-Scramble
[21] Niosome@BSA-Decoy
[22] Ethylenediaminetetraacetic acid

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

سنجش سمیت سلولی نانوحامل

برای تعیین میزان سمیت سلولی نانوحامل‌های سنتز شده (خالی و حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید)، سلول‌ها به تعداد ۸ هزار در پلیت‌های ۹۶ چاهکی کشت داده شده و تا رسیدن به تراکم حدود ۷۵ درصد انکوبه شدند. سپس محیط کشت تخلیه گردید و سلول‌ها دو بار با PBS شستشو داده شدند تا بقایای سلولی حذف شوند. سپس سلول‌ها با محیط کشت فاقد سرم جنین گاوی (FBS)[۲۳] حاوی مقادیر مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار) از نانوحامل‌های نیوزوم، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید اسکرامبل و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله تیمار شده و تحت شرایط استاندارد کشت به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. در ادامه پس از اضافه کردن مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT به چاهک‌های پلیت ۹۶ تایی در زیر هود در شرایط بدون نور، پلیت‌های کشت سلولی به مدت ۳ تا ۴ ساعت درون انکوباتور در شرایط دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و میزان CO_2 ۵ درصد و رطوبت مناسب قرار داده شدند و پس از آن به میزان ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید. در پایان با استفاده از دستگاه الایزا خوان و در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد [۱۵].

روش‌های آنالیز آماری

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism 8.0 انجام و به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) بیان شد. معنی‌داری با استفاده از آنالیز واریانس (One-way) برای گروه‌های متعدد (بیش از ۲) محاسبه شد. $p < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمام آزمایش‌ها با سه تکرار تکنیکال و بیولوژیکال انجام شد.

یافته‌ها

طیف‌های FT-IR سنتز صحیح نانوحامل‌ها رو تأیید می‌کند

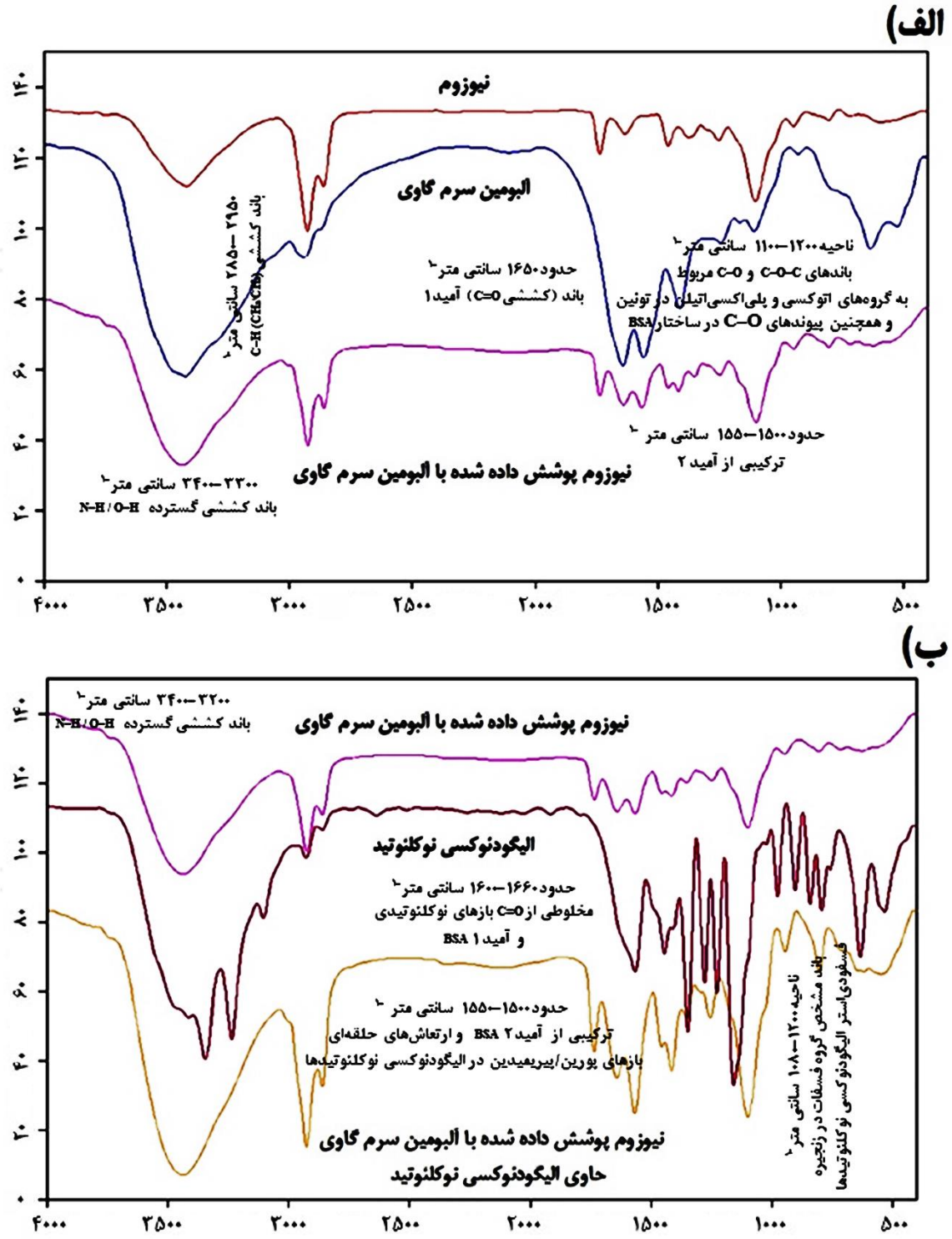
باندهای مشخص اجزاء به‌وضوح قابل تشخیص بودند. طیف آلبومین سرم گاوی باندهای آمید I و II را در حدود ۱۶۵۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ و ۱۵۳۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ و یک ناحیه گسترده از ارتعاشات N–H/O–H در حدود ۳۳۰۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ نشان داد که همه این‌ها امضای طیفی پروتئین را بازتاب می‌دهد. نانوحامل نیوزوم، باند C=O گسترده و باند C=O مربوطه را در حدود ۱۷۰۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ و ناحیه O–H/N–H در حدود ۳۴۰۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ نشان داد. در گروه نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، حضور هم‌زمان باندهای مربوط به هر یک از دو جزء را مشاهده کردیم که با تغییرات قابل توجه در شدت، عرض و جابجایی‌های جزئی در موقعیت‌های قله همراه بود که نشان‌دهنده وجود تعاملات فیزیکی قوی به‌ویژه، پیوند هیدروژنی و تعاملات الکتروستاتیک بین نیوزوم و آلبومین سرم گاوی است (شکل ۱الف). در طیف‌های مربوط به الیگودئوکسی‌نوکلئوتید، باندهای C=O و N–H در حدود ۱۶۵۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ و ۳۴۴۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ و ناحیه فسفات‌ها (PO_2^-) در حدود ۱۲۰۰–۱۰۸۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ ثبت شد. در نمونه نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید مشاهده شد که باندهای مشخص الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها هنوز هم وجود داشتند؛ اما با کاهش شدت و همچنین شیفت شدن نمودار که نشان‌دهنده پوشش موفقیت‌آمیز الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها و درگیر شدن گروه‌های عملکردی در ماتریس نانوساختار است (شکل ۱ب)، عدم وجود باندهای کاملاً جدید یا تغییرات چشمگیر نشان می‌دهد که مکانیزم تعامل غالب فیزیکی (هیدروژنی/الکترواستاتیک) با تغییرات کمی از نوع کوالانسی است. نتایج FT-IR، به‌طورکلی، موفقیت در سنتز و پوشش مؤثر اجزای جمع‌آوری‌شده در نانوساختارهای مورد بررسی را نشان می‌دهد.

نانوحامل‌های ساخته شده اندازه هیدرودینامیکی، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی قابل قبولی دارند

اندازه متوسط هیدرودینامیک نانوحامل‌ها پس از تجزیه‌وتحلیل نتایج به دست آمده از DLS به شرح زیر مشخص شده است: نیوزوم = ۰/۲۵ ± ۱۴۱/۸۷ نانومتر، نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی = ۶/۲۵ ± ۱۶۱/۶۷ نانومتر، نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل = ۰/۳۵ ± ۱۷۱/۹۳ نانومتر و نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی حاوی

[23] Fetal bovine serum

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]



شکل ۱– طیف‌های جذبی FT-IR برای گروه‌های نانوحامل (الف) نیوزوم، آلبومین سرم گاوی، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، (ب) نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، الیگودئوکسی‌نوکلئوتید و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید.

الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله = ۰/۳۰ ± ۱۷۳/۸۰ نانومتر. افزایش قطر پس از پوشش دادن با BSA و بارگذاری الیگودئوکسی نوکلئوتیدها نشان دهنده پوشش سطحی موفق نانوحامل و محصورسازی مولکولی است (شکل ۲الف و ۲ب). مقادیر PDI

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

گزارش شده برای هر کدام از گروه‌ها به ترتیب ۰/۰۰۳ ± ۰/۱۸۱، ۰/۰۰۸ ± ۰/۲۳۳، ۰/۰۲۲ ± ۰/۱۰۳ و ۰/۰۶۷±۰/۱۶۳ می‌باشد که نشان دهنده یکنواختی کافی توزیع اندازه بوده، به‌طوری‌که نمونه نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید اسکرامبل با شاخص پراکندگی تقریباً برابر با ۰/۱۰ به وضوح متمایز است. پتانسیل زتا نمونه‌ها نیز با مقادیر ۰/۳۵ ± ۱۸/۰۷- میلی ولت، ۰/۷۴ ± ۲۳/۶۳- میلی ولت، ۱/۰۰ ± ۲۴/۴۷- میلی ولت و ۱/۰۷ ± ۲۴/۹۷- میلی ولت اندازه‌گیری شد، جایی که افزایش بار منفی پس از پوشش و بارگذاری همچنین با مقادیر مطلق منفی بیشتری همراه است که نشان دهنده پایداری کلوئیدی بالاتر نانوحامل‌ها می‌باشد (شکل ۲ج).

کپسوله‌شدن الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها در نانوحامل‌های تهیه شده با کارایی بالا صورت می‌گیرد

میزان انکپسولاسیون الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها در نانوحامل‌های نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل و نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتید تله، بر اساس مقدار اولیه و مقادیر آزاد در هر فرمولاسیون به ترتیب به میزان ۳/۶۴ ± ۷۵/۳۷ درصد و ۲/۷۸ ± ۷۲/۴۱ درصد محاسبه شد.

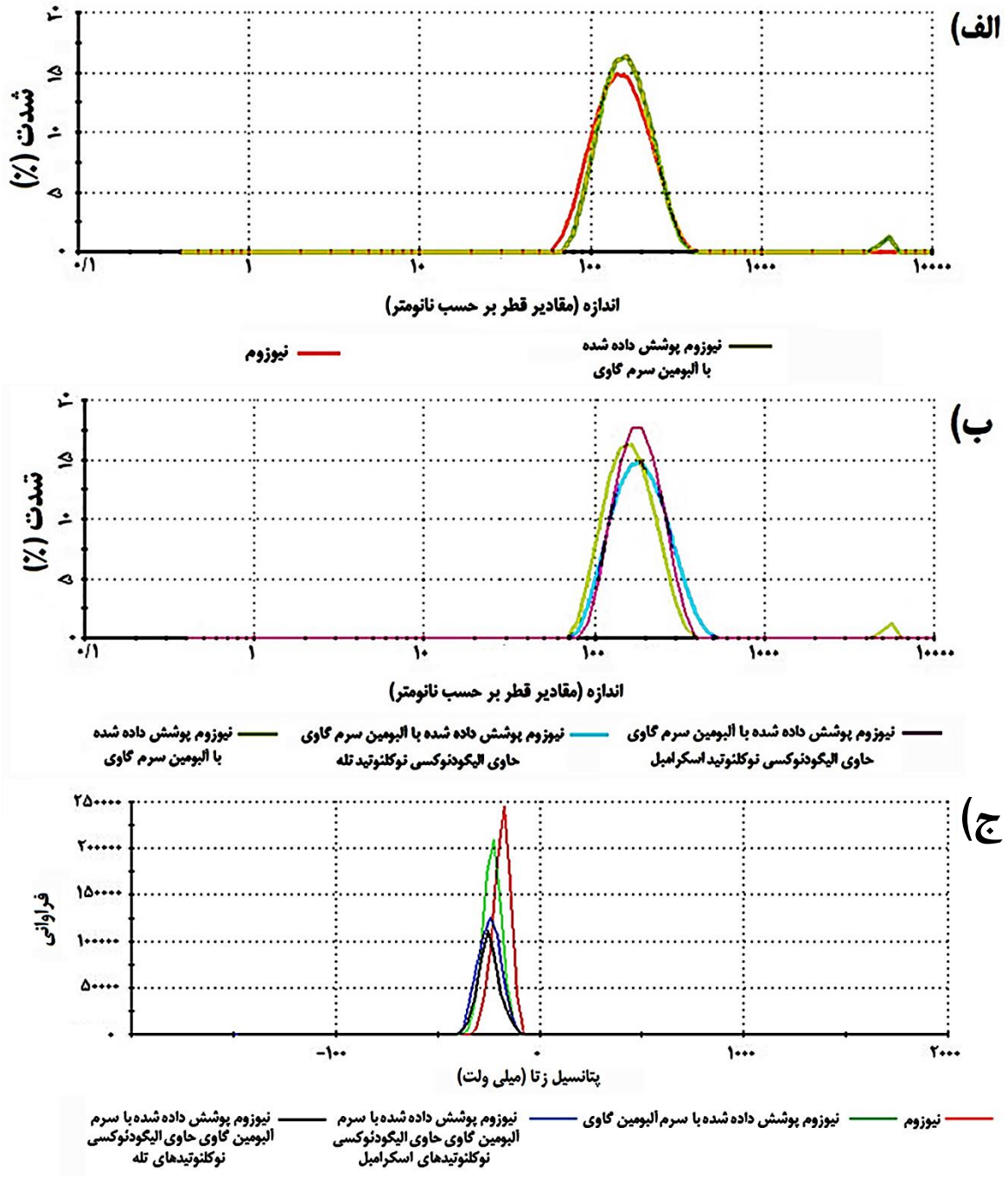
میزان رهش الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها از نانوحامل‌های تهیه شده وابسته به زمان و pH است

نتایج به دست آمده از رهایش تجمعی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها از نانوحامل‌ها نشان داد که در شرایط فیزیولوژیکی (pH 7.4) مقادیر آزاد شده پس از ۹۶ ساعت از نانوحامل‌های نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل و نیوزوم پوشش داده شده با سرم آلبومین گاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله به‌ترتیب ۲/۴۷ ± ۵۷/۶۳ درصد و ۲/۷۶ ± ۶۸/۶۸ درصد بود. در مقایسه، تحت شرایط اسیدی (pH 5.8) که شبیه به میکرو محیط تومور و اندوزوم‌های داخلی هستند، مقادیر رهایش به طور قابل توجهی به ترتیب ۲/۲۶ ± ۷۷/۷۷ درصد و ۲/۴۹ ± ۷۶/۶۴ درصد افزایش یافت. در این مطالعه برای ارزیابی جامع رفتار رهش الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها، نمونه‌ها در دو محیط pH متمایز مورد بررسی قرار گرفتند، pH 7.4 که نشان‌دهنده‌ی pH خون و سیالات بین سلولی بدن انسان است. همچنین pH 5.8 که نشان‌دهنده‌ی محیط اسیدی اندوزوم‌های درون‌سلولی و محیط تومور است. سلول‌های سرطانی به دلیل متابولیسم گلیکولیتیک بالا و تولید اسید لاکتیک بیش‌ازحد، محیطی اسیدی‌تر از بافت سالم دارند. بنابراین، pH 5.8 شرایط فیزیولوژیکی داخل سلول‌های سرطانی و اندوزوم‌های متوسط را شبیه‌سازی می‌کند. این مقایسه دوگانه ارزیابی رهش وابسته به pH را ممکن ساخت و تأیید کرد که نانوحامل رهش محدود در خون سالم (ایمنی بالا) و رهش مؤثر در محیط تومور و درون سلول (کارایی درمانی بالا) را تضمین می‌کند. این نتایج الگوی رهایش وابسته به pH و رهایش کارآمدتر در محیط اسیدی را نشان می‌دهند. این عوامل می‌توانند به افزایش کارایی نانوحامل‌های هدفمند دارو کمک کنند (شکل ۳).

نانوحامل‌های تهیه‌شده زیست‌سازگاری خونی قابل قبولی دارد

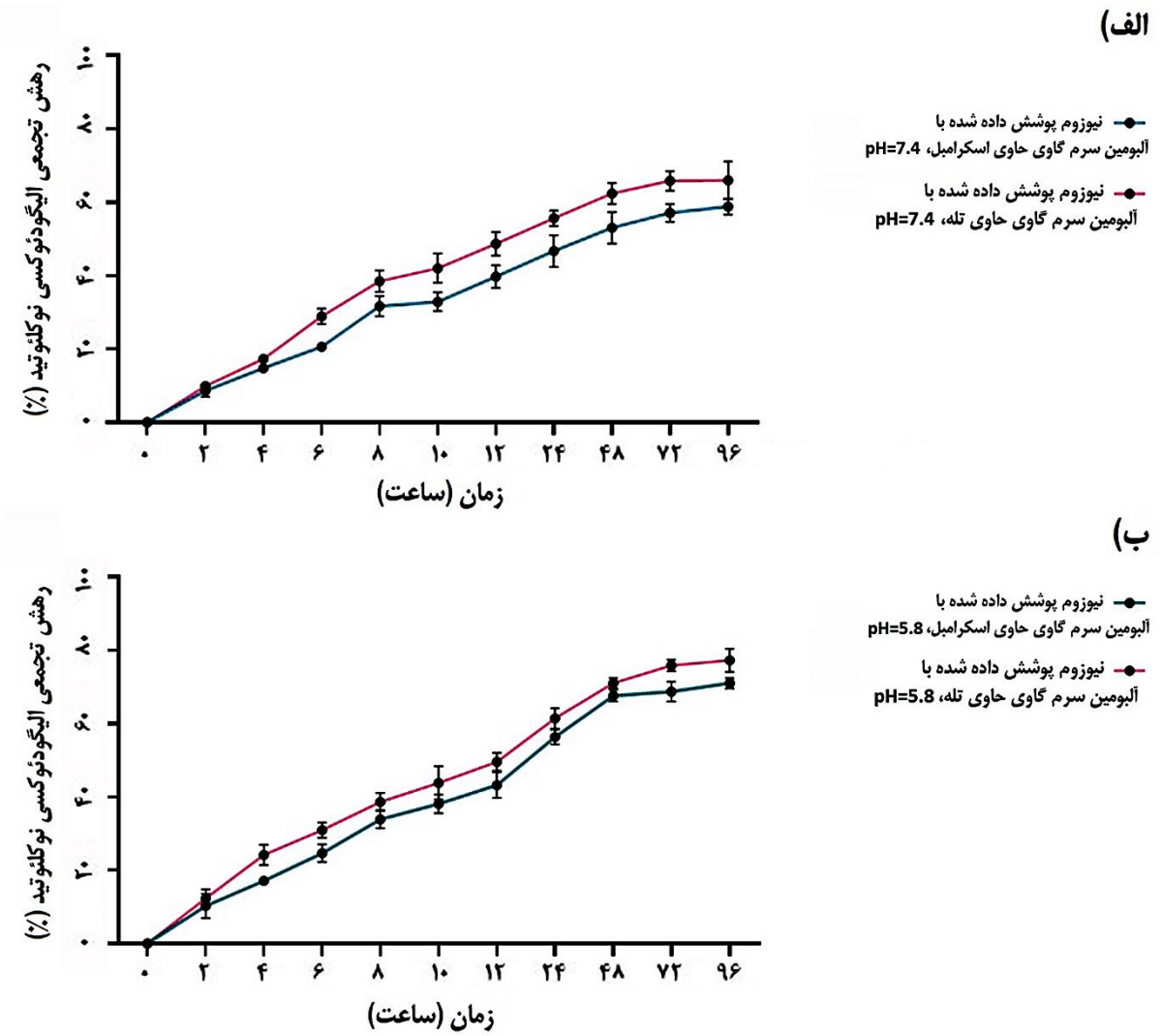
آزمایش همولیز سلولی برای چهار گروه نانوحامل نیوزوم، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله در غلظت‌های برابر ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار صورت گرفت و نتایج نشان داد درصد همولیز به‌تدریج و به‌صورت خطی با غلظت نانوحامل به آرامی افزایش می‌یابد. به‌طور تقریبی در ۵۰ نانومولار همولیز بین ۲/۴-۶/۱ درصد (غیر همولیتیک) ، در ۱۵۰ نانومتر ۲/۹-۴/۹ درصد (غیر همولیتیک) ، در ۳۰۰ نانومتر ۴/۵-۶/۰ درصد (غیر همولیتیک تا کمی همولیتیک) ، در ۵۰۰ نانومتر ۵/۳-۶/۷ درصد (کمی همولیتیک) و در ۱۰۰۰ نانومتر ۸/۱-۹/۴ درصد (کمی همولیتیک) ثبت شد. در تمامی فرمولاسیون‌ها حتی در بالاترین غلظت همولیز کمتر از ۱۰ درصد نشان‌دهنده سازگاری خونی قابلیت قبول نانو فرمولاسیون‌ها در این مطالعه می‌باشد (شکل ۴).

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

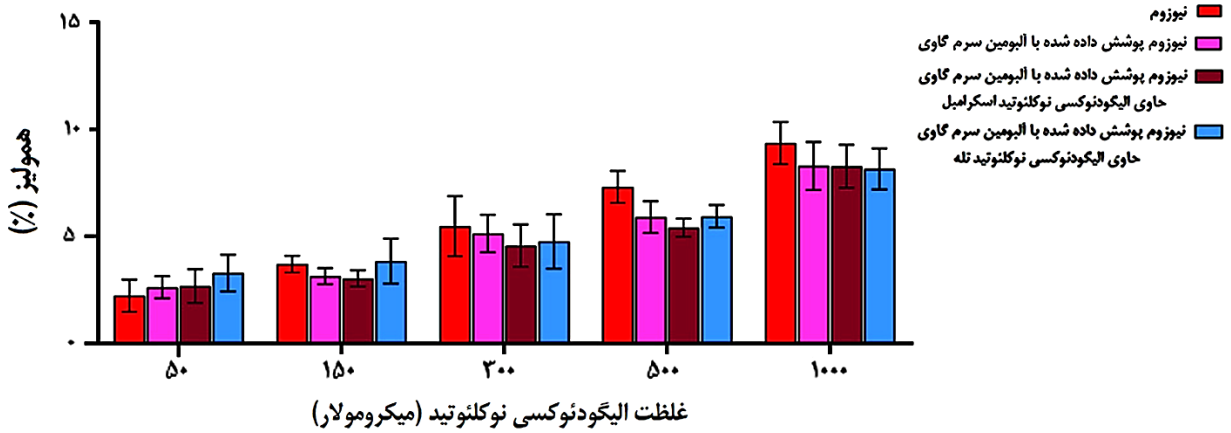


شکل ۲- اندازه هیدرودینامیکی برای گروه‌های نانوحامل (الف) نیوزوم و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، (ب) نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی اسکرامبل و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی تله، (ج) مقدار پتانسیل زتا برای گروه‌های مختلف نانوحامل.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]



شکل ۳- بررسی رهش الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله و اسکرامبل از نانوحامل‌های ساخته شده در (الف) pH 7.4 و (ب) pH 5.8.



شکل ٤- بررسی زیست سازگاری نانوحامل‌های سنتز شده. میزان درصد همولیز ایجاده شده توسط نانوحامل‌های سنتز شده زیر ۱۰ درصد می‌باشند که این نشان دهنده زیست سازگاری بالای آن‌ها می‌باشد.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

نانوحامل نیوزومی حاوی توالی‌های الیگودئوکسی نوکلئوتید نشان‌دار، جذب سلولی بالایی دارد

میزان جذب سلولی نانوحامل حاوی الیگودئوکسی نوکلئوتیدهای نشان‌دار شده با فلوروفور Cy3 در گروه بدون تیمار یعنی کنترل سلولی، ۲/۵۲ درصد بود؛ در حالی که تیمار سلولی با ۳۰۰ نانومولار از نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی (کنترل منفی) منجر به افزایش جزئی تا ۴/۰۱ درصد شد که از نظر آماری تفاوت معناداری با گروه کنترل سلولی نشان نداد (p = ۰/۹۶۹). برخلاف آن، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید نشان‌دار شده در همه غلظت‌های مورد بررسی، ورود سلولی بسیار بالاتری را نشان داد (به ترتیب ۲۱ درصد برای غلظت ۵۰ نانومولار، ۳۶/۳ درصد برای ۱۰۰ نانومولار، ۷۷/۶ درصد برای ۲۰۰ نانومولار و ۹۷/۷ درصد برای ۳۰۰ نانومولار) و این مقادیر همگی نسبت به گروه کنترل به‌صورت معنادار افزایش یافته‌اند (p < ۰/۰۰۰۱). این نتایج نشان می‌دهد که کپسوله کردن الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها در نانوحامل، نقش مهمی در افزایش جذب سلولی ایفا می‌کند و اثر وابسته به دوز در فرمولاسیون‌های دارای الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای نشان‌دار کاملاً مشهود است (شکل ۵).

کاهش زنده‌مانی سلولی بعد از تیمار با نانوحامل نیوزومی حاوی فرمولاسیون نهایی مشاهده می‌شود

بررسی سمیت سلولی نانوحامل‌های نیوزوم، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله بر روی رده سلولی سرطان پستان با استفاده از آزمون MTT در زمان ۲۴ ساعت تیمار صورت گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار با غلظت‌های ۲۰۰ نانومولار (p = ۰/۰۳۳) و ۳۰۰ نانومولار (p = ۰/۰۰۱) از نانوحامل نیوزوم و ۳۰۰ نانومولار (p = ۰/۰۲۹) از نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی در مقایسه با گروه کنترل سلولی به طور معناداری زنده‌مانی سلولی را کاهش دادند. همچنین تیمار با غلظت‌های ۲۰۰ نانومولار (p = ۰/۰۲۸) و ۳۰۰ نانومولار (p = ۰/۰۰۵) اا‌ز نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل و همه غلظت‌های مورد بررسی از نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله در مقایسه با گروه کنترل سلولی به طور معناداری زنده‌مانی سلولی را کاهش دادند. بیشترین کاهش زنده‌مانی مربوط به غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار از نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله است (p < ۰/۰۰۰۱) .تیمار با غلظت ۲۰۰ نانومولار از نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله نسبت به غلظت‌های ۵۰ و نانومولار آن منجر به کاهش بیشتر در زنده‌مانی سلول‌ها می‌شود. تیمار با غلظت ۳۰۰ نانومولار از نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله نسبت به غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانومولار آن منجر به کاهش بیشتر در زنده‌مانی سلول‌ها می‌شود. غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار از فرمولاسیون نهایی نسبت به غلظت‌های مشابه از سایر نانوحامل‌ها باعث کاهش زنده‌مانی معناداری می‌شوند (شکل ۶).

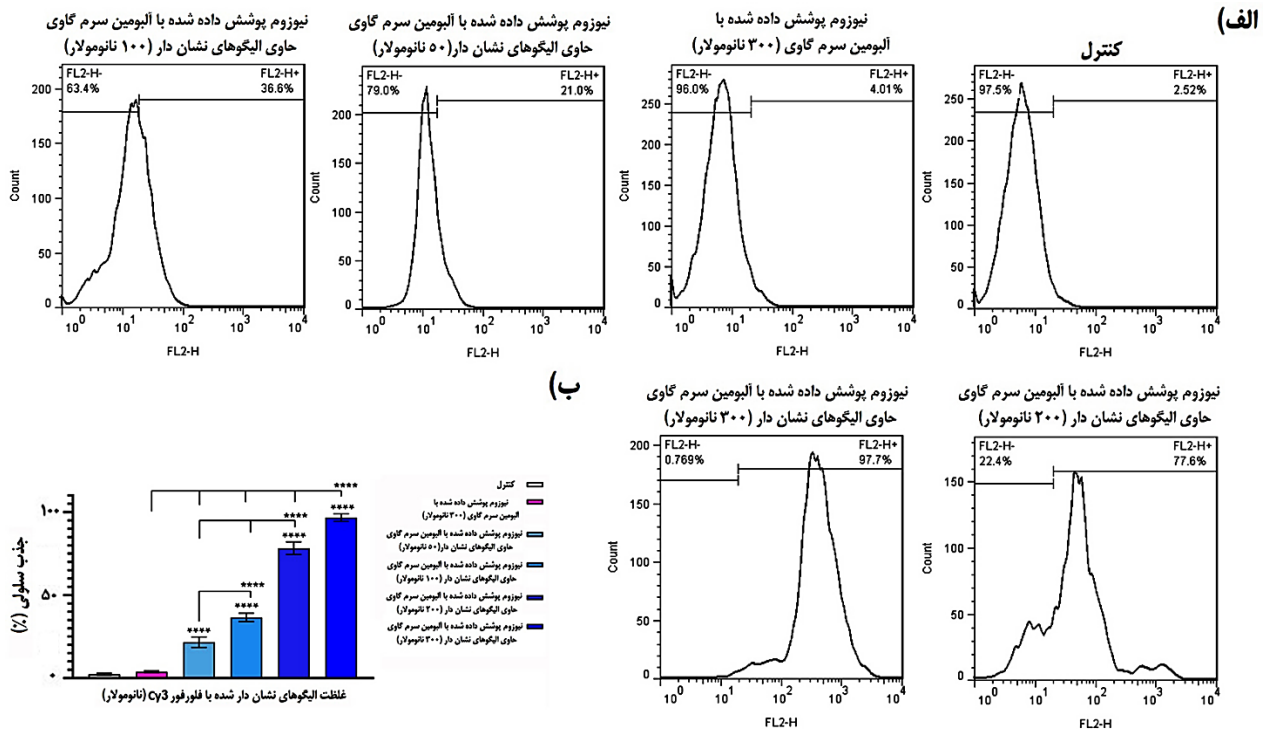
بحث

در مطالعه حاضر، از نانوحامل‌های نیوزومی برای انتقال الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله بر علیه فاکتور رونویسی Sox2 به داخل رده سرطان پستان سه‌گانه منفی MDA-MB-231 استفاده شد. هدف اصلی مطالعه فراهم آوردن یک پلتفرم پایدار با قابلیت انکپسولاسیون مؤثر الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها و آزادسازی هدفمند بود تا ورود و اثرگذاری مولکولی روی مسیرهای مرتبط با «بنیادینگی» و بقا در سلول‌های تهاجمی سرطان پستان ممکن شود.

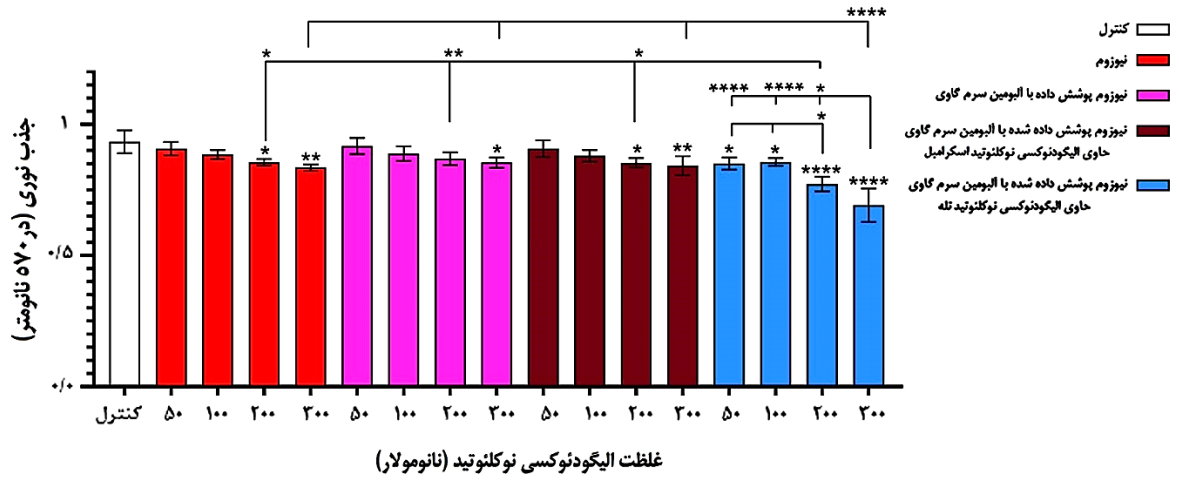
چندین استراتژی برای هدف‌گیری و مهار فعال‌سازی Sox2 مورد بررسی قرار گرفته شده است، از جمله اسیدهای نوکلئیک پپتیدی (PNA)[24]، مولکول‌های کوچک، الیگومرهای مورفولینو فسفورودی آمیدیت (PMO)[25]، الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تشکیل‌دهنده مارپیچ سه‌گانه و تتراپلکس (TFO)[26]، الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای آنتی سنس (ASO)[27]، RNAای

[24] Peptide nucleic acid
[25] Phosphorodiamidate morpholino oligonucleotide
[26] Triplex-forming oligonucleotide
[27] Antisense oligonucleotide

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]



شکل ۵- میزان جذب سلولی نانوحامل‌های نیوزومی که حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای نشان‌دار شده با فلوروفور Cy3 است. علائم مشخص‌شده با **** نمایان گر معناداری با تفاوت $p < ۰/۰۰۰۱$ است.



شکل ٦- بررسی زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان بعد از تیمار با نانوحامل‌های نیوزوم، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای اسکرامبل و نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار. علائم مشخص‌شده با *، ** و **** به ترتیب نمایان‌گر معناداری با تفاوت $p < ۰/۰۵$، $p < ۰/۰۱$ و $p < ۰/۰۰۰۱$ است.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

کوچک مداخله‌گر (RNAi) [۲۸] و تله فاکتور رونویسی (TFD)[۲۹] [۱۸]. یکی از قدرتمندترین روش‌های مهار ژن پیش از رونویسی، رویکرد تله فاکتور رونویسی یا تله الیگودئوکسی‌نوکلئوتید (Decoy ODN) است. تله فاکتور رونویسی، الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای سنتتیک هستند که برای اتصال به یک فاکتور رونویسی خاص موجود در هسته با عناصر Cis اختصاصی موجود در پروموترها یا تقویت‌کننده‌ها[۳۰] رقابت می‌کنند و بیان ژن را به روش اختصاصی کاهش می‌دهد [۱۹]. اولین استفاده درمانی از این رویکرد تله فاکتور رونویسی توسط موریشیتا[۳۱] و همکاران در سال ۱۹۹۵ به منظور درمان رت‌های با جراحت رگ کاروتید پس از بالون زدن با استفاده از الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله برای فاکتور رونویسی E2F انجام شد [۲۰]. از مزایای این رویکرد نسبت به روش RNA مداخله‌گر می‌توان به اختصاصیت آن در رابطه با محل اتصال منحصربه‌فرد برای هر فاکتور رونویسی، سادگی در طراحی و ارزان قیمت بودن اشاره کرد. الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله می‌توانند ژن‌های هدف خود را با دقت بیشتری نسبت به سایر روش‌های بر پایه الیگودئوکسی‌نوکلئوتید کاهش دهنده بیان ژن مانند RNA مداخله‌گر تنظیم کنند و شایسته است تله‌های فاکتور رونویسی جدیدی برای فاکتورهای رونویسی درگیر در بنیادینگی توسعه داده شوند [۲۱].

در سال‌های اخیر از نیوزوم‌ها به عنوان جایگزین لیپوزوم‌ها در امر دارورسانی استفاده می‌شود. نانوحامل‌های نیوزومی در سه گروه؛ وزیکول‌های تک لایه کوچک، وزیکول‌های تک لایه بزرگ و وزیکول‌های چندلایه‌ای طبقه‌بندی می‌شوند که این طبقه‌بندی بر اساس اندازه ویزیکول‌ها می‌باشد. از دیگر ویژگی‌های نیوزوم‌ها می‌توان به زیست‌تخریب‌پذیری، غیر ایمنی‌زا، سمت کم، زیست سازگار، فعال ازلحاظ اسموتیک، افزایش نفوذپذیری پوست به دارو، پایداری مناسب و راحت بودن اصلاحات سطحی آن‌ها اشاره نمود. نیوزوم از روش‌های مختلفی تهیه می‌شود که معمول‌ترین حالت آن روش هیدراسیون سورفکتانت‌های غیریونی می‌باشد. شایان ذکر است که وجود فاز درونی آبدوست و غشاء در ساختار وزیکولی نیوزوم، شرایط ویژه را ایجاد می‌کند تا این وزیکول‌ها در انتقال داروهای آبگریز و آبدوست استفاده شوند. نیوزوم‌ها و لیپوزوم‌ها از نظر ساختاری بسیار مشابه می‌باشند و تفاوت آن‌ها در کلسترول مورد استفاده در نیوزوم‌ها است در حالی که در لیپوزوم‌ها مواد لیپیدی جایگزین سورفکتانت بوده و به این طریق ساختار لیپوزوم حفظ می‌شود. یکی از معایب عمده لیپوزوم‌ها شرایط سخت نگهداری و احتمال تخریب ساختار دو لایه فسفولیپیدی-سورفکتانت و تخریب اکسیداتیو فسفولیپیدها می‌باشد که منجر به آزاد شدن داروی انکپسوله شده در نانوحامل می‌باشد. این در حالی است که در نیوزوم‌ها به دلیل استفاده از سورفکتانت‌های غیر یونی به همراه کلسترول ساختار فوق‌العاده پایداری را تشکیل داده که شرایط نگه‌داری آن‌ها را ساده می‌کند [۱۶].

نتایج به دست آمده از FT-IR که برای بررسی برهم‌کنش‌های فیزیکوشیمیایی بین اجزای تشکیل‌دهنده نانوسامانه به کار می‌رود، موفقیت‌آمیز بودن فرایند سنتز فرمولاسیون نهائی را تأیید می‌کند. در طیف نانونیوزوم‌های خالی (فاقد توالی‌های الیگودئوکسی‌نوکلئوتید)، همان‌طور که انتظار می‌رود پیک‌های مشخصه‌ی سورفکتانت‌های غیر یونی و کلسترول مشاهده شود. این پیک‌ها نشان‌دهنده تشکیل لایه دوتایی وزیکول‌ها هستند. هنگامی که توالی‌های الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله برای فاکتور رونویسی Sox2 با بار منفی، درون نانوحامل‌ها بارگیری می‌شود، مهم‌ترین تغییر مورد انتظار، جابجایی، تغییر شکل و کاهش شدت پیک‌های مشخصه ODNبه ویژه گروه‌های فسفات (P = O) در حدود ۱۲۵۰-۱۲۰۰ سانتی‌متر$^{-۱}$ و همچنین پیک‌های نانوحامل است. این تغییرات در طیف FT-IR، شاهدی بر برهم‌کنش فیزیکی قوی و موفقیت‌آمیز بودن کپسوله‌سازی یا اتصال ODN به ماتریکس نیوزوم است. در مطالعات مشابهی که نانوحامل‌های نیوزومی برای انتقال اسیدهای نوکلئیک (مانند پلاسمید یا siRNA) استفاده شده‌اند، گزارش شده است که تغییر در پیک‌های C-H (ناشی از زنجیره آلکیل سورفکتانت) یا تضعیف پیک‌های فسفات نوکلئیک اسید، به وضوح نشان می‌دهد که نوکلئیک اسید با موفقیت در سیستم نانویی جای گرفته و ساختار لایه دوتایی را تحت تأثیر قرار داده است [۲۲].

آنالیز دقیق DLS برای ارزیابی مشخصه‌های فیزیکوشیمیایی فرمولاسیون‌های نیوزومی، اطلاعات اساسی در مورد اندازه، همگنی و پایداری کلوییدی فراهم آورده است. نتایج به دست

[28] RNA interference
[29] Transcription factor decoy
[30] Enhancer
[31] Morishita

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

آمده نشان می‌دهد که اندازه متوسط هیدرودینامیک نانوحامل‌های پایه (نیوزوم) برابر با ۰/۲۵ ± ۱۴۱/۸۷ نانومتر بوده است. این اندازه در محدوده ۲۰۰–۱۰۰ نانومتر قرار دارد که از نظر بالینی اندازه ایده‌آل برای هدف‌گیری غیرفعال تومورها از طریق اثر نفوذپذیری و احتباس افزایش‌یافته به شمار می‌رود. پس از پوشش‌دهی با آلبومین سرم گاوی، قطر نانوحامل‌ها به ۶۷/۲۵ ± ۱۶۱/۶ نانومتر (نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی) و پس از بارگذاری الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها (نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله) به ۰/۳۰ ± ۱۷۳/۸۰ نانومتر افزایش یافته است. این افزایش قطر متوالی، شواهد محکمی مبنی بر موفقیت‌آمیز بودن پوشش سطحی با آلبومین سرم گاوی و سپس محصورسازی یا اتصال مولکولی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله به ساختار نانوحامل‌ها ارائه می‌دهد که این امر با گزارش‌های دیگر مبنی بر تغییر اندازه پس از اصلاح سطحی نانوذرات همخوانی دارد [۱۶]. در خصوص PDI، تمامی فرمولاسیون‌ها مقادیری زیر ۰/۲۴ را نشان داده‌اند، به طوری که کمترین مقدار در نمونه نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل (۱۰۳/۰۲۲ ± ۰/۰) و نمونه بارگذاری‌شده با تله نیز مقدار ۰/۰۶۷ ± ۰/۱۶۳ را ثبت کرده است. مقادیر PDI که به طور قابل توجهی پایین‌تر از حد ۰/۳ است، بر یکنواختی عالی توزیع اندازه ذرات دلالت دارد. این سطح از همگنی که مشابه سیستم‌های نانویی موفق در مطالعات مرجع است، ثبات فیزیکی بالا و تکرارپذیری نتایج بیولوژیکی در محیط‌های آزمایشگاهی و درون تنی را تضمین می‌کند [۱۴]. از طرفی پتانسیل زتا، تمامی فرمولاسیون‌ها دارای بار سطحی منفی قوی بوده‌اند، به طوری که پتانسیل زتای نمونه نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله به ۱/۰۷ ± ۲۴/۹۷– میلی‌ولت رسیده است. مشاهده افزایش بار منفی پس از پوشش‌دهی با آلبومین سرم گاوی (از ۱۸/۰۷– به ۲۳/۶۳–)، بیانگر تثبیت لایه پروتئین آلبومین سرم گاوی (با بار منفی در pH فیزیولوژیک) بر روی سطح نانوحامل است. این مقدار قدر مطلق بالا برای پتانسیل زتا (فراتر از ۲۰– میلی ولت) نشان‌دهنده پایداری کلوئیدی عالی نانوحامل‌ها از طریق ایجاد نیروی دافعه الکترواستاتیک قوی بین ذرات است و از تجمع ناخواسته آن‌ها جلوگیری می‌کند [۲۳].

بار منفی قوی در این سیستم (ناشی از پوشش آلبومین سرم گاوی)، یک رویکرد هدفمند را پشتیبانی می‌کند، پوشش آلبومین سرم گاوی می‌تواند از طریق گیرنده‌های اختصاصی آلبومین (gp60 و SPARC) که در بسیاری از تومورهای بدخیم بیان می‌شوند، جذب فعال نانوحامل‌ها توسط سلول‌های سرطانی را تسهیل کند که این مکانیسم می‌تواند بر محدودیت دافعه الکترواستاتیک غلبه کرده و کارایی انتقال را بهبود بخشد [۲۴].

رهش کنترل‌شده دارو، از مزیت‌های استفاده نانوذرات در دارورسانی می‌باشد، برای بررسی میزان رهش الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله و اسکرامبل از نانوحامل، نانوذرات در PBS با pH برابر با ۵/۸ و pH برابر با ۷/۴ حل شد و پس از سانتریفیوژ میزان الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای موجود در نمونه با اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد، pH پلاسمای خون انسان معادل ۷/۴ است که میزان رهش دارو در پلاسمای خون برای نانوحامل‌ها بررسی شد. pH موجود در اندوزوم‌های سلولی برابر با ۵/۸ می‌باشد، ازآنجایی‌که نانوحامل‌ها برای ورود به سلول از مسیر اندوزوم عبور می‌کنند، بنابراین این pH نیز بررسی شد. نتایج نشان داد که رهش الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها در pH برابر با ۵/۸ نسبت به ۷/۴ بیشتر است. به این معنا که الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها در جریان خون کمتر آزاد شده ولی در داخل اندوزوم‌های سلول‌های سرطانی بیشتر آزاد می‌شوند و اثر درمانی خود را بروز می‌دهند. همچنین ریز محیط سلول‌های سرطانی اسیدی است، طبق نتایج الیگودئوکسی‌نوکلئوتید در pH اسیدی بهتر از نانوحامل آزاد می‌شود و این امر می‌تواند باعث افزایش کارایی دارو و متعاقباً درمان سرطان گردد [۱۵].

برای بررسی سازگاری خونی نانوذرات از آزمون همولیز استفاده شد، در این آزمون نانوذرات در مجاورت گلبول‌های قرمز قرار داده می‌شوند و بر اساس آزاد شدن هم (که از گلبول‌هایی قرمزی که غشاء آن‌ها آسیب می‌بینند، رها می‌شوند) سازگاری خونی محاسبه می‌شود. به‌طوری‌که هر چه نانوذره سمیت کمتری داشته باشد، مقدار آزاد شدن هم کمتر خواهد بود. نتایج حاصل از آزمون همولیز نشان داد که نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله در بیشترین غلظت آزمون (۱۰۰۰ میکرومولار) حدود ۸/۱۵ درصد همولیز دارد که این مقدار با توجه به غلظت آن بسیار ناچیز است؛ بنابراین نانوحامل نهایی دارای زیست سازگاری خونی مطلوبی بوده و مناسب برای استفاده‌ی *in vivo* است.

از سنجش جذب سلولی برای تأیید ورود نانوذرات حاوی

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدها به سلول استفاده شد. به این صورت که می‌توان جذب نانوذرات حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای نشان‌دار شده با Cy3 توسط سلول‌های سرطان پستان را با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری به‌طور کمی اندازه‌گیری کرد. در این سنجش از گروه‌های کنترل سلولی بدون تیمار، نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی با غلظت ۳۰۰ نانومولار به‌عنوان نانو سامانه خالی (کنترل منفی نانوذره) و نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای نشان‌دار شده با فلورفور Cy3 با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار استفاده کردیم. در گروه کنترل سلولی بدون تیمار، تقریباً ۲/۵۲ درصد جذب سلولی دیده می‌شود که این درصد احتمالاً مربوط به فلوئورسنت اندامک‌های داخل سلولی است. در گروه نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی مقدار ۴/۰۱ درصد ورود به سلول مشاهده می‌شود که احتمالاً مربوط به تأثیر نانوحامل بر روی اجزای سلول است. در نهایت در گروه نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای نشان‌دار مشاهده کردیم که با افزایش غلظت نانو سامانه، میزان ورود به سلول نیز افزایش پیدا می‌کند به‌طوری‌که در غلظت ۳۰۰ نانومولار به ۹۷/۷ درصد می‌رسد. در مطالعات گذشته برای ترانسفکشن الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله به سلول‌های یوکاریوتی از لیپوفکتامین استفاده شده است [۱۲] که نسبت به نانوحامل‌ها کارایی پایین‌تری در جذب سلولی داشتند. در سال ۲۰۲۰ اکبر زاده و همکاران با استفاده از نانوساختارهای نیوزومی، ماده ضد سرطانی سیمواستاتین را به رده سلولی سرطان پستان انتقال دادند. نتایج حاصل از میکروسکوپ کانفوکال نشان داد که میزان ورود نانوحامل نیوزومی به رده سلولی مربوطه کارآمد بوده است [۲۵].

برای بررسی میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان پس از تیمار با نانوحامل‌های نیوزوم، نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی، نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل و نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار از آزمون MTT در مدت زمان ۲۴ ساعته استفاده شد. غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ نانومولار از همه گروه‌ها به جز گروه تیمار شده با نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله در مقایسه با گروه کنترل سلولی تأثیر معناداری بر زنده‌مانی سلولی نداشتند، در حالی که در همین غلظت‌ها نانوحامل نهایی (نیوزوم حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله) منجر به کاهش زنده‌مانی سلولی شده است. بیشترین کاهش زنده‌مانی در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار از نانوحامل نهایی است که نشان‌دهنده اثر توالی‌های تله علیه فاکتور رونویسی Sox2 و مهار فعالیت آن است. در مقایسه آماری بین گروه‌های فرمولاسیون نهایی در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ نانومولار با نانوحامل‌های نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید اسکرامبل به‌عنوان کنترل منفی توالی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید (اسکرامبل) و نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی به‌عنوان نانوذره خالی، نیز کاهش معنادار زنده سلولی رخداده است.

در زمینه کارایی درمانی، داده‌های *in vitro* نشان می‌دهد که نانوسامانه نهایی دارای ویژگی‌هایی است که می‌تواند به بهبود اثربخشی درمانی منجر شود; افزایش جذب سلولی وابسته به دوز، رهش دارو وابسته به pH و القای سمیت انتخابی در سلول‌های سرطان پستان سه گانه منفی. علاوه بر این، پوشش دهی نانوحامل نیوزومی با آلبومین سرم گاوی ممکن است به کاهش توزیع ناخواسته و سمیت سیستمیک کمک کند و در نتیجه پنجره درمانی مناسب‌تری نسبت به تحویل آزاد مولکول‌ها ایجاد نماید. در مجموع، یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوحامل نیوزوم پوشش داده شده با آلبومین سرم گاوی حاوی الیگودئوکسی‌نوکلئوتید تله (نانوسامانه نهایی) پتانسیل قابل‌توجهی به‌عنوان یک حامل هدفمند برای انتقال الیگودئوکسی‌نوکلئوتیدهای تله به سلول‌های سرطان پستان MDA-MB-231 دارد؛ که این خود نیاز به ارزیابی‌های جامع‌تری از توزیع دارویی، سمیت سیستمیک، پاسخ ایمنی میزبان و اثربخشی درمانی در مدل‌های توموری دارد تا روش درمانی ایمن و مؤثرتر گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از ارزیابی نانوحامل حاوی تله علیه فاکتور رونویسی Sox2 با استفاده از مجموعه‌ای از آزمون‌ها شامل اسپکتروسکوپی تبدیل فوریه مادون‌قرمز، پراکندگی نور دینامیکی، تعیین درصد انکپسولاسیون الیگودئوکسی نوکلئوتیدهای تله، رهش دارو، همولیز سلولی نشان داد که این نانوحامل از نظر ساختاری و عملکردی ویژگی‌های قابل‌قبولی

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

داشته و مناسب استفاده به عنوان یک نانو دارو می‌باشد. علاوه بر این، بررسی‌های انجام شده پیرامون ورود نانوحامل به داخل سلول‌ها و تأثیرات ضد سرطانی آن نیز بسیار امیدوارکننده بود که می‌تواند نقش مؤثری در مهار رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی ایفا کند. در مجموع این استراتژی درمانی می‌تواند به عنوان یک رویکرد درمانی ترکیبی بسیار کارآمد در آینده، به ویژه در درمان سرطان‌های متاستاتیک پیشرفته، مورد توجه قرار گرفته و این نیازمند بررسی‌های جامع‌تر و مطالعات بیشتر است تا کارایی و ایمنی آن به طور کامل تأیید شود.

سپاسگزاری

از کمیته تحقیقات دانشجویی و آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی زنجان به دلیل ارائه کمک‌های فنی ارزشمند، دسترسی به تجهیزات تحقیقاتی و پشتیبانی مستمر در تمامی مراحل انجام آزمایش‌ها، صمیمانه قدردانی می‌شود.

ملاحظات مالی

پژوهش حاضر با حمایت مالی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی زنجان با کد های مصوب (A-12-1244-12) و اخلاق (IR.ZUMS.REC.1399.035) انجام شده است.

اظهارنامه

حین آماده‌سازی این اثر، نویسنده از هیچ ابزار هوش مصنوعی استفاده ننموده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ب. ج.: ایده و طراحی مطالعه، جمع‌آوری داده‌ها، نگارش نسخه اول مقاله و تایید نسخه نهایی مقاله؛ س. ک.، ف. س.، ه. س. ، و. س.: جمع‌آوری داده‌ها؛ م. غ.: آنالیز و تفسیر نتایج و تأیید نسخه نهایی مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تأیید نمودند.

فهرست منابع

[1] Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D, Global cancer statistics. ***CA Cancer J Clin*** 61 (2011) 69-90.

[2] Redig AJ, McAllister SSJJoim, Breast cancer as a systemic disease: a view of metastasis. ***J Intern Med*** 274 (2013) 113-126.

[3] Singh A, Settleman J, EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. ***Oncogene*** 29 (2010) 4741-4751.

[4] Asadi N, Gharbavi M, Rezaeejam H, Farajollahi A, Johari B, Zinc nanoparticles coated with doxorubicin-conjugated alginate as a radiation sensitizer in triple-negative breast cancer cells. ***Int J Pharm*** 659 (2024) 124285.

[5] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S, Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. ***cell*** 131 (2007) 861-872.

[6] Weina K, Utikal J, SOX2 and cancer: current research and its implications in the clinic. ***Clin Transl Med*** 3 (2014) 19.

[7] Mishra PJ, Merlino G, MicroRNA reexpression as differentiation therapy in cancer. ***J Clin Invest*** 119 (2009)

[8] Morishita R, Sugimoto T, Aoki M, Kida I, Tomita N, Moriguchi A, Maeda K, Sawa Y, Kaneda Y, Higaki J, In vivo transfection of cis element "decoy" against nuclear factor-κB binding site prevents myocardial infarction. ***Nat Med*** 3 (1997)

[9] Tavano L, Muzzalupo R, Picci N, de Cindio B, Co-encapsulation of antioxidants into niosomal carriers: gastrointestinal release studies for nutraceutical applications. ***Colloids Surf B Biointerfaces*** 114 (2014) 82-88.

[10] Gharbavi M, Amani J, Kheiri-Manjili H, Danafar H, Sharafi A, Niosome: A Promising Nanocarrier for Natural Drug Delivery through Blood-Brain Barrier. ***Adv pharmacol pharm sci*** 2018 (2018).

[11] Lambert G, Fattal E, Couvreur P, Nanoparticulate systems for the delivery of antisense oligonucleotides. ***Adv Drug Deliv Rev*** 47 (2001) 99-112.

[12] Johari B, Zargan J, Simultaneous targeted inhibition of Sox2-Oct4 transcription factors using decoy oligodeoxynucleotides to repress stemness properties in mouse embryonic stem cells. ***Cell Biol Int*** 41 (2017) 1335-1344.

[13] Gharbavi M, Johari B, Mousazadeh N, Rahimi B, Leilan MP, Eslami SS, Sharafi A, Hybrid of niosomes and bio-synthesized selenium nanoparticles as a novel approach in drug delivery for cancer treatment. ***Mol Biol Rep*** 47 (2020) 6517-6529.

[14] Ghorbani R, Gharbavi M, Sharafi A, Rismani E, Rezaeejam H, Mortazavi Y, Johari B, Targeted anti-tumor synergistic effects of Myc decoy oligodeoxynucleotides-loaded selenium nanostructure combined with chemoradiotherapy on LNCaP prostate cancer cells. ***Oncol Res*** 32 (2023) 101.

[15] Johari B, Tavangar-Roosta S, Gharbavi M, Sharafi A, Kaboli S, Rezaeejam H, Suppress the cell growth of cancer stem-like cells (NTERA-2) using Sox2-Oct4 decoy oligodeoxynucleotide− encapsulated niosomes-zinc hybrid nanocarriers under X-irradiation. ***Heliyon*** 10 (2024).

[16] Johari B, Leilan MP, Gharbavi M, Mortazavi Y, Sharafi A, Rezaeejam H, Combinational therapy with Myc decoy oligodeoxynucleotides encapsulated in nanocarrier and X-irradiation on breast cancer cells. ***Oncol Res*** 32 (2023) 309.

[17] Gharbavi M, Johari B, Ghorbani R, Madanchi H, Sharafi A, Green synthesis of Zn nanoparticles and in situ hybridized with BSA nanoparticles for Baicalein targeted delivery mediated with glutamate receptors to U87-MG cancer cell lines. ***Appl Organomet Chem*** 37 (2023) e6926.

[18] Vita M, Henriksson M, editors. The Myc oncoprotein as a

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

therapeutic target for human cancer. ***Semin Cancer Biol*** 16 (2006) 318-330.
[19] Penolazzi L, Lambertini E, Aguiari G, Del Senno L, Piva R, Modulation of estrogen receptor gene expression in human breast cancer cells: a decoy strategy with specific PCR-generated DNA fragments. ***Breast Cancer Res Treat*** 49 (1998) 227-235.
[20] Morishita R, Gibbons GH, Horiuchi M, Ellison KE, Nakama M, Zhang L, Kaneda Y, Ogihara T, Dzau VJ, A gene therapy strategy using a transcription factor decoy of the E2F binding site inhibits smooth muscle proliferation in vivo. ***Proc Natl Acad Sci USA*** 92 (1995) 5855-9.
[21] Johari B, Ebrahimi-Rad M, Maghsood F, Lotfinia M, Saltanatpouri Z, Teimoori-Toolabi L, Sharifzadeh Z, Karimipoor M, Kadivar M, Myc decoy oligodeoxynucleotide inhibits growth and modulates differentiation of mouse embryonic stem cells as a model of cancer stem cells. ***Anticancer Agents Med Chem (Formerly Curr Med Chem Anticancer Agents)*** 17 (2017) 1786-1795.
[22] Grijalvo S, Puras G, Zárate J, Sainz-Ramos M, Qtaish NA, López T, Mashal M, Attia N, Diaz Diaz D, Pons R, Cationic niosomes as non-viral vehicles for nucleic acids: challenges and opportunities in gene delivery. ***Pharmaceutics*** 11 (2019) 50.
[23] Gharbavi M, Johari B, Tabar RM, Sharafi A, Selenium-doped albumin nanoparticles enhance tamoxifen-induced anticancer effects in 4T-1 mouse breast cancer cells. ***Appl Organomet Chem*** 38 (2024) e7327.
[24] Tan YL, Ho HK, Navigating albumin-based nanoparticles through various drug delivery routes. ***Drug Discov Today*** 23 (2018) 1108-1114.
[25] Akbarzadeh I, Saremi Poor A, Yaghmaei S, Norouzian D, Noorbazargan H, Saffar S, Ahangari Cohan R, Bakhshandeh H, Niosomal delivery of simvastatin to MDA-MB-231 cancer cells. ***Drug Dev Ind Pharm*** 46 (2020) 1535-1549.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]

Research paper

Investigation of the anticancer effects of inhibiting the transcription factor Sox2 using niosomal nanocarrier containing decoy oligodeoxynucleotides on breast cancer cell line (MDA-MB-231)

Behrooz Johari[1], Farzad Sardarzadeh[2], Vahide Salimi[2], Hasti Soroushnasab[2], Saeed Kaboli[2], Mahmoud Gharbavi[3*]

[1] *Zanjan Pharmaceutical Nanotechnology Research Center (ZPNRC), Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran*
[2] *Student Research Committee, Department of Medical Biotechnology, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran*
[3] *Nanotechnology Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran*

Received: 6 December 2024 Accepted: 2 February 2024

Abstract

Background and Aim: Breast cancer is the most common type of cancer in the female population in Iran. Given the role of key transcription factors such as Sox2 in maintaining pluripotency, the "Differentiation Therapy" approach has been proposed as a targeted and less toxic strategy to disrupt the stemness state of cancer cells. In the present study, the Sox2 transcription factor was targeted and inhibited using decoy oligodeoxynucleotides encapsulated in niosomal nanocarriers, and its anticancer effects were subsequently investigated.

Methods: Niosomes were prepared using the thin-film hydration method and encapsulated with decoy oligodeoxynucleotides for the Sox2 transcription factor. Their physicochemical properties were evaluated using various assays such as FT-IR, DLS and ODNs release. Finally, the blood biocompatibility, cellular uptake rate, and cell viability of the synthesized oligo-containing nanocarriers on a triple negative breast cancer cell line were evaluated.

Results: Physicochemical results showed that the niosomal nanocarrier containing the decoy oligos was successfully synthesized. Hemolysis and cellular uptake studies showed that the synthesized nanocarrier was biocompatible (hemolysis less than 10%) and entered the cells with high efficiency (97.7%), respectively. MTT assay on MDA-MB-231 cancer cells showed that the final formulation (NISM@BSA-DEC) at concentrations of 200 and 300 nM resulted in a significant decrease ($p < 0.0001$) in cell survival in a dose-dependent manner compared to other treatment groups.

Conclusion: The NISM@BSA-DEC nanosystem can be used as a potential nanocarrier in drug delivery and differentiation therapy for breast cancer. Further cellular and *in-vivo* experiments are necessary to confirm the efficacy of these nanosystems in future research.

Keywords: Decoy oligodeoxynucleotides, Breast cancer, Sox2 transcription factor, Niosomes

Please cite this article as follows:

Johari B, Sardarzadeh F, Salimi V, Soroushnasab H, Kaboli S, Gharbavi M, Investigation of the anticancer effects of inhibiting the transcription factor Sox2 using niosomal nanocarrier containing decoy oligodeoxynucleotides on breast cancer cell line (MDA-MB-231). ***Iran J Physiol Pharmacol*** 9 (2025) 185-202.

*Corresponding authors: Gharbavi1981@gmail.com (ORCID: 0000-0002-9580-1999)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-13]