Effect of iron oxide nanoparticles functionalized with hyaluronic acid on CD44 gene expression and growth of Aspc-1 cell line of pancreatic cancer

Khosro Issazadeh[1], Seyedeh Motahareh Sadatfar[2], Alireza Habibi[3*]

1.Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan, Iran
2. MSc student, Department of Molecular-Cell Biology, Islamic Azad University, Lahijan Branch. Lahijan, Iran
3.Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Science Higher Education Center, Imam Hossein (AS) Officer Training and Guards University, Tehran, Iran

Abstract

Aim and Background: Pancreatic cancer is the third leading cause of cancer-related mortality. The utilization of hyaluronic acid in treatment is promising due to its targeted absorption and lack of adverse effects. The objective of this study was to examine the impact of iron oxide and hyaluronic nanoparticles on alterations in *CD44* gene expression within cancer cells.

Materials and Methods: Iron oxide nanoparticles were synthesized using the co-precipitation method and then functionalized with hyaluronic acid in this study. Various confirmatory tests, such as Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Energy Dispersive X-Ray (EDX), Ultraviolet-Visible (UV-visible), and Zeta-potential, were conducted for characterization purposes. The viability of ASPC-1 and HEK-293 cells post-treatment with Fe3O4@HA was assessed using the MTT method. Additionally, the expression of the *CD44* gene in both treated and control cells was analyzed through the qRT-PCR technique.

Results: The Fe3O4@HA complex exhibited a more potent impact on ASPC-1 cells compared to Fe3O4 ($P < 0.05$), while its effect on normal cells was less pronounced ($P > 0.05$). The Selectivity Index (SI) for drug selection was determined to be 1.13. Analysis of qRTPCR data revealed a 6% decrease in *CD44* expression in treated cells at the IC_{50} concentration, although this difference was not statistically significant ($P > 0.05$).

Conclusion: In conclusion, the outcomes of this investigation demonstrate that Fe3O4@HA possesses effective anti-proliferative characteristics against pancreatic cancer cells and has the ability to lower CD44 gene expression.

Keywords: Pancreatic Cancer, ASPC-1 cells, *CD44* gene, Fe3O4@HA nanoparticles.

***Corresponding Author:**
Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Science Higher Education Center, Imam Hossein (AS) Officer Training and Guards University, Tehran, Iran
Emails: alirh110@gmail.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

تأثیر نانوذرات اکسید آهن عامل‌دار شده با هیالورونیک اسید بر بیان‌ژن *CD44* و رشد ردهٔ سلولیِ Aspc-1 سرطان لوزالمعده

مطهره سادات‌فر[۱]، خسرو عیسی‌زاده[۲]، علیرضا حبیبی[۳*]

۱.گروه زیست‌شناسی- سلولی‌مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران.
۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران.
۳. گروه علوم‌پایه، مرکز آموزش عالیِ علوم، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: سرطان لوزالمعده رتبهٔ سوم مرگ‌ومیرهای ناشی از سرطان است. هیالورونیک اسید به‌دلیل جذب اختصاصی و نداشتن عوارض جانبی در درمان می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر نانوذرات اکسید آهن و هیالورونیک بر تغییرات بیان‌ژن *CD44* در سلول‌های سرطانی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش نانوذرات اکسید آهن به‌روش هم‌رسوبی، سنتز و با هیالورونیک اسید سنتز عامل‌دار شدند. از تست‌های تأییدی میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، طیف‌سنجی پراش انرژی پرتوی ایکس (EDX)، طیف‌سنجی فرابنفش مرئی (UV-visible) و آنالیز پتانسیل زتا (Zeta-potential) برای شناسایی استفاده شد. زنده‌مانی سلول‌های ASPC-1 و Human Embyonic Kidnay 293 Cells (HEK-293) بعد از تیمار با Fe_3O_4@HA به‌روش MTT بررسی شد. همچنین بیان‌ژن *CD44* در سلول‌های تیمارشده و کنترل با تکنیک qRT-PCR تعیین شد.

یافته‌ها: کمپلکس Fe_3O_4@HA بر روی سلول‌های ASPC-1 تأثیر قوی‌تری نسبت به Fe_3O_4 داشت ($p < ۰/۰۵$)، درحالی‌که اثر آن بر روی سلول‌های سالم ضعیف‌تر بود ($p > ۰/۰۵$). ضریب انتخاب دارو برابر ۱/۱۳ محاسبه شد. نتایج qRT-PCR نشان داد که بیان *CD44* در سلول‌های تیمارشده در غلظت IC_{50} ۶، درصد کمتر از سلول‌های گروه کنترل بود ($p > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که Fe_3O_4@HA اثرهای ضدتکثیریِ مناسبی مقابل سلول‌های سرطان لوزالمعده دارد و می‌تواند باعث کاهش بیان‌ژن *CD44* شود.

واژگان کلیدی: سرطان لوزالمعده، سلول‌های ASPC-1، ژن *CD44*، نانوذرات Fe_3O_4@HA،

نویسنده مسئول: گروه علوم پایه، مرکز آموزش عالیِ علوم، دانشگاه افسری و تربیت پاسداری امام حسین (ع)، تهران، ایران
- **پست الکترونیکی:**
alirh110@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

۱- مقدمه

از بیماران مبتلا به سرطان لوزالمعده بین ۸۰-۸۵ درصد بعد از مرحلهٔ متاستاز به مراکز درمانی مراجعه می‌کنند. در بیمارانِ با امکانِ جراحی نیز، پیش‌آگهی ضعیفی از زنده‌ماندن متصوّر است و تنها ۲۰ درصد از آن‌ها پس از جراحی، حداکثر به‌مدت ۵ سال زنده می‌مانند (۱). سرطان لوزالمعده در ایالات متحده، بعد از سرطان‌های ریه و کلورکتال، در سومین جایگاه کُشندگی قرار دارد (۲). پیش‌بینی می‌شود کُشندگی این تومور در سراسر اروپا بزودی از سرطان پستان پیشی گیرد (۳). خوشبختانه، علی‌رغم سرعت بالای مرگ‌ومیر ناشی از این بدخیمی در جهان، در ایران سرطان لوزالمعده دوازدهمین سرطان منجر به مرگ است و روند مرگ‌ومیر آن در دهۀ اخیر اندکی کاهش یافته است (۴). از دیدگاه مولکولی، نئوپلازی‌های درون‌اپیتلیالی سرطان‌های درجۀ ۱ و ۲ لوزالمعده ناشی از جهش‌های نقطه‌ای انکوژن KRAS[1] بوده که به‌ویژه در کدون ۱۲، با سیگنال‌دهیِ پایین‌دستی مسیرهای RAS و PI3K-AKT[2] مشخص می‌شوند. کوتاه شدن تلومر یک ویژگیِ مشخص نئوپلازی درون‌اپیتلیالی سرطان لوزالمعدۀ درجۀ ۱ است که احتمالاً سلول‌ها را از طریق بی‌ثباتیِ کروموزومی مستعد بروز جهش می‌کند. در سرطان لوزالمعدۀ درجۀ دو ایجاد بدخیمی به غیرفعال شدن دو مهارکنندۀ کیناز وابسته به سایکلین شامل CDKN2A[3] و پروتئین محصول آن (p16) و CDKN1Aو پروتئین آن (p21) مرتبط هست. نشانه‌های نئوپلازی‌های درون‌اپیتلیالیِ لوزالمعدۀ درجۀ ۳ و ۴ به‌علت جهش در ژن سرکوبگر تومور *TP53* گزارش شده است (۵). مارکرهای مختلفی شناسایی شده‌اند که ارتباط مستقیمی با شیوع سلول‌های بنیادی سرطان لوزالمعده دارند. برخی از این مارکرها شامل CD133، CD24[4]، CD44، DCLK1[5]، CXCR4[6]، ESA[7]، Oct4[8] و ABCB1[9] هستند. مارکر CD44 یک گیرنده غشایی برای اسید هیالورونیک (HA)، استئوپونتین، کندرویتین، کلاژن، فیبرونکتین و پروتئوگلیکان سرگلیسین/سولفاته است. CD44 در فرایندهایی مانند چسبندگی سلولی، رگ‌زایی، آزادسازی سایتوکین‌ها و ترمیم ماهیچه‌ها نقش دارد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند این پروتئین ممکن است نقش مهمی در ایجاد سرطان لوزالمعده داشته باشد. ژن *CD44* توسط ۲۰ اگزون کُدگذاری می‌شود. ایزوفرم استاندارد (CD44s) CD44 از اگزون‌های ۱-۵ و ۱۶-۲۰ تشکیل شده است، بنابراین به آن فرم ثابت می‌گویند. ایزوفرم نوع متغیر (CD44v) CD44 متشکل از اگزون‌های میانی است که می‌توان آن‌ها را با ۱۰ اگزون موجود در CD44 به‌هم متصل و مونتاژ کرد (۶). ثابت شده است که جهش‌های از نوع حذف (Delete mutation) در *p53*، ممکن است با افزایش *بیان CD44*همراه شده و افزایش رشد تومور را منجر شود. در برخی تحقیقات، افزایش بیان *CD44v* و کاهش بیان *CD44s* در سرطان لوزالمعدۀ متاستاتیک گزارش شده است. احتمالاً نقش *CD44v* در تهاجم به‌دلیل تعامل آن با فاکتور رونویسیِ انکوژنیک c-Myc است. c-Myc مسیرهای MEK و ERK را فعال می‌کند و به‌دلیل کاهش سیگنال‌دهیِ Fas، فعالیت ضدآپوپتوزی را افزایش می‌دهد. اتصال HA-CD44 نیز منجر به تنظیم دگرگونی سایر فاکتورهای رونویسی مانند Nanog، Sox2[10] و Oct4 می‌شود. این تعامل باعث افزایش بیان miR-302[11] وmiR-21 می‌شود که تشکیل سلول‌های کروی و نیز رشد و خودتجدیدشوندگیِ سلول‌های سرطانی دارای *CD44v* را سبب می‌شود (۷). در پژوهش‌های مختلف، از هیالورونیک اسید (HA) به‌عنوان یک ترکیب شیمیاییِ مؤثر در هدف قرار دادن سلول‌های توموری اشاره شده است. این ماده به‌دلیل زیست‌سازگاری، تجزیه‌پذیریِ زیستی و خواص اتصال به گیرنده، به‌طور گسترده به‌عنوان حاملِ دارویی نیز موردتوجه قرار گرفته است. HA یک پلی‌ساکارید پلی‌آنیونی طبیعی است که به فراوانی در ماتریکس خارج‌سلولی و مایع سینوویال یافت می‌شود و به‌صورت یک پلیمر خطی است که از واحد دی‌ساکارید تکرارشوندۀ D-گلوکورونیک اسید وN استیل-D-گلوکزآمین تشکیل شده است. *CD44* یکی از گیرنده‌های اولیه است که از طریق برهم‌کُنش با مولکول‌های HA مانند تکثیر، تمایز و مهاجرت به‌طور مستقیم در رویدادهای سلولی متنوع درگیر است. *CD44* نقش مهمی در فرایندهای متاستاز و تکثیر دارد. ثابت شده است که نانوذرات مبتنی بر HA (HANPs) با قطر ۱۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر می‌توانند از طریق افزایش نفوذپذیری

[1].Kristen Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
[2] Phosphoinositide 3-Kinase/Protein Kinase B-Acutely Transforming Retrovirous
[3] Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A
[4] Cluster Of Differentiation 24
[5] Doublecortin-Like Kinase 1
[6] Chemokine Receptor Type 4
[7] Erythropoiesis-Stimulating Agent
[8] Octamer-Binding Transcription Factor 4
[9] ATP-Binding Cassette Subfamily B Member 1
[10] SRY-Box Transcription Factor 2
[11] MicroRNA-302

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

و ماندگار EPR[1] به بافت‌های تومور برسند و به‌دنبال آن از طریق اندوسیتوز با واسطهٔ گیرنده به داخل سلول‌های توموری وارد شوند (۸). امروزه استفاده از نانوذرات مختلف برای مبارزه با سرطان‌ها مورد توجه قرار گرفته است. از جمله این نانوذرات که به‌صورت اختصاصی در انتقال دارو و ژن، تصویربرداری زیست‌پزشکی و ایجاد هایپرترمی (کنترل تومور از طریق حرارت) درمقابل سلول‌های سرطانی مورداستفاده قرار گرفته، نانوذرات اکسید آهن مغناطیسی (Fe_3O_4 NPs) است (۹). در برخی پژوهش‌ها عامل‌دار کردن نانوذرات اکسید آهن با هیالورونیک اسید منجر به مهار رشد سلول‌های سرطانی شده است (۱۰). در این پژوهش تأثیر نانوذرات اکسید آهن عامل‌دار شده با هیالورونیک اسید، بر بیان‌ژن *CD44* و مهار رشد ردهٔ سلولیAspc-1 سرطان لوزالمعده مطالعه شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد و تجهیزات

مواد مصرفی برای سنتز نانوذرات اکسید آهن شامل $FeCl_3.6H_2O$ (Merck)، $FeCl_2.4H_2O$ (Merck)، NH_4OH (SigmaAldrich 25%) و هیالورونیک اسید (1000 KDa/Sigma Aldrich) بود که از شرکت درمان‌کاو رشت خریداری شد. ردهٔ سلولی Aspc-1 سرطان لوزالمعده و سلول‌های نرمال HEK از مرکز ذخایر ژنتیکی ایران تهیه شد. محیط‌کشت اختصاصی RPMI-1640 (Sigma Aldrich)، DMEM (Sigma Aldrich)، DMSO (Merck) و کیت استخراج RNA از شرکت کیاژن خریداری شد.

برای انجام تست‌های تأییدی از دستگاهای آنالیز اسپکتروسکوپی FTIR (Thermo/USA/ AVATAR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM: TESCAN/MIRAIII) ساخت جمهوری چک، FESEM (TESCAN/MIRAII) ساخت جمهوری چک، Beckman DU640 UV/Vis Spectrophotometer ساخت کشور چین و زتا پتانسیل (Horiba/SZ100) ساخت کشور ژاپن، موجود در آزمایشگاهِ بیم‌گستر تابان استفاده شد. برای به‌دست آوردن جذب نوری در تست MTT از دستگاه الیزا-ریدر مدل MR4+ ساخت آلمان استفاده شد. برای انجام PCR و تعیین کیفیت و کمیّت آن با روش اسپکتروفوتومتری به‌ترتیب از دستگاه‌های ریل‌تایم مدل qPCR Mic و نانودراپ مدل NDNM96 استفاده شد.

۲-۲- سنتز و عامل‌دار کردن نانوذرات اکسید آهن

نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) از طریق فرایند هم‌رسوبی نمک‌های کلرید Fe (III) و Fe (II) با هیدروکسید آمونیوم که در پژوهش Li و همکاران گزارش شده سنتز شد (۱۱). برای این منظور $FeCl_3\ 6H_2O$ (۱۱/۶۰ گرم) و $FeCl_2\ 4H_2O$ (۴/۳۰ گرم) در ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و تحت حفاظت گاز نیتروژن و هم‌زدن در دمای ۸۵°C رفلاکس شدند. پس از آن، حدود ۲۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید آمونیوم به مخلوط اضافه شد و هم‌زدن تا تشکیل رسوب سیاه ادامه یافت (سه ساعت). سپس رسوب دو بار با اتانول و چندین بار با آب مقطر شسته شد تا pH خنثی به‌دست آید. مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۵°C تحت گاز نیتروژن رفلاکس شد. نانوذرات مغناطیسی به‌روش مغناطیسی طی سه بار شست‌وشو با آب دیونیزه و الکل از حلّال جدا شدند. رسوب به‌دست آمده به‌مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۰°C قرار گرفت تا کاملاً خشک شد.

برای عامل‌دار کردن نانوذرات اکسید آهن با هیالورونیک اسید از روش هم‌رسوبیِ کنترل‌شده برابر گزارش Xang (با کمی تغییر) استفاده شد (۱۲). به‌طور خلاصه ۰/۱۶ گرم هیالورونیک اسید در ۳۰ میلی‌لیتر آب دو بار یونیزه حل شد و به‌مدت نیم ساعت در دمای ۸۰°C استیرر شد تا یک محلول یکنواخت به‌دست آید. از طرف دیگر ۲ گرم $FeCl_3.6H_2O$ و ۰/۷۳۶ گرم $FeCl_2.4H_2O$ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر داخل یک بالنِ سه‌دهنه تحت گاز ازت (برای حذف گازO_2) به‌مدت یک ساعت با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه استیرر شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر NH_4OH به محلول یکنواخت هیالورونیک اسید اضافه شد و این محلول به مخلوط کلرید آهن‌های II و III اضافه شد و به‌مدت سه ساعت با شرایط بالا، استیرر و رفلاکس شد. رسوب سیاه رنگ به‌صورت مغناطیسی جدا شده و سه بار با آب مقطر شست‌وشو شد. محلول به‌دست‌آمده برای حذف یون‌های آزاد و HA به‌مدت ۲ روز در برابر آب مقطر با استفاده از کیسهٔ دیالیز سایز ۱۲ دیالیز شد. مخلوط غلیظ نیمه‌جامد در دمای ۴°C نگهداری شد. تست‌های FTIR، ZETA، UV visible، SEM و EDX برای تأیید محصول انجام شد.

[1] Enhanced Permeability and Retention

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

۲-۳- کشت‌سلولی

کشت‌سلول‌های Asp-1 و سلول‌های نرمال (HEK-293) که از مرکز ذخایر ژنتیکی ایران خریداری شدند، به‌روش حاجی قاسمی و همکاران انجام شد (۱۳) ابتدا محلول DMSO به محیط RPMI-1640 اضافه شد و تا زمان استفاده در دمای C°۲۰- نگهداری شد. در ادامه سلول‌های سرطانی و نرمال در محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو (FBS)، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین در دمای C°۳۷ و پنج درصد CO_2 کشت داده شدند. سلول‌های نرمال با تراکم ۴×۱۰^{۳} و سلول‌های سرطانی با تراکم ۳×۱۰^{۳} در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای کاشته شدند و سپس با غلظت‌های مختلف DMSO(۰/۱، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ درصد) به‌مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند. همچنین تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند.

۲-۴- تست زنده‌مانی سلول‌ها (MTT)

برای انجام این تست به‌روش Tullii و همکاران (۱۴) پس از انکوباسیون محیط‌کشتِ حاوی سلول‌ها، ابتدا محیط اولیه با ۱۰۰ میکروگرم محیطِ تازه RPMI-1640 جایگزین شد. برای به‌دست آوردن رنج غلظتیِ تأثیر دارو از غلظت‌های (۱۵۰۰ ، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵) میکروگرم بر میلی‌لیتر Fe_3O_4 و Fe_3O_4@HA بر روی سلول‌ها استفاده شد. سلول‌ها مجدداً به‌مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شده و سپس با محلول PBS شسته شدند. سپس ۲۰ میکرولیتر، محلول MTT به هر چاهک اضافه شد و به‌مدت ۵ ساعت در دمای C°۳۷ انکوبه شد. OD نمونه‌ها در ۵۹۰ نانومتر قرائت گردید و درنهایت IC_{50} و CC_{50} با استفاده از نرم‌افزارGraphPad Prism V5 محاسبه شد. در نهایت میزان زنده‌مانیِ سلول‌ها بر اساس تولید کریستال‌های آبی رنگ فورمازان تحلیل شد.

۲-۵- انجام Quantitative Reverse-Transcriptase PCR (qRT-PCR)

در این تست، به‌روش Lin تغییرهای بیان‌ژن *CD44* در ردهٔ سلولی Aspc-1 (۴×۱۰^{۳} سلول) بعد از تیمار با Fe_3O_4@HA (در سه تکرار ۰/۹۵، ۰/۷ و ۱/۰۸ میکروگرم) موردبررسی قرار گرفت (۱۵). پس از تیمار سلول‌های Aspc-1 با مواد مورداستفاده، RNA کل براساس پروتکل کیت استخراج RNA شرکت کیاژن استخراج گردید. پس از استخراج RNA، کیفیت و کمیّت آن با روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد. سپس از روی RNA استخراج‌شده، cDNA تولید شد (با استفاده از آنزیم ریورس ترانس‌کریپتاز و پرایمر الگو). برای سنجش میزان بیان‌ژن‌ها، واکنش Real-Time PCR Quantitative انجام گرفت. مقادیر در حجم ۲۰ میکرولیتر و شامل ۵ میکرولیتر آب دیونیزه، ۱۰ میکرولیتر Taq Man Universal Master Mix، یک میکرولیتر پرایمر ژن مربوطه و ۴ میکرو لیتر cDNA بود. سطح بیان‌ژن *GAPDH* به‌عنوان ژن رفرنس استفاده شد. همچنین از پرایمرهای زیر به‌ترتیب برای ژن *CD44* و *GAPDH* استفاده شد:

Forward Primer:
3´-TGCCGCTTTGCAGGTGTATT-5´
Reverse Primer:
3´-CCGATGCTCAGAGCTTTCTCC-5´

Forward Primer:
3´-CATGAGAAGTATGACAACAGCCT-5´
Reverse Primer:
3´-AGTCCTTCCACGATACCAAAGT-5´

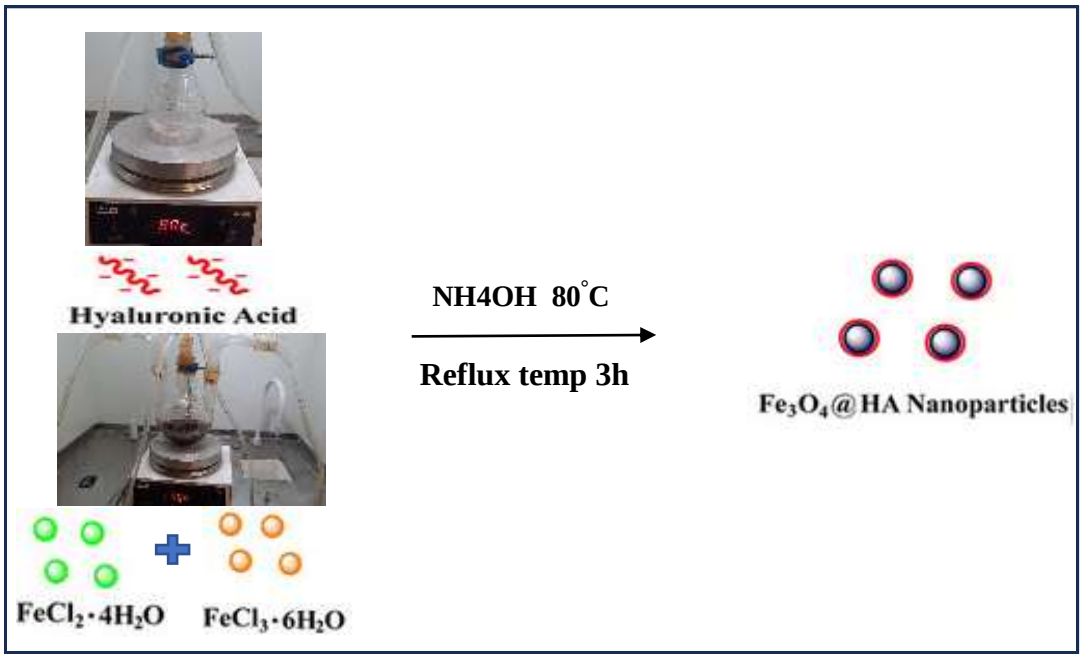
تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در نرم‌افزار GraphPad Prism 5 و با آزمون ANOVA به‌صورت Mean ± SEM در سه تکرار انجام شد و مقدار معنی‌داری با $p < ۰/۰۵$ خطا پذیرفته و تحلیل شد.

۳- نتایج

۳-۱- شناسایی نانوذرات مغناطیسی

شمای کلّی سنتز و عامل‌دار کردن Fe_3O_4 با هیالورونیک اسید در شکل ۱ نشان داده شده است. ترکیب سنتزشده به‌صورت محلول با غلظت بالا و به رنگ قهوه‌ایِ سوخته متمایل به سیاه بود. تست‌های تأییدیِ انجام‌شده نشان داد که روند سنتز به‌طور صحیح انجام شده است. مادهٔ نهایی به‌صورت Fe_3O_4@HA که بیانگر ترکیب نانوذرات اکسید آهن با هیالورونیک اسید بود نام‌گذاری شد.

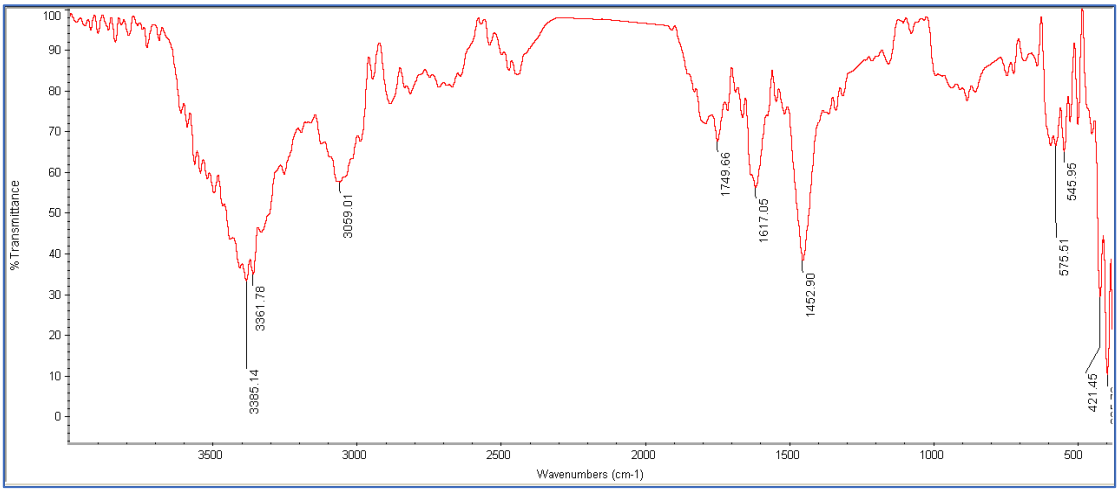
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]



شکل ۱- شمای کلّی مراحل سنتز و عامل‌دار کردن نانوذرات Fe_3O_4 با هیالورونیک اسید

۳-۲- آنالیز داده‌های FTIR برای Fe_3O_4@HA

در شکل ۲ نتایج تست FTIR برای Fe_3O_4@HA نشان داده شده است. آنالیز اسپکتروسکوپی FTIR در دامنهٔ cm^{-1} 400-4000 تعیین شد. پیک‌های ۳۳۶۱ و ۳۳۸۵ دلالت بر ارتعاش متقارن N-H اولیه و مربوط به گروه NH_2 بر روی هیالورونیک اسید است. پیک‌های ۳۰۵۹ بیانگر وجود باندهای N-H ثانویه بر روی اسید فوق است. همچنین پیک ۱۷۴۹، دلالت بر ارتعاش گروه آن‌هیدریدی C=O بر روی هیالورونیک اسید است. پیک ۱۶۱۷ ارتعاش باند اشباع‌نشدهٔ C-C را در این ماده تأیید می‌کند. پیک ۱۴۵۲ مربوط به گروه آلکانی C=H در اسید هیالورونیک اسید است. دو پیک ۴۲۱ و ۵۷۵ نیز بیانگر باند Fe-O در نانوذرات Fe_3O_4 هستند.

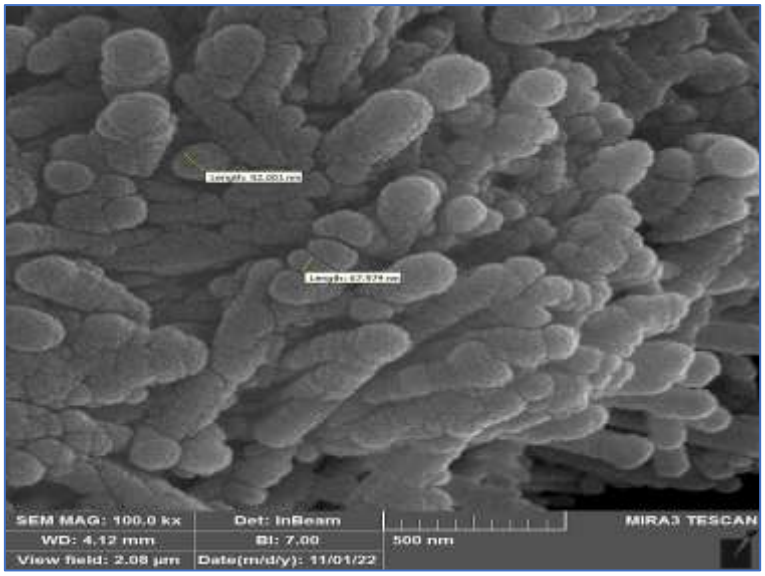


شکل ۲- نتایج تست FTIR برای Fe_3O_4@HA

۳-۴- آنالیز SEM

مورفولوژی نانوذرات عامل‌دارشده با هیالورونیک اسید، توسط میکروسکوپ الکترونیِ روبشی تعیین شد. تصاویر SEM از نانوذرات سنتزشدهٔ Fe_3O_4@HA کروی بودن این نانوذره را تأیید نمود (شکل ۳). برطبق نتایج اندازهٔ نانوذرات سنتزشده یکنواخت بودند و به‌طور میانگین در حدود ۶۷-۹۲ نانومتر اندازه‌گیری شدند.

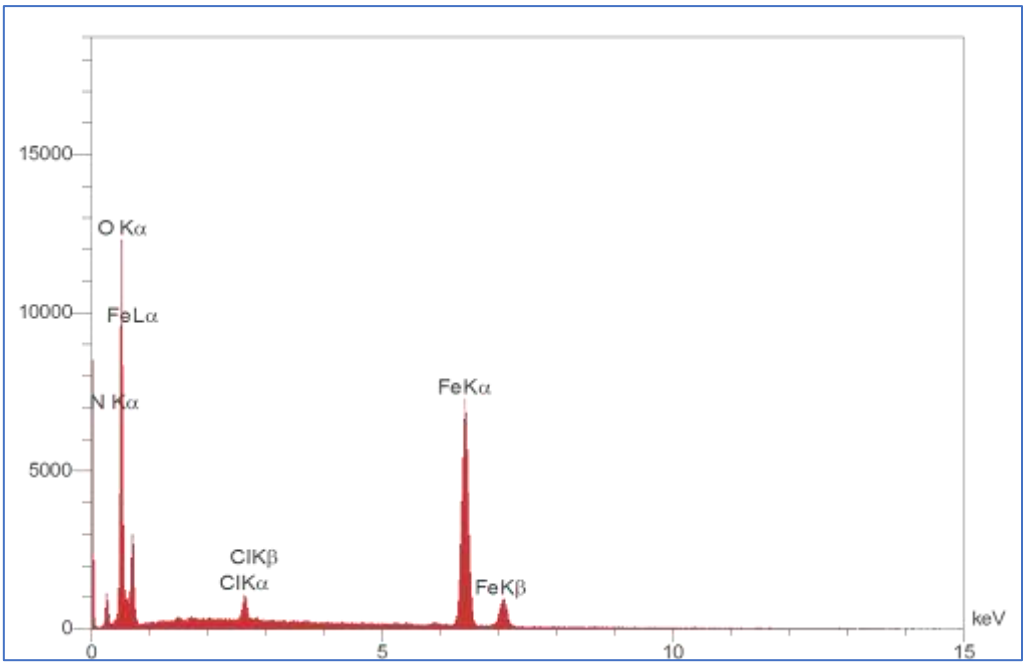
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]



شکل ۳- تصویر SEM مربوط به نانوذرات سنتزشده Fe_3O_4@HA

۳-۵- آنالیز EDX

آنالیز EDX در شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به اینکه در فرمولاسیون هیالورونیک اسید $(C_{14}H_{21}NO_{11})n$ و Fe_3O_4 عناصر آهن، اکسیژن و نیتروژن وجود دارند، صحّت سنتز با خلوص قابل‌قبول تأیید شد. پیک Cl هم که خیلی کوتاه است، بیانگر حداقل ناخالصی در نمونهٔ سنتزشده است. چون برای سنتز از کلرید آهن II و III استفاده شده و بیشتر کلر اضافی صرف سنتز شده و یا طی رفلاکس از محیط خارج شده است.

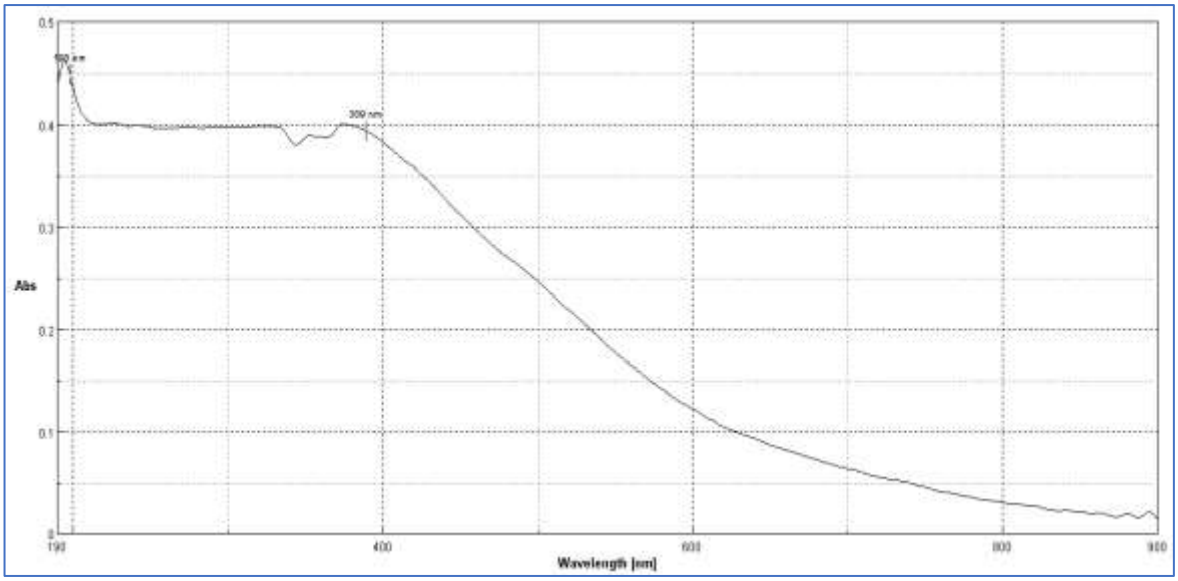


شکل ۴- آنالیز EDX نانوذارت Fe_3O_4@Glu/BTSC

۳-۶- آنالیز UV-Visible

شکل ۵ آنالیز UV-Visible نانوذرات سنتزشده Fe_3O_4@HA را نشان می‌دهد. طیف جذبیِ نوری نانوذرات اکسید آهن در ۳۸۹ نانومتر مشاهده شد.

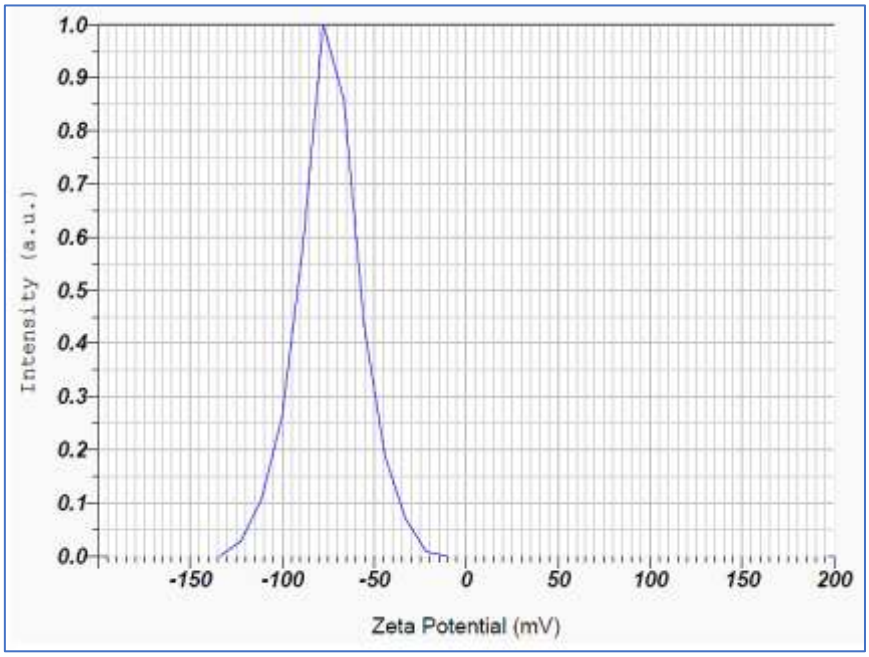
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]



شکل ۵- آنالیز UV-Visible نانوذرات سنتزشده Fe_3O_4@HA

۳-۷- تست پتانسیل Zeta

نتایج آنالیز پتانسیل زِتا در آب دیونیزه برای نانوذرات Fe_3O_4 با پوشش هیالورونیک اسید برابر 74.3 mV- بود (شکل ۶).

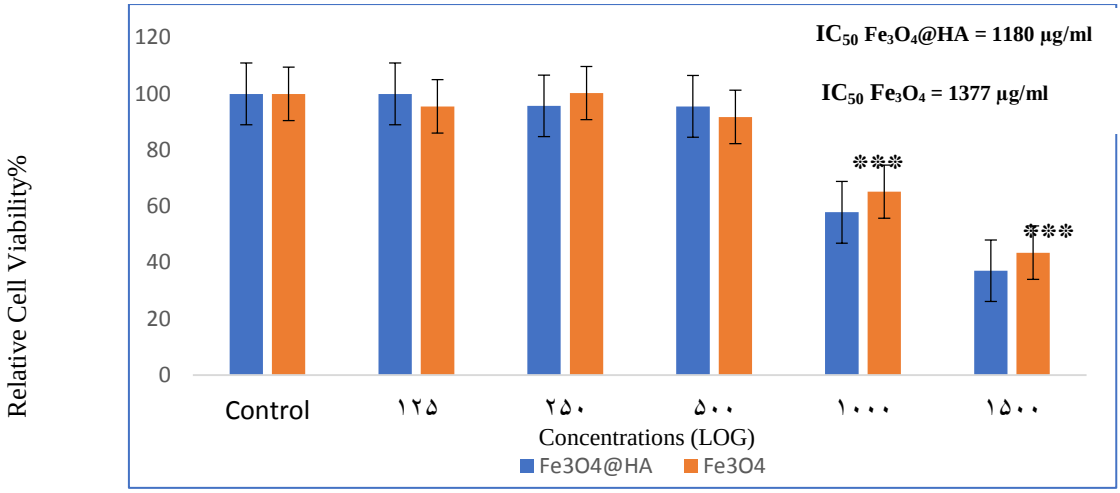


شکل ۶- تست پتانسیل زِتای نانوذرات Fe_3O_4@HA

۳-۸- نتایج زنده‌مانی سلول (MTT)

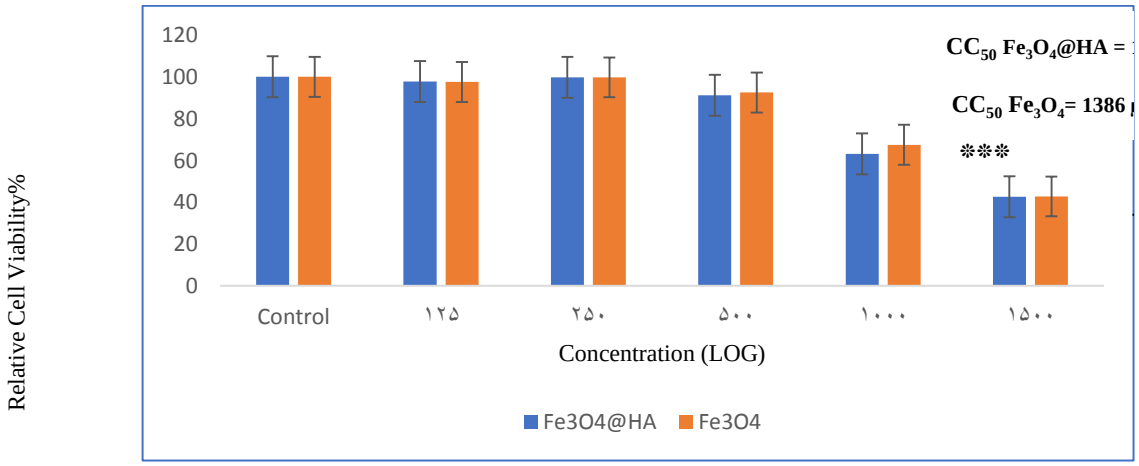
با استفاده از تست MTT، سمیّت و زنده‌مانی سلول‌های ASP-1 و سلول‌های نرمال (HEK-293) تیمارشده با نانوذرات Fe_3O_4@HA و Fe_3O_4 بررسی شد (شکل ۷ و ۸). همچنین مقادیر IC_{50} و CC_{50} سلول‌های سرطانی و نرمال نیز محاسبه شد. اولین غلظت مؤثر هر دو ماده بر روی سلول‌های ASP-1، در ۱۵۰۰ µg/mL مشاهده شد. غلظت تأثیرگذار بعدی ۱۰۰۰ µg/mL بود. میزان IC_{50} برای Fe_3O_4@HA و Fe_3O_4 به‌ترتیب برابر ۱۱۸۰ و ۱۳۷۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. خروجیِ تست ANOVA برای نتایج تست MTT بین دو گروه کنترل و تیمارشدهٔ Fe_3O_4@HA معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]



شکل ۷- نتایج تست MTT، تأثیر Fe_3O_4@HA و Fe_3O_4 روی زنده‌مانی ردهٔ سلولی Asp-1 (* بیانگر غلظت مؤثر دارو بر ردهٔ سلولی است).**

رشد و زنده‌مانی سلول‌های HEK-293 نسبت به سلول‌های سرطانی، بعد از تیمار با Fe_3O_4@HA بیشتر بود (شکل ۸)، به‌طوری‌که غلظت بالاتری از Fe_3O_4@HA برای مهار رشد این سلول‌ها نیاز بود. CC_{50} برابر ۱۳۴۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای این ماده، کاهش سمیّت آن را بر روی سلول‌های نرمال نسبت به سلول‌های سرطانی تأیید نمود. میزان CC_{50} نانوذرات Fe_3O_4 بر روی این سلول‌ها ۱۳۸۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.



شکل (۸) نتایج تست MTT، تأثیر Fe_3O_4@HA و Fe_3O_4 روی زنده‌مانی ردهٔ سلولی HEK-293 (* بیانگر غلظت مؤثر دارو بر ردهٔ سلولی است).**

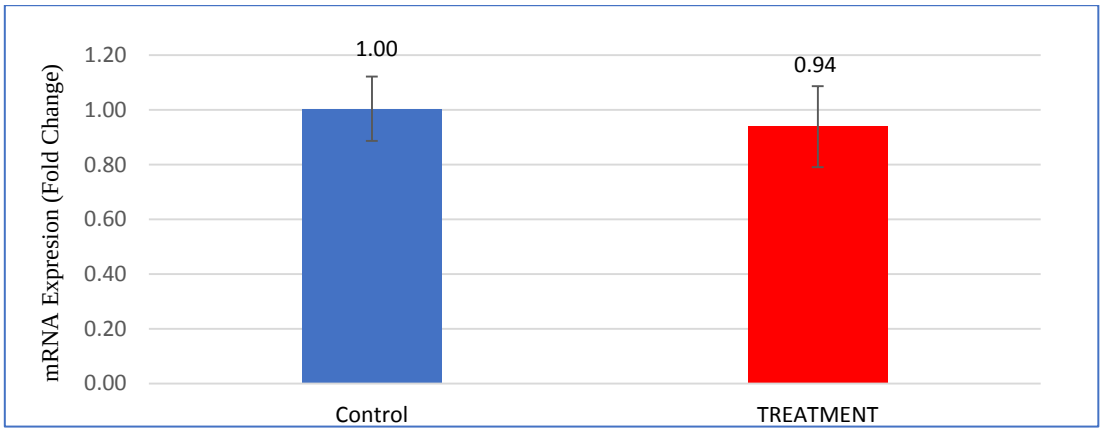
در این پژوهش از تقسیم عدد CC_{50} بر IC_{50} میزان شاخص انتخاب (SI[1]) برای Fe_3O_4@HA به‌دست آمد. شاخص انتخاب بزرگتر از یک نشان‌دهندهٔ مؤثر بودن داروی موردنظر است (۱۵). شاخص انتخاب Fe_3O_4@HA برابر با $\frac{1344}{1180}$ یا ۱۳/۱ بود. بنابراین غلظت سمّیِ دارو در سلول‌های سالم نسبت به سلول‌های سرطانی حدود ۱/۱۳ است. نتایج تست ANOVA برای این ردهٔ سلولی بین دو گروه تیمارشده و کنترل معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$).

[1] Selectivity Index

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

۳-۹- نتایج qRT-PCR

نتایج تست qRT-PCR درخصوص نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4@HA، کاهش بیان‌ژن *CD44* را نسبت به گروه کنترل تأیید نمود به‌طوری‌که بیان این ژن در سلول‌های تیمارشده با نانوذرات Fe_3O_4@HA طی ۲۴ ساعت در مقایسه با گروه کنترل (سلول‌های تیمارنشده)، ۶ درصد کمتر بود، اگرچه نتایج آزمون ANOVA بین گروه تیمار و کنترل معنی‌دار نبود (شکل ۹).



شکل ۹- مقایسهٔ بیان‌ژن *CD44* در سلول‌های Asp-1 تیمارشده با نانوذرات Fe_3O_4@HA طی ۲۴ ساعت در مقایسه با گروه کنترل.

پیک‌های ۳۳۶۱ و ۳۳۸۵ دلالت بر ارتعاش متقارن N-H اولیهٔ مربوط به گروه NH_2 بر روی هیالورونیک اسید دارد. پیک‌های ۳۰۵۹ بیانگر وجود باندهای N-H ثانویه بر روی اسید فوق است. همچنین پیک ۱۷۴۹، دلالت بر ارتعاش گروه آن‌هیدریدی C=O بر روی هیالورونیک اسید دارد. پیک ۱۶۱۷ ارتعاش باند اشباع‌نشدهٔ C-C را در این ماده تأیید می‌کند. پیک ۱۴۵۲ مربوط به گروه آلکانی C=H در اسید هیالورونیک اسید است. دو پیک ۴۲۱ و ۵۷۵ بیانگر باند Fe-O در نانوذرات Fe_3O_4 است.

۴- بحث

مشکلات غیرمعمول در درمان سرطان لوزالمعده مانند دیگر بدخیمی‌ها، زمان طولانی از تحقیقات را به خود اختصاص داده است (۱۶). در سالیان اخیر از بین پروتکل‌های درمانی متعدد در درمان سرطان‌ها به دو روش جراحی و شیمی‌درمانی توجه ویژه شده است (۱۷). این درحالی است که سلول‌های سرطانی با روش‌های مختلف مانند فرار از سیستم ایمنی، مرگ برنامه‌ریزی‌شده، سیستم گردش خون یا عروق لنفاوی، سازگاری با سیستم ایمنی، مقاومت در برابر داروها و متاستاز قادر هستند تا از درمان‌های معمولِ دارویی و یا جراحی رهایی یافته و این پروتکل‌ها را با شکست مواجه سازند (۱۸). هیالورونیک اسید (HA) که یک گلیکوزآمینوگلیکان غیرسولفاته و جزء اصلی ماتریکس خارج‌سلولی است توسط سلول‌های توموریِ متعدد به‌ویژه سلول‌های شروع‌کنندهٔ تومور بیش از حد بیان می‌شود (۱۹). نانوحامل‌های مغناطیسی بر پایهٔ HA به‌دلیل هدف‌گیریِ فعال سلول‌های تومور، کاهش بیان انکوژن‌های دخیل در تومور مانند *CD44*، جذب اختصاصی توسط سلول‌های توموری و نداشتن عوارض جانبیِ خارج از سلول هدف، یک الگوی جدید مؤثر برای درمان سرطان‌ها به‌شمار می‌روند (۲۰). همچنین مطالعه‌های خوبی اما معدودی در مورد اثر کمپلکس‌های فلزی هیالورونیک اسید بر سلول‌های سرطانی انجام شده است. Luo و همکارانش نشان دادند که نانوذرات HA-Fe_3O_4 از طریق یک مسیر هدف‌گیری با واسطهٔ HA، توسط سلول‌های سرطان لوزالمعده جذب می‌شوند (۲۱). در مطالعه‌ای دیگر که توسط سلیمانی و همکارانش انجام شد، برخی از ویژگی‌ها مانند پایداری کلوئیدی مناسب، زیست‌سازگاری، کاراییِ حرارتی بالا و هدف قرار دادن سلول‌های سرطانی با بیان بیش از حد گیرندهٔ CD44، از نانوذرات Fe_3O_4@HA، یک پلتفرم (زیرساخت) چندمنظوره و امیدوارکننده برای تشخیص و کاربردهای درمانیِ سرطان لوزالمعده معرفی نموده است (۲۲). افزایش بیان‌ژن *CD44* در سرطان لوزالمعده توسط پژوهشگرانِ مختلفی گزارش شده است. در این پژوهش دو هدف اصلی وجود داشت:

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

هدف اول) مطالعهٔ مهار سلول‌های سرطانی Aspc-1 و نرمال توسط نانوذرات اکسید آهنِ کونژوگه‌شده با هیالورونیک اسید بود و **هدف دوم)** بررسی میزان بیان‌ژن *CD44* بعد از تیمار سلول‌ها با این ماده بود. در این پژوهش همان‌طورکه در شمای کلّی سنتز در شکل ۱ نشان داده شده است، محلول‌های یکنواخت از هیالورونیک اسید و نانوذرات Fe_3O_4 به‌طور هم‌زمان سنتز و کونژوگه شدند. درخصوص پیک‌های به‌دست‌آمده از تست FTIR وجود باندهای ۳۳۶۱ و ۳۳۸۵ که بیانگر ارتعاش متقارن N-H مربوط به گروه NH_2 بر روی هیالورونیک اسید است با داده‌های سلیمانی و همکاران آن مطابقت داشت. این محققان دامنهٔ ارتعاش این گروه‌ها را بر روی هیالورونیک اسید در محدودهٔ ۳۱۰۰ تا ۳۶۰۰ گزارش کرده بودند (۲۲). پیک‌های تأییدی برای گروه‌های O-H، C=O، C-C و C=H در اسید هیالورونیک اسید باآنچه‌که در سایت LibreTextsExperts درج شده است سازگار بود. در این سایت مقدار ارتعاش برای O-H در محدوده ۳۳۰۰-۲۵۰۰ تعریف شده است که موید پیک ۳۰۵۹ این تحقیق است، ارتعاش ۱۶۱۷ که در محدوده باندهای ۱۶۲۰ -۱۶۱۰ قرار دارد، وجود پیوندهای قوی آلکانی C-C را در هیالورونیک اسید تایید می کند. همچنین باند ۱۷۴۹ در محدوده ارتعاشی ۱۷۵۰-۱۷۳۵ قرار دارد و بیانگر پیوندهای قوی بر روی گروه های آلدئیدی C=O در مولکول هیالورونیک اسید است. پیک ۱۴۵۲ که در سایت LibreTextsExperts در محدودهٔ ۱۴۶۵-۱۴۵۰ قرار دارد مؤید گروه‌های آلکانی C-C بر روی هیالورونیک است (۲۳). همچنین پیک‌های ۴۲۱ و ۵۷۵ مربوط به باند Fe-O بود که با نتایج Fekri aval و همکاران آن سازگار بود. این محققان برای این باند، ارتعاش ۴۴۰، ۵۸۰ و ۶۲۰ را گزارش کرده بودند (۲۴). آنالیز داده‌های SEM بیانگر یکنواخت‌بودن اندازهٔ نانوذرات سنتزشده بود و ازآنجایی‌که برای کاربردهای زیست‌پزشکی، نانوذرات اکسید آهن با اندازهٔ کمتر از ۱۰۰ نانومتر بهترین کیفیّت را دارا می‌باشند (۲۵) اندازهٔ ۶۷- ۹۲ نانومتر به‌دست‌آمده در این پژوهش در محدوهٔ مناسبی قرار داشت. مقدار پیک UV-Visible در نقطهٔ ۳۸۹ نانومتر نشان‌دهندهٔ تشکیل نانوذرات اکسید آهن است و با نتایج Abdallah و همکاران که تشکیل نانوذرات کروی را در دامنهٔ ۲۹۰-۵۱۹ نانومتر گزارش نموده بودند مطابقت دارد (۲۶). مقدار پتانسیلِ زتا در محلول‌های کلوییدی با کاربردهای پزشکی و پایداریِ مناسب بین ۱۰۰mV+ تا ۱۰۰- است و برای نانوذرات، بهترین مقدار زتا کوچکتر از ۲۵- و بزرگتر از ۲۵+ است. این مقدار پتانسیل نیروی دافعه الکترواستاتیک لازم بین نانوذرات را تأمین می‌کند و منجر به پایداریِ آن‌ها می‌شود (۲۷). با توجه به این نکته، مقدارmV ۷۴/۳- پتانسیل زتا در ترکیب سنتزشده از پایداریِ مناسبی برخوردار بود. اولین یافتهٔ پژوهش، سمیّت نانوذرات Fe_3O_4@HA و Fe_3O_4 در غلظت ۱۵۰۰ µg/mL بود. نتیجهٔ این پژوهش نشان داد که Fe_3O_4@HA (۱۱۸۰ µg/mL، IC_{50}) نسبت به Fe_3O_4 (۱۳۷۷ µg/mL، IC50) فعالیت ضدتکثیری مناسب‌تری در مهار رشد سلول‌های Aspc-1 سرطان لوزالمعده داشت (شکل ۷). با توجه به معنادار بودن آزمون ANOVA برای Fe_3O_4@HA، افزایش سمیّت این ماده و کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی تیمارشده تأیید شد. این یافته با نتایج Luo و همکارانش سازگار بود (۱۱). اثر سیتوتوکسیسیتهٔ این ماده بر رشد و زنده‌مانیِ سلول‌های HEK-293 در غلظت بالاتری (۱۳۴۴ µg/mL، CC_{50}) نسبت به سلول‌های سرطانی بود. اگرچه سمیّت Fe_3O_4@HA نسبت Fe_3O_4 در سلول‌های نرمال پایین‌تر بود، اما این کاهش معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$). این درحالی بود که سمیّت Fe_3O_4@HA بر سلول‌های سرطانی نسبت به سمیّت Fe_3O_4 بیشتر نتیجه معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). نتایج این تست نشان می‌دهد که عامل‌دار نمودن نانوذرات اکسید آهن با هیالورونیک اسید به‌طور مؤثرتری نسبت به Fe_3O_4 می‌تواند باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطانِ لوزالمعده شود. درواقع Fe_3O_4 وقتی با هیالورونیک اسید عامل‌دار می‌شود، سمیّت کمتری بر روی سلول‌های نرمال دارد درحالی‌که برای سلول‌های سرطانی عکس آن اتفاق می‌افتد. این یافته‌ها با نتایج تحقیقات سلیمانی و همکاران (۲۲) و نیز Liang و همکاران (۲۸) که ترکیب این دو ماده را بر روی سلول‌های سرطانیِ لوسمی خون و MCF سرطان سینه بررسی کرده بودند مطابقت داشت. Yu و همکاران، غیرسمّی بودن هیالورونیک اسید را در سلول‌های نرمال نسبت به سلول‌های سرطانی گزارش کرده بودند (۲۹). در یک مقالهٔ مروری نیز که توسط Sudha & Rose منتشر شده غیرسمّی بودن هیالورونیک اسید در سلول‌های نرمال موردتأیید قرار گرفته است (۳۰). شاخص انتخاب ۱/۱۳، مؤثر بودن Fe_3O_4@HA را بر روی سلول‌های سرطانی تأیید می‌کند. ازآنجایی‌که بیان‌ژن *CD44* در ردهٔ سلولی Aspc-1 با افزایش بیان همراه است، این فرضیه که کاهش بیان این ژن در سرطانِ

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

لوزالمعده می‌تواند مهار رشد سلول‌های بدخیم را کنترل کند سلول‌های Aspc-1 تحت‌تیمارِ نانوکمپلکس Fe_3O_4@HA قرار گرفتند. نتایج qRT-PCR نشان داد که در سلول‌های تیمارشده نسبت به گروه کنترل (تیمارنشده)، میزان بیان ۶ درصد کاهش یافته اگرچه معنی‌دار نبود. با توجه به IC_{50} این کمپلکس که اثرگذاری آن را درمقابل سلول‌های سرطانی تأیید نمود کاهش بیان‌ژن *CD44* را می‌توان به کونژوگه‌نمودن نانوذرات Fe_3O_4 با هیالورونیک اسید نسبت داد. Desai و همکاران هدف قرار دادن ژن‌های *CD44* با بیان بالا توسط هیالورونیک اسید را گزارش کرده‌اند (۳۱). مشابه این مطالعه توسط Ortíz و همکاران نیز گزارش شده است (۳۲). با توجه به این داده‌ها و نقش رسانشِ دارویی نانوذرات اکسید آهن (۲۰ و ۳۳) کاهش بیان این ژن را می‌توان به کمپلکس نانوذرات اکسید آهن و هیالورونیک اسید نسبت داد.

۵- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، هدف اصلی مطالعه نقش مهاری Fe_3O_4@HA بر روی ردهٔ سلولی ASP-1 سرطان لوزالمعده بود. نتایج نشان دادند که این کمپلکس در مهار رشد سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های نرمال مؤثرتر عمل می‌کند. همچنین کاهش بیان‌ژن‌های *CD44* در سلول‌های سرطانی را توسط این نانوکمپلکس می‌توان با مهار رشد این سلول‌ها مرتبط دانست. با توجه به برخی محدودیت‌ها، فرایندهای مهار این کمپلکس بر روی سلول‌های یادشده و نیز بیان سایر ژن‌ها بررسی نشد. بنابراین در پژوهش‌های آتی پیشنهاد می‌شود تا پژوهشگران دیگر نسبت به آن اقدام نمایند.

۶- ملاحظات اخلاقی

ندارد

۷- تشکر و قدردانی

از جناب آقای رضا کاظمی درسنگی به‌دلیل همکاری در سنتز نانوذرات و کونژوگه‌نمون آن‌ها با هیالورونیک اسید تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸- تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

۹- منابع

1. Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. The Lancet. 2020;395(10242):2008-20.
2. Miller KD, Fidler-Benaoudia M, Keegan TH, Hipp HS, Jemal A, Siegel RL. Cancer statistics for adolescents and young adults, 2020. J CA. 2020;70(6):443-59.
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. J CA. 2018;68(6):394-424.
4. Pourhoseingholi MA, Ashtari S, Hajizadeh N, Fazeli Z, Zali MR. Systematic review of pancreatic cancer epidemiology in Asia-Pacific Region: major patterns in Globacon 2012. GHBB. 2017.۲۴۵:(۴)۱۰;
5. Guo J, Xie K, S. Z. Molecular Biomarkers of Pancreatic Intraepithelial Neoplasia and Their Implications in Early Diagnosis and Therapeutic Intervention of Pancreatic Cancer. Int J Biol Sci. 2016;28(12(3)):292-301.
6. Chen C, Zhao S, Karnad A, Freeman JW. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. J H&O. 2018;11:1-23.
7. Gzil A, Zarębska I, Bursiewicz W, Antosik P, Grzanka D, Szylberg Ł. Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. J MBR. 2019;46:6629-45.
8. Rao NV, Yoon HY, Han HS, Ko H, Son S, Lee M, et al. Recent developments in hyaluronic acid-based nanomedicine for targeted cancer treatment. J EODD. 2016;13(2):239-52.
9. Li J, He Y, Sun W, Luo Y, Cai H, Pan Y, et al. Hyaluronic acid-modified hydrothermally synthesized iron oxide nanoparticles for targeted tumor MR imaging. J B. 2014;35(11):3666-77.
10. Wang Y, Ma S, Liu X, Wei Y ,Xu H, Liang Z, et al. Hyaluronic acid mediated Fe3O4 nanocubes reversing the EMT through targeted cancer stem cell. Colloids and Surfaces. J B. 2023;222:113071.
11. Zhang W, Zhang Z, Lou S, Chang Z, Wen B, Zhang T. Hyaluronic Acid–Stabilized Fe3O4 Nanoparticles for Promoting In Vivo Magnetic Resonance Imaging of Tumors. J FP. 2022;13.
12. Li L, Gao F, Jiang W, Wu X, Cai Y, Tang J, Gao X, Gao F. Folic acid-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for tumor-targeting MR imaging. J DD. 2016 Jun 12;23(5):1726-33.
13. Hajighasemi F, Tajic S. Assessment of cytotoxicity of dimethyl sulfoxide in human hematopoietic tumor cell lines. IJBC. 2017 Jun 10;9(2):48-53.
14. Tullii G, Giona F, Lodola F, Bonfadini S, Bossio C, Varo S, Desii A, Criante L, Sala C, Pasini M, Verpelli C. High-aspect-ratio semiconducting polymer pillars for 3D cell cultures. ACSAM&I. 2019 Jul 29;11(31):28125-37.
15. Lin J-T, Chang T-H, Chang C-S, Wang W-H, Su B-W, Lee K-D, et al. Prognostic value of pretreatment CD44 mRNA in peripheral blood of patients with locally advanced head and neck cancer. J O. 2010;46(5):e29-e33.
16. Habibi A, Sadat Shandiz SA, Salehzadeh A, Moradi-Shoeili Z. Novel pyridinecarboxaldehyde thiosemicarbazone conjugated magnetite nanoparticulates (MNPs) promote apoptosis in human lung cancer A549 cells. JBIC. 2020;25:13-22.
17. Balachandran VP, Beatty GL, Dougan SK. Broadening the impact of immunotherapy to pancreatic cancer: challenges and opportunities. J G. 2019;156(7):2056-72.
18. Pecorino L. Molecular biology of cancer: mechanisms, targets, and therapeutics: Oxford university press; 2021.
19. Kim JH, Moon MJ, Kim DY, Heo SH, Jeong YY. Hyaluronic acid-based nanomaterials for cancer therapy. J P. 2018;10(10):1133.
20. Fang Z, Li X, Xu Z, Du F ,Wang W, Shi R, et al. Hyaluronic acid-modified mesoporous silica-coated superparamagnetic Fe3O4 nanoparticles for targeted drug delivery. IJN. 2019:5785-97
21. Luo Y, Li Y, Li J, Fu C, Yu X, Wu L. Hyaluronic acid-mediated multifunctional iron oxide-based MRI nanoprobes for dynamic monitoring of pancreatic cancer. J RSCA. 2019;9(19):10486-93.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]

22. Soleymani M, Velashjerdi M, Shaterabadi Z, Barati A. One-pot preparation of hyaluronic acid-coated iron oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia therapy and targeting CD44-overexpressing cancer cells. J CP. 2020;237:116130.
23. LibreTextsExperts. Infrared Spectroscopy Absorption Table LibreTexts; 2020 [Available from: https://status.libretexts.org.
24. Fekri Aval S, Akbarzadeh A, Yamchi MR, Zarghami F, Nejati-Koshki K, Zarghami N. Gene silencing effect of SiRNA-magnetic modified with biodegradable copolymer nanoparticles on hTERT gene expression in lung cancer cell line. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. 2016 Jan 2;44(1):188-93.
25. Xiang H, Ren G, Zhong Y, Yang X, Xu D, Zhang Z, et al. Characterization and synthesis of Fe۳O4@ C nanoparticles by in-situ solid-phase method. J MRE. 2021;8(2):025016.
26. Abdallah RM, Al-Haddad RM, editors. Optical and Morphology Properties of the Magnetite (Fe3O4) Nanoparticles Prepared by Green Method. J P. :Conference Series; 2021: IOP Publishing.
27. Clogston JD, Patri AK. Zeta potential measurement. Characterization of nanoparticles intended for drug delivery: Springer; 2011. p. 63-70.
28. Liang J, Yang X, Liu D, Cong M, Song Y, Bai S. Lipid/hyaluronic acid–Coated Doxorubicin-Fe 3 O 4 as a dual-targeting nanoparticle for enhanced cancer therapy. AAPS PharmSciTech. 2020 Aug;21:1-9.
29. Yu T, Li Y, Gu X, Li Q. Development of a hyaluronic acid-based nanocarrier incorporating doxorubicin and cisplatin as a pH-sensitive and CD44-targeted anti-breast cancer drug delivery system. J FP. 2020;11:532457.
30. Sudha PN, Rose MH. Beneficial effects of hyaluronic acid. J AFNR. 2014;72:137-76.
31. Desai P, Ann D, Wang J, Prabhu S. Pancreatic cancer: Recent advances in nanoformulation-based therapies. J CRTDCS. 2019;36.(۱)
32. Ortíz R, Quiñonero F, García-Pinel B, Fuel M, Mesas C, Cabeza L, et al. Nanomedicine to overcome multidrug resistance mechanisms in colon and pancreatic cancer: recent progress. J C. 2021;13(9):2058.
33. Yew YP, Shameli K, Miyake M, Khairudin NBBA, Mohamad SEB, Naiki T, et al. Green biosynthesis of superparamagnetic magnetite Fe3O4 nanoparticles and biomedical applications in targeted anticancer drug delivery system: A review. AJC. 2020;13(1):2287-308.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-09-10]