

Study of the Effect of Dendrosomal Nano-Curcumin on Expression of Apoptotic Bax and Bcl2 Genes in Cancerous Cell line AGS

Received: 12 October 2014

Revised: 16 December 2014

Accepted: 12 January 2015

ABSTRACT

Maryam Abedi¹
Esmaeil Babaei^{2*}
Mohammad Ali Hossein pour feizi³

¹MSc, Genetics, Department of Animal Biology, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

²Assistant Professor, Molecular Genetics, Department of Animal Biology, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

³Professor, Radiobiology, Department of Animal Biology, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Background: Curcumin with the scientific name of diferuloyl methane, is the main component of turmeric (*curcuma longa*) that has anti-cancer properties such as inhibition of cell proliferation and apoptosis activation. However, its poor absorption and low stability in the body, has limited its pharmaceutical application. The aim of current study, is the evaluation of apoptotic potential of dendrosomal nano-curcumin compared to void curcumin.

Materials and Methods: Gastric cancer cell lines (AGS) were treated with 10, 20, 30 μ M of dendrosomal nano-curcumin at intervals of 24 ad 48 h. Then, the quantitative expression of genes Bax, Bcl2 and B2m as internal control were evaluated by Real Time PCR.

Results: Dendrosomal nano-curcumin relatively downregulated the expression of anti-apoptotic Bcl2 gene and meaningfully upregulated the expression of pro-apoptotic BAX gene in a time and dose dependent manner. Therefore, the relative expression of BAX/Bcl2 showed a meaningful increase in concentration of 30 μ M and 48 hours compared to void curcumin.

Conclusion: The results show that the death of cancerous cells treated with nano-curcumin is due to the increase in expression ratio of BAX/Bcl2 and apoptosis that beside our previous reports, strengthen the therapeutic potential of this new nano compound of curcumin.

Keywords: cancer, apoptosis, dendrosomal nano-curcumin, real Time PCR

*Corresponding Author:

Esmaeil Babaei

Tel: (+98)4133392686

e-mail: babaei@tabrizu.ac.ir

بررسی اثر نانو کور کومین دندروزومی بر بیان ژن های آپوپتوزی Bax و

Bcl2 در رده سلول سرطانی AGS

تاریخ دریافت: ۲۵ مهر ۱۳۹۳ تاریخ اصلاح: ۲۵ آذر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: ۲۲ دی ۱۳۹۳

چکیده

مقدمه: کور کومین با نام علمی diferuloylmethane، جزء اصلی گیاه زردچوبه (Curcuma longa) می باشد که دارای خواص ضد سرطانی از طریق مهار تکثیر سلولی و فعال سازی آپوپتوز است. با این حال، جذب ضعیف و پایداری پایین آن در بدن استفاده دارویی آن را محدود کرده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی توان آپوپتوزی نانو کور کومین دندروزومی نسبت به کور کومین آزاد می باشد.

مواد و روش ها: رده سلول سرطانی معده (AGS) با غلظت های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرو مولار از نانو کور کومین دندروزومی در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شد. سپس بیان کمی ژن های Bax، Bcl2 و B2m به عنوان کنترل داخلی توسط تکنیک Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نانو کور کومین دندروزومی در یک روش وابسته به زمان و دوز، باعث کاهش نسبی بیان ژن آنتی آپوپتوتیک Bcl2 و افزایش معنی دار بیان ژن پرو آپوپتوتیک BAX گردید به طوری که نسبت بیانی BAX/Bcl2 در غلظت ۳۰ میکرو مولار و زمان ۴۸ ساعت در مقایسه با کور کومین آزاد، به طرز معنی داری افزایش نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده نشان می دهد که مرگ سلول های سرطانی تیمار شده با نانو کور کومین دندروزومی ناشی از افزایش نسبت بیانی BAX/Bcl2 و در نتیجه آپوپتوز می باشد که در کنار نتایج مطالعات قبلی این گروه، پتانسیل دارویی این ترکیب جدید نانویی کور کومین را بیش از پیش تقویت می کند.

کلید واژه ها: سرطان، آپوپتوز، نانو کور کومین دندروزومی، Real Time PCR

مریم عابدی^۱

اسماعیل بابائی^{۲*}

محمدعلی حسین پور فیضی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، ژنتیک، گروه زیست شناسی جانوری، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

^۲ استادیار، ژنتیک، گروه زیست شناسی جانوری، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

^۳ استاد، رادیو بیولوژی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول:

اسماعیل بابائی

تلفن: ۴۱۳۳۳۹۲۶۸۶ (+۹۸)

پست الکترونیک:

babaei@tabrizu.ac.ir

مقدمه

فاکتورهای رشد داخلی و خارجی، توانائی تکثیر خود به خودی، فرار از آپوپتوز و متاستاز بیماری سرطان را ایجاد می کنند [۱ و ۲]. سرطان های معده - روده ای از جمله فراوان ترین سرطان هایی که در سراسر جهان رخ می دهد. سرطان معده حدود پنج درصد از کل سرطان های گوارشی را در برمی گیرد. چندین نوع مختلف سرطان می تواند در معده ایجاد شود، رایج ترین نوع، آدنوکارسینوما نامیده می شود که از یک نوع سلول معمولی آستری معده شروع می شود. آدنوکارسینوما معده رایج ترین نوع سرطان معده است [۳]. اخیراً پیشرفت های زیادی در درمان سرطان معده حاصل شده اما درمان

سرطان فرایندی چندمرحله ای است که دوره شروع آن طولانی بوده و در ادامه سریع و پیش رونده می باشد و پس از بیماری های قلبی و عروقی، دومین علت شایع مرگومیر در جهان به شمار می رود. این ضایعه کشنده، در اثر بروز تدریجی چندین جهش در ژن های کنترل کننده مسیرهای حیاتی سلول از جمله رشد و نمو و آپوپتوز به وجود آمده و باعث تولید توده های سلولی توموری می شود که از قوانین تکاملی حاکم بر ماهیت پرسلولی یک موجود زنده پیروی نکرده و با به دست آوردن ویژگی هایی از جمله عدم توجه به

درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین (GIBCO, USA) در دمای 37°C و پنج درصد CO_2 کشت داده شدند. کورکومین از شرکت سیگما آمریکا خریداری شده و نانوذره دندروزومی 0400 Den نیز از پژوهشگاه رنگ تهران تهیه گردید. ترکیب نانویی کورکومین طبق روش اشاره شده در مقاله بابائی و همکاران تهیه شد [22]. مواد و کیت‌های Real time PCR از شرکت TacaRa

زاین فراهم شد.

بررسی بقای سلولی با استفاده از روش: MTT برای سنجش سمیت نانو کورکومین دندروزومی، کورکومین تنها و دندروزوم، بر روی سلول‌های سرطانی AGS از پروتکل سایت پرومگا استفاده شد و به کمک آزمون t-Test، مقایسه آماری در هر گروه بین تیمارهای مختلف و بازه‌های زمانی مختلف انجام شده و غلظت LD_{50} ترکیب‌ها تعیین گردید. بدین منظور، ابتدا تعداد مناسبی از سلول‌ها (12000 سلول در هر خانه) در پلیت‌های ۹۶ خانه و $200 \mu\text{l}$ محیط کشت کامل کشت داده شدند. سپس سلول‌ها در محدوده غلظتی $100-10 \mu\text{M}$ از کورکومین در دو فرم نانو و آزاد و همچنین دندروزوم تنها در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. سپس، به هر خانه $20 \mu\text{l}$ از محلول (۵ mg/ml) MTT، اضافه گردید. به منظور متابولیزه شدن رنگ و ایجاد بلورهای فورمازان توسط سلول‌های زنده، پلیت‌ها به مدت چهار ساعت در انکوباتور CO_2 دار قرار داده شدند. سپس پلیت‌ها را از انکوباتور بیرون آورده و محیط حاوی MTT از خانه‌ها خارج گردید. در ادامه، به هر خانه مقدار 200 cc از حلال DMSO اضافه گردید. شدت رنگ چاهک‌ها معیاری از زنده ماندن سلول‌ها می‌باشد. جذب خانه‌ها در طول موج 540 nm توسط دستگاه ELISA reader (BioTek) اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که این تست به صورت تکرار سه‌تایی برای هر غلظت انجام شد که میانگین و انحراف معیار داده‌ها در جداول ۲ و ۳ آورده شده است و شاخص معنی‌دار بودن در سطح $0/05$ در نظر گرفته شده است.

استخراج RNA و حذف آلودگی‌های احتمالی: DNA RNA کل سلولی با استفاده از کیت RNXplus سیناژن و بر اساس روش کار شرکت سازنده استخراج شده و از نظر کیفی و کمی به ترتیب با ژل آگارز و دستگاه Nanodrop مورد بررسی قرار گرفتند.

واکنش رونویسی معکوس: سنتز cDNA طبق دستورالعمل شرکت سازنده آنزیم reverse transcriptase (Denmark) انجام شد. به طور خلاصه، مقدار ۱-۲ میکروگرم از نمونه RNA با ۱ میکرو لیتر آنزیم DNase I، ۱ میکرو لیتر بافر DNase I و نیم میکرو لیتر RNase inhibitor مخلوط شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 37°C درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید.

سرطان معده هنوز به عنوان چالشی مهم باقی مانده است. تحقیقات نشان داده‌اند که رژیم‌های غذایی مهم‌ترین عامل در ابتلا به سرطان معده هستند و تغییرات در محتوای رژیم غذایی روزمره هنوز از راه کارهای مهم، کم‌هزینه و کم‌عارضه پیش‌گیری و درمان می‌باشد [۵،۴] و در این میان ترکیباتی با منشأ گیاهی به علت داشتن آثار جانبی کمتر، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۶]. از جمله مواد غذایی مؤثر در این زمینه کورکومین (Curcumin) می‌باشد، کورکومین با نام علمی دی فرولوئیل متان و فرمول شیمیایی $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$ ، پلی فنل زردرنگ و جزء اصلی و فعال گیاه همیشه‌بهار زردچوبه (*Curcuma longa*) است [۸ و ۷] که آثار ضد سرطانی آن در تومورهای مثانه، گردن، رحم، تخمدان، مغز، پوست و غیره مشاهده شده است. بر اساس مطالعات انجام شده، کورکومین با تعدیل مسیرهای سرطان‌زایی، به‌طور ذاتی توانایی درمان یا تأخیر در روند بروز آن را دارا است [۹ و ۱۰]. این ماده با وجود آنکه در حلال‌های آلی نظیر دی متیل سولفوکساید، اتانول و استون حل می‌شود [۱۱] در محیط‌های آبی نامحلول می‌باشد [۱۲]. مطالعات گذشته نشان دادند که ماندگاری کورکومین در مایعات بدن به دلیل دفع سریع آن کوتاه است بنابراین امروزه برای افزایش زیست ماندگاری این ماده ارزشمند در سلول و بدن و به تبع آن افزایش آثار ضد سرطانی کورکومین، از ناقلین مختلفی استفاده گردیده است. در مورد ترکیبات هیدروفوب مانند کورکومین، کاربرد نانو ذرات جهت افزایش انحلال آبی دارو از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد [۱۳]. دندروزوم‌ها خانواده جدیدی از ناقلین هم‌سپار (Copolymer) با ساختار کروی، فرادندانه دار و خود متجمع هستند که برای اولین بار توسط مرحوم دکتر سربلوقی در ایران سنتز شد [۱۴] و در مقایسه با سایر ناقلین دارویی از مزایای متعددی از قبیل پایداری، عدم سمیت و زیست‌تخریب‌پذیری برخوردارند [۱۵-۱۹]. بررسی‌های سمیت نشان‌دهنده برتری دندروزوم‌ها نسبت به لیپوفکتامین است [۲۰ و ۲۱]. در مطالعات قبلی، بابائی و همکاران توان ضد سرطانی نانو کورکومین دندروزومی را در مقایسه با کورکومین آزاد در محیط‌های *in vitro* و *in vivo* مطالعه کرده‌اند مطالعه حاضر در جهت تکمیل و تأیید یافته‌های قبلی و به منظور تعیین مسیر مولکولی اثر آپوپتوزی نانو کورکومین دندروزومی در رده سلول سرطانی AGS می‌باشد.

مواد و روش‌ها

سلول‌ها و مواد: رده سلول سرطانی AGS (انستیتو پاستور تهران - ایران) در محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ (GIBCO, USA)، حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (GIBCO, USA) FBS و یک

جدول ۱: توالی پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های Bax و Bcl2 و $\beta 2m$

ژن	پرایمر	ترادف	طول قطعه حاصل
B2m	F	5'ACTgggATCgAgACATgTg-3'	۱۱۵
	R	5'AgAAggTgATgTgTACATTgC-3'	
BAX	F	5'CAgAggATgATTgCTgACg-3'	۹۹
	R	5'AAGgTAgAAgAgggCAACCAC-3'	
Bcl2	F	5'CAgAgATgTCCAgTCAgCTg-3'	۱۰۵
	R	5'CTCAAAgAAggCCACAATC-3'	

گرفته شده برای انجام Real-Time PCR به این صورت بود که مخلوط واکنش برای ۴۰ چرخه که شامل واسرشتگی پنج ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و اتصال ۲۰ ثانیه در دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد و بسط ۳۰ ثانیه در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد.

آنالیز آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به بیان نسبی ژن‌های Bax و Bcl2 از نرم‌افزار SPSS (نگارش ۱۶) و تست‌های آماری پارامتریک One way-Anova استفاده شد. لازم به ذکر است که شاخص معنی‌داری کوچک‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

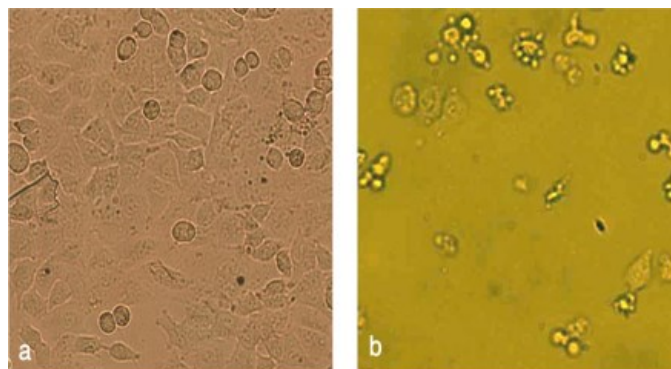
یافته‌ها

تأیید سمیت نانو کورکومین دندروزومی در سلول‌های: AGS بررسی حساسیت سلول‌های سرطانی معده (AGS) به تیمار این سلول‌ها با نانو کورکومین دندروزومی، کورکومین و دندروزوم در غلظت‌های مختلف و در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت و با استفاده از روش MTT انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که نانو کورکومین دندروزومی به شکل وابسته به زمان و غلظت برای سلول‌های AGS سمی بوده ولی این اثر برای دندروزوم و کورکومین تنها وجود نداشت (شکل ۱). دوز مؤثر کشنده (LD_{50}) داروی نانویی کورکومین در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت برای سلول‌های سرطانی AGS به ترتیب ۳۵ و ۱۸ میکرومولار به دست آمد در حالی که این

سپس، جهت غیر فعال سازی آنزیم مقدار یک میکرو لیتر EDTA اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در مرحله بعد یک میکرو لیتر اولیگو dT اضافه شده و در دمای ۷۰ درجه و به مدت پنج دقیقه انکوبه شد، سپس دو میکرو لیتر dNTPs و چهار میکرو لیتر بافر آنزیم RT و یک میکرو لیتر دپک واٹر اضافه شده و در دمای ۳۷ درجه به مدت پنج دقیقه انکوبه شد. در نهایت آنزیم RT به میکرو تیوب‌ها اضافه شده و مخلوط واکنش به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در پایان جهت غیر فعال سازی آنزیم RT، میکرو تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترمال سایکلر حرارت داده شدند.

بررسی کمی بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2: به منظور تکثیر قطعه‌های مشخص از ژن‌های Bax و Bcl2، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی هر ژن (جدول ۱)، واکنش real time PCR انجام گرفت. توالی پرایمرها در سایت NCBI (BLAST) جستجو گردید تا از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها اطمینان حاصل شود.

واکنش Real Time PCR: برای انجام Real Time PCR از دستگاه Applied Biosystems ۷۵۰۰ و با استفاده از کیت‌های سایبر گرین (SYBR Green) انجام شد و به عنوان فلوروفور (Fluorophore) زمینه از Rox استفاده گردید. برنامه به کار



شکل ۱: تیمار سلول‌ها با ۱۰ میکرومولار از نانو کورکومین دندروزومی (a) قبل از تیمار با دارو (b) ۲۴ ساعت بعد از تیمار با نانو کورکومین دندروزومی.

جدول ۲: مقادیر میانگین تکرارها در غلظت‌های مختلف دندروزوم، کورکومین و نانو کورکومین دندروزومی در تست MTT

میانگین			
غلظت (میکرو لیتر)	دندروزوم	کورکومین	نانو کورکومین دندروزومی
۰	۰/۶۳	۰/۶۵۳۳۳۳	۰/۶۲۶۶۶۶۶۷
۲/۵	۰/۶۸۵	۰/۶۰۳۳۳۳	۰/۵۰۳۳۳۳۳۳
۵	۰/۷۰۶۶۶۷	۰/۵۹۱۶۶۷	۰/۴۲
۱۰	۰/۶۷۱۶۶۷	۰/۵۰۳۳۳۳	۰/۲۶۱۶۶۶۶۷
۱۵	۰/۶۵۶۶۶۷	۰/۴۵	۰/۲
۲۵	۰/۴۴۵	۰/۴۲	۰/۰۹۶۶۶۶۶۷
۵۰	۰/۴۲۳۳۳۳	۰/۴۳۳۳۳۳	۰/۰۶۳۳۳۳۳۳
۷۰	۰/۴۴	۰/۴۲	۰/۰۶۶۶۶۶۶۷

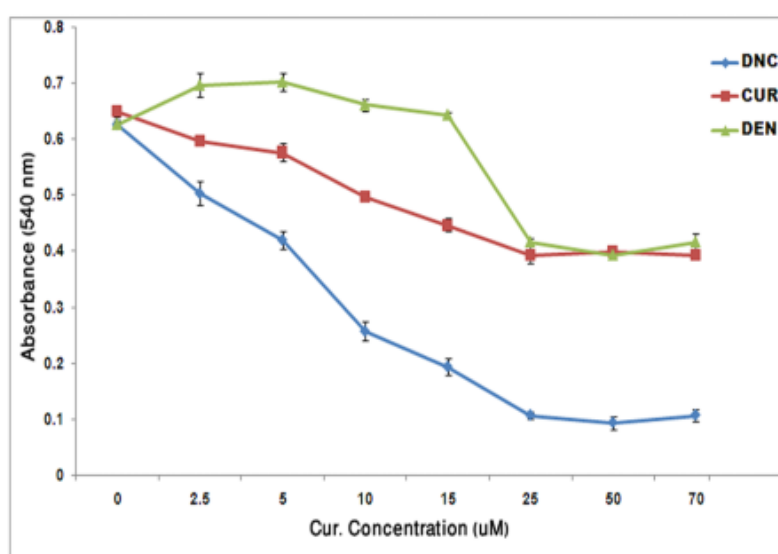
زمانی ۴۸ معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همچنین نسبت بیانی ژن‌های Bax/Bcl2 در گروه‌های مختلف، افزایش معنی‌داری را در یک روش وابسته به زمان و دوز دارو نشان داد که معیاری برای وجود آپوپتوز در سلول‌های هدف می‌باشد ($P < 0.05$) (شکل‌های ۳ و ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

تمایل کورکومین به سلول‌های سرطانی نسبت به انواع طبیعی، نقش این ترکیب گیاهی را در تحقیقات سرطان برجسته‌تر کرده است [۲۳] هرچند عدم محلولیت، جذب ضعیف و متابولیسم سریع، استفاده از این ترکیب دارویی را تا به امروز با محدودیت روبه‌رو کرده است، طراحی آنالوگ‌های ساختاری کورکومین [۲۴] و توسعه حامل‌های رسانش فسفولیپیدی نظیر لیپوزوم [۲۵] و حامل‌های نانویی از جمله راهکارهای مورد استفاده در راستای افزایش زیست ماندگاری این

اعداد برای کورکومین تنها برابر با ۹۰ و ۶۵ میکرو مولار می‌باشد (شکل ۲).

تغییر بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2 متأثر از نانو کورکومین دندروزومی: در تحقیق حاضر بیان ژن‌های Bax و Bcl2 در سلول‌های تیمار شده با کورکومین تنها و نانو کورکومین دندروزومی و در سه غلظت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرو مولار با استفاده از تکنیک Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت. در سلول‌های تیمار شده با نانو کورکومین دندروزومی، بیان ژن Bcl2 در هر دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت نسبت به کورکومین تنها کاهش نشان داد که این تغییر برای غلظت ۳۰ میکرو مولار در هر دو بازه زمانی و برای غلظت ۲۰ میکرو مولار در ۴۸ ساعت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بیان ژن BAX در سلول‌های تحت تیمار با نانو کورکومین افزایش نسبی داشت که برای غلظت ۳۰ میکرو مولار و در بازه



شکل ۲: تست MTT برای مطالعه سمیت نانو کورکومین دندروزومی نسبت به کورکومین آزاد و دندروزوم در یک روش وابسته به زمان و دوز

جدول ۳: مقادیر انحراف معیار تکرارها در غلظت‌های مختلف دندروزوم، کورکومین و نانو کورکومین دندروزومی در تست MTT

انحراف معیار			
غلظت (میکرو لیتر)	دندروزوم	کورکومین	نانو کورکومین دندروزومی
۰	۰/۰۱	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۲۳۰۹۴۰۱۱
۲/۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۴۰۴۱۴۵۱۹
۵	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۰۷۶۳۸	۰
۱۰	۰/۰۲۲۵۴۶	۰/۰۲۰۸۱۷	۰/۰۲۲۵۴۶۳۴۹
۱۵	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۱۷۳۲۱	۰
۲۵	۰/۰۰۵	۰/۰۲	۰/۰۰۵۷۷۳۵۰۳
۵۰	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۴۶۱۸۸۰۲۲
۷۰	۰/۰۱۷۳۲۱	۰/۰۱۷۳۲۱	۰/۰۴۹۳۲۸۸۲۹

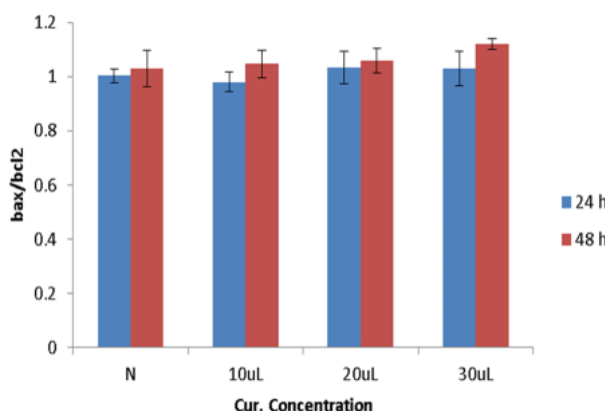
کورکومین باشد. این یافته در مطالعات قبلی نیز نشان داده شده است که ژن‌های ضد آپوپتوزی از جمله Survivin و Bcl2 در سلول‌های تحت تیمار با کورکومین دستخوش کاهش بیان می‌شوند [۲۶]. همچنین در مطالعه‌ای با بررسی اثر مهارتی این ترکیب نانویی کورکومین بر میزان رشد و چسبندگی سلولی، کارایی این داروی گیاهی چندهدفه بر مهار رشد، تهاجمی شدن و بازگشت سرطان بیشتر از گذشته آشکار شده است [۲۷]. در مجموع، نتایج ما ضمن تأیید یافته‌های قبلی خود مبنی بر توان بالای ضد سرطانی نانو کورکومین دندروزومی نشان می‌دهد که این اثر دارویی به نسبتی از طریق فعال‌سازی مسیر آپوپتوزی Bax/Bcl2 بر سلول اعمال می‌شود. اثبات این ادعا نیازمند مطالعات گسترده‌ای در این زمینه می‌باشد که بخشی از آن در آزمایشگاه این گروه تحقیقاتی در حال انجام می‌باشد.

تشکر و قدردانی

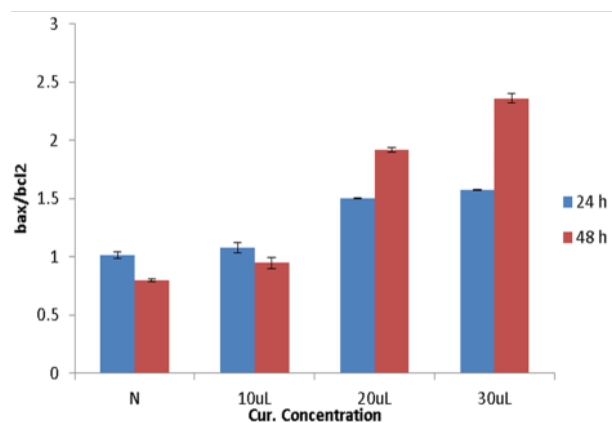
گروه مولفین مراتب تشکر خود را از پرسنل محترم دانشکده

مولکول بوده است. سنتز داروی نانو کورکومین دندروزومی از جمله موارد موفق این گروه می‌باشد که توان ضد سرطانی آن را در هر دو محیط سلولی و مدل موشی نشان داده‌اند [۲۲]. نتایج حاصل از MTT و مورفولوژی سلول‌ها نشانگر سمیت نانو کورکومین دندروزومی بر رده سلولی AGS و به صورت وابسته به زمان و دوز می‌باشد که قبلاً توسط این گروه در دیگر رده‌های سلول سرطانی مورد بررسی قرار گرفته است [۲۲]. هرچند که مسیر آپوپتوزی کورکومین در رده‌های مختلف سلولی تا حدودی مشخص شده است این مهم برای نانو کورکومین دندروزومی هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است.

در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار نسبت بیانی Bax/Bcl2 در سلول‌های تیمار شده با نانو کورکومین دندروزومی نسبت به کورکومین تنها می‌تواند بیانگر آن باشد که مرگ سلول‌های تیمار شده، از طریق فعال‌سازی مسیر آپوپتوزی Bax/Bcl2 است. بیان ژن Bcl2 نسبت به Bax تغییر معنی‌داری را نشان داد که در نوع خود می‌تواند نشان از خاموشی ژن‌های ضد آپوپتوزی در اثر



شکل ۴: تغییرات کمی نسبت بیانی Bax/Bcl2 تحت تأثیر غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرو مولار از کورکومین در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت.



شکل ۳: تغییرات کمی نسبت بیانی Bax/Bcl2 تحت تأثیر غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرو مولار از نانو کورکومین دندروزومی در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت.

15. Bisht S, Feldmann G, Soni S, Ravi R, Karikar C, Maitra A, et al. Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. *J Nanobiotechnology* 2007; 5: 1-18.
16. Das RK, Kasoju N, Bora U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *Nanomedicine* 2010; 6: 153-60.
17. Cartiera MS, Ferreira EC, Caputo C, Egan ME, Caplan MJ, Saltzman WM. Partial correction of cystic fibrosis defects with PLGA nanoparticles encapsulating curcumin. *Mol Pharm* 2010; 7: 86-93.
18. Anand P, Nair HB, Sung B, Kunnumakkara AB, Yadav VR, Tekmal RR, et al. Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity in vitro and superior bioavailability in vivo. *Biochem Pharmacol* 2010; 79: 330-8.
19. Sadeghizadeh M, Ranjbar B, Damaghi M, Khaki L, Sarbolouki MN, Najafi F, et al. Dendrosomes as novel gene porters. *J Chem Tech Biot A* 2008; 83: 912-20.
20. Massumi M, Ziaee AA, Sarbolouki MN. Apoptosis induction in human lymphoma and leukemia cell lines by transfection via dendrosomes carrying wild-type p53 cDNA. *Biotechnol Lett* 2006; 28: 61-6.
21. Pourasgari F, Ahmadian S, Salmanian AH, Sarbolouki MN, Massumi M. Low cytotoxicity effect of dendrosome as an efficient carrier for rotavirus VP2 gene transferring into a human lung cell line: dendrosome, as a novel intranasally gene porter. *Mol Biol Rep* 2009; 36: 105-9.
22. Babaei E, Sadeghizadeh M, Hassan ZM, Feizi MA, Najafi F, Hashemi SM. Dendrosomal curcumin significantly suppresses cancer cell proliferation in vitro and in vivo. *Int Immunopharmacol* 2012; 12: 226-34.
23. Syng-Ai C, Kumari AL, Khar A. Effect of curcumin on normal and tumor cells: role of glutathione and bcl-2. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 1101-8.
24. Subramaniam D, May R, Sureban SM, Lee KB, George R, Kuppusamy P, et al. Diphenyl difluoroketone: a curcumin derivative with potent in vivo anticancer activity. *Cancer Res* 2008; 68: 1962-9.
25. Kunwar A, Barik A, Pandey R, Priyadarsini KI. Transport of liposomal and albumin loaded curcumin to living cells: an absorption and fluorescence spectroscopic study. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760: 1513-20.
26. Li L, Braiteh FS, Kurzrock R. Liposome-encapsulated curcumin: in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer* 2005; 104: 1322-31.
- دامپزشکی دانشگاه تبریز به دلیل همکاری صمیمانه در طول انجام تحقیق اعلام می‌دارند. مقاله حاضر مستخرج از طرح تحقیقاتی مدیریت پژوهشی دانشگاه تبریز به شماره ۲-۱۲۷/۳۳۸ می‌باشد.

منابع

1. Kitano H. Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 227-35.
2. McCormick F. Cancer gene therapy: fringe or cutting edge? *Nat Rev Cancer* 2001; 1: 130-41.
3. Alberts SR, Cervantes A, van de Velde CJ. Gastric cancer: epidemiology, pathology and treatment. *Ann Oncol* 2003; 2: ii31-6.
4. Mahmoodi M, Alizadeh AM, Sohanaki H, Rezaei N, Amini-Najafi F, Khosravi AR, et al. Impact of fumonisin B1 on the production of inflammatory cytokines by gastric and colon cell lines. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2012; 11: 165-73.
5. Alizadeh AM, Rohandel G, Roudbarmohammadi S, Roudbary M, Sohanaki H, Ghiasian SA, et al. Fumonisin B1 contamination of cereals and risk of esophageal cancer in a high risk area in northeastern Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2625-8.
6. Shi M, Cai Q, Yao L, Mao Y, Ming Y, Ouyang G. Antiproliferation and apoptosis induced by curcumin in human ovarian cancer cells. *Cell Biol Int* 2006; 30: 221-6.
7. Naama JH, Al-Temimi AA, Hussain Al-Amiery A. Study the anticancer activities of ethanolic curcumin extract. *Afr J Pure Appl Chem* 2010; 4: 68-73.
8. Wahlang B, Pawar YB, Bansal AK. Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the Caco-2 cell model. *Eur J Pharm Biopharm* 2011; 77: 275-82.
9. Aggarwal BB, Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 1397-421.
10. Lin JK. Molecular targets of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 227-43.
11. Prasad K, Mantha SV, Kalra J, Lee P. Prevention of Hypercholesterolemic Atherosclerosis by Garlic, an Antioxidant. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1997; 2: 309-20.
12. Wang YJ, Pan MH, Cheng AL, Lin LI, Ho YS, Hsieh CY, et al. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal* 1997; 15: 1867-76.
13. Phan TT, See P, Lee ST, Chan SY. Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: its implication for wound healing. *J Trauma* 2001; 51: 927-31.
14. Sarbolouki MN, Sadeghizadeh M, Yaghoobi MM, Karami A, Lohrasbi T. Dendrosomes: a novel family of vehicles for transfection and therapy. *J Chem Technol Biot* 2000; 75: 919-22.

27.Esmatabadi D, Javad M. Research of Nanocurcumin Effect on Progression and Adhesion to Extracellular

Matrix Rate in SW480 Cancer Cells. J Police Med 2014; 2: 263-72.