Journal of Police Medicine

Winter 2015; Vol. 3, No. 4: 203-210

Original Article

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

Maryam Abedi[1]
Esmaeil Babaei[2*]
Mohammad Ali Hossein pour feizi[3]

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

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

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

ABSTRACT

Background: Curcumin with the scientific name of diferuloylmethane, 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 μM 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. Therfore, the relative expression of BAX/Bcl2 showed a meaningful increase in concentration of 30 μM 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

زمستان ۱۳۹۳- دوره ۳ - شماره ۴- صفحات ۲۱۰-۲۰۳

مجله طب انتظامی

مقاله تحقیقی

بررسی اثر نانو کورکومین دندروزومی بر بیان ژن‌های 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: کورکومین با نام علمی diferuloylmethane، جزء اصلی گیاه زردچوبه (Curcuma longa) می‌باشد که دارای خواص ضد سرطانی از طریق مهار تکثیر سلولی و فعال‌سازی آپوپتوز است. بااین‌حال، جذب ضعیف و پایداری پایین آن در بدن استفاده دارویی آن را محدود کرده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی توان آپوپتوزی نانو کورکومین دندروزومی نسبت به کورکومین آزاد می‌باشد.

مواد و روش‌ها: رده سلول سرطانی معده (AGS) با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرو مولار از نانو کورکومین دندروزومی در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شد. سپس بیان کمی ژن های Bax، Bcl2 و B2m به‌عنوان کنترل داخلی توسط تکنیک Real time PCR موردبررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نانو کورکومین دندروزومی در یک روش وابسته به زمان و دوز، باعث کاهش نسبی بیان ژن آنتی آپوپتوتیک Bcl2 و افزایش معنی‌دار بیان ژن پرو آپوپتوتیک BAX گردید به‌طوری‌که نسبت بیانی BAX/Bcl2 در غلظت ۳۰ میکرو مولار و زمان ۴۸ ساعت در مقایسه با کورکومین آزاد، به طرز معنی‌داری افزایش نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که مرگ سلول‌های سرطانی تیمار شده با نانو کورکومین دندروزومی ناشی از افزایش نسبت بیانی BAX/Bcl2 و درنتیجه آپوپتوز می‌باشد که در کنار نتایج مطالعات قبلی این گروه، پتانسیل داروئی این ترکیب جدید نانویی کورکومین را بیش‌ازپیش تقویت می‌کند.

کلید واژه‌ها: سرطان، آپوپتوز، نانو کورکومین دندروزومی، Real Time PCR

مریم عابدی[۱]

اسماعیل بابائی[۲*]

محمدعلی حسین پور فیضی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، ژنتیک، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

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

[۳]استاد، رادیو بیولوژی، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

[*]نویسنده مسئول:

اسماعیل بابائی

تلفن: ۴۱۳۳۳۹۲۶۸۶(۹۸+)

پست الکترونیک:

babaei@tabrizu.ac.ir

مقدمه

سرطان فرایندی چندمرحله‌ای است که دوره شروع آن طولانی بوده و در ادامه سریع و پیش‌رونده می‌باشد و پس از بیماری‌های قلبی و عروقی، دومین علت شایع مرگ‌ومیر در جهان به شمار می‌رود. این ضایعه کشنده، در اثر بروز تدریجی چندین جهش در ژن های کنترل‌کننده مسیرهای حیاتی سلول ازجمله رشد و نمو و آپوپتوز به وجود آمده و باعث تولید توده‌های سلولی توموری می‌شود که از قوانین تکاملی حاکم بر ماهیت پرسلولی یک موجود زنده پیروی نکرده و با به دست آوردن ویژگی‌هایی ازجمله عدم توجه به فاکتورهای رشد داخلی و خارجی، توانائی تکثیر خود به خودی، فرار از آپوپتوز و متاستاز بیماری سرطان را ایجاد می‌کنند [۲ و ۱]. سرطان‌های معدی-روده ای ازجمله فراوان‌ترین سرطان‌هایی که در سراسر جهان رخ می‌دهد. سرطان معده حدود پنج درصد از کل سرطان‌های گوارشی را در برمی‌گیرد. چندین نوع مختلف سرطان می‌تواند در معده ایجاد شود، رایج‌ترین نوع، آدنوکارسینوما نامیده می‌شود که از یک نوع سلول معمولی آستری معده شروع می شود. آدنوکارسینومای معده رایج‌ترین نوع سرطان معده است [۳]. اخیراً پیشرفت‌های زیادی در درمان سرطان معده حاصل‌شده اما درمان

Journal of Police Medicine
Winter 2015; Vol. 3, No. 4: 203-210

سرطان معده هنوز به‌عنوان چالشی مهم باقی‌مانده است. تحقیقات نشان داده‌اند که رژیم‌های غذایی مهم‌ترین عامل در ابتلا به سرطان معده هستند و تغییرات در محتوای رژیم غذایی روزمره هنوز از راه‌کارهای مهم، کم‌هزینه و کم عارضه پیش گیری 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]. ازجمله مواد غذایی مؤثر در این زمینه کورکومین (Curcumin) می‌باشد، کورکومین با نام علمی دی فرولوئیل متان و فرمول شیمیایی C21H20O6، 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 [۱۰ و ۹]. این ماده باوجودآنکه 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 هم بسپار (Copolymer) با ساختار کروی، فرادندانه دار و خود متجمع هستند که برای اولین بار توسط مرحوم دکتر سربلوکی در ایران سنتز شد [۱۴] و در مقایسه با سایر ناقلین دارویی از مزایای متعددی از قبیل پایداری، عدم سمیت و زیست‌تخریب‌پذیری برخوردارند [۱۹-۱۵]. 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 به‌منظور 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 FBS (GIBCO ،USA) و یک درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین- استرپتومایسین (GIBCO ،USA) در دمای ۳۷ °C و پنج درصد CO_2 کشت داده شدند. کورکومین از شرکت سیگما آمریکا خریداری‌شده و نانوذره دندروزومی O۴۰۰ Den نیز از پژوهشگاه رنگ تهران تهیه گردید. ترکیب نانویی کورکومین طبق روش اشاره‌شده در مقاله بابائی و همکاران تهیه شد [۲۲]. مواد و کیت‌های Real time PCR از شرکت TacaRa ژاپن فراهم شد.

بررسی بقای سلولی با استفاده از روش: MTT برای سنجش سمیّت 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 (۱۲۰۰۰ سلول در هر خانه) در پلیت‌های ۹۶ خانه و ۲۰۰ µl محیط کشت کامل کشت داده شدند. سپس سلول‌ها در محدوده غلظتی ۱۰۰-۰ µM 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 ۲۰ µl از محلول MTT (۵ mg/ml)، اضافه گردید. به‌منظور 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 ۲۰۰ cc از حلال DMSO اضافه گردید. شدت رنگ چاهک‌ها معیاری از زنده ماندن سلول‌ها می‌باشد. جذب خانه‌ها در طول‌موج ۵۴۰ nm توسط دستگاه ELISA reader (BioTek) اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که این تست به‌صورت 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 ۰/۰۵ در نظر گرفته‌شده است.

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

واکنش رونویسی معکوس: سنتز cDNA طبق دستورالعمل شرکت سازنده آنزیم reverse transcriptase (Denmark، fermentase) انجام شد. به‌طور 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 ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید.

مجله طب انتظامی
زمستان ۱۳۹۳- دوره ۳- شماره ۴- صفحات ۲۱۰-۲۰۳

جدول ۱: توالی پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های Bax و Bcl2 و β2m

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

سپس، جهت غیر فعال‌سازی 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 دیک واتر اضافه‌شده و در دمای ۳۷ درجه به مدت پنج دقیقه انکوبه شد. درنهایت آنزیم RT به میکرو تیوب‌ها اضافه‌شده و مخلوط واکنش به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در پایان جهت غیر فعال‌سازی آنزیم RT، میکرو تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترمال سایکلر حرارت داده شدند.

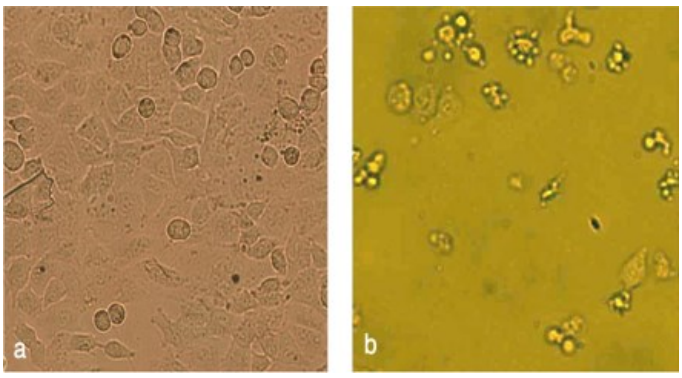
بررسی کمی بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2: به‌منظور تکثیر قطعه‌های مشخص از ژن‌های Bax و Bcl2، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی هر ژن (جدول ۱)، واکنش real time PCR انجام گرفت. توالی پرایمرها در سایت NCBI (BLAST)جستجو گردید تا از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها اطمینان حاصل شود.

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 به‌عنوان فلوروفور (Fluorophore) زمینه از Rox استفاده گردید. برنامه به کار گرفته‌شده 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 سانتی گراد حرارت داده شد.

آنالیز آماری: به‌منظور تجزیه‌وتحلیل 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 غلظت های مختلف و در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت و با استفاده از روش MTT انجام گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که نانو کورکومین دندروزومی به شکل وابسته به زمان و غلظت برای سلول های AGS سمی بوده ولی این اثر برای دندروزوم و کورکومین تنها وجود نداشت (شکل ۱). دوز مؤثر کشنده ($LD_{۵۰}$) داروی نانویی کورکومین در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت برای سلول‌های سرطانی AGS به ترتیب ۳۵ و ۱۸ میکرو مولار به دست آمد درحالی‌که این



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

Journal of Police Medicine
Winter 2015; Vol. 3, No. 4: 203-210

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

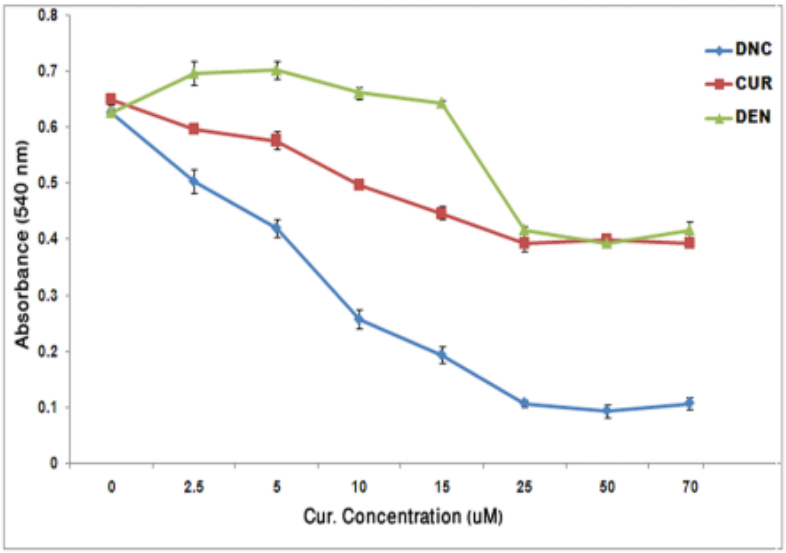
میانگین			
نانو کورکومین دندروزومی	کورکومین	دندروزوم	غلظت (میکرو لیتر)
۰/۶۲۶۶۶۶۶۷	۰/۶۵۳۳۳۳	۰/۶۳	۰
۰/۵۰۳۳۳۳۳۳	۰/۶۰۳۳۳۳	۰/۶۸۵	۲/۵
۰/۴۲	۰/۵۹۱۶۶۷	۰/۷۰۶۶۶۷	۵
۰/۲۶۱۶۶۶۶۷	۰/۵۰۳۳۳۳	۰/۶۷۱۶۶۷	۱۰
۰/۲	۰/۴۵	۰/۶۵۶۶۶۷	۱۵
۰/۰۹۶۶۶۶۶۷	۰/۴۲	۰/۴۴۵	۲۵
۰/۰۶۳۳۳۳۳۳	۰/۴۳۳۳۳۳	۰/۴۲۳۳۳۳	۵۰
۰/۰۶۶۶۶۶۶۷	۰/۴۲	۰/۴۴	۷۰

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

تغییر بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2 متأثر از نانو کورکومین دندروزومی: در تحقیق حاضر بیان ژن های 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 موردبررسی 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 ($P < ۰/۰۵$). بیان ژن BAX در سلول‌های تحت تیمار با نانو کورکومین افزایش نسبی داشت که برای غلظت ۳۰ میکرو مولار و در بازه زمانی ۴۸ معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین نسبت بیانی ژن های 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 ($P < ۰/۰۵$) (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 حامل های رسانش فسفولیپیدی نظیر لیپوزوم [۲۵] و حامل‌های نانویی ازجمله راهکارهای مورداستفاده در راستای افزایش زیست ماندگاری این



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

مجله طب انتظامی
زمستان ۱۳۹۳- دوره ۳- شماره ۴- صفحات ۲۱۰-۲۰۳

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

انحراف معیار			
نانو کورکومین دندروزومی	کورکومین	دندروزوم	غلظت (میکرو لیتر)
۰/۰۲۳۰۹۴۰۱۱	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۱	۰
۰/۰۴۰۴۱۴۵۱۹	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۰۵	۲/۵
۰	۰/۰۰۷۶۳۸	۰/۰۰۵۷۷۴	۵
۰/۰۲۲۵۴۶۲۴۹	۰/۰۲۰۸۱۷	۰/۰۲۲۵۴۶	۱۰
۰	۰/۰۱۷۳۲۱	۰/۰۰۵۷۷۴	۱۵
۰/۰۰۵۷۷۳۵۰۳	۰/۰۲	۰/۰۰۵	۲۵
۰/۰۴۶۱۸۸۰۲۲	۰/۰۰۵۷۷۴	۰/۰۰۵۷۷۴	۵۰
۰/۰۴۹۳۲۸۸۲۹	۰/۰۱۷۳۲۱	۰/۰۱۷۳۲۱	۷۰

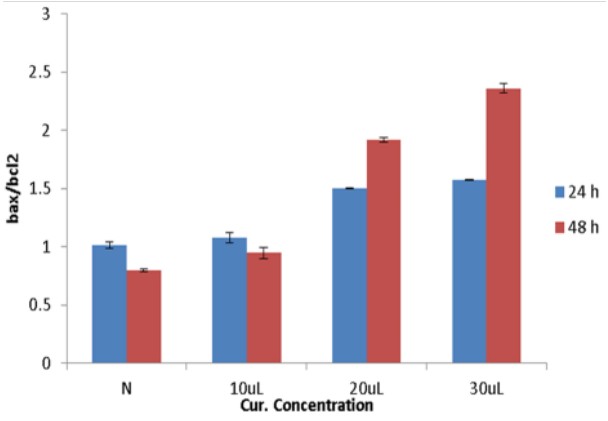
مولکول بوده است. سنتز داروی نانو کورکومین دندروزومی ازجمله موارد موفق این گروه می‌باشد که توان ضد سرطانی آن را در هر دو محیط سلولی و مدل موشی نشان داده‌اند [۲۲]. نتایج حاصل از MTT و مورفولوژی سلول‌ها نشانگر سمیت نانو کورکومین دندروزومی بر رده سلولی AGS و به‌صورت وابسته به زمان و دوز می‌باشد که قبلاً توسط این گروه در دیگر رده‌های سلول سرطانی موردبررسی قرارگرفته است [۲۲]. هرچند که مسیر آپوپتوزی کورکومین در رده‌های مختلف سلولی تا حدودی مشخص‌شده است این مهم برای نانو کورکومین دندروزومی هنوز موردبررسی 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 کورکومین باشد. این یافته در مطالعات قبلی نیز نشان داده‌شده است که ژن‌های ضد آپوپتوزی ازجمله Survivin و Bcl2 در سلول‌های تحت تیمار با کورکومین دستخوش کاهش بیان می‌شوند [۲۶].

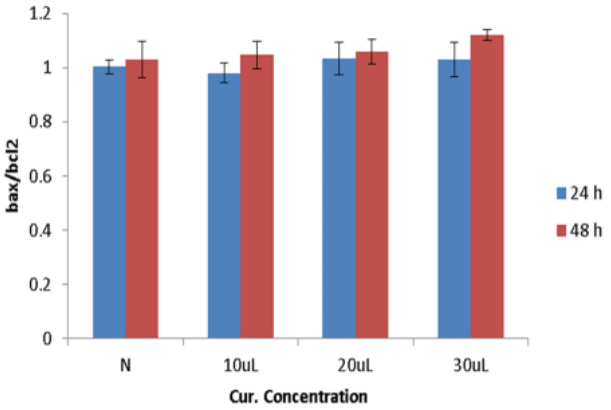
همچنین در مطالعه‌ای با بررسی اثر مهاری این ترکیب نانویی کورکومین بر میزان رشد و چسبندگی سلولی، کارایی این داروی گیاهی چندهدفه بر مهار رشد، تهاجمی شدن و بازگشت سرطان بیشتر از گذشته آشکارشده است [۲۷]. درمجموع، نتایج ما ضمن تأیید یافته‌های قبلی خود مبنی بر توان بالای ضد سرطانی نانو کورکومین دندروزومی نشان می‌دهد که این اثر داروئی 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



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.



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.

Journal of Police Medicine
Winter 2015; Vol. 3, No. 4: 203-210

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 Antixoidant. 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.
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 III. 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 Ther2004; 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.

زمستان ۱۳۹۳- دوره ۳- شماره ۴- صفحات ۲۱۰-۲۰۳

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

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