

The Survey of Cytotoxic Effect of Dendrosomal Nano curcumin on 4T1 Metastatic Model of Breast Cancer

Received: 23 July 2014

Revised: 23 November 2014

Accepted: 29 November 2014

ABSTRACT

Baharak Farhangi¹
Mohammad Javad Dehghan
Esmat Abadi²
Neda Soleimani³
Zivar Salehi^{4*}

¹MSc, Molecular Genetics, Department of Genetics, Faculty of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran.

²Ph.D. Student, Molecular Genetics, Faculty of Biology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

³Ph.D. Student, Medical Bacteriology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

⁴Professor, Department of Molecular Genetics, Faculty of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author:

Zivar Salehi

Tel: (+98)9113337003

e-mail: geneticzs@yahoo.co.uk

Background: Breast cancer is the most common type of malignancy in women. Despite dramatic achievements in the development of synthetic pharmaceuticals, herbal drugs still remain as one of the leading therapeutic strategies for cancer. In the current study, we aimed to investigate the toxic effects of dendrosomal nanocurcumin on 4T1 cells derived from BALB/c mice breast tumors.

Materials and Methods: For this purpose, MTT assay was exploited to evaluate viability of 4T1 cell line and mouse skin normal fibroblasts (MEF) cells under exposure to nanocurcumin. Cultured cells were treated with different concentrations of nanocurcumin ranging from 5 to 45 μ M. Furthermore, the effect of nanocurcumin on cells was compared with doxorubicin as a frequently-used chemotherapeutic for breast cancer.

Results: The results of MTT assay indicated that treatment with nanocurcumin leads to a significant reduction in the viability of cancer cells in a dose- and time- dependent manner with no significant effect on normal cells. The decrease in viability of cancer cells was 35, 25 and 15 μ M for 24h, 48h and 72 h post-treatment, respectively. The data also shown that nanocurcumin exerts toxic effects the same as doxorubicin on cancer cells. Given less toxicity of nanocurcumin on normal cells in comparison with doxorubicin, this finding is of paramount importance.

Conclusion: Dendrosomal nanocurcumin is able to eradicate cancer cells in a dose- and time-dependent mode. This nanodrug has toxic effects on breast cancer cells with no toxicity on breast normal cells. On the other hand, this therapeutic agent is as potent as doxorubicin in killing cancer cells. While compared with doxorubicin, this compound shows less toxicity on normal cells.

Keywords: dendrosomal nanocurcumin, cell toxicity, 4T1 cell line

بررسی اثر سمیت سلولی نانوکورکومین دندروزومی بر مدل متاستاتیک 4T1 سرطان پستان

تاریخ دریافت: ۱ مرداد ۱۳۹۳ تاریخ اصلاح: ۲ آذر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: ۸ آذر ۱۳۹۳

چکیده

بهارک فرهنگی^۱

محمد جواد دهقان عصمت

آبادی^۲

ندا سلیمانی^۳

زبور صالحی^{۴*}

مقدمه: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان است. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در تولید داروهای سنتزی، هنوز گیاهان دارویی به عنوان یکی از راه‌کارهای مهم جهت درمان سرطان مطرح می‌باشند. هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات سمیت نانوکورکومین دندروزومی بر رده سلولی 4T1 استخراج شده از تومورهای پستانی موش BALB/c می‌باشد.

مواد و روش‌ها: آزمون MTT جهت بررسی توانایی زیستی رده سلولی 4T1 و سلول‌های فیبروبلاست پوستی نرمال موش (MEF) مورد استفاده قرار گرفت. سلول‌های کشت داده شده تحت تیمار با طیفی از غلظت‌های نانوکورکومین دندروزومی ($45-5 \mu\text{M}$) قرار گرفتند. همچنین اثر نانوکورکومین بر روی سلول‌ها با دوکسوروبیسین که دارویی متداول در درمان سرطان پستان می‌باشد، مقایسه گردید.

یافته‌ها: نتایج آزمون MTT بر روی رده سلولی 4T1 به ترتیب ۳۵، ۲۵ و ۱۵ میکرومول برای تیمارهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته بود. تاثیر معنی‌داری بر سلول‌های نرمال مشاهده نشد. همچنین نانوکورکومین دارای اثرات سمی مشابه دوکسوروبیسین در از بین بردن سلول‌های سرطانی است.

نتیجه‌گیری: نانوکورکومین دندروزومی قادر است به صورت وابسته به دوز و زمان، سلول‌های سرطانی را از بین ببرد. این نانو دارو دارای اثرات سمی بر سلول‌های سرطانی پستان ولی فاقد سمیت بر سلول‌های نرمال پستان می‌باشد. از طرف دیگر، این ترکیب دارویی دارای قابلیت‌های مشابه با دوکسوروبیسین در حذف سلول‌های سرطانی است. با توجه به سمیت کمتر نانوکورکومین دندروزومی بر سلول‌های نرمال در مقایسه با دوکسوروبیسین، حذف سلول‌های سرطانی یا داروی نانوکورکومین دندروزومی می‌تواند از اهمیت به سزایی برخوردار باشد.

کلید واژه‌ها: نانوکورکومین دندروزومی، سمیت سلولی، رده سلولی 4T1

^۱ کارشناس ارشد، ژنتیک مولکولی، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی پردیس گیلان، رشت، ایران.
^۲ دانشجوی دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
^۳ دانشجوی دکتری تخصصی باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
^۴ استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول:

زبور صالحی

تلفن: ۰۳۳۳۳۷۰۰۳ (۹۸+)

پست الکترونیک:

geneticzs@yahoo.co.uk

مقدمه

اتیولوژی این نئوپلاسم دو عامل ژنتیک و فاکتورهای محیطی دخیل می‌باشد. آمار و شواهد منتشر شده، حاکی از افزایش مداوم شیوع سرطان پستان از اواسط دهه ۱۹۴۰ می‌باشد [۲]. هدف اصلی در پیشگیری این نوع سرطان توسط مواد طبیعی یا سنتتیک مهار، کند و یا معکوس کردن فرایند سرطان زایی می‌باشد [۳]. یکی از مرسوم‌ترین روش‌های درمان سرطان، شیمی درمانی است که

سرطان یک فرایند چندمرحله‌ای است که دوره شروع آن طولانی بوده و در ادامه سریع و پیش‌رونده می‌باشد. سرطان پستان دومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در میان خانم‌ها است که سالانه ۱ میلیون مورد جدید از این بیماری تشخیص داده می‌شود. سن وقوع این بیماری در کشورهای توسعه یافته ۵۰-۴۰ سال می‌باشد [۱]. در

آماده‌سازی و تهیه نانوکورکومین دندروزومی کورکومین مورد استفاده در این تحقیق با خلوص ۹۵ درصد از شرکت Merck آلمان خریداری شد. دندروزوم های ۴۰۰-۰ به عنوان نانوحامل های دندروزومی اهدایی از دانشگاه تربیت مدرس برای افزایش حلالیت کورکومین در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند. آماده سازی نانوکورکومین مطابق دستورالعمل بهینه شده صورت گرفت [۱۰]. به طور خلاصه طیف غلظتی از کورکومین و دندروزوم (نسبت ۱:۵۰ تا نسبت ۱:۱۰) به منظور انتخاب نسبت مناسب از دندروزوم و کورکومین توسط اسپکترومتری بررسی و در نهایت نسبت وزنی ۱:۲۵ به عنوان نسبت بهینه انتخاب شد. نانوکورکومین دندروزومی با غلظت ۲/۷ میلی مولار تهیه و در شرایط دور از نور و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. رقیق سازی دارو پیش از استفاده در هر روش با استفاده از محیط کشت کامل صورت گرفت [۱۰].

تعیین بررسی قدرت زیستی سلولی با استفاده از آزمون سنجش MTT برای بررسی قدرت زیستی^۸ سلول ها از آزمون MTT استفاده می شود [۱۱] که اساس آن احیای نمک زردرنگ دی متیل تیازول دی فنیل تترازولیوم بر مایند^۹ به بلورهای نامحلول و ارغوانی رنگ فورمازان^{۱۰} می باشد که توسط آنزیم های دهیدروژناز میتوکندریایی سلول های زنده انجام می گیرد. شدت رنگ ارغوانی تولید شده با میزان سلول هایی که از نظر متابولیسی فعال هستند، نسبت مستقیم دارد. به منظور بررسی میزان بقای سلول های 4T1 و MEF تحت اثر نانوکورکومین دندروزومی، ابتدا سلول های مذکور در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی و ۱ درصد آنتی بیوتیک های پنی سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور کشت سلول با دمای ۳۷°C و هوای مرطوب حاوی ۵ درصد CO₂ رشد داده شدند.

پس از طی مراحل پاساژ سلولی شمارش سلول ها با هموسیتمتر (لام نتوبار) انجام پذیرفت و بعد از آن تعداد مناسبی از سلول ها برای انجام این تست در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ در خانه های مورد نظر از پلیت های ۹۶ خانه ای با حجم نهایی ۲۰۰ میکرو لیتر محیط سرم دار کشت داده شد. تعداد سلول مورد نیاز برای این تست باید حداقل ۵۰۰۰ و حداکثر ۱۰۰۰۰ سلول باشد [۱۲]. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد تا سلول ها به سطح آن بچسبند. سپس سلول ها به صورت تکرارهای سه گانه با طیفی از غلظت های نانوکورکومین از ۴۵-۵ μM تحت تیمار قرار گرفتند. پس از گذشت مدت زمان مورد نظر، محیط چاهک ها به طور کامل خالی و به هر چاهک ۱۸۰ میکرو لیتر محیط کشت و ۲۰ میکرو لیتر محلول MTT افزوده شد. پلیت در فویل پیچیده شد و به مدت چهار ساعت در

عوارض بسیاری دارد، ضمن آنکه سلول های سرطانی به طور کامل پاک سازی نمی شوند و غالباً نیز عودهای مکرر مشاهده می گردد. بنابراین امروزه معرفی داروهای جایگزین با منشأ طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

بر اساس نتایج به دست آمده، برخی ترکیبات غذایی طبیعی نظیر کورکومین^۱ به طور ذاتی توانایی تعدیل این مسیرها و در نتیجه درمان یا تأخیر فرایند سرطان زایی را در گونه های مختلف دارند [۵] و [۴] کورکومین جزء اصلی و فعال ادویه زردچوبه می باشد که از ریزوم یا ساقه زیرزمینی گیاه^۲ استخراج می شود. این ترکیب ارزشمند گیاهی، اولین بار در سال ۱۸۷۰ به صورت پودر کریستالی زردرنگ استخراج و به نام diferuloylmthan و با فرمول شیمیایی C₂₁H₂₀O₆ (-3-1,7-bis(4-hydroxy-3-)-1-6-heptadine-3,5-dione (methoxyphenyl) شناخته شد. کورکومین یک مولکول فلورسنت هیدروفوبیک است که می تواند وارد غشای سلول شود. شواهد بسیار محکمی وجود دارد که اثر آنتی توموری کورکومین و عملکرد آن بر روی سلول های توموری را تأیید می کنند [۶ و ۵]. علی رغم داشتن خواص دارویی منحصر به فرد در درمان بیماری های مزمن از جمله سرطان، کورکومین در بدن موجود زنده زیست ماندگاری بسیار پایینی دارد و بعد از جذب شدن توسط سلول ها، به سرعت تجزیه می شود. به همین دلیل است که اثرات درمانی کورکومین در نتیجه احتباس کوتاه آن در گردش خون محدود می شود [۷]. روش های مختلفی برای افزایش کارایی و اثربخشی کورکومین صورت گرفته که یکی از آن ها، ساخت نانوذره دندروزوم^۳ می باشد [۸].

هدف از مطالعه حاضر، بررسی سمیت سلولی نانوکورکومین دندروزومی^۴ بر رده سلولی سرطانی 4T1 (یکی از چند رده سلولی متاستاتیک سرطان پستان) [۹] و رده سلولی نرمال فیبروبلاست های پوستی نرمال موشی^۵ (MEF) و همچنین مقایسه میزان سمیت سلولی نانوکورکومین دندروزومی و داروی دوکسوروبیسین^۶ بر این دو رده سلولی می باشد.

مواد و روش ها

کشت و تکثیر رده های سلولی کشت و تکثیر رده های سلولی رده های سلولی توموری 4T1 و سلول های نرمال فیبروبلاست با منشأ پوست (MEF) از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. سپس سلول ها را بر اساس پروتکل، دفریز و در محیط DMEM^۷ حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی و ۱ درصد آنتی بیوتیک های پنی سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور کشت سلول با دمای ۳۷°C و هوای مرطوب حاوی ۵ درصد CO₂ رشد داده شدند.

¹: Curcumin, ²: Curcuma Longa, ³: Dendrosome, ⁴: Dendrosomal nano curcumin (DNC), ⁵: Mouse Embryonic Fibroblast Cell Line,

⁶: Doxorubicin, ⁷: Dulbecco's Modified Eagle's Medium, ⁸: Cell Viability, ⁹: Dimethylthiazol-diphenyltetrazolium bromide, ¹⁰: Formazan

است. نتایج در بازه زمانی ۲۴ ساعت نشان می‌دهد که نانوکورکومین دندروزومی در غلظت ۳۵ میکرومولار دارای اثرات سمی بر ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌باشد.

نتایج آزمون MTT سلول‌های سرطانی 4T1 تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، کورکومین، دندروزوم و دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۴۸ ساعت در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج در بازه زمانی ۴۸ ساعت نشان می‌دهد که نانوکورکومین دندروزومی در غلظت ۲۵ میکرومولار دارای اثرات توکسیک بر ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌باشد. نتایج آزمون MTT سلول‌های سرطانی 4T1 تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، کورکومین، دندروزوم و دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۷۲ ساعت در شکل ۳ ارائه شده است. نتایج در بازه زمانی ۷۲ ساعت نشان می‌دهد که نانوکورکومین دندروزومی در غلظت ۱۵ میکرومولار دارای اثرات توکسیک بر ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

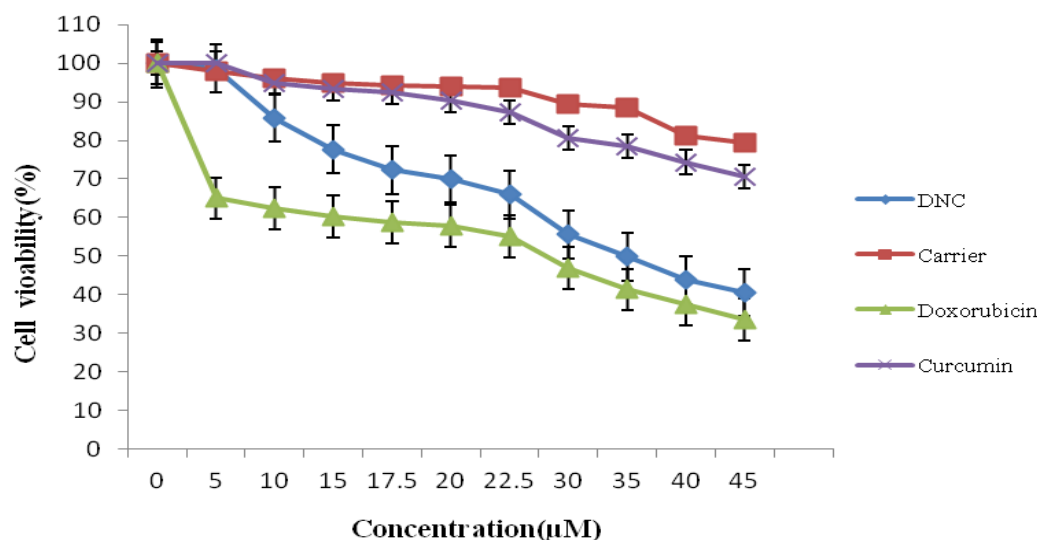
تحقیقات متعدد نشان داده‌اند که کورکومین از ایجاد سلول‌های توموری جلوگیری نموده و سرعت رشد و پیشرفت بسیاری از سرطان‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین نشان داده شده که کورکومین در دوزهای خاص باعث القای آپوپتوزیس در بسیاری از سلول‌های سرطانی می‌شود. میتوکندری‌ها نقش مهمی در پرولیفراسیون سلول‌ها و آپوپتوزیس دارند. کورکومین بر روی آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری و افزایش میزان نفوذپذیری غشای

انکوباتور 37°C قرار داده شد. محیط از چاهک‌ها خارج و ۲۰۰ میکرولیتر DMSO^۱ به هر چاهک افزوده شد. بعد از گذشت ۱۰ دقیقه جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه الیزا^۲ در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. تست‌ها به صورت سه بار در حضور گروه‌های کنترل تکرار شد. پس از خواندن جذب نهایی توسط دستگاه الیزا، نمونه کنترل منفی (فاقد تیمار دارویی یا غلظت صفر نانوکورکومین) طبق فرمول ارائه شده در قسمت مواد و روش‌ها، ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده و سایر نمونه‌ها نسبت به آن سنجیده شدند. آنالیز داده‌ها

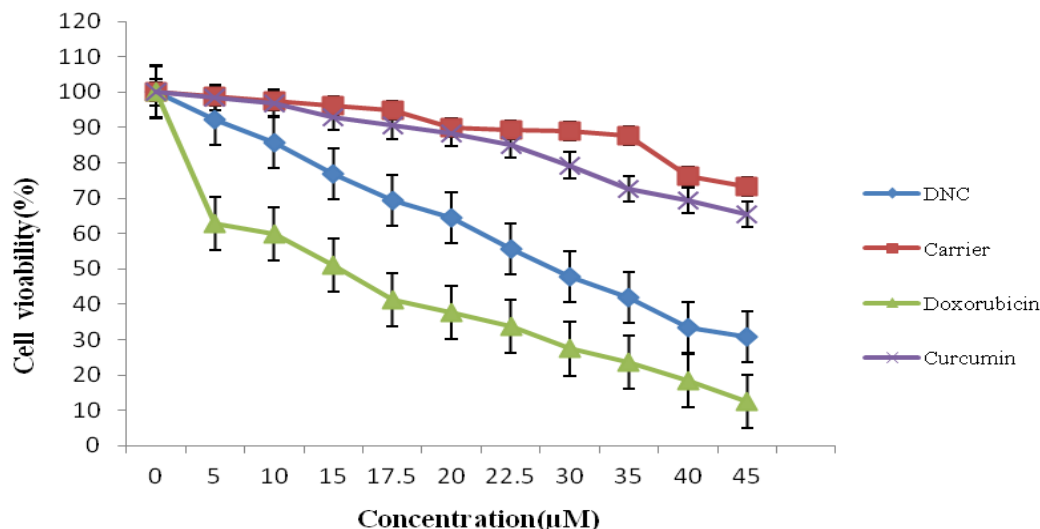
معنی‌دار بودن نتایج با نرم‌افزار SPSS18 مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه داده‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه^۳ و برای Post Hoc آن از Lsd استفاده گردید و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از مقایسه داده‌های به دست آمده از سنجش درصد حیات سلول‌های سرطانی تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، مشخص شد تفاوت میانگین درصد حیات سلول‌ها در دوزهای متفاوت و زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل در سطح $(0.05/P < P)$ معنی‌دار می‌باشد. نتایج آزمون MTT سلول‌های سرطانی 4T1 تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، کورکومین، دندروزوم و دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۲۴ ساعت در شکل ۱ ارائه شده



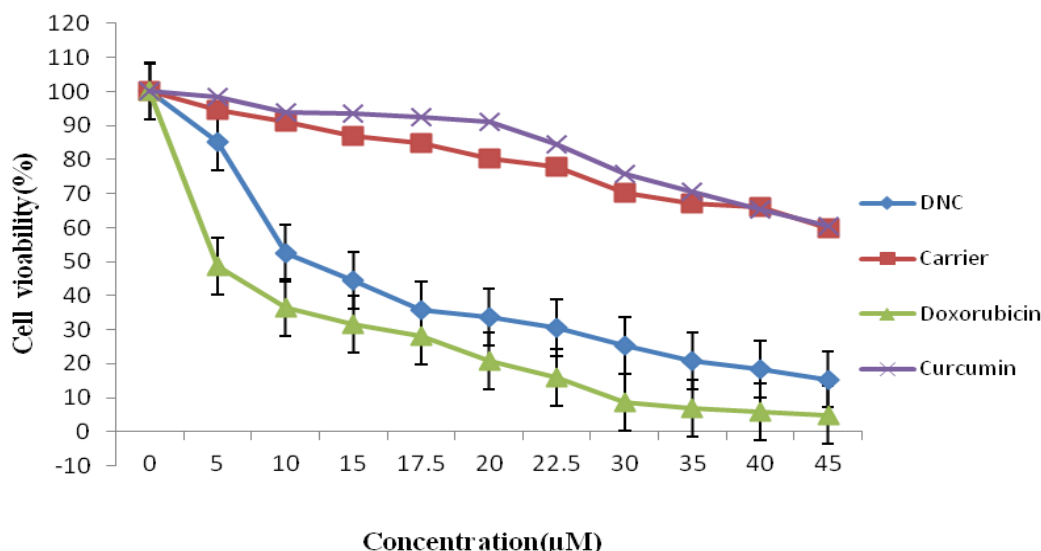
شکل ۱: نتایج آزمون MTT سلول‌های سرطانی 4T1 تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، کورکومین، دندروزوم و دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۲۴ ساعت. منحنی حاصل نشان دهنده اثر بازدارندگی نانوکورکومین دندروزومی بر حیات سلول‌ها به صورت تابعی از غلظت می‌باشد. هر یک از نقاط، میانگین نتایج حاصل از ۳ آزمون مستقل می‌باشد ($P < 0.05$). نتایج در این بازه زمانی نشان می‌دهد که: الف) نانوکورکومین دندروزومی در غلظت ۳۵ میکرومولار دارای اثرات سمی بر ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌باشد، ب) ناقل (دندروزوم) به تنهایی دارای اثر بازدارندگی بر حیات سلول‌ها نمی‌باشد، ج) منحنی اثر بازدارندگی نانوکورکومین دندروزومی مشابه داروی دوکسوروبیسین می‌باشد.



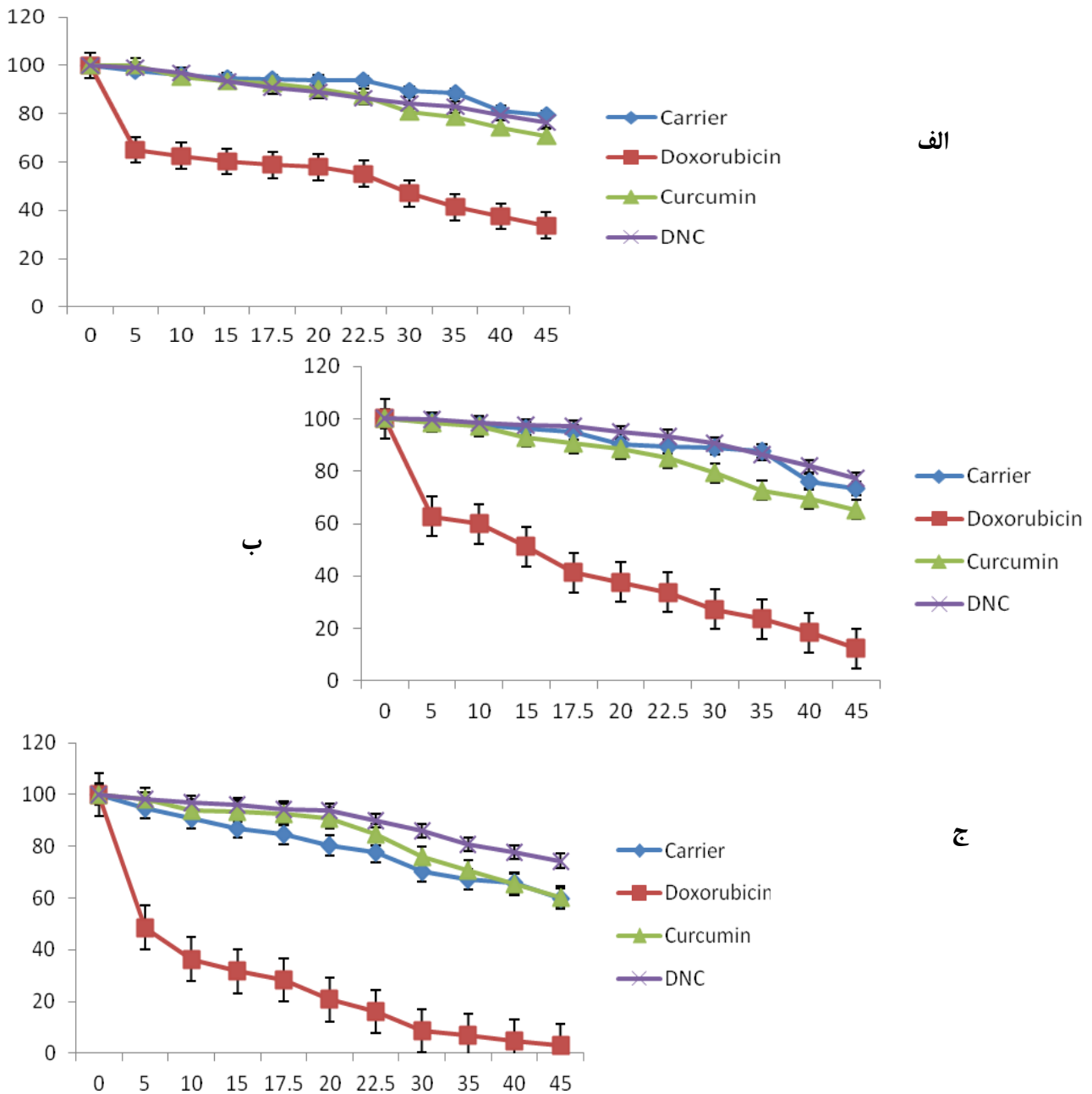
شکل ۲: نتایج آزمون MTT سلول‌های سرطانی 4T1 تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، کورکومین، دندروزوم و دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۴۸ ساعت. منحنی حاصل نشان‌دهنده اثر بازدارندگی نانوکورکومین دندروزومی بر حیات سلول‌ها به صورت تابعی از غلظت می‌باشد. هر یک از نقاط، میانگین نتایج حاصل از ۳ آزمون مستقل می‌باشد ($p < 0.05$). نتایج در این بازه زمانی نشان می‌دهد که: الف) نانوکورکومین دندروزومی در غلظت ۲۵ میکرومولار دارای اثرات سمی بر ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌باشد، ب) ناقل (دندروزوم) به تنهایی دارای اثر بازدارندگی بر حیات سلول‌ها نمی‌باشد، ج) منحنی اثر بازدارندگی نانوکورکومین دندروزومی مشابه داروی دوکسوروبیسین می‌باشد.

در این سلول‌ها کاهش می‌دهد. این ماده با مهار فاکتور رشد سلول‌های اندوتلیال عروقی و گیرنده اختصاصی آن (آنژیوپوئنتین) از آنژیوژنز و تشکیل عروق خونی جدید در سلول‌های توموری جلوگیری نموده و رشد آن‌ها را متوقف می‌کند. به‌طور کلی کورکومین دارای اثرات ضدالتهابی و ضدسرطانی بوده و این اثرات به‌طور عمده

میتوکندری‌ها اثر می‌گذارد. بدین ترتیب اثرات آپوپتوتیک خود را نشان می‌دهد و نظیر سایر مهارکننده‌های پروتازوم روی سلول‌های در حال پرولیفراسیون نسبت به سلول‌های تمایز یافته اثر قوی‌تری دارد. کورکومین با اثر مهارگری بر آنژیوژنز بافت سرطانی، باعث کاهش رشد سلول‌های سرطانی شده و همچنین فعالیت تلمومرازی را



شکل ۳: نتایج آزمون MTT سلول‌های سرطانی 4T1 تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، کورکومین، دندروزوم و دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۷۲ ساعت. منحنی حاصل نشان‌دهنده اثر بازدارندگی نانوکورکومین دندروزومی بر حیات سلول‌ها به صورت تابعی از غلظت می‌باشد. هر یک از نقاط، میانگین نتایج حاصل از ۳ آزمون مستقل می‌باشد ($p < 0.05$). نتایج در این بازه زمانی نشان می‌دهد که: الف) نانوکورکومین دندروزومی در غلظت ۱۵ میکرومولار دارای اثرات سمی بر ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌باشد، ب) ناقل (دندروزوم) به تنهایی دارای اثر بازدارندگی بر حیات سلول‌ها نمی‌باشد، ج) منحنی اثر بازدارندگی نانوکورکومین دندروزومی مشابه داروی دوکسوروبیسین می‌باشد.

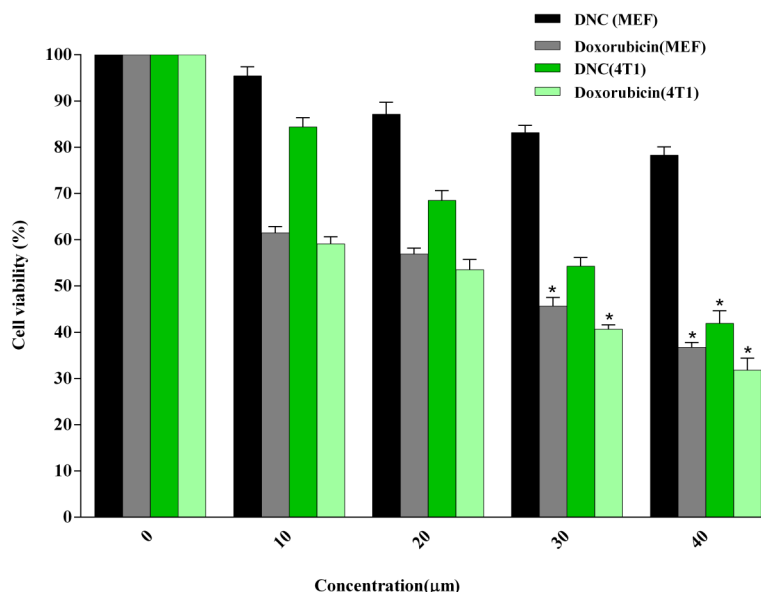


شکل ۴: نتایج آزمون MTT سلول‌های فیبروبلاست نرمال موشی تیمار شده با نانوکورکومین دندروزومی، کورکومین و دندروزوم در بازه‌های زمانی ۲۴ (الف)، ۴۸ (ب)، ۷۲ ساعت (ج). نتایج در این بازه‌های زمانی نشان می‌دهد که با افزایش مدت زمان و غلظت تیمار نانوکورکومین دندروزومی بر سلول‌های نرمال تغییر معنی‌داری نمی‌گذارد ولی سمیت دوکسوروبیسین بر روی سلول‌های نرمال با افزایش مدت زمان و غلظت افزایش می‌یابد. مقایسه منحنی نانوکورکومین دندروزومی با کورکومین و ناقل (دندروزوم) نشان‌دهنده عدم سمی بودن ناقل می‌باشد.

استفاده از کورکومین، جذب و حذف سریع آن در بدن می‌باشد [۷]، روش‌های مختلفی برای افزایش کارایی و اثربخشی آن صورت گرفته که یکی از آن‌ها، ساخت حامل نانوپارتیکل مخصوص (دندروزوم) است [۸]. در یکی مطالعات گذشته که توسط بابایی و همکارانش در زمینه فعالیت ضد سرطانی نانوکورکومین صورت گرفت، برای اولین بار نشان داده شد که نانوکورکومین دندروزومی از

به خاطر اثرات آنتی‌اکسیدانی و تاثیر آن بر روی آنزیم‌های سلولی، مهار مسیرهای ارسال سیگنال در سطوح مختلف، آنژیوژنز و چسبندگی سلول‌هاست [۱۸-۱۳].

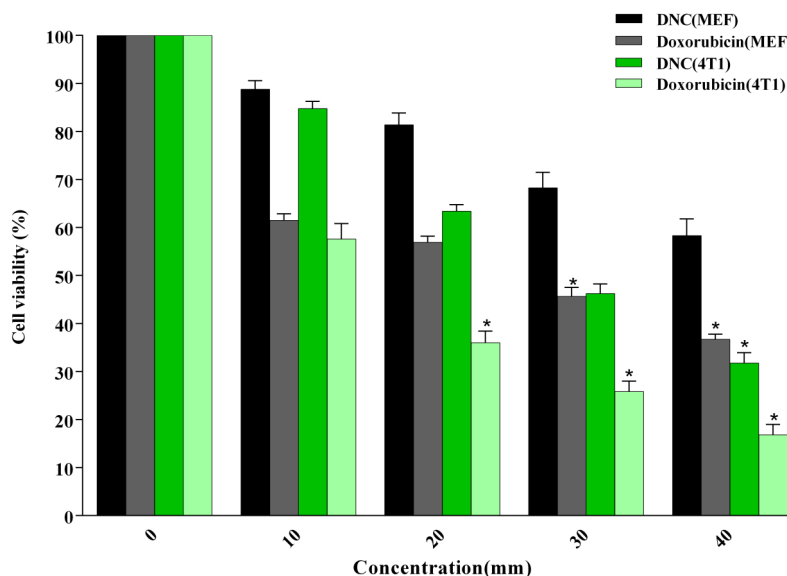
با توجه به تاثیر کورکومین بر روی نسخه برداری ژن‌ها و القای آپوپتوزیس به نظر می‌رسد که بتوان از آن در زمینه پیشگیری و شیمی‌درمانی سرطان استفاده نمود [۱۹]. از آنجاکه مشکل اصلی در



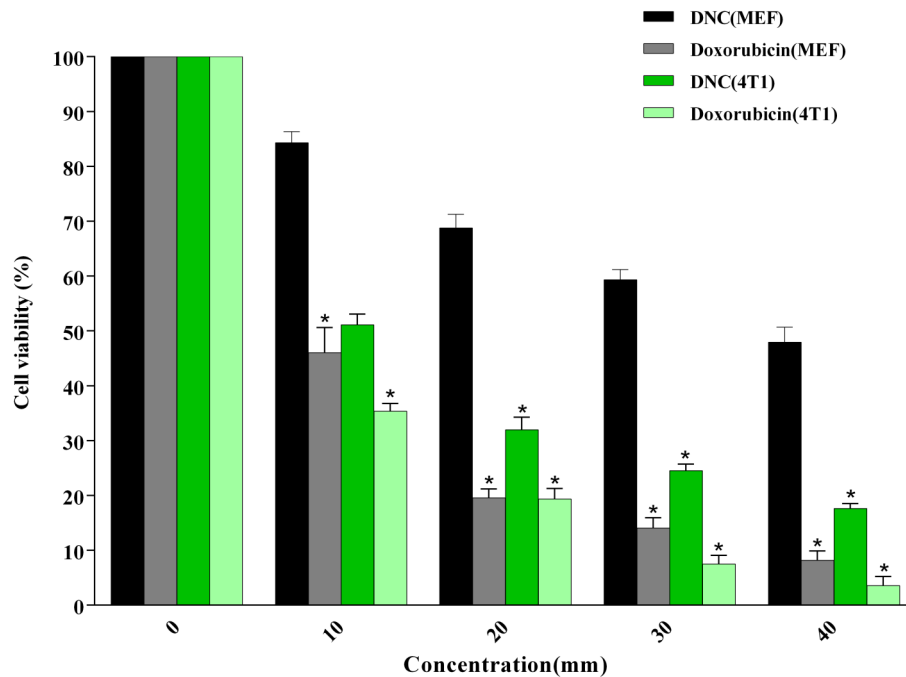
نمودار ۱: مقایسه نتایج آزمون MTT در گروه تست نانوکورکومین دندروزومی و گروه کنترل دوکسوروبیسین بر سلول‌های سرطانی 4T1 و سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF در بازه زمانی ۲۴ ساعت. نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش نشان داد که DNC در غلظت $35 \mu\text{M}$ به صورت معنی‌داری بر سلول‌های سرطانی 4T1 تاثیر می‌گذارد؛ در صورتی که در همین غلظت برای سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF سمی نیست. دوکسوروبیسین در غلظت‌های 30 تا $40 \mu\text{M}$ کاهش معنی‌داری بر سلول‌های سرطانی 4T1 و سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF نشان داد. * نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میزان اختلاف ($p < 0.05$) می‌باشد.

بررسی توانایی زیستی سلول‌های سرطانی با استفاده از آزمون MTT نشان داد نانوکورکومین دندروزومی به شیوه‌ای وابسته به زمان و غلظت به صورت معناداری بر سلول‌های 4T1 اثر می‌گذارد، به طوری که با افزایش مدت زمان تیمار با نانوکورکومین و نیز بالا

فرمولاسیونی امن با جذب سلولی بالا، اثرات ضد توموری قوی، پایداری بالا، قابلیت دستکاری منومورهای آن و سهولت تولید برخوردار است [۲۰]. در مطالعه حاضر که تاثیر نانوکورکومین دندروزومی بر رشد و تکثیر دو رده سلولی مورد بررسی قرار گرفت،



نمودار ۲: مقایسه نتایج آزمون MTT در گروه تست نانوکورکومین دندروزومی و گروه کنترل دوکسوروبیسین بر سلول‌های سرطانی 4T1 و سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF در بازه زمانی ۴۸ ساعت. نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش نشان داد که DNC در غلظت 25 تا $40 \mu\text{M}$ به صورت معنی‌داری بر سلول‌های سرطانی 4T1 تاثیر می‌گذارد؛ در صورتی که در همین غلظت برای سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF سمی نیست. دوکسوروبیسین در غلظت‌های 20 تا $40 \mu\text{M}$ کاهش معناداری بر سلول‌های سرطانی 4T1 و سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF نشان داد. * نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میزان اختلاف ($p < 0.05$) می‌باشد.



نمودار ۳: مقایسه نتایج آزمون MTT در گروه تست نانوکورکومین دندروزومی و گروه کنترل دوکسوروبیسین بر سلول‌های سرطانی 4T1 و سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF در بازه زمانی ۷۳ ساعت. نتایج نشان داد که DNC در غلظت ۱۵ تا ۴۰ μM به صورت معناداری بر سلول‌های سرطانی 4T1 تاثیر می‌گذارد؛ در صورتی که در همین غلظت برای سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF سمی نیست. دوکسوروبیسین در غلظت‌های ۱۰ تا ۴۰ μM کاهش معنی‌داری بر سلول‌های سرطانی 4T1 و سلول‌های نرمال فیبروبلاستی رده موشی MEF نشان داد. نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان داد که نانوکورکومین دندروزومی به شیوه وابسته به زمان به صورت معنی‌داری بر سلول‌های سرطانی 4T1 تاثیر می‌گذارد، به طوری که با افزایش مدت زمان تیمار با DNC غلظت حد واسط کشنده مورد استفاده از این ترکیب به طور چشمگیری کاهش می‌یابد. * نشان دهنده معنی‌دار بودن میزان اختلاف ($p < 0.05$) می‌باشد.

نشان نداده بلکه باعث افزایش رشد نسبی و تکثیر آن‌ها نیز می‌شود که تأییدی بر یافته‌های قبلی در این زمینه می‌باشد [۲۱]. با این حال دندروزوم در غلظت‌های بالاتر برای رده‌های سلولی نرمال و توموری 4T1 سمی بود. اثر سمیت سلولی نانوکورکومین دندروزومی بر روی رده سلولی متاستاتیک پستان دارای الگوی مشابه داروی دوکسوروبیسین بوده ولی سمیت کمتری بر روی سلول‌های نرمال در مقایسه با سمیت دوکسوروبیسین از خود نشان داد که می‌توان بر این اساس، در آینده از نانوکورکومین دندروزومی به جای دوکسوروبیسین در درمان سرطان استفاده نمود. مطالعات تکمیلی و شناخت مسیرهای سیگنالینگ جهت روشن شدن نقش این نانوذره در حال پی‌گیری و انجام می‌باشد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر با حمایت مالی و معنوی دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه گیلان انجام گرفته است که نویسندگان بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه‌های مذکور ابراز می‌دارند.

منابع

1. Yao ES, Zhang H, Chen YY, Lee B, Chew K,

رفتن غلظت مورد استفاده از این ترکیب، میزان رشد و بقای سلول‌های 4T1 به طور چشم‌گیری کاهش می‌یابد (نمودار ۱ و ۲). بنابراین نانوکورکومین دندروزومی موجب کاهش چشمگیر توانایی زیستی سلول‌های سرطانی می‌شود. نتایج حاصل از تاثیر نانوکورکومین دندروزومی بر سلول‌های فیبروبلاست پوست نرمال MEF نشان داد که سلول‌های نرمال فیبروبلاست پوست نیز همانند سلول‌های سرطانی از نانوکورکومین دندروزومی تاثیر می‌پذیرند اما تاثیر کشنده دارو بر روی این سلول‌ها در غلظت‌های بالاتر یا بازه‌های زمانی بیشتر تیمار حادث می‌گردد (نمودار ۳). این امر مؤید این واقعیت است که در غلظت مهارتی نانوکورکومین دندروزومی بر سلول‌های سرطانی، تاثیر کشنده بر سلول‌های غیر سرطانی وجود ندارد. این داده‌ها نشان می‌دهد که چنانچه نانوکورکومین دندروزومی در سطح کلینیکی استفاده شود، تاثیرات جانبی زیادی، سلول‌های نرمال را تهدید نخواهد کرد. در مطالعه حاضر هم چنین تاثیر دندروزوم و کورکومین آزاد نیز بر روی هر دو رده سلولی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج به دست آمده حاکی از آن است که دندروزوم نه تنها تاثیری روی سلول‌های مورد آزمایش

- Moore D, et al. Increased beta1 integrin is associated with decreased survival in invasive breast cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 659-64.
2. Spellman P, Gray J. A new treasure in the breast cancer gene hunt. *Nat Med* 2011; 17: 422-3.
 3. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1-75.
 4. Aggarwal BB, Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical pharmacology* 2006; 71: 1397-421.
 5. Lin JK. Molecular targets of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 227-43.
 6. Varalakshmi C, Ali AM, Pardhasaradhi BV, Srivastava RM, Singh S, Khar A. Immunomodulatory effects of curcumin: in-vivo. *Int Immunopharmacol* 2008; 8: 688-700.
 7. Yang KY, Lin LC, Tseng TY, Wang SC, Tsai TH. Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *Curcuma longa* by LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 853: 183-9.
 8. Sar Bolouki MN, Sadeghizadeh M, Yaghoubi MM, Karami A, Lohrasbi T. Dendrosomes: a novel family of vehicles for transfection and therapy. *J Chem Technol Biotechnol* 2000; 75: 919-22.
 9. Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Mouse 4T1 breast tumor model. *Current protocols in immunology* / edited by John E Coligan [et al] 2001; Chapter 20: Unit 20.2.
 10. Tahmasebi Mirgani M, Isacchi B, Sadeghizadeh M, Marra F, Bilia AR, Mowla SJ, et al. Dendrosomal curcumin nanoformulation downregulates pluripotency genes via miR-145 activation in U87MG glioblastoma cells. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 403-17.
 11. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65: 55-63.
 12. Kupcsik L. Estimation of cell number based on metabolic activity: the MTT reduction assay. *Mammalian Cell Viability*: Springer; 2011 13-9.
 13. Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004; 44: 97-111.
 14. Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1955-68.
 15. Bengmark S. Curcumin, an atoxic antioxidant and natural NFkappaB, cyclooxygenase-2, lipooxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: a shield against acute and chronic diseases. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2006; 30: 45-51.
 16. Duvoix A, Morceau F, Delhalle S, Schmitz M, Schnekenburger M, Galteau MM, et al. Induction of apoptosis by curcumin: mediation by glutathione S-transferase P1-1 inhibition. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1475-83.
 17. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* 2005; 223: 181-90.
 18. Thangapazham RL, Sharma A, Maheshwari RK. Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin. *AAPS J* 2006; 8: E443-9.
 19. Kelloff GJ, Crowell JA, Steele VE, Lubet RA, Malone WA, Boone CW, et al. Progress in cancer chemoprevention: development of diet-derived chemopreventive agents. *J Nutr* 2000; 130: 467s-71s.
 20. 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.

