

اثرات محافظتی ترکیب کورکومین - دندروزوم بر سرطان کولون در موش صحرایی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۸/۱۱

چکیده

محمدنبی سربلوکی^۱
علی محمد علیزاده^{۲*}، محمود خانیکی^۳
صالح عزیزیان^۱، محمدعلی محقق^۲

۱- مرکز تحقیقات زیست‌مواد، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

زمینه و هدف: سرطان یک فرایند چند مرحله‌ای است که دوره شروع آن طولانی بوده و در ادامه سریع و پیش‌رونده می‌باشد. مطالعات گذشته اثر آنتی توموری کورکومین و عملکرد آن بر سلول‌های توموری را تایید کرده‌اند. روش‌های مختلفی برای افزایش کارایی و اثربخشی کورکومین صورت گرفته که یکی از آن‌ها، ساخت نانوذره دندروزوم توسط دکتر سربلوکی بوده است. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر محافظتی ترکیب کورکومین - دندروزوم بر سرطان کولون در مدل حیوانی طراحی شده است. **روش بررسی:** ۴۰ سر موش صحرایی نژاد فیشر به سه گروه کنترل، کورکومین و کورکومین - دندروزوم تقسیم شدند. کلیه حیوانات داروی کارسینوژنیک آزوکسی متان (۱۵ mg/kg s.c.) هفته‌ای یک‌بار و به مدت دو هفته دریافت کردند. حیوانات در گروه‌های کورکومین و کورکومین - دندروزوم از دو هفته قبل از تزریق آزوکسی متان تا ۱۴ هفته بعد از آخرین تزریق آن، به ترتیب کورکومین ۰/۲٪ و ترکیب کورکومین - دندروزوم دریافت نمودند. در پایان مطالعه، کولون حیوانات خارج و تحت مطالعه هیستوپاتولوژی و ایمونوهیستوشیمی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** میانگین تعداد ضایعات، نسبت هسته به سیتوپلاسم، عدم پولاریته هسته‌ای، کاهش سلول‌های گابلت و ناهنجاری ساختاری و نیز بیان بتا-کاتنین در گروه کنترل بالا بود اما در گروه‌های تیمار با کورکومین و ترکیب کورکومین - دندروزوم نسبت به گروه کنترل کم‌تر شد به طوری که به شکل معنی‌داری در گروه ترکیبی به شدت کاهش پیدا کرد ($P < 0/05$). **نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد دندروزوم به‌عنوان یک نانوذره مناسب جهت افزایش کارایی کورکومین در پیشگیری سرطان کولون می‌تواند به‌کار رود.

کلمات کلیدی: کورکومین، دندروزوم، سرطان کولون، موش صحرایی.

* نویسنده مسئول: تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، انستیتو سرطان ایران، مرکز تحقیقات سرطان
تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۹۲۵۰۱
E-mail: aalizadeh@razi.tums.ac.ir

مقدمه

به‌طور ذاتی توانایی تعدیل این مسیرها و در نتیجه درمان یا تاخیر فرایند سرطان‌زایی را در گونه‌های مختلف دارند.^{۱،۲} کورکومین (Turmeric) (یا همان زردچوبه در زبان فارسی با فرمول 1,7-bis[4-(hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion] زرد رنگ، مولکول فلورسنت هیدروفوبیک و خیلی سریع می‌تواند وارد غشای سلول شود. شواهد بسیار محکمی اثر آنتی توموری کورکومین و عملکرد آن بر روی سلول‌های توموری را تایید کرده‌اند.^{۳،۴} مطالعات In vivo و In vitro زیادی نشان داده‌اند که کورکومین سرطان را در سه مرحله پیشرفت، رگ‌زایی (آنژیوژنز) و رشد تومور می‌تواند مهار

سرطان یک فرایند چند مرحله‌ای می‌باشد که دوره شروع آن طولانی بوده و در ادامه سریع و پیش‌رونده می‌باشد. هدف اصلی در پیشگیری سرطان توسط مواد طبیعی یا سنتتیک کند کردن، مهار و یا معکوس کردن فرایند سرطان‌زایی می‌باشد.^۱ این نگرش به‌طور هدف‌مند روی مسیرهای داخل سلولی غیرطبیعی که موجب عملکرد غیرطبیعی سلولی شده‌اند، متمرکز می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، برخی ترکیبات غذایی طبیعی نظیر کورکومین (Curcumin)

روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت تجربی- پژوهشی در مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی تهران از شهریورماه سال ۱۳۸۸ تا اسفندماه سال ۱۳۸۹ انجام گرفت. مطالعه بر روی ۴۰ سر موش‌های صحرایی نر نژاد فیشر (تهیه شده از موسسه تحقیقات پاستور) با سن سه هفته و نگهداری در دمای °C ۲۵-۲۳ و رطوبت ۵۰ درصد و با ۱۲ ساعت سیکل روشنایی- تاریکی انجام شد. کلیه اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

گروه‌های مورد مطالعه: حیوانات به سه گروه: کنترل (n=۱۰)، کورکومین ۰/۲٪ (n=۱۵) و کورکومین- دندروزوم (n=۱۵) تقسیم شدند. بعد از سه هفته سازگاری حیوانات با محیط جدید، کلیه حیوانات در هفته‌های هفتم و هشتم، داروی آزوکسی متان به صورت زیرجلدی با دوز ۱۵mg/kg، هفته‌ای یکبار و به مدت دو هفته دریافت کردند.^{۱۲} جهت بررسی اثرات محافظتی ترکیب کورکومین- دندروزوم، تغذیه حیوانات با ترکیبات فوق از هفته چهارم تا هفته ۲۲ (۱۴ هفته بعد از آخرین تزریق آزوکسی متان) ادامه داشت. لازم به ذکر است که ترکیب کورکومین- دندروزوم به راحتی در آب محلول بوده ولی کورکومین ابتدا در محلول بافر فسفات حل گردیده سپس به آب آشامیدنی حیوانات اضافه شد. در پایان هفته ۲۲، کلیه حیوانات اتانازی شده و کولون تحت مطالعه هیستوپاتولوژی قرار گرفت.

ارزیابی مطالعه: در پایان مطالعه، بعد از کشتن حیوان با اتر، شکم حیوان باز شده و روده‌ها به طور کامل خارج گردید. سپس کولون را به صورت طولی باز کرده و با نرمال سالین شستشو داده شد. پس از آن روده‌ها و سایر ارگان‌ها مثل کبد، ریه و کلیه به صورت ماکروسکوپی از نظر داشتن تومور بررسی شدند. در پایان برای بررسی هیستوپاتولوژی، قسمت‌های مختلف کولون را در فرمالین ۱۰ درصد فیکس کرده و جهت انجام برش در بلوک‌های پارافین قالب‌گیری شد. سپس از هر بلوک حداقل دو برش تمام سطح تهیه گردیده و بعد از رفت حدود یک میلی‌متر از بافت، مجدداً دو برش دیگر تهیه شده و مورد رنگ‌آمیزی به روش همتوکسیلین- اتوزین قرار گرفتند. لام‌ها توسط میکروسکوپ OLYMPUS-BX51 مورد مطالعه قرار گرفته و از سطح مقطع کامل برش، عکس‌های دیجیتالی

کند.^۴ کورکومین می‌تواند اثر مهار سرطان‌زایی را بر روی رده‌های سلولی سینه، تخمدان، کولون، کبد، لوسمی، پانکراس و پروستات داشته باشد. اثر کورکومین بر آپوپتوز بر رده‌های مختلف سلول توموری ثابت شده می‌باشد.^{۵،۶} بر اساس مطالعات انجام شده مقدار خوراکی کورکومین می‌تواند تا ۸۰۰ میلی‌گرم روزانه افزایش داده شود بدون آن‌که اثر توکسیسیتی بر بدن داشته باشد.^۱ مطالعات گذشته نشان دادند که زمان احتباس کورکومین در نتیجه دفع سریع آن در بدن کوتاه است بنابراین اثرات درمانی کورکومین در نتیجه احتباس کوتاه آن در گردش خون محدود می‌شود.^۷ روش‌های مختلفی برای افزایش کارایی و اثربخشی کورکومین صورت گرفته که یکی از آن‌ها، ساخت نانوپارتیکل مخصوص (دندروزوم) توسط Sarbolouki بوده است.^۸ در حال حاضر تعدادی از حاملین ژن‌های غیر ویروسی قابل دسترسی و یا در حال توسعه هستند. مهم‌ترین عوامل مورد نیاز برای یک حامل مناسب، شامل آماده‌سازی آسان، سایز کوچک، بار الکتریکی مثبت، قابل حذف شدن با محیط زیستی، سمی نبودن، قابلیت زنده ماندن پوسته آن و کاربرد آسان آن می‌باشد.^۹ داده‌های تجربی ما نشان داد که دندروزوم‌ها دارای خصوصیات مورد نیاز یک حامل مناسب می‌باشند.^۸ نتایج میکروسکوپی هم‌کانونی نشان داد که دندروزوم‌ها نانوذره‌هایی (با اندازه ۱۰۰-۱۰ نانومتر) هستند که به علت اندازه کوچکشان به راحتی درون باکتری‌های میزبان به اندازه ۴۰۰۰-۱۰۰ نانومتر جای می‌گیرند. با توجه به این‌که دندروزوم‌ها به شکل مواد طبیعی به درون سلول‌های مختلف انتقال ژنی را انجام می‌دهند، کارایی آن‌ها را قابل ملاحظه می‌کند.^{۱۰} نتایج توکسیسیتی در مطالعات کشت سلول و مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد که دندروزوم‌ها خنثی بوده، در واقع بسیار جالب است که در غلظت‌های بالا به طور باور نکردنی هیچ علائمی از اثرات مخرب را نشان نمی‌دهند.^{۱۱} در مطالعات زیادی که توسط Sadeghizadeh در دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفته، اثربخشی ترکیب کورکومین- دندروزوم در محیط *In vitro* بر رده‌های مختلف سلولی مختلف مطالعه شد و نتایج قابل توجهی گرفته شد که نشان‌دهنده اثربخشی ترکیب کورکومین- دندروزوم نسبت به کورکومین تنها در محیط کشت می‌باشد (تحت داوری). لذا پیرو مطالعات همکاران در دانشگاه تهران و دانشگاه تربیت مدرس، مطالعه حاضر جهت بررسی اثرات محافظتی ترکیب کورکومین- دندروزوم بر سرطان کولون در مدل حیوانی طراحی شده است.

با کمک دوربین OLYMPUS-DP12 تهیه شدند.

مطالعه بافت‌شناسی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین: قطعات رنگ‌آمیزی شده از لحاظ میزان غیرطبیعی بودن بافت درجه‌بندی شدند، که این غیرطبیعی بودن با پنج پارامتر ذیل، به‌عنوان خصوصیات و ویژگی‌های دیسپلازی و نوپلازی کولونی، امتیازدهی شدند:

- ۱- نسبت هسته به سیتوپلاسم (۰: 0.25، ۱: $0.25-0.50$، ۲: 0.50)،
- ۲- استراتیفیکشن اپیتلیال (۰: پوشش تک‌لایه و فقدان استراتیفیکشن، ۱: استراتیفیکشن متوسط، ۲: استراتیفیکشن شدید)، ۳- عدم پولاریته هسته‌ای (۰: پولاریتی مناسب هسته‌ها، ۱: پولاریتی متوسط هسته، ۲: پولاریتی کاملاً به‌هم ریخته)، ۴- کاهش سلول‌های گابلت (۰: محتوی گابلت طبیعی، ۱: فقدان متوسط سلول‌های گابلت، ۲: فقدان شدید سلول‌های گابلت)، ۵- ناهنجاری ساختاری (۰: ساختار حفظ‌شده، ۱: به‌هم ریختگی متوسط، ۲: به‌هم ریختگی شدید).

در ادامه حداقل چهار برش از هر نمونه، مورد آزمایش قرار گرفته که جمع امتیازهای هر کدام از این نمونه‌ها جهت تعیین ناهنجاری بافت استفاده گردید. معمولاً سرطان‌های کولون حداکثر نمره ۱۰ را می‌گیرند و کریپت‌های کولون نرمال امتیاز صفر را کسب نمودند.^{۱۳}

مطالعه ایمنو‌هیستوشیمی: برای بررسی بیان پروتئین‌های Bax و بتا-کاتنین از روش ایمنو‌هیستوشیمی طبق سفارش شرکت سازنده کیت آنتی‌بادی اولیه و ثانویه (Santa cruz) به‌شرح زیر استفاده گردید: برش‌های پنج میکرومتری ابتدا پارافین‌گیری، آب‌دهی و سپس با محلول سه درصد پراکسید هیدروژن انکوبه شدند. بازیابی آنتی‌ژن‌ها با قراردادن نمونه‌ها در بافر سیترات (PH=۶) در دمای ۹۸ °C به‌مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. در مرحله بعد نمونه‌ها با آنتی‌بادی اولیه مونوکلونال Bax (SC-7480, Santa cruz) و بتا-کاتنین با غلظت ۱/۱۰۰ در دمای ۴ °C به‌مدت یک شب انکوبه شدند. بعد از شست و شو با بافر فسفات، آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه به آنزیم پراکسیداز Bax (SC-7480, Santa cruz) و بتا-کاتنین به نمونه‌ها اضافه شد. پس از شست و شو با بافر فسفات، نمونه‌ها در معرض سوبسترای دی‌آمینوبنزدین برای هشت دقیقه قرار گرفتند. محل‌های حاوی پروتئین Bax و بتا-کاتنین در این مرحله به رنگ قهوه‌ای در می‌آیند. رنگ‌آمیزی افتراقی با هماتوکسیلین هریس صورت گرفت و لام‌ها مونته شدند.^{۱۴} برای تفسیر نتایج از روش استاندارد نیمه کمی H-score طبق فرمول زیر استفاده شد: $H\text{-score} = \sum_{i=1}^n P_i(i+1)$ که در آن i

معادل شدت رنگ‌پذیری (رنگ‌پذیری شدید = ۳، رنگ‌پذیری متوسط = ۲، رنگ‌پذیری ضعیف = ۱، عدم رنگ‌پذیری = ۰) و Pi معرف درصد سلول‌های رنگ گرفته است. جهت آنالیز آماری داده‌ها از SPSS ویراست ۱۶ استفاده گردید. برای مقایسه داده‌های کمی بین گروه‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین \pm میانگین خطای استاندارد نشان داده شده است.

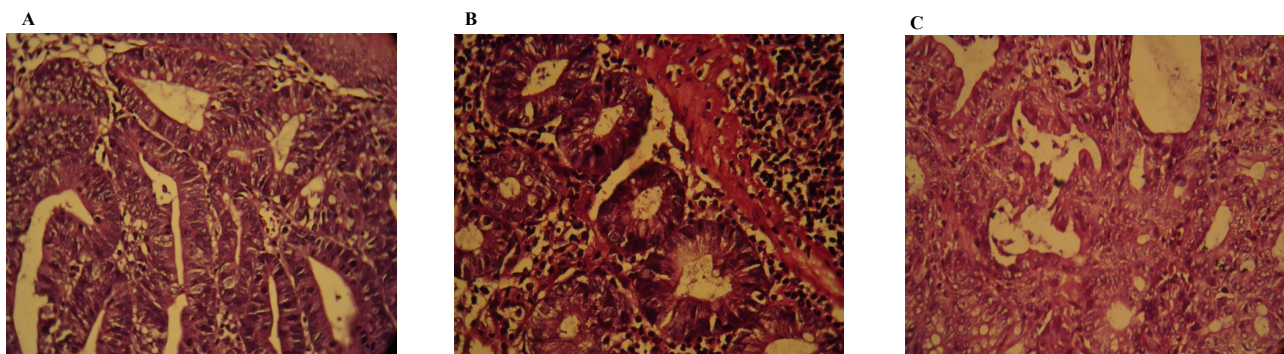
یافته‌ها

در مقاطع بافتی که به‌روش رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-اوتوزین تهیه شده بودند (جدول ۱) در گروه کنترل سلول‌های دیس‌پلاستیک، نوپلاستیک و کریپت‌های غیرعادی مشاهده گردیدند که نشان‌گر تاثیر سرطان‌زایی ماده آزوکسی متان می‌باشد (شکل ۱). هم‌چنین میانگین تعداد ضایعات، نسبت سیتوپلاسم به هسته، استراتیفیکشن اپیتلیال، عدم پولاریته هسته‌ای، کاهش سلول‌های گابلت و ناهنجاری ساختاری در گروه‌های تیمار با کورکومین و ترکیب کورکومین-دندروزم نسبت به گروه کنترل کم‌تر بوده در

جدول ۱- شاخص‌های هیستوپاتولوژی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین

شاخص	گروه کنترل	کورکومین	کورکومین-دندروزم
تعداد حیوانات	۱۰	۱۵	۱۵
تعداد ضایعه	۲/۵±۱/۷	*۱/۵۳±۰/۹۱	*۰/۵۷±۰/۵
نسبت هسته به سیتوپلاسم	۱/۵±۰/۵۳	۱/۲۷±۰/۴۶	*۰/۸۶±۰/۳۶
استراتیفیکشن اپیتلیال	۱/۴±۰/۵۲	*۰/۹۳±۰/۶	*۰/۴۳±۰/۵۱
عدم پولاریته هسته‌ای	۱/۳±۰/۴۸	۱/۰۷±۰/۵۹	*۰/۵۷±۰/۵۱
کاهش سلول‌های گابلت	۱/۵±۰/۵۳	۱/۲۷±۰/۷	*۰/۹۳±۰/۶۲
ناهنجاری ساختاری	۱/۴±۰/۵۲	۱/۰۷±۰/۷	*۰/۶۴±۰/۷۵

داده‌ها: میانگین \pm میانگین خطای استاندارد. مشاهده درجات ناهنجاری‌های بافت‌شناسی: نیمه کیفی. شاخص‌های امتیازدهی: ۱- نسبت هسته به سیتوپلاسم (۰: 0.25، ۱: $0.25-0.50$، ۲: 0.50)، ۲- استراتیفیکشن اپیتلیال (۰: فقدان، ۱: متوسط، ۲: شدید)، ۳- عدم پولاریته هسته‌ای (۰: مناسب، ۱: متوسط، ۲: کاملاً به‌هم ریخته)، ۴- کاهش سلول‌های گابلت (۰: طبیعی، ۱: فقدان متوسط، ۲: فقدان شدید)، ۵- ناهنجاری ساختاری (۰: ساختار حفظ‌شده، ۱: به‌هم ریختگی متوسط و ۲: شدید). * $P < 0.05$ (مقایسه با گروه کنترل) معنی‌دار.



شکل ۱: نمای بافت‌شناسی از ضایعات با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین و متوسط امتیازهای ناهنجاری‌ها

A- گروه کورکومین با نمره ۶ (نسبت هسته به سیتوپلاسم = ۱، استراتیفیکشن اپیتلیال = ۰، فقدان پولاریته هسته‌ای = ۱، کاهش سلول‌های گابلت = ۲ و ناهنجاری ساختاری = ۲)، B- گروه ترکیب کورکومین- دندروزوم با نمره ۵ (نسبت هسته به سیتوپلاسم = ۱، استراتیفیکشن اپیتلیال = ۱، فقدان پولاریته هسته‌ای = ۱، کاهش سلول‌های گابلت = ۱ و ناهنجاری ساختاری = ۱)، C- گروه کنترل با نمره ۹ (نسبت هسته به سیتوپلاسم = ۲، استراتیفیکشن اپیتلیال = ۱، فقدان پولاریته هسته‌ای = ۲، کاهش سلول‌های گابلت = ۲ و ناهنجاری ساختاری = ۲) (H&E x400).

بحث

مطالعه حاضر نشان داده است که میانگین تعداد ضایعات، نسبت هسته به سیتوپلاسم، استراتیفیکشن اپیتلیال، عدم پولاریته هسته‌ای، کاهش سلول‌های گابلت و ناهنجاری ساختاری و نیز بیان بتا- کاتنین در گروه کنترل بالا بوده و بیان‌گر اثربخشی داروی سرطان‌زای آزوکسی متان در کولون موش صحرایی می‌باشد اما این پارامترها در گروه‌های تیمار با کورکومین و ترکیب کورکومین- دندروزوم نسبت به گروه کنترل کم‌تر شده است به طوری که به شکل معنی‌داری در گروه کورکومین- دندروزوم به شدت کاهش پیدا کرده است نشانه کارایی نانوپارتنیکل دندروزوم به عنوان حامل مناسب در اثربخشی کورکومین در پیشگیری از سرطان کولون در موش صحرایی می‌باشد. مطالعات گذشته نشان دادند که بتا- کاتنین یک مولکول اصلی در مسیر پیام‌رسانی داخل سلولی به عنوان یک عامل مهم در سرطان‌زایی دستگاه گوارش نظیر معده و کولون شناخته شده است و نیز ارتباط بین تراکم بتا- کاتنین هسته‌ای و شدت بیماری نشان داده است.^{۱۵،۱۶} Wanitsuan نشان داد که پیدایش بیش از حد بتا- کاتنین به صورت تجمع هسته‌ای در پیشگویی نتایج سرطان‌های کولورکتال بسیار حایز اهمیت است.^{۱۷} هم‌چنین از یافته‌های Korinek چنین بر می‌آید که بتا- کاتنین در رشد نئوپلاستیک کولون دخیل می‌باشد.^{۱۸} نتایج مطالعات

جدول ۲: شاخص‌های ایمنو‌هیستوشیمی

شاخص	گروه	کنترل	کورکومین	کورکومین- دندروزوم
تعداد حیوانات		۱۰	۱۵	۱۵
بتا- کاتنین		۲/۵±۰/۵۵	*۱/۵۵±۰/۵	*۱/۱±۰/۷
Bax		۰/۴±۰/۲	*۰/۸±۰/۳	*۱/۲±۰/۳۵

داده‌ها: میانگین ± میانگین خطای استاندارد. امتیازدهی طبق فرمول ذیل: $H\text{-score} = \sum_{i=1}^n P_i(i+1)$ ، معادل شدت رنگ‌پذیری (شدید = ۳، متوسط = ۲، ضعیف = ۱، عدم رنگ‌پذیری = ۰) و P_i درصد سلول‌های رنگ گرفته. * $P < 0.05$ (مقایسه با گروه کنترل) معنی‌دار.

صورتی‌که به‌طور معنی‌داری در گروه ترکیب کورکومین- دندروزوم به شدت کاهش پیدا کرده است (جدول ۱، شکل ۱).

در مطالعه ایمنو‌هیستوشیمی، میزان بیان پروتیین بتا- کاتنین در گروه تیمار با ترکیب کورکومین- دندروزوم نسبت به گروه‌های کنترل و کورکومین به شدت کاهش پیدا کرده است که نشانه اثربخشی این ترکیب در پیشگیری از سرطان کولون در مدل حیوانی می‌باشد (جدول ۲). هم‌چنین درصد بیان پروتیین Bax به عنوان یک پروتیین پروآپتوتیک در گروه‌های کورکومین و ترکیب کورکومین- دندروزوم نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است (جدول ۲).

می‌شود.^{۲۷} هم‌چنین در مطالعه دیگر Yallap نشان داد که اثرات درمانی کورکومین روی سلول‌های سرطانی متاستاتیک بعد از کپسول‌دار نمودن آن با نانوپارتيكل‌های PLGA افزایش می‌یابد.^{۲۸} به‌تازگی Mohanty و Sahoo نشان دادند که نیمه عمر کورکومین در نتیجه کپسول‌دار نمودن آن با گلیسرول منولیت نیز افزایش می‌یابد.^{۲۹} مطالعات مشابه دیگر نشان دادند که اثرات کورکومین لود شده با فیبرینژن موجب افزایش درمانی آن در محیط آزمایشگاهی می‌گردد.^{۳۰} هم‌چنین در مطالعات *In vivo* نشان داده شد که کپسول‌دار نمودن کورکومین جهت تشکیل میسل موجب افزایش خاصیت ضدسرطانی آن بر سرطان کولون می‌گردد^{۳۱} و نیز ساخت نانوپارتيكل کورکومین با کیتوسان موجب افزایش کارایی آن بر سرطان کبد شده است.^{۳۲} نتایج بیان و ترانس‌فیکشن به‌طور واضح نشان می‌دهد که دندروزوم‌ها در مقادیر خیلی کم و ناچیز عملکرد کافی را دارند. این موضوع در کنار قابلیت تخریب‌پذیری آن‌ها در محیط زیست، نشان می‌دهد که دندروزوم‌ها حاملین بسیار منحصراً به‌فرد و جذاب هستند.^۱ بنابر مواردی که در زیر بیان می‌شود دندروزوم‌ها به‌عنوان حاملین ژنی یا دارویی به درون سلول‌های میزبان و مدل‌های حیوانی پیشنهاد می‌شوند: قابلیت تخریب‌پذیری در محیط زیست، ارزان، خنثی، غیرسمی بودن آن‌ها و مساعد برای کاربر می‌باشد، ترکیب آن‌ها با DNA یا یک عامل دارویی ترکیب ساختمانی ضعیفی را ایجاد می‌کند که می‌تواند به‌آسانی از DNA یا عامل دارویی جدا و آن را در سلول آزاد، دندروزوم‌ها کفایت بسیار بالا و قابلیت انجام کار در مقدار بسیار کم در نسبت Den/DNA دارند. در مقایسه با بعضی از محصولات تجاری و میزبان‌های باکتریایی کاملاً خوب و کارآمد عمل می‌کنند و احتمالاً ساده‌ترین و بهترین حامل‌های ژنی و دارویی قابل دسترس هستند. حیواناتی که تنها یک‌بار با ترکیب ساده که شامل نسبت بسیار اندک Den/DNA تزریق شده‌اند، ایمونیزاسیون طولانی‌مدت را توسعه می‌دهند. تجربیات پنج‌ساله، ثابت کرده علی‌رغم زیست تخریب‌پذیری آن‌ها، دندروزوم‌ها نه تنها در محیط خشک، بلکه در مایعات با دمای پایین نیز مقاوم و پایدار می‌باشند.^{۱۱} بنابراین مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تا حدودی مشکل اصلی در جذب کورکومین می‌توان با الحاق نانوپارتيكل‌های مناسب نظیر دندروزوم به آن برطرف شود و راه کار بسیار مهم و مطمئن در مصرف این فرآورده طبیعی و ارزان‌قیمت در پیشگیری و درمان

گذشته با اثرات داروی سرطان‌زای آزوکسی متان در مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. تحقیقات متعدد نشان داده‌اند که کورکومین از ایجاد سلول‌های توموری جلوگیری نموده و سرعت رشد و پیشرفت بسیاری از سرطان‌ها را کاهش می‌دهد. نشان داده شده است که کورکومین در دوزهای خاص باعث القای آپوپتوزیس در بسیاری از سلول‌های سرطانی شده است. میتوکندری‌ها نقش مهمی در پروليفراسيون سلول‌ها و آپوپتوزيس دارند. کورکومین روی آزاد شدن سيتوکروم C از میتوکندری، تولید رادیکال‌های آزاد و ثبات P53 موثر بوده و بدین ترتیب اثرات آپوپتوتیک خود را نشان می‌دهد. هم‌چنین کورکومین باعث افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری‌ها می‌شود و نظیر سایر مهارکننده‌های پروتازوم روی سلول‌های در حال پروليفراسيون اثر قوی‌تری نسبت به سلول‌های تمایز یافته دارد. کورکومین با مهار آنژیوژنز بافت سرطانی، باعث کاهش رشد سلول‌های سرطانی شده و هم‌چنین فعالیت تلومرازی را در این سلول‌ها کاهش می‌دهد. این ماده با مهار فاکتور رشد سلول‌های اندوتلیال عروقی و گیرنده اختصاصی آن (آنژیوپوتنتین) از آنژیوژنز و تشکیل عروق خونی جدید در سلول‌های توموری جلوگیری نموده و رشد آن‌ها را متوقف می‌کند.^{۱۹-۲۴} به‌طور کلی کورکومین دارای اثرات ضدالتهابی و ضدسرطانی بوده و این اثرات به‌طور عمده به‌خاطر اثرات آنتی‌اکسیدانی و تاثیر آن روی آنزیم‌های سلولی، مهار مسیرهای ارسال سیگنال در سطوح مختلف، آنژیوژنز و چسبندگی سلول‌هاست. با توجه به تاثیر کورکومین روی نسخه‌برداری ژن‌ها و القای آپوپتوزيس به‌نظر می‌رسد که بتوان از آن در پیشگیری و شیمی‌درمانی سرطان استفاده نمود.^{۲۵} مشکل اصلی در استفاده از کورکومین، جذب و حذف سریع آن در بدن بوده^۶ لذا روش‌های مختلفی برای افزایش کارایی و اثربخشی آن صورت گرفته که یکی از آن‌ها، ساخت حامل نانوپارتيكل مخصوص (دندروزوم) توسط Sarbolouki بوده است.^۸ مطالعات زیادی جهت افزایش کارایی کورکومین انجام شده است. Anand نشان داد که سیستم‌های رهایشی نانوپارتيكل‌های پلی‌استری برای ترکیبات هیدروفوب و افزایش دست‌یابی عوامل کم محلول در آب نظیر کورکومین مناسب می‌باشند.^{۲۶} در سال ۲۰۱۰ نشان داد که کورکومین کپسول‌دار شده با نانوذره Poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) در محیط *In vitro* موجب مهار رشد سلول‌های سرطانی، در نتیجه افزایش بازجذب این نانوذره توسط سلول‌های سرطانی

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی اثرات نانوپارتیکل کورکومین- دندروزومی بر سرطان کولون در مدل حیوانی" مصوب مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۳۸۷ به کد ۳۵۶۲ می‌باشد که با حمایت مالی شبکه ملی تحقیقات سرطان و خیریه مرحومه سهرابی اجرا شده است.

بیماری‌های صعب‌العلاج می‌باشد و بایستی افراد را به مصرف این مواد ترغیب نمود. مطالعات تکمیلی و شناخت مسیرهای سیگنالینگ جهت روشن شدن نقش این نانوذره در حال پی‌گیری و انجام می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد دندروزوم به‌عنوان یک نانوپارتیکل مناسب جهت افزایش کارایی کورکومین در پیشگیری و درمان سرطان کولون می‌تواند به‌کار رود.

References

- Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007;595:1-75.
- Aggarwal BB, Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 2006;71(10):1397-421.
- Lin JK. Molecular targets of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 2007;595:227-43.
- Varalakshmi Ch, Ali AM, Pardhasaradhi BV, Srivastava RM, Singh S, Khar A. Immunomodulatory effects of curcumin: In-vivo. *Int Immunopharmacol* 2008;8(5):688-700.
- Khar A, Ali AM, Pardhasaradhi BV, Varalakshmi CH, Anjum R, Kumari AL. Induction of stress response renders human tumor cell lines resistant to curcumin-mediated apoptosis: role of reactive oxygen intermediates. *Cell Stress Chaperones* 2001;6(4):368-76.
- Johnson JJ, Mukhtar H. Curcumin for chemoprevention of colon cancer. *Cancer Lett* 2007;255(2):170-81.
- 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(1-2):183-9.
- Sarbolouki MN, Sadeghzadeh M, Yaghoobi MM, Karami A, Lohrasbi T. Dendrosomes: a novel family of vehicles for transfection and therapy. *J Chem Technol Biotechnol* 2000;75(10):919-22.
- Ledley FD. Nonviral gene therapy: the promise of genes as pharmaceutical products. *Hum Gene Ther* 1995;6(9):1129-44.
- Sadeghzadeh M, Ranjbar B, Damaghi M, Khaki L, Sarbolouki MN, Najafi F, et al. Dendrosomes as novel gene porters-III. *J Chem Technol Biotechnol* 2008;83(6):912-20.
- 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(1):105-9.
- Rao CV, Tokumo K, Rigotty J, Zang E, Kelloff G, Reddy BS. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary administration of piroxicam, alpha-difluoromethylornithine, 16 alpha-fluoro-5-androsten-17-one, and ellagic acid individually and in combination. *Cancer Res* 1991;51(17):4528-34.
- Takahashi M, Mutoh M, Kawamori T, Sugimura T, Wakabayashi K. Altered expression of beta-catenin, inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000;21(7):1319-27.
- Yamada Y, Yoshimi N, Hirose Y, Matsunaga K, Katayama M, Sakata K, et al. Sequential analysis of morphological and biological properties of beta-catenin-accumulated crypts, provable premalignant lesions independent of aberrant crypt foci in rat colon carcinogenesis. *Cancer Res* 2001;61(5):1874-8.
- Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000;14(15):1837-51.
- Oyama T, Yamada Y, Hata K, Tomita H, Hirata A, Sheng H, et al. Further upregulation of beta-catenin/Tcf transcription is involved in the development of macroscopic tumors in the colon of ApcMin/+ mice. *Carcinogenesis* 2008;29(3):666-72.
- Wanitsuwan W, Kanngurn S, Boonpipattanapong T, Sangthong R, Sangkhathat S. Overall expression of beta-catenin outperforms its nuclear accumulation in predicting outcomes of colorectal cancers. *World J Gastroenterol* 2008;14(39):6052-9.
- Korinek V, Barker N, Morin PJ, van Wichen D, de Weger R, Kinzler KW, et al. Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma. *Science* 1997;275(5307):1784-7.
- Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004;44(2):97-111.
- Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer* 2005;41(13):1955-68.
- Bengmark S. Curcumin, an 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(1):45-51.
- 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(8):1475-83.
- Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* 2005;223(2):181-90.
- Thangapazham RL, Sharma A, Maheshwari RK. Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin. *AAPS J* 2006;8(3):E443-9.
- 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(2S Suppl):467S-71S.
- Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm* 2007;4(6):807-18.
- 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(3):330-8.
28. Yallapu MM, Gupta BK, Jaggi M, Chauhan SC. Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. *J Colloid Interface Sci* 2010;351(1):19-29.
29. Mohanty C, Sahoo SK. The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. *Biomaterials* 2010;31(25):6597-611.
30. Rejinold NS, Muthunayanan M, Chennazhi KP, Nair SV, Jayakumar R. Curcumin loaded fibrinogen nanoparticles for cancer drug delivery. *J Biomed Nanotechnol* 2011;7(4):521-34.
31. Gou M, Men K, Shi H, Xiang M, Zhang J, Song J, et al. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy in vitro and in vivo. *Nanoscale* 2011;3(4):1558-67.
32. Duan J, Zhang Y, Han S, Chen Y, Li B, Liao M, et al. Synthesis and in vitro/in vivo anti-cancer evaluation of curcumin-loaded chitosan/poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles. *Int J Pharm* 2010;400(1-2):211-20.

Protective effect of dendrosomal curcumin combination on colon cancer in rat

Received: October 04, 2011 Accepted: November 02, 2011

Abstract

Mohammad Nabi Sarbolouki
Ph.D.¹
Ali Mohammad Alizadeh
Ph.D.^{2*}
Mahmod Khaniki M.D.³
Saleh Azizian M.D.²
Mohammad Ali Mohaghheghi
M.D.²

1- Zistmavad Research Center,
Tehran University, Tehran, Iran.
2- Cancer Research Center, Cancer
Institute, Tehran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Pathology, School
of Medicine, Tehran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background: Cancer is a multistep process that develops very rapidly after its onset. Previous studies have confirmed antitumor effects of curcumin (1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione; diferuloylmethane) that can potentially prevent colon cancer development with low side-effects. Different methods have been performed to increase the efficiency and effectiveness of curcumin among which dendrosome, a nanoparticle created by Sarbolouki et al. was used in this study. The present study was undertaken to evaluate the effects of dendrosomal curcumin on rat colon cancer.

Methods: In this study which was performed in Cancer Research Center of Tehran University of Medical Sciences in 2010 year, forty rats were equally divided into control, curcumin and curcumin-dendrosome groups. Animals received azoxymethane (15 mg/kg s.c.), a carcinogen, once a week for two weeks. Curcumin (0.2%) and curcumin-dendrosome were administered to the respective animals 2 weeks before the first and 14 weeks after the last azoxymethane injections. Eventually, colorectal specimens from tumoral and adjacent non-tumoral mucosal tissues were fixed in 10% formaldehyde, and passaged and embedded in paraffin. Histopathological and immunohistochemical studies were performed on the specimens.

Results: The mean number of lesions, nuclear/cytoplasmic ratio, epithelial stratification, loss of nuclear polarity, goblet depletion, structural abnormality and beta-catenin expression were higher in the control group compared to curcumin and curcumin-dendrosome groups. These parameters had significantly decreased in the dendrosomal curcumin group ($P < 0.05$).

Conclusion: The present study shows that dendrosome can be used as a suitable nanoparticle to increase curcumin efficiency in the prevention or treatment of colon cancer.

Keywords: Colon cancer, curcumin, dendrosome, rat.

* Corresponding author: Cancer Research Center, Cancer Institute of Iran, Imam Khomeini Hospital, Keshavarz Blvd., Tehran, Iran.
Tel: +98-21-61192501
E-mail: aalizadeh@razi.tums.ac.ir