

بررسی اثر سمیت و آپوپتوزی نانولیپوزوم‌های حاوی کورکومین و miR-34a روی سلول‌های سرطان روده بزرگ (HT-29) و سرطان پستان (MCF-7)

محسن نیک‌سرشت^۱، میترا قاسمی چالشتری^۲، مریم تجلی اردکانی^۱، حسن عبیدی^۱، رضا محمودی^۱، حسن بردانیا^{۱*}

^۱مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲آزمایشگاه تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۰/۰۵/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: سرطان کولورکتال و پستان از عوامل مهم مرگ و میر در جهان هستند. هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر سمیت و آپوپتوزی نانولیپوزوم‌های حاوی کورکومین و miR-34a روی سلول‌های سرطان روده بزرگ (HT-29) و سرطان پستان (MCF-7) بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، نانولیپوزوم‌های حاوی دو ترکیب کورکومین و miR-34a تهیه و با استفاده از آنالیزهای پراکنش نور پویا و میکروسکوپ الکترونی عبوری تعیین ویژگی شدند. برای بررسی اثر نانولیپوزوم‌ها، رده‌ی سلول سرطانی HT-29 و MCF-7، به ترتیب در محیط کشت DMEM و RPMI 1640 همراه با سرم جنین گاوی و آنتی‌بیوتیک، کشت داده شد. سلول‌ها، با نانولیپوزوم، داروی کورکومین، miR-34a و نانولیپوزوم حاوی داروی کورکومین و miR-34a تیمار شدند و درصد زنده ماندن آنها با استفاده از روش MTT تعیین گردید. هم‌چنین درصد مرگ سلولی (آپوپتوز) با استفاده از روش فلوسایتومتری اندازه‌گیری گردید. داده‌های جمع‌آوری شده از آزمون‌های آماری واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بارگذاری شدن هم‌زمان miR-34a و کورکومین اثر ضدسرطانی آنها را افزایش می‌دهد. به علاوه، نانولیپوزوم‌های حاوی کورکومین می‌توانند سلول‌های سرطانی را به صورت وابسته به زمان و دوز از بین ببرند. از طرف دیگر، نانولیپوزوم‌های حاوی miR-34a پس از ۴۸ ساعت سلول‌های سرطانی را با غلظت ۵ نانومولار از بین بردند. نتایج آزمایش MTT و بررسی آپوپتوز با استفاده از فلوسایتومتری نشان داد که انتقال هم‌زمان کورکومین و miR-34a باعث هم‌افزایی اثر آنها بر روی هر دو رده سلولی (HT-29) و (MCF-7) پس از ۴۸ ساعت می‌شود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاضر نشان داد که بارگذاری miR-34a و کورکومین در نانولیپوزوم به طور قابل توجهی اثرات آنها را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، دارورسانی هم‌زمان این داروها به صورت هم‌افزایی اثرات ضد سرطانی آنها را افزایش می‌دهد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که استفاده هم‌زمان از کورکومین و miR-34a از طریق نانولیپوزوم‌ها می‌تواند به عنوان یک روش درمانی ترکیبی جدید برای درمان سرطان در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های سرطانی، نانولیپوزوم، کورکومین، miR-34a، دارورسانی هم‌زمان

*نویسنده مسئول: حسن بردانیا، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email: hbardania@gmail.com

مقدمه

آنتی‌اکسیدان قوی و دارای خواص ضد التهابی است (۷). به غیر از خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، کورکومین به عنوان عامل دارویی در شیمی درمانی سرطان نیز استفاده می‌شود (۹ و ۸). کورکومین دارای ساختاری آب‌گریز بوده، مهم‌ترین مشکل در استفاده از آن حلالیت کم آن در آب است.

مولکول زیستی miRNA از عوامل ضدسرطان برپایه اسید نوکلئیک است که قابلیت‌های زیادی برای درمان سرطان دارد (۱۲-۱۰). مولکول miRNA دارای ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتید و دارای ساختار دو رشته‌ای، نقش مهمی در تنظیم بیان ژن دارد (۱۴ و ۱۳). مولکول miRNA در خاموش کردن ژن‌ها در مرحله پس از رونویسی نقش دارد (۱۵). مولکول miRNA می‌تواند بیان بیش از یک mRNA را کنترل کند (۱۶). یک مولکول miRNA تنها پتانسیل پیوند به هزاران مولکول mRNA را دارد و می‌توانند به عنوان ژن‌های مهار کننده سرطان عمل کنند (۱۷). با استفاده از مولکول‌های miRNA می‌توان بیان برخی از فاکتورهای پروتئینی ضروری برای رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی را مهار و آن‌ها را نسبت به داروهای شیمیایی حساس‌تر کرد (۱۸). علی‌رغم مزیت‌هایی که مولکول‌های زیستی مانند miRNA دارند، این مولکول‌ها دارای معایبی نیز هستند. از جمله این معایب می‌توان به ناپایداری زیستی و تحریک سیستم ایمنی اشاره کرد، پایداری کم این مولکول‌ها در سیستم‌های زیستی یکی از

سرطان یکی از مخرب‌ترین بیماری‌ها است که اختلالات سلولی و تغییرات ژنتیکی متفاوتی را درگیر می‌کند. این پیچیدگی باعث رشد تهاجمی سلول‌های سرطانی و در نتیجه مرگ و میر معنی‌دار در بیماران می‌شود (۲ و ۱). در سال‌های اخیر، روش درمانی ترکیبی برای درمان سرطان در مراکز بالینی استفاده شده است (۳). یکی از مزیت‌های اولیه درمان‌های ترکیبی پتانسیل این روش برای فراهم کردن اثرات هم‌افزایی^(۱) است (۳). اگرچه روش‌های شیمی درمانی ترکیبی به درمان بهتر سرطان کمک می‌کند، اما خود این روش نیز دارای موانع و مشکلاتی مانند نیاز به دوزهای بالای دارو، حذف سریع دارو از بدن، حلالیت کم داروها در بدن و دسترس‌پذیری زیستی کم و غیرمداوم داروها است (۴). بنابراین برای کاهش مشکل مرتبط با شیمی درمانی مرسوم، نیاز است که سامانه دارورسانی برای بهینه کردن عملکرد فارماسیوتیکی و کاهش اثرات جانبی طراحی شود. از مهم‌ترین روش‌ها برای درمان سرطان، استفاده ترکیبی از داروهای شیمیایی یا مولکول‌های ضدسرطانی کوچک مانند کورکومین و داروهای زیستی مانند miRNA است. مولکول‌های زیستی مانند miRNA به طور معنی‌داری حساسیت داروهای شیمیایی را با حساس کردن ژن‌های مربوط به مقاومت دارویی، افزایش می‌دهند (۵).

کورکومین پودر زرد رنگ و جزء فعال زرد چوبه است (۶). کورکومین دارویی آب‌گریز و یک

1-Synergistic Effect

نانولیپوزوم‌ها از جمله شناخته شده‌ترین نانوحامل‌های مورد استفاده برای انتقال ژن و دارورسانی هستند. لیپوزوم‌ها و زیکول‌های لیپیدی کروی تشکیل شده از فسفولیپیدهای دوگانه‌دوست هستند که دارای غشای دو لایه و فضای آبی مرکزی هستند. از نظر زیست-پزشکی، نانولیپوزوم‌ها زیست‌سازگار بوده و اثرات حساسیت‌زایی، تب‌زایی و آنتی‌ژنیک بسیار ناچیزی دارند (۲۷). به طور کلی، لیپوزوم‌ها از نظر ساختاری دارای دو بخش آبدوست و آب‌گریز هستند و قابلیت استفاده برای دارورسانی هر دو نوع داروهای آبدوست و آب‌گریز را دارند (۲۸). داروهای آبدوست در محیط آبی در فضای داخلی نانولیپوزوم و مواد آب‌گریز در بخش آب‌گریز غشا فسفولیپیدی قرار می‌گیرند (۲۹).

در این پژوهش، ترکیب فلاونوئیدی کورکومین به همراه مولکول زیستی miRNA (miR-34a) درون نانسامانه لیپوزومی به صورت هم‌زمان بارگذاری و اثرات سمیت و آپوپتوزی آن بررسی شد. در پژوهش‌های قبلی نشان داده که بیان miR-34a در سلول‌های سرطانی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۳۰-۳۲). در حال حاضر miR-34a ریزپوشانی شده در لیپوزوم در فاز بالینی در حال بررسی است (۳۳). به علاوه پژوهش‌های دیگری نیز گزارش می‌دهند که این miRNAها سلول‌های سرطانی را نسبت به داروهای شیمیایی و مولکول‌های کوچک حساس‌تر می‌کنند (۳۴). لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر سمیت و آپوپتوزی نانولیپوزوم‌های حاوی

مهم‌ترین موانع برای کاربرد این عوامل درمانی است (۲۰ و ۱۹).

آن‌ها به سرعت به وسیله آنزیم‌های اندو و اگزونوکلاز تجزیه و نیز به دلیل جرم مولکولی کم (۱۳ کیلودالتون) به سرعت به وسیله فیلتراسیون کلیوی حذف می‌شوند (۲۲ و ۲۱). هرچند راهکارهایی مانند تغییرات شیمیایی ساختار برای بهبود پایداری آن‌ها بررسی شده است، ولی برای استفاده موفقیت‌آمیز آن‌ها برای درمان سرطان نیاز به روش‌هایی برای محافظت از آن‌ها در برابر اثرات محیطی و حفظ ساختار و فعالیت آن‌ها بدون تحریک سیستم ایمنی است (۱۸).

نانوفناوری یک زمینه بین رشته‌ای است که حوزه‌های گوناگونی مانند: زیست‌شناسی، مهندسی، شیمی و فیزیک را پوشش می‌دهد (۲۴ و ۲۳). نانوفناوری با توجه به نانوحامل‌های گوناگونی مانند: لیپوزوم‌ها، دندریمرها، میسل‌ها، نانولوله‌های کربنی و نانوذرات، نقش حیاتی در درمان سرطان دارد (۲۶ و ۲۵). به طور کلی مزیت‌های اصلی نانوداروها شامل انتقال زیاد عوامل درمانی بارگذاری شده، انتقال از طریق مسیرهای متفاوت مانند: تزریقی، خوراکی و استنشاقی و قابلیت استفاده از آن‌ها برای انتقال هر دو نوع داروهای آبدوست و آب‌گریز می‌باشند (۱۸). مزیت دیگر این نانوحامل‌ها انتقال چندین مولکول دارو با استفاده از یک نانوحامل است. نانوحامل‌های متفاوتی مانند لیپوزوم‌ها برای دارورسانی چند عامل دارویی قابلیت استفاده را دارند (۳).

کورکومین و miR-34a روی سلول‌های سرطان روده بزرگ (HT-29) و سرطان پستان (MCF-7) بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، نانولیپوزوم‌ها به وسیله روش آب‌دهی فیلم نازک لیپیدی فرمول‌بندی شد^(۳۵). ابتدا فسفولیپید لیوفیلیزه^(۱) شده (کلسترول و DSPC) موجود در ۲۰- درجه سانتی‌گراد را به دمای اتاق رسانیده و توزین و سپس در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد. محلول حاصل به بالن ته گرد مناسب جهت اتصال به دستگاه روتاری منتقل شد و تحت خلأ پایین در دستگاه روتاری خشک شد. فیلم لیپیدی تشکیل شده در ته بالن به وسیله بافر تریس به تدریج آب‌دهی شد. برای بارگذاری داروها در نانولیپوزوم‌ها، با توجه به خاصیت آب‌دوستی و آب‌گریزی آن‌ها به مراحل تهیه لیپوزوم‌ها اضافه شد. داروهای آب‌گریز در ابتدای مراحل تهیه لیپوزوم به فسفولیپیدها اضافه شده و در کلروفرم حل شد، ولی داروهایی آب‌دوست را در بافر تریس حل کرده و در مرحله آب‌دهی در درون بالن لیپوزوم‌ها ریزپوشانی شد. برای تعیین میزان داروی کورکومین بارگذاری شده از آنالیز HPLC استفاده شد. اندازه لیپوزوم‌های تشکیل شده حاوی دارو با استفاده از آنالیز پراکنش نور پویا^(۲) (DLS) بررسی شد. به علاوه از روش‌های تأییدی مانند میکروسکوپ الکترونی عبوری برای اندازه لیپوزوم‌های تهیه شده استفاده شد.

در حدود $(10^2 \times 8)$ سلول به پلیت ۹۶ خانه منتقل شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه

انکوبه گردید، سپس به وسیله غلظت‌های مشخص داروی کورکومین، miR-34a، نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی کورکومین، نانولیپوزوم حاوی miR-34a و نانولیپوزوم حاوی کورکومین و miR-34a تیمار و در نهایت حجم چاهک‌ها به ۱۰۰ میکرو لیتر رسید. پلیت‌های حاوی سلول و داروی کورکومین، miR-34a، نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی کورکومین، نانولیپوزوم حاوی miR-34a و نانولیپوزوم حاوی کورکومین و miR-34a به مدت ۲۴ ساعت در شرایط یکسان انکوبه شدند. پس از گذشت زمان مورد نظر، پلیت‌های ۹۶ خانه از انکوباتور خارج و ۱۰ میکرو لیتر محلول (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) MTT و ۹۰ میکرو لیتر محیط کشت DMEM فاقد FBS به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ۳ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر DMSO جایگزین محیط انکوبه شده با MTT شد و به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. DMSO، بلورهای فورمازان تولید شده را حل کرده و این بلورها پس از حل شدن در DMSO، محلول بنفش رنگی را به وجود می‌آوردند که میزان رنگ به وجود آمده نشان دهنده توان زیستی سلول‌های تیمار شده می‌باشد

جذب نوری پلیت‌ها در طول موج ۵۴۵ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر مورد سنجش قرار گرفت. اثر هر غلظت داروی کورکومین، miR-34a، نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی کورکومین، نانولیپوزوم حاوی miR-34a و نانولیپوزوم حاوی کورکومین و miR-34a به صورت سه بار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

1-Lyophilized
2-Dynamic Light Scattering

آپوپتوز سلولی (Annexin-V/PI) سلول‌ها رنگ آمیزی و با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری آنالیز شدند.

تمام نتایج تجربی به صورت میانگین \pm انحراف معیار از سه آزمایش مختلف بیان شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

مطابق شکل ۱، اندازه و شاخص پراکندگی (PDI) نانولیپوزوم‌های حاوی کورکومین و miR-34a بررسی شد. نانولیپوزوم‌ها اندازه ۱۳۵ نانومتر، $PDI < 0.2$ و میکروسکوپ الکترونی TEM مورفولوژی کروی نانولیپوزوم‌ها را نشان می‌دهد (شکل b۱).

بارگذاری کورکومین در نانولیپوزوم‌ها اثرات سمی کورکومین را بر سلول‌های سرطانی افزایش می‌دهد. به منظور ارزیابی تأثیر بارگذاری کورکومین در نانولیپوزوم‌ها بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی، سلول‌های HT-29 و MCF-7 با غلظت‌های مختلف کورکومین تنها و کورکومین بارگذاری شده در نانولیپوزوم (۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) تحت تیمار قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بارگذاری کورکومین در نانولیپوزوم‌ها به طور قابل توجهی اثر سمیت آن‌ها را در هر دو رده سلولی افزایش می‌دهد. به علاوه، اثر سمیت آن‌ها هم به دوز و هم به زمان وابسته بود (شکل ۲).

تحویل miR-34a به وسیله نانولیپوزوم‌ها به طور قابل توجهی اثر سمیت آن را بر روی سلول‌های

درصد بقا سلول‌هایی که تحت تأثیر غلظتی از داروی کورکومین، miR-34a، نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی کورکومین، نانولیپوزوم حاوی miR-34a و نانولیپوزوم حاوی کورکومین و miR-34a قرار گرفته‌اند با تقسیم جذب نوری چاهک‌های تیمار شده به جذب نوری گروه کنترل، ضربدر ۱۰۰ محاسبه گردید. غلظتی از داروی کورکومین، miR-34a، نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی کورکومین، نانولیپوزوم حاوی miR-34a و نانولیپوزوم حاوی کورکومین و miR-34a که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل می‌دهد، به‌عنوان IC_{50} در نظر گرفته شد.

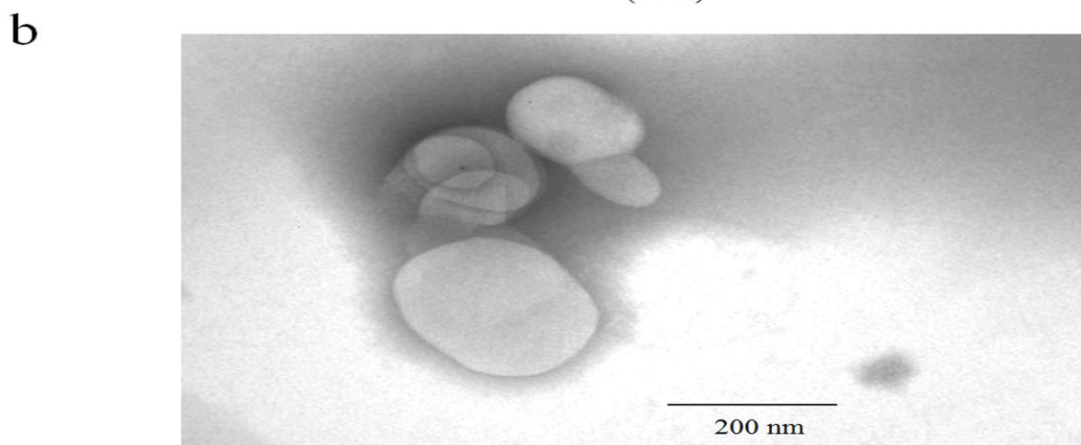
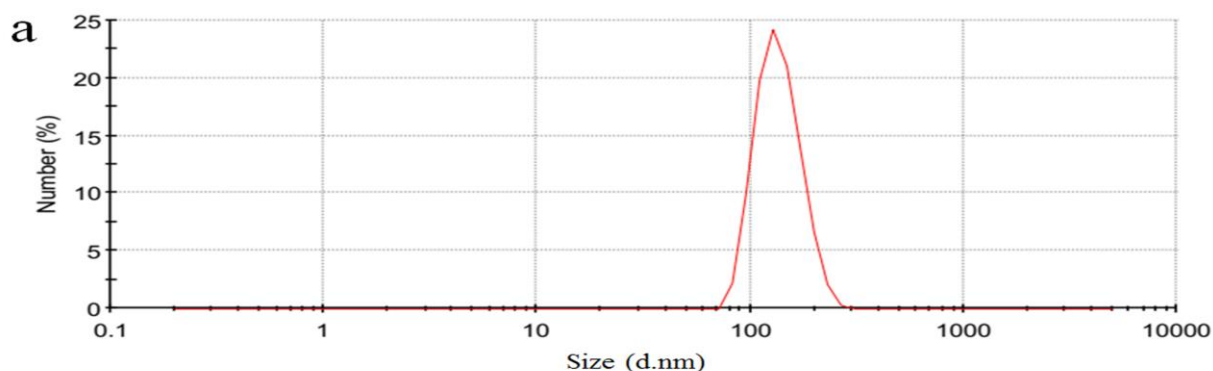
$$100 \times \frac{OD_{\text{نمونه}}}{OD_{\text{کنترل}}} = (\text{درصد}) \text{ زنده‌مانی سلول‌ها}$$

بررسی اثرات آپوپتوزی نانوسامانه لیپوزومی به روش فلوسایتومتری: کشت سلول‌های هر دو رده سلولی هر کدام در ده گروه سلولی شامل: کنترل، داروی کورکومین، miR-34a، نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی کورکومین، نانولیپوزوم حاوی miR-34a و نانولیپوزوم حاوی کورکومین و miR-34a، Annexin+PI و PI Annexin در پلیت‌های ۶ خانه‌ای تا تراکم سلولی به بالای ۷۵ درصد رسید. سلول‌ها با داروی کورکومین، miR-34a، نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی کورکومین، نانولیپوزوم حاوی miR-34a و نانولیپوزوم حاوی کورکومین تیمار شده و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. محیط رویی دور ریخته شد، پلیت‌ها دو بار با PBS شسته شد، به هرکدام از خانه‌های پلیت‌ها ۱۰۰ میکرولیتر تریپسین جهت کندن شدن سلول‌ها از کف پلیت‌ها اضافه شد. بعد از تریپسینه کردن سلول‌ها، مطابق با پروتوکل کیت

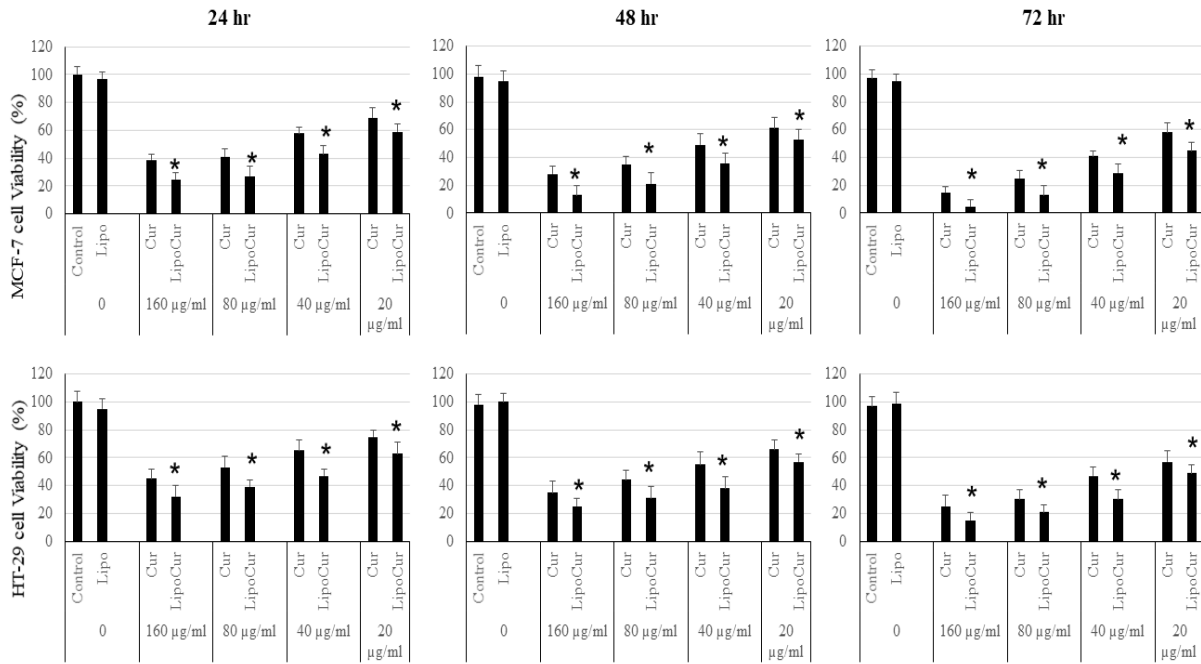
شده در نانولیپوزوم با استفاده از فلوسایتومتری ارزیابی شد (شکل c4). نتایج فلوسایتومتری بر روی سلول‌های MCF-7 نشان داد که بیشترین درصد آپوپتوز مربوط به سلول‌های تحت درمان با نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیبات کورکومین و miR-34a است (شکل d4). انتقال هم‌زمان این دو ترکیب، آپوپتوز در سلول‌های MCF-7 را در مقایسه با گروه‌های کنترل یا منفرد به صورت هم‌افزایی افزایش می‌دهد. نتایج مشابهی در سلول‌های HT-29 نیز مشاهده شد. قرار گرفتن در معرض سلول‌های HT-29 با نانولیپوزوم‌های بارگذاری شده با miR-34a و کورکومین در مقایسه با گروه‌های کنترل و همچنین گروه‌های تحت تیمار با دارو تنها، افزایش معنی‌دار آپوپتوز را نشان داد.

سرطانی افزایش داد. مشابه کورکومین، بارگذاری miR-34a به وسیله نانولیپوزوم‌ها سمیت سلولی آن را در سلول‌های MCF-7 و HT-29 افزایش می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، هر دو رده سلول با ۱، ۵ و ۱۰ نانومولار miR-34a آزاد و بارگذاری شده در نانولیپوزوم در طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تحت درمان قرار گرفتند. در حالی که غلظت ۱ نانومولار miR-34a هیچ اثر سمی قابل توجهی نداشت، غلظت‌های ۵ و ۱۰ نانومولار به طور قابل توجهی سلول‌های سرطانی را از بین برد. علاوه بر این، بیشترین اثر سمیت سلولی ۴۸ ساعت پس از تیمار به دست آمد.

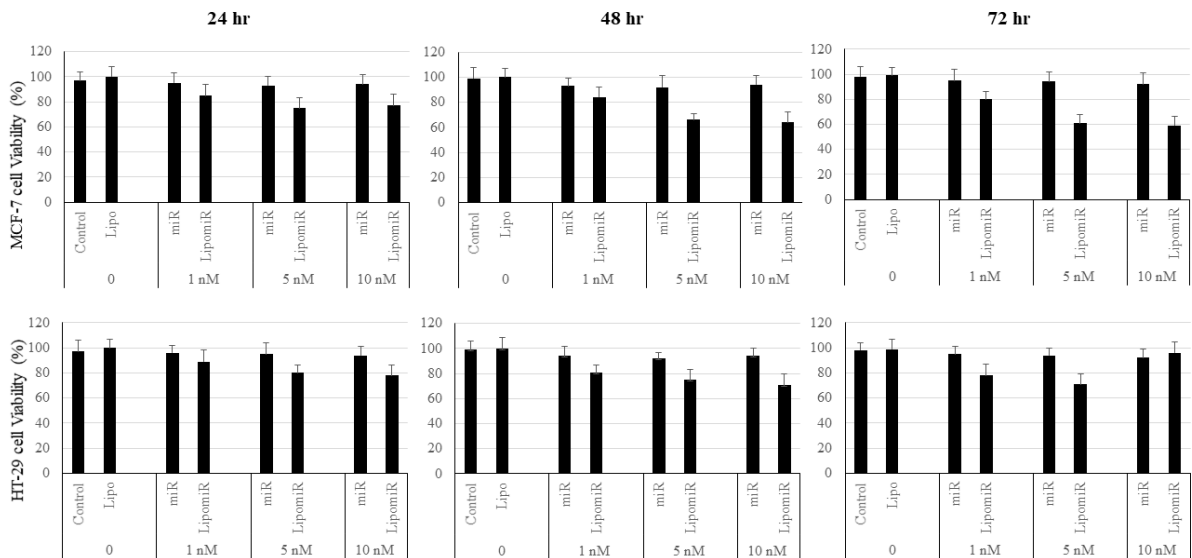
میزان آپوپتوز در سلول‌های MCF-7 و HT-29 تحت تیمار با کورکومین و miR-34a آزاد یا بارگذاری



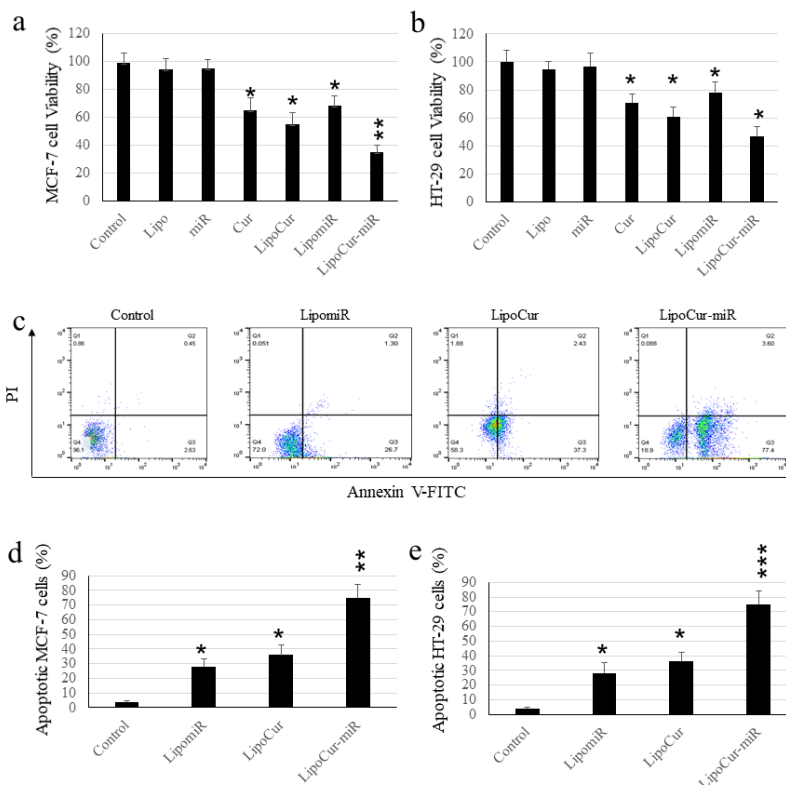
شکل ۱: تعیین ویژگی نانولیپوزوم‌های حاوی کورکومین و Mir-34a با استفاده از آنالیز پراکنش نور پویا (a) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (b)



شکل ۲: اثر بارگذاری کورکومین در نانولیپوزوم‌ها بر سمیت سلولی آن روی دو سلول MCF-7 و HT-29. اثر کشندگی کورکومین وابسته به دوز و غلظت می‌باشد و بارگذاری کورکومین در لیپوزوم اثر کشندگی آن را افزایش می‌دهد ($p < 0.05$).



شکل ۳: اثر بارگذاری miR-34a در نانولیپوزوم‌ها بر سمیت سلولی آن روی دو سلول MCF-7 و HT-29. در حالیکه اثر کشندگی miR-34a تنها کم بوده ولی بارگذاری آن در نانولیپوزوم‌ها اثر کشندگی آن را افزایش داده است و موثرترین غلظت و زمان برای کشندگی سلول‌ها ۵ نانومولار پس از ۴۸ ساعت بوده است ($p < 0.05$).



شکل ۴: دارورسانی هم‌زمان کورکومین و miR-34a به صورت هم‌افزایی سلول‌های سرطانی را در محیط برون‌تنی از بین می‌برد. تیمار سلول‌ها با نانولیپوزوم‌های حاوی miR-34a (۵ نانومولار) و کورکومین (۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به صورت هم‌افزایی هر دو سلول سرطانی HT-29 و MCF-7 را در مقایسه با بقیه گروه‌ها به صورت معنی‌داری بیشتر می‌کشد (a و b). شکل c نتیجه اثر نانولیپوزوم حاوی کورکومین و miR-34a بر روی آپوپتوز سلولی را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که انتقال هم‌زمان کورکومین و miR-34a آپوپتوز را در هر دو سلول HT-29 و MCF-7 تحریک می‌کند (*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

کاهش اثرات جانبی طراحی شود. از مهم‌ترین روش‌ها برای درمان سرطان، استفاده ترکیبی از داروهای شیمیایی یا مولکول‌های ضدسرطانی کوچک مانند کورکومین و داروهای زیستی مانند miRNA است. مولکول‌های زیستی مانند miRNA به طور معنی‌داری حساسیت داروهای شیمیایی را با حساس کردن ژن‌های مربوط به مقاومت دارویی، افزایش می‌دهند (۵). لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر سمیت و آپوپتوزی نانولیپوزوم‌های حاوی کورکومین و miR-34a روی سلول‌های سرطان روده بزرگ (HT-29) و سرطان پستان (MCF-7) بود.

بحث

سرطان یکی از مخرب‌ترین بیماری‌ها است که اختلالات سلولی و تغییرات ژنتیکی متفاوتی را درگیر می‌کند (۲ و ۱). اگرچه روش‌های شیمی درمانی ترکیبی به درمان بهتر سرطان کمک می‌کند، اما خود این روش نیز دارای موانع و مشکلاتی مانند نیاز به دوزهای بالای دارو، حذف سریع دارو از بدن، حلالیت کم داروها در بدن و دسترس‌پذیری زیستی کم و غیرمداوم داروها است (۴). بنابراین برای کاهش مشکل مرتبط با شیمی درمانی مرسوم، نیاز است که سامانه دارورسانی برای بهینه کردن عملکرد فارماسیوتیکی و

مثبت/منفی براساس فهرست‌بندی با استفاده از بیان ژن می‌باشد (۴۱ و ۴۰). پژوهش‌های اخیر از طریق شناسایی نقش مؤثر miRNAها در شروع و پیشرفت سرطان سینه، روزنه‌ی جدیدی را در جهت بهبود استراتژی‌های درمانی علیه این سرطان باز کرده است (۴۲). miRNAها در سرطان پستان، می‌توانند به‌عنوان یک آنکوژن یا تومور ساپرسور عمل کنند (۴۳ و ۴۰). سرطان پستان، یکی از اولین سرطان‌هایی می‌باشد که پروفایل miRNAهای آن توصیف شده است. پروفایل طبیعی miRNA می‌تواند برای تمایز بین سلول‌های بافت سرطانی و طبیعی در سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد (۴۵ و ۴۴).

بسیاری از پروتئین‌های دخیل در مسیرهای پیام‌رسانی کلیدی سرطان روده بزرگ نظیر مسیرهای PI3 کیناز، P53 و TGF تحت تنظیم miRNAها هستند و نقش برخی از miRNAها در سرطان روده‌ی بزرگ به‌عنوان آنکوژن و یا سرکوبگر تومور در پژوهش‌های اخیر مورد تأیید واقع شده است (۴۷ و ۴۶). miR-34a یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های سرکوب تومور مطرح است. بیان کاهش یافته‌ی این miRNA در انواع مختلفی از سرطان‌ها گزارش شده است و از طریق تنظیم تعداد زیادی از ژن‌های دخیل در مسیرهای آنکوژنیک، از رشد تومورها جلوگیری می‌کند (۴۸). اگرچه برخی از پژوهش‌ها افزایش بیان آن را نیز در مراحل پیشرفته و متاستاتیک سرطان روده بزرگ مطرح کرده‌اند (۴۹). علاوه بر این طبق پژوهش‌های جدید miR-18a در تنظیم مثبت و miR-34a در تنظیم

با توجه به شیوع روزافزون سرطان کولورکتال در سطح جهانی، پژوهش‌های متعددی به منظور شناسایی عوامل مستعد کننده ابتلا به این بیماری انجام شده هم‌چنین پژوهش‌های متعددی در زمینه شناسایی عوامل ژنتیکی مؤثر بر بروز این بیماری انجام یافته است. یافته‌ها حاکی از این نکته است که سرطان کولورکتال یک بیماری پلی ژنیک بوده که خطر ابتلا به آن با انواع لوکوس‌های متعدد ژنی با اندازه اثر کم تعیین می‌شود. این امر بدان معناست که هر یک از لوکوس‌های ژنی شناخته شده مرتبط با این بیماری تنها می‌توانند دارای یک اثر کوچک جمع شونده بر روی خطر کلی ابتلا به بیماری داشته باشند و به تنهایی نمی‌توانند به طور مستقیم منجر به بروز بیماری شوند (۳۷ و ۳۶).

سرطان سینه شایع‌ترین بدخیمی زنان در کل دنیا بوده و شیوع ابتلا به این بدخیمی در اکثر کشورهای دنیا از جمله ایران رو به افزایش می‌باشد. از جمله علل مرتبط با شیب صعودی ابتلاء به سرطان می‌توان به عوامل محیطی از جمله آلودگی هوا، استرس، الگوی زندگی و رژیم غذایی افراد اشاره کرد. مشخص شده است که مصرف مواد غذایی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان می‌باشند، در پیشگیری و کاهش ابتلاء به سرطان‌ها نقش مؤثری دارد (۳۹ و ۳۸). از نظر بالینی، سرطان پستان یک بیماری هتروژن با زیر گروه‌هایی است که از لحاظ هیستوپاتولوژیک شامل گیرنده‌ی استروژن مثبت/منفی و گیرنده‌ی عامل رشد اپیدرمال انسانی

منفی بیان پروتوآنکوژن Orai3 که در پیشرفت سرطان پستان، پروستات و ریه گزارش شده است (۵۰).

miR-34 خانواده‌ای مشتمل بر ۳ تا miRNA (شامل miR-34a, miR-34b, miR-34c) است و به وسیله P53 تنظیم مثبت می‌شود. مطالعه‌ای که روی رده‌های سلولی سرطان پستان به وسیله محققان انجام شد نشان می‌دهد که در ۲۵ درصد از نمونه‌ها پروموتور miR-34a متیله شده است. miR-34a یکسری از ژن‌های دخیل در تکثیر و آپوپتوز سلولی مثل Bcl-2 را هدف گیری می‌کند. miRNA نقش خود را در القای استراحت چرخه‌ی سلولی را از راه تأثیر بر فاکتور رونویسی F2F3 و SIRT1 ایفا می‌کند. از آنجا که SIRT1 می‌تواند P53 را از طریق داستیلاسون غیرفعال کند در مطالعه‌ای ترانسفکت کردن per- miR-34a می‌تواند سطح آن را کاهش و P53 استیله را افزایش دهد (۵۱).

ارتباط بین miR-34a و P53 در رده‌های سلولی سرطان‌های مختلف از جمله HTC116 سرطان کولون گزارش شده است. پژوهش‌های اخیر miR-34a را در ارتباط با سرکوب متاستاز سرطان روده‌ی بزرگ مطرح می‌کند که از عود سرطان روده‌ی بزرگ به واسطه‌ی تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم با واسطه‌ی P53 جلوگیری می‌کند (۵۲). هم‌چنین پژوهش‌های مختلف کاهش و یا افزایش بیان miR-34a را در سرطان روده بزرگ نسبت به سالم گزارش داده‌اند. مطالعه‌ی دیگر نشان می‌دهد که بیان افزایش یافته miR-34a, miR-155, miR-200c با توسعه‌ی سرطان روده بزرگ همراه است (۵۳).

کورکومین، یک جزء شیمیایی زردچوبه، خواص شیمی درمانی و درمانی در برابر بیماری‌های مختلف در هر دو مدل in vitro و in vivo دارد. پژوهش‌های اخیر نشان داده است که کورکومین مانع تکثیر سلولی، ایجاد آپوپتوز و حساسیت سلول‌های تومور به درمان‌های متعارف می‌شود. کورکومین می‌تواند انواع علایم سرطان، از جمله تکثیر سلولی، مسیرهای سیگنال سرطانی، فاکتورهای رونویسی، آنژیوژنز تومور و متاستاز را مدوله کند. در تکثیر سلول، بیان بیش از حد فعالیت CDK2 را با توقف چرخه سلول، هدف قرار می‌دهد. علاوه بر این، پژوهش‌های متعدد نشان می‌دهد که کورکومین یک مهار کننده قوی برای مهار کننده‌های کیناز وابسته به سیکلین است، مانند p21WAF1/CIP1, p27KIP1. علاوه بر این، کورکومین عملکرد P53 را در رده سلولی سرطانی جهش یافته و P53 تغییر یافته ترویج می‌دهد. کورکومین هم‌چنین تعدادی از آنکوپروتئین‌ها را که در مسیرهای سیگنالینگ تومور دخیل هستند، تعدیل می‌کند. به طور قابل توجهی، کورکومین رشد سلول‌های سرطانی متعددی را با هدف قرار دادن مسیرهای Ras, AKT, PI3K, و β -catenin سرکوب می‌کند. علاوه بر این، کورکومین چندین مولکول کلیدی آنژیوژنز و متاستاز تومور شامل VEGF, MMP, PTPN و CXCL1 را مهار می‌کند. به طور خلاصه، کورکومین به‌عنوان یک داروی مناسب برای درمان انواع مختلف سرطان انسان استفاده می‌شود (۵۴).

در مطالعه‌ای دیگر میتال و همکاران، دارو رسانی هم‌زمان جمسیتابین و miRNA-205 (مهار کننده سرطان) را با استفاده از نانو حامل‌های پلیمری انجام دادند. اثر این نانو حامل در محیط درون‌تنی و روی سلول‌های مقاوم به جمسیتابین (MIA PaCa-2R) بررسی شد. نتایج آنها نشان می‌دهد که دارو رسانی هم‌زمان به طور معنی‌داری مقاومت شیمی درمانی، تهاجم و مهاجرت سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهد. نتایج حاصل از بررسی‌های درون‌تنی نشان داد که این نانو سامانه به طور معنی‌داری رشد تومور را مهار می‌کند. به علاوه پژوهش‌های ایمنوهیستوشیمی نشان داد که تکثیر سلول‌های سرطانی کاهش و آپوپتوز در محیط درون‌تنی افزایش یافته است (۵۸). نتایج به دست آمده از روش فلوسایتومتری در مطالعه حاضر نشان داد که دارو رسانی هم‌زمان کورکومین و miR-34a در رده سلولی HT-29 ۷۸ درصد و در رده‌ی سلولی MCF-7 ۹۷ درصد بود. در مطالعه‌ای که به وسیله لن لی و همکاران انجام شد، فعالیت ضدتوموری لیپوزوم حاوی کورکومین در سرطان کولورکتال بررسی شد. نتایج نشان داد که نانو لیپوزوم حاوی کورکومین باعث مهار وابسته به دوز سلول‌های سرطانی و هم چنین آپوپتوز شد (۵۹). خاصیت ستوتوکسیک نانو لیپوزوم حاوی کورکومین در مطالعه حاضر در مقایسه با کورکومین به تنهایی و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری بر رده‌ی سلولی HT-29 نداشت. هم‌چنین کورکومین به تنهایی نسبت که نانو لیپوزوم حاوی

با توجه به این طیف وسیع اثرات ضدسرطانی، از ترکیب آن‌ها در این مطالعه برای سرکوب رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 و HT-29، در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. به منظور افزایش اثرات ضدسرطانی و کاهش عوارض جانبی، از سیستم دارو رسانی مبتنی بر نانولیپوزوم استفاده شد. لیپوزوم‌ها ذرات کلوئیدی هستند که از یک غشاء دولایه لیپیدی متشکل از مولکول‌های لیپیدی آمفیپاتیک خود آرایش یابنده تشکیل شده‌اند که بخشی از فاز آبی را در خود کپسول می‌نمایند. مشخصه‌های دما، pH، قدرت یونی بر روی پایداری لیپوزوم‌ها تأثیر دارد و با کاهش اندازه‌ی لیپوزوم‌ها و تعدیل کردن بار سطحی آنها می‌توان لیپوزوم‌های جدیدتری با اندازه‌ی ۸۰ تا ۲۰۰ نانومتر با بار منفی و یا خنثی تولید نمود که کمتر به وسیله سیستم ایمنی جذب شوند. امروزه نانولیپوزوم‌ها با داشتن تأییدیه اداره‌ی دارو و غذای آمریکا (FDA) بیشترین نانو حامل‌های مورد استفاده در کاربردهای بالینی برای انتقال داروها در بدن می‌باشد. لیپوزوم‌ها به‌عنوان حامل دارو در شیمی درمانی تومورهای مختلف از جمله سرطان سینه کاربرد دارد (۵۵). پژوهش‌های گسترده‌ای برای استفاده از نانوذرات که بتواند بافت‌های سالم را محافظت نموده و اثرات کشنده روی سلول‌های سرطانی داشته باشد انجام گرفته است (۵۶). گزارش شده است که لیپوزوم و پی گلیتید لیپوزوم حاوی Doxorubicin در درمان سرطان متاستازی کاربرد دارد (۵۷).

کورکومین طبق نتایج به دست آمده از فلوسایتومتری خاصیت آپوپتوز اولیه‌ی (۲۵ درصد) بیشتری را نشان داد.

در مطالعه حاضر، برای اولین بار اثرات ضدسرطانی نانولیپوزوم‌های حاوی miR-34a و کورکومین بر روی سلول‌های سرطانی MCF-7 و HT-29 بررسی شد. نتایج حاضر نشان داد که بارگذاری miR-34a و کورکومین در نانولیپوزوم به طور قابل توجهی اثرات آن‌ها را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، دارورسانی هم‌زمان این داروها به صورت هم‌افزایی اثرات ضد سرطانی آن‌ها را افزایش می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که دارورسانی هم‌زمان miR-34a و کورکومین به وسیله نانولیپوزوم‌ها به عنوان یک رویکرد درمانی جدید ضد سرطانی است که می‌تواند در مدل‌های تومور حیوانی در پژوهش‌های آینده ارزیابی شود. به علاوه می‌توان سیگنال‌دهی مؤثر در آپوپتوز سلول‌های سرطانی مرتبط با ترکیبات کورکومین و miR-34a مانند مسیره‌های کاسپاز و عوامل مؤثر در فعال‌سازی آن‌ها را مورد مطالعه قرار داد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد میترا قاسمی چالشتی رشته بیوشیمی بالینی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1397.013 دانشگاه علوم پزشکی یاسوج می‌باشد که با حمایت مالی و معنوی این دانشگاه انجام شد.

REFERENCES

1. Das M, Mohanty C, Sahoo SK. Ligand-based targeted therapy for cancer tissue. *Expert Opinion on Drug Delivery* 2009; 6(3): 285-304.
2. Mohanty C, Das M, R Kanwar J, K Sahoo S. Receptor mediated tumor targeting: an emerging approach for cancer therapy. *Current Drug Delivery* 2011; 8(1): 45-58.
3. Parhi P, Mohanty C, Sahoo SK. Nanotechnology-based combinational drug delivery: an emerging approach for cancer therapy. *Drug Discovery Today* 2012; 17(17): 1044-52.
4. Greco F, Vicent MJ. Combination therapy: opportunities and challenges for polymer-drug conjugates as anticancer nanomedicines. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2009; 61(13): 1203-13.
5. Jung HS, Shin YK. The potential RNAi-based combination therapeutics. *Archives of Pharmacal Research* 2011; 34(1): 1-2.
6. Salvioli S, Sikora E, Cooper E, Franceschi C. Curcumin in cell death processes: a challenge for CAM of age-related pathologies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2007; 4(2): 181-90.
7. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sciences* 2006; 78(18): 2081-7.
8. Kunnumakkara AB, Guha S, Krishnan S, Diagaradjane P, Gelovani J, Aggarwal BB. Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor- κ B-regulated gene products. *Cancer Research* 2007; 67(8): 3853-61.
9. Rao CV, Rivenson A, Simi B, Reddy BS. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. *Cancer Research* 1995; 55(2): 259-66.
10. Seyhan AA. RNAi: a potential new class of therapeutic for human genetic disease. *Human Genetics* 2011; 130(5): 583-605.
11. Yanes RE, Lu J, Tamanoi F. Nanoparticle-based delivery of sirna and mirna for cancer therapy. *Eukaryotic RNases and Their Partners in RNA Degradation and Biogenesis* 2012; 32: 185.
12. Fabian MR, Sonenberg N. The mechanics of miRNA-mediated gene silencing: a look under the hood of miRISC. *Nature Structural & Molecular Biology* 2012; 19(6): 586-93.
13. Reischl D, Zimmer A. Drug delivery of siRNA therapeutics: potentials and limits of nanosystems. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2009; 5(1): 8-20.
14. Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nature Cell Biology* 2009; 11(3): 228-34.
15. Davidson BL, McCray PB. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nature Reviews Genetics* 2011; 12(5): 329-40.
16. Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* 2009; 7(4): 147-54.
17. Díaz MR, Vivas-Mejia PE. Nanoparticles as drug delivery systems in cancer medicine: emphasis on RNAi-containing nanoliposomes. *Pharmaceuticals* 2013; 6(11): 1361-80.
18. Gandhi NS, Tekade RK, Chougule MB. Nanocarrier mediated delivery of siRNA/miRNA in combination with chemotherapeutic agents for cancer therapy: current progress and advances. *Journal of Controlled Release* 2014; 194: 238-56.
19. Gao S, Dagnaes-Hansen F, Nielsen EJB, Wengel J, Besenbacher F, Howard KA, et al. The effect of chemical modification and nanoparticle formulation on stability and biodistribution of siRNA in mice. *Molecular Therapy* 2009; 17(7): 1225-33.
20. Fattal E, Bochot A. State of the art and perspectives for the delivery of antisense oligonucleotides and siRNA by polymeric nanocarriers. *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 364(2): 237-48.

21. Akhtar S, Benter IF. Nonviral delivery of synthetic siRNAs in vivo. *The Journal of Clinical Investigation* 2007; 117(12): 3623-32.
22. Weinstein S, Peer D. RNAi nanomedicines: challenges and opportunities within the immune system. *Nanotechnology* 2010; 21(23): 232001.
23. Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nature Reviews Cancer* 2005; 5(3): 161-71.
24. Shi SF, Jia JF, Guo XK, Zhao YP, Chen DS, Guo YY, et al. Biocompatibility of chitosan-coated iron oxide nanoparticles with osteoblast cells. *International Journal of Nanomedicine* 2012; 7: 5593-602.
25. Misra R, Acharya S, Sahoo SK. Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug Discovery Today* 2010; 15(19): 842-50.
26. Sahoo SK, Dilnawaz F, Krishnakumar S. Nanotechnology in ocular drug delivery. *Drug Discovery Today* 2008; 13(3): 144-51.
27. Bardania H, Tarvirdipour S, Dorkoosh F. Liposome-targeted delivery for highly potent drugs. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 2017; 45(8): 1478-89.
28. Mahmoudi R, Ashraf Mirahmadi-Babaheidri S, Delaviz H, Fouani MH, Alipour M, Jafari Barmak M, et al. RGD peptide-mediated liposomal curcumin targeted delivery to breast cancer cells. *Journal of Biomaterials Applications* 2021; 35(7): 743-53.
29. Malakouti-Nejad M, Bardania H, Aliakbari F, Baradaran-Rafii A, Elahi E, Monti D, et al. Formulation of nanoliposome-encapsulated bevacizumab (Avastin): Statistical optimization for enhanced drug encapsulation and properties evaluation. *International Journal of Pharmaceutics* 2020; 590: 119895.
30. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005; 102(39): 13944-9.
31. Weeraratne SD, Amani V, Neiss A, Teider N, Scott DK, Pomeroy SL, et al. miR-34a confers chemosensitivity through modulation of MAGE-A and p53 in medulloblastoma. *Neuro-Oncology* 2011; 13(2): 165-75.
32. Lezina L, Purmessur N, Antonov A, Ivanova T, Karpova E, Krishan K, et al. miR-16 and miR-26a target checkpoint kinases Wee1 and Chk1 in response to p53 activation by genotoxic stress. *Cell Death & Disease* 2013; 4(12): e953.
33. Beg MS, Brenner AJ, Sachdev J, Borad M, Kang Y-K, Stoudemire J, et al. Phase I study of MRX3, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Investigational New Drugs* 2016; 15: 1-9.
34. Vinall RL, Ripoll AZ, Wang S, Pan CX, deVere White RW. MiR-34a chemosensitizes bladder cancer cells to cisplatin treatment regardless of p53-Rb pathway status. *International Journal of Cancer* 2012; 130(11): 2526-38.
35. Mahmoudi R, Hassandokht F, Ardakani MT, Karimi B, Roustazadeh A, Tarvirdipour S, et al. Intercalation of curcumin into liposomal chemotherapeutic agent augments apoptosis in breast cancer cells. *Journal of Biomaterials Applications* 2021; 35(8): 1005-18.
36. Fung KY, Cosgrove L, Lockett T, Head R, Topping DL. A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. *British Journal of Nutrition* 2012; 108(5): 820-31.
37. Gunter MJ, Leitzmann MF. Obesity and colorectal cancer: epidemiology, mechanisms and candidate genes. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2006; 17(3): 145-56.
38. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal Research Reviews* 2003; 23(4): 519-34.

39. Baumeister P, Reiter M, Harréus U. Curcumin and other polyphenolic compounds in head and neck cancer chemoprevention. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2012; 20: 9.
40. Dvinge H, Git A, Gräf S, Salmon-Divon M, Curtis C, Sottoriva A, et al. The shaping and functional consequences of the microRNA landscape in breast cancer. *Nature* 2013; 497(7449): 378.
41. Curtis C, Shah SP, Chin SF, Turashvili G, Rueda OM, Dunning MJ, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature* 2012; 486(7403): 346.
42. Casey MC, Sweeney KJ, Brown JAL, Kerin MJ. Exploring circulating micro-RNA in the neoadjuvant treatment of breast cancer. *International Journal of Cancer* 2016; 139(1): 12-22.
43. Buffa FM, Camps C, Winchester L, Snell CE, Gee HE, Sheldon H, et al. microRNA associated progression pathways and potential therapeutic targets identified by integrated mRNA and microRNA expression profiling in breast cancer. *Cancer research* 2011; 71(17): 5635-45.
44. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Research* 2005; 65(16): 7065-70.
45. Iorio MV, Croce CM. MicroRNAs in cancer: small molecules with a huge impact. *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27(34): 5848.
46. Emami SS, Akbari A, Zare A-A, Agah S, Masoodi M, Talebi A, et al. MicroRNA Expression Levels and Histopathological Features of Colorectal Cancer. *Journal of Gastrointestinal Cancer* 2018; 50(2): 276-84.
47. Mobini GR, Ghahremani MH, Amanpour S, Dehpour AR, Akbari A, Hoseiniharouni SM, et al. Transforming growth factor beta-induced factor 2-linked X (TGIF2LX) regulates two morphogenesis genes, Nir1 and Nir2 in human colorectal. *Acta Medica Iranica* 2016; 54(5): 302-7.
48. Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007; 104(39): 15472-7.
49. Aherne ST, Madden SF, Hughes DJ, Pardini B, Naccarati A, Levy M, et al. Circulating miRNAs miR-34a and miR-150 associated with colorectal cancer progression. *BMC Cancer* 2015; 15(1): 329.
50. Vashisht A, Tanwar J, Motiani RK. Regulation of proto-oncogene Orai3 by miR18a/b and miR34a. *Cell Calcium* 2018; 75: 101-11.
51. Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ. miR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008; 105(36): 13421-6.
52. Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Molecular Cell* 2007; 26(5): 745-52.
53. Wang M, Zhang P, Li Y, Liu G, Zhou B, Zhan L, et al. The quantitative analysis by stem-loop real-time PCR revealed the microRNA-34a, microRNA-155 and microRNA-200c overexpression in human colorectal cancer. *Medical Oncology* 2012; 29(5): 3113-8.
54. Kasi PD, Tamilselvam R, Skalicka-Woźniak K, Nabavi SF, Daglia M, Bishayee A, et al. Molecular targets of curcumin for cancer therapy: an updated review. *Tumor Biology* 2016; 37(10): 13017-28.
55. Hofheinz RD, Gnad-Vogt SU, Beyer U, Hochhaus A. Liposomal encapsulated anti-cancer drugs. *Anti-Cancer Drugs* 2005; 16(7): 691-707.
56. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2002; 20(3): 719-26.
57. O'Brien ME, Wigler N, Inbar M, Rosso R, Grischke E, Santoro A, et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl

(CAELYX™/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Annals of Oncology* 2004; 15(3): 440-9.

58.Mittal A, Chitkara D, Behrman SW, Mahato RI. Efficacy of gemcitabine conjugated and miRNA-205 complexed micelles for treatment of advanced pancreatic cancer. *Biomaterials* 2014; 35(25): 7077-87.

59.Li L, Ahmed B, Mehta K, Kurzrock R. Liposomal curcumin with and without oxaliplatin: effects on cell growth, apoptosis, and angiogenesis in colorectal cancer. *Molecular Cancer Therapeutics* 2007; 6(4): 1276-82.

Toxicity and Apoptotic Effect of Nanoliposomes Containing Curcumin and miR-34a on Colorectal Cancer Cells (HT-29) and Breast Cancer(MCF-7)

Nikseresht M¹, Ghasemi Chaleshtari M², Tajali Ardakani M¹, Abidi H¹, Mahmoudi R¹, Bardania H^{1*}

¹Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ² Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 23 July 2021 Accepted: 11 Dec 2021

Abstract:

Background & aim: Colorectal and breast cancer are the leading causes of death in the world. The aim of the present study was to determine the toxicity and apoptosis effect of nanoliposomes containing curcumin and miR-34a on colorectal cancer cells (HT-29) and breast cancer (MCF-7).

Methods: In the present experimental study conducted in 2018, nanoliposomes containing two compounds of curcumin and miR-34a were prepared and characterized using dynamic light scattering analysis and transmission electron microscopy. To evaluate the effect of nanoliposomes, HT-29 and MCF-7 cancer cell lines were cultured in DMEM and RPMI 1640 with bovine fetal serum and antibiotics, respectively. Cells were treated with nanoliposomes containing curcumin, miR-34a and nanoliposomes containing curcumin and miR-34a, and their viability was determined by MTT assay. Also, the percentage of cell death (apoptosis) was measured using flow cytometry. Data were analyzed using SPSS software and one-way ANOVA.

Results: The results indicated that co-administration of miR-34a and curcumin increased their anticancer effect. In addition, curcumin-containing nanoliposomes can kill cancer cells in a time- and dose-dependent manner. On the other hand, nanoliposomes containing miR34a killed cancer cells at a concentration of 5 nM after 48 hours. The results of MTT assay and apoptosis analysis using flow cytometry showed that simultaneous transfer of curcumin and miR-34a enhanced their effect on both cell lines (HT-29) and (MCF-7) after 48 hours.

Conclusion: The present results revealed that the loading of miR-34a and curcumin in nanoliposomes significantly increases their effects. In addition, co-administration of these drugs synergistically enhances their anti-cancer effects. The findings of the present study exhibited that the concomitant use of curcumin and miR-34a via nanoliposomes could be considered as a new combination therapy for cancer treatment.

Keywords: Curcumin, Nanoliposomes, MiR34a, Co-delivery, Cancerous cells

***Corresponding author:** Bardania H, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

Email: hbardania@gmail.com

Please cite this article as follows: Nikseresht M, Ghasemi Chaleshtari M, Tajali Ardakani M, Abidi H, Mahmoudi R, Bardania H. Toxicity and Apoptotic Effect of Nanoliposomes Containing Curcumin and MiR-34a on Colorectal Cancer Cells (HT-29) and Breast Cancer(MCF-7). Armaghane-danesh 2022; 26(6): 867-883.