

## بررسی بیان ژنهای hTERT و Survivin در رده سلولی آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) تحت تیمار با نانوکورکومین

نجمه رنجی<sup>۱\*</sup>، عباس پادگانه<sup>۲</sup>، دینا صادقی زاده<sup>۳</sup> و مجید صادقی زاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> رشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، دانشکده علوم، گروه ژنتیک

<sup>۲</sup> تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک

<sup>۳</sup> تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران پزشکی، گروه ژنتیک

تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۸

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱۷

### چکیده

دندروزوماها دسته‌ای از ناقله‌های پلیمری غیر ویروسی نسبتاً جدید هستند که باعث افزایش حلالیت داروهای نامحلول یا با حلالیت ضعیف در محیطهای زیستی می‌شوند. کورکومین یک ترکیب ضد سرطانی با حلالیت بسیار کم در محیطهای آبی است که در این پژوهش با استفاده از دندروزوم به عنوان یک ناقل، انتقال آن به سلولهای سرطانی آدنوکارسینومای معده (AGS) صورت گرفته است. کورکومین فرموله شده در دندروزوم به رده سرطانی آدنوکارسینومای معده منتقل و تأثیر آن بر مرگ سلولی با رنگ آمیزی رنگ پروپیدیوم آیوداید (PI) و بررسی میزان بیان ژنهای Survivin و hTERT به روش RT-PCR نیمه کمی صورت گرفته است. افزایش مرگ سلولی تحت القای کورکومین دندروزومی در مقایسه با کورکومین آزاد در سلولهای هدف به روش فلوسایتومتری و با رنگ آمیزی PI مشاهده می‌گردد. همچنین کاهش نسبی بیان ژنهای hTERT و Survivin که از ژنهای دخیل در افزایش تکثیر و بقای سلولهای سرطانی می‌باشند، از نتایج RT-PCR نیمه کمی است. از آنجایی که کورکومین دندروزومی در مقایسه با کورکومین آزاد تأثیر بیشتری بر وقوع مرگ برنامه ریزی شده در سلولهای آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) نشان می‌دهد بنابراین دندروزوم ناقل مناسبی برای انتقال کورکومین نامحلول به سلول بوده و از این نانو ذره می‌توان جهت درمان و از بین بردن سلولهای سرطانی بهره برد.

**واژه‌های کلیدی:** مرگ برنامه ریزی شده سلول، دندروزوم، نانوکورکومین، hTERT و Survivin.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۹۴۱۲۱۷۴، پست الکترونیکی: najmehranji@gmail.com

### مقدمه

امروزه از نانو ذرات زیست تخریب پذیر، جهت انتقال انواع داروهای محلول و نامحلول در آب با توان افزایش پایداری در بدن استفاده می‌شود (۱۸). داروهای فرموله شده با نانو ذرات باعث کاهش سمیت دارو، کاهش هزینه‌های درمان، افزایش تأثیر، اختصاصیت و تحمل دارو می‌گردند (۹). این ناقلین باعث افزایش نفوذپذیری و بقای دارو همچنین انتقال انتخابی دارو در بدن می‌شوند. بر این اساس نانو ذرات خصوصیات نظیر زیست سازگاری، انحلال پذیری بالا، پایداری، توان حمل مقدار بالای دارو و توان الحاق شدن به مولکول هدف را دارا می‌باشند (۲۵). دندروزوماها دسته‌ای از پلیمرهای نسبتاً جدید هستند که باعث افزایش انتقال DNA و اولیگونوکلوئوتیدها به سلول می‌شوند. در واقع دندریمرها را به عنوان اجداد دندروزوم‌ها در نظر می‌گیرند (۱۴ و ۱۶). دندریمرها ماکرومولکولهای مصنوعی دارای ساختار درخت مانند با انشعابات زیاد، کروی و با جرم مولکولی مشخص می‌باشند.

امروزه از نانو ذرات زیست تخریب پذیر، جهت انتقال انواع داروهای محلول و نامحلول در آب با توان افزایش پایداری در بدن استفاده می‌شود (۱۸). داروهای فرموله شده با نانو ذرات باعث کاهش سمیت دارو، کاهش هزینه‌های درمان، افزایش تأثیر، اختصاصیت و تحمل دارو می‌گردند (۹). این ناقلین باعث افزایش نفوذپذیری و بقای دارو همچنین انتقال انتخابی دارو در بدن می‌شوند. بر این اساس نانو ذرات خصوصیات نظیر زیست سازگاری، انحلال پذیری بالا، پایداری، توان حمل مقدار بالای دارو و توان الحاق شدن به مولکول هدف را دارا می‌باشند (۲۵). دندروزوماها دسته‌ای از پلیمرهای نسبتاً جدید هستند که باعث افزایش انتقال DNA و اولیگونوکلوئوتیدها به سلول می‌شوند. در واقع دندریمرها را به عنوان اجداد دندروزوم‌ها در نظر می‌گیرند (۱۴ و ۱۶). دندریمرها ماکرومولکولهای مصنوعی دارای ساختار درخت مانند با انشعابات زیاد، کروی و با جرم مولکولی مشخص می‌باشند.

(۱۱). با این وجود، بررسی‌های اندکی در زمینه نانوذرات حاوی کورکومین تا کنون صورت گرفته است و تحقیقات در راستای تولید و کاربرد سیستم‌های مبتنی بر نانوذرات جهت رسانش کورکومین در ابتدای مسیر خود قرار دارد (۲).

در این مطالعه با استفاده از دندریمر، کورکومین به رده سلولی آدنوکارسینوما می‌معه منتقل گردید و اثرات ضد سرطانی آن با کاهش تکثیر سلولی از طریق بررسی میزان مرگ سلولی به کمک رنگ PI و بررسی بیان ژنهای Survivin و hTERT به صورت نیمه کمی مشاهده شد.

### مواد و روشها

**کشت سلولی:** رده سلولی آدنوکارسینوما می‌معه انسان AGS (NCBI C131) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری و در محیط کشت کامل RPMI-1640 حاوی آنتی بیوتیک‌های پنی‌سیلین/استرپتومایسین و ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FBS) کشت داده شد.

**افزودن کورکومین دندروزومی و آزاد به سلولها:** غلظت ۲۰ میکروگرم در میلی لیتر از کورکومین فرموله با دندریمر بر روی رده سلولی آدنوکارسینوما می‌معه انسان تأثیر داده شد. به این منظور  $2 \times 10^5$  سلول در هر خانه پلیت ۶ خانه به همراه محیط کشت کامل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO<sub>2</sub> قرار گرفت. بعد از تکثیر سلولی و رسیدن سلولها به تراکم مناسب و تعویض محیط، کورکومین فرموله با دندرزوم و یا به صورت آزاد به آن افزوده شد.

**آنالیز چرخه سلولی با کمک تکنیک فلوسایتومتری:** جهت بررسی اثر کورکومین به صورت آزاد یا فرموله با دندرزوم در القای مرگ سلولی (آپوپتوز)، پس از گذشت ۴ تا ۱۸ ساعت از شروع تیمار دارویی، سلولها با پروپیدیوم آیواید (PI) رنگ آمیزی و در دستگاه فلوسایتومتر، مورد بررسی قرار گرفت.

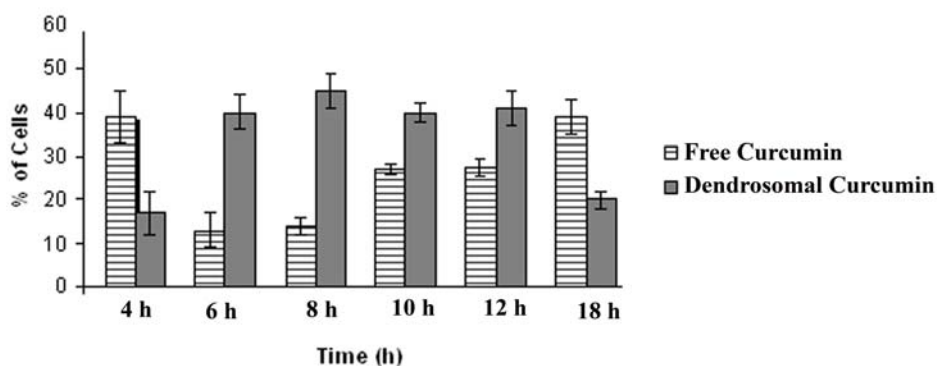
باشند. این مولکولها طی چندین مرحله از واحد های تک پار انشعاب دار ساخته شده و به این ترتیب از نظر خصوصیات مولکولی نظیر اندازه، شکل، ابعاد، چگالی، قطبیت، انعطاف پذیری و حلالیت با توجه به نوع واحدهای ساختاری یا انشعابی و گروههای عملکردی سطحی قابل کنترل می باشند. همچنین دارای منافذ داخلی جهت کپسوله شدن داروهای هیدروفوب می باشند. وجود گروههای عملکردی سطحی بیشتر در دندریمرها در مقایسه با ماکرومولکولهای مرسوم، باعث افزایش حلالیت داروها توسط این نانوذرات می گردد (۲۵). کورکومین با نام علمی دی فرولوئیل متان یا 1,6-heptadiene-3,5-dione-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-(1E,6E) جزء زردرنگ گیاه زردچوبه است که در غذاها، داروها و لوازم آرایشی رنگی مورد استفاده قرار می گیرد (۲۱). اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدان، ضد سرطان، ضد ترومبوز و حفاظت کنندگی قلب و عروق را داراست. طی تحقیقات به عمل آمده مشخص شده که بکارگیری آن در درمان آرتریت روماتوئید، التهاب بعد از جراحی و بیماری التهابی روده ای باعث کسب نتایج مطلوبی در بیمار می شود (۲۴) همچنین در کشت سلولی، قادر به افزایش تأثیر سایر داروهای شیمیایی ضدسرطان و تشعشع گاما می باشد (۱) و (۱۰). لازم به ذکر است که کورکومین به صورت *in vivo* به جهت جلوگیری و درمان بسیاری از سرطانها به کار رفته است. کورکومین در حلالهای آلی چون متانول و اتانول پایدار است ولی در محلولهای آبی حلالیت کمی دارد. در محیطهای آبی در شرایط بازی و خنثی ناپایدار است و به اسید فرولیک و فرولوئیل متان تجزیه می گردد (۶). در حالی که الحاق آن به لیپوزوم، نانوذرات و دندریمر باعث افزایش حلالیت، پایداری و فعالیت زیستی آن می شود. اما تأثیر و مقدار منتقل شده کورکومین به واسطه این ناقلین کم می باشد (۲۰). در مورد ترکیبات به شدت هیدروفوب، مانند کورکومین، کاربرد نانوذرات، به جهت افزایش حلالیت آبی دارو از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد

کیفی RNA استخراج شده، از روش UV اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز استفاده گردید.

واکنش رونویسی معکوس: در این تحقیق جهت سنتز cDNA از mRNA، از کیت لیوفلیزه ی سنتز cDNA شرکت Bioneer (AccuPower™ RT-PreMix) و پرایمر Oligo-dT استفاده شد. مخلوط واکنش به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد برای انجام واکنش و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد، جهت غیر فعال-سازی آنزیم RT و دناتوره شدن کمپلکس RNA-cDNA در دستگاه ترمال سایکلر انکوبه گردید.

بررسی بیان ژنهای **Survivin** و **hTERT** در رده سلولی آدنوکارسینومای معده انسان با استفاده از تکنیک **RT-PCR**: برای بررسی بیان ژن با استفاده از تکنیک **RT-PCR**، ابتدا RNA تام سلولی، قبل و در زمانهای معینی بعد از تیمار دارویی از سلولها استخراج شد و پس از حصول اطمینان از سالم بودن RNA، واکنش رونویسی معکوس (reverse transcriptase) انجام گرفت و cDNA تولید شده به عنوان DNA الگو برای انجام واکنش **PCR** به کار رفت. استخراج **RNA تام سلولی**: سلولها با استفاده از محلول **RNX plus** شرکت سیناژن تجزیه و طبق دستورالعمل، RNA استخراج گردید. جهت بررسی کمی و

% of Cells in G1 phase



شکل ۱- درصد سلولهای موجود در فاز G1 تحت تیمار با کورکومین آزاد یا دندروزومی. افزایش تدریجی در میزان سلولهای وارد شده به فاز G1 بین ۴ تا ۱۲ ساعت پس از شروع تیمار مشاهده شد. اما پس از ۱۸ ساعت، کاهش چشمگیری در سلولهای تیمار شده با کورکومین دندروزومی در این فاز به دلیل وقوع آپوپتوز رخ داد.

جدول ۱- ترادف و سایر مشخصات پرایمرهای به کار گرفته شده در واکنش PCR

ژن	پرایمر	ترادف	دمای آنیلینگ (°C)	طول قطعه حاصل (جفت باز)
hTERT	F	CGGAAGAGTGTCTGGAGCAA	59	600
	R	TCCGTGAGCCTGTCCTGG		
GAPDH	F	CCCCTCCTCCACCTTTGAC	54	380
	R	CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA		
Survivin	F	TGGCAGCCCTTTCTCAAG	54	623
	R	GAGAGAGAGAAGCAGCCAC		

به دلیل ادامه تأثیر دارو بر فازهای دیگر چرخه سلولی، مجدداً به سلولهای موجود در این فاز افزوده شد. در سلولهای تیمار شده با کورکومین دندروزومی، از شروع زمان نمونه‌گیری (۴ ساعت پس از تیمار) تا ساعت ۱۲، افزایش تدریجی در درصد سلولهای موجود در فاز G1 مشاهده شد و پس از ۱۸ ساعت، به دلیل ورود درصد بالایی از این سلولها به فاز مرگ، کاهش چشمگیری در سلولهای این فاز مشاهده شد (شکل ۱). از سوی دیگر روند افزایشی درصد سلولهای وارد شده به فاز آپوپتوز (Sub-G1) از آغاز زمان تیمار (۴ ساعت) تا پایان تیمار (۱۸ ساعت) نشان‌دهنده تأثیر وابسته به زمان کورکومین در هردو گروه تیمار شده می‌باشد. همچنین مشاهده شد که در مقایسه با کورکومین آزاد، درصد بالاتری از سلولها در اثر تیمار با کورکومین دندریمری دچار مرگ سلولی شدند (شکل ۲). در سلولهای تیمار شده با کورکومین آزاد، بیشترین درصد سلولها در فاز G1 و پس از آن فاز پیش-G1 (فاز آپوپتوز) می‌باشد، در حالی که در سلولهای تیمار شده با کورکومین دندریمری، بیشترین تجمع در سلولهای وارد شده به فاز آپوپتوز (پیش-G1) و پس از آن فاز G1 مشاهده می‌شود (شکل ۳).

#### بررسی مقایسه‌ای بیان ژنهای hTERT و Survivin قبل

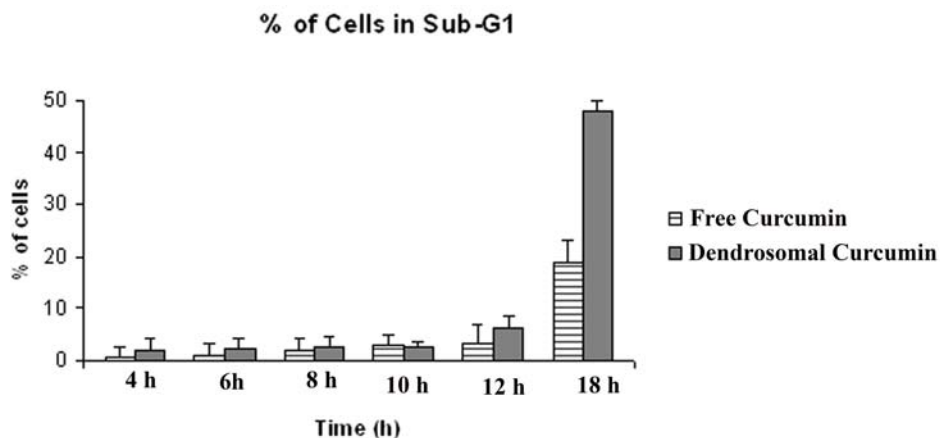
و بعد از تیمار دارویی: ۸ ساعت پس از تیمار سلولها با کورکومین آزاد و دندریمری، استخراج RNA صورت گرفت و به ترتیب واکنش رونویسی معکوس و سپس واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی هر ژن انجام شد. میزان بیان هر یک از ژنهای مورد بررسی قبل و بعد از تیمار دارویی در شکل ۴ مشاهده می‌شود. شدت باند هر محصول PCR با نرم افزار Uvtech مورد آنالیز قرار گرفت. مطابق شکل‌های ۵ و ۶ کاهش اندک در سطح بیان mRNA زیر واحد کاتالیتیکی تلومراز (hTERT) و survivin رخ داده است.

**واکنش PCR:** پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR با استفاده از نرم افزار Gene Runner طراحی و توسط شرکت Bioneer سنتز گردید (جدول ۱). ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل مورد استفاده قرار گرفت.

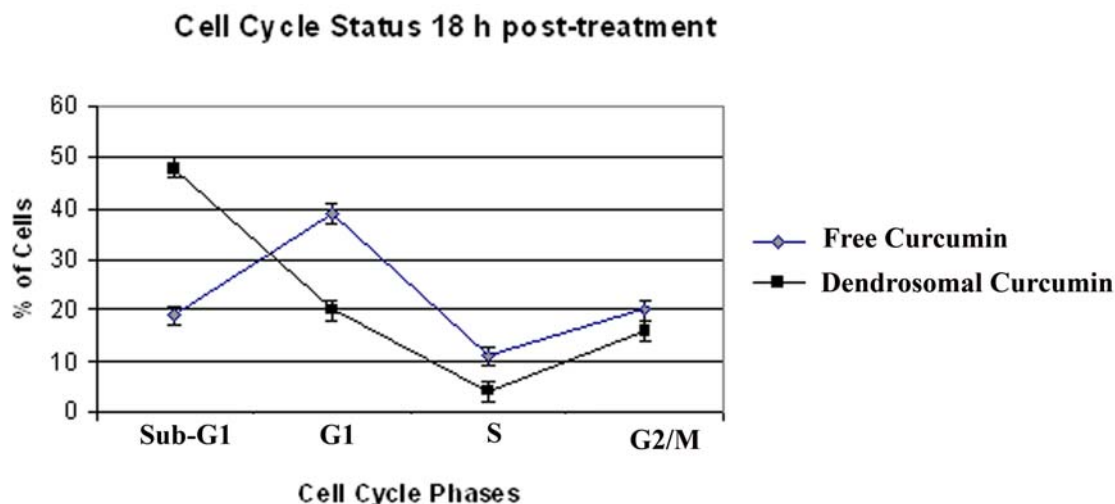
**انجام واکنش PCR:** پس از انجام واکنش رونویسی معکوس، به منظور تکثیر قطعه مورد نظر واکنش PCR انجام گرفت. بدین منظور از کیت HotTaq 10x Titan PCR Mix از شرکت BioAtlas استفاده شد. واکنش PCR طبق برنامه ذیل صورت گرفت: در ابتدا مخلوط واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد گرمادهی شد. سپس در ۳۱ چرخه و در هر چرخه به ترتیب در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه، در دمای آنیلینگ ذکر شده در جدول در دمای ۴۵ ثانیه و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه واکنش انجام گرفت. در پایان به منظور تکمیل سنتز قطعات نیمه کامل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. محصول PCR تمامی ژنها بر روی ژل آگارز ۱ درصد تفکیک و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد. جهت کمی کردن داده‌ها (تبدیل باندهای مشاهده شده در ژل آگارز به اعداد قابل اندازه‌گیری) از نرم افزار UVtec استفاده شد.

#### نتایج

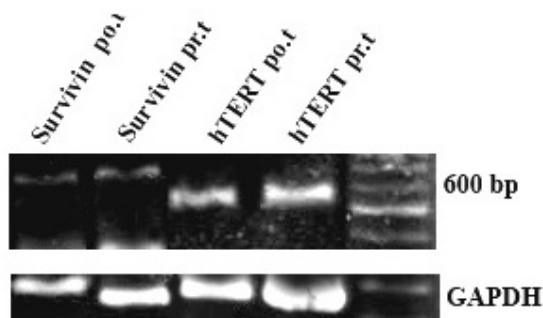
**تیمار سلولهای آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) با کورکومین آزاد و دندروزوم و آنالیز فلوسایتومتری چرخه سلولی:** جهت بررسی چرخه سلولی، غلظت ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از کورکومین آزاد و دندروزومی، به پلیت حاوی سلول اضافه گردید و در فواصل زمانی مختلف فلوسایتومتری صورت گرفت. در سلولهای تیمار شده با کورکومین آزاد، پس از ۶ ساعت از زمان تیمار، کاهش چشمگیری در سلولهای موجود در فاز G1 مشاهده شد که به دلیل ورود تدریجی کورکومین و آغاز تأثیر آن بر چرخه سلولی می‌باشد. همچنین با افزایش زمان تیمار،



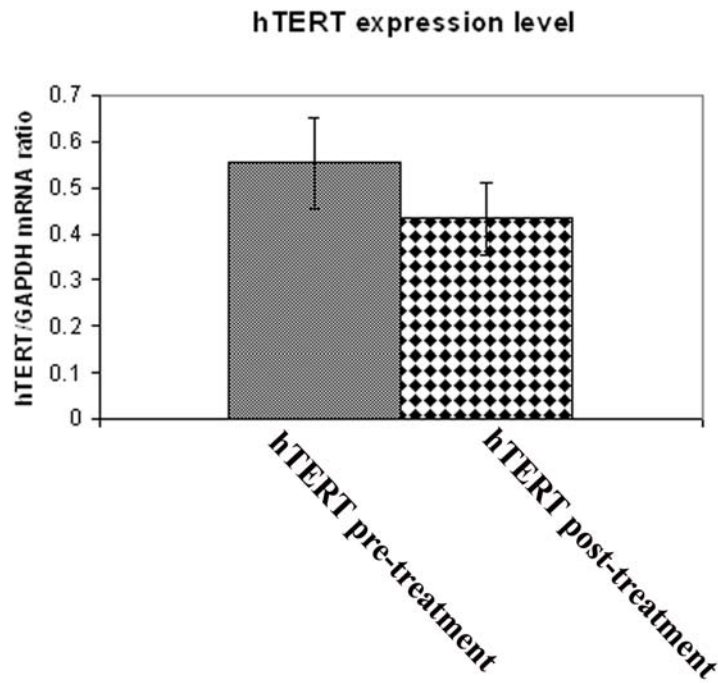
شکل ۲- درصد سلولهای موجود در فاز پیش-G1 تحت تیمار با کورکومین. روند افزایشی میزان سلولهای وارد شده به فاز آپوپتوز (پیش-G1) در ساعت‌های مختلف پس از شروع تیمار مشاهده گردید. درصد بالاتری از سلولهای تیمار شده با کورکومین دندریمری نسبت به کورکومین آزاد، دچار مرگ سلولی شدند.



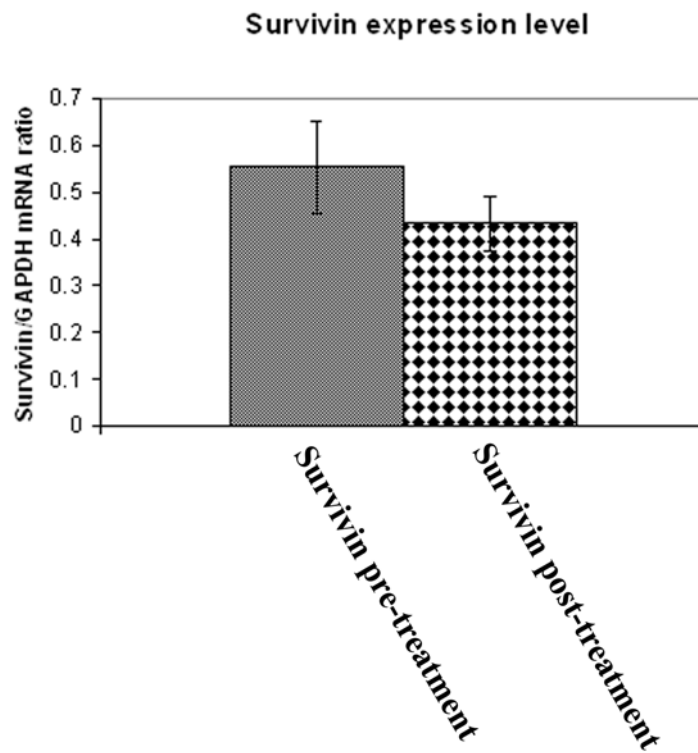
شکل ۳- درصد سلولهای تیمار شده با کورکومین دندروزومی و آزاد در فازهای مختلف چرخه سلولی پس از ۱۸ ساعت. درصد آپوپتوز در سلولهای تیمار شده با کورکومین دندروزومی ۴۸.۲ درصد و در سلولهای تیمار شده با کورکومین آزاد ۲۰.۳ درصد گزارش گردید.



شکل ۴- تأثیر کورکومین دندریمری بر بیان ژنهای Survivin و hTERT قبل و بعد از تیمار دارویی. کاهش اندک در سطح بیان mRNA ی زیر واحد کاتالیتیکی تلومراز (hTERT) و survivin به روش RT-PCR نیمه کمی رخ داده است.



شکل ۵- دیاگرام مقایسه ای بیان ژن hTERT قبل و بعد از تیمار سلولی با کورکومین دندریمری. کاهش بیان این ژن ۸ ساعت پس از تیمار با کورکومین دندریمری در مقایسه با سلولهای کنترل مشاهده گردید.



شکل ۶- دیاگرام مقایسه ای بیان ژن Survivin قبل و بعد از تیمار سلولی با کورکومین دندریمری. کاهش اندک بیان این ژن ۸ ساعت پس از تیمار با کورکومین دندریمری در مقایسه با سلولهای کنترل مشاهده گردید.

## بحث

می‌نماید. این ترکیب دارویی در بسیاری از رده‌های توموری سبب القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌گردد (۵ و ۱۲).

Survivin یک فاکتور مهارکننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلول است (۱۹) که بیان آن در انواع سلولهای سرطانی گزارش شده، اما در بافتهای نرمال (به غیر از سلولهای در حال تقسیم) بسیار کم بوده و یا اصلاً بیان نمی‌گردد (۸). در کنار نقش ضد آپوپتوزی Survivin اخیراً نقشهای پراهمیت تری نیز برای این ژن در کنترل چرخه سلولی و فرآیند میتوز شناسایی شده است. سطح بیان Survivin تابعی از وضعیت چرخه سلولی می‌باشد، به طوری که با آغاز G2/M افزایش یافته و با آغاز G1 کاهش می‌یابد (۸) و لذا در این مطالعه قابل انتظار بود که با کاهش سلولهای موجود در فاز G2/M و افزایش سلولهای موجود در فاز G1، بیان Survivin نیز روند کاهشی را آغاز نماید. کاهش ۱۰ درصدی سطح mRNA ی Survivin در این ساعت، پیشنهاد می‌کند که مهار تدریجی مسیرهای ضد آپوپتوزی (که از اثرات مشخص کورکومین می‌باشد)، در حال آغاز است.

از سوی دیگر میزان بیان ژن hTERT در پدیده تومورزایی و پیشرفت آن نقش اساسی دارد. بیان hTERT (زیر واحد کاتالیتیکی تلومراز انسانی) در سطح mRNA ارتباط مستقیمی با فعالیت تلومرازی در سلولهای سرطانی دارد (۱۷) و مهار بیان آن منجر به تخریب تلومر و در نتیجه کاهش رشد سلولهای سرطانی می‌گردد. این ژن در سلولهای سوماتیک بیان نمی‌گردد و در سلولهای جنینی و سرطانی فعال می‌شود. لذا استراتژیهای درمانی که قادر به کاهش بیان این ژن باشند، از قابلیت بالایی جهت کاهش رشد و القای مرگ برنامه‌ریزی شده در این سلولها برخوردار می‌باشند. گرچه مکانیسم تأثیر کورکومین بر تغییر بیان تلومراز نامشخص است، اما به نظر می‌رسد که کاهش بیان hTERT، از تأثیرات فیزیولوژیک این ماده

بیشتر ترکیبات گیاهی مورد استفاده در شیمی درمانی همانند تاکسول (taxol) و وین کریستین (vincristin)، نه تنها القاگر مرگ برنامه‌ریزی شده در سلولهای سرطانی بوده، بلکه به سلولهای طبیعی میزبان نیز آسیبهای مخربی وارد می‌نمایند. به طور مثال ممکن است ترکیبات مورد استفاده به سیستم ایمنی فرد آسیبهای بسیار مهلکی وارد نمایند (۲۳). کورکومین، جزئی از عادات غذایی روزانه محسوب می‌شود و استفاده آن در مقادیر زیاد از زمانهای قدیم، بی‌خطر بودن این ترکیب را اثبات نموده است (۱۵). این ترکیب به طور انتخابی سبب القای شدید تر مرگ برنامه‌ریزی شده در سلولهای توموری (سلولهای به شدت تکثیر شونده) در مقایسه با سلولهای طبیعی می‌گردد (۴). یکی از اهداف اصلی در زمینه طراحی، تولید و کشف داروهای ضد سرطان، بدست آوردن ترکیباتی با توانایی تأثیر بر نقاط کنترل چرخه سلولی می‌باشد (۱۳). این نقاط در واقع مسئول تنظیم پیشرفت فازهای مختلف چرخه سلولی بوده و در نتیجه قادر به کنترل کیفیت و سرعت تقسیم سلول می‌باشند (۷). امروزه مشخص شده که بسیاری از ترکیبات فیتوشیمیایی، رشد سلولهای توموری را با توقف چرخه سلولی و القای مرگ برنامه‌ریزی شده مهار می‌نمایند. به عنوان مثال، فلاووپیریدول به واسطه مکانیسم‌های مختلفی از قبیل مهار انواع Cdk ها، قادر به القای توقف چرخه سلولی در نقاط کنترلی G1 و G2 می‌باشد (۳ و ۷). همچنین ترکیب موسوم به سیلیبینین (silibinin) به همراه دوکسوروبیسین (doxorubicin) قادر به کاهش سطح بیان Cdc25C، cdc2/p34 و پروتئین B1 بوده و باعث توقف در مرز G2/M می‌گردد (۲۲). بخشی از اثرات دارویی کورکومین را نیز می‌توان به مهار تکثیر سلولی و القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول نسبت داد. کورکومین در واقع مهارکننده مراحل مختلف در شبکه رونویسی بوده و بدین صورت از تکثیر سلولی جلوگیری

سرطانی جلوگیری می‌نماید. در تحقیق حاضر پس از ۸ ساعت از زمان تیمار، کاهش ۲۰ درصدی در بیان زیر واحد کاتالیتیکی تلومراز یعنی hTERT مشاهده گردید که نمایانگر تأثیر کورکومین بر بیان mRNA ی این ژن می‌باشد و با نتایج بدست آمده مطابقت دارد.

**تشکر و قدردانی:** از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت و معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس به جهت تأمین امکانات و هزینه‌های این تحقیق کمال تشکر و قدردانی می‌گردد.

دارویی بوده که در القاء مرگ برنامه ریزی شده در سلولهای سرطانی نقش دارد. کورکومین، سبب کاهش فعالیت تلومراز شده و به این شکل از تکثیر و نامیرایی سلولهای سرطانی جلوگیری می‌نماید. سلولهای تیمار شده با کورکومین علاوه بر کاهش فعالیت تلومراز، دچار مرگ برنامه ریزی شده نیز می‌شوند (۱۱). نشان داده شده که مهار رشد تومور با افزایش مرگ برنامه ریزی شده و کاهش عملکرد تلومراز مرتبط می‌باشد (۲). لذا، تصور بر این است که کورکومین از طریق کاهش بیان تلومراز و سپس القای مرگ برنامه ریزی شده از رشد سلولهای

### منابع

- Aggarwal, B.B., et al., *Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice*. Clin Cancer Res, 2005. 11(20): p. 7490-8.
- Anand, P., et al., *Bioavailability of curcumin: problems and promises*. Mol Pharm, 2007. 4(6): p. 807-18.
- Carlson, B., et al., *Down-regulation of cyclin D1 by transcriptional repression in MCF-7 human breast carcinoma cells induced by flavopiridol*. Cancer Res, 1999. 59(18): p. 4634-41.
- Choudhuri, T., et al., *Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction*. FEBS Lett, 2002. 512(1-3): p. 334-40.
- Choudhuri, T., et al., *Curcumin selectively induces apoptosis in deregulated cyclin D1-expressed cells at G2 phase of cell cycle in a p53-dependent manner*. J Biol Chem, 2005. 280(20): p. 20059-68.
- Goel, A., A.B. Kunnumakkara, and B.B. Aggarwal, *Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic*. Biochem Pharmacol, 2008. 75(4): p. 787-809.2. Kobayashi, K., et al., *Expression of a murine homologue of the inhibitor of apoptosis protein is related to cell proliferation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. 96(4): p. 1457-62.
- Hirose, E. and A. Murakami, *Microscopic anatomy and pigment characterization of coral-encrusting black sponge with cyanobacterial symbiont, Terpios hoshinota*. Zoolog Sci, 2011. 28(3): p. 199-205.
- Kobayashi, K., et al., *Expression of a murine homologue of the inhibitor of apoptosis protein is related to cell proliferation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. 96(4): p. 1457-62.
- Kumari, A., S.K. Yadav, and S.C. Yadav, *Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems*. Colloids Surf B Biointerfaces, 2010. 75(1): p. 1-18.
- Kunnumakkara, A.B., et al., *Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor-kappaB-regulated gene products*. Cancer Res, 2007. 67(8): p. 3853-61.
- Mishra, V., R. Verma, and R. Raghbir, *Neuroprotective effect of flurbiprofen in focal cerebral ischemia: the possible role of ASIC1a*. Neuropharmacology, 2010. 59(7-8): p. 582-8.
- Moos, P.J., et al., *Curcumin impairs tumor suppressor p53 function in colon cancer cells*. Carcinogenesis, 2004. 25(9): p. 1611-7.
- Sa, G. and T. Das, *Anti cancer effects of curcumin: cycle of life and death*. Cell Div, 2008. 3: p. 14.
- Sarbolouki, M.N., K. Mahnam, and H.A. Rafiee-Pour, *Determination of pore/protein size via electrophoresis and slit sieve model*. Electrophoresis, 2004. 25(17): p. 2907-11.
- Sharma, P., et al., *Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers for adults with early (stage 1 to 3) non-diabetic chronic kidney disease*. Cochrane Database Syst Rev, 2011. 10: p. CD007751.



16. Shavandi, M., et al., *Genomic structure and promoter analysis of the dsz operon for dibenzothiophene biodesulfurization from *Gordonia alkanivorans* RIPI90A*. Appl Microbiol Biotechnol, 2010. 87(4): p. 1455-61.
17. Shay, J.W. and W.E. Wright, *Telomeres and telomerase in normal and cancer stem cells*. FEBS Lett, 2010. 584(17): p. 3819-25.
18. Shenoy, D.B. and M.M. Amiji, *Poly(ethylene oxide)-modified poly(epsilon-caprolactone) nanoparticles for targeted delivery of tamoxifen in breast cancer*. Int J Pharm, 2005. 293(1-2): p. 261-70.
19. Tamm, I., et al., *IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs*. Cancer Res, 1998. 58(23): p. 5315-20.
20. Tang, H., T. Sadaoka, and Y. Mori, *[Human herpesvirus-6 and human herpesvirus-7 (HHV-6, HHV-7)]*. Uirusu, 2010. 60(2): p. 221-35.
21. Tomren, M.A., et al., *Studies on curcumin and curcuminoids XXXI. Symmetric and asymmetric curcuminoids: stability, activity and complexation with cyclodextrin*. Int J Pharm, 2007. 338(1-2): p. 27-34.
22. Tyagi, A., et al., *Silibinin modulates TNF-alpha and IFN-gamma mediated signaling to regulate COX2 and iNOS expression in tumorigenic mouse lung epithelial LM2 cells*. Mol Carcinog, 2011.
23. Vial, Y., et al., *In vitro influence of fatty acids and bilirubin on binding of mycophenolic acid to human serum albumin*. J Pharm Biomed Anal, 2011. 54(3): p. 607-9.
24. Wongcharoen, W. and A. Phrommintikul, *The protective role of curcumin in cardiovascular diseases*. Int J Cardiol, 2009. 133(2): p. 145-51.
25. Yang, Y. and N. Calakos, *Munc13-1 is required for presynaptic long-term potentiation*. J Neurosci, 2011. 31(33): p. 12053-7.

## Investigation of Survivin and hTERT gene expression in human gastric adenocarcinoma cell line (AGS) treated by nano Curcumi006E

Ranji N.<sup>1</sup>, Padeganeh A.<sup>2</sup>, Sadeghizadeh D.<sup>3</sup> and Sadeghizadeh M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Genetics Dept., College of Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Genetics Dept., Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of Iran

<sup>3</sup> Genetics Dept., Tehran Branch, Medical Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

### Abstract

Dendrosomes are a family of rather new polymers that enhance solubility of insoluble or low soluble drugs in biological media. Curcumin is anti-cancer component by very low solubility in water that in this research transferred with dendrosome as a carrier to human Caucasian gastric adenocarcinoma cell line (AGS). In the present study, we transferred dendrosome formulation of curcumin to AGS cells. Then, apoptosis induction was investigated by propidium iodide staining. Also, transcript level of Survivin and hTERT genes was determined by semi-quantitative RT-PCR. Dendrosomal curcumin increased apoptosis induction in AGS cells in compared to free curcumin. Also, Semi-Q RT-PCR results exhibited the relative decrease of hTERT and survivin gene expression, which involved in cell proliferation and survival increasing. In this study was showed that dendrosomal curcumin induced apoptosis more than free curcumin in AGS cells. Therefore, dendrosome is a sufficient carrier for curcumin delivery to cells and this nanoparticle can be used for treatment and extinguish of cancer cells.

**Key words:** apoptosis, dendrosome, nanocurcumin, survivin and hTERT.