

Original Article

Effects of Nano-Niosomal Curcumin on Survival, Migration and DNA Fragmentation on A549 Lung Cancer Cells

Hamid Reza Moradi^{1*}, Gholamhossein Tondro², Mohammad Hasan Darvishi³, Sajad Sahab-Negah⁴, Ali Mohammadi⁵, Zabihollah Khaksar¹

1- Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

2- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Multiple Sclerosis Research Center, Neuroscience Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 2024-11-02

Accepted: 2025-02-01

Revised: 2025-01-31

Published: 2025-06-22

* E-mail: hr.moradi@shirazu.ac.ir

Abstract

Background: Active plant compounds, such as curcumin, are increasingly used in cancer treatment due to their anti-cancer properties and fewer side effects. This study aimed to evaluate the potential of curcumin-loaded niosomal nanoparticles (CM-NP) as a drug delivery system. The effects of CM-NP on cell survival, migration, and DNA damage were examined in the resistant A549 lung cancer cell line and compared to those of free curcumin (CM). **Methods:** A549 cells were treated with CM and CM-NP and assessed using MTT assay, DNA fragmentation analysis, and cell migration assays. To determine the IC₅₀ values, as well as the effects on cell proliferation and survival, cells were exposed to various concentrations of CM and CM-NP for 24, 48, and 72 hours. To assess DNA fragmentation, cells were stained with an acridine-orange solution. Cells were stained with acridine orange, then observed and counted under a fluorescence microscope to assess DNA fragmentation. Cell migration inhibition by CM and CM-NP was evaluated using a wound healing assay. **Results:** Treatment with both CM and CM-NP significantly decreased A549 cell proliferation in a time-dependent manner ($P < 0.05$). The IC₅₀ values of CM-NP and CM in A549 cells were 107.2 and 39.48 $\mu\text{g/mL}$, respectively, after 24 hours. After 24 hours, CM-NP treatment resulted in a significantly higher IC₅₀ value and greater DNA fragmentation compared to free CM and the control group ($P < 0.01$). Migration of A549 cells was significantly reduced in the CM-NP group compared to the CM group, with this effect being dependent on both dose and treatment duration ($P < 0.01$). **Conclusions:** The findings suggest that curcumin-loaded niosomes can serve as effective carriers for curcumin delivery in lung cancer therapy.

Keywords: Nano-niosomal curcumin, Curcumin, A549 cell, Lung cancer.



اثرات نانویوزوم کورکومین بر تکثیر، مهاجرت و آسیب DNA در رده سلولی A549 سرطانی ریه

حمید رضا مرادی^{۱*}، غلامحسین تندرو^۲، محمد حسن درویشی^۳، سجاد سحاب‌نگاه^۴، علی محمدی^۵، ذبیح‌اله خاکسار^۱

۱- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات نانویوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله، تهران، ایران.

۴- مرکز تحقیقات ام اس، انستیتو علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۵- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۰۸-۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۱۱-۱۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳-۱۱-۱۲ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴-۰۴-۰۱

*E-mail: hr.moradi@shirazu.ac.ir



چکیده

زمینه مطالعه: ترکیبات مؤثر گیاهی مانند کورکومین به دلیل خواص ضد سرطانی و عوارض جانبی کم به طور فزاینده‌ای برای درمان سرطان استفاده شده‌اند. به منظور ارزیابی بیشتر پتانسیل نانوذرات نیوزومی بارگذاری شده با کورکومین (CM-NP) به عنوان سیستم تحویل دارو، این مطالعه با هدف مطالعه اثرات آن بر بقا و مهاجرت سلولی و آسیب DNA در رده سلولی مقاوم سرطانی ریه A549 در مقایسه با اثرات کورکومین آزاد (CM) انجام شد. روش کار: سلول‌های A549 در مواجهه با CM و CM-NP قرار گرفتند و با روش‌های MTT، آسیب DNA و مهاجرت سلولی ارزیابی شدند. به منظور به دست آوردن IC50 داروها و تکثیر و بقای سلولی، سلول‌ها در مواجهه با غلظت‌های مختلف CM و CM-NP در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت قرار گرفتند. برای ارزیابی آسیب DNA از رنگ‌آمیزی آکریدین-اورنج استفاده شد. به منظور ارزیابی اثرات مهاري CM و CM-NP بر مهاجرت سلول‌های A549، از مدل مهاجرت بهبود زخم استفاده شد. نتایج: مواجهه با MC و CM-NP به طور معناداری تکثیر سلولی A549 را وابسته به زمان کاهش داد ($P<0/01$). مقادیر IC50 برای CM و CM-NP در سلول‌های A549 پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۰۷/۲ و ۳۹/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. CM-NP در مقایسه با MC موجب افزایش معنادار آسیب DNA در سلول‌های سرطانی A549 شد ($P<0/01$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد مهاجرت سلولی A549 در گروه CM-NP به طور چشمگیری کمتر از گروه CM بود، این تفاوت تحت تأثیر دوز و زمان قرار داشت ($P<0/01$). نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان گفت که نانویوزوم‌های کورکومین ممکن است به عنوان حامل‌های مطمئن‌تری برای تحویل کورکومین در درمان پزشکی سرطان ریه استفاده شوند.

کلمات کلیدی: نانویوزوم کورکومین، کورکومین، سلول A549، سرطان ریه.

مقدمه

بقا و مهاجرت سلولی و آسیب DNA در رده سلولی مقاوم سرطانی ریه A549 انجام شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نانونیوزوم کورکومین: به منظور سنتز فرمول نیوزوم، از توئین-۶۰ و کلسترول با روش هیدراتاسیون فیلم نازک استفاده شد (۱۰). به طور خلاصه، سوربیتان مونو استئارات (اسپن ۶۰، ۲۰۶ گرم)، توئین ۶۰ (نسبت ۱:۲ مولار، ۰٫۰۹۷ گرم)، کلسترول (۰٫۰۹۷ گرم)، و دی‌ستیل فسفات (سیگما، آلمان) وزن شد (۱/۰ مولار نسبت به درصد مولی دیواره) و در ۱۰ میلی لیتر از مخلوط اتانول-کلروفرم (۱:۲ v/v) حل شد. سپس، کورکومین (۱۰۰ میکرومولار؛ سیگما، آمریکا، Catalog No. 501837710) در مخلوط حل شد. پس از تبخیر حلال آلی در یک اواپراتور دوار (R-14® BUCHI, Rotavapor, آلمان) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، یک فیلم لایه‌نازک در فلاسک ته‌گرد تشکیل شد که با بافر فسفات سالین (PBS) با pH=4.7 آبرسانی مجدد شد. سپس، یک نیوزوم همگن توسط سونیکاسیون نیوزوم هیدراته (Sonopuls HD-3200, Bandelin, آلمان) در دامنه ۹۰ درصد، توان ۱۵۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز به مدت ۵ دقیقه (۳۰ ثانیه روشن و ۱۰ ثانیه خاموش) به دست آمد. نانونیوزوم کورکومین آماده‌شده به منظور ارزیابی بر روی سلول‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانونیوزوم کورکومین، مانند میانگین اندازه و ضریب پراکندگی، راندمان به دام انداختن و الگوی رهایش دارو با همان خصوصیات ذکر شده در مطالعه قبلی ما (۱۰) همخوانی داشت (جدول ۱).

ارزیابی تکثیر سلولی: به منظور ارزیابی تکثیر و بقا سلولی، از روش MTT (Anacell، ایران) استفاده شد. در یک پلیت کشت ۹۶ خانه، سلول‌های سرطانی A549 (بانک سلولی انستیتو پاستور، ایران) (CCL-185 ATCC) و سلول‌های سالم فیبروبلاست‌های درم انسانی HDFs (بانک سلولی انستیتو پاستور، ایران) (C-645 ATCC) در تراکم 1×10^4 سلول/چاهک (۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین) به مدت یک شبانه‌روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد CO₂ کشت داده شدند. به منظور

سرطان ریه بالاترین میزان مرگ‌ومیر و شیوع را در بین تمام تومورهای بدخیم در مردان و نیز رتبه دوم در زنان را دارد. براساس گزارش‌های اخیر، سرطان ریه موجب ۸٫۱ میلیون مرگ و نیز ۲ میلیون تشخیص در سراسر جهان می‌شود (۱، ۲). پرتودرمانی، جراحی و شیمی‌درمانی رایج‌ترین درمان‌های بالینی مرسوم برای سرطان‌های اولیه ریه هستند. با این حال، عوارض جانبی زیاد و اثربخشی درمانی ضعیف با شیمی‌درمانی کلاسیک اجتناب‌ناپذیر است (۳). در نتیجه، توسعه روش‌های جدید و شناسایی روش‌های درمانی جدید، کم‌هزینه، غیرتهاجمی و مؤثر برای درمان سرطان ریه ضروری است (۴، ۵). در سال‌های گذشته، ترکیبات مؤثر گیاهی مانند کورکومین به دلیل خواص ضد سرطانی و عوارض جانبی کم نسبت به داروهای سنتی به طور فزاینده‌ای برای درمان سرطان استفاده شده‌اند (۴، ۶). خواص ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد باکتریایی، ضد روماتیسمی و محافظت از کبد کورکومین نشان داده شده است (۷). به رغم خواص دارویی شناخته‌شده آن، به دلیل نقص‌هایی مانند حلالیت ضعیف در آب، متابولیسم زیاد، پاکسازی سریع سیستمی، جذب محدود سلولی، و تجزیه در pH بازی که همگی به فراهمی زیستی پایین آن مرتبط است، استفاده درمانی کورکومین با محدودیت مواجه است (۸). در نتیجه، محققان در پی یافتن راه‌هایی برای توزیع مؤثرتر کورکومین و بالا بردن فراهمی زیستی آن هستند. در چند سال اخیر، فناوری نانو به طور گسترده‌ای در بسیاری از مطالعات برای درمان سرطان‌های مختلف به کار گرفته شده است (۹، ۱۰). لیپوزوم‌ها، میسل‌ها، نانوذرات و نانولوبول‌ها به دلیل افزایش حلالیت، افزایش نیمه عمر، کاهش تجزیه سیستمی، توانایی هدف قرار دادن تقویت‌کننده‌ها و توانایی ارتقای درونی‌سازی سلولی به عنوان سیستم‌های دارورسانی برای انواع مختلف سرطان مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۱۰-۱۲).

توانایی نیوزوم‌ها در به دام انداختن مواد چربی‌دوست، آب‌دوست و آمفی‌دوست یکی از چشمگیرترین ویژگی‌های آن‌هاست. کورکومین بارگذاری‌شده در نانوذرات نیوزوم (CM-NP) به طور چشمگیری خواص ضد سرطانی کورکومین در مقابل سلول‌های گلیوبلاستوما را افزایش داد (۴، ۱۰). به منظور ارزیابی بیشتر پتانسیل CM-NP به عنوان سیستم تحویل دارو، این مطالعه با هدف مطالعه اثرات آن بر

جدا شده با ۱۰۰ میکرولیتر PBS شست‌وشو داده شدند. سلول‌ها در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری به مدت ۵ دقیقه در دور 400g سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی مجدداً در ۲۵ میکرولیتر PBS سرد معلق شدند و اسمیر سلولی بر روی لام‌های تمیز تهیه و در مجاورت هوا خشک شد. برای ارزیابی آسیب DNA توسط میکروسکوپ فلورسنت، اسمیرهای سلولی به مدت ۱۰ دقیقه در محلول کارنوی (متانول و اسید استیک به نسبت ۱ به ۳) فیکس شدند. سپس، لام‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول آکریدین-اورنج (۱۰۰ گرم/میلی‌لیتر آکریدین-اورنج در PBS) رنگ‌آمیزی و به آرامی با آب مقطر شسته شدند. در مرحله بعد سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت Zeiss با بزرگ‌نمایی $\times 400$ با فیلتر ۴۶۰ نانومتر مشاهده و شمارش شدند. از هر اسلاید ۲۰۰ سلول (۳ اسلاید برای هر نمونه) ارزیابی شدند. سلول‌های دارای DNA سالم با رنگ سبز و سلول‌های دارای DNA آسیب‌دیده با رنگ زرد تا قرمز مشخص شدند. تصاویر با دوربین میکروسکوپی دیجیتال (True-Chrome II، آمریکا) تهیه شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism software (version 8) تجزیه و تحلیل آماری شدند. برای مقایسه میانگین‌ها در گروه‌های مختلف از آنالیز واریانس یک طرفه (AVONA) و پس‌آزمون Tukey استفاده شد. برای تحلیل نتایج مهاجرت سلولی از repeated-measure ANOVA دوطرفه با آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. نهایتاً، داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) با سطح معناداری $P \geq 0/05$ ارائه شدند.

نتایج

ویژگی‌های نانویوزوم کورکومین: روش هیدراتاسیون فیلم نازک برای ایجاد نانوذرات نیوزوم بارگذاری شده با کورکومین با هدف ایجاد یک سیستم مؤثر برای تجویز کورکومین استفاده شد. خصوصیات داروشناسی نانویوزوم کورکومین (جدول ۱) را همکاران ما قبلاً ارائه کرده‌اند (۰۱).

مهار تکثیر و زنده‌مانی رده سلولی A549 توسط نانویوزوم کورکومین: پس از ۲۴ ساعت مواجهه با نانویوزوم کورکومین، بیشتر سلول‌های سرطانی A549 به صورت چروک‌خورده و جدا شده از کف فلاسک مشاهده شدند (شکل ۱). پس از انکوبه کردن سلول‌های A549 با غلظت‌های مختلف کورکومین آزاد و نانویوزوم کورکومین به مدت

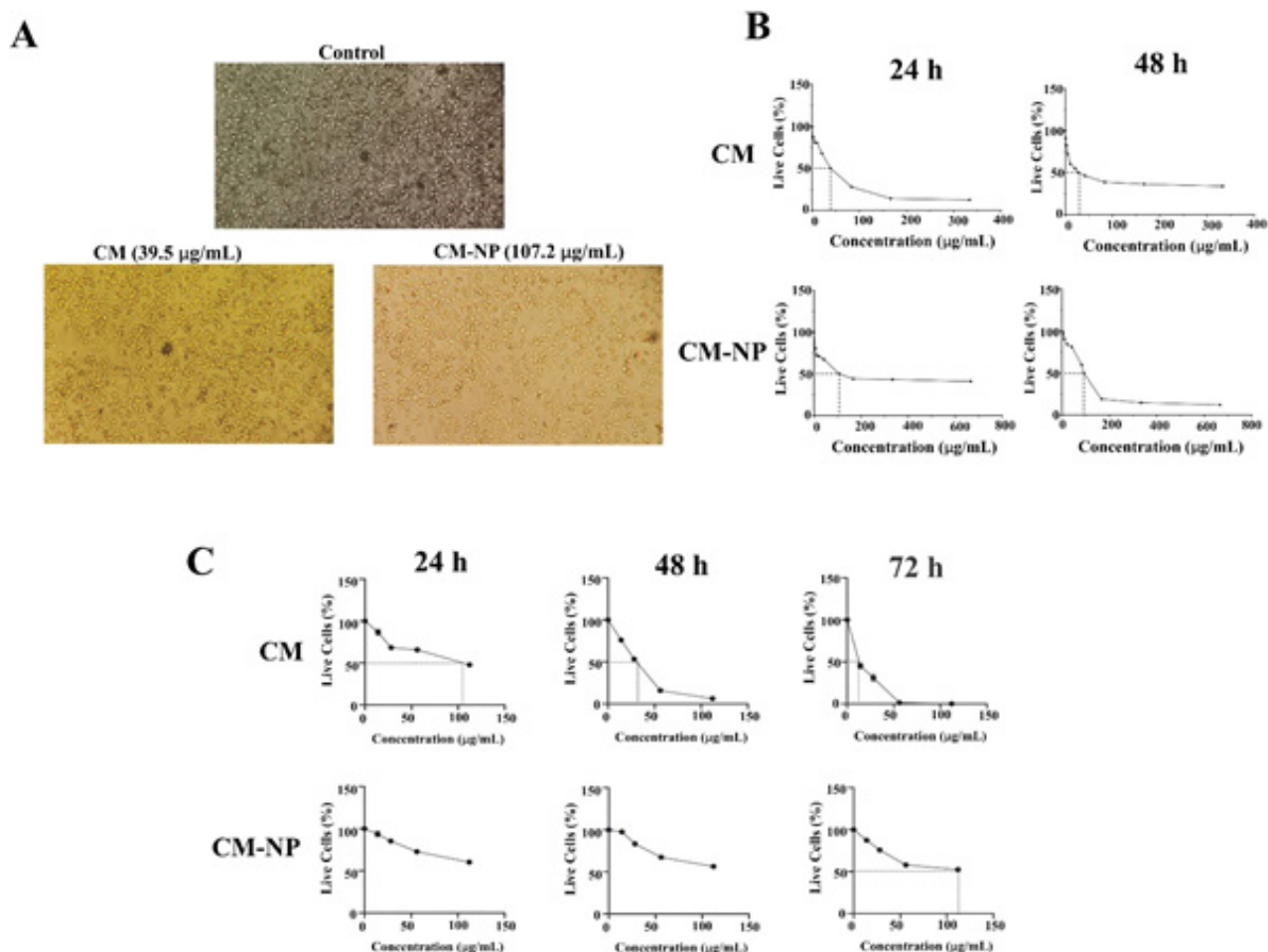
به دست آوردن IC50 داروها، سلول‌ها در مواجهه با غلظت‌های مختلف کورکومین آزاد و نیز نانویوزوم کورکومین در غلظت‌های (۶۶۶، ۳۳۳، ۱۶۶، ۸۳، ۴۱، ۲۰، ۱۰، ۵، ۲، ۱، ۰٫۵ و ۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای سلول‌های A549) و (۱۱۲، ۵۶، ۲۸ و ۱۴ میکروگرم در میلی‌لیتر برای سلول‌های HDF) در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت به منظور تیمار سلول‌های A549 و ۲۴ و ۴۸ ساعت برای سلول‌های HDF قرار گرفتند. سپس، برای اندازه‌گیری MTT، محیط رویی چاهک‌ها حذف شد و ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT به هر چاهک اضافه شد. پس از ۳ ساعت انکوباسیون (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO2)، مایع رویی حذف و با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) در هر چاهک بلورهای فورمازان حل شدند. در نهایت، پلیت کشت سلول ۹۶ خانه به مدت ۳۰ دقیقه شیک شد و با طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط الیزا ریدر Stat FAX 303 (آمریکا) خوانده شد.

ارزیابی مهاجرت سلولی: به منظور ارزیابی اثرات مهار کورکومین آزاد و نانویوزوم کورکومین بر مهاجرت سلول‌های A549، از مدل مهاجرت بهبود زخم استفاده شد. به طور خلاصه، نوک پیپت استریل ۱۰۰ میکرولیتری برای خراش دادن یک خط مستقیم در سراسر سلول‌های تک‌لایه کشت شده (با تراکم ۹۰٪) در هر چاهک پلیت ۲۴ خانه (۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین) استفاده شد. سپس، بقایای سلولی با PBS شسته شدند. سلول‌ها با غلظت‌های مختلف کورکومین آزاد (۹/۶۶ و ۴/۸۸ و ۲/۴۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و نانویوزوم کورکومین (۱۶/۶۶، ۸/۳۳ و ۴/۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۷۲ ساعت انکوباسیون (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO2) شدند. با استفاده از میکروسکوپ اینورت و لنز دیجیتال Dino-Lite، میانگین فاصله بین لبه‌های خراش در فواصل زمانی ۴، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شدند.

ارزیابی آسیب DNA: بدین منظور، رده سلولی A549 با تراکم 1×10^6 سلول/چاهک در یک پلیت ۶ خانه (۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین) کشت شد و با غلظت‌های ۴۸، ۳۹ میکروگرم/میلی‌لیتر کورکومین و ۲، ۱۰۷ میکروگرم/میلی‌لیتر نانویوزوم کورکومین به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO2) شدند. سپس، مایع رویی و سلول‌های

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانونیوزوم کورکومین

Character	Method	Description
Monodisperse size	TEM image	60 nm
Average size	DLS method	90 nm
heterogeneity index	DLS method	0.2±0.002
Zeta potential	ELS method	- 35mV
Entrapment efficiency	Spectrophotometry method	80%
in vitro release profile (24h)	direct dispersion method	14.5%
C–O–C interactions	FTIR spectra method	1104 cm–1
Thermal characterization	DSC thermogram method	endothermic peak at 45 °C

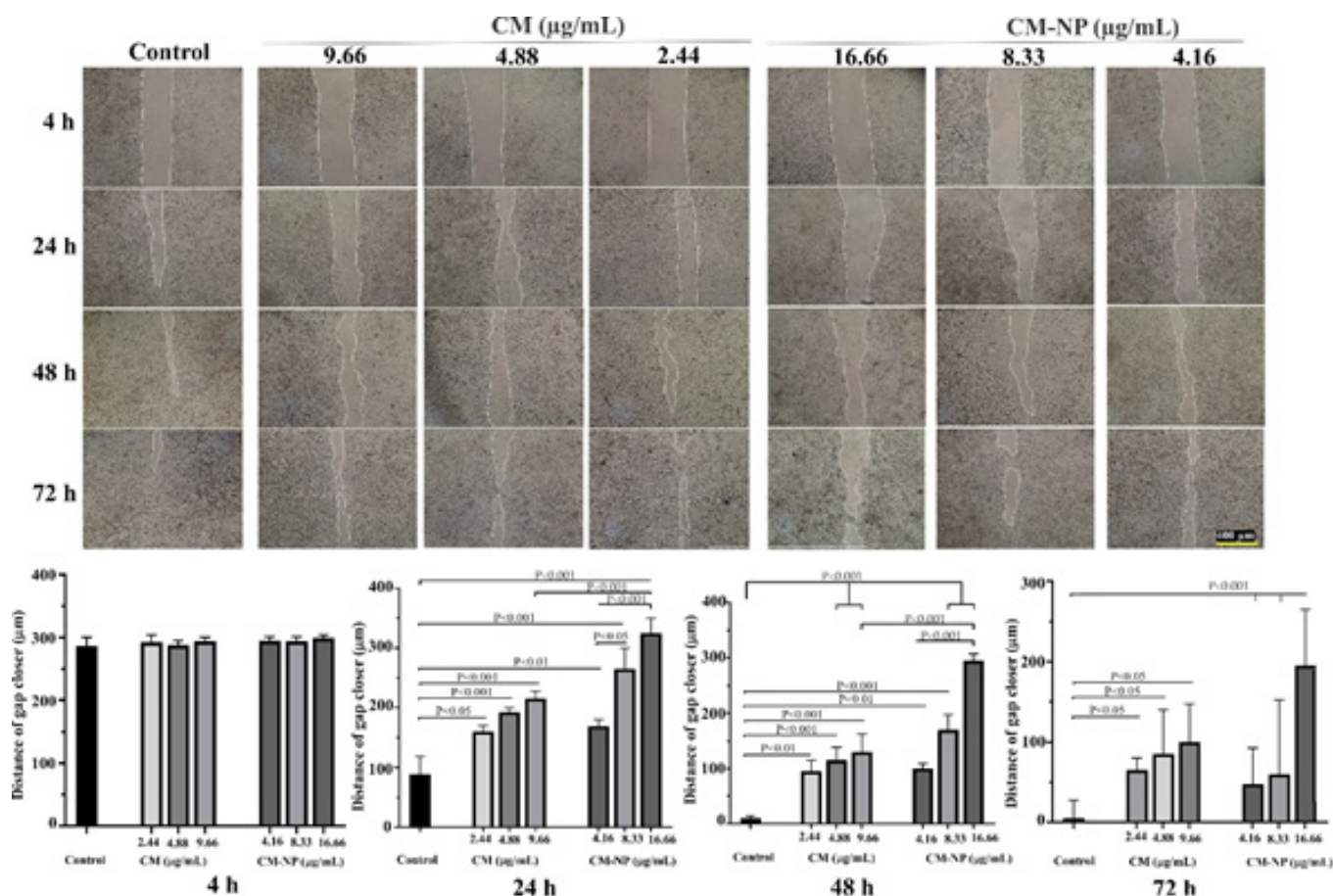


شکل ۱- تأثیر نانونیوزوم کورکومین (CM-NP) و کورکومین (CM) بر تکثیر سلول‌های A549 و HDF (روش MTT). (A) تصویر میکروسکوپی از سلول‌های A549 پس از ۲۴ ساعت مواجهه با غلظت ۱۰۷/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر CM-NP و ۳۹/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر CM. (B) برای تعیین IC50 داروها، درصد سلول‌های زنده A549 پس از ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت مواجهه با غلظت‌های مختلف CM و CM-NP بررسی شد. (C) مقادیر IC50 برای سلول‌های HDF با محاسبه درصد سلول‌های زنده پس از مواجهه با غلظت‌های مختلف CM و CM-NP برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ارزیابی شد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) ارائه شده است.

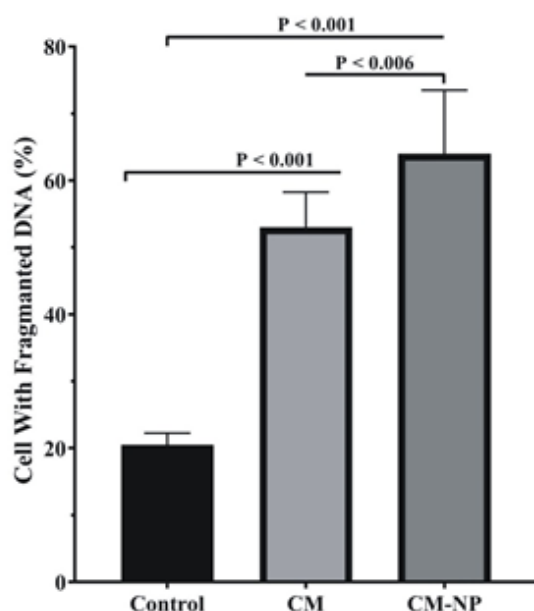
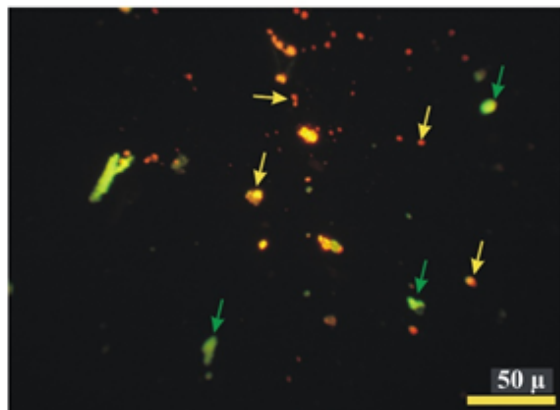
۱۳/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بود. همچنین، مقادیر IC50 نانویوزوم کورکومین بر روی سلول‌های HDF به ترتیب ۱۴۳/۴۱، ۱۲۷/۹۷ و ۱۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بود (شکل ۱). مقادیر ۳۹/۴۸ و ۱۰۷/۲ تا ۹۹/۵۷ و ۱۴۳/۴۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب، برای ارزیابی‌های بیشتر اثرات CM و CM-NP به دلیل غلظت کشنده آن‌ها بر روی سلول‌های سالم HDF استفاده شد.

مهار مهاجرت رده سلولی A549 توسط نانویوزوم کورکومین: پس از ۲۴ ساعت، مهاجرت سلول‌های A549 به‌طور معناداری توسط CM و CM-NP در تمام دوزها در مقایسه با نمونه‌های کنترل مهار

۲۴ و ۴۸ ساعت، تکثیر سلولی با استفاده از روش MTT ارزیابی شد. قرار گرفتن سلول‌های A549 با CM و CM-NP موجب کاهش چشمگیری در تکثیر سلولی به‌صورت وابسته به دوز و زمان شد (شکل ۱). مقادیر IC50 کورکومین روی سلول‌های A549 به ترتیب ۳۹/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۲۸/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت مشاهده شد. همچنین، شکل ۱ نشان می‌دهد که مقادیر UC50 نانویوزوم کورکومین روی سلول‌های A549 به ترتیب ۱۰۷/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۹۱/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت مشاهده شد. در ارزیابی MTT بر روی سلول‌های سالم HDF، مقادیر IC50 کورکومین به ترتیب ۹۹/۵۶، ۳۲/۵ و



شکل ۲- تأثیر نانویوزوم کورکومین (CM-NP) و کورکومین (CM) بر مهاجرت سلول‌های A549 (روش ترمیم زخم). در همه دوزها، CM و CM-NP به‌طور معناداری مهاجرت سلولی A549 را پس از ۲۴ ساعت مواجهه در مقایسه با نمونه‌های کنترل مهار کردند. پس از ۴۸ ساعت، مهاجرت سلول‌های A549 در گروه‌های CM با غلظت‌های ۹/۶۶ و ۴/۸۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و نیز گروه‌های CM-NP با غلظت‌های ۱۶/۶۶ و ۸/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه مواجهه‌نشده به‌طور معناداری مهار شد. در نهایت پس از ۷۲ ساعت، مهاجرت سلولی A549 به‌طور معناداری توسط CM-NP با غلظت ۱۶/۶۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه‌های CM و مواجهه‌نشده مهار شد. همان‌طور که در تصاویر نیز قابل مشاهده است مهاجرت سلولی A549 در گروه CM-NP به‌طور چشمگیری کمتر از گروه CM مشاهده شد، و این تفاوت تحت تأثیر دوز و مدت مواجهه قرار داشت. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) ارائه شده است.



شکل ۳- تأثیر نانونیوزوم کورکومین (CM-NP) و کورکومین (CM) بر آسیب DNA سلول‌های A549 (با روش رنگ‌آمیزی آکریدین - اورنج). سلول‌های A549 با DNA آسیب‌دیده در مواجهه با مقادیر 0.5IC از PN-MC در مقایسه با گروه‌های CM و کنترل پس از ۲۴ ساعت به‌طور معناداری افزایش یافت. سلول‌های با DNA سالم (فلش‌های سبز) و با DNA آسیب‌دیده (فلش‌های زرد) در رنگ‌آمیزی آکریدین- اورنج قابل مشاهده هستند. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) ارائه شده است.

۱۵). در مطالعه حاضر، CM-NP در مقایسه با کورکومین آزاد به‌طور قابل توجهی سمیت سلولی بیشتری را برای سلول‌های سرطانی A549 نشان داد. در مطالعات مشابه، گزارش شده است که فعالیت ضد توموری سایر اشکال نانوذرات کورکومین (مثلاً، نانولیپوزوم) تا حدی بهتر از کورکومین آزاد است (۱۵). نیوزوم به‌عنوان یک سیستم ذخیره‌سازی و متعاقباً رهاسازی کنترل‌شده و پایدار مواد می‌تواند نویدبخش تحویل هدفمند ترکیبات دارویی باشد (۱۳، ۱۶).

شد ($P < 0/001$). مهاجرت سلول‌های A549 در غلظت‌های ۹/۶۶ و ۴/۸۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای CM و ۱۶/۶۶ و ۸/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای CM-NP در مقایسه با نمونه‌های درمان‌نشده پس از ۴۸ ساعت به‌طور معناداری مهار شد ($P < 0/001$). علاوه‌براین، مهاجرت سلولی A549 به‌طور معناداری توسط ۱۶/۶۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر CM-NP در مقایسه با گروه‌های CM و تیمارنشده پس از ۷۲ ساعت مهار شد ($P < 0/001$). مهاجرت سلولی A549 در گروه CM-NP به‌طور چشمگیری کمتر از گروه CM بود، این تفاوت تحت تأثیر دوز و زمان قرار داشت (شکل ۲).

جلوگیری از آسیب DNA رده سلولی A549 توسط نانونیوزوم کورکومین: همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، آسیب DNA در سلول‌های A549 در مواجهه با ۱۰۷/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر CM-NP (۶۶/۳٪) در مقایسه با ۳۹/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر CM (۵۴/۲٪) پس از ۲۴ ساعت به‌طور معناداری کاهش نشان داد ($P < 0/01$). علاوه‌براین، یکپارچگی و کیفیت DNA در سلول‌های A549 مواجهه‌شده با CM-NP و CM به‌طور معناداری کمتر از سلول‌های کنترل بود ($P < 0/001$) (شکل ۳).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که سمیت سلولی کورکومین پس از بارگذاری با نانوذرات نیوزوم به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. در مقایسه با کورکومین، CM-NP به کاهش مؤثرتری در بقا، مهاجرت و تکثیر سلول‌های A549 منجر شد. نانونیوزوم‌های کورکومین ترکیبات ایمن و بالقوه‌ای هستند که اثرات اندکی بر سلول‌های سالم دارند و در مقایسه با کورکومین آزاد می‌توانند اثرات ضد توموری بر رده‌های سلولی سرطانی داشته باشند. در چند سال گذشته، انواع گوناگونی از نانوذرات برای هدف قرار دادن و از بین بردن سلول‌های سرطانی ایجاد شده‌اند. باین‌حال، فرمولاسیون هیچ‌یک از این نانوذرات برای حلالیت، کارایی، فراهمی زیستی یا ایمنی کورکومین ایده‌آل نبوده‌اند (۱۰، ۱۱، ۱۳). روش تحویل دارو توسط نیوزوم‌ها موجب ارتقای کارایی و کاهش سمیت دارو با تحویل دقیق به بافت هدف، افزایش پایداری و بهبود توانایی نفوذ دارو می‌شود (۱۴).

گزارش شده است که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی CM-NP‌ها این است که قابل نفوذ، پایدار و ارزان هستند و می‌توان از آن‌ها برای تحویل هدفمند کورکومین به سلول‌های سرطانی استفاده کرد (۱۰،

درمان پزشکی سرطان ریه استفاده کرد. با این حال، هنگام تفسیر این یافته‌ها باید احتیاط کرد، و ارزیابی‌های بیشتر سلولی و مولکولی از قبیل شناسایی مسیرهای مختلف سیگنال‌دهی تحت تأثیر نانونیوزوم‌های کورکومین همراه با مطالعات *in vivo* به منظور درک بهتر اثرات ضد توموری آن‌ها بر سرطان ریه مدنظر قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت مالی شورای پژوهشی دانشگاه شیراز کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع از سوی نویسندگان بیان نشده است.

فهرست منابع

- 1-Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Aluru JS, Barsouk A. Epidemiology of lung cancer. Contemporary Oncology. 2021;25(1):45-52.
- 2-Yang C-L, Ma Y-G, Xue Y-X, Liu Y-Y, Xie H, Qiu G-R. Curcumin induces small cell lung cancer NCI-H446 cell apoptosis via the reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway and not the cell death receptor pathway. DNA Cell Biol. 2012;31(2):139-50.
- 3-Wang A, Wang J, Zhang S, Zhang H, Xu Z, Li X. Curcumin inhibits the development of non-small cell lung cancer by inhibiting autophagy and apoptosis. Exp Ther Med. 2017;14(5):5075-80.
- 4-Tondro G, Darvishi MH, Sahab-Negah S, Rajabzadeh G, Mohammadi A, Khaksar Z, et al. Comparative Effects of Curcumin Nano-Niosomes and Free Curcumin on Apoptosis, Intracellular ROS, and STAT3/NF- κ B Signaling Pathway in A549 Lung Cancer Cells. JVR. 2024;79:157-65.
- 5-Tondro G, Rajabzade G, Mohammadi A, Moradi H, Sahab Negah S. Anti-inflammatory effects of nano-curcumin on a glioblastoma cell line. Shefaye Khatam. 2022;10(3):48-56.
- 6-Zhang T, Chen Y, Ge Y, Hu Y, Li M, Jin Y. Inhalation treatment of primary lung cancer using liposomal curcumin dry powder inhalers. APSB. 2018;8(3):440-8.
- 7-Safari S, Davoodi P, Soltani A, Fadavipour M, Rezaeian A, Heydari F, et al. Curcumin effects on chronic obstructive pulmonary disease: A systematic review. Health Sci Rep. 2023;6(3):e1145.
- 8-Xu Y-Q, Chen W-R, Tsosie JK, Xie X, Li P, Wan J-B, et

لذا کپسوله کردن کورکومین توسط نیوزوم می‌تواند انتقال کورکومین را به سلول‌های سرطانی افزایش دهد (۱۷، ۱۸). ما در مطالعه حاضر، به منظور کاهش سمیت سلولی و ارزیابی بهتر رفتار سلولی در پارامتر مهاجرت، نانونیوزوم کورکومین و کورکومین آزاد در غلظت‌های پایین‌تر استفاده شدند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که ۱۰۷/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر غلظت ایده‌آل CM-NP برای تحقیقات مشابه است. در نتیجه، با فرمول نیوزوم می‌توان مقدار کورکومین بیشتری به سلول‌های سرطانی تحویل داد، در حالی که هم‌زمان آسیب حداقلی به سلول‌های سالم برسد. مطابق با یافته‌های این مطالعه، سمیت سلولی کورکومینوئیدهای مختلف بر روی سلول‌های A549 قبلاً گزارش شده است (۱۹-۲۱).

مطالعه حاضر نشان داد که اثرات درمانی CM-NP بر بقا، تکثیر و رشد سلول‌های A549 بیشتر از کورکومین در شکل آزاد آن است. اثرات بازدارندگی بیشتر ناشی از CM-NP بر رشد و زنده ماندن سلول‌های A549 را می‌توان به تأثیر احتمالی آپوپتوز، رشد سرکوب‌شده و تنظیم مسیرهای مختلف سیگنال‌دهی ضد تومور نسبت داد که مستلزم ارزیابی‌های دقیق مدنظر است. به طور کلی، عملکرد برتر نانونیوزوم‌های حاوی کورکومین نسبت به کورکومین آزاد در درمان سلول‌های سرطانی را می‌توان به افزایش فراهمی زیستی، بهبود جذب سلولی، مکانیسم‌های آزادسازی کنترل‌شده، اثرات هم‌افزایی با سایر روش‌های درمانی و افزایش زیست‌سازگاری نسبت داد. این عوامل در مجموع به استراتژی‌های مؤثرتر درمان سرطان کمک می‌کنند و فرمول‌های نانونیوزومی را به عنوان کاندیدهای امیدوارکننده برای درمان‌های سرطان‌شناسی آینده قرار می‌دهند (۲۲-۲۳).

برای اولین بار در مطالعه حاضر، نتایج آسیب DNA با استفاده از رنگ‌آمیزی آکریدین-اورنج توسط میکروسکوپ فلورسانس نشان داد که یکپارچگی DNA و کیفیت کروماتین در سلول‌های A549 مواجهه‌شده با CM-NP در مقایسه با سلول‌های تیمار شده با کورکومین آزاد به طور چشمگیری کمتر بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات کورکومین می‌توانند راحت‌تر به غشای سلولی نفوذ کنند و آسیب بیشتری به یکپارچگی DNA و کیفیت کروماتین نسبت به کورکومین آزاد وارد کنند. بنابراین، CM-NP‌ها ممکن است بیشتر از کورکومین آزاد باعث القای آپوپتوز در سلول‌های A549 شوند.

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان گفت که نانونیوزوم‌ها را می‌توان به عنوان حامل‌های مطمئن‌تری برای تحویل کورکومین در

- al. Niosome encapsulation of curcumin: characterization and cytotoxic effect on ovarian cancer cells. *J Nanomater.* 2016;2016(1):6365295.
- 9-Moradi HR, Hajali V, Khaksar Z, Vafae F, Forouzanfar F, Negah SS. The next step of neurogenesis in the context of Alzheimer's disease. *Mol Biol Rep.* 2021;48(7):5647-60.
- 10-Sahab-Negah S, Ariakia F, Jalili-Nik M, Afshari AR, Salehi S, Samini F, et al. Curcumin loaded in niosomal nanoparticles improved the anti-tumor effects of free curcumin on glioblastoma stem-like cells: an in vitro study. *Mol Neurobiol* 2020;57:3391-411.
- 11-Ahmad MZ, Alkahtani SA, Akhter S, Ahmad FJ, Ahmad J, Akhtar MS, et al. Progress in nanotechnology-based drug carrier in designing of curcumin nanomedicines for cancer therapy: current state-of-the-art. *J Drug Target.* 2016;24(4):273-93.
- 12-Yao Y, Zhou Y, Liu L, Xu Y, Chen Q, Wang Y, et al. Nanoparticle-based drug delivery in cancer therapy and its role in overcoming drug resistance. *Front Mol Biosci.* 2020;7:193.
- 13-Jyoti K, Pandey RS, Madan J, Jain UK. Inhalable cationic niosomes of curcumin enhanced drug delivery and apoptosis in lung cancer cells. *Indian J Pharm Educ Res.* 2016;50(2s):S21-31.
- 14-Maiti P, Scott J, Sengupta D, Al-Gharaibeh A, Dunbar GL. Curcumin and solid lipid curcumin particles induce autophagy, but inhibit mitophagy and the PI3K-Akt/mTOR pathway in cultured glioblastoma cells. *Int J Mol Sci.* 2019;20(2):399.
- 15-Kazi KM, Mandal AS, Biswas N, Guha A, Chatterjee S, Behera M, et al. Niosome: a future of targeted drug delivery systems. *JAPTR.* 2010;1(4):374-80.
- 16-Bisht S, Feldmann G, Soni S, Ravi R, Karikar C, Maitra A, et al. Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. *J Nanobiotech.* 2007;5:1-18.
- 17-Mohamad Saimi NI, Salim N, Ahmad N, Abdulmalek E, Abdul Rahman MB. Aerosolized niosome formulation containing gemcitabine and cisplatin for lung cancer treatment: Optimization, characterization and in vitro evaluation. *Pharmaceutics.* 2021;13(1):59.
- 18-Perry MC, Demeule M, Régina A, Moumdjian R, Béliveau R. Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in glioblastoma xenografts. *Mol Nutr Food Res.* 2010;54(8):1192-201.
- 19-Barani M, Mirzaei M, Torkzadeh-Mahani M, Lohrasbi-Nejad A, Nematollahi MH. A new formulation of hydrophobin-coated niosome as a drug carrier to cancer cells. *Mater Sci Eng C.* 2020;113:110975.
- 20-Zhou G-Z, Zhang S-N, Zhang L, Sun G-C, Chen X-B. A synthetic curcumin derivative hydrazinobenzoylcurcumin induces autophagy in A549 lung cancer cells. *Pharm Biol.* 2014;52(1):111-6.
- 21-Zhou GZ, Sun GC, Zhang SN. The interplay between autophagy and apoptosis induced by one synthetic curcumin derivative hydrazinobenzoylcurcumin in A549 lung cancer cells. *J Biochem Mol Toxicol.* 2015;29(6):267-73.
- 22-Hafez Ghoran S, Calcaterra A, Abbasi M, Taktaz F, Nieselt K, Babaei E. Curcumin-Based Nanoformulations: A Promising Adjuvant towards Cancer Treatment. *Molecules.* 2022;27(16):5236.
- 23-Boroughani M, Moaveni AK, Hatami P, Mansoob Abasi N, Seyedoshohadaei SA, Pooladi A, et al. Nanocurcumin in cancer treatment: a comprehensive systematic review. *Discov Oncol.* 2024; 15(1):515.