Research Paper

Study of Cytotoxic Effects of Caffeine- Loaded Niosomes on Human Breast Cancer Cells MCF-7

Nakisa Zarrabi Ahrabi[1*], Seyed Mehdi Tabaie[2], Maryam Jahanshiri Moghadam[3]

1. Assistant Professor, Cellular and molecular sciences, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate Professor, Dermatologist, Department of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran
3. M.Sc, Cellular and molecular sciences, Department of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran

Received: 2021/06/26 **Accepted:** 2021/09/11

Abstract

Introduction: The use of nanoparticles in biomedical research have been increasingly developed in recent years. One of the applications of nanotechnology is the use of compounds such as hydrogels, micelles, nanoliposomes, nanofibers and niosomes as a delivery system to treat cancer. The aim of this study was to evaluate the ant antitumor effect of the caffeine-loaded niosomes on MCF-7 human breast cancer cell line.

Materials and Methods: The thin film hydrate on method was used to prepare caffeine-loaded niosomes. Certain amounts of surfactant, caffeine and cholesterol were dissolved in ethanol. Rotary evaporation was used to remove solvent from reaction mixture. Sample was dissolved in the phosphate buffer and homogenized with sonicator. The average diameters of caffeine-loaded niosomes were measured using a Zetasizer Nano system. Finally, the cytotoxicity effect was evaluated by MTT assay.

Results: The treatment of breast cancer cells with different concentrations of *nano-sized drug* and free drug showed that the nanoparticles had the ability to inhibit the MCF7 proliferation more than free drug. 0.25 mg/ml of niosomal *drug* had a greater effect on reducing of cancer cells viability.

Conclusion: Vesicular nanoparticles are complex systems with some advantages and disadvantages which sets these delivery systems apart from other colloid system. Vesicular nanoparticle is being developed as new drug delivery system for cancer treatment.

***Corresponding Author:** Nakisa Zarrabi Ahrabi
Address: Assistant Professor, Cellular and molecular sciences, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Tel: +982144600070
E-mail: na_zarrabi@yahoo.com

Keywords: Niosomes, Cytotoxic, MTT, Caffeine, Breast Cancer Cell Line MCF7

How to cite this article: Zarrabi Ahrabi N., Tabaie S.M., Jahanshiri Moghadam M. Study of Cytotoxic Effects of Caffeine- Loaded Niosomes on Human Breast Cancer Cells MCF-7, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2021; 28(4):663-674.

Copyright © 2021 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

The use of nanoparticles in biomedical research have been increasingly developed in recent years. One of the applications of nanotechnology is the use of compounds such as hydrogels, micelles, nanoliposomes, nanofibers and niosomes as a delivery system to treat cancer.

The aim of this study was to evaluate the ant antitumor effect of the caffeine-loaded niosomes on MCF-7 human breast cancer cell line. Drug delivery systems are developed to improve the pharmacological and therapeutic properties of drugs used in patients and often contain the drug as a reservoir. These routes are a promising alternative to injectable drug delivery, especially for peptide and protein drugs. For this purpose, several drug delivery systems including liposomes, proliposomes, gels, prolines, niosomes, etc. have been developed that depending on their production method, different shapes and sizes of particles can be produced. The preparation of nanoparticle particles increases their surface area and increases the possibility of their reaction with organic and inorganic molecules. Drug delivery is one of the main challenges of pharmaceutical biotechnology. Nanocarriers have been shown to be able to deliver drugs to target cells. One of the lipid nanocarriers is the niosome. One of the reasons for choosing caffeine for this study is the unique property of caffeine, which is a crystalline and bitter alkaloid and a member of the methylxanthine family, which is anti-inflammatory. Theobromine and theophylline are metabolized, which also have major effects on the nervous system and immune system.

Methodology

TCaffeine, Span 80, Cholesterol, Chloroform, Tween40 from Merck and MTT solution (0.5 mg / ml) used in this study from Sigma Aldrich and RPMI 1640 from Invitrogen and MCF7 cell line from Pasteur Institute Cell Bank Iran (IR.acer.pastor.rec.1395.128) was prepared. MCF7 breast cancer cells were selected due to their ease of preparation and high metabolic activity and were examined using a light microscope model (German Kern) with 10X and 20X lenses. These MCF7 cancer cells are a good model for examining the effect of drugs on my cancer cells and are easily supplemented in 96 house plates. Caffeine stock preparation: To make a drug stock, weigh 2 mg / ml of caffeine drug and after adding 1 cc of PBS buffer and placing it on a stereo at 100RPM, it was dissolved at room temperature. Choosing the right surfactant: Span is one of the most common surfactants used to make newsomes. The thin film hydrate on method was used to prepare caffeine-loaded niosomes. Certain amounts of surfactant, caffeine and cholesterol were dissolved in ethanol. Rotary evaporation was used to remove solvent from reaction mixture. Sample was dissolved in the phosphate buffer and homogenized with sonicator. The average diameters of caffeine-loaded niosomes were measured using a Zetasizer Nano system. Finally, the cytotoxicity effect was evaluated by MTT assay.

Result

MTT assay can measure proliferation rate, decreased cell proliferation rate, or cell mortality. MCF7 class cancer cells at concentrations of 0.05, 0.1, 0.2, and 0.25 mg / ml. Ml were treated and analyzed by nanosomal caffeine drug and caffeine free drug in plates of 96 houses. For this purpose, first ten thousand MCF7 cancer cells in a volume of 100 microliters of culture medium were added to each well in 96 cells. The container was then incubated for 24 and 48 hours under 5% CO2 incubator, 100% humidity and 37 ° C. After this time, the desired concentrations of caffeine-containing nanosystem nanoparticles were added to the wells. Then incubation was performed with CO2 conditions of 5%, humidity 100% and temperature of 37 ° C for 24 and 48 hours. After the incubation time, 10 µl of MTT solution was added to each well and the vessel was incubated again in the CO2 incubator for 3 hours. After incubation time, the culture medium of the wells was completely drained and 100 µl of DMSO solvent was added to each well. Then, the culture vessel was incubated for one hour in dark conditions and after the end of the incubation period, the absorption of the wells was read by the Alizarider at a wavelength of 570 nm.

The amount of 100 µl of the nanomedicine made with PBS buffer was diluted and measured by a zetasizer and then the drug was prepared for dialysis. In order to determine the amount of drug trapped inside the neosomal vesicles, the drug

made with isopropanol solvent was diluted in a ratio of 1: 40 and its absorption at 273 nm was measured by spectrophotometer. The drug uptake was equal to 0.439A.The release rate of trapped drug from the niosome was determined by membrane diffusion technique. The neosomal suspension equivalent to 4 mg of caffeine neosomal vesicles was poured into a dialysis bag (cut off 12000Da, sigma). The dialysis bag was immersed in a container containing 20 ml of phosphate buffer (pH 4.7) and placed on a magnetic stirrer at 37 ° C. At specified intervals, 2 ml of phosphate buffer is removed and replaced with an equal volume of fresh phosphate buffer. In this way, the dialysis medium was changed and fresh medium was added and the free drug was isolated. Determination of drug retention efficiency: In order to determine the retention efficiency of the drug (percentage of accumulation), after separating the free drug from the prepared nosomes, 50 µl of the contents of the dialysis bag was poured into a falcon and 950 µl of isopropanol was added to it. The drug was diluted 1:40 and its absorbance was measured by a UV-VIS spectrophotometer at 273 nm.Investigation of cells in terms of growth and morphological characteristics. The cells were observed daily under an inverted microscope and images of the cells were recorded. These cells had a high rate of proliferation and growth. It was necessary to change the culture medium of these cells once every three days, and when they reached a density of 80%, a cell passage was performed for them in a ratio of 1: 3. Also, at this stage, the culture vessels were treated daily. Bacterial and fungal contamination were evaluated under a microscope and no contamination was observed during culture and the cells were in good condition in terms of culture conditions. The results were that after 24 hours of treatment, caffeine-free drug in these 4 concentrations of 0.05, 0.1, 0.2 and 0.25 mg / ml did not have much effect on the cells, but the neosomal drug in all four concentrations caused cell death. Concentration of 0.25 mg / ml of nanosystem drug had a greater effect on cancer cells. Images of free and nosomal-treated cells are shown in Figure 3.

Discussion

In classical drug delivery systems, the drug is distributed aimlessly and generally throughout the body, and the cells take some of the drug from the blood based on their position relative to the drug. As a result, part of the drug is removed without using the body. However, in modern drug delivery methods, small amounts of effective substance can be delivered to the target point by appropriate carriers designed to reach the target cells with minimal side effects and maximum efficiency. Today, nanostructures are used as carriers of drug, gene delivery as well as modeling of cell membranes in both animals and humans. The ability of these nanostructures to encapsulate large amounts of drugs, minimize unwanted side effects, high efficacy and low toxicity has attracted the interest of researchers. Researchers have studied the transport of anti-cancer drugs by these nanocarriers. The results of this study showed that by using nanoliposomes, drug delivery to target cells was improved and the effectiveness of drugs was increased. Currently, the limiting factor in cancer chemotherapy is the non-selectivity of drugs against cancer cells. In addition, most anticancer drugs have a small therapeutic index, which can lead to toxic side effects. During chemotherapy, some cells become resistant to treatment, which either increases the dose of the drug during treatment or uses several drugs at the same time. But with these measures, the toxicity of the drug also increases. A variety of drug delivery systems have been developed to reduce these side effects and improve existing drugs. Nanoparticles, meanwhile, have received more attention because they are easier to produce and can also be produced through biocompatible polymers, which include drug-polymer soluble conjugates, polymer micelles, nanoparticles, liposomes, and microparticles. Due to the fact that the vessels around the tumor tissue have more permeability than the vessels of normal tissues and also need more oxygen and nutrients due to their higher growth rate, as a result, they have better absorption of drugs, which is called increased penetration and persistence. The properties of nanomaterials used in nanomedicine include increasing cell permeability, increasing the efficiency of targeted drug release, reducing the dose and improving the effectiveness of pharmaceutical agents. In addition, nanotechnology provides the ability to combine multiple therapeutic agents, control and targeted drug release. Particle size can be affected by several different factors such

as polymer type, surfactant and concentration and different synthesis method parameters such as method type, nozzle diameter, flow rate, selective primer, selective monomer, polymerization and emulsion type. According to research, the signaling process and the process of extracellular transport take place at the nanoscale. In addition, release efficiency, targeting, degradation rate, toxicity, respiration, and cell uptake mechanism are all directly related to particle size. In this study, instead of liposomes, caffeine drug was encapsulated in niosomal nanoparticles by thin layer hydration method and its effect on MCF-7 breast cancer cell line was compared with the effect of free caffeine on the same cell line. The results showed that the effect of nanoparticles on cancer cells is greater than that of free drugs. The researchers used liposomal nanoparticles to deliver the drug. The results showed high absorption of the nanoparticle in breast cancer cells and a significant increase in the toxicity of the drug compared to the free model. On the other hand, neosomal nanoparticles do not have the mentioned limitations about liposomal nanoparticles and it is much easier to work with. In this study, the anti-cancer effects of free caffeine and caffeine-laden caffeine on MCF-7 breast cancer cell line were evaluated in two time intervals of 24 and 48 hours using MTT method. MTT results showed that the effect of nanodrugs is greater than that of free drug. One of the reasons for choosing caffeine for this study is the unique property of caffeine, which is a crystalline and bitter alkaloid and a member of the methylxanthine family, which is inherently anti-inflammatory and is widely distributed throughout the body. Paraxanthin, theobromine and theophylline are metabolized, which also have major effects on the nervous system and immune system. The present study using caffeine-free drug and caffeine-carrying nosomal drug in the treatment of MCF7 breast cancer cells showed that nyosomal drug compared to free caffeine drug causes cancer cell death. In one study, Hanyangliu and colleagues treated gastric cancer cells with caffeine. The results of this study showed that treatment of gastric cancer cells with caffeine significantly inhibited the growth and viability of cells (GC) and caused apoptosis by activating the caspase-9 / -3 pathway. Researchers studied the effects of caffeine on skin cancer cells in two separate studies. The results showed that one of the uses of caffeine is to reduce benign and malignant skin tumors in mice, which enhances apoptosis in the tumor through the p53-independent messenger pathway.

Conclusions

The treatment of breast cancer cells with different concentrations of *nano-sized drug* and free drug showed that the nanoparticles had the ability to inhibit the MCF7 proliferation more than free drug. 0.25 mg/ml of niosomal *drug* had a greater effect on reducing of cancer cells viability. Vesicular nanoparticles are complex systems with some advantages and disadvantages which sets these delivery systems apart from other colloid system. Vesicular nanoparticle is being developed as new drug delivery system for cancer treatment.

Acknowledgment

We would like to thank all those who helped us in this research. We would also like to show our gratitude to the anonymous reviewers for their so-called insights.

Conflict Of Interest: We, the authors of the article, declare that we have no mutual interest in writing or publishing this article.

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیرات سمیت سلولی نانونیوزوم حاوی کافئین بر سلول‌های سرطانی سینه انسانی MCF-7

نکیسا ضرابی اهرابی[1*]، سید مهدی طبایی[2]، مریم جهانشیری مقدم[3]

۱. استادیار، دکترای تخصصی علوم سلولی و مولکولی، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. دانشیار، متخصص پوست و مو، گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، ایران
۳. کارشناسی ارشد علوم سلولی و مولکولی، گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۱۷

* نویسندهٔ مسئول: نکیسا ضرابی اهرابی
نشانی: گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکزی، تهران، ایران، کدپستی: ۱۴۶۹۶۶۹۱۹۱
تلفن: ۰۲۱-۴۴۶۰۰۰۷۰
رایانامه: na_zarrabi@yahoo.com
شناسه ORCID: 0000-0001-6970-9673

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از ترکیبات نانو به‌طور فزاینده در حال رشد است. استفاده از ترکیبات نانو در فرایندهای پزشکی، کاربرد روزافزونی پیدا کرده است. یکی از جنبه‌های کاربردی فناوری نانو، استفاده از ترکیباتی نظیر هیدروژل ها، نانولیپوزوم‌ها، نیوزوم‌ها و غیره به‌عنوان یک سیستم تحویل دارو در درمان بیماری سرطان است .هدف از این مطالعه بررسی تأثیر ضدسرطانی نانوذرات نیوزومی حاوی دارو بر رده سلولی سرطانی سینه انسانی MCF-7 است.

مواد و روش‌ها: برای تهیه نیوزوم‌های کافئین از روش آب‌پوشانی لایه نازک استفاده شد. مقادیر مشخصی از سورفکتانت، کافئین و کلسترول در اتانول حل گردید و پس از تبخیر با کمک روتاری، در بافر فسفات حل گردید و سپس به کمک سونیکاتور همگن‌سازی شد. قطر متوسط نیوزوم‌های کافئین با دستگاه زتاسایزر اندازه‌گیری شد. اثر سمیت سلولی با روش رنگ‌سنجی ۳، ۴، ۵ دی‌متیل تیازول ۲- ایل ۲، ۵ دی‌فنیل تترازولیوم ارزیابی شد.

یافته‌ها: تیمار سلول‌های سرطانی سینه انسانی با غلظت‌های مختلف از داروی نانو شده و داروی آزاد نشان داد که نانودارو توانایی مهار تکثیر سلول‌های سرطانی را بیشتر از داروی آزاد دارد و غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از داروی نانونیوزوم تأثیر بیشتری بر کاهش سلول‌های سرطانی داشته است.

نتیجه‌گیری: نانوذرات وزیکولی، سیستم‌هایی پیچیده با امتیازات و عیوب منحصربه‌فرد هستند که آن‌ها را از سایر سیستم‌های کلوئیدی مجزا می‌کند. ترکیبات وزیکولی به‌عنوان اهداف جدید برای داروهای ضدسرطان در حال تولید می‌باشند.

کلیدواژه‌ها:
نانونیوزوم، سمیت سلولی،MTT، کافئین، رده سلولی سرطانی پستان MCF7

مقدمه

سیستم‌های انتقال دارو به‌منظور بهبود خواص دارویی و درمانی داروهای مورداستفاده در بیماران ایجاد می‌شوند و غالباً به‌صورت یک مخزن، دارو را درون خود دارند. این مسیرها جایگزین امیدواری برای تحویل داروهای تزریقی به‌ویژه برای داروهای پپتید و پروتئین است. برای این منظور، چندین سیستم تحویل دارو شامل لیپوزوم‌ها، پرولیپوزوم‌ها، ژل‌ها، پرولین‌ها، نیوزوم‌ها و غیره ساخته شده است که بسته به روش تولید آنها می‌توان شکل و اندازه متفاوتی از ذرات را تولید کرد (۱). استفاده از ذرات نانو در

Copyright © 2021 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

پزشکی رو به گسترش است. تهیه و ایجاد ذرات در اندازه نانو باعث افزایش سطح آن‌ها می‌گردد و امکان واکنش آن‌ها با مولکول‌های آلی و غیرآلی بیشتر می‌شود(۲). نانومواد، به دلیل خواص منحصر به فرد آن ها نسبت به ترکیبات دارویی سنتی، رشد انفجاری داشته است. توسعه فرمولاسیون داروهای مبتنی بر نانوذرات، فرصت‌هایی را برای درمان بیماری‌های چالش‌برانگیز فراهم کرده است. نانوذرات در اندازه‌های مختلف هستند اما معمولاً از ۱۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر می‌باشند (۴،۳). از طریق دستکاری اندازه، ویژگی‌های سطحی و مواد مورد استفاده، نانوذرات می‌توانند به سیستم‌های هوشمند تبدیل شوند (۵، ۶).

استفاده از فناوری نانو در پزشکی و به‌طور خاص تحویل دارو به‌سرعت در حال گسترش می‌باشد. در حال حاضر بسیاری از نانومواد در حال بررسی برای تحویل دارو و به طور خاص برای درمان سرطان است. واضح است که تعامل بالقوه با بافت‌ها و سلول‌ها و سمیت بالقوه به میزان زیادی بستگی به ترکیب واقعی فرمول نانوذرات دارد (۷).

دارورسانی یکی از معضلات اصلی بیوتکنولوژی دارویی است. ثابت شده است که نانوحامل‌ها توانایی رساندن داروها به سلول‌های هدف را دارند. یکی از نانوحامل‌های لیپیدی، نیوزوم می‌باشد (۸، ۹).

نیوزوم‌ها وزیکول‌های سورفکتانت غیریونی هستند که در اثر هیدراتاسیون سورفکتانت‌های غیریونی مرکب یا بدون اختلاط کلسترول و دیگر چربی‌ها تشکیل می‌گردند؛ سیستم وزیکولی آنها می‌تواند به‌عنوان حامل داروهای لیپوفیل و آمفیفیلیک استفاده شود. غیریونی بودن آن باعث سمیت کمتر و محدود شدن واکنش آن با سلول می‌گردد که این امر به‌نوبه خود منجر به افزایش شاخص درمانی داروی کپسوله شده می‌گردد (۱۰). نیوزوم‌ها قادرند انواع مختلفی از داروها، پروتئین‌ها و واکسن‌ها را درون خود به دام اندازند (۱۲،۱۱).

با توجه به نتایج مطالعات گذشته در مورد حامل‌های دارویی وزیکولی و افزایش چشمگیر تأثیر آن‌ها نسبت به فرم استاندارد دارویی، و نتایج این پژوهش که منطبق بر یافته‌های قبلی است می‌توان کارایی این حامل‌های نیوزومی کافئین را اثبات کرد.

کافئین و دیگر متیل‌گزانتین‌ها تأثیرات فیزیولوژیکی چندگانه‌ای در سراسر بدن انسان تولید می‌کنند، بسیاری از این تأثیرات به‌طور بالقوه می‌توانند فعالیت درمانی ضدسرطانی را تنظیم کنند. کافئین، پرمصرف‌ترین ماده دارویی می‌باشد و در برگ‌های چای سبز، سیاه، قرمز، دانه‌های قهوه و تولیدات دارویی وجود دارد (۱۳). یکی از دلایل انتخاب کافئین برای این تحقیق، ویژگی منحصربه‌فرد کافئین است که یک آلکالوئید متبلور و تلخ و یکی از اعضای خانواده متیل‌گزانتین‌ها و ضدالتهاب می‌باشد. این ماده به‌طور گسترده در سراسر بدن منتشر می‌شود و در کبد به متابولیت‌های اصلی کافئین مثل پاراگزانتین، تئوبرومین و تئوفیلین، متابولیزه می‌شود که این ترکیبات نیز تأثیرات عمده‌ای بر سیستم عصبی و ایمنی بدن دارند. مطالعه حاضر با استفاده از داروی آزاد کافئین و داروی نیوزومی حامل کافئین در تیمار با سلول‌های سرطانی پستان MCF7 نشان داد داروی نیوزومی در مقایسه با داروی آزاد کافئین باعث مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۴).

این ماده به‌طور گسترده در سراسر بدن منتشر می‌شود و در کبد به متابولیت‌های اصلی کافئین مثل پاراگزانتین، تئوبرومین و تئوفیلین متابولیزه می‌شود (۱۵). بسیاری از اثرات حفاظتی کافئین از طریق فعال کردن پروتئین کیناز A و افزایش CAMP اعمال می‌شود (۱۶). شماری از مطالعات تحقیقاتی نشان دادند که کافئین به حفاظت از بدن در مقابل سرطان سینه کمک می‌کند. سلول‌های سرطانی سینه نسبت به کافئین واکنش نشان می‌دهند، بدین ترتیب تقسیم سلولی، کاهش و مرگ سلولی افزایش می‌یابد. همچنین کافئین بر سلول‌های سرطانی تأثیر دارد و باعث توقف مسیرهای سیگنال‌دهی موردنیاز برای رشد سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۷). کافئین، مهارکننده ATM و ATR کیناز است که منجر به اختلال در بازرسی چندین سلول سیگنال مقاوم در برابر آسیب DNA می‌شود و سلول‌های تومور را به عامل‌های ضدتومور که باعث ایجاد تنش ژنتیکی می‌شوند، حساس می‌سازد (۱۸). کاربرد نانوتکنولوژی در علم پزشکی، استفاده از ذرات بسیار کوچک در زمینه‌های تشخیص و درمان سرطان‌های انسانی است (۱۹). در مطالعه‌ای که با استفاده از داروی دوکسوروبیسین محصور در لیپوزوم در ترکیب سیکلوفسفامید بر سرطان سینه انجام گردید نتایج نشان‌دهنده افزایش سمیت سلولی تیمار شده با داروی دوکسوروبین محصور در لیپوزوم در مقایسه با فرم آزاد آن بود (۲۰). در روش‌های نوین دارورسانی می‌توان مقادیر کمی از ماده مؤثر را توسط حامل‌های مناسب که به‌منظور رسیدن به سلول‌های هدف تولید شده‌اند، با کمترین عوارض و بیشترین کارایی به نقطه هدف رساند. ساختار منحصربه‌فرد نیوزوم آن را قادر می‌سازد مواد آب‌گریز و آب‌دوست را داخل هسته آبی، کپسوله کند و نیوزوم‌ها قادرند انواع مختلفی از داروها، پروتئین‌ها و واکسن‌ها را در درون خود به دام بیندازند. با استفاده از سیستم ضدسرطانی کافئین و سیستم دارورسانی از طریق نیوزوم امید است بتوان گامی در جهت به هدف برداشت و نیوزوم‌های حامل کافئین تولید کرد که با

کمترین عوارض جانبی به‌طور خاص سلول‌های سرطانی را مورد هدف قرار دهند (۲۱)؛ از این رو با توجه به اهمیت سیستم ضدسرطانی کافئین و سیستم دارورسانی از طریق نیوزوم در این تحقیق، تأثیر ضدسرطانی نانوذرات نیوزومی حامل کافئین بر رده سلولی سرطانی سینه انسانی MCF-7 بررسی گردید (۲۲).

۲. مواد و روش‌ها

کافئین، Span 80، کلسترول، کلروفرم، Tween ۴۰ که از شرکت مرک و محلول MTT (0.5 mg/ml) مورداستفاده در این تحقیق از شرکت سیگما آلدریچ و محیط کشت RPMI 1640 از شرکت Invitrogen خریداری و رده سلولی MCF7 از بانک سلولی انیستیتو پاستور ایران (IR.acer.pastor.rec.1395.128) تهیه گردید. سلول‌های سرطانی سینه MCF7 به دلیل سهولت در تهیه و فعالیت متابولیکی بالا انتخاب شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل (kern آلمان) با عدسی‌های ۱۰X و ۲۰X بررسی شدند. این سلول‌های سرطانی MCF7 مدل خوبی برای بررسی تأثیر داروها بر سلول‌های سرطانی می‌باشند و به‌راحتی در پلیت‌های ۹۶ خانه تکثیر می‌شوند.

تهیه استوک داروی کافئین: برای ساخت استوک دارویی، ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از داروی کافئین، وزن شد و پس از اضافه کردن ۱ سی‌سی بافر PBS و قرار دادن آن روی استیرر با دور RPM۱۰۰ در دمای محیط حل گردید.

انتخاب سورفکتانت مناسب: Spanها از رایج‌ترین سورفکتانت‌هایی هستند که در ساخت نیوزوم‌ها استفاده می‌شوند. Spanهایی که دمای انتقال، فاز بالایی دارند از قابلیت محصورسازی بیشتری برخوردار هستند. Span۲۰ به علت داشتن هیدروفیلیسیته بیشتر نسبت به Span ۸۰ نیوزوم‌هایی با سایز بزرگ‌تر ایجاد می‌کند و به علت داشتن دمای انتقال فاز کمتر از قدرت محصورسازی کمتری برخوردار است. وزیکول‌های Span ۸۰ روان‌تر و سیال‌تر از مولکول‌های دیگر عمل می‌کنند.

ساخت نانونیوزوم‌های حاوی کافئین به روش آب‌پوشانی لایه نازک: به‌منظور تهیه نیوزوم‌های حاوی کافئین به روش آب‌پوشانی لایه نازک، مقادیر مشخص ۰/۰۲۵۷ گرم Span ۸۰ و ۰/۰۱۲۷۷ گرم Tween۴۰ و ۰/۰۱۱۶ گرم کلسترول به‌دقت توزین شد و در مقدار ۲ میلی‌لیتر کلروفرم و ۰/۵ تا ۱ میلی‌لیتر متانول حل شدند و با استفاده از دستگاه روتاری با حرارتی که مقداری بالاتر از دمای انتقال فازی سورفکتانت بود (۶۰ درجه سانتی‌گراد) با دور ۱۵۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه تحت شرایط خلأ کامل، تبخیر گردید. پس از اضافه کردن، ۴۰۰ میکرولیتر از داروی کافئین مجدد به روتاری متصل گردید. بعد از ۹۰ دقیقه، لایه نازک چربی تشکیل شد. آب‌پوشانی با فاز مایی حاوی غلظت مشخصی از دارو و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ دقیقه انجام گرفت.

همگن کردن وزیکول‌های نیوزومی: در این مرحله، محلول‌ها به مدت ۵ دقیقه با فرکانس ۶۰ هرتز در دمای محیط درون دستگاه سونیکاتور (BandelinSonorexDigitec Germany) قرار دادیم تا وزیکول ما همگن و هم‌اندازه شوند (شکل ۱). همچنین با استفاده از دستگاه اولتراسونیک می‌توان نیوزوم‌های موجود را که چندلایه یا MLV[1] هستند با امواج اولتراسوند به نیوزوم‌های تک‌لایه تبدیل کرد؛ زیرا شدت ضربه واردشده به‌حدی نیست که موجب پارگی و آسیب به دیواره نیوزوم‌ها شود.

تعیین اندازه نانونیوزوم‌ها: به‌منظور افزایش انحلال داروی کافئین وزیکول‌های نیوزومی تهیه‌شده به روش هیدراتاسیون لایه نازک، با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Zen 3600; Malvern Malvern Worcestershire, UK) میانگین قطر نیوزوم‌ها سنجیده شد.

کشت سلول: سلول‌های MCF7 از انستیو پاستور ایران خریداری شدند. سلول‌ها در محیط کشت RPMI-1640 غنی شده با سرم جنین گاوی ۱۰ درصد و محلول پنی‌سیلین ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر و استرپتومایسین ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در شرایط ۳۷ درجه سانتی‌گراد، CO_2 ۵ درصد و رطوبت ۹۵ درصد کشت داده شدند.

این سلول‌ها به‌صورت تک‌لایه در فلاسک رشد می‌کنند. محیط کشت، هفته‌ای سه بار تعویض و برای پاساژ سلول‌ها نیز از تریپسین EDTA ۰/۲۵ درصد استفاده شد.

بررسی سمیت سلولی: از طریق آزمایش MTT می‌توان سرعت تکثیر، کاهش سرعت تکثیر سلول‌ها یا میزان مرگ‌ومیر سلول‌ها را اندازه گرفت. سلول‌های سرطانی رده MCF7 با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توسط نانوداروی نیوزومی کافئین و داروی آزاد کافئین داخل پلیت‌های ۹۶ خانه، تیمار و بررسی شدند. برای این منظور ابتدا تعداد ده‌هزار سلول سرطانی MCF7 در حجم ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت به هر چاهک ظرف ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. سپس ظرف موردنظر به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در شرایط انکوباتور CO_2 ۵ درصد، رطوبت ۱۰۰درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از

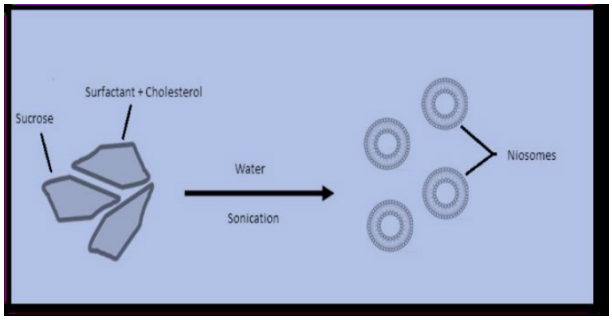
1 Multi-layer varistors

گذشت این زمان، غلظت‌های موردنظر از داروی نانونیوزوم حاوی کافئین و داروی آزاد به چاهک‌ها اضافه شد. سپس انکوباسیون با شرایط CO_2 ۵ درصد، رطوبت ۱۰۰درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام گرفت. پس از گذشت زمان انکوباسیون، به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT اضافه شد و مجدداً ظرف موردنظر به مدت ۳ ساعت درون انکوباتور CO_2 انکوبه شد. پس از گذشت زمان انکوباسیون، محیط کشت چاهک‌ها کاملاً تخلیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از حلال DMSOبه هر چاهک اضافه گردید. سپس ظرف کشت موردنظر به مدت یک ساعت در انکوباتور و شرایط تاریکی قرار گرفت و پس از پایان مدت انکوباسیون جذب چاهک‌ها توسط دستگاه الایزاریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانش گردید.

میزان جذب اختصاصی برای هر غلظت از فرمول ذیل محاسبه گردید:

جذب نمونه در ۶۶۰ nm - جذب بلانک در ۵۷۰ nm- جذب نمونه در۵۷۰ nm = میزان جذب اختصاصی

۳. یافته‌ها



شکل ۱. تصویر نیوزوم‌های مشتق شده از پرونیوزوم‌ها

پرونیوزوم‌ها ذرات حامل کربوهیدرات (مانند ساکارز) هستند که با سورفکتانت و کلسترول پوشیده شده‌اند. نیوزوم‌ها توسط اضافه شدن آب و تکان دادن از پرونیوزوم‌ها تولید می‌شوند.

تعیین اندازه نانونیوزم‌ها

Size(nm)± SD	ترکیب
۲۱۰ ۱±	Span ۸۰، Tween۴۰ ،کلسترول ۳۰ : ۶۰ : ۱۰

شکل ۲. بررسی نتایج اندازه‌گیری ذرات نیوزومی توسط دستگاه زتاسایزر

تعیین اندازه ذرات نانونیوزوم: مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نانوداروی ساخته شده با بافر PBS رقیق شد و توسط دستگاه زتاسایزر اندازه‌گیری شد و سپس دارو برای مرحله دیالیز آماده گردید. به‌منظور تعیین میزان داروی محبوس شده داخل وزیکول‌های نیوزومی داروی ساخته شده با حلال ایزوپروپانول به نسبت ۴۰ :۱ رقیق شد و میزان جذب آن در طول موج ۲۷۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری گردید. میزان جذب[1] دارو برابر با A ۰/۴۳۹ بود.

مطالعه رهایش دارو: میزان رهاسازی داروی محبوس شده از نیوزوم با تکنیک انتشار غشایی مشخص گردید. سوسپانسیون نیوزومی معادل۴ میلی‌گرم داروی کافئین وزیکول‌های نیوزومی در یک کیسه دیالیز (cut off 12000Da, sigma) ریخته شد. کیسه دیالیز در یک ظرف محتوی ۲۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH:۷.۴) غوطه‌ور گردید و روی همزن مغناطیسی ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در فواصل زمانی مشخص ۲ میلی‌لیتر از بافر فسفات برداشته با حجم برابر از بافر فسفات تازه جایگزین شد. بدین روش محیط دیالیز عوض شده و محیط تازه اضافه گردید و داروی آزاد جداسازی شد.

تعیین کارایی احتباس دارو: به‌منظور تعیین کارایی احتباس دارو (درصد انباشتگی)، پس از جدا کردن داروی آزاد از نیوزوم‌های تهیه شده ۵۰ میکرولیتر از محتوی کیسه دیالیز درون یک فالکون ریخته و ۹۵۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به آن اضافه گردید. داروی ساخته شده به نسبت۱:۴۰ رقیق شد و جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS در طول موج ۲۷۳ نانومتر اندازگیری شد.

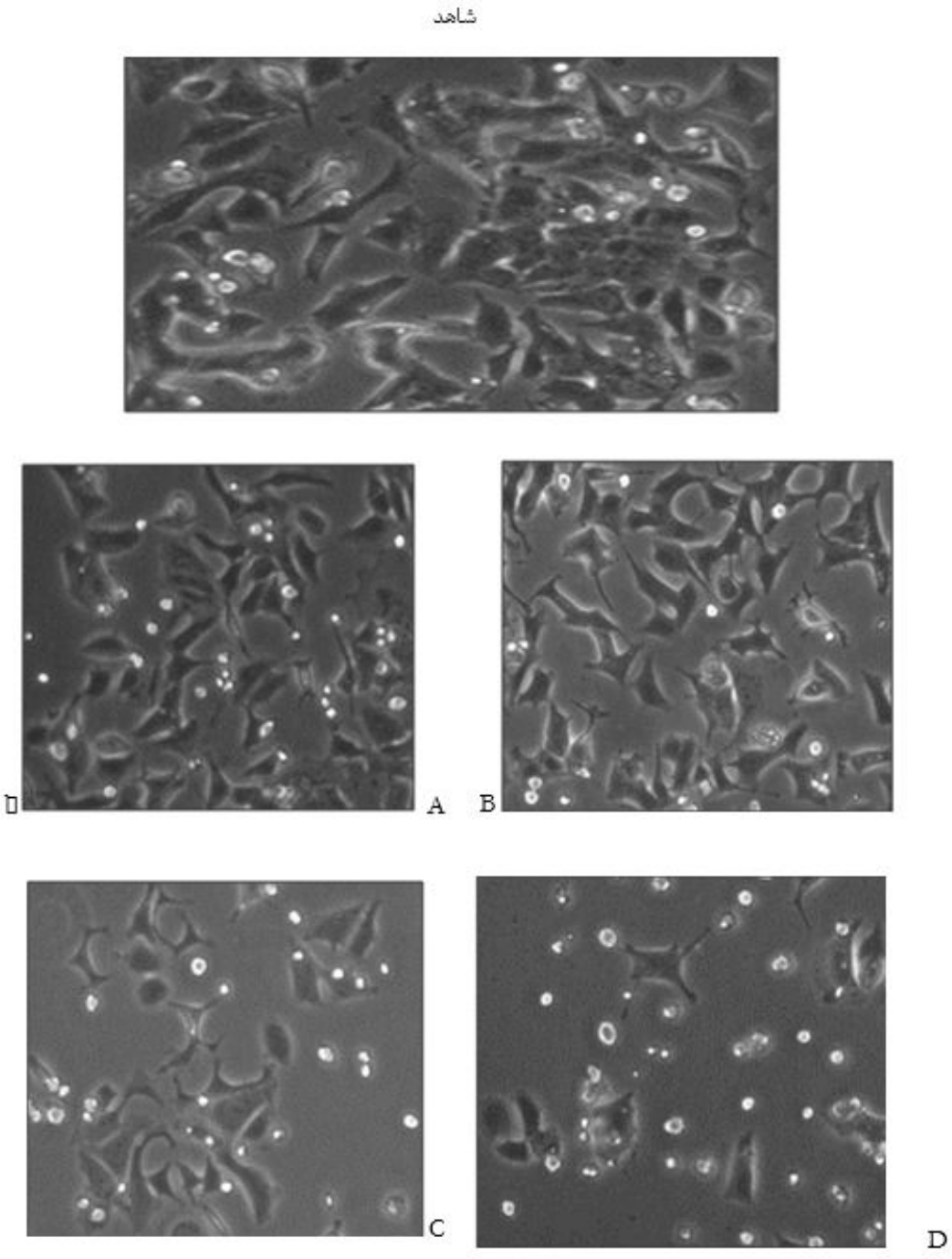
بررسی تغییرات مورفولوژی سلول‌ها: در طول مدت کشت، سلول‌ها روزانه از لحاظ ریخت‌شناسی و شاخص‌های کیفی مربوط به سلامت سلول‌ها، از جمله مشاهده گرانول در اطراف هسته سلول، واکوئل در سیتوپلاسم سلول و تغییرات مربوط به خصوصیات اصلی سلول (چسبندگی و معلق شدن سلول‌ها) به‌وسیله میکروسکوپ معکوس ارزیابی شدند.

بررسی سلول‌ها از لحاظ ویژگی‌های رشد و ریخت‌شناسی: روزانه سلول‌ها به‌وسیله میکروسکوپ اینورت مشاهده شدند و تصاویر سلول‌ها ثبت شد. این سلول‌ها از سرعت تکثیر و رشد بالایی برخوردار بودند. به‌صورتی که لازم بود هر سه روز یک مرتبه محیط کشت این سلول‌ها تعویض گردد و هنگامی که به تراکم ۸۰ درصد رسیدند، پاساژ سلولی به نسبت ۱:۳ برای آنها انجام گرفت. همچنین در این مرحله، ظرف‌های کشت به‌صورت روزانه، از لحاظ آلودگی باکتری و قارچی با میکروسکوپ ارزیابی شدند و در طول مدت کشت هیچ‌گونه آلودگی مشاهده نگردید و سلول‌ها از لحاظ

1 Absorbance

شرایط کشت در حد مطلوبی بودند.

بررسی سمیت دارو بر سلول‌های سرطانی: همان‌طور که در تصاویر زیر مشخص است نتایج به این صورت بود که بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار، داروی آزاد کافئین در این چهار غلظت ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تأثیر بسیاری بر سلول‌ها نداشت اما داروی نیوزومی در هر ۴ غلظت باعث مرگ سلول‌ها شد و غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از داروی نانونیوزوم تأثیر بیشتری بر سلول‌های سرطانی داشته است. تصاویر سلول‌های تیمار شده با داروی آزاد و داروی نیوزومی در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳. تصویر میکروسکوپی سلول‌های MCF-7 بعد از تیمار با مقادیر مختلف نانودارو و مقایسه آن‌ها با نمونه کنترل: A- غلظت ۰/۰۵ ، B- غلظت ۰/۱ ، C- غلظت ۰/۲ ، D- غلظت۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نانودارو

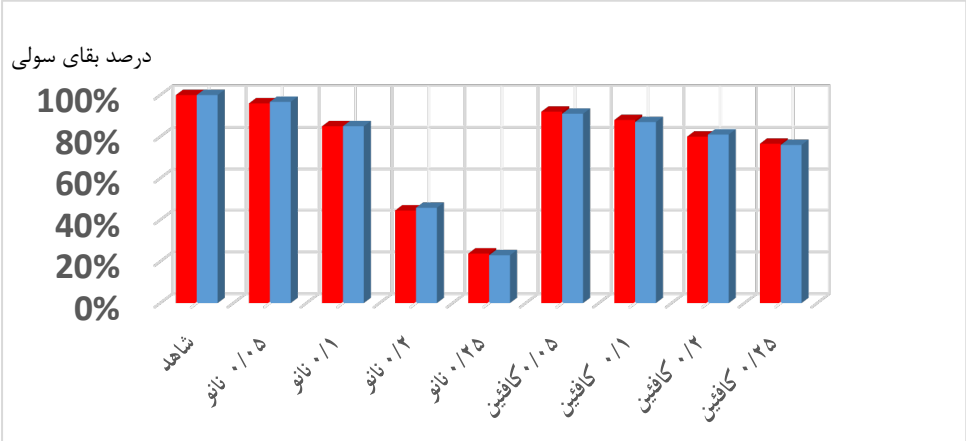
تعیین غلظت سمیت داروی نیوزومی بر سلول‌های سرطانی MCF7 به روش سنجش MTT: همان‌طور که در تصاویر مشخص است تأثیر نانودارو بر کاهش سلول‌های سرطانی بسیار بیشتر از داروی آزاد بوده است. تأثیر ضدسرطانی داروی کافئین آزاد و کافئین بارگذاری شده در نیوزوم، بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان، در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت با استفاده از روش MTT بررسی گردید. نتایج MTT نشان داد که میزان تأثیر نانودارو در مقایسه با داروی آزاد بیش‌تر است؛ به‌طوری که مقادیر IC_{50} بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار سلول‌ها با داروی آزاد کافئین در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب ۰/۹۱۶، ۰/۸۷۰، ۰/۸۱۰ و ۰/۷۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد در حالی که مقادیر IC_{50} پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار سلول‌ها با داروی نیوزومی در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب ۰/۹۶۷، ۰/۸۵۰، ۰/۴۵۸ و ۰/۲۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد که نتایج موجود، بیانگر تأثیر بیشتر داروی نیوزومی بر سلول‌های سرطانی رده MCF-7 می‌باشد. همچنین کاهش مقدار IC_{50} در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نسبت به داروی استاندارد با همین غلظت، توسط فرمولاسیون نانودارو، حاکی از آن است که داروی نیوزومی تأثیر بیشتری را نسبت به داروی استاندارد در کشندگی سلول‌های سرطانی داشته است؛ به‌طوری که کشندگی نانودارو در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نسبت به داروی استاندارد با همین غلظت، بر سلول‌های سرطان پستان رده MCF-7 به میزان ۳/۳ برابر افزایش را نشان داده است. نتایج بعد از تیمار ۲۴ ساعته، با نتایج بعد از تیمار ۴۸ ساعته تقریباً یکسان بود. بنابراین نتیجه‌گیری شد که زمان در تأثیر داروی نانونیوزومی کافئین بر سلول‌های سرطانی پستان نقشی ندارد و دز دارویی بر رده سلولی تیمار شده تأثیرگذار است (شکل ۴).

در این مطالعه همه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند و درصد بقای سلولی پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

درصد بقای سلولی =(جذب نمونه/جذب شاهد)×۱۰۰

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و T-test انجام شد. $P<0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین سه بار تکرار ± خطای استاندارد نشان داده شد. نتایج مقایسه غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد IC50 داروی نیوزومی بر سلول‌های سرطانی MCF7 نشان داد که در داده‌های پیش‌گفته، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P<0.05$).سلول‌های MCF7 با داروی نانونیوزومی کافئین و گروه کنترل (بدون دارو) با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، سمیت سلولی داروی کافئین در غلظت‌های ۰/۰۵تا ۰/۲ در مقایسه با گروه شاهد (بدون دارو) بسیار ناچیز و از نظر آماری معنادار نبود. اما غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر داروی نیوزومی به میزان ۳/۳ برابر توان زیستی سلول‌ها را کاهش می‌دهد.



شکل ۴. مقایسه آزمایش سمیت و IC_{50} سلول‌های MCF7 در ۲۴ و۴۸ ساعت

٤. بحث و نتیجه‌گیری

در سیستم‌های کلاسیک دارورسانی، دارو بی‌هدف و به‌طور عمومی در بدن توزیع می‌شود و سلول‌ها براساس موقعیتی که نسبت به دارو دارند بخشی از دارو را از خون می‌گیرند؛ در نتیجه بخشی از دارو بدون استفاده از بدن حذف می‌شود اما در روش‌های نوین دارورسانی، می‌توان مقادیر کمی از ماده مؤثره را توسط حامل‌های مناسب که به‌منظور رسیدن به سلول‌های هدف تولید شده‌اند، با کمترین عوارض و حداکثر کارایی به نقطه هدف رساند (۲۳). امروزه نانوساختارها به‌عنوان حامل‌های رسانش دارو، ژن و همچنین مدل‌سازی غشاهای سلولی چه در حیوان و چه در انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۴). توانایی این نانوساختارها در کپسوله کردن مقدار زیاد دارو، به حداقل رساندن عوارض جانبی ناخواسته، اثربخشی بالا و سمیت پایین توانسته علاقه محققان را به آن جلب کند. محققان حمل داروهای ضدسرطان توسط این نانوحامل‌ها را بررسی کرده‌اند. نتایج این تحقیقات نشان داده است که با استفاده از نانولیپوزوم‌ها، دارورسانی به سلول‌های هدف، بهبود و اثربخشی داروها افزایش یافته است. در حال حاضر عامل محدودکننده در شیمی‌درمانی سرطان، انتخابی نبودن داروها در مقابل سلول‌های سرطانی است. به علاوه اغلب داروهای ضدسرطان، شاخص درمانی کوچکی دارند که همین موضوع موجب بروز عوارض جانبی سمی داروها می‌شود. در طول شیمی‌درمانی برخی از سلول‌ها به درمان مقاوم می‌شوند که برای رفع این مشکل، یا دز دارو را در حین درمان افزایش می‌دهند یا از چند دارو به‌طور هم‌زمان استفاده می‌گردد (۲۵و۲۶). اما با این تدابیر سمیت دارو نیز بیشتر می‌شود. برای کم کردن این عوارض و بهبود داروهای موجود، انواع سیستم‌های دارورسانی توسعه یافته‌اند. در این میان، نانوذرات بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ زیرا روش تولید آسان‌تری دارند و از طریق پلیمرهای زیست‌سازگار هم قابل تهیه هستند که شامل کانژوگه‌های محلول دارو- پلیمر، میسل‌های پلیمری، نانوذرات، لیپوزوم ها و میکروذرات هستند. با توجه به آن که عروق اطراف بافت توموری نفوذپذیری بیشتری نسبت به عروق بافت‌های معمولی دارند و نیز به دلیل سرعت رشد بالاتر نیازمند اکسیژن و مواد غذایی بیشتری هستند، در نتیجه امکان جذب دارویی بهتری دارند که به این پدیده نفوذ و ماندگاری افزایش یافته می‌گویند. از ویژگی‌های نانومواد مورد استفاده در نانوپزشکی می‌توان به افزایش نفوذپذیری سلول، افزایش بازدهی رهایش هدفمند دارو، کاهش مقدار دوز و بهبود اثربخشی عوامل دارویی نام برد. علاوه بر این، فناوری نانو، تولیدی تلفیق چند عامل درمانی، کنترل و رهایش هدفمند دارو را فراهم می‌کند.

اندازه ذرات می‌تواند به‌وسیله چندین فاکتور مختلف مانند نوع پلیمر، سورفکتانت و غلظت و پارامترهای مختلف روش سنتز مانند نوع متد، قطر نازل، سرعت جریان، آغازگر انتخابی، مونومر انتخابی، پلیمریزاسیون و نوع امولسیون تحت تأثیر قرار بگیرد. طبق تحقیقات انجام شده، فرایند سیگنالینگ و فرایند نقل و انتقال برون‌سلولی در مقیاس نانو صورت می‌پذیرد. علاوه بر این، کارایی رهایش، هدفمندسازی، نرخ تخریب و تجزیه، سمیت، تنفس و سازوکار جذب سلولی همگی با اندازه ذرات ارتباط مستقیم دارند (۲۷).

در این پژوهش به جای لیپوزوم، داروی کافئین به روش آب‌پوشانی لایه نازک، در نانوذرات نیوزومی کپسوله شد و تأثیر آن بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان، با تأثیر کافئین آزاد بر همین رده سلولی، مقایسه گردید. نتایج تحقیق نشان داد که تأثیر داروی نانو شده بر سلول‌های سرطانی در مقایسه با داروی آزاد بیشتر است. محققان از نانوذره لیپوزومی برای تحویل دارو استفاده کرده‌اند. نتایج حاکی از جذب بالای داروی نانو در سلول‌های سرطان پستان و افزایش چشم‌گیر میزان سمیت دارو در مقایسه با مدل آزاد آن بود. از طرفی نانوذره نیوزومی محدودیت‌های ذکر شده در مورد نانوذرات لیپوزومی را ندارد وکار با آن به مراتب آسان‌تر است (۲۸). در این پژوهش، تأثیر ضدسرطانی داروی کافئین آزاد و کافئین بارگذاری شده در نیوزوم، بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان، در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت با استفاده از روش MTT بررسی گردید. نتایج MTT نشان داد که میزان تأثیر نانودارو در مقایسه با داروی آزاد بیش‌تر است.

یکی از دلایل انتخاب کافئین برای این تحقیق، ویژگی منحصربه‌فرد کافئین که یک آلکالوئید متبلور و تلخ و یکی از اعضای خانواده متیل‌گزانتین‌هاست که ذاتاً ضدالتهاب می‌باشد و این ماده به‌طور گسترده در سراسر بدن منتشر می‌شود و در کبد به متابولیت‌های اصلی کافئین مثل پاراگزانتین، تئوبرومین و تئوفیلین متابولیزه می‌شود که این ترکیبات نیز تأثیرات عمده‌ای بر سیستم عصبی و ایمنی بدن دارند. مطالعه حاضر با استفاده از داروی آزاد کافئین و داروی نیوزومی حامل کافئین در تیمار با سلول‌های سرطانی پستان MCF7 نشان داد که داروی نیوزومی در مقایسه با داروی آزاد کافئین باعث مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۹). Hanyangliu و همکارانش در یک تحقیق سلول‌های سرطانی معده را با کافئین تیمار کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار سلول‌های سرطانی معده با کافئین به‌طور قابل‌توجهی مانع رشد و زنده ماندن سلول‌های (GC) شده و به‌وسیله فعال‌سازی مسیر caspase-9/ -3 باعث آپوپتوز ناشی از آن می‌شود (۳۰).

محققان در دو مطالعه مجزا به بررسی تأثیرات کافئین بر سلول‌های سرطانی پوست پرداختند. از نتایج حاصل دریافتند که

از جمله کاربردهای کافئین، کاهش تومورهای خوش‌خیم و بدخیم پوست در موش است که از طریق مسیر پیام‌رسانی-P53 independent موجب تقویت آپوپتوز در تومور می‌شود (۳۱). لذا با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق پیشنهاد می‌گردد نانوذرات وزیکولی سیستم‌هایی پیچیده با امتیازات و عیوب منحصربه‌فرد هستند که آن‌ها را از سایر سیستم‌های کلوئیدی مجزا می‌کنند. ترکیبات وزیکولی به‌عنوان اهداف جدید برای داروهای ضدسرطان در حال تولید می‌باشند (۳۳و۳۲). این مطالعه به همراه مطالعات تکمیلی بعدی می‌تواند راهنمایی برای پزشکان در راستای انتخاب داروی مؤثرتر در درمان سرطان باشد.

تشکر و قدردانی

نویســندگان از کلیه عزیزانی که آنها را در انجام این پژوهش یاری کردند، سپاسگزارند.

References

[1].Gaurav Tiwari, Ruchi Tiwari, Birendra Sriwastawa,1 L Bhati,2 S Pandey, P Pandey, and Saurabh K Bannerjee, Drug delivery systems: An updated review , Int J Pharm Investig. 2012; 2(1): 2–11.
[2]. P. Couvreur, Nanoparticles in drug delivery: Past, present and future, Advanced Drug Delivery Reviews, 2013; 65, 21-23
[3]. Fakruddin M, Hossain Z, Afroz H. Prospects and Applications of Nanobiotechnology: A Medical Perspective. J Nanobiotechnol 2016; 10(1): 1-8.
[4]. Misra R, Acharya S, Sahoo SK. Cancer Nanotechnology: Application of Nanotechnology in Cancer Therapy. Drug Discovery Today 2018; 15(19-20): 842-50.
[5]. Goddard III WA, Brenner DW, Lyshevski SE, Iafrate GJ. Handbook of nanoscience engineering, and technology. USA: CRC Press; third edition, 2012: 22-47.
[6]. Kumari , Ghosh , Biswas , Nanocarriers for cancer-targeted drug delivery, J Drug Target. 2016: 24(3):179-91.
[7]. Yi-Feng Wang, Lu Liu, Xue Xue, and Xing-Jie Liang, Nanoparticle-based drug delivery systems: What can they really do in vivo? F1000Res. 2017: 6: 681.
[8]. Zdrojewicz Z, Waracki M, Bugaj B, Pypno D, Cabała K, Medical applications of nanotechnology, 2015;69:1196-204.
[9]. Moghassemi S, Hadjizadeh A. Nano-Niosomes as Nanoscale Drug Delivery Systems: An Illustrated Review. Journal of Controlled Release 2014; 185: 22-36.
[10].Pawar SD, Pawar Rg, kodag PP, Waghmare AS, GadhaveMV, Jadha Vslandgaikwad DD: Niosome: An Unique Drug Delivery System, IJBPAS, 2012: 1(3): 406-416
[11].Moghassemi S, Hadjizadeh A, Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: an illustrated review, J Control Release, 2014;185:22-36
[12]. Gaurav Tiwari, Ruchi Tiwari, Birendra Sriwastawa, L Bhati, S Pandey, P Pandey, and Saurabh K Bannerjee, Drug delivery systems: An updated review, Int J Pharm Investig. 2012; 2(1): 2–11.
[13].Nasir A, Harikumar S, Amanpreet K. Niosomes: An Excellent Tool for Drug Delivery. IJRPC 2017; 2(2): 479-87.
[14].Seleci DA, Seleci M, Walter J-G, Stahl F, Scheper T. Niosomes as Nanoparticular Drug Carriers: Fundamentals and Recent Applications. Journal of Nanomaterials 2016; 2016: 2-13.
[15].Parthasarathi G, Udupa N, Umadevi P, Pillai G. Niosome Encapsulated of Vincristine Sulfate: Improved Anticancer Activity with Reduced Toxicity in Mice. Journal of Drug Targeting 1994; 2(2): 173-82.
[16].Hanyang Liu, Yan Zhou, Liming Tang , Caffeine induces sustained apoptosis of human gastric cancer cells by activating the caspase-9/caspase-3 signalling pathway, Mol Med Rep. 2017: 16(3): 2445–2454
[17]. Mohammadrezaei FM1, Movaghar AF2, Gharghabi M3. The Effect of Caffeine and chk2 Inhibitor on Doxorubicin-Induced Cellular Senescence in MCF-7 Cells. Drug Res (Stuttg). 2016;66(9):450-454
[18]. Paolino D, Cosco D, Muzzalupo R, Trapasso E, Picci N, Fresta M. Innovative Bola-Surfactant Niosomes as Topical Delivery Systems of 5-Fluorouracil for the Treatment of Skin Cancer. Int J Pharm 2014; 353(1-2): 233-42.
[19].Asgharkhani E, Azarbayjani AF, Irani S, Chiani M, Saffari Z, Norouzian D, et al. Artemisinin-Loaded Niosome and Pegylated Niosome: Physico-Chemical Characterization and Effects on MCF-7 Cell Proliferation. J Pharm Investig 2018; 48: 251-6.
[20].Askari M, Nikoonahad Lotfabadi N. Evaluation of Niosomal Nano-Carriers Capabilities on Toxicity Preservation and Delivery of Pomegranate Peel Extract in Cell Culture Conditions (MCF-7 Cell Line of Breast Cancer). DMed 2018; 26(5): 9-20. [Persian]
[21].Nikoonahad Lotfabadi N, Mohseni Kouchesfehani H, Sheikhha MH, Kalantar SM. Evaluation and Comparison of Physicochemical Properties, Cytotoxicity and the Ability of Mirna Loading of Different Cationic Liposomes for Gene Therapy Application. JSSU 2017; 25(6): 444-56. [Persian]
[22].Karim Masud Kazi, Asim Sattwa Mandal, Nikhil Biswas, Arijit Guha, Sugata Chatterjee, Mamata Behera, and Ketousetuo Kuotsu , Niosome: A future of targeted drug delivery systems, J Adv Pharm Technol Res. 2010; 1(4): 374–380.
[23]. Maryam Khatoon, Kifayat Ullah Shah, Fakhar Ud Din, Shefaat Ullah Shah, Asim Ur Rehman, Naz Dilawar & Ahmad Nawaz Khan, Proniosomes derived niosomes: recent advancements in drug delivery and targeting, J Adv Pharm Technol Res. 2010; 1(4): 374–380.
[24]. Byung-Kwan Lim, Elyse C, Tighe, Seong Deok Kong, The use of magnetic targeting for drug delivery into cardiac myocytes, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2019, 21-25
[25]. Nikoonahad Lotfabadi N, Mohseni Kouchesfehani H, Sheikhha MH, Kalantar SM. MiRNA-101 transfection and its effect on the cytotoxicity induction and expression of ubiquitin ligase HECTH9 in acute myeloid leukemia cells (AML). SSU_Journals. 2018; 26(1):64-76.
[26]. Piazzini V, Landucci E, Graverini G, Stealth and Cationic Nanoliposomes as Drug Delivery Systems to Increase Andrographolide BBB Permeability, Pharmaceutics, 2018: 13;10(3)
[27]. Banik BL, Fattahi P, Brown JL, Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine, Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2016:8(2):271-99
[28]. Jinjin Shi, Yu Su, Wei Liu, Junbiao Chang, A nanoliposome-based photoactivable drug delivery system for enhanced cancer therapy and overcoming treatment resistance, Int J Nanomedicine. 2017: 12: 8257–8275.
[29]. Santosh Kumar Singh, Shriti Singh, James W Lillard, Jr, Drug delivery approaches for breast cancer, Int J Nanomedicine. 2017: 12: 6205–6218.
[30]. Hanyang Liu, Yan Zhou, and Liming Tang, Caffeine induces sustained apoptosis of human gastric cancer cells by activating the caspase-9/caspase-3 signalling pathway, Mol Med Rep. 2017; 16(3): 2445–2454.
[31]. Zhang ZW, Xiao J, Luo W, Wang BH, Chen JM, Caffeine Suppresses Apoptosis of Bladder Cancer RT4 Cells in Response to Ionizing Radiation by Inhibiting Ataxia Telangiectasia Mutated-Chk2-p53 Axis, Chin Med J (Engl). 2015; 128(21):2938-45.
[32]. Rachel L. Poole, Michael G, Tordoff, the Taste of Caffeine, J Caffeine Res , 2017; 7(2): 39–52.
[33]. Parthasarathi G, Udupa N, Umadevi P, Pillai G. Niosome Encapsulated of Vincristine Sulfate: Improved Anticancer Activity with Reduced Toxicity in Mice. Journal of Drug Targeting 1994; 2(2): 173-82.