مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ۴۳۷/هفته‌ی اول شهریور ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۳۱

اثر عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنیان بر تغییرات میزان رونویسی از ژن‌های کد کننده‌ی گیرنده‌های Transforming Growth Factor-Beta (TGF-beta) در سلول سرطانی

مرضیه علی‌خانی[۱]، فروزان کریمی[۲]، حسن دربندی تمیجانی[۳]، سریرا شهنواز[۳]، شیما رسولی[۴]، محمد کمالی‌نژاد[۵]، احد خلیل‌نژاد[۳]، محمدرضا سهرابی[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت گیرنده‌ی عامل دگرگونی رشد- بتا (Transforming growth factor-beta receptor یا TGF-beta R) در مسیر پیام‌رسانی مربوط و نقش آن در سرنوشت سلول بدخیم، در این مطالعه، اثرات عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنیان بر میزان رونویسی از ژن‌های کد کننده‌ی زنجیره‌های ۱ و ۲ کمپلکس هترودایمر گیرنده‌ی TGF-beta در سلول‌های سرطان پستان انسانی رده‌ی Michigan cancer foundation-7 (MCF-7) بررسی شد.

روش‌ها: پس از تیمار ۲۴ ساعته‌ی سلول‌ها با دو غلظت غیر سایتوتوکسیک (Cytotoxic) از عصاره (۵ و ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، تغییرات میزان رونویسی از ژن‌های زنجیره‌های پیش‌گفته نسبت به گروه شاهد در سطح نسخه‌برداری، با روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) بررسی شد. داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار REST© و آزمون ANOVA تحلیل شدند. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تیمار سلول‌ها با غلظت ۵ میکروگرم/میلی‌لیتر از عصاره، با کاهش معنی‌دار در میزان نسخه‌برداری از ژن TGF-beta R1 در مقایسه با گروه شاهد همراه بود و میزان بیان آن، به حدود نصف (۰/۵۲) کاهش یافت ($P = ۰/۰۱۵$). تیمار سلول‌ها با غلظت ۴۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از عصاره، با افزایش غیر معنی‌دار در میزان نسخه‌برداری از ژن TGF-beta R1 در مقایسه با گروه شاهد (۱/۳۴ برابر) همراه بود ($P = ۰/۰۶۶$). تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۵ ($P = ۰/۱۳۸$) و ۴۰ میکروگرم/میلی‌لیتر ($P = ۰/۳۴۷$) از عصاره، با تغییرات معنی‌دار در سطح نسخه‌برداری از ژن TGF-beta R2 همراه نبود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تیمار سلول‌های سرطانی پستان رده‌ی MCF-7 با غلظت کم عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنیان، با تغییر در میزان نسخه‌برداری از ژن TGF-beta R1 و نه TGF-beta R2، و در نتیجه، با تغییر در شرایط ریز محیط سلول سرطانی، همراه باشد. بررسی دقیق‌تر این موضوع، نیاز به مطالعات تکمیلی دارد.

واژگان کلیدی: گیاه زنیان، سرطان پستان، گیرنده‌ی نوع I عامل دگرگونی رشد- بتا، واکنش زنجیره‌ی پلیمراز، گیرنده‌ی نوع ۲ عامل دگرگونی رشد- بتا

ارجاع: مرضیه علی‌خانی، فروزان کریمی، دربندی تمیجانی حسن، شهنواز سریرا، رسولی شیما، کمالی‌نژاد محمد، خلیل‌نژاد احد، سهرابی محمدرضا. **اثر عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنیان بر تغییرات میزان رونویسی از ژن‌های کد کننده‌ی گیرنده‌های Transforming Growth Factor-Beta (TGF-beta) در سلول سرطانی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۳۷): ۸۰۶-۸۰۱

مقدمه

سرطان پستان، عامل حدود یک سوم کلیه‌ی سرطان‌ها در زنان و پس از سرطان ریه، دومین علت مرگ ناشی از سرطان در آنان است (۱). با توجه به این که اغلب راه‌کارهای درمانی موجود، درمان قطعی و دایمی سرطان‌ها نیستند، تلاش برای دستیابی به داروهای جدید با مکانیزم های اثربخشی متفاوت با داروهای معمول، ادامه دارد. در این رابطه، یکی از روش‌های مورد توجه پژوهشگران، دست‌کاری در مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با سایتوکاین‌ها می‌باشد.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳- گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۵- مربی، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۶- دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: فروزان کریمی
Email: fkarimi@sbmu.ac.ir

یک گروه از این سایتوکاین‌های مورد بررسی، سایتوکاین‌های خانواده‌ی عامل دگرگونی رشد- بتا (TGF-beta یا Transforming growth factor-beta) و شبکه‌ی پیام‌رسانی آن‌ها است. این سایتوکاین‌ها، پلی‌پپتیدهایی هستند که عملکردهای مختلف سلولی، نظیر رشد و تمایز سلول‌ها را تنظیم می‌کنند و می‌توانند در کاهش رشد و تکثیر سلول‌های توموری نقش داشته باشند. همچنین، تحت شرایط خاص، نقش TGF-beta از سرکوب کننده‌ی تومور، به تقویت کننده‌ی رشد و تکثیر و کمک کننده به متاستاز، تغییر می‌کند و در توسعه‌ی تومور در سرطان‌های مختلف نظیر سرطان پستان، پروستات و پانکراس مشارکت می‌نماید (۳-۲). از این رو، این سایتوکاین‌ها، عوامل موجود در مسیر پیام‌رسانی آن‌ها و گیرنده‌هایشان، می‌توانند مورد هدف توموردرمانی قرار بگیرند (۶-۲).

ترکیبات تشکیل دهنده‌ی برخی از گیاهان دارویی، دارای اثرات ممانعت کنندگی از رشد سلول‌های مختلف هستند. یکی از این گیاهان، زنیان (Ajwain)، با نام‌های علمی Trachyspermum copticum یا Trachyspermum ammi است (۷) که در ایران، مصر، پاکستان، افغانستان، هند، و اروپا می‌روید (۸). تأثیرات فارماکولوژیک و فیتوشیمیایی این گیاه، بررسی و گزارش شده است (۹). اندام‌ها و اجزای این گیاه، حاوی منوترپن‌های خطی و حلقوی همچون تیمول با درصد بالا، منتول، ترپینن و کاراواکرول هستند. منوترپن‌ها، به صورت خوراکی، فاقد اثرات سمی برای بدن هستند و دارای عملکرد ضد سرطان می‌باشند. از این رو، می‌توان آن‌ها را به عنوان خانواده‌ی جدیدی از ضد سرطان‌ها معرفی کرد (۱۰). کاراواکرول، در یک واکنش وابسته به دز، می تواند موجب القای آپوپتوز در سرطان پستان متاستاتیک انسانی رده‌ی MDA-MB-468 بشود (۱۱) و بر سلول‌های سرطان رحم، اثرات سایتوتوکسیک بر جای بگذارد (۱۲). همچنین، اثرات سایتوتوکسیک (Cytotoxic) و مهار کنندگی قوی آن بر رشد سلول‌های سرطانی ریه نشان داده شده است (۱۳).

مطالعات، تأثیر سایتوتوکسیک اسانس این گیاه در محیط کشت‌های حاوی قارچ (۱۴) و باکتری (۱۶-۱۵) و اثر کشندگی عصاره‌های الکلی و اسانس زنیان بر کیست ژیاردیا لامبلیا (Giardia lamblia) (در محیط آزمایشگاه) را نشان داده‌اند (۱۷). همچنین، اثر عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنیان بر رده‌ی سلول‌های سرطان تخمدان انسانی حساس و مقاوم به سیس پلاتین نشان داده شده است؛ بدین نحو که تیمار سلول‌ها با این عصاره، با کاهش معنی‌داری در غلظت TGF-beta ترشح شده در محیط کشت سلول‌ها همراه بوده است (۱۸). همچنین، تیمار چند نوع سلول سرطانی نظیر سلول‌های سرطان پستان انسانی رده‌ی Michigan cancer foundation-7 (MCF-7) با چند غلظت غیر سیتوتوکسیک از عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنیان، با روندی وابسته به زمان و دز، با کاهش میزان بیان ژن TGF-beta 2 و تغییر در میزان بیان ژن‌های SMAD2 و SMAD4 در سطح Messenger RNA (mRNA) همراه بوده است (۱۹).

یکی دیگر از اجزای مهم مسیر پیام‌رسانی TGF-beta، گیرنده‌های TGF-beta R1 و TGF-beta R2 هستند. با توجه به اهمیت آن‌ها در این مسیر و نقش آن‌ها در سرنوشت سلول بدخیم، در این مطالعه‌ی تکمیلی، اثر عصاره‌ی آبی بذر زنیان بر روی میزان بیان ژن گیرنده‌های پیش‌گفته در سطح mRNA در سلول‌های سرطان پستان انسانی رده‌ی MCF-7 بررسی شد.

روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنیان: در این مطالعه ی تجربی، از عصاره‌ی آبی بذر خشک شده‌ی گیاه زنیان که به روش دم کردن تهیه شده بود، برای تیمار سلول های سرطانی استفاده شد. عصاره ی تهیه شده از بذر (تهیه شده از کشور پاکستان) در بن‌ماری قرار داده شد تا آب آن تبخیر گردد. محتوای عصاره، با استفاده از روش High performance-thin layer chromatography (HP-TLC) بررسی و استاندارد شد. سپس، وزن خشک عصاره تعیین گردید. محلول استوک از عصاره، تهیه شد و با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون، فیلتر گردید. سپس، غلظت‌های مختلفی از آن تهیه شد تا از طریق تیمار سلول‌ها با آن‌ها، غلظت‌های غیر سایتوتوکسیک عصاره، مشخص و انتخاب شوند.

کشت سلول: سلول های سرطان پستان انسانی مورد استفاده در این مطالعه، از بانک سلولی مرکز ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شدند. مشخصات این سلول‌ها عبارت از«نام اختصاری سلول: MCF-7؛ مورفولوژی: Epithelial-like؛ کد National Center for Biotechnology Information یا NCBI: C135» بودند.

سلول‌ها در محیط کشت کامل حاوی Roswell Park Memorial Institute (RPMI) (Gibco, USA) حاوی Fetal bovine serum (FBS) (Atocel, Austria)، و پنی‌سیلین/استرپتومایسین (Gibco, USA) کشت داده شدند و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد و هوای مرطوب حاوی دی اکسید کربن ۵ درصد نگهداری شدند. پس از رشد سلول ها و مشاهده ی تراکم سطحی تا حد ۸۰ درصد، پاساژ سلولی انجام می‌شد.

تعیین غلظت‌های غیر سایتوتوکسیک از عصاره: به منظور مشخص شدن و انتخاب غلظت‌های غیر سایتوتوکسیک از عصاره، چند غلظت از عصاره (۵، ۴۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

نام	طول محصول (bp)	توالی ′3-′5
TGF-beta R1 F	۷۸	TGTTGGTATGCCAATGGAGC
TGF-beta R1 R	۷۸	TTCCTGTTGACTGAGTTGCG
TGF-beta R2 F	۱۰۸	GTGGATGACCTGGCTAACAGT
TGF-beta R2 R	۱۰۸	GGTCTGCTTGAAGGACTCAAC
HPRT F	۱۳۱	CCTGGCGTCGTGATTAGTGAT
HPRT R	۱۳۱	AGACGTTCAGTCCTGTCCATAA

میلی‌لیتر)، انتخاب (۱۸) و سلول‌های سرطانی، با این غلظت‌ها به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. سپس، روش 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium bromide (MTT) انجام شد و با استفاده از دستگاه خوانش Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA reader)، نتیجه‌ی آزمایش به صورت چگالی نوری (Optical density یا OD) خوانده شد. در نهایت، از بین غلظت‌های مورد بررسی، دو غلظت ۵ و ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر که طی مدت ۲۴ ساعت، اثرات کشندگی بر سلول‌ها را نداشتند، برای انجام مطالعه انتخاب شدند.

تیمار سلول های سرطانی با غلظت‌های غیر سایتوتوکسیک از عصاره: سلول‌های سرطانی، با غلظت‌های غیر سایتوتوکسیک از عصاره، به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. سپس، با استفاده از شیوه‌نامه‌های معمول، RNA سلول‌ها استخراج و سپس، Complementary DNA (cDNA)، سنتز و با تکنیک Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR)، تکثیر شد و مورد بررسی قرار گرفت.

طراحی پرایمر: اطلاعات مورد نیاز برای طراحی پرایمرهای TGF-beta R1، TGF-beta R2 و HPRT (به عنوان ژن خانه‌دار)، از بانک اطلاعاتی NCBI، استخراج و با استفاده از نرم‌افزار GENE script طراحی شدند. با استفاده از بانک اطلاعاتی NCBI/Basic local alignment search tool (NCBI/BLAST)، توالی پرایمرهای طراحی شده با کل ژنوم انسانی، بلاست شد و از ویژگی پرایمرها برای نواحی مکمل خودشان اطمینان حاصل گردید. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده، در جدول ۱ آمده است.

استخراج RNA و سنتز cDNA: ۲۴ ساعت پس از تیمار سلول‌ها با غلظت‌های انتخاب شده، با استفاده از کیت High pure RNA isolation (Roche, Germany) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده، استخراج RNA انجام شد. به طور خلاصه، ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون سلولی حاوی $۲/۵ \times ۱۰^{۶}$ عدد سلول، با بافر لیز شد و در تیوب فیلتردار، سانتریفیوژ گردید. بعد از دور ریختن مایع جدا شده، باقی‌مانده با DNAse انکوبه شد و پس از شستشو، RNA استخراج شده در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای سنتز cDNA، RNA به دست‌آمده از مرحله‌ی قبل، با استفاده از Revert aid first strand cDNA synthesis kit (Thermo Fisher Scientific, USA) ابتدا با Oligo-dT و آب در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس، با مخلوط بافر، Deoxynucleotide triphosphate (dNTP) و آنزیم Revert aid مطابق مقادیر ذکر شده در دستور شرکت سازنده، مخلوط شد. آن گاه، در ترموسایکلر به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه ی سانتی گراد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، قرار گرفت. cDNA به دست آمده، تا زمان انجام آزمایش، در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

تکنیک Real-Time PCR: ۱ میکرولیتر cDNA، ۱۰ میکرولیتر Mastermix (Takara, Japan)، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر مستقیم، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر معکوس و ۸ میکرولیتر Diethyl pyrocarbonate (DEPC water) با هم مخلوط گردید و در برنامه‌ی سه مرحله‌ای Real-Time PCR (۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای تقلیب، ۳۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی گراد برای اتصال و ۱۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد برای طویل شدن) برای ۴۰ چرخه مورد تکثیر قرار داده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های به دست آمده از Real-time PCR، با استفاده از نرم‌افزار REST© و آزمون ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

با الکتروفورز محصول Real-time PCR ژن‌های HPRT، TGF-beta R1 و TGF-beta R2 روی ژل آگارز ۲ درصد، اختصاصی بودن محصولات تأیید شد.

تیمار سلول‌ها با غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره، با کاهش معنی‌دار در میزان نسخه‌برداری از ژن TGF-beta R1 در مقایسه با گروه شاهد همراه بود؛ به طوری که میزان بیان آن، به حدود نصف (۰/۵۲) کاهش یافت (P = ۰/۰۱۵). تیمار سلول‌ها با غلظت ۴۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از عصاره، با افزایش در میزان نسخه برداری از ژن TGF-beta R1 در مقایسه با گروه شاهد همراه بود؛ به طوری که میزان بیان آن، ۱/۳۴ برابر نسبت به گروه شاهد، افزایش نشان داد، اما این افزایش، از نظر آماری معنی‌دار نبود (P = ۰/۰۶۶).

همچنین، تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۵ (P = ۰/۱۳۸) و ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (P = ۰/۳۴۷) از عصاره، با تغییرات معنی‌دار در سطح نسخه‌برداری از ژن TGF-beta R2 همراه نبود.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، تیمار ۲۴ ساعته‌ی سلول‌های سرطان پستان انسانی رده‌ی MCF-7 با یک غلظت کم و غیر سایتوتوکسیک (یعنی ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنبان، با تغییرات معنی‌دار در میزان بیان ژن TGF-beta R1 در سطح mRNA همراه بود. به عبارت دیگر، تیمار سلول‌ها با غلظت ۵ میکروگرم/میلی‌لیتر، در مقایسه با گروه شاهد، کاهشی به میزان حدود نصف (۰/۵۲) را در میزان بیان این ژن در سطح mRNA نشان داد، اما هنگامی که غلظت عصاره به میزان ۸ برابر (۴۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) افزایش داده شد، میزان بیان این ژن در سطح mRNA در مقایسه با گروه شاهد، با افزایشی به میزان ۱/۳۴ برابر همراه شد. اگر چه این تغییر، از نظر آماری معنی‌دار نبود، اما ممکن است با تکرار مطالعه و افزایش تعداد نمونه‌ها، تغییرات معنی‌داری نیز ملاحظه شود.

واکنش ژن TGF-beta R2 در پاسخ به حضور عصاره، با واکنش ژن TGF-beta R1 به طور کامل متفاوت بود؛ بدین نحو که تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۵ و ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره، با تغییرات معنی‌داری در میزان بیان ژن TGF-beta R2 همراه نبود. به این ترتیب، به نظر می‌رسد که در شرایط کنترل شده‌ی این مطالعه، عصاره‌ی آبی بذر زنبان می‌تواند با تأثیر بر میزان بیان یکی از ژن‌های مؤثر در مسیر پیام‌رسانی TGF-beta، به صورت وابسته به دز، تأثیراتی بر مسیر پیام رسانی سایتوکاین TGF-beta و در نتیجه، تغییر در میزان تکثیر و تمایز سلول‌ها داشته باشد.

لازم به توضیح است که در مطالعه‌ی حاضر، مدت زمان تیمار سلول‌ها، ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد که اگر این مدت زمان، به ۴۸ ساعت یا بیشتر تغییر داده می شد، شاید اثرات وابسته به زمان نیز در نوع اثربخشی عصاره مشاهده می گردید. چنانچه در مطالعه‌ی نصراللهی، عصاره‌ی آبی بذر زنبان، با اثرات وابسته به زمان و وابسته به دز، اثرات بازدارندگی بر میزان بیان ژن سایتوکاین TGF-beta2 در سطح mRNA داشته است (۲۰).

برای بررسی اهمیت این یافته‌ها، لازم است نقش گیرنده‌های سایتوکاین‌های TGF-beta در پیام‌رسانی، تکثیر و تمایز سلول‌ها مرور شود. در پستانداران، سایتوکاین‌های خانواده‌ی TGF-beta شامل سه ایزوفرم به نام‌های TGF-beta، TGF-beta و TGF-beta می‌باشند که هر کدام، عملکرد مختلفی را در بدن انجام می‌دهند (۶)، اما مسیر پیام‌رسانی مشابهی برای هر سه نوع TGF-beta در بدن وجود دارد. مسیر پیام‌رسانی TGF-beta نیز دارای سه گیرنده به نام‌های گیرنده‌های نوع I، II و III می‌باشد. گیرنده‌ی نوع III، به دو پلی‌پپتید TGF-beta، باند می‌شود و TGF-beta را به گیرنده‌ی نوع II تحویل می‌دهد. وقتی که TGF-beta به گیرنده‌ی نوع II باند می‌شود، پیام‌رسانی گیرنده‌ی نوع I را شدت می‌دهد. TGF-beta، یک کمپلکس سرین/ترئونین را با گیرنده‌های نوع I و II تشکیل می‌دهد. در واقع، TGF-betaی باند شده به گیرنده‌ی نوع II، به کارگیری و ترانس‌فسفوریلاسیون گیرنده‌ی نوع I را تحریک می‌کند. گیرنده‌ی نوع I، باعث فسفوریلاسیون پروتئین‌های smad2 و smad3 می‌شود و یک کمپلکس الیگومریک با smad4 شکل می‌گیرد. کمپلکس‌های smad2 و smad4 و نیز smad3 و smad4، جابه‌جا می‌شوند و به هسته می‌روند و در آن جا، به توالی اختصاصی باند می‌شوند و باعث سرکوب یا فعال‌سازی رونویسی می‌شوند (۲۱). بنابراین، هر نوع تأثیرگذاری بر هر یک از این عوامل، می تواند منجر به تغییر یا انحراف در مسیر کلی پیام‌رسانی این سایتوکاین بشود.

به طورکلی، با در نظرگرفتن یافته‌های این مطالعه و گزارش های مطالعات مشابه، می توان گفت که عصاره‌ی آبی بذر گیاه زنبان، در محیط کشت انواعی از سلول های سرطانی، روی میزان بیان ژن سایتوکاین TGF-beta، گیرنده ها و اجزای مسیر پیام‌رسانی آن (در سطح mRNA)، به صورت وابسته به دز و زمان، اثر (کاهنده یا افزاینده) دارد. از این رو، با توجه به نقش سایتوکاین TGF-beta و گیرنده های آن بر سرنوشت سلول های سرطانی نظیر سلول‌های سرطان پستان، می‌توان پیش‌بینی کرد که کنترل میزان بیان این ژن‌ها در سلول‌های سرطانی، به توفیق در کنترل و درمان سرطان منجر شود. به عبارت دیگر، عصاره ی مورد بررسی در شرایط مشخص ممکن است بتواند به عنوان ابزاری برای دست‌کاری بیان ژن‌های پیش گفته و در نهایت، کنترل رشد و تکثیر سلول‌ها که امری اساسی در مطالعات ملکولی و سلولی حیطه‌ی سرطان است، مورد استفاده قرار گیرد. تأیید این موضوع، نیازمند انجام مطالعات تکمیلی است.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی ایمونولوژی پزشکی است که با شماره‌ی ۳۵ م در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تصویب، ثبت و تأمین بودجه گردید.

References

1. Berek JS. Berek and Novak's gynecology. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2011. p. 5709.
2. Siegel PM, Shu W, Cardiff RD, Muller WJ, Massague J. Transforming growth factor beta signaling impairs Neu-induced mammary tumorigenesis while promoting pulmonary metastasis. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(14): 8430-5.
3. Tang B, Vu M, Booker T, Santner SJ, Miller FR, Anver MR, et al. TGF-beta switches from tumor suppressor to prometastatic factor in a model of breast cancer progression. J Clin Invest 2003; 112(7): 1116-24.
4. Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression. Nat Genet 2001; 29(2): 117-29.
5. Dumont N, Arteaga CL. Targeting the TGF beta signaling network in human neoplasia. Cancer Cell 2003; 3(6): 531-6.
6. Massague J. TGF-beta signal transduction. Annu Rev Biochem 1998; 67: 753-91.
7. Gersbach PV, Reddy N. Non-invasive localization of thymol accumulation in Carum copticum (Apiaceae) fruits by chemical shift selective magnetic resonance imaging. Ann Bot 2002; 90(2): 253-7.
8. Shojaaddini M, Moharramipour S, Sahaf BZ. Fumigant toxicity of essential oil from Carum copticum against Indian meal moth, Plodia interpunctella. J Plant Prot Res 2008; 48(4): 411-9.
9. Dwivedi SN, Mishra RP, Alava S. Phytochemistry, pharmacological studies and traditional benefits of Trachyspermum ammi (Linn.) Sprague. International Journal of Pharmacy and Life Sciences 2012; 3(5): 1705-9.
10. Loza-Tavera H. Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and properties. Adv Exp Med Biol 1999; 464: 49-62.
11. Arunasree KM. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. Phytomedicine 2010; 17(8-9): 581-8.
12. Mehdi SJ, Ahmad A, Irshad M, Manzoor N, Rizvi MMA. Cytotoxic effect of Carvacrol on human cervical cancer cells. Biology and Medicine 2011; 3(2 Special Issue): 307-12.
13. Koparal AT, Zeytinoglu M. Effects of carvacrol on a human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line, A549. Cytotechnology 2003; 43(1-3): 149-54.
14. Rasooli I, Fakoor MH, Yadegarinia D, Gachkar L, Allameh A, Rezaei MB. Antimycotoxigenic characteristics of Rosmarinus officinalis and Trachyspermum copticum L. essential oils. Int J Food Microbiol 2008; 122(1-2): 135-9.
15. Amiri A, Jomehpour N. Evaluation the Effect of anti bacterial of Ferula assa-foetida L, Carum copticum, Mentha piperita L Hydroalcoholic extract on standard sensitive and methicillin- resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli O157H7 and Salmonella typhimurium. J Ilam Univ Med Sci 2016; 24(2): 72-9. [In Persian].
16. Shafeghat M, Sharifi Mood B, Metanat M, Saeidi S, Sepehri N. The Antibacterial Activity of the Ajowan Extract. Iran J Infect Dis Trop Med 2014; 19(67): 37-40. [In Persian].
17. Shahabi S, Ayazi Roozbehani F, Kamalinejad M, Abadi A. Anti-giardia activity of Carum copticum on Giardia lamblia cysts in vitro . Pajouhesh Dar Pezeshki 2008; 32(4): 303-7. [In Persian].
18. Karimi F, Mobini-Kesheh M, Kamalinejad M, Hatami H, Labibi F, Darbandi-Tamijani H, et al. Transforming growth factor-beta2 levels in human ovarian cancer cell cultures treated with aques and alcoholic, and essential oil of Trachyspermum copticum (L.) Link (Zenian). Med Hist 2011; 3(7): 129-60. [In Persian].
19. Dalil N. Evaluation of transforming growth factor-beta 2, Smad2, and Smad4 gene expression in human breast cancer cell line (MCF-7) treated with aqueous extract of Trachyspermum copticum (L.) link seeds [MSc Thesis]. Tehran, Iran: Shahid Beheshti University of Medical Sciences; 2015. [In Persian].
20. Nasrollahi MF. Evaluation of transforming growth factor- beta 2 gene expression in colon cancer (CT26), breast cancer (MCF7), and leukemia (K562) cell lines treated with aqueous extract of Trachyspermum copticum (L.) link seeds [MSc Thesis]. Tehran, Iran: Shahid Beheshti University of Medical Sciences; 2015. [In Persian].
21. Siegel PM, Massague J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer. Nat Rev Cancer 2003; 3(11): 807-21.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 35, No. 437, 1st Week, September 2017

Received: 07.05.2017

Accepted: 21.06.2017

Effects of Aqueous Extract of Trachyspermum Copticum (L.) link Seeds on Transcription of Transforming Growth Factor-beta Receptor 1 and 2 Genes in Cancer Cells

Marzieh Alikhani[1], Forouzan Karimi[2], Hassan Darbandi-Tamijani[3], Sarira Shahnavaz[3], Shima Rasouli[4], Mohammad Kamalinejad[5], Ahad Khalilnejad[3], Mohammad-Reza Sohrabi[6]

Original Article

Abstract

Background: Transforming growth factor (TGF)-beta 2 signaling pathways and their receptors exert a pivotal role in behavior and fate of tumor cells. Therefore, these pathways are target of drug discovery researches. In this study, we evaluated the effects of the aqueous extract of Trachyspermum copticum (L.) link (carum) seeds on TGF-beta receptor 1 and 2 genes coding the heterodimer complex of receptor in MCF-7 cell line of human breast cancer.

Methods: Non-cytotoxic concentrations of the extract determined by 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium bromide (MTT) test and cells treated with non-cytotoxic concentrations (5 and 40 µg/ml) of extract for 24 hours. Then, to evaluate the expression of TGF-beta receptors 1 and 2 genes at the level of transcription, real-time polymerase chain reaction (PCR) was performed (comparing the control group). Data were analyzed using REST® software and analysis of variance test. Level of significance was set at 0.05.

Findings: Cells treated with concentration of 5 µg/ml of extract showed reduction in gene transcription levels to almost half (0.52) ($P = 0.015$); and in cells treated with concentration of 40 µg/ml of extract, gene transcription levels increased to 1.34 times ($P = 0.066$) comparing to control group. Treatment of cells with extract showed no meaningful changes in TGF-beta receptor 2 gene expression at the level of transcription ($P = 0.148$).

Conclusion: Results suggest that treatment of MCF-7 cells with low concentration of aqueous extract of Trachyspermum copticum (L.) link seeds can affect the TGF-beta receptor 1 gene transcription, but not the TGF-beta receptor 2; and alter the microenvironment of tumor cell. Further studies have to be performed for conclusive evidence.

Keywords: Carum, Breast neoplasms, Transforming growth factor-beta type I receptor, Transforming growth factor-beta type II receptor

Citation: Alikhani M, Karimi F, Darbandi-Tamijani H, Shahnavaz S, Rasouli S, Kamalinejad M, et al. **Effects of Aqueous Extract of Trachyspermum Copticum (L.) link Seeds on Transcription of Transforming Growth Factor-beta Receptor 1 and 2 Genes in Cancer Cells.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(437): 803-6.

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- PhD Candidate, Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Lecturer, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6- Associate Professor, Department of Community Medicine, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Forouzan Karimi, Email: fkarimi@sbmu.ac.ir