Original Article

The Cytotoxic Effects of Hydroalcoholic Extract of Aerial Parts of Scrophularia striata on MCF-7 Cell Line and Evaluation of BAX and KAI1 Genes Expression

***Modaddeseh Sadat Tabatabaeinejad*[1], *Rahim Ahmadi*[1*], *Seyed Mehrdad Kassaee*[2]**

[1]*Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran.*

[2]*Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
Rahim Ahmadi;
Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran.

Email: rahahmadi2001@yahoo.com

Received: 17 Mar, 2018
Accepted: 9 Jun, 2018

Abstract

Background and Objectives: Studies have shown that *Scrophularia striata* has various treatment effects. For this purpose, in this study, the cytotoxic effect of hydroalcoholic extract of aerial parts of *Scrophularia striata* was investigated on MCF-7 cell line, and *BAX* and *KAI1* genes expression was assessed.

Methods: In this laboratory experimental study, at first, extract of the plant was prepared using maceration method. The effect of different concentrations of the extract (0.001, 0.001, 0.1, 1, and 10mg/ml) was investigated on the viability of MCF-7 cells using MTT assay method. Also, the effects of doses of 1, 0.1, and 0.01mg/ml of the extract, was evaluated on *BAX* and *KAI1* genes using real-time PCR. The data were analyzed using one way AN0VA test.

Results:.In this study, all concentrations of the extract caused a significant decrease in viability of MCF7 cells compared to the control group ($p<0.001$). On the one hand, the relative expression level of antimetastasis *KAI1* gene and *BAX* apoptotic gene significantly decreased in the groups that received 0.1 and 1 mg/ml of extract compared to the control group ($p<0.001$).

Conclusion: The findings of this study showed that hydroalcoholic extract of aerial parts of *Scrophularia striata* has cytotoxic effects on breast cancer cells, which, in this regard, can induce of *BAX* gene dependent apoptosis. Moreover, this extract has antimetastatic effects on breast cancer cells through increasing the relative expression level of antimetastasis *KAI1* gene.

Keywords: MCF-7 Cells; *Schrophularia striata*; Human BAX; KAI1.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دوازدهم، شماره نهم، آذر ۹۷
صفحه ۳۸ الی ٤٦

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گل میمونی شیاردار بر رده سلولی MCF-7 و ارزیابی بیان ژن‌های BAX و KAI1

محدثه سادات طباطبایی‌نژاد[۱]، رحیم احمدی[۱*]، سیدمهرداد کسایی[۲]

[۱]گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران.

[۲]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
رحیم احمدی؛ گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
rahahmadi2001@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۶
تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات نشان داده‌اند گل میمونی شیاردار دارای اثرات درمانی متعددی است؛ به‌همین منظور در این مطالعه تأثیر سیتوتوکسیک عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گل میمونی شیاردار بر سلول‌های MCF-7 و ارزیابی بیان ژن‌های *BAX* و *KAI1* بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، ابتدا عصاره گیاه به روش ماسراسیون تهیه شد، سپس تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره (۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) بر زنده‌مانی سلول‌های MCF7 به روش MTT مورد سنجش قرار گرفت. همچنین بررسی اثرات دوزهای ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر عصاره بر ژن‌های *BAX* و *KAI1* با استفاده از real-time PCR ارزیابی شد. داده‌ها به کمک آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، تمام غلظت‌های عصاره سبب کاهش معنی‌دار زنده‌مانی سلول‌های MCF7 در مقایسه با گروه کنترل شد ($p<۰/۰۰۱$). از سویی، بیان نسبی ژن ضدمتاستازی *KAI1* و ژن آپوپتوزی *BAX* در گروه‌های دریافت‌کننده ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر عصاره نسبت به گروه کنترل به ترتیب دچار افزایش و کاهش معنی‌داری شد ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گل میمونی شیاردار دارای اثرات سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی پستان است که در این راستا می‌تواند سبب القای آپوپتوز وابسته به ژن *BAX* شود. همچنین این عصاره با افزایش بیان نسبی ژن ضدمتاستازی *KAI1*، دارای اثرات ضدمتاستازی در سلول‌های سرطانی پستان نیز می‌باشد.

کلید واژه‌ها: سلول‌های ام سی اف ۷؛ گل میمون شیاردار؛ پروتئین باکس انسانی؛ کا آ ایی ۱.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Tabatabaeinejad MS, Ahmadi R, Kassaee SM. The cytotoxic effects of hydroalcoholic extract of aerial parts of *Scrophularia striata* on MCF-7 cell line and evaluation of *BAX* and *KAI1* genes expression. Qom Univ Med Sci J 2018;12(9):38-46. [Full Text in Persian]

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مقدمه

سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان نئوپلاستیک در زنان بوده که به‌عنوان مهم‌ترین دلیل مرگ ناشی از سرطان نیز مطرح است (۲،۱). سرطان پستان می‌تواند عوارض متعدد بالینی و فیزیولوژیک در مبتلایان برجای بگذارد (۴،۳). عوامل خطر ابتلا به سرطان پستان بسیار متعدد بوده که ازجمله می‌توان چاقی، کم‌تحرکی، نوشیدنی‌های الکلی، هورمون‌درمانی، پرتوهای یونی، اولین قاعدگی در سنین پایین، دیر بچه‌دارشدن یا بچه‌دار نشدن و ژنتیک را برشمرد (۵). همچنین از راهکارهای درمانی این بدخیمی می‌توان به جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی اشاره کرد؛ با این حال، میزان مرگ‌ومیر در این بیماران بالا بوده که خود حکایت از ناکارآمدی این راهکارهای درمانی دارد (۶). بنابراین، نیاز به تحقیق درخصوص روش‌های درمانی جدید بیش از پیش حایز اهمیت است. از سویی، یکی از سازوکارهای عملکردی داروهای ضدسرطانی، القای آپوپتوز است که موجب مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود (۷). آپوپتوز، فرآیند تنظیم‌شده‌ای است که نقش بسیار مهمی در حفظ هموستاز در ارگانیسم‌های چند سلولی دارد (۸). مطالعات نشان داده‌اند آپوپتوز به‌واسطه بسیاری از عوامل برون‌سلولی و درون‌سلولی کنترل می‌شود. همچنین از میان عوامل درون‌سلولی، ژن *Bax* به‌عنوان یک ژن کلیدی در مسیر داخلی آپوپتوز عمل می‌کند (۹). این ژن پروآپوپتوزی بوده و منجر به پیشبرد مرگ سلولی می‌شود (۱۰). ژن *KAI1*، یک ژن سرکوبگر متاستاز است که تحرک و تهاجم سلول‌های سرطانی اولیه را سرکوب می‌کند (۱۱).

درمان سرطان پستان اغلب به‌علت متاستازهای متعدد، با محدودیت‌هایی همراه بوده و در موارد قابل‌توجهی نیز درمان‌ها ناموفق هستند (۱۲). بنابراین، استفاده از داروهای مؤثرتر با عوارض جانبی کمتر برای کنترل، همچنین درمان این نوع سرطان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

در این راستا، اخیراً ترکیبات دارویی با منشأ گیاهی، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۴،۱۳). در میان گیاهان دارویی، گل میمونی شیاردار (*ScroPhularia striata*)، ازجمله گیاهان دارویی است که در ایران و برخی کشورهای دیگر نظیر چین در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه از تیره گل میمون (*Scrophulariaceae*) بوده و خواص دارویی آن در موارد متعددی بررسی شده است. جنس *Scrophularia* در ایران دارای ۶۰ گونه است که ۲۸ گونه آن انحصاری ایران می‌باشد. گونه‌های مختلف اسکروفولاریا در درمان انواع بیماری‌ها از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. در اروپا، گونه‌ای از این گیاه برای مداوای غدد متورم، زخم‌های عفونی، گوش‌درد، بواسیر و زخم‌هایی که دیر التیام می‌یابند، استفاده می‌شود (۱۵). در ایران نیز این گیاه در درمان درد، التهاب و عفونت چشم، اختلالات گوارشی، زخم‌های عفونی، کورک، هموروئید و ...، به کار می‌رود (۱۶). در مطالعات اخیر اثرات سایتوتوکسیک عصاره گیاه گل میمونی شیاردار به همراه اثرات آپوپتوتیک آن بر رده‌های سلولی آستروسیتوما (۱۷)، فیبروبلاست (۱۸) و لوسمی (۱۹) مورد بررسی قرار گرفته و اخیراً در مطالعاتی به بررسی اثر حفاظتی این عصاره گیاهی روی سلول‌های عصبی پرداخته شده است (۲۱،۲۰).

با توجه به آنکه شیوع سالانه سرطان پستان در دنیا رو به افزایش است (۵)، همچنین از آنجا که این سرطان به‌عنوان شایع‌ترین سرطان در زنان ایرانی مطرح بوده و اطلاعات موجود، از افزایش شیوع این بدخیمی طی دو دهه گذشته در ایران حکایت دارد (۲۲)، و با در نظر گرفتن روش‌های درمانی سرطان پستان که در موارد قابل‌توجهی، دارای محدویت‌های متعدد و یا عوارض جانبی قابل‌توجهی است و از سویی، با توجه به اینکه مطالعات انجام‌شده درخصوص اثرات ضدسرطانی گل میمونی شیاردار بر سرطان پستان بسیار اندک است؛ بنابراین، در مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضدتکثیری عصاره گل میمونی شیاردار بر رده سلول سرطان سینه (MCF7) و ارزیابی بیان ژن‌های *BAX* و *KAI1* پرداخته شد. امید است نتایج حاصل از این تحقیق بتواند مبنا و بنیادی جهت مطالعات بیشتر با هدف امکان استفاده از عصاره گل میمونی شیاردار در درمان سرطان پستان باشد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی – آزمایشگاهی، پس از جمع‌آوری گیاه گل میمونی شیاردار در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۳ از منطقه شمال ایران، نمونه گیاهی با نمونه هرباریومی موجود در دانشکده داروسازی

International License Creative Commons Attribution License 4.0

دانشگاه شهید بهشتی تهران مطابقت داده شد و نام علمی گیاه توسط متخصص مربوطه مورد تأیید قرار گرفت. سپس از بخش هوایی این گیاه به روش ماسراسیون، عصاره هیدروالکلی تهیه گردید. بدین منظور، ابتدا گیاه تازه با آب شست‌وشو داده شد و به‌وسیله دستگاه خردکن به‌صورت پودر درآمد، سپس گیاه خردشده به مدت ۴۸ ساعت در حلال ۸۰٪ اتانول غوطه‌ور گردید و متعاقباً محلول به‌دست‌آمده از کاغذ صافی گذرانده شد و حلال آن به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلاء تبخیر گردید. در ادامه، ماده خشک به‌دست‌آمده توزین و در آب مقطر حل شد. در نهایت برای انجام تست MTT، پس از رقیق کردن محلول حاصله در محیط کشت، محلول با فیلتر سرسرنگی ۲۰۰ نانومتر فیلتر و در فریزر نگهداری شد. رده سلولی MCF7 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

ابتدا سلول‌ها در محیط کشت RPMI1640 (Biosera, USA) غنی‌شده با ۱۰٪ سرم جنین گاوی کشت داده شدند و در رطوبت ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفتند. به‌منظور بررسی سمّیت سلولی عصاره، از تست رنگ‌سنجی MTT استفاده گردید. در این راستا، ابتدا با شمارش سلولی، حدود ۱۰۴ سلول در هر چاهک کشت داده شد و متعاقباً سلول‌ها با غلظت‌های ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر از عصاره تیمار شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، محتوای چاهک‌های پلیت ۹۶خانه‌ای به دقت خارج و به آن رنگ MTT (Sigma Aldrich، ساخت آلمان) اضافه گردید و به مدت ۴ ساعت تحت شرایط دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و دی‌اکسیدکربن ۵٪ نگهداری شدند، سپس رنگ MTT جداسازی و کریستال‌های فورمازان تولیدشده به‌وسیله سلول‌های زنده در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) حل شدند.

در نهایت، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه قرائت‌خوان الایزا (ELISA reader, Oraganon Teknika، هلند) در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید.

جهت بررسی اثر عصاره بر تغییر بیان ژن‌های آپوپتوزی وابسته به میتوکندری(*KAI1* و *BAX*)، از روش Real time PCR استفاده شد؛ بدین‌منظور ابتدا با شمارش سلولی، حدود 5×10^5 سلول در پلیت شش‌خانه‌ای و انکوبه کردن به مدت ۲۴ ساعت در هر چاهک کشت داده شدند، سپس سلول‌ها با غلظت‌های ۱، ۰/۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر از عصاره گیاه گل میمون شیاردار تیمار شدند.

بعد از گذشت ۲۴ساعت، RNA با استفاده از کیت جداسازی کیاژن (Qiagen, RNeasy Plus Mini Kit 50, Valencia. CA) استخراج و سنتز cDNA با استفاده از کیت (Takara, Tokyo, JaPan) طبق پروتکل موجود در کیت انجام شد. واکنش‌های Real-time PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به‌صورت تکرار سه‌تایی صورت گرفت. در هر واکنش ۱۰ میکرولیتر SYBR-Green PCR Master Mix، یک میکرولیتر (۱۵۰ نانومولار) از پرایمرها (جدول)، ۱ میکرولیتر cDNA و مابقی آب مقطر ۲ بار تقطیر اضافه گردید تا به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر رسید. در این مطالعه از دستگاه ABI 7300 استفاده شد. برنامه زمانی - گرمایی دستگاه در سه مرحله شامل: مرحله اول که منجر به واسرشت شدن مولکول‌های cDNA و فعال شدن آنزیم پلیمراز می‌شود؛ در ۹۵ درجه سانتیگراد، به مدت ۱۰ دقیقه و مرحله دوم ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه و در نهایت، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه برای ۴۰ چرخه متوالی انجام شد. به‌منظور بررسی بیان ژن‌ها از پرایمرهای اختصاصی استفاده گردید (جدول).

جدول: توالی پرایمرهای ژن‌های *BAX*، *KAI1* و *GAPDH*

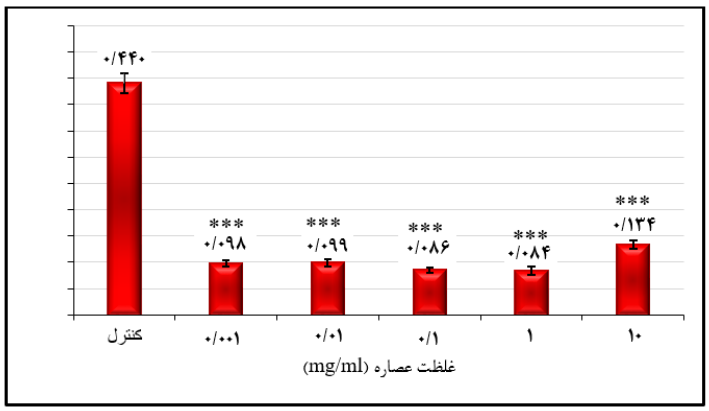
ژن		پرایمر
KAI1	**F**	5'-CTCAGCCTGTATCAAAGTCA-3'
	R	5'-CCCACGCCGATGAAGACATA-3'
Bax	**F**	5'-TTGCTTCAGGGTTTCATCCAG-3'
	R	5'-AGCTTCTTGGTGGACGCATC-3'
GAPDH	**F**	5'- CCCACTCCTCCACCTTTGAC-3'
	R	5'-CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA-3'

International License Creative Commons Attribution License 4.0

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸و با استفاده از آزمون آماری کولموگروف - اسمیرنوف جهت توزیع طبیعی داده‌ها، آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $\alpha<0/05$ در نظر گرفته شد.

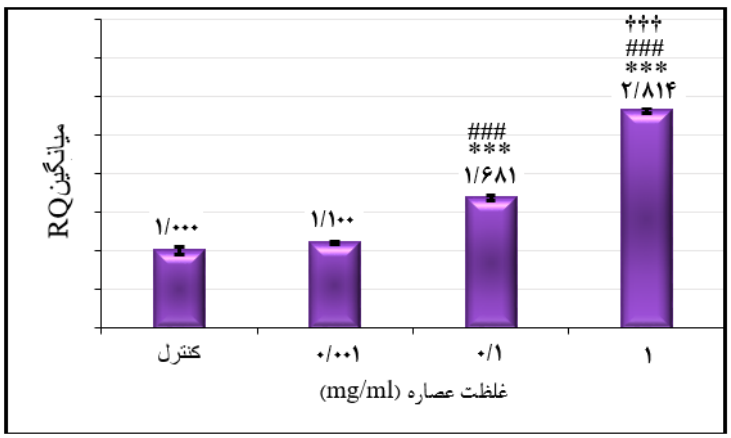
یافته‌ها

نمودار شماره ۱ بیانگر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی پستان (MCF7) در گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گل میمون با غلظت‌های مختلف است. مطابق این نمودار، زنده‌مانی سلول‌های سرطانی پستان در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گل میمونی شیاردار با غلظت‌های ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نسبت به گروه کنترل، دچار کاهش معنی‌داری شده است ($p<0/001$). همچنین زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با غلظت‌های ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نسبت به‌هم اختلاف معنی‌داری ندارند.



نمودار شماره ۱: زنده‌مانی سلول‌های MCF7 در گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده ۱۰، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر عصاره گل میمونی شیاردار. * بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل است ($p<0/001$).**

نمودار شماره ۲ نشانگر بیان نسبی ژن *KAI1* در سلول‌های سرطانی دریافت‌کننده غلظت‌های مختلف عصاره می‌باشد. براساس این نمودار، بیان ژن *Kai1* در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نسبت به گروه کنترل، دچار افزایش معنی‌داری شده است ($p<0/001$). غلظت‌های ۱ و ۰/۱ نیز نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، دچار افزایش معنی‌داری شده ($p<0/001$)، و از سویی، افزایش معنی‌دار بیان ژن *Kai1* در گروه دریافت‌کننده عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر قابل‌مشاهده است ($p<0/001$).

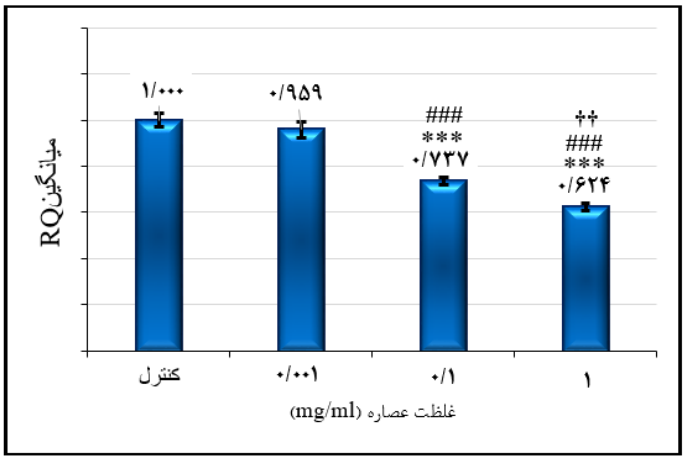


نمودار شماره ۲: مقایسه اثرات عصاره گل میمونی شیاردار در گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده ۱ و ۰/۱، ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بر میزان بیان نسبی (RQ) ژن *KAI1*. *، ### و ††† به ترتیب بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، گروه دریافت‌کننده ۰/۰۰۱ و دریافت‌کننده ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر عصاره در سطح $p<0/001$ می‌باشد.**

International License Creative Commons Attribution License 4.0

نمودار شماره ۳ بیان نسبی ژن *BAX* در سلول‌های سرطانی دریافت‌کننده غلظت‌های مختلف عصاره را نشان می‌دهد. طبق این نمودار، بیان ژن آپوپتوزی *Bax* در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نسبت به گروه کنترل دچار کاهش معنی‌داری شده است (p<۰/۰۰۱).

همچنین در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، کاهش معنی‌داری مشاهده می‌شود (p<۰/۰۰۱). گروه دریافت‌کننده عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نیز نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی لیتر دچار کاهش معنی‌داری شده است (p<۰/۰۱).



نمودار شماره ۳: مقایسه اثرات عصاره گل میمونی شیاردار در گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده ۱، ۰/۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بر بیان نسبی (RQ) ژن *BAX*. * و ### به ترتیب بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر عصاره در سطح p<۰/۰۰۱ می‌باشد.**
†† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر عصاره در سطح p<۰/۰۱ می‌باشد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گل میمونی شیاردار دارای اثرات سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی پستان است و در این راستا می‌تواند سبب القای آپوپتوز وابسته به ژن *BAX* در سلول‌های سرطانی پستان در محیط کشت سلولی گردد. موافق با این یافته، نتایج مطالعات نشان داده‌اند عصاره گل میمونی شیاردار می‌تواند سبب مهار تکثیر سلول‌های سرطانی لوسمی از طریق القای آپوپتوز شود (۲۳).

از سویی، اخیراً اثرات ضدسرطانی گونه دیگر این گیاه (*Scrophularia atropatana*) بر سلول‌های سرطان پستان در محیط کشت سلولی نیز مشاهده شده است. در این پژوهش مشخص گردید عصاره این گیاه می‌تواند سبب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پستان شود که این اثر وابسته به دوز می‌باشد (۲۴). همچنین اثرات ضدتکثیری عصاره متانولی گونه‌ای از جنس اسکروفیولاریا بر سلول‌های سرطانی کولون نیز مشاهده شده است.

در همین راستا، نتایج نشان داد عصاره می‌تواند با القای آپوپتوز سبب القای مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی گردد (۲۵).

بررسی اثرات عصاره *ScroPhularia oxysePala* بر تومور پستان در نمونه‌های حیوانی نیز نشان می‌دهد این عصاره دارای اثرات ضدتکثیری است (۲۶). از طرفی، با بررسی اثرات عصاره گونه *Scrophularia variegate* بر سلول‌های سرطانی پستان مشخص شده است این عصاره می‌تواند از طریق مسیر داخلی سبب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی شود (۲۷). تحقیقات نشان داده‌اند عصاره برگ گل میمونی شیاردار نیز دارای ترکیباتی بوده که قادرند اثرات ضدسرطانی برجای بگذارند (۱۷). اگرچه نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهند عصاره این گیاه می‌تواند در مواردی، از القای آپوپتوز جلوگیری کند (۲۸). در تحقیق حاضر، عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گل میمونی شیاردار با افزایش بیان نسبی ژن ضدمتاستازی *KAI1* دارای اثرات ضدمتاستازی بود.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

موافق با این یافته، نتایج مطالعات نشان می‌دهند عصاره اندام‌های هوایی گل میمونی شیاردار احتمالاً دارای ترکیبات قطبی است که می‌تواند سبب مهار متالوپروتیینازهای ماتریکس شود (۲۹)، که این امر بر متاستاز سلول‌های سرطانی تأثیرگذار است. از سویی، نتایج تحقیقات نشانگر وجود ۵ ماده زیستی مؤثر (شامل سه نوع فلاونوئید، سینامیک اسید و گلیکوزید فنیل پروپانوئید) در عصاره اندام هوایی گل میمونی شیاردار است (۳۰)؛ بنابراین، اثرات آپوپتوزی و ضدمتاستازی عصاره اندام هوایی این گیاه را می‌توان به این ترکیبات نسبت داد. هرچند باید بررسی‌های بیشتر و مفصل‌تری در این خصوص صورت گیرد تا به‌وضوح مشخص گردد کدامیک از این مواد دارای خصلت آپوپتوزی یا ضدمتاستازی هستند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گل میمونی شیاردار دارای اثرات سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی پستان بوده و می‌تواند سبب القای آپوپتوز وابسته به ژن *BAX* شود. همچنین این عصاره با افزایش بیان نسبی ژن ضدمتاستازی *KAI1*، دارای اثرات ضدمتاستازی در سلول‌های سرطانی پستان است.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان این مقاله از آقای دکتر ادریس مهدوی کجویی که در تهیه گیاه و عصاره آن مساعدت شایان کرده‌اند کمال قدردانی را ابراز می‌دارند.

References:

1. Fisch T, Pury P, Probst N, Bordoni A, Bouchardy C, Frick, et al. Variation in survival after diagnosis of breast cancer in Switzerland. Ann Oncol 2005;16(12):1882-8. Link

2. Bray F, McCarron P, Parkin DM. The changing global Patterns of female breast cancer incidence and mortality. Breast Cancer Res 2004;6(6):229. PMC

3. DeSantis C, Siegel R, Jemal A. Breast cancer facts and figures 2013-2014. American Cancer Society; 2013. p. 1-38. Link

4. Wilbur K, Elmubark A, Shabana S. Systematic review of standardized Patient use in continuing medical education. J Contin Edu Health Prof 2018;38(1):3-10. PubMed

5. Shibuya K, Mathers CD, Boschi-Pinto C, LoPez AD, Murray CJ. Global and regional estimates of cancer mortality and incidence by site: II. Results for the global burden of disease 2000. BMC Cancer 2002;2(1):37. Link

6. Møller P, Wallin H, Knudsen LE. Oxidative stress associated with exercise, Psychological stress and life-style factors. Chem Biol Interact 1996;102(1):17-36. Link

7. Park EJ, Pezzuto JM. Botanicals in cancer chemo prevention. Cancer Metastasis Rev 2002;21(3-4):231-55. PubMed

8. Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. Nat 1992;356(6368):397-400. PubMed

9. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: Regulators of the cellular life or-death switch. Nat Rev Cancer 2002:2(9):647-56. PubMed

International License Creative Commons Attribution License 4.0

10. Yang MY, Rajamahendran R. ExPression of Bcl-2 and bax proteins in relation to quality of bovine oocytes and embryos produced in vitro. Anim ReProd Sci 2002;70(3-4):159-69. PubMed

11. Chavez KJ, Garimella SV, LiPkowitz S. Triple negative breast cancer cell lines: One tool in the searc understanding and managing chemotherapy side effects **h** for better treatment of triple negative breast cancer. Breast Dis 2010;32(12):35-48. PubMed

12. Desantos Galindez J, Piaz lanza AM, Matellan LF. Biologically active substances from the genus scrophularia. Pharm Biol 2002;40(1):45-59. Link

13. Fleishman SB. Understanding and managing chemotherapy side effects. New York: Cancer Care® HelP and HoPe; 2005. Link

14. Graham JG, Quinn ML, Fabricant DS, Farnsworth NR. Plants used against cancer–an extension of the work of Jonathan Hartwell. J Ethno Pharmacol 2000;73(3):347-77. PubMed

15. Srivastava V, Negi AS, Kumar JK, GuPta MM, Khanuja SP. Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological Profile of some imPortant leads. Bioorganic Med Chem 2005;13(21):5892-908. PubMed

16. Díaz AM, Abad MJ, Fernández L, Silván AM, De Santos J, Bermejo P. Phenyl Pro Panoid glycosides from scrophularia scorodonia: In vitro anti-inflammatory activity. Life Sci 2004;74(20):2515-26. PubMed

17. Ardeshiry lajimi A, Rezaie-tavirani M, Mortazavi SA, Barzegar M, Moghadamnia SH, Rezaee MB. Study of anti cancer Pro Perty of Scro Phularia striata extract on the human astrocytoma cell line (1321). Iran J Pharm Res 2010;9(4):403. PMC

18. Ardeshiri Lajimi AAR, Barzegar M, Rezaei TaviraniM, Hashemi M, Heydari S, Moghadamnia SH, et al. Effects of ScroPhularia striata extract on human fibroblast cells. Med Sic J Islam Azad Univ 2009;19:168-172. [Full Text in Persian] Link

19. Azadmehr A, Hajiaghaee R, Mazandarani M. Induction of apoptosis and G2 /M cell cycle arrest by scrophularia striata in a human leukemia cell line. Cell Prolif 2013;46(6):637-43. PubMed

20. Azadmehr A, Oghyanous KA, Hajiaghaee R, Amirghofran Z, Azadbakht M. Antioxidant and neuroprotective effects of scrophularia striata extractagainst oxidative stress-induced neurotoxicity. Cell Mol Neurobiol 2013;33(8):1135-41. PubMed

21. Salavatia P, Ramezanib M, Monsef-Esfahanic HR, Hajiaghad R, Parsae M, Tavajohie S, et al. Neuroprotective effect of total and sequential extractof scrophularia striata boiss in rat cerebellar granule neurons following glutamate-induced neurotoxicity: An In-vitro Study. Iran J Pharm Res 2013;12(2):389-94. PMC

22. Harirchi I, Kolahdoozan S, Karbakhsh M, Chegini N, Mohseni SM, Montazeri A, et al. Twenty years of breast cancer in Iran: down staging without a formal screening Program. Ann Oncol 2010;22(1):93-7. PubMed

23. Wang XD, Li CY, Jiang MM, Li D, Wen P, Song X, et al. Induction of apoptosis in human leukemia cells through an intrinsic pathway by cathachunine, a unique alkaloid isolated from Catharanthus roseus. Phytomedicine 2016;23(6):641-53. PubMed

24. Safarzadeh E, Delazar A, Kazemi T, Orangi M, Shanehbandi D, Esnaashari S, et al. The cytotoxic and apoptotic effects of scrophularia atro patana extracts on human breast cancer cells. Adv Pharm Bull 2017;7(3):381. PMC

25. Namvaran A, Fazeli M, Farajnia S, Hamidian G, Rezazadeh H. APoPtosis and casPase 3 Pathway role on anti-Proliferative effects of scrophulariaoxy sepala methanolic extract on caco-2 cells. Drug Res (Stuttg) 2017;67(09):547-52. PubMed

International License Creative Commons Attribution License 4.0

26. Baradaran PC, Mohammadi A, Mansoori B, Baradaran SC, Baradaran B. Growth inhibitory effect of scrophularia oxysepala extract on mouse mammary carcinoma 4T1 cells in vitro and in vivo systems. Biomed Pharmacother 2017;85:718-24. PubMed

27. Azadmehr A, Hajiaghaee R, Baradaran B, Haghdoost-Yazdi H. Apo Ptosis cell death effect of scrophularia variegata on breast cancer cells via mitochondrial intrinsic Pathway. Adv Pharm Bull 2015;5(3):443. PMC

28. Mahboubi M, Kazem Pour N, Nazar AR. Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of scrophularia striata Boiss extracts. jundishapur J Nat Pharm Prod 2013;8(1):15. PMC

29. Hajiaghaee R, Monsef-Esfahani HR, Khorramizadeh MR, Saadat F, Shahverdi AR, Attar F. Inhibitory effect of aerial Parts of scrophularia striata on matrix metallo proteinases expression. Phytother Res 2007;21(12):1127-9. PubMed

30. Monsef-Esfahani HR, Hajiaghaee R, Shahverdi AR, Khorramizadeh MR, Amini M. Flavonoids, cinnamic acid and Phenyl Propanoid from aerial Parts of scrophularia striata. Pharm Biol 2010;48(3):333-6. PubMed

International License Creative Commons Attribution License 4.0