Original Article

The Cytotoxic Effects of Testosterone on Gastric Cancer Cell Line (AGS) and Evaluation of Caspase-3, -8, and -9 Activity

Neda Amani[1], Mehrdad Shariati[1], Rahim Ahmadi[2], Saeed Khatamsaz[1], Mokhtar Mokhtari[1]*

[1]*Department of Biology, School of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.*

[2]*Department of Physiology, School of Basic Sciences, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran.*

[*]***Corresponding Author:*** **Rahim Ahmadi;** School of Basic Sciences, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran.

Email: drrahahmadi@yahoo.com

Received: 9 Mar, 2019
Accepted: 10 May, 2019

Abstract

Background and Objectives: Various studies have shown that sex steroids affect cancer cells at cellular and molecular level. In this study, the anti-proliferation effects of testosterone, was investigated on gastric cancer cell line (AGS) and activity level of caspase-3, -8 and -9, was evaluated.

Methods: In this laboratory experimental study, AGS cell line, were randomly divided into control group (no exposure to hormone) and groups received testosterone (at concentrations 0.001, 0.01, 0.1, 1, and 10mg/ml). The cytotoxic effect of the extract was measured using MTT assay method. Caspase-3, -8 and -9 activity level was also evaluated using ELISA method. The data were statistically analyzed between groups using one way ANOVA and student's t-test.

Results: Testosterone at the concentrations of 0.1 and 1mg/mL significantly reduced the viability of AGS cells compared to the control group ($p<0.001$). Exposure of gastric cancer cells to 1mg/mL of testosterone significantly increased the activity level of caspase-3 ($p<0.001$) and -9 ($p<0.05$) as compared to the control group, but caused no significant change in the activity level of caspase-8.

Conclusion: The findings of this study showed that testosterone can exert cytotoxic effects on AGS cell line, which this effect is at least partly mediated by caspase-3 and -9.

Keywords: Testosterone; Stomach neoplasms; Caspase-3; Caspase-8; Caspase-9.

DOI: 10.29252/qums.13.6.8

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره سیزدهم، شماره ششم، شهریور ۹۸
صفحه ۸ الی ۱۷

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر سایتوتوکسیک تستوسترون بر رده سلولی سرطان معده و ارزیابی فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹

ندا امانی[۱]، مهرداد شریعتی[۱]، رحیم احمدی[۲*]، سعید خاتم‌ساز[۱]، مختار مختاری[۱]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

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

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

آدرس پست الکترونیکی:
drrahahmadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۹
تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات نشان داده‌اند استروئیدهای جنسی بر تکثیر سلول‌های سرطانی در سطح سلولی و مولکولی تأثیرگذارند. در این مطالعه به بررسی اثرات ضد تکثیری تستوسترون بر رده سلولی سرطان معده و ارزیابی فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ پرداخته شد.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی، سلول‌های AGS در دو گروه شاهد (عدم مواجهه با هورمون) و گروه‌های دریافت‌کننده تستوسترون (با غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) قرار گرفتند. اثر سیتوتوکسیک هورمون با استفاده از سنجش MTT اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ به‌وسیله کیت Elisa مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و تی‌تست بین گروه‌ها مقایسه شدند.

یافته‌ها: تستوسترون در غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر سبب کاهش معنی‌دار زنده‌مانی سلول‌های AGS در مقایسه با گروه شاهد شد ($p<0/001$). همچنین مواجهه سلول‌های سرطان معده با هورمون تستوسترون در غلظت یک میلی‌گرم برمیلی‌لیتر باعث افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت کاسپازهای ۳ ($p<0/001$) و ۹ ($p<0/05$) در این سلول‌ها نسبت به گروه کنترل شد، اما تغییر معنی‌داری بر میزان فعالیت کاسپاز- ۸ ایجاد نکرد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد هورمون تستوسترون می‌تواند اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی معده اعمال کند که بخشی از این اثر حداقل از طریق افزایش فعالیت کاسپازهای ۳ و ۹ میانجیگری می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تستوسترون؛ سرطان معده؛ کاسپاز- ۳؛ کاسپاز- ۸؛ کاسپاز- ۹.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Amani N, Shariati M, Ahmadi R, Khatamsaz S, Mokhtari M. The cytotoxic effects of testosterone on Gastric Cancer Cell Line (AGS) and evaluation of Caspase-3, -8, and -9 activity. Qom Univ Med Sci J 2019;13(6):8-17. [Full Text in Persian]

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مقدمه

سرطان معده در جهان به‌عنوان چهارمین سرطان شایع و دومین عامل مرگ‌ومیر شناخته شده است (۱). عوامل عفونی، محیطی و ژنتیکی در ایجاد این سرطان نقش مؤثری دارند (۲). براساس آمار منتشره، بیشترین موارد این سرطان در کشورهای ژاپن، چین و روسیه مشاهده شده و کمترین موارد آن نیز مربوط به کشورهای توسعه‌یافته غربی است (۳). سرطان معده در بخش‌های مختلفی از ایران نیز از شیوع قابل‌ملاحظه‌ای برخوردار است (۴). امروزه، درمان‌های متداول جهت سرطان معده شامل رادیوتراپی، شیمی‌درمانی و جراحی می‌باشد (۵،۶)؛ اگرچه فعال‌سازی مسیر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی، از روش‌های نوین برای درمان و مبارزه با سلول‌های سرطانی شناخته شده است. مسیر آپوپتوز با فعال شدن آنزیم‌های کاسپازی همراه است. کاسپازها جزء خانواده سیستئین پروتئازها بوده و نقش محوری در شروع و فاز اجرایی آپوپتوز دارند. در روند آپوپتوز، کاسپازها فعال شده و روی سوبستراهای خود عمل می‌کنند و سبب تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوتیک می‌شوند. با بررسی فعالیت کاسپازها می‌توان مسیر آپوپتوز (خارجی و داخلی) را ارزیابی کرد (۵). کاسپازها به دو گروه شامل: کاسپازهای آغازگر و اجرایی تقسیم می‌شوند (۶). در شرایط طبیعی، سلول‌ها با نگه‌داشتن کاسپازها به فرم غیرفعال، در برابر مرگ آپوپتوزی از خود محافظت می‌کنند. درصورت دریافت پیام مرگ، برخی کاسپازها با هضم پروتئولیتیکی فعال شده، سپس سایر کاسپازها را فعال می‌کنند که این امر خود باعث فعال‌شدن کاسپازهای اجرایی می‌گردد و این آبشار کاتالیتیکی درنهایت، منجر به مرگ سلولی می‌شود (۷). عمل اصلی کاسپازهای آغازگر (شامل کاسپازهای ۸، ۹ و ۱۲) فعال‌کردن کاسپازهای پایین‌دست بوده و کاسپازهای اجرایی (کاسپازهای ۳، ۶ و ۷) نیز مسئول تخریب پروتئین‌های سلولی هستند (۸). مطالعات نشان داده‌اند اندروژن‌ها، به‌ویژه تستوسترون بر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی تأثیرگذارند. تستوسترون، یک اندروژن مهم در مردان و زنان است. این هورمون در مردان به‌طور عمده به‌وسیله سلول آندوپلاسمی صاف از سلول‌های لیدیگ بیضه و در زنان عمدتاً توسط تخمدان‌ها، غدد فوق‌کلیه و بافت چربی تولید می‌شود (۹).

در مطالعات مختلف به بررسی نقش هورمون‌های جنسی مردانه، به‌خصوص تستوسترون در سرطان‌ها پرداخته شده است. مسئله مهم در این مطالعات، نتایج بسیار ضدونقیض در این حیطه می‌باشد. در این راستا، نتایج برخی تحقیقات نیز بیانگر این مطلب است که هورمون‌های استروئیدی مردانه می‌توانند سبب تحریک تکثیر سلول‌های سرطانی شوند (۱۰)؛ درحالی‌که پژوهش‌های دیگر نشان داده‌اند تستوسترون رشدونمو سلول‌های سرطانی را مهار می‌کند (۱۱). همچنین برخی مطالعات، سطوح بالای تستوسترون را با افزایش خطر ابتلا به سرطان مرتبط دانسته‌اند (۱۲،۱۳)؛ هرچند بیشتر این گزارش‌ها به‌لحاظ آماری قابل‌توجیه نیست (۱۴). ارتباط تستوسترون با سرطان کولون در موارد زیادی به اثبات رسیده، اما نقش این هورمون در سایر سرطان‌ها کمتر شناخته شده است (۱۵،۱۶). از سوی دیگر، با پیشرفت‌های اخیر در حیطه سلولی و مولکولی، مطالعاتی در زمینه اثرات هورمون‌های استروئید جنسی بر سلول‌های سرطانی، به‌ویژه در حوزه تأثیر آن‌ها بر ژن‌های آپوپتوزی، ضد آپوپتوزی و متاستازی صورت گرفته است (۱۷-۱۹)، اما گستره این مطالعات بسیار محدود است، همچنین نتایج حاصل از این تحقیقات در موارد قابل‌توجهی ضدونقیض می‌باشد. در سال‌های اخیر درمان انتخابی سلول‌های سرطانی به‌وسیله القای آپوپتوز، هدف اصلی بسیاری از تحقیقات بوده است (۲۰-۲۳).

با توجه به نقش مهم هورمون‌های جنسی در تکوین سرطان‌ها، به‌ویژه سرطان‌های سیستم گوارشی، همچنین نتایج بسیار ضدونقیض در زمینه اثرات هورمون‌های جنسی بر تکوین این سرطان‌ها در سطح سلولی و مولکولی و نیز محدودیت مطالعات در حوزه اثر تستوسترون بر ارزیابی فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ در سلول‌های سرطانی معده؛ این تحقیق با هدف بررسی اثرات تستوسترون بر تکثیر رده سلول‌های سرطانی معده و ارزیابی فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ در محیط کشت سلولی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، پودر خالص هورمون تستوسترون از شرکت دارویی ابوریحان تهیه شد. در ادامه، یک میلی‌گرم پودر خالص هورمون تستوسترون در یک میلی‌لیتر حلال

International License Creative Commons Attribution License 4.0

دی‌متیل سولفوکسید، یک میلی‌لیتر توئین ۸۰ به‌اضافه ۷ میلی‌لیتر محلول نمکی بافر فسفات (PBS) حل گردید. رقت‌های مختلف از هورمون تستوسترون (با غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) در میکروتیوب‌های استریل تهیه و از فیلتر سر سرنگی عبور داده شدند که درنهایت، از این رقت‌ها برای تیمار سلول‌های سرطان معده استفاده شد. سلول‌های سرطان معده از بانک سلولی انستیتو پاستور تهیه و سلول‌ها در شرایط استاندارد نگهداری شدند. سپس این سلول‌ها در محیط کشت رشد کامل (RPMI 1640)، حاوی سرم گاوی جنینی و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین، تحت اتمسفر ۹۵٪ هوا و دی‌اکسیدکربن ۵٪ در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رشد یافتند. سلول‌های سرطان معده به دو گروه کنترل (شاهد) و دریافت‌کننده غلظت سیتوتوکسیک هورمون تستوسترون تقسیم شدند. گروه شاهد تحت هیچ‌گونه تیماری قرار نگرفت و جهت بررسی اثر سیتوتوکسیک تستوسترون بر سلول‌های سرطانی، از روش رنگ‌سنجی سنجش MTT استفاده شد. در همین راستا، سلول‌ها را در پلیت‌های ۹۶ چاهکی (حاوی محیط کشت مناسب با تراکم $۳/۳\times۱۰^{۴}$ سلول در هر سانتی‌متر مکعب) کاشته و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از ۲۴ ساعت، غلظت‌های مختلف تستوسترون اضافه گردید و سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت مجدداً انکوبه شدند. در هر پلیت، غلظت‌های مختلف دارو با سه بار تکرار به‌کار برده شد، سپس محیط کشت از چاهک‌های حاوی سلول حذف و ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت تازه به هر چاهک اضافه گردید. در ادامه، اجازه داده شد سلول‌ها برای مدت ۲۴ ساعت دیگر رشد کنند. در پایان زمان رشد، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محیط تازه و ۵۰ میکرولیتر رنگ MTT افزوده شد. سپس پلیت‌ها را در فویل آلومینیوم پیچیده و در محیط مرطوب و دمای ۳۷ درجه برای مدت ۸-۴ ساعت انکوبه شدند. محیط حاوی MTT از چاهک‌ها حذف و کریستال فورمازان باقیمانده از MTT با اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر حلال دی متیل سولفوکسید و ۲۵ میکرولیتر بافر گلایسین به هر چاهک حل گردید. بلافاصله جذب در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد، سپس چاهک‌های حاوی محیط، MTT و فاقد سلول به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شدند. همه آزمایش‌ها به‌صورت سه بار تکرار انجام گرفت.

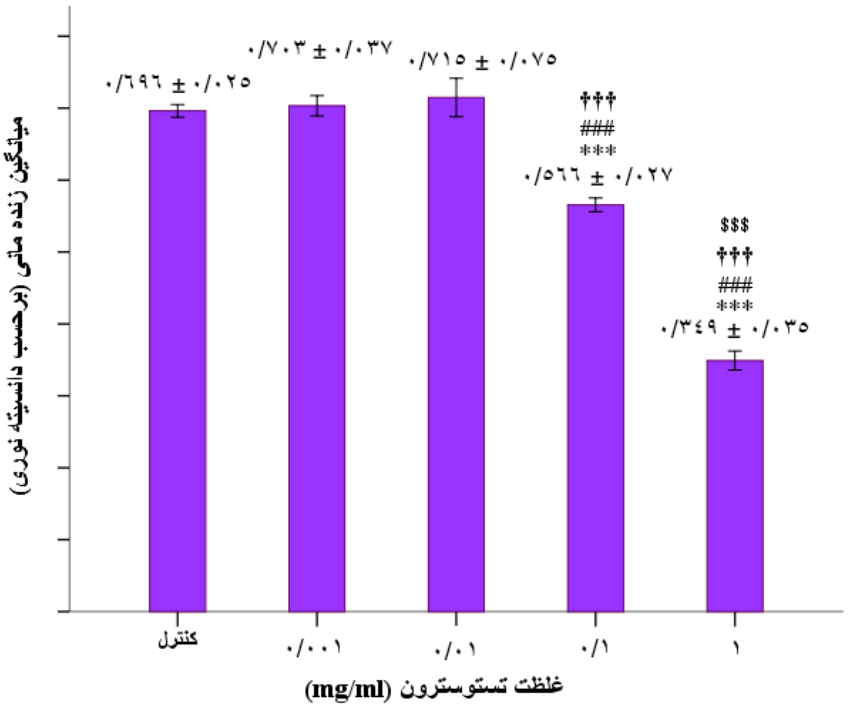
فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ با استفاده از کیت آزمایشگاهی رنگ‌سنج ApoTarget (Abnova، تایوان) با توجه به دستورالعمل‌های تولیدکننده تعیین گردید. آپوپتوز در سلول‌های سرطانی معده با استفاده از تستوسترون القا و به‌طور همزمان در گروه کنترل، کشت داده شد. سلول‌ها شمارش و در پلیت با تراکم ۳×۱۰^{۶}-۵ سلول در هر نمونه قرار گرفتند و متعاقباً در ۵۰ میکرولیتر از بافر لیز سلولی سرد مجدداً ترکیب شده و بر روی یخ به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شدند، سپس برای یک‌دقیقه در یک میکروسانتریفوژ، سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت (عصاره سیتوزول) به یک لوله تازه اضافه و روی یخ قرار گرفت. هر عصاره سیتوزولی به غلظت ۲۰۰-۵۰ میکروگرم پروتئین در ۵۰ میکرولیتر بافر لیز سلولی رقیق شد. تعداد نمونه‌ها برای اندازه‌گیری تعیین و به‌اندازه کافی بافر واکنشی اضافه گردید. به هر نمونه، ۵۰ میکرولیتر از بافر واکنشی افزوده شد، سپس ۵ میکرولیتر سوبسترای ۴ میلی‌مولار اضافه گردید و به مدت ۲-۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. نمونه‌ها در حین انکوباسیون در تاریکی نگه داشته شدند. درنهایت، نمونه‌ها در یک دستگاه خواننده میکروپلیت در طول‌موج ۴۰۰ یا ۴۰۵ نانومتر قرائت شدند و میزان فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ با مقایسه مستقیم با میزان کنترل تعیین گردید.

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، آزمون کولموگروف - اسمیرونوف (جهت توزیع طبیعی داده‌ها)، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی (پس از حصول از طبیعی بودن توزیع داده‌ها، اطلاعات مربوط به اثر سیتوتوکسیک تستوسترون) و آزمون تی‌تست (برای فعالیت کاسپازها) تجزیه‌وتحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $\alpha<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در نمودار شماره ۱ تأثیر غلظت‌های مختلف تستوسترون بر میانگین زنده‌مانی رده سلول‌های AGS نشان داده شده است.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

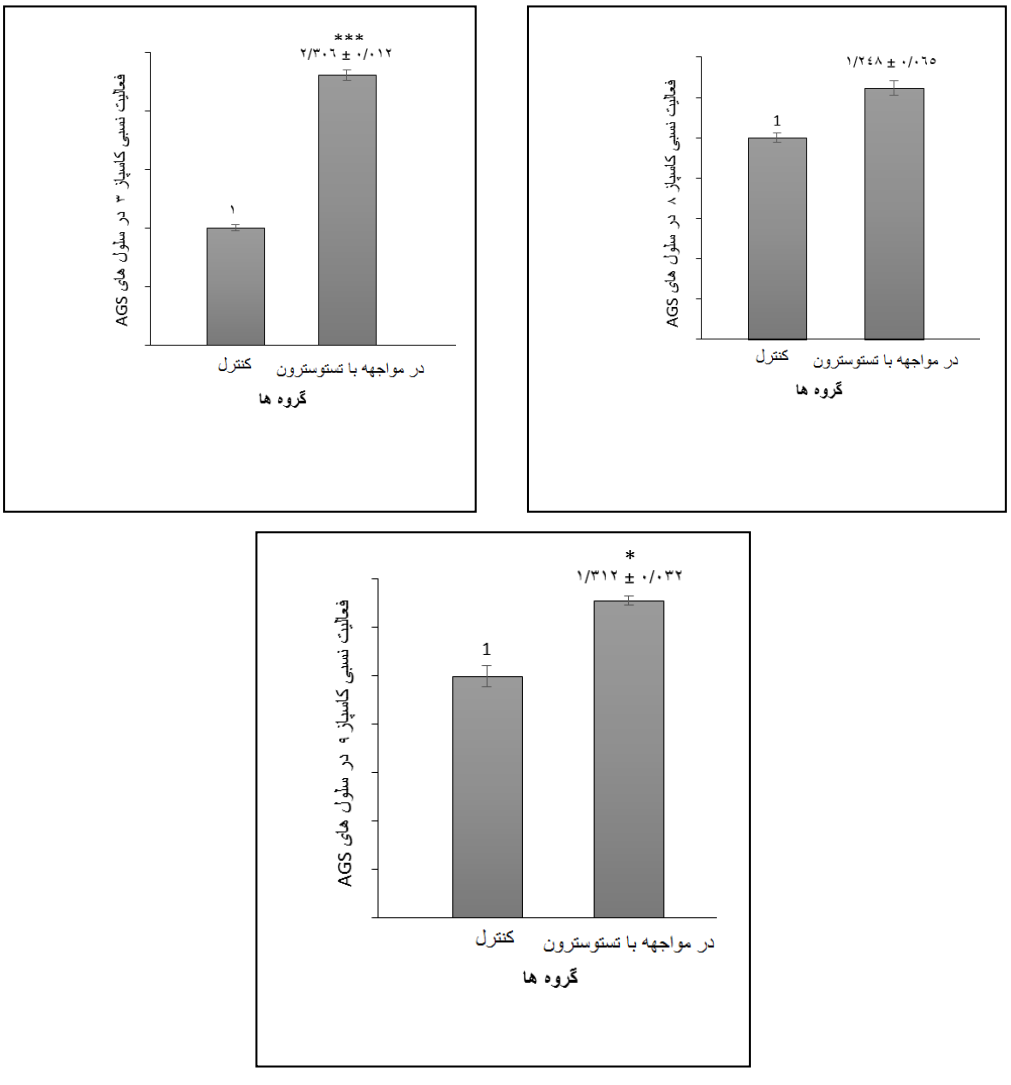


نمودار شماره ۱: مقایسه اثرات غلظت‌های مختلف تستوسترون بر زنده‌مانی رده سلول‌های AGS.
داده‌ها به‌صورت «میانگین ± انحراف معیار» نشان داده شده‌اند. * بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل با p<۰/۰۰۱؛**
بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر تستوسترون با p<۰/۰۰۱؛
††† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده ۰/۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر تستوسترون با p<۰/۰۰۱ و $$$ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر تستوسترون با p<۰/۰۰۱ می‌باشد.

با توجه به نتایج مندرج در نمودار شماره ۱، اختلاف معنی‌داری در میانگین زنده‌مانی سلول‌های AGS در گروه‌های دریافت‌کننده تستوسترون (دوز ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در مقابل، در بررسی میانگین زنده‌مانی سلول‌های AGS در گروه دریافت‌کننده تستوسترون (با دوز ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیده شد. همچنین در گروه دریافت‌کننده تستوسترون (با دوز ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)، کاهش معنی‌داری در میانگین زنده‌مانی سلول‌های AGS نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید.

نمودارهای شماره ۲، ۳ و ۴، درصد فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ در سلول‌های سرطان معده تحت تأثیر هورمون تستوسترون (با دوز یک میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) را نشان می‌دهد. مواجهه سلول‌های سرطان معده با هورمون تستوسترون (غلظت یک میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) باعث افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت کاسپازهای ۳ و ۹ در این سلول‌ها نسبت به گروه کنترل شد (به ترتیب در p<۰/۰۰۱ و p<۰/۰۵). همچنین مواجهه سلول‌های سرطان معده با هورمون تستوسترون (غلظت یک میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)، افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت کاسپاز - ۸ در این سلول‌ها نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد.

International License Creative Commons Attribution License 4.0



نمودار شماره ۲، ۳ و ٤: بررسی اثر تستوسترون بر میزان فعالیت کاسپاز ۳، ۸ و ۹ در سلول‌های AGS.

داده‌ها به‌صورت "میانگین ± انحراف معیار" نشان داده شده‌اند.

*** و *** بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل به ترتیب با p<۰/۰۵ و p<۰/۰۰۱ می‌باشد.**

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد هورمون تستوسترون در غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، تأثیر معنی‌داری بر کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی معده (AGS) ندارد، اما مواجهه هورمون تستوسترون (با غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری دارای اثر ضدتکثیری بر سلول‌های سرطانی AGS می‌باشد. بر این اساس، غلظت بالای تستوسترون می‌تواند اثر مهاری بر تکثیر سلول‌های سرطانی AGS داشته باشد. همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، دیگر مطالعات نشان داده‌اند هورمون تستوسترون دارای اثرات مهاری بر تکثیر سلول‌های مختلف سرطانی، ازجمله سرطان پستان است (۱۱).

همچنین سطوح بالای آندروژن‌ها در خون، اثرات محافظتی بر روی سیستم گوارشی داشته که با کاهش ریسک سرطان کولون همراه است (۲۴). در مقابل، برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند سطوح بالای آندروژن‌ها ممکن است ریسک سرطان را افزایش دهند (۲۵). نتایج مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان داد سطوح افزایش‌یافته تستوسترون پلاسما با خطر بالای ابتلا به سرطان و مرگ زودرس پس از سرطان مرتبط است (۲۶). تحقیق دیگری نشان داد سطوح بالای تستوسترون ممکن است ریسک ابتلا به سرطان ریه و پروستات را افزایش دهد، گرچه نتایج مطالعات بر روی مردان نشان داده است ارتباطی بین سطوح تستوسترون و ریسک سرطان کولورکتال وجود ندارد (۲۷).

International License Creative Commons Attribution License 4.0

از سوی دیگر، غلظت‌های پایین تستوسترون، گیرنده‌های غیرکلاسیک (گیرنده‌های غشایی) را فعال می‌کنند (۲۸)، که به‌نوبه خود مسیرهای غیرژنومیک را فعال کرده و باعث تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود، اما تستوسترون در غلظت‌های بالا از طریق رسپتورهای سیتوزولی، مسیر آپوپتوز را تحریک و تکثیر سلول‌های سرطانی را مهار می‌کند (۲۹).

یافته‌های این پژوهش درخصوص اثرات سیتوتوکسیک هورمون تستوسترون بر رده سلولی AGS، نشانگر آن است که غلظت سیتوتوکسیک هورمون تستوسترون باعث افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ می‌شود، اما فعالیت کاسپاز - ۸ را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. در این راستا، محققان با بررسی بیان کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ در ۶۰ مورد سرطان آدنوکارسینومای پیشرفته معده، میزان بیان کاسپاز - ۳ را در حد ۹۵٪، کاسپاز - ۸ در حد ۹۳٪، کاسپاز - ۹ در حد ۹۰٪ و کاسپاز - ۱۰ را در حد ۹۷٪ گزارش کردند. در مقابل، بافت نرمال معده بیان خیلی کم یا عدم بیان این کاسپازها را نشان داد. درمجموع، این نتایج نشان می‌دهند سلول‌های سرطان معده جهت آپوپتوز نیاز به بیان کاسپازها دارند (۳۰). در مطالعات مختلف رابطه بین بیان کاسپاز - ۳ و سرطان دستگاه گوارش ارزیابی شده است؛ ولی بااین‌حال، پیش‌بینی میزان بیان کاسپاز - ۳ هنوز معلوم نیست. داده‌ها نشان می‌دهند بیان کاسپاز - ۳ تأثیر خاصی بر میزان بقای کلی سرطان دستگاه گوارش ندارد، همچنین بیان بالای کاسپاز - ۳ به‌صورت ضعیفی باعث پیش‌بینی سرطان معده می‌شود (۳۱). پروتئین‌های کاسپازها؛ ازجمله کاسپازهای ۳، ۸ و ۹، آنزیم‌های پروتئازی هستند که در آغاز و اجرای فرآیند آپوپتوز دخیل بوده و نقش کلیدی در پیشرفت سرطان ایفا می‌کنند. کاسپازهای ۳ و ۹ در بافت‌های توموری نسبت به بافت‌های نرمال دچار تنظیم کاهشی می‌شوند، اما کاسپاز - ۸ در بافت توموری نسبت به بافت سالم دچار تنظیم افزایشی می‌گردد (۳۲،۳۳). یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند تستوسترون بر آپوپتوز در سلول‌های عضله صاف عروقی تأثیر می‌گذارد و می‌تواند از طریق مسیر خارجی، آپوپتوز را در این سلول‌ها القا کند (۳۴). در مطالعه دیگری نشان داده شد تستوسترون فعالیت کاسپاز - ۳ را در سلول‌های سرطان پروستات افزایش داده و می‌تواند اثرات ضدتوموری در سرطان پروستات داشته باشد (۳۵). در مقابل، داده‌های دیگری نشان می‌دهند آندروژن‌ها باعث جلوگیری از فعال شدن کاسپازهای ۷، ۸ و ۹ می‌شوند و ازاین‌رو قادر به محافظت از سلول‌های سرطانی پروستات در مقابل آپوپتوز ناشی از محرک‌های مختلف هستند (۳۶). برخی یافته‌ها نشان می‌دهند گیرنده‌های هورمون جنسی ممکن است تا حدودی در سرطان معده درگیر باشند، اما اهمیت بالینی و پیش‌بینی آن‌ها در سرطان معده محدود است (۳۷). در پژوهشی، محققان اثرات ضد توموری گیرنده‌های آندروژن غشایی را در سرطان‌های دستگاه گوارش نشان دادند (۳۸). همچنین گزارش‌ها حاکی از آن است که سلول‌های نئوپلاسمیک قادرند آپوپتوز را از طریق مهار فعالیت کاسپاز - ۳ مهار کنند (۳۹). مطالعات قابل‌توجهی در مورد ارتباط بین کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ و آپوپتوز انجام‌گرفته و نتایج این تحقیقات همانند یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر نشان داده‌اند در مواردی همراه با آپوپتوز، فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ نیز دچار تغییراتی می‌شوند، اما تغییر فعالیت این کاسپازها بسیار متنوع و متفاوت است و الزاماً همسویی باهم ندارند (۴۰،۴۱). هم‌راستا با یافته‌های این مطالعه، نتایج حاصل از تحقیقات اخیر نشان داده‌اند آپوپتوز در سلول‌های AGS توسط مسیر آپوپتوزی خارجی وابسته به کاسپاز و فعال‌سازی کاسپازهای ۳ و ۸ اجرا می‌گردد (۴۲،۴۳).

درمجموع و با توجه به نتایج مطالعات پیشین، دوز سیتوتوکسیک تستوسترون، فعالیت کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ را متأثر می‌سازد؛ اگرچه در مطالعه حاضر تنها فعالیت سطح فعالیت کاسپازهای ۳ و ۹ دچار افزایش شد و سطح فعالیت کاسپاز - ۸ دچار تغییر معنی‌داری نشد. درخصوص نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌توان گفت با توجه به مکانیسم‌های داخلی و خارجی مسیر آپوپتوزی، احتمالاً تستوسترون از طریق فعال‌سازی مسیر داخلی آپوپتوز، فعالیت کاسپاز - ۹ را متأثر ساخته، اما اثری بر مسیر خارجی و فعال‌سازی کاسپاز - ۸ نداشته است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد هورمون تستوسترون در غلظت‌های بالا می‌تواند اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی معده اعمال کند و سبب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی معده گردد که

International License Creative Commons Attribution License 4.0

بخشی از این اثر حداقل از طریق افزایش فعالیت کاسپازهای ۳ و ۹ میانجیگری می‌شود و احتمالاً سبب فعال‌سازی کاسپاز آغازگر مسیر داخلی آپوپتوز شده، اما تأثیری بر کاسپاز آغازگر مسیر خارجی ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری مصوب دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون جهت پشتیبانی این پژوهش تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References:

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011;61(2):69-90. Link

2. Zabaleta J. Multifactorial etiology of gastric cancer. Cancer Epigenetics 2012;863:411-35. Link

3. Inoue M, Tsugane S. Epidemiology of gastric cancer in Japan. Postgrad Med J 2005;81(957):419-24. Link

4. Pakzad R, Khani Y, Pakzad I, Momenimovahed Z, Mohammadian-Hashejani A, Salehiniya H, et al. Spatial analysis of stomach cancer incidence in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2016;17(S3):27-32. Link

5. Ziegler U, Groscurth P. Morphological features of cell death. News Physiol Sci 2004;19:124-8. Link

6. Salami S, Karami-Tehrani F. Biochemical studies of apoptosis induced by tamoxifen in estrogen receptor positive and negative breast cancer cell lines. Clin Biochem 2003;36(4):247-53. Link

7. Nagata Sh. Apoptotic DNA fragmentation. Exp Cell Res 2000;256(1):12-8. Link

8. Wang ZB, Liu YQ, Cui YF. Pathways to caspase activation. Cell Biol Int 2005;29(7):489-96. Link

9. Roshan MHK, Tambo A, Pace NP. The role of testosterone in colorectal carcinoma: pathomechanisms and open questions. EPMA J 2016;7(1):22. Link

10. Patman G. Colorectal cancer: male hormones increase the incidence of colonic adenomas. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2015;12(1):4. Link

11. Glaser R, Dimitrakakis C. Testosterone and breast cancer prevention. Maturitas 2015;83(3):291-5. Link

12. Fogh J, Fogh J, Orfeo T. One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice .J Natl Cancer Inst 1977;59(1):221-6. Link

13. Kita Y, Mori Sh, Baba K, Uchikado Y, Arigami T, Idesako T, et al. Mucinous adenocarcinoma emerging in sigmoid colon neovagina 40 years after its creation: a case report. World J Surg Oncol 2015;13:213. Link

14. Cohen E, Ophir I ,Shaul YB. Induced differentiation in HT29, a human colon adenocarcinoma cell line. J Cell Sci 1999;112:2657-66. Link

15. Arem H, Park Y, Felix AS, Zervoudakis A, Brinton LA, Matthews CE et al. Reproductive and hormonal factors and mortality among women with colorectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. Br J Cancer 2015;113(3):562-8. Link

16. Anagnostopoulou V, Pediaditakis l, Alkahtani S, Alarifi SA, Schmidt EM, Lang F, et al. Differential effects of dehydroepiandrosterone and testosterone in prostate and colon cancer cell apoptosis: The role of nerve growth factor (NGF) receptors. Endocrinology 2013;154(7):2446-56. Link

International License Creative Commons Attribution License 4.0

17. Li X, Zhang J, Zhu X, Wang P, Wang X, Li D. Progesterone reduces inflammation and apoptosis in neonatal rats with hypoxic ischemic brain damage through the PI3K/Akt pathway. Int J Clin Exp Med 2015;8(5):8197-203. Link

18. Christgen M, Christgen H, Heil C, Krech T, Länger F, Kreipe H, Lehmann U. expression of KAI1/CD82 in distant metastases from estrogen receptor-negative breast cancer. Cancer Sci 2009;100(9):1767-71. Link

19. Pecherskiĭ AV, OB L, Pecherskiĭ VI, Vonskiĭ MS, Mittenberg AG, Semiglazov VF. Testosterone's role in regulating expression of genes of several proliferation factors. Tsitologiia 2006;48(10):856-61. Link

20. Liu J, Zhang Y, Qu J, Xu L, Hou K, Zhang J, et al. β-Elemene-induced autophagy protects human gastric cancer cells from undergoing apoptosis. BMC Cancer 2011;11:183. Link

21. Liamarkopoulos EGM, Aravantinos G, Tzanakis N, Theodoropoulos G, Rizos S, et al. Caspase 8 and caspase 9 gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer. Gastric Cancer 2011;14(4):317-21. Link

22. Liamarkopoulos E, Gazouli M, Aravantinos G, Tzanakis N, Theodoropoulos G, Rizos S, et al. Caspase 8 and caspase 9 gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer. Gastric Cancer 2011;14(4):317-21. Link

23. Shokrzadeh M, Kenari SA, Haghi Aminjan H, Ghasemi M, Hoseini V, Jeivad F, et al. Caspase 9 promoter polymorphisms in gastric cancer, mazandaran province. J Mazand Univ Med Sci 2013;98(3):2-7. [Full Text in Persian] Link

24. Alberg AJ, Gordon GB, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Serum dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate and the subsequent risk of developing colon cancer. Cancer Epidemiol Biomarks Prev 2000;9(5):517-21. Link

25. Warburton D, Hobaugh C, Wang G, Lin H, Wang R. Testosterone replacement therapy and the risk of prostate cancer. Asian J Androl 2015;17(6):878-81. Link

26. Ørsted DD, Nordestgaard BG, Bojesen S. Plasma testosterone in the general population, cancer prognosis and cancer risk: A prospective cohort study. Annals Oncol 2014;25(3):712-18. Link

27. Yao Q, Wang W, Jin J, Min K, Yang J, Zhong Y, et al. Synergistic role of Caspase-8 and Caspase-3 expressions: Prognostic and predictive biomarkers in colorectal cancer. Cancer Biomarkers 2018;21(4)899-908. Link

28. Fu R, Liu J, Fan J, Li R, Li D, Yin J, et al. Novel evidence that testosterone promotes cell proliferation and differentiation via G protein-coupled receptors in the rat L6 skeletal muscle myoblast cell line. J Cell Physiol 2012;227(1):98-107. Link

29. Verzola D, Gandolfo MT, Salvatore F, Villaggio B, Gianiorio F, Traverso P, et al. Testosterone promotes apoptotic damage in human renal tubular cells. Kidney Int 2004;65(4):1252-61. Link

30. Yoo NJ, Kim HS, Kim SY, Park WS, Kim SH, Lee JY, et al. Stomach cancer highly expresses both initiator and effector caspases; an immunohistochemical study. J Pathol Microbiol Immunol 2002;110(11):825-32. Link

31. Chen H, Yang X, Feng Z, Tang R, Ren F, Wei K, et al. Prognostic value of Caspase-3 expression in cancers of digestive tract: A meta-analysis and systematic review. Int J Clin Exp Med 2015;8(7):10225-34. PubMed

32. Asadi M, Shanehbandi D, Kermani TA, Sanaat Z, Zafari V, Hashemzadeh S. Expression level of caspase genes in colorectal cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2018;19(5):1277-1280. Link

33. Lin Y, Jiang D, Li Y, Han X, Yu D, Park JH, et al. Effect of sun ginseng potentiation on epirubicin and paclitaxel-induced apoptosis in human cervical cancer cells. J Ginseng Res 2015;39(1):22-8. Link

34. Lopes RAM, Neves KB, Pestana CR, Queiroz AL, Zanotto CZ, Chignalia AZ, et al. Testosterone induces apoptosis in vascular smooth muscle cells via extrinsic apoptotic pathway with mitochondria-generated reactive oxygen species involvement. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2014;306(11):H1485-94. Link

International License Creative Commons Attribution License 4.0

35. Papadopoulou N, Charalampopoulos I, Anagnostopoulou V, Konstantinidis G, Föller M, Gravanis A, et al. Membrane androgen receptor activation triggers down-regulation of PI-3K/Akt/NF-kappaB activity and induces apoptotic responses via Bad, FasL and caspase-3 in DU145 prostate cancer cells. Mol Cancer 2008;7(1):88. Link

36. Kimura K, Markowski M, Bowen C, Gelmann EP. Androgen blocks apoptosis of hormone-dependent prostate cancer cells. Cancer Res 2001;61(14):5611-18. Link

37. Gan L, He J, Zhang X, Zhang YJ, Yu GZ, Chen Y, et al. Expression profile and prognostic role of sex hormone receptors in gastric cancer. BMC Cancer 2012;12(1):566. Link

38. Gu S, Papadopoulou N, Nasir O, Föller M, Alevizopoulos K, Lang F, et al. Activation of membrane androgen receptors in colon cancer inhibits the prosurvival signals Akt/bad in vitro and in vivo and blocks migration via vinculin/actin signaling. Mol Med 2011;17(1-2):48-58. Link

39. Isobe N, Onodera H, Mori A, Shimada Y, Yang W, Yasuda S, et al. Caspase-3 expression in human gastric carcinoma and its clinical significance. Oncology 2004;66(3):201-9. Link

40. Gong YG, Wang YQ, Gu M, Feng MM, Zhang W, Ge R-S. Deprival of testicular innervation induces apoptosis of Leydig cells via caspase-8-dependent signaling: a novel survival pathway revealed. Biochem Biophys Res Commun 2009;382(1):165-70. Link

41. Mueller T, Voigt W, Simon H, Fruehauf A, Bulankin A, Grothey A, et al. Failure of activation of caspase-9 induces a higher threshold for apoptosis and cisplatin resistance in testicular cancer. Cancer Res 2003;63(2):513-21. Link

42. Saralamma VVG, Nagappan A, Hong GE, Lee HJ, Yumnam S, Raha S, et al. Poncirin induces apoptosis in AGS human gastric cancer cells through extrinsic apoptotic pathway by up-regulation of Fas ligand. Int J Mol Sci 2015;16(9):22676-91. Link

43. Saralamma VVG, Lee HJ, Raha S, Lee WS, Kim EH, Lee SJ, et al. Inhibition of IAP's and activation of p53 leads to caspase-dependent apoptosis in gastric cancer cells treated with Scutellarein. Oncotarget 2018;9(5):5993-6006. Link

International License Creative Commons Attribution License 4.0