مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره سی، شماره یک، فروردین ۱۴۰۱
تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۲/۲۲
تاریخ پذیرش:۱۴۰۰/۰۵/۰۳

تاثیر اسانس گیاه رزماری بر بیان ژن آپوپتوتیک *BIM* در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان

مژگان شخص نیائی[۱]، نرگس نیکونهاد لطف‌آبادی*[۱]، فاطمه حقیرالسادات[۲]

مقاله پژوهشی

مقدمه: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در بین زنان محسوب می‌شود و درمان آن با عوارض فراوانی همراه است. گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی عوارض کمتری دارند از این جهت در درمان بسیاری از بیماری‌ها اهمیت ویژه‌ای دارند. گیاه رزماری به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی اثرات ضد سرطانی دارد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر اسانس گیاه رزماری بر بیان ژن BIM (Bcl-2-like 11) در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، جهت ارزیابی سمیت سلولی اسانس رزماری، سلول‌های MCF-7 به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در معرض غلظت‌های مختلفی از اسانس قرار گرفته و سپس بقای سلولی با استفاده از روش MTT بررسی شد. سپس، سلول‌های MCF-7 به مدت ۲۴ ساعت در معرض اسانس قرار داده شدند تا میزان بیان ژن BIM با استفاده از تکنیک Real Time PCR مورد سنجش قرار گیرد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از تست آماری T-Student و نرم افزار SPSS version 16 انجام گرفت.

نتایج: نتایج حاصل از آزمایش MTT نشان می‌دهد که مرگ سلولی وابسته به دوز و زمان است. کمترین میزان بقا ۱۹٪ پس از ۷۲ ساعت بود و با افزایش غلظت اسانس، مرگ سلولی نیز افزایش یافت ($P<0.05$). نتایج Real Time PCR نشان دهنده افزایش معنی‌داری در بیان ژن BIM پس از تیمار با اسانس می‌باشد ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه بیانگر اثر سایتوتوکسیک اسانس رزماری بر روی سلول¬های سرطانی پستان بوده و با افزایش بیان ژن آپوپتوتیک BIM می‌تواند سبب القای اثرات ضد سرطانی باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس رزماری، ژن BIM، سلول MCF-7، سرطان پستان

ارجاع: شخص نیائی مژگان، نیکونهاد لطف‌آبادی نرگس، حقیرالسادات فاطمه. **تاثیر اسانس گیاه رزماری بر بیان ژن آپوپتوتیک BIM در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۱): ۶۱-۴۴۵۲.

۱-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران.
۲- گروه علوم و فناوری‌های نوین، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی و درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۳۳۵۷۵۶۸۹، پست الکترونیکی: nikounahad_1976@yahoo.com ، صندوق پستی: ۸۹۱۵۸۱۳۱۳۰

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

مقدمه

سرطان بیماری است که در اثر تغییرات ژنتیکی غیر معمول به واسطه جهش در ژن‌های مهار کننده تومور و انکوژن‌ها و اختلالات کروموزومی ایجاد می‌شود. اما اخیراً مشخص شده است که سرطان می‌تواند در اثر تغییرات اپی‌ژنتیکی نیز ایجاد می‌شود (۱). سرطان پستان یکی از رایج‌ترین انواع سرطان و دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در میان زنان می‌باشد (۲). سرطان پستان یک بیماری هتروژن بوده که به علت تغییرات ژنتیکی مانند از دست دادن یا به‌دست آوردن کروموزوم‌ها، موتاسیون‌ها و بازآرایی ژنومی رخ می‌دهد (۳). در سال بیش از یک میلیون سرطان پستان تشخیص داده می‌شود که بیش از ۵۰۰ هزار نفر در اثر این بیماری فوت می‌شوند (۴). این سلول‌ها دارای رشد غیرطبیعی و نقص در فرآیند آپوپتوز می‌باشند. نقص در آپوپتوز نقش مهمی در رشد سلول‌های سرطانی دارد. داده‌های اخیر نشان داده است که *BIM* یک عضو پروتئین آپوپتوزی از خانواده Bcl-2 به عنوان یک واسطه مهم برای القای آپوپتوز و درمان در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان خون است (۵). ژن *BIM* یکی از مهم‌ترین ژن‌های مسیر داخلی (میتوکندریایی) آپوپتوز است (۶). روش‌های درمان سرطان شامل درمان موضعی و سیستمیک است که درمان موضعی شامل موارد جراحی و رادیوتراپی، پیوند مغز استخوان، درمان ایمونوتراپی و هایپرتومی می‌باشد. درمان‌های سیستمیک شامل شیمی درمانی و هورمون درمانی است. از میان روش‌های درمانی شیمی درمانی بیشترین کاربرد را دارد ولی دارای عوارض فراوانی است. از عوارض این روش می‌توان به ریزش مو، اختلالات خواب، مشکلات حافظه و تمرکز اشاره نمود (۷). با توجه به عوارض ناخوشایند روش‌های درمانی سرطان، همواره تلاش بر یافتن روش‌ها و ترکیبات با حداقل آسیب برای این گروه از بیمارن مورد توجه و جستجو بوده است. در این راستا، استفاده از گیاهان دارویی از زمان‌های بسیار قدیم مطرح بوده است و در دهه‌های اخیر استفاده از این گیاهان به صورت فراورده های دارویی استفاده می‌شود (۸). مواد موثر موجود در گیاهان دارویی به دلیل همراه بودن با مواد دیگر پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردار هستند و در نتیجه در بدن انباشته نمی شوند و اثرات جانبی به بار نمی‌آورند (۹). گیاه رزماری (*Salvia rosmarinus*) متعلق به خانواده Labiabida است. اجزاء فعال از این خانواده از گیاهان عبارتند از دی ترپن‌ها و تری ترپن‌ها. این ترکیبات اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند. هم‌چنین اسید اورسولیک دارای خواص ضد سرطانی و ضد التهابی است (۱۲-۱۰). با توجه به عوارض استفاده از داروهای شیمیایی و به منظور کاهش این عوارض و هم‌چنین جهت بررسی اثربخشی ترکیبات گیاهی در بهبود سرطان، این پژوهش انجام شد. با توجه به خواص ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی ترکیبات رزماری، هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر اسانس رزماری بر بیان ژن *BIM* در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان می باشد.

روش‌بررسی

گیاه رزماری

گیاه رزماری از مرکز رشد واحد های فناور گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی یزد تهیه و تا زمان استفاده به صورت خشک شده نگهداری شد.

استخراج اسانس

جهت تهیه اسانس رزماری از دستگاه کلونجر استفاده شد. در ابتدا گیاه رزماری به صورت پودر درآمد. به منظور تهیه اسانس، پودر گیاه در بالن دستگاه ریخته شده و ۲/۳ بالن از آب مقطر پر شد. اسانس حاصل پس از ۶ ساعت اسانس گیری جمع‌آوری گردید. اسانس به‌دست آمده در یخچال و دور از نور تا زمان استفاده نگهداری شد.

کشت سلول

رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) از بانک سلولی انستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه شد. برای کشت سلول از محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ سرم (FBS) استفاده شده و سلول‌ها در انکوباتور با دمای 37° C و در شرایط دارای ۵٪ CO_2 و رطوبت ۹۵٪ نگهداری شدند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

بررسی اثر سمیت سلولی اسانس رزماری (تست MTT)

در این مرحله تعداد ۱۰ هزار سلول MCF-7 در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه کشت داده شده و پس از ۲۴ ساعت و چسبیدن سلولها به کف چاهک‌ها، در معرض غلظت های مختلفی از اسانس رزماری شامل ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر قرار داده شد. پس از گذشت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، پلیت‌ها در معرض MTT و سپس DMSO (Dimethyl sulfoxide) قرار داده شدند. در نهایت، نتایج توسط میکروپلیت ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید.

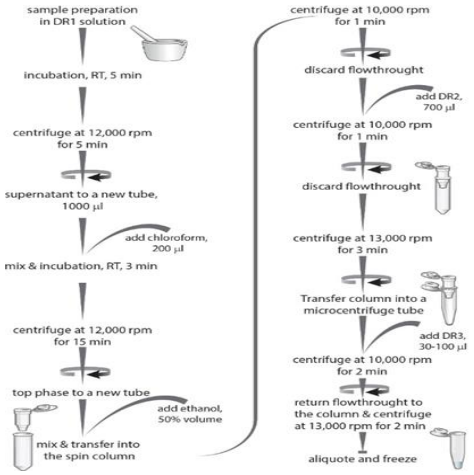
محاسبه IC_{50}

در هر یک از زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، محاسبه IC_{50} جهت به دست آوردن درصد توان حیاتی سلول‌های MCF-7 در مقابل دوزهای مشخصی از اسانس گیاه رزماری انجام شد.

بررسی بیان ژن *BIM*

استخراج RNA

کیت استخراج RNA از شرکت دنا زیست (مشهد، ایران) تهیه شد. در این مرحله ۵۰۰ هزار سلول درون هر چاهک از پلیت ۶ خانه کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت، اسانس رزماری با غلظت‌های ۱۲۵، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به چاهک‌ها اضافه شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت استخراج RNA مطابق دستورالعمل کیت خریداری شده (شرکت دنا زیست، مشهد،) انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱: مراحل استخراج RNA

بررسی کیفیت RNA

جهت اطمینان از کیفیت RNA استخراج شده، نمونه‌ها روی ژل آگارز ۲ درصد مشاهده شدند.

بررسی کمیت RNA

بررسی کمی RNA استخراج شده شامل غلظت و خلوص آن با استفاده از دستگاه نانودراپ ارزیابی شد.

سنتز cDNA

ساخت cDNA از RNA های استخراج شده توسط کیت RT–PCR kit ساخت شرکت پارس توس (مشهد، ایران) انجام شد. سپس، با استفاده از دستگاه PCR و بر اساس برنامه دمایی و زمانی اشاره شده در جدول ۱، cDNA سنتز شد.

طراحی پرایمرها

طراحی پرایمر برای ژن‌های *BIM* و *GAPDH* با استفاده از نرم‌افزار Primer 3 مطابق جدول ۲ صورت گرفت. ژن *GAPDH* به عنوان کنترل داخلی منظور گردید.

Real Time PCR

هدف از انجام واکنش Real Time PCR سنجش میزان بیان ژن *BIM* تحت تاثیر اسانس رزماری می‌باشد. جهت انجام Real Time PCR، ابتدا مخلوط واکنش برای هر نمونه شامل پرایمرهای پیشرو (F) و پسرو (R) اختصاصی، cDNA، رنگ سایبر گرین (Takara, Japan) و آب بدون نوکلئاز تهیه شد. سپس مخلوط واکنش آماده شده بر روی یخ با حجم نهایی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]
[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

۲۰ میکرولیتر طی مراحل مختلف واکنش تحت تأثیر برنامه دمایی زمانی به شرح جدول ۳ قرار گرفتند. پس از پایان واکنش به منظور تأیید اختصاصی بودن محصول و عدم حضور محصولات غیراختصاصی، آنالیز منحنی ذوب صورت گرفت. جهت ارزیابی تغییرات بیان ژن مورد نظر از روش $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به صورت Mean ± SD گزارش شدند. آنالیز آماری داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS VERSION 16 صورت گرفت. جهت بررسی تفاوت‌های ایجاد شده ناشی از تاثیر اسانس بر میزان بقای سلولی و بیان ژن *BIM* در سلول‌های تیمار شده با اسانس رزماری از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) و Student's T-test در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این پژوهش توسط مرکز تحقیقات ناباروری دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد با کد اخلاق IR.SSU.RSI.REC.1398.039 مورد تأیید قرار گرفته است.

جدول ۱: سیکل های سنتز cDNA

ردیف	مراحل	مدت زمان
۱	انکوبه شدن در دمای ۲۵ درجه	۱۰ دقیقه
۲	انکوبه شدن در دمای ۴۷ درجه	۶۰ دقیقه
۳	پایان واکنش با دمای ۸۵ درجه	۵ دقیقه

جدول ۲: مشخصات آغازگرها

نام ژن	توالی	TM	طول محصول
BIM F	GGCCCCTACCTCCCTACA	۶۰	۸۵
BIM R	GGGGTTTGTGTTGATTTGTCA		
GAPDH F	AGCCACATCGCTCAGACAC	۶۰	۶۶
GAPDH R	GCCCAATACGACCAAATCC		

جدول ۳: برنامه زمانی دمایی واکنش Real Time PCR

دما	زمان	مرحله
۹۵ درجه	۱۵ دقیقه	Pre- denaturing (یک سیکل)
۹۵ درجه	۲۰ ثانیه	Denaturing (۴۰ سیکل)
۶۰ درجه	۴۰ ثانیه	Annealing (۴۰ سیکل)

نتایج

بررسی اثر سمیت سلولی بر سلول های MCF-7

میزان سایتوتوکسیسیتی اسانس رزماری با استفاده از تست MTT بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان سایتوتوکسیسیتی اسانس رزماری وابسته به دوز و زمان می‌باشد. در شکل ۲، تاثیر اسانس رزماری در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر میزان بقای سلولی نشان داده شده است. پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت (در هر سه زمان) میزان بقای سلولی (viability) به طور معنی‌داری با افزایش غلظت اسانس کاهش یافته که این کاهش با افزایش غلظت اسانس متناسب بوده است (P=۰/۰۲۳). نتایج نشان می‌دهد که میزان بروز سمیت سلولی و تغییرات حاصل در درصد بقای

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

سلول‌های سرطان پستان در تمام غلظت ها تفاوت معنی‌داری را از خود نشان می‌دهد (شکل ۲). جدول ۴ میزان IC_{50} اسانس رزماری پس از اثرگذاری بر سلول‌های سرطان پستان، رده سلولی MCF-7 در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت را نشان می‌دهد.

تست تایید پرایمر

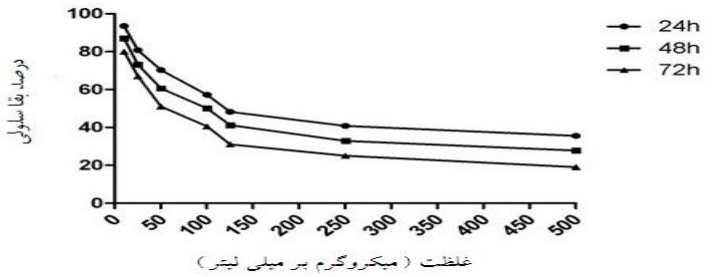
در این تست بهینه دمای اتصال پرایمر به توالی مورد نظر برای انجام PCR با ژل (۱ درصد) الکتروفورز به‌دست آمد. به این صورت که دما ۶۰ درجه سانتیگراد برای پرایمر در نظر گرفته شد و با تنظیم دستگاه PCR روی این دماها برای ۲ نمونه، محصولات PCR روی ژل برده شد.

بررسی بیان ژن *BIM* تحت تاثیر اسانس رزماری

آنالیزمنحنی ذوب مربوط به ژن های ***BIM*** و ***GAPDH*** یکی دیگر از ویژگی‌های دستگاه Real Time PCR رسم منحنی ذوب می باشد. دمای ذوب به طول و تعداد نوکلئوتید ساختمان DNA و درصد GC بستگی دارد (شکل ۳).

نتایج آزمون Real Time PCR

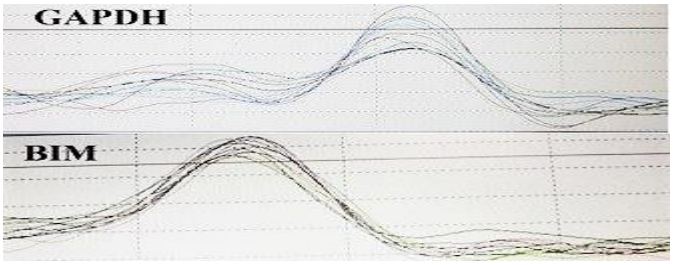
تغییرات میزان بیان ژن *BIM* در (شکل ۴) نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌گردد بیان ژن *BIM* به عنوان یک ژن پیش برنده آپوپتوز با افزایش غلظت اسانس نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته است (P=۰/۰۱۸)



شکل ۲: تاثیر اسانس رزماری بر درصد بقای سلولی در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

جدول ۴: IC_{50} ناشی از اثرگذاری اسانس رزماری بر سلول‌های سرطان پستان

Time	IC50 (µg/ml)
۲۴ ساعت	۱۱۹/۲
۴۸ ساعت	۹۷
۷۲ ساعت	۵۳

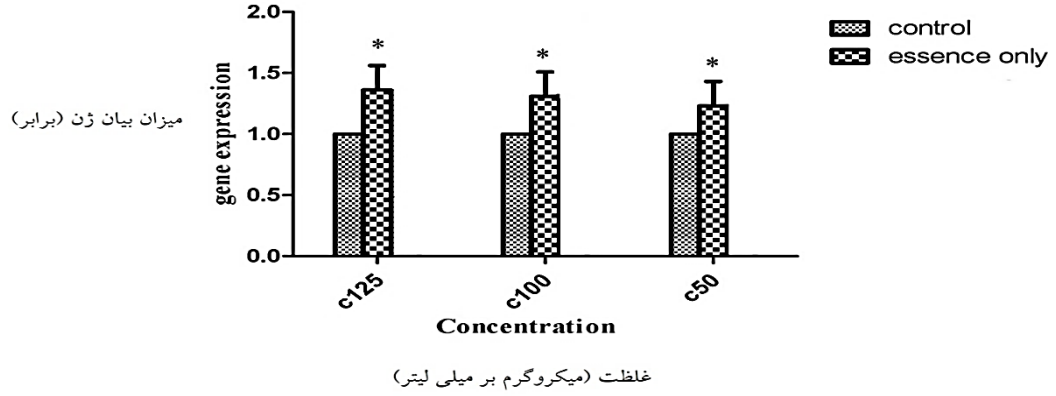


شکل ۳: منحنی ذوب ژن های *BIM* و *GAPDH* در سلول‌های تیمار شده با اسانس رزماری که نمایانگر اختصاصی بودن محصول واکنش است.

هر پیک نمایانگر یک محصول PCR است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]



شکل ۴: مقایسه میزان بیان ژن *BIM* در سلول‌های تیمار شده با اسانس رزماری در مقایسه با گروه کنترل.
* $P<0.05$ اختلاف معنادار با گروه کنترل را نشان می‌دهد.

بحث

آپوپتوز یک فرایند سلولی منظم و مرتب است که در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک اتفاق می‌افتد. شناخت مکانیزم پایه آپوپتوز مهم است زیرا نقش مهمی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها دارد. سرطان یکی از سناریوهایی است که آپوپتوز بسیار کمی در آن رخ می‌دهد و موجب سلول‌های بدخیمی می‌شود که نمی‌میرند. سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان ایرانی است. طبق آمار جدید در ایران، سالانه ۶۱۶۰ سرطان پستان تشخیص داده می‌شود و ۱۰۶۳ مورد مرگ و میر ناشی از آن است (۱۴،۱۳). اسانس رزماری خواص آنتی‌اکسیدانی دارد که این خاصیت به علت وجود ترکیباتی همچون ترکیبات فنولی، رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، کارنوسول و فلاوونوئیدها است که در درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۹). در مطالعه حاضر، جهت ارزیابی سمیت اسانس رزماری از آزمون MTT که یک آزمون استاندارد برای ارزیابی میزان بقاء سلول می‌باشد استفاده شد. نتایج حاصل از این پژوهش به طورکلی، اثرات مهاری اسانس رزماری را بر رده سلولی سرطان پستان نشان داد. یافته‌های تحقیقاتی گذشته حاکی از این است که اسانس رزماری گسترش برخی از سلول های توموری را مهار می‌کند در سال ۲۰۱۱، SUONG N. T. NGO و همکارانش اثر رزماری را بر روی سرطان کولورکتال بررسی کردند. آن‌ها در تحقیقاتشان به شواهد علمی از تمام مطالعات منتشر شده از سال ۱۹۹۶ تا مارس ۲۰۱۰ در خصوص اثرات محافظتی رزماری بر روی سرطان کولورکتال و سایر انواع سرطان اشاره کرده‌اند. علاوه بر این، خواص ضد سرطانی رزماری از طریق تغییرات مولکولی در فرآیند چند مرحله ای توسعه سرطان که وابسته به دوز است نه بافت یا گونه خاص، کشف شده است. نشان داده شده است که رزماری قادر به سرکوب کردن تومور در چندین اندام از جمله کولون، پستان، کبد، معده و هم‌چنین ملانوم و سلول‌های لوسمی را دارد. نتایج این مطالعات نشان داده است که ترکیبات گیاه رزماری اهداف مختلف مولکولی را تحت تأثیر قرار داده و اجزای فعال آن شاخص‌های مفید موفقیت در آزمایشات پیشگیری شیمیایی سرطان می‌باشند (۱۰). در سال ۲۰۱۵، Margarita Gonzalez-Vallinas و همکارانش اثر عصاره رزماری به عنوان یک عامل بالقوه در درمان سرطان را بررسی کردند. در گزارشات آن‌ها آمده است که رزماری دارای فعالیت ضد سرطان در مطالعات in vitro و حیوانی است. خاصیت ضد توموری رزماری به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن است. نتایج حاصل از تحقیقات آن‌ها نشان می‌دهد که عصاره رزماری خاصیت ضد توموری مختلف در طیف گسترده‌ای از انواع سرطان را دارد. مفید بودن این عصاره به عنوان عامل مکمل برای بیماران خاص سرطانی است (۱۵). در سال ۲۰۱۳، Sakina M. Petiwala و همکارانش تاثیر پلی‌فنل گیاه رزماری بر روی سرطان پروستات را مورد بررسی قرار دادند. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد خطر ابتلا به سرطان در بیمارانی که رزماری مصرف

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]
[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

می‌کنند کاهش می‌یابد. در واقع کارنوزیک اسید و کارنوسول موجود در رزماری سرطان پروستات را مهار می‌کند. در واقع کارنوزیک اسید و کارنوسول از طریق ترویج آپوپتوز و مهار مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt که یک تنظیم کننده مهم در بقای سلول‌های توموری است را مهار می‌کند (۱۶). در این مطالعه هم‌چنین تأثیر اسانس رزماری بر بیان ژن پروآپوپتوتیک *BIM* بر روی سلول‌های سرطان پستان (رده سلولی MCF-7) توسط تکنیک Real Time PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد اسانس رزماری باعث افزایش بیان ژن *BIM* گردیده است. نتایج تحقیقات صورت گرفته بر تأثیر اسانس گیاهان مختلف بر بیان ژن های آپوپتوتیک در انواع سرطان‌ها نشان می‌دهد که ترکیبات گیاهی قادر به القای تغییر در میزان بیان این ژن‌ها می‌باشند. در سال ۲۰۱۷، احمدی و همکاران و در سال ۲۰۱۸، پیروزمند و همکاران تاثیر عصاره و اسانس‌های گیاهی (برگ سدر و گیاه هلی‌کریزوم) را بر بیان ژن‌های آپوپتوتیک در سرطان‌های پستان و کولون مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاکی از آن بود که عصاره‌های مذکور باعث افزایش معنی داری در بیان ژن پروآپوپتوتیک *BAX* و افزایش مرگ سلول‌های سرطانی در هر دو سرطان پستان و کولون شده است (۱۸،۱۷). نتایج این مطالعات با یافته‌های حاصل از این پژوهش که نشان‌دهنده توان ترکیبات گیاه رزماری در تغییر میزان بیان ژن پروآپوپتوتیک و افزایش مرگ سلول‌های سرطان پستان می‌باشد، مطابقت دارد. Park و همکارانش طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که کارنوزیک اسید که مهم‌ترین جزء از ترکیبات گیاه رزماری است می‌تواند با افزایش بیان ژن‌های پروآپوپتوتیک سبب القای آپوپتوز در کارسینومای کلیه شود (۱۹). یافته‌های مطالعه Moore و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد که اسید کارنوزیک رزماری در رده سلولی MDA-MB-361 از سرطان پستان، با کاهش بیان ژن آنتی‌آپوپتوتیک *Bcl-2* و افزایش بیان ژن پروآپوپتوتیک *BIM* می‌تواند بقای سلول‌های سرطانی را مهار کند (۲۰). یافته‌های هر دو مطالعه با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. البته شایان ذکر است محدودیت مطالعه حاضر، عدم بررسی اثربخشی ترکیب مورد استفاده در شرایط in vivo می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با استناد به یافته‌های این پژوهش و با توجه به مطالعات سایر پژوهش‌گران، می توان نتیجه گرفت که احتمالاً گیاه رزماری به دلیل وجود ترکیباتی همچون اسید کارنوزیک قادر به القاء تغییراتی در بیان ژن‌های آپوپتوتیک و در نتیجه مهار سلول‌های سرطانی است. در این مطالعه، با توجه به تایید خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس رزماری و نتایج حاصل از بررسی بقای سلول‌ها در اثر تیمار با اسانس رزماری و تایید خاصیت کشندگی این اسانس بر روی سلول‌های رده MCF-7 و کاهش بقای این سلول‌ها، از اسانس رزماری می‌توان به عنوان ترکیبات آنتی اکسیدان و سایتوتوکسیک علیه سلول‌های سرطانی رده MCF-7 مورد استفاده قرار گیرد. هم‌چنین در مطالعات بعدی می‌توان اثربخشی اسانس رزماری را بر سایر ژن‌های آپوپتوزی و مسیرهای سیگنالینگ دیگری در هر دو شرایط in vitro و in vivo مورد بررسی قرار داد.

سپاس‌گزاری

این مطالعه حاصل پایان‌نامه دانشجویی است. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از حمایت‌های دانشگاه علم و هنر و شرکت دانش بنیان ریز زیست فناوران فردا نگر در در راستای انجام این مطالعه ابراز می‌دارند.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

References:

1-Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. ***Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells***. Nature 2001; 414(6859): 105-11.

2-Wu Q, Wang C, Lu Z, Guo L, Ge Q. ***Analysis of Serum Genome-Wide Micrornas for Breast Cancer Detection.*** Clinica Chimica Acta 2012; 413(13-14): 1058-65.

3-Thakur A, Xu H, Wang Y, Bollig A, Biliran H, Liao JD . ***The Role of X-Linked Genes in Breast Cancer.*** Breast Cancer Research and Treatment 2005; 93(2): 135-43.

4-Anderson WF, Chu KC, Chatterjee N, Brawley O, Brinton LA. ***Tumor Variants by Hormone Receptor Expression in White Patients With Node-Negative Breast Cancer from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Database.*** J Clinical Oncology 2001; 19(1): 18-27.

5-Faber AC, Corcoran RB, Ebi H, Sequist LV, Waltman BA, Chung E, et al. ***BIM Expression in Treatment Naive Cancers Predicts Responsiveness to Kinase Inhibitors***. Cancer Discov 2011; 1(4): 352-65.

6-Shuang T, Shi C, Chang S, Wang M, Bai CH. ***Downregulation of miR-17~ 92 Expression Increase Paclitaxel Sensitivity in Human Ovarian Carcinoma SKOV3-TR30 Cells via BIM Instead of PTEN.*** Int J Mol Sci 2013; 14(2): 3802-16.

7-Nooshinfar E, Bashash D, Mohamadi G, Taghavi A, Shahani M, Hoseini L, Akbari ME. ***Melatonin and Its Importance in Breast Cancer Prevention and Treatment (A Purposed Review Article).*** The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility 2014; 17(118): 10-21.

8-Ernst E. ***Heavy Metals in Traditional Indian Remedies***. Eur J Clin Pharmacol 2002; 57(12): 891-6.

9-Hao D, Xiao Jie G, Pei Gen X. ***Medicinal Plants, Chemistry, Biology and Omics***. 1th Ed. London; Woodhead Publishing-Elsevier; 2015.

10-Ngo SN, Williams DB, Head RJ. ***Rosemary and Cancer Prevention: Preclinical Perspectives***. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2011; 51(10): 946-54.

11-Al-otaibi,Waad.***Rosemary Oil Nano-Emulsion Potentiates the Apoptotic Effect of Mitomycin C on Cancer Cells in Vitro.*** Pharmacia 2021; 68: 201-9.

12- Moller AC, Parra C, Said B, Werner E, Flores S, Villena J, et al. ***Antioxidant and Anti-Proliferative Activity of Essential Oil and Main Components from Leaves of Aloysia polystachya Harvested in Central Chile***. Molecules 2021; 26(1): 131.

13-Otaghvar HA, Hosseini M, Tizmaghz A, Shabestanipour G, Noori H. ***A Review on Metastatic Breast Cancer in Iran***. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2015; 5(6): 429-33.

14-Alizadeh Otaghvar H, Hosseini M, Tizmaghz A, Shabestanipour G, Noori H. ***A Review on Metastatic Breast Cancer in Iran.*** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2015; 5(6): 429-33.

15-González-Vallinas M, Reglero G, Ramírez de Molina A. ***Rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) Extract as a Potential Complementary Agent in Anticancer Therapy***. Nutrition and cancer 2015; 67(8): 1223-31.

16-Petiwala SM, Puthenveetil AG, Johnson J. ***Polyphenols from the Mediterranean Herb***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

Rosemary (Rosmarinus Officinalis) for Prostate Cancer. Front pharmacol 2013; 4: 29.

17- Ahmadi R, Rahimi S, Ehteshamzad N. ***The Effect of Hydroalcoholic Ziziphus Spina-Christi Leaf Extract on Viability of Breast Cancer Cell Line (MCF7) and Evaluation of Bax and Bcl2 Genes Expression Level***. Feyz 2017; 21(5): 407-13.

18- Mirzaie A, Piroozmand S, Mousavi Z, RustaiyanA. ***Investigation of Chemical Composition of Helichrysum artemisioides Essential Oil, and its Antibacterial and Cytotoxic Effects on Colon Cancer Cell Line and Analysis of Apoptotic Gene Expression Using PCR Method.*** Qom Uni Med Sci J 2018; 12(3): 9-18.

19- Park EJ, Park B, Chae IG, Kim D, Kundu J, Kundu JK, Chun K. ***Carnosic Acid Induces Apoptosis Through Inactivation of Src/STAT3 Signaling Pathway in Human Renal Carcinoma Caki Cells.*** Onchology Reports 2016; 35(5): 2723-32.

20- Moore J, Yousef M, Tsiani E. ***Anticancer Effects of Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) Extract and Rosemary Extract Polyphenols***. Nutrients 2016; 8: 731-63.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 30| NO 1 | Apr 2022

Received: 12 May 2021
Accepted: 25 Jul 2021

Effect of Rosemary Essential Oil on *BIM* Apoptotic Gene Expression in MCF 7 Breast Cancer Cell Line

Mozhgan Shakhseniaie[1], Narges Nikoonahad Lotfabadi[*1], Fatemah Haghirossadat[2]

Original Article

Introduction: Breast cancer is the most common cancer among women and its treatment is associated with many side effects. Herbal medicine has fewer side effects than chemical drugs, so they are especially important in the treatment of many diseases. Rosemary plant has anti-cancer effects due to its antioxidant properties. The aim of this study was to evaluate the effect of Rosemary essential oil on *BIM* gene expression in MCF-7 cell line.

Methods: In this experimental study, to evaluate the cellular toxicity of rosemary essential oil, MCF-7 cells were exposed to different concentrations of essential oil for 24, 48 and 72 hours, and their survival was investigated using MTT assay. Then, MCF-7 cells were exposed to essential oil for 24 hours to determine the *BIM* gene expression using the Real Time PCR technique. Statistical analysis of data was performed using T-Student test and SPSS version 16 software.

Results: The results of the MTT assay show that cell death is dose- and time-dependent. The effect of different amounts of essential oil on the survival rate of cancer cells was statistically significant ($p<0.05$) and the lowest survival rate was 19% in 72 hours and with increasing essential oil concentration, cell death also increased. Real Time PCR results show a significant increase in BIM gene expression after essential oil treatment.

Conclusion: In conclusion, the results of this study demonstrate the cytotoxic effect of rosemary essential oil on breast cancer cells and it can increase the expression of BIM, an apoptotic gene and induce anticancer effects.

Keywords: Rosemary essence, BIM gene, MCF-7 cell, Breast cancer.

Citation: Shakhseniaie M, Nikoonahad Lotfabadi N, Haghirossadat F. **Effect of Rosemary Essential Oil on BIM Apoptotic Gene Expression in MCF 7 Breast Cancer Cell Line.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 30(1): 4452-61.

[1]Biology Department, Faculty of Sciences, Science and Arts University, Yazd, Iran.
[2]Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 09133575689**, email:** nikounahad_1976@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i1.9100]