مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره نهم، آذر ۱۳۹۷
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۱

القاء آپوپتوز و افزایش بیان ژن‌های *P53* و *PARP* در سلول‌های کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736) به وسیله کورکومین (Curcumin)

خلیل خاشعی ورنامخواستی[۱]، لیلا روحی*[۲]، سمیه رئیسی[۳،۱]

مقاله پژوهشی

مقدمه: کارسینومای آناپلاستیک تیروئید (ATC)، یکی از انواع بدخیمی های غده تیروئید است که در نتیجه درگیری سلول های آناپلاستیک این غده ایجاد می گردد. این نوع بدخیمی به شدت تهاجمی بوده و مبتلایان دارای پاسخ به درمان ضعیفی هستند. در این مطالعه اثر کورکومین بر میزان آپوپتوز و بیان ژن های *p53* و *PARP* در رده سلولی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736) مورد بررسی قرار گرفت. کورکومین جزء اصلی و فعال موجود در ریزوم گیاه زرد چوبه (Curcuma longa) است که دارای اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد تکثیری و پروآپوپتوزی می باشد.

روش بررسی: مطالعه به صورت تجربی در مهر ماه ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات سلولی- تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد. سلول‌های رده SW-1736 با غلظت های مختلف کورکومین شامل ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار برای بررسی آپوپتوز و غلظت های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکروکولار برای بررسی بیان ژن‌های *p53* و *PARP* ظرف مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس میزان وقوع آپوپتوز با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری و کیت انکسین- پروپیدیوم یدید (Annexin-PI)، میزان بیان ژن‌های *p53* و *PARP* از طریق آنالیز داده های Real Time- PCR و آنالیز آماری با استفاده از آزمون ANOVA از طریق نرم افزار۱۶ SPSS و هم چنین برنامه Excel مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که میزان القاء آپوپتوز در رده سلولی(SW-1736) با افزایش غلظت کورکومین به صورت وابسته به دوز و زمان افزایش می یابد. هم چنین تیمار با کورکومین سبب افزایش معنی داری در بیان ژن‌های *p53* و *PARP* در برخی از گروه های آزمایشی نسبت به گروه کنترل گردید. (P=.032)

نتیجه‌گیری: کورکومین از طریق القاء بیان ژن های دخیل در مسیر آپوپتوز اثر مهاری بر رشد، تکثیر و تهاجم سلول های سرطانی آناپلاستیک تیروئید دارد. لذا به نظر می رسد زمینه تحقیقاتی مناسبی برای بهره برداری از گیاه زردچوبه در کنترل و درمان کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان وجود داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: کورکومین، آپوپتوز، *PARP*، SW-1736، *p53*

ارجاع: خاشعی ورنامخواستی خلیل، روحی لیلا، رئیسی سمیه. **القاء آپوپتوز و افزایش بیان ژن‌های *P53* و *PARP* در سلول‌های کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736) به وسیله کورکومین (Curcumin)**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۶؛ ۲۶ (۹): ۶۹-۷۵۹.

۱-گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳- گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه ،دانشگاه دولتی واحد شهرکرد شهرکرد، ایران
*(نویسنده مسئول)؛تلفن: ۰۹۱۲۶۰۴۳۳۰۵، پست الکترونیکی :lrouhi59@gmail.com کدپستی: ۸۸۱۳۷۳۳۳۹۵

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461] [Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

مقدمه

کارسینومای آناپلاستیک تیروئید (ATC)، به عنوان یک بیماری متهاجم با سرعت رشد بالا شناخته می شود که قادر است به بافت های محلی اطراف هجوم برد و یا این که به بافت های دوردست (ریه و استخوان) متاستاز دهد. آن چه که از لحاظ بالینی مشاهده می گردد؛ یک توده در حال رشد در ناحیه قدامی گردن همراه با دیسفاژی و تغییر در صدا می باشد. به علاوه مبتلایان علائم سیستماتیک نظیر بی اشتهایی، کاهش وزن و کاهش تنفس را دارا هستند (۱). اگر چه اکثر بدخیمی های تیروئیدی به راحتی تشخیص داده می شوند و پیش آگهی مطلوبی دارند، اما تشخیص کارسینومای آناپلاستیک تیروئید حتی با وجود روش های تشخیصی مختلف بسیار ملالت انگیز بوده و پیش آگهی مطلوبی برای آن وجود ندارد. بدخیمی آناپلاستیک تنها ۲ درصد از بدخیمی های مربوط به غده تیروئید را شامل می شود، اما به خودی خود عامل ۱۴- ۳۹ درصد مرگ های حاصل از درگیری غده تیروئید می باشد (۳،۲). نسبت ابتلای زنان به مردان به چنین بدخیمی ۵ به ۱ بوده و اوج بروز آن در دهه ششم و هفتم زندگی می باشد (۱). عوامل مسبب ATC تاکنون به خوبی شناخته نشده‌اند. ممکن است ATC به دنبال وقوع بیماری گواتر در شخص در مناطقی که گواتر اندمیک است حاصل شود و یا این که حتی در افرادی که فاقد هرگونه پیشینه بالنی برای بیماری های مربوط به غده تیروئید هستند بروز کند (۴). جراحی، پرتودرمانی خارجی، شیمی‌درمانی و برداشت غده تیروئید از جمله گزینه های درمانی موجود برای ATC می باشند، که تنها توانسته اند مبتلایان را از مرگ ناشی از انسداد مجاری هوایی نجات دهد و قدرت بقاء را تا اندکی افزایش دهند. لذا بررسی ترکیبات جدید با منشاء طبیعی و خواص درمانی اجتناب ناپذیر می باشد (۶،۵). کورکومین ترکیب زرد رنگی است که از گیاه زرد چوبه با نام علمی *Curcuma longa* به دست می آید. این ماده از خانواده کورکومینوئیدها بوده و قرن ها است که در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرد و تاکنون اثر سمیتی از آن گزارش نشده است (۷). گروه های حلقوی موجود در ساختار کورکومین، محیطی آبگریز ایجاد می کنند. ساختار تاتومری آن نیز بر روی آبگریزی و قطبیت مولکول کورکومین تاثیر گذار است. این عوامل باعث می شود کورکومین قادر باشد با انواع زیادی از بیو ماکرو مولکول ها واکنش دهد (۸).

نوع خاص ساختار کورکومین باعث شده است تا کورکومین از لحاظ عملکردی دارای پتانسیل چندگانه برای تعدیل فعالیت های بیولوژیکی و ملکولی باشد. این موضوع بیانگر آن است که کورکومین دارای توانایی بل قوه ای برای درمان بیماری هایی است که اساس مولکولی آن ها، مرتبط به از بین رفتن تعادل و تنظیمات ملکول های پیام‌رسان است. از جمله این بیماری ها می توان به سرطان اشاره نمود (۹). نتایج بسیاری از تحقیقات حاکی از آن می باشد که کورکومین تنظیم رشد سلول های سرطانی و مهار آن ها را با تنظیم مسیرهای پیام‌رسان حیاتی سلول نظیر؛ تاثیر روی آنزیم های سلولی، فعالیت آنتی اکسیدانی، تاثیر روی نسخه برداری ژن های القاء کننده مرگ برنامه ریزی شده سلول نظیر *p53* و *PARP* انجام می دهد (۱۱،۱۰). پروتئین PARP توسط ژن *PARP1* واقع بر روی کروموزوم شماره یک رمزگذاری می شود. این پروتئین به DNA تک رشته وصل می شود و در ترمیم آن نقش دارد PARP، سوبسترای پروتئین های کاسپازی خاصی از جمله کاسپازهای ۳ و ۷ بوده و خاصیت سرکوب گری خود را از طریق وساطت در مسیر آپوپتوز اعمال می کند. کاسپازها به طور پیوسته در تمام سلول‌ها به صورت پروآنزیم ساخته می شوند و در پاسخ به محرک پروآپوپتوتیک (PARP) فعال می گردند. کاسپازهای فعال شده ترکیبات کلیدی سلول نظیر؛ پروتئین های ساختاری در اسکلت سلولی و پروتئین های هسته ای مثل آنزیم های ترمیم کننده DNA را تخریب می کنند و از این طریق مرگ سلولی را باعث می شوند (۱۳،۱۲). پروتئین p53 توسط ژن سرکوب گر تومور *p53* واقع بر روی کروموزوم شماره ۱۷ رمزگذاری می شود. این پروتئین دارای نیمه عمر کوتاهی است و در سلول به طور طبیعی انباشته نمی شود، اما به محض وقوع آسیب به DNA، سطح آن

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]

به منظور ترمیم DNA یا القاء آپوپتوز افزایش می یابد. در این زمان پروتئین p53 از طریق اتصال به DNA باعث تحریک ژن *WAF1* می شود که این ژن سازنده پروتئین P21 است. پروتئین P21 به پروتئین CDK2 می‌چسبد و اجازه ورود سلول به مرحله بعد را نمی دهد و سیکل سلولی را به منظور انجام ترمیم متوقف می کند. در صورت عدم ترمیم، پروتئین p53 از طریق افزایش بیان پروتئین پروآپوپتوزی BAX آپوپتوز را القاء می‌کند و سلول کارسینوژنیک را حذف می‌نماید (۱۵،۱۴). لذا به نظر می‌رسد به توان از کورکومین در پیشگیری از سرطان و یا با مصرف هم زمان آن با داروهای شیمی درمانی جهت بهبود سریع تر سرطان استفاده نمود.

روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی از آبان ۱۳۹۵ تا بهمن ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات سلولی- تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد. رده سلولی SW-1736 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی خریداری شد. در محیط کشت RPMI (Roswell Park Memorial Institute) (Gibco, USA) حاوی ۱۰ درصد FBS (Foetal Bovine Serum) (Gibco, USA) و یک درصد Penstrep (Penicillin-Streptomycin) (Gibco, USA) در انکوباتور (Memmert, Germany) با فشار ۵ درصد گاز CO2، رطوبت ۹۰ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، در فلاسک ۷۵ کشت داده شد. محیط کشت هفته ای سه بار تعویض و برای برداشت کردن سلول‌ها از محلول تریپسین/EDTA استفاده شد. القاء آپوپتوز در رده‌سلولی SW-1736، از طریق تست Annexin V-FITC/PI، با استفاده از کیت FITC Annexin V Apoptosis Detection kit (BD Pharmingen, USA)، با شماره محصول (۵۵۶۵۴۷)، مورد ارزیابی قرار گرفت. از غلظت های ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار کورکومین در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ جهت بررسی آپوپتوز استفاده شد.کورکومین از شرکت SIGMA-ALDRICH با نام تجاری Curcumin-from curcuma powder, (Turmeric) longa و شماره محصول (C ۱۳۸۶) تهیه گردید، و از اتانول به عنوان حلال برای تهیه غلظت های مختلف استفاده گردید. سلول ها را پس از شستشو با PBS و آنزیم تریپسین (Gibco، آمریکا) از پلیت جدا نموده و سانتریفوژ شدند. رنگ های Annexin-V متصل به FITC (BD-Pharmingen BD) و PI Propidium iodide; BD Pharmingen) به میزان ۵ میکرولیتر به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک انکوبه شدند و آماده شمارش توسط دستگاه فلوسایتومتری (FACS Calibur، آمریکا) شمارش سلولی در واحد 10^4 صورت گرفت، شدند.

به منظور بررسی میزان بیان ژن‌های *p53* و *PARP*، تعداد 3×10^5 سلول در پلیت های ۶ خانه کشت داده شد، و سپس، با غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکرومولار کورکومین در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار و انکوبه شدند. پس از گذشت زمان های سه گانه ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، سلول ها در سه گروه تست (شامل سه غلظت مختلف) و گروه کنترل، برداشت و پس از شستشو با بافر PBS، Total RNA سلولی با استفاده از معرف بایوزول (Biozol Total RNA Extraction reagent)، با شماره محصول (BSC51M1)، (BioFlux, China)، جدا گردید. به منظور انجام مرحله Heat block، نمونه های حاصل از مرحله قبل در دستگاه ترموسایکلر با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند. در ادامه تمام توالی های RNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (RevertAID First Standard cDNA Syn kit)، (Termo Scientific, Lithuania)، به cDNA تبدیل و به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل شدند. سنجش میزان بیان ژن‌های *p53* و *PARP* با استفاده از دستگاه Real Time PCR مدل Rotor gene 3000) corbett, Australia) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام واکنش، مخلوط واکنشی متشکل از cDNA، به مقدار ۱/۵ میکرولیتر، پرایمر رفت و برگشت هر کدام به مقدار ۰/۳ میکرولیتر و RNase-free water، به مقدار ۵/۴ میکرولیتر تهیه گردید. توالی پرایمرهای پیشرو (Forward) و پسرو (Reverse) ژن های *GAPDH*، *p53* و *PARP* با استفاده از نرم افزار Oligo6 طراحی و سپس با Blast نمودن آن ها در NBCI از صحیح بودن آن ها اطمینان حاصل شد و نهایتا توسط شرکت Macrogen سنتز شدند (جدول ۱). از ژن *GAPDH*، به عنوان کنترل داخلی استفاده شد هم چنین از رنگ سایبرگرین

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]

(Takara, Japan)، که به صورت اختصاصی به DNA دو رشته متصل می گردد، به عنوان گزارش گر، به مقدار ۷/۵ میکرولیتر در ساخت مخلوط واکنش استفاده شد. سپس مخلوط واکنش آماده شده بر روی یخ با حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر طی مراحل مختلف واکنش تحت تاثیر برنامه دمایی-زمانی به شرح زیر قرار گرفتند: مرحله Initial denaturation: مدت زمان ۱۰ دقیقه، دمای ۹۵°C، ۱ سیکل. مرحله Denaturation: مدت زمان ۱۵ ثانیه، دمای ۹۵°C، ۴۰ سیکل. مرحله Annealing: مدت زمان ۶۰ ثانیه برای هر سه ژن، دمای ۶۱°C برای ژن‌های *PARP* و *GAPDH* و دمای ۶۲°C برای ژن *p53*، ۴۰ سیکل.

تجزیه و تحلیل آماری

نهایتاً بررسی آماری با استفاده از آزمون ANOVA از طریق نرم افزار۱۶ SPSS و هم چنین برنامه Excel انجام شد. حدود اطمینان برای همه آزمایشات ۹۵٪ در نظر گرفته شد و ۵٪ > P معنی دار محسوب گردید.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد تایید شده است (کد اخلاق: IR.IAU.SHK.REC.1397.028)

جدول ۱: مشخصات پرایمر های مورد مطالعه

	Official Name (gene)	mRNA accession number	Primers			RNA	DNA	Intron-span
1	p 53	NM_00546.5	F	ACATAGTGTGGTGGTGCCCT	20	152	-	-
			R	ACCTCAAAGCTGTTCCGTCC	20			
2	PARP	NM-001618.	F	GGCTTCAGCCTCCTTGCTAC	20	116	2126	-
			R	TTCGCCACTTCATCCACTCC	20			
3	GAPDH	NM-001256799.2	F	CACATGGCCTCCAAGGAGTAAG	22	286	286	-
			R	AGGGGAGATTCAGTGTGGTG	20			

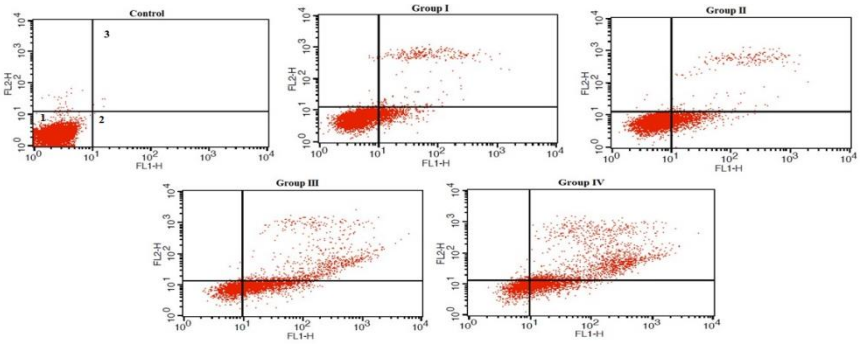
نتایج

القاء آپوپتوز در رده سلولی SW-1736 تیمار شده با غلظت های مختلف کورکومین (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار)، بعد از گذشت زمان های سه گانه انکوباسیون (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) با استفاده از تست Annexin V-FITC مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تست خبر از افزایش درصد مرگ سلولی در گروه های آزمایشی تحت تیمار می دهد. به طوری که با افزایش دوز و طول زمان تیمار درصد سلول های زنده در گروه‌های تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته است.

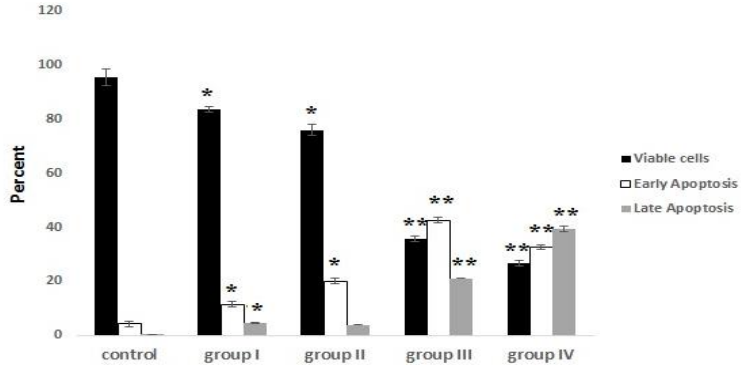
همان طور که در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ دیده می شود، درصد سلول های زنده در سایر گروه ها در هر سه زمان انکوباسیون نسبت به گروه کنترل کاهش را نشان می دهد که این اختلاف از نظر آماری نسبت به گروه کنترل معنی دار است (P=.032). هم چنین درصد سلول هایی که در مرحله ابتدایی و انتهایی آپوپتوز هستند با افزایش غلظت کورکومین و طول زمان انکوباسیون افزایش یافته اند، که این افزایش درصد آپوپتوز نیز نسبت به گروه کنترل در هر سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت معنی دار می باشد (نمودار ۱، ۲ و ۳). تجزیه و تحلیل مقادیر Ct حاصل از دستگاه Real Time PCR با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$، بیانگر افزایش در میزان بیان هر دو ژن *p53* و *PARP* در مقایسه با ژن مرجع در برخی از غلظت های مشخص می باشد (نمودار ۴ و ۵).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

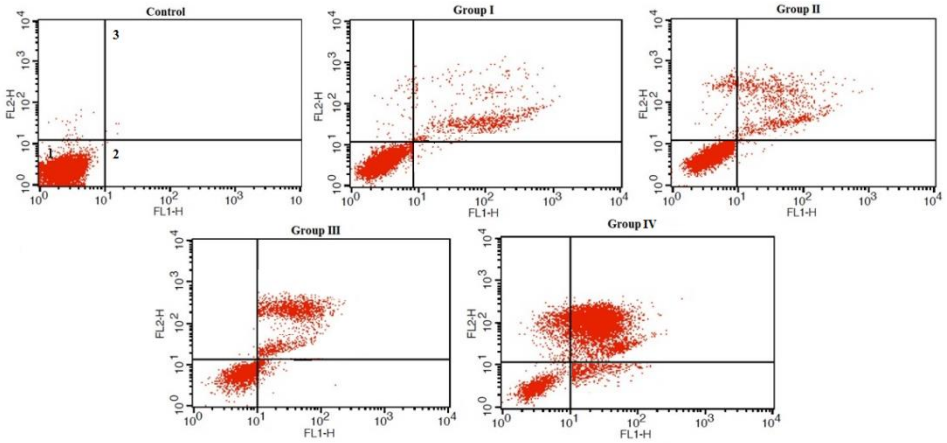
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]



شکل ۱: درصد سلول های زنده (۱)، آپوپتوز اولیه (۲) و آپوپتوز انتهایی (۳) در سلول های SW-1736، ظرف مدت ۲۴ ساعت، اختلاف معنی دار $P<0.05^{*}$؛ $P<0.01^{*}$ در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA.



نمودار ۱: درصد سلول های زنده، آپوپتوز اولیه و آپوپتوز انتهایی در سلول‌های SW-1736 تحت تیمار با غلظت های مختلف کورکومین به مدت ۲۴ ساعت.
$P<0.05^{*}$؛ $P<0.01^{**}$ در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA.

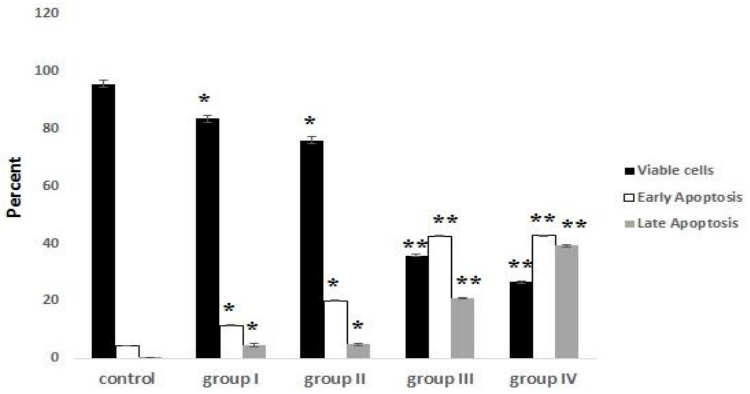


شکل۲: درصد سلول‌های زنده (۱)، آپوپتوز اولیه (۲) و آپوپتوز انتهایی (۳) در سلول‌های SW-1736، ظرف مدت ۴۸ ساعت،

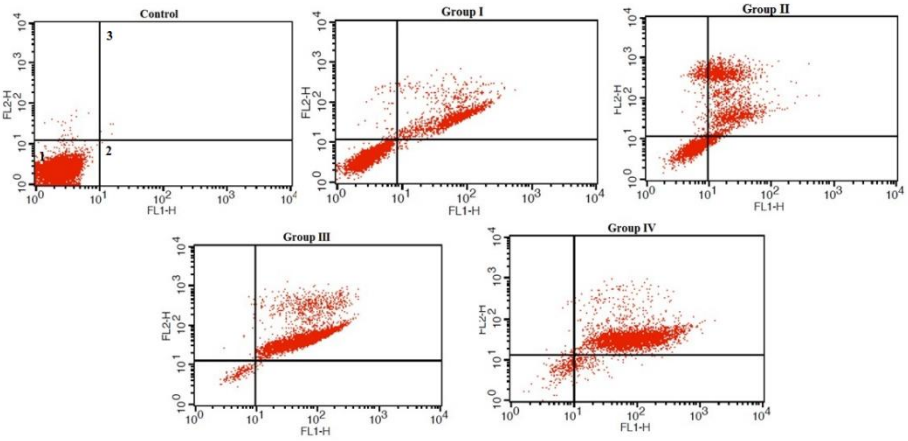
اختلاف معنی‌دار $P<0.01^{*}$؛ $P<0.001^{*}$ در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

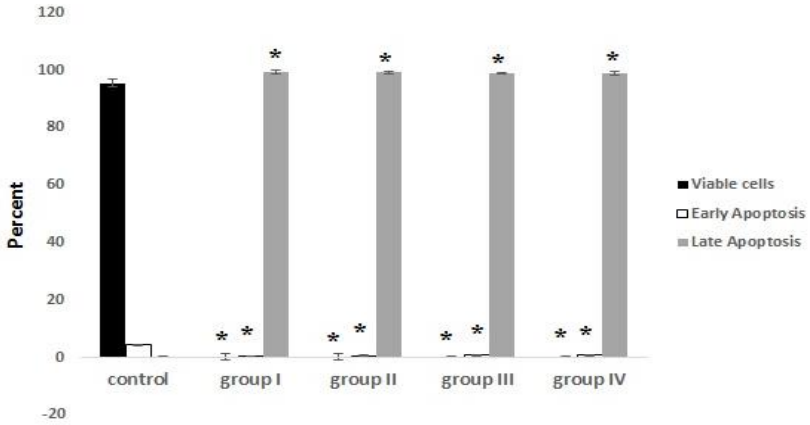
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]



نمودار ۲: درصد سلول های زنده، آپوپتوز اولیه و آپوپتوز انتهایی در سلول های SW-1736 تحت تیمار با غلظت های مختلف کورکومین به مدت ۴۸ ساعت.
$P<0.01$*؛ $P<0.001$** در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA.

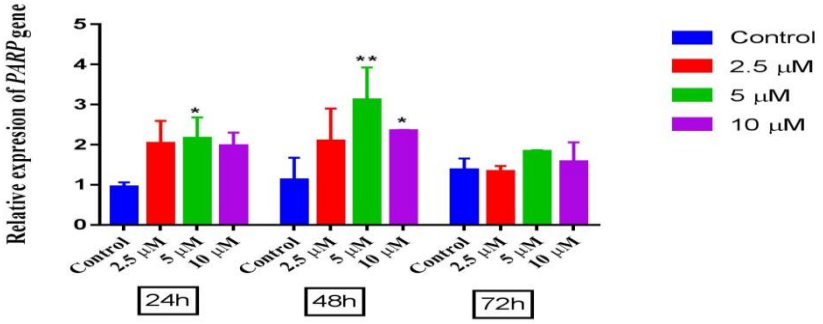


شکل۳: درصد سلول های زنده (۱)، آپوپتوز اولیه (۲) و آپوپتوز انتهایی (۳) در سلول های SW-1736، ظرف مدت ۷۲ ساعت،
اختلاف معنی دار $P<0.001$* در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA .

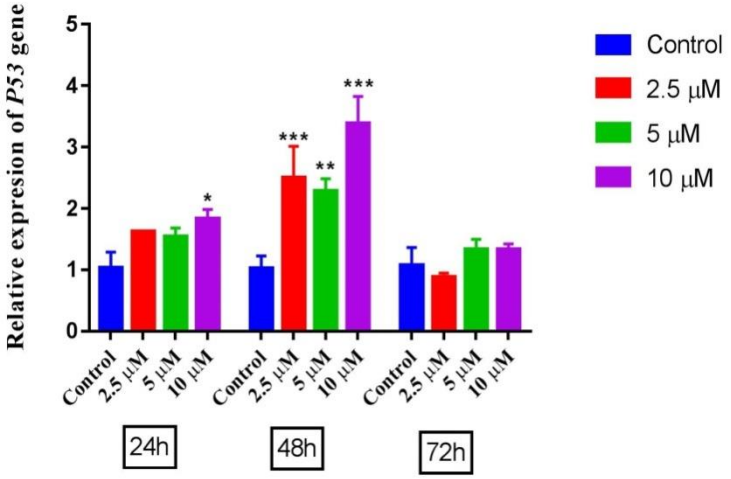


نمودار ۳: درصد سلول‌های زنده، آپوپتوز اولیه و آپوپتوز انتهایی در سلول‌های SW-1736 تحت تیمار با غلظت‌های مختلف کورکومین به مدت ۷۲ ساعت.
$P<0.001$* در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]



نمودار۴: نمودار میزان بیان ژن *PARP* براساس Ct در غلظت‌های (۲/۵، ۵ و ۱۰ میکرومولار) و زمان انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته. $P<0.5$*؛ $P<0.01$** در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA



نمودار ۵: نمودار میزان بیان ژن *p53* براساس Ct در غلظت‌های (۲/۵، ۵ و ۱۰ میکرومولار) و زمان انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته.

$P<0.001$***؛ $P<0.01$** در مقابل گروه کنترل بر اساس آزمون آماری ANOVA.

بحث

در تحقیق حاضر توانایی کورکومین در القاء آپوپتوز از طریق بیان ژن های رمزکننده پروتئین های پروآپوپتوزی دخیل در مسیر مرگ سلولی مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق وقوع آپوپتوز در رده سلولی SW-1736 تحت تاثیر کورکومین با استفاده از تست Annexin V-FITC بررسی گردید. بدین صورت که سلول ها برای مدت زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تحت تاثیر غلظت های مختلف کورکومین قرار گرفتند. سپس تاثیر این غلظت ها بر القاء آپوپتوز در رده سلولی SW-1736 اندازه گیری شد و آنالیز آماری صورت گرفت. نتایج حاصل نشان داد که درصد مرگ سلولی با افزایش دوز و طول زمان تیمار با کورکومین افزایش یافته است. به طوری که درصد سلول های زنده در سایر گروه ها نسبت به گروه کنترل که شامل ۹۵/۴۴ درصد سلول زنده بود، کاهش را نشان داد. این اختلاف در افزایش درصد وقوع آپوپتوز از نظر آماری در همه غلظت ها نسبت به گروه کنترل معنی دار می باشد. در همین راستا اسکوردم و همکارانش در سال ۲۰۱۷ اثر کورکومین را بر رده سلول های سرطانی مختلف تیروئید از جمله؛ Tpc-1 (Papillary)، Ftc-133 (Follicular) و BHT-101 (Anaplastic) مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]

بررسی این محققان نیز نشان داد که، کورکومین در رده سلول های مورد بررسی باعث القاء توقف چرخه سلولی در مرحله G_2/M، القاء آپوپتوز، مهار مسیر سیگنالی NF-κB و بیان ژن های مختلف از جمله: *p53*، *PARP*، *p21* و غیره می-شود (۱۶). در سال ۲۰۱۶ در مطالعه دیگری نیز تاثیر کورکومین را بر رده سلولی BCPAP مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که، کورکومین از طریق مهار مسیر سیگنالی $TGF\beta/Smad_2/Smad_3$، از وقوع متاستاز در این رده سلولی جلوگیری می کند (۱۷).

به علاوه در سال ۲۰۱۶ تاثیر کورکومین بر رده سلولی BCPAP مربوط به کارسینومای پاپیلاری تیروئید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که، کورکومین با القاء مسیر سیگنالی ROS باعث توقف چرخه سلولی در مرحله G_2/M می شود و به دنبال آن آپوپتوز را در این رده سلولی القاء می نماید (۱۸). در سال ۲۰۱۴ مکانیسم اثر ملکولی کورکومین را بر سلول های سرطانی تیروئید در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که، کورکومین از طریق مهار مسیر سیگنالی PI_3/Akt مانع از تهاجم سلول های سرطانی تیروئید می شود (۱۹). هم چنین تیمار رده سلولی SW-1736 با غلظت های مختلف کورکومین (۲/۵، ۵ و ۱۰ میکرومولار) و انکوباسیون آن ها برای مدت زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نتایج قابل توجهی را در افزایش میزان بیان ژن های مورد هدف تحقیق (*p53* و *PARP*) نشان داد. شایان ذکر است که این افزایش در میزان بیان ژن‌ها در برخی از غلظت های کورکومین نسبت به گروه کنترل به طور چشم گیرتری مشاهده گردید و بدین ترتیب مرگ سلول های سرطانی تحت تیمار را توجیه می کند. بیشترین میزان بیان ژن ها، مربوط به تیمار با غلظت ۱۰ میکرومولار با مدت زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت برای ژن *p53* و غلظت ۵ میکرومولار با مدت زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت برای ژن *PARP* بود که در حقیقت نشان دهنده اثر گذاری بیشتر کورکومین بر مهار روند رشد سلول های سرطانی می باشد. در این راستا در سال ۲۰۱۱ اثر مهاری کورکومین بر رشد و تکثیر سلول های سرطانی تیروئید پرداخته شد. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که، کورکومین با آزاد سازی سیتوکروم C، تولید گونه های فعال اکسیژن و تاثیر روی بیان پروتئین p53 آپوپتوز را در سلول های سرطانی تیروئید القاء می نماید(۲۰). به علاوه تحقیقات ارائه شده در زیر شواهد محکمی بر اثبات صداقت نتایج حاصل شده از تحقیق حاضر می باشند: شفقتی و همکارانش در سال ۲۰۱۴ به بررسی تاثیر کورکومین در پیش گیری از بروز سرطان پرداختند. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که، کورکومین با مهار رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن موجب مهار آسیب های DNA ناشی از عوامل اکسیداتیو نظیر پرتوهای یونیزان می شود و می تواند نقش مهاری در شروع سرطان داشته باشد (۲۱).

بلکارو و همکارانش در سال ۲۰۱۴ به بررسی تاثیر کورکومین در کاهش عوارض جانبی ناشی از شیمی درمانی و رادیوتراپی در مبتلایان به سرطان های کبد، کلیه، معده، ریه و تخمدان پرداختند. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که، در مبتلایان تحت تیمار با کورکومین، عوارض جانبی شیمی درمانی نظیر تهوع، اسهال، یبوست، عفونت، کاهش وزن و هم چنین عوارض جانبی مربوط به رادیوتراپی از جمله ضایعات پوستی، زخم های دهان و حلق، مشکلات بلع و غیره نسبت به مبتلایانی که تحت تیمار نبودند، کمتر مشاهده می شود (۲۲).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از تست Annexin V-FITC و RT-Real Time PCR صورت گرفته در تحقیق حاضر، بیانگر این مسئله هستند که کورکومین احتمالا قادر است با تاثیر گذاری بر بیان ژن های *p53* و *PARP* و افزایش میزان تولید محصول آن ها که در واقع پروتئین های پروآپوپتوتیک هستند، آپوپتوز را در سلول های کارسینومای آناپلاستیک تیروئید القاء نماید.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان « اثر کورکومین (curcumin) بر میزان آپوپتوز و بیان

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]

ژن های *p53* و *PARP* در رده سلولی SW-1736 کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان» در سال ۱۳۹۵ می‌باشد، که بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی را از آنان اعلام می داریم.

تعارض در منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1-Kebebew E, Greenspan FS, Clark OH, Woeber KA, McMillan A. *Anaplastic thyroid carcinoma.Treatment outcome and prognostic factors.* Cancer 2005; 103(7): 1330-35.

2-Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. ***A National Cancer Data Basereporton53, 856 cases of thyroid carcinoma treated in the US***. Cancer 1998; 83(12): 2638-48.

3-Kitamur Y, Shimizu K, Nagahama M, Sugino K, Ozaki O, Mimura T, et al. ***Immediate causes of death in thyroid carcinoma: clinicopathological analysis of 161fatal cases***. J Clin Endocrinol Metab 1999; 84(11): 4043-49.

4-Besic N, Hocevar M, Zgajnar J. ***Lower incidence of anaplastic carcinoma after higher iodination of saltin Slovenia***. Thyroid 2010; 20(6): 623-6.

5-Nel CJ, vanHeerden J.A, Goellner JR, Gharib H, McConahey WM, Taylor WF, et al. ***Anaplastic carcinoma of the thyroid: a clinic pathologic study of 82 cases***. MayoClin.Proc 1985; 60(1): 51-8.

6-Miccoli P, Materazzi G, Antonelli A, Panicucci E, Frustaci G, Berti P. ***New trends in the treatment of undifferentiated carcinomas of the thyroid***. Langenbecks Arch Surg 2007; 392(4): 397-404.

7-+/Hatcher H, Planalp R, Cho J, Toti FM, Torti SV. ***Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials***. Cell Mol Life Sci 2008; 65(11): 1631-52.

8-Srivastava SH, Mishra S, Surolia A, Panda D. ***A highly potent novel curcumin derivative, binds to tubulin, disrupts microtubule network and induces apoptosis***. Bioscience Rep 2016; 36(2): e00323.

9-Mullaicharam AR, Maheswaran A. ***Pharmacological effects of curcumin.*** Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis 2012; 2(2): 92-9.

10- Ravindran J, Prasad S, Aggarwal BB. ***Curcumin and cancer cells: how many ways can curry kill tumor cells selectively***?. AAPS J 2009; 11(3): 495-510.

11- Gowda NK, Ledoux DR, Rottinghaus GE, Bermudez AJ, Chen YC. ***Efficacy of turmeric (Curcuma longa), containing a known level of curcumin, and a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of aflatoxin in broiler chicks.*** Poult Sci 2008; 87(6): 1125-30.

12- Leng RP, Lin Y, Ma W, Wu H, Lemmers B, Chung S, et al. ***Pirh2, a p53-induced ubiquitin-protein ligase, promotes p53 degradation***. Cell 2003; 112(6): 779-91.

13- Mishra D, Singh S, Narayan G. ***Curcumin Induces Apoptosis in Pre-B Acute Lymphoblastic Leukemia Cell Lines via PARP-1 Cleavage***. APJCP 2016; 17(8): 3865-69.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]

14- Dahabreh IJ, Schmid CH, Lau J, Varvarigou V, Murray S, Trikalinos TA. ***Genotype misclassification in genetic association studies of the rs1042522 TP53 (Arg72Pro) polymorphism: a systematic review of studies of breast, lung, colorectal, ovarian, and endometrial cancer***. Am J epide 2013; 177(12): 1317-25.

15- Xue X, Yu JL, Sun DQ, Kong F, Qu XJ, Zou W, et al. ***Curcumin induces apoptosis in SGC-7901 gastric adenocarcinoma cells via regulation of mitochondrial signaling pathways***. APJCP 2013; 15(9): 3987-92.

16- Schwertheim S, Wein F, Lennartz K, Worm K, Schmid KW, Sheu-Grabellus SY. ***Curcumin induces G2/M arrest, apoptosis, NF-κB inhibition, and expression of differentiation genes in thyroid carcinoma cells***. J Cancer Res Clin Oncol 2017; 143(7): 1143-54***.***

17- Zhang L, Cheng X, Gao Y, Zhang C, Bao J, Guan H, et al. ***Curcumin inhibits metastasis in human papillary thyroid carcinoma BCPAP cells via down-regulation of the TGF-β/Smad2/3 signaling pathway***. Exp Cell Res 2016; 341(2): 157-65.

18- Zhang L, Cheng X, Gao Y, Bao J, Guan H, Lu R, et al. ***Induction of ROS-independent DNA damage by curcumin leads to G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human papillary thyroid carcinoma BCPAP cells***. Food & function 2016; 7(1): 315-25**.**

19- Xu X, Qin J, Liu W. ***Curcumin inhibits the invasion of thyroid cancer cells via down-regulation of PI3K/Akt signaling pathway***. Gene 2014; 546(2): 226-32.

20- Zhou H, Beevers CS, Huang S**.** ***The target of curcumin.*** Curr Drug Targets 2011; 12(3): 332-47.

21- Shafaghati N, Hedayti N, Hosseinimehr SJ. ***Protective effects of curcumin against genotoxicity induced by 131-iodine inhuman cultured lymphocyte cells***. *Pharmacognosy Magazine* 2014; 10(38): 106-10. [Persian]

22- Belcaro G, Hosoi M, Pellegrini L, Appendino G, Ippolito E, Ricci A, et al. ***A controlled study of a lecithinized deliverysystem of curcumin (meriva(R)) to alleviate the adverse effects of cancer treatment***. Phytother Res 2014; 28(3): 444-50.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 9 | Dec 2018
Received: 12 Mar 2018
Accepted: 21 Apr 2018

Apoptosis induction and enhanced expression of *p53* and *PARP* genes in the human anaplastic thyroid carcinoma cells line (SW-1736) with Curcumin

Khalil Khashei Varnamkhasti[1], Leila Rouhi[*2], Somayeh Reiisi[1,3]

Original Article

Introdution:. Anaplastic thyroid carcinoma (ATC) is a type of thyroid gland malignancy that originates from the anaplastic cells of this gland. This kind of malignancy is highly invasive and patients have a poor response to treatment. In this study, the effect of curcumin on apoptosis and *p53* and *PARP* genes expression of the human anaplastic thyroid carcinoma cell line (SW-1736) examined. Curcumin is a major active ingredient in the rhizome of a Curcuma longa that has anti-oxidant, anti-inflammatory and pro-apoptosis effects.

Methods: The experimental study was carried out in October, 2016 at the Cellular and Developmental Research Center of Islamic Azad University, Shahrekord Branch.SW-1736 cells with different concentrations of curcumin (2.5, 5, 7.5 and 10 µM) to examine apoptosis and 2.5, 5 and 10 µM concentrations to examine the expression of genes *P53* and *PARP* were incubated for 24, 48 and 72 hours. Then, apoptosis was analyzed by flow- cytometry using an Annexin V-FITC/PI kit and the expression of *p53* and *PARP* genes were analyzed by Real Time PCR.

Results: The results of this study indicated that with increasing concentration of curcumin in dose and time dependent manner, induction of apoptosis in this cell line increased. Also, treatment with curcumin increased the expression of *p53* and *PARP* genes in some experimental groups compared to the control group. (P=.032)

Conclusion: Curcumin has an inhibitory effect on the growth, proliferation and invasion of anaplastic thyroid cancer cells through induction of genes involved in apoptosis process. Therefore, it seems that there is a good research field for the use of Curcuma longa in the control and treatment of human anaplastic thyroid carcinoma.

Keywords: Curcumin, Apoptosis, SW-1736, *p53*, *PARP*

Citation: Khashei Varnamkhasti kh, Rouhi l, Reiisi s. **Apoptopsis induction and enhanced expression of *p53* and *PARP* genes in the human anaplastic thyroid carcinoma cells line (SW-1736) with Curcumin.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(9): 759-69

[1]Department of Genetic, Shahrekord Branch, University of Islamic Azad, Shahrekord, Iran
[2]Department of Physiology, Shahrekord Branch, University of Islamic Azad, Shahrekord, Iran
[3]Department of Genetic, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
***Corresponding author: Tel:** 09126043305, **email:** lrouhi59@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.461]