Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Short Communication

Effect of berberine on the expression of membrane progesterone receptor (mPRβ) in NALM6 cells

Vahid Bagheri[1], Mitra Rafiee[1]*

ABSTRACT

Acute lymphoid leukemia (ALL) is a type of blood cancer associated with the malignant proliferation of lymphoid progenitor cells. In recent years, natural medicines have received attention due to reasons such as availability, fewer side effects, and lower costs. Berberine (BBR) is a bioactive compound with anticancer effects that influences progesterone production. Progesterone can affect some tumors by inhibiting or inducing cell proliferation through its nuclear or membrane receptors. In this study, we investigated the effect of BBR on the expression of membrane progesterone receptor beta (mPRβ) in NALM6 cells. After culturing the cells in a serum-containing medium, the cells were treated with different concentrations of BBR (20-100 µM) at 48 and 72 h, and cell survival was determined using the MTT assay. Finally, the effect of BBR on the expression of mPRβ in NALM6 cells at concentrations of 30 and 10 µM at 48 and 72 h, respectively, was evaluated using flow cytometry. Our results showed that the cells express mPRβ. The BBR significantly inhibited cell growth in a concentration- and time-dependent manner, and mPRβ expression was significantly decreased in treated cells compared to untreated cells. These findings suggest that NALM6 cells are most likely influenced by progesterone. In addition, apart from its direct anticancer effects, BBR may also modulate the effects of progesterone on cancer cells. The findings of this study may be useful for designing new anti-cancer approaches.

Keywords: Acute lymphocytic leukemia, Berberine, Membrane progesterone receptor, NALM6 cells

Citation: Bagheri V, Rafiee M. [Effect of berberine on the expression of membrane progesterone receptor (mPRβ) in NALM6 cells]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(1): 107-113. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.30.1.107

Received: April 5, 2023 **Accepted:** June 13, 2023

[1] Cellular and Molecular Research Center, Department of Medical Immunology, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

***Corresponding author:** Cellular and Molecular Research Center, Department of Medical Immunology, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
Tel: +989155611460 Fax: +985632433004 E-mail: rafiee64mitra@gmail.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.1.107]

مقاله کوتاه

اثر بربرین بر بیان گیرنده غشایی پروژسترون (mPRβ) در سلول‌های NALM6

وحید باقری[1]، میترا رفیعی[1]*

چکیده

لوسمی حاد لنفوئیدی (ALL) نوعی سرطان خون است که با تکثیر بدخیم سلول‌های پیش‌ساز لنفاوی مرتبط است. در سال‌های اخیر، داروهای طبیعی به دلایلی مانند در دسترس بودن، عوارض جانبی و هزینه کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. بربرین (BBR) یک ترکیب زیست فعال با اثرات ضد سرطانی است که بر تولید پروژسترون اثرگذار است. پروژسترون می‌تواند با مهار یا القای تکثیر سلولی از طریق گیرنده‌های مختلف بر برخی تومورها تأثیر بگذارد. در این مطالعه، ما اثر بربرین را بر بیان گیرنده غشایی پروژسترون (mPRβ) در سلول‌های NALM6 بررسی کردیم. پس از کشت سلول‌ها در محیط حاوی سرم، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف بربرین (۱۰۰–۲۰ میکرومولار) در ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند و بقای سلولی با استفاده از روش MTT تعیین شد. در نهایت، اثر بربرین بر بیان mPRβ در سلول‌های NALM6 در غلظت‌های ۳۰ و ۱۰ میکرومولار به ترتیب در ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از فلوسیتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ما نشان داد که سلول‌ها mPRβ را بیان می‌کنند. بربرین به طور قابل توجهی رشد سلولی را در حالت‌های وابسته به غلظت و زمان مهار کرده و بیان mPRβ به‌طور قابل توجهی در سلول‌های تیمار شده در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده کاهش یافت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که سلول‌های NALM6 به احتمال زیاد تحت تأثیر پروژسترون هستند. علاوه بر این، جدای از اثرات ضد سرطانی مستقیم، بربرین ممکن است اثرات پروژسترون را بر سلول‌های سرطانی نیز تعدیل کند. یافته‌های این مطالعه ممکن است برای طراحی رویکردهای جدید ضد سرطان مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: لوسمی حاد لنفوئیدی، سلول‌های NALM6، بربرین، گیرنده غشایی پروژسترون، mPRβ

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰(۱): ۱۱۳-۱۰۷.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۳

[1] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

***نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
آدرس: بیرجند- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده پزشکی
تلفن: ۰۹۱۵۵۶۱۱۴۶۰ پست الکترونیکی: rafiee64mitra@gmail.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.1.107]

مقدمه

لوسمی حاد لنفوئیدی (ALL) [1] نوعی سرطان خون و مغز استخوان با میزان سرعت پیشرفت بالا است که در جایگاه تشکیل گویچه‌های سفید نابالغ یا لنفوسیت‌ها ایجاد می‌شود. با شروع این بیماری از بافت نرم و اسفنجی داخل استخوان، بر روی مراحل تشکیل و عملکرد گویچه‌های سفید اثر گذاشته و سپس به‌طور معمول به سایر اندام‌های بدن مانند غدد لنفاوی، طحال، کبد، مغز، نخاع و بیضه‌ها متاستاز می‌کند. عواملی مانند درمان سرطان قبلی، قرار گرفتن در معرض تشعشعات رادیواکتیو و اختلالات ژنتیکی ممکن است خطر ابتلا به این نوع سرطان را افزایش دهند. این بیماری شایع‌ترین نوع سرطان خون در کودکان بوده و در بزرگسالان نیز رخ می‌دهد. علی‌رغم وجود درمان برای این بیماری، اکثر بیماران به درمان پاسخ نمی‌دهند و می‌میرند (۱).

بربرین (BBR) یک آلکالوئید ایزوکوئینولین است که با مکانیسم‌های مختلفی اثرات ضد توموری خود را اعمال می‌کند (۲). بربرین جزء ترکیباتی است که بر تولید هورمون‌های جنسی اثرگذار بوده و باعث افزایش تولید پروژسترون (P4) و کاهش تولید استروژن می‌گردد (۳). P4 با اثر بر روی کنترل میزان تقسیم و تمایز سلول‌ها و تعداد سلول‌های حساس بر خطر بروز سرطان‌ها تأثیرگذار است (۵, ۴). عملکرد پروژسترون در سرطان‌های مختلف بسته به نوع سرطان و محیط موجود متفاوت است و می‌تواند نقش مهارکننده و تحریک‌کننده تقسیم سلولی را داشته باشد. P4 از طریق گیرنده‌های خود اثرات خود را بر سلول‌ها اعمال می‌کند. گیرنده‌های غشایی پروژسترون [2] (mPR) پروتئین‌هایی هستند که بر سطح غشای پلاسمایی بیان شده و هفت بار از عرض غشا عبور کرده و انواع آن‌ها شامل mPR-α، mPR-β و mPR-γ توسط انواع مختلفی از سلول‌های انسانی بیان می‌شوند (۶). با توجه به تأثیرگذاری بربرین و پروژسترون بر سلول‌های سرطانی مختلف و وجود ارتباط بین این دو این احتمال وجود دارد که این دو ماده اثرات همدیگر را بر سلول‌های سرطانی تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین هدف از انجام این مطالعه در مرحله اول تعیین بقای سلولی سلول‌های NALM6 پس از مواجهه با غلظت‌های مختلف بربرین و در مرحله دوم بررسی اثر بربرین بر بیان mPRβ به عنوان یک گیرنده پروژسترون بوده است. گیرنده‌ای که توسط سلول‌های NALM6 بیان شده و ممکن است رابطی برای اثرگذاری هورمون پروژسترون بر این رده سلولی باشد.

روش تحقیق

کشت سلولی

سلول‌های NALM6 که یک کلون مشابه لوسمی حاد رده سلول B است که برای اولین بار از خون محیطی یک مرد ۱۹ ساله مبتلا به لوسمی حاد لنفوبلاستیک جداسازی شده است. این سلول‌ها در محیط کشت RPMI1640 (ایده زیست، ایران) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum; FBS) (گیبکو، آمریکا)، ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین (ایده زیست، ایران) و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین (ایده زیست، ایران) در درمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط ۵ درصد CO2 و ۹۰ درصد رطوبت کشت شدند.

بررسی بقای سلولی سلول‌های NALM6 با غلظت‌های مختلف BBR با استفاده از روش MTT

به منظور بررسی اثر تیمار BBR بر میزان حیات سلولی، سلول‌های NALM6 را با محیط کشت به صورت سوسپانسیون درآورده و تعداد 10^4 × ۵ سلول در درون هر چاهک از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه (NEST، چین) ریخته و به مدت یک ساعت در درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا به حالت پایدار برسند. پس از انکوباسیون، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف بربرین (۱۰۰–۲۰ میکرومولار) (سیگما، آمریکا با خلوص ۹۹/۸ درصد) در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. میزان بقای سلولی با استفاده از روش MTT تعیین شد. ۲۰ میکرولیتر MTT (۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) (سیگما، آمریکا) به همه چاهک‌ها اضافه کرده، سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ۱۵۰ میکرولیتر DMSO (بتاسل، ایران) به همه چاهک‌ها اضافه کرده و پلیت در تاریکی و در دمای ۳۰ درجه

[1] Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)
[2] Membrane progesterone receptors (mPR)

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.1.107]

سانتی‌گراد به مدت ۷۰ دقیقه انکوبه تا فورمازان بنفش رنگ نامحلول حل شد. در پایان میزان شدت رنگ تولید شده در طول موج ۵۷۰ و ۶۵۰ نانومتر خوانش شد.

تعیین بیان mPRβ پس از تیمار با بربرین با استفاده از فلوسایتومتری

پس از ریختن $10^5 \times 7$ سلول NALM6 در هر یک از چاهک‌های میکروپلیت‌های ۶ خانه، سلول‌ها با غلظت‌های ۳۰ و ۱۰ میکرومولاربربرین به ترتیب به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. برای بررسی سلول‌ها از آنتی‌بادی اولیه (Progestin Receptor beta Polyclonal Antibody Invitrogen) و آنتی‌بادی ثانویه mouse anti-rabbit IgG-CFL 488 Santa Cruz Biotechnology) استفاده گردید. سلول‌ها پس از انکوباسیون با آنتی‌بادی اولیه ضد mPR-β به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با بافر PBS مورد شستشو قرار گرفتند. در مرحله بعد آنتی‌بادی ثانویه نشان‌دار شده با رنگ فلورسنت و ضد آنتی‌بادی اولیه به سلول‌ها اضافه شده و انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق انجام شد. سلول‌ها پس از شستشو از نظر بیان گیرنده بتا با استفاده از فلوسایتومتری بررسی شده و داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار flowjo آنالیز شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

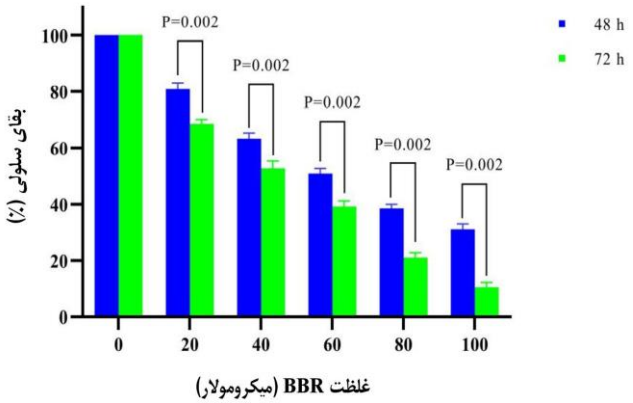
محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۹ انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار (Mean±SD) بیان شدند. گروه‌ها با استفاده از روش آماری One-Way ANOVA مقایسه گردید. $P\leq ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد اخلاق IR.BUMS.REC.1402.157 اجرا شده است.

یافته‌ها

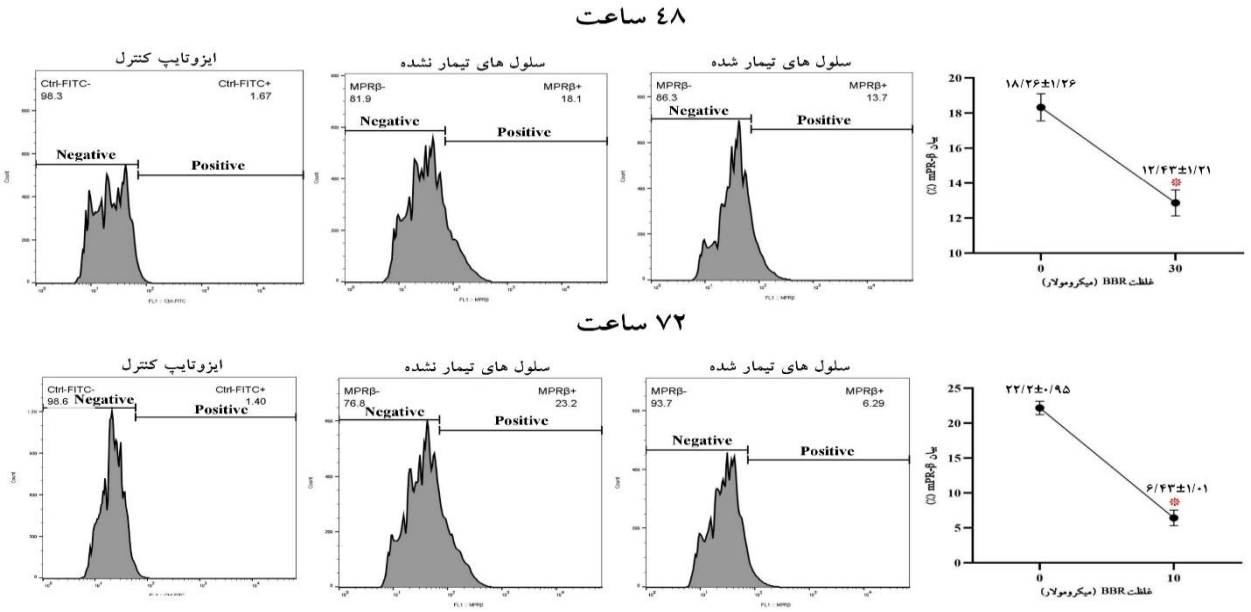
پس از تیمار سلول‌های NALM6 با غلظت‌های مختلف بربرین در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت، نتایج نشان داد که بربرین در مقایسه با نمونه‌های کنترل دارای اثرات سمیت سلولی بر سلول‌های مورد مطالعه می‌باشد (شکل ۱). این فعالیت سمیت سلولی به طور معنی‌داری وابسته به غلظت (P=۰/۰۰۱) و زمان (P=۰/۰۰۲) بود. از آنجایی که تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف بربرین و در زمان‌های مختلف باعث افزایش مرگ سلولی گردیده و نیمی از حداکثر غلظت مهاری (IC_{50}) در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۶۵ و ۳۸ میکرومولار بود. غلظت‌های ۳۰ و ۱۰ میکرومولار بربرین به ترتیب در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت جهت ارزیابی mPR-β انتخاب شدند.

نتایج مربوط به اثر بربرین بر بیان mPR-β سلول‌ها در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از آنالیز داده‌های فلوسایتومتری نشان داد (شکل ۲) که تیمار سلول‌ها با بربرین به‌طور معنی‌داری بیان mPR-β را نسبت به سلول‌های تیمار نشده کاهش داد (P=۰/۰۰۱). میانگین بیان mPR-β در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت در سلول‌های تیمار نشده به ترتیب ۱/۲۶±۱۸/۲۶ و ۲/۹۵±۲۲/۰ و در سلول‌های تیمار شده به ترتیب ۱/۲۱±۱۲/۴۳ و ۱/۰۱±۶/۴۳ بود.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف بربرین بر روی سلول‌های NALM6. سلول‌ها با غلظت‌های مختلف بربرین (۱۰۰-۲۰ میکرومولار) در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شده و بقای سلولی اندازه‌گیری شد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند. $P\leq ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.1.107]



شکل ۲- اثر بربرین بر روی بیان mPR-β. پس از تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۳۰ و ۱۰ میکرومولار بربرین به ترتیب در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت بیان mPR-β با استفاده از فلوسایتومتری و نرم‌افزار فلوجو بررسی شد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند. P≤۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. P=۰/۰۰۱*

بحث

مطالعه انجام شده توسط گروه ما نشان داد که بربرین می‌تواند باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطانی رده NALM6 شود. این نتیجه با توجه به نقش ضد سرطانی این ماده، در مطالعات مختلف و البته در سرطان‌های مختلف اثبات شده است. به عنوان مثال Xiao و همکاران در سال ۲۰۱۸ با روش‌های MTT، فلوسیتومتری و وسترن بلات نشان دادند که مشتقات مرتبط با بربرین باعث مهار تکثیر و القا آپوپتوز در رده سلولی سرطان ریه انسان شده است (۷). Shukla و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که بربرین از طریق اختلال در عملکرد میتوکندری باعث القا آپوپتوز در سلول‌های سرطانی HepG2 می‌شود (۸).

هورمون‌های جنسی نقش عمده‌ای در اتیولوژی چندین سرطان شایع در جهان دارند که از آن جمله می‌توان به سرطان‌های آندومتر، پستان و تخمدان در زنان و سرطان پروستات در مردان اشاره کرد (۹). این احتمال وجود دارد که هورمون‌ها با تأثیر بر کنترل میزان تقسیم سلول، تمایز سلول‌ها و تعداد سلول‌های حساس بر خطر بروز سرطان‌ها تأثیرگذار باشند. نکته جالب توجه این است که این اثرات در بروز سرطان‌های مختلف هم متفاوت می‌باشد. پروژسترون و استروژن اثرات بسیار مشخصی بر تقسیم سلول‌ها در آندومتر رحم دارند. استروژن به عنوان یک عامل تحریک‌کننده میتوز و پروژسترون با اثری مخالف آن شناخته می‌شود(۱۰،۹).

بر خلاف استروژن که دارای اثرات میتوژنیک واضح در کشت سلولی است، مطالعات نشان می‌دهد که پروژسترون در محیط کشت می‌تواند هم نقش تکثیری و هم مهاری داشته باشد؛ بنابراین این پیشنهاد وجود دارد که فعالیت پروژسترون به عنوان یک عامل تقویت‌کننده رشد به بافت و نوع سلول بستگی دارد. به عنوان مثال پروژسترون در بافت پستان دارای نقش تکثیری است و به صورت هماهنگ با استروژن به عنوان یک عامل کلیدی در ایجاد تومورهای بافت پستان عمل می‌کند. در مقابل در تخمدان و رحم پروژسترون دارای نقشی مخالف نقش استروژن است و به عنوان یک عامل ضد تکثیری در این بافت‌ها عمل می‌کند (۱۱). اگر چه بیشتر مطالعات به بررسی اثرات هورمون‌های جنسی بر سرطان‌های مرتبط با جنس پرداخته‌اند؛ اما تعدادی از مطالعات هم وجود دارند که نشان‌دهنده تأثیر هورمون‌های جنسی در بروز و درمان سرطان‌های غیرمرتبط با

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.1.107]

جنس مانند ریه هستند (۱۲) بیان گیرنده‌های پروژسترون که عامل تأثیرگذاری هورمون بر سلول‌های سرطانی است، تحت تأثیر عوامل مختلف هورمونی و غیر هورمونی قرار می‌گیرد و این موضوع توسط مطالعات مختلف اثبات شده است. مطالعه انجام شده توسط گروه ما گیرنده بتا غشایی پروژسترون را مورد بررسی قرار داده است. گیرنده‌های پروژسترون علاوه بر فرم‌های مختلف غشایی دارای انواع هسته‌ای نیز می‌باشد و بنابراین عملکردهای مختلف پروژسترون را می‌توان به گیرنده‌های مختلف آن نسبت داد. از بین این گروه از گیرنده‌های غشایی فرم‌های آلفا و بتا در مطالعات مربوط به سرطان بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته و شناخته‌شده‌تر هستند. بنابراین گروه ما از بین این دو، گیرنده بتا را انتخاب نموده است؛ هر چند به‌طور حتم بررسی همه گیرنده‌ها نتایج بسیار دقیق‌تری از ارتباط بین گیرنده‌ها و بربرین را ایجاد می‌کرد (۱۳). بربرین با روش‌های مختلف با هورمون‌های جنسی در ارتباط است. صفدرپور و همکارانش در سال ۲۰۱۹ نشان دادند که بربرین می‌تواند باعث جبران کاهش پروژسترون ناشی از لتروزول در موش آزمایشگاهی شود و سطح این هورمون را افزایش می‌دهد (۳). Miaomiao و همکارانش در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که بربرین بخشی از اثر مهارکنندگی بر سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 را از طریق اتصال به گیرنده استروژن و تغییر در ساختمان ثانویه این گیرنده اعمال می‌کند و در نتیجه باعث مهار زنده ماندن، مهاجرت و اتوفاژی در این رده سلولی می‌شود (۱۴). نتایج ما نشان داد که بیان گیرنده بتا غشایی پروژسترون تحت تأثیر بربرین کاهش پیدا می‌کند؛ بنابراین این احتمال وجود دارد که بربرین بتواند عملکرد احتمالی پروژسترون را در این رده سلولی تحت تاثیر قرار دهد. البته مشخص کردن نقش پروژسترون در این نوع خاص از رده سلولی سرطانی و ارتباط آن با بربرین نیاز به مطالعات بیشتری خواهد داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج ما نشان داد که بربرین قدرت مهار تکثیر سلول‌های سرطانی رده NALM6 را داراست و این احتمال وجود داردکه از طریق تغییر در بیان گیرنده غشایی پروژسترون بتواند عملکرد آن را نیز تحت تأثیر قرار دارد، البته اثبات این موضوع به طور حتم نیازمند انجام مطالعات تکمیلی است.

تقدیر و تشکّر

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان "اثر بربرین بر بیان گیرنده غشایی پروژسترون (mPRβ) در سلول‌های NALM6"، در سال ۱۴۰۲ با کد ۶۳۱۹ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی بیرجند اجرا شده است.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع:

1- Chang JH, Poppe MM, Hua CH, Marcus KJ, Esiashvili N. Acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Blood Cancer. 2021; 68 Suppl 2: e28371. DOI: 10.1002/pbc.28371

2- Zhang C, Sheng J, Li G, Zhao L, Wang Y, Yang W, et al. Effects of Berberine and Its Derivatives on Cancer: A Systems Pharmacology Review. Front Pharmacol. 2019; 10: 1461. DOI: 10.3389/fphar.2019.01461

3- Safdarpour S, Eidi A, Mortazavi P. Effect of Berberine on the Levels of Sex Hormones in Polycystic Ovary Syndrome-Induced by Letrozole in Adult Female Wistar Rats. Qom Univ Med Sci J. 2019; 13(7): 53-61. DOI: 10.29252/qums.13.7.53

4- Nguyen H, Syed V. Progesterone inhibits growth and induces apoptosis in cancer cells through modulation of reactive oxygen species. Gynecol Endocrinol. 2011; 27(10): 830-6. DOI: 10.3109/09513590.2010.538100

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.1.107]

5- Wassmann K, Wassmann S, Nickenig G. Progesterone antagonizes the vasoprotective effect of estrogen on antioxidant enzyme expression and function. Circ Res. 2005; 97(10): 1046-54. DOI: 10.1161/01.RES.0000188212.57180.55

6- Zhu Y, Bond J, Thomas P. Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progestin receptor. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100(5): 2237-42. DOI: 10.1073/pnas.0436133100

7- Xiao Y, Tian C, Huang T, Han B, Wang M, Ma H, et al. 8-Cetylberberine inhibits growth of lung cancer in vitro and in vivo. Life Sci. 2018; 192: 259-69. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.11.012.

8- Shukla S, Rizvi F, Raisuddin S, Kakkar P. FoxO proteins' nuclear retention and BH3-only protein Bim induction evoke mitochondrial dysfunction-mediated apoptosis in berberine-treated HepG2 cells. Free Radic Biol Med. 2014; 76: 185-99. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.039.

9- Özdemir, B.C. and G.-P. Dotto, Sex Hormones and Anticancer ImmunitySex Hormones and Anticancer Immunity. Clin. Cancer Res. 2019. 25(15): 4603-10. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0137

10- Lodde, V. and J.J. Peluso, A novel role for progesterone and progesterone receptor membrane component 1 in regulating spindle microtubule stability during rat and human ovarian cell mitosis. Biol Reprod. 2011. 84(4): 715-22. DOI: 10.1095/biolreprod.110.088385

11- Diep CH, Daniel AR, Mauro LJ, Knutson TP, Lange CA. Progesterone action in breast, uterine, and ovarian cancers. J Mol Endocrinol. 2015; 54(2): R31-53. DOI: 10.1530/JME-14-0252.

12- Siegfried JM, Stabile LP. Estrongenic steroid hormones in lung cancer. Semin Oncol. 2014; 41(1): 5-16. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2013.12.009.

13- Rafiee M, Naseri M, Akbari-Fakhrabadi M, Motamedi N, Ghahiri A, Mehrabian F, et al. Vitamin D3 induces the expression of membrane progesterone receptors (mPRs) on naive CD4+ T lymphocyte cells in women of reproductive age. Int Immunopharmacol. 2019; 72: 55-61. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.03.053.

14- Qi M, Liu X, Zhou Y, Wang H, Zhao Y, Ren J, et al. Berberine Inhibits MDA-MB-231 Cells as an Agonist of G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1. Int J Mol Sci. 2021; 22(21): 11466. DOI: 10.3390/ijms222111466.

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.1.107]