Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Anti-cancer effects and molecular mechanisms of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) in the human cellular model (A549) of lung cancer

Homa Mollaei[1]*, Maryam Moudi[1], Morteza Ghorbany[1], Seyed Mousa Mousavi-Kouhi[1], Mahboubeh Sadat Hosseinzadeh[1]

ABSTRACT

Background and Aims: Lung cancer is one of the most common malignancies worldwide that despite the recent progress, its existing treatments have not sufficient efficiency, and scientists are always trying to find complementary therapies. Medicinal plants, such as sour tea, have attracted lots of attention due to their abundant antioxidant compounds. In the present study, in addition to assessing the anticancer effects of sour tea **(***Hibiscus sabdariffa***)** on the human cellular model (A549) of lung cancer, the related molecular mechanism of anti-proliferative effects of the extract was investigated through the evaluation of the expression level of Bax and Bcl2 genes.

Materials and Methods: To this end, after the preparation of the sour tea extract, cellular cytotoxicity was evaluated with an MTT assay. Afterward, the cells were treated again with selective concentrations of the extract, and after 24 h, RNA extraction, cDNA synthesis, and gene expression analysis of apoptosis genes (Bax and Bcl2) were performed with a real-time polymerase chain reaction.

Results: The results of the study showed that sour tea extract reduced the viability of cancer cells in a dose- and time-dependent manner. Furthermore, molecular analysis results revealed that the treatment of cancer cells with sour tea extract could increase the Bax/Bcl2 ratio, which is an important mechanism for triggering apoptosis.

Conclusion: According to the obtained results, sour tea extract had a cytotoxic effect on lung cancer cells, and therefore, could be suggested as a potential complementary therapy for lung cancer after experimental studies and clinical trials.

Keywords: Anti-cancer effect, Apoptosis, Sour tea extract

Citation: Mollaei H, Moudi M, Ghorbany M, Mousavi-Kouhi S.M, Hosseinzadeh M.S. [Anti-cancer effects and molecular mechanisms of sour tea (Hibiscus sabdariffa) in the human cellular model (A549) of lung cancer]. J Birjand Univ Med Sci. 2022; 29(1): 12-20. [Persian]

DOI http://dx.doi.org/10.34785/bums024.2022.002

Received: November 13, 2021 **Accepted:** February 26, 2022

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran

***Corresponding author:** Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran
Tel: +985631020000 Fax: +985631020000 E-mail: hmollaei@birjand.ac.ir

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی اثرات و مکانیسم‌های مولکولی فعالیت ضد سرطانی گیاه دارویی چای ترش در مدل سلولی انسانی (A549) سرطان ریه

هما ملایی [1]*، مریم مودی [1]، مرتضی قربانی [1]، سید موسی موسوی کوهی [1]، محبوبه سادات حسین‌زاده [1]

چکیده

زمینه و هدف: سرطان ریه یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌هاست که با وجود پیشرفت‌های اخیر، درمان‌های موجود برای آن کارایی کافی ندارند و دانشمندان همواره در تلاش برای یافتن درمان‌های مکمل می‌باشند. از جمله این موارد استفاده از گیاهان دارویی مانند چای ترش است که به‌دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان فراوان بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعه حاضر ضمن بررسی اثرات ضدسرطانی عصاره چای ترش بر مدل سلولی انسانی سرطان ریه(A549)، مکانیسم‌های مولکولی مرتبط از طریق ارزیابی بیان ژن‌های Bax و Bcl2 مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش تحقیق: به‌منظور دست‌یابی به اهداف ذکر شده، پس از عصاره‌گیری از چای ترش، ابتدا سنجش سمیت سلولی عصاره به روش MTT انجام شد. سپس سلول‌ها مجدداً با غلظت‌های انتخابی از عصاره تیمار شدند و پس از گذشت زمان ۲۴ ساعت استخراج RNA، سنتز cDNA و بررسی بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2 به روش real-time PCR انجام شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره چای ترش در روندی وابسته به غلظت و زمان باعث کاهش بقای سلول‌های سرطانی ریه می‌شود و با توجه به نتایج مولکولی تیمار سلول‌های سرطانی با عصاره چای ترش می‌تواند منجر به افزایش نسبت Bax/Bcl2 شود که این مکانیسم برای راه‌اندازی آپوپتوز با اهمیت است.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصله عصاره چای ترش می‌تواند پس از مطالعات جانوری و کارآزمایی بالینی به‌عنوان درمان بالقوه مکمل برای سرطان ریه پیشنهاد شود.

واژه‌های کلیدی: خاصیت ضد سرطانی، آپوپتوز، عصاره چای ترش

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۱؛ ۲۹ (۱): ۱۲-۲۰.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۷

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- دانشگاه بیرجند- دانشکده علوم- گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۵۶۳۱۰۲۰۰۰۰ نمابر: ۰۵۶۳۱۰۲۰۰۰۰ پست الکترونیکی: hmollaei@birjand.ac.ir

مقدمه

سرطان دومین عامل مرگ و میرهای غیرتصادفی در دنیا محسوب می‌شود که سالانه میلیون‌ها نفر در سراسر جهان را درگیر کرده است (۱). سرطان ریه شایع‌ترین سرطان رایج در ایران است. دلیل اصلی سرطان ریه جهش در پروتئین‌های انکوژن و نیز سرکوب گر تومور می‌باشد که در نهایت منجر به رشد بی‌رویه سلولی می‌شوند (۲). درمان‌های رایج برای این سرطان همچون سایر انواع سرطان‌ها، جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی می‌باشد که با وجود پیشرفت‌های بسیار زیاد، کارایی کافی ندارند. مقاومت سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای شیمی درمانی و نیز عوارض جانبی این داروها از اصلی‌ترین چالش‌های پیش رو در درمان این سرطان می‌باشد (۳). به نظر می‌رسد ترکیبات شیمیائی موجود در طبیعت که در قالب‌های مختلف مثل ادویه‌ها، عصاره‌ها و غیره جهت التیام زخم‌ها و تسکین درد در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند، منبع غنی از ترکیبات شیمیائی پیچیده‌ای با اثرات مطلوب درمانی باشند. از سوی دیگر، حدود یک سوم از مرگ‌های ناشی از سرطان با به‌کارگیری رژیم غذائی مناسب قابل پیشگیری هستند. در نیم قرن اخیر بررسی‌های گسترده نشان داده است تعداد زیادی از میوه‌ها، سبزیجات و ادویه‌ها قادرند در چند مسیر سیگنالینگ (پیام رسانی) مرتبط با سرطان دخالت نمایند که این عوامل در فرم طبیعی برای پیشگیری و در فرم خالص و یا با شناسایی و استخراج مولکول‌های مؤثر در درمان که نیازمند دوزهای بالاتری است، استفاده می‌گردند (۴). همچنین مطالعات نشان می‌دهند که گیاهان غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از جمله: آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و پلی‌فنل‌ها بوده و در مهار رادیکال‌های آزاد مؤثر می‌باشند و در نتیجه نقش مهمی در پیشگیری و درمان انواع سرطان‌ها دارند (۵). گیاه دارویی چای ترش گونه‌ای گیاهی یک ساله با نام علمی *Sabdariffa Hibiscus*از خانواده Malvaceae می‌باشد که در ایران بیشتر با عنوان چای ترش یا Sour Tea شناخته شده است. این گیاه سرشار از آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، اسید اسکوربیک و بسیاری مواد ارزشمند دیگر می‌باشد و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا است (۶). همچنین تاکنون مطالعات مختلفی بر روی خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی عصاره چای ترش در سرطان‌های مختلف انجام شده؛ اما مکانسیم مولکولی دقیق این اثرات هنوز تا حدود زیادی ناشناخته است (۹-۷). آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی بی‌شک یکی از اصلی‌ترین مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با سرطان‌زایی می‌باشد که اختلال در آن در بسیاری از سرطان‌ها گزارش شده است (۱۰). پروتئین‌های خانواده Bcl2 تنظیم کننده مسیر داخلی آپوپتوز هستند. به‌عنوان مثال Bax یک پروتئین پرو آپوپتوتیک است که در سیتوپلاسم حضور داشته و در زمان القا آپوپتوز با اتصال به BID دچار یک تغییر کانفورماسیونی (شکل ظاهری) شده و به میتوکندری منتقل می‌شود و سپس با ایجاد یک منفذ در غشای خارجی میتوکندری موجب آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری می‌گردد. سیتوکروم C نیز با اتصال به کاسپاز ۹ آن را فعال کرده و آبشار کاسپازی را به راه می‌اندازد. در مقابل پروتئین Bcl2 یک پروتئین آنتی‌آپوپتوتیک است که آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری را مهار می‌کند (۱۰). در این مطالعه بر آن شدیم تا ضمن بررسی اثرات ضد سرطانی عصاره چای ترش در مدل سلولی انسانی سرطان ریه (A549) به بررسی مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با اثرات ضد تکثیری عصاره به دست آمده از طریق ارزیابی بیان ژن های Bax و Bcl2 بپردازیم.

روش تحقیق

کشت و پاساژ دادن سلول‌ها

رده سلولی A549 مربوط به کارسینومای ریه انسانی، که برای این مطالعه انتخاب شد از دانشگاه علوم پزشکی بیرجند تهیه گردید. برای رشد و نگهداری رده سلولی استفاده شده در این مطالعه نیاز به محیط کشت RPMI 1640 می‌باشد. به این منظور سلول‌ها در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰٪ FBS و ۱۰۰ Units/ml پنی‌سیلین و ۱۰۰µg/ml استرپتومایسین، در فلاسک ۲۵ سی‌سی در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت حاوی ۵٪ گاز CO_2 کشت داده شدند. کلیه مواد مورد استفاده در این بخش از شرکت سیگما خریداری شده است.

تهیه عصاره گیاه چای ترش

گیاه چای ترش از هرباریوم دانشکده کشاورزی سرایان وابسته به دانشگاه بیرجند، در فصل پاییز تهیه شد. به منظور عصاره گیری از این گیاه از روش ماسیراسیون (خیساندن) گیاه خرد شده چای ترش استفاده شد. ۱۰۰ گرم از گیاه خشک و آسیاب شده در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۸٪ حل و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای اتاق قرار داده شد و سپس عصاره به دست آمده با کاغذ صافی صاف و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) (Heidolph، آلمان) در ۷۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید.

تست MTT جهت ارزیابی بقاء سلولی

جهت بررسی اثر سمیت سلولی عصاره چای ترش بر سلول‌های سرطانی ریه و تعیین غلظت مؤثر (IC50) (القاکننده ۵۰٪ مرگ سلولی) از تست MTT شرکت سیگما استفاده شد. برای انجام این تست، ابتدا ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت‌های ۹۶ خانه کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس تیمار با غلظت‌های مختلف چای ترش (۳/۲–۰ mg/ml) انجام شده و مجددا پلیت‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. بعد از طی زمان انکوباسیون، مایع رویی چاهک‌ها خارج شده و سلول‌ها با PBS شستشو داده شدند. در مرحله بعد به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پودر MTT افزوده شده و پلیت‌ها ۳–۴ ساعت انکوبه شدند. سپس محلول رویی همه چاهک‌ها خارج شده و به هر چاهک ۱۵۰ میکرولیتر محلول DMSO به منظور حل شدن کامل کریستال‌های فورمازان ایجاد شده، اضافه شد. در نهایت جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر در مقابل طول موج رفرنس ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه خواننده الایزا (Power Wave XS2 BioTek) اندازه‌گیری شد. به منظور اطمینان از نتایج به‌دست آمده، این تست برای هر غلظت سه مرتبه تکرار شد. در نهایت درصد سلول‌های زنده با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید و IC50 در هر گروه پس از رسم منحنی محاسبه گردید.

۱۰۰× (میانگین جذب نوری گروه کنترل/ میانگین جذب نوری گروه تیمار) = قابلیت زیست سلول‌ها (٪)

بررسی بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2 به روش Real-time PCR

استخراج RNA تام از سلول‌ها با استفاده از کیت RNX PLUS

با توجه به نتایج تستMTT غلظت‌های ۲/۸ و ۳/۲ mg/ml عصاره چای ترش برای استخراج RNA ۲۴ ساعت پس از تیمار، انتخاب شدند. استخراج طبق پروتکل کیت انجام شد. به این منظور ابتدا ۲۰۰،۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۶ خانه کشت داده شده و انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. سپس سلول‌ها با غلظت‌های ۲/۸ و ۳/۲ mg/ml چای ترش به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. پس از طی زمان ۲۴ ساعت، یک میلی‌لیتر محلول RNX plus سرد به هر چاهک اضافه شده و سلول‌ها در میکروتیوب‌های ۱/۵ جمع‌آوری، ۵–۱۰ ثانیه ورتکس و ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به هر میکروتیوب اضافه شده و پس از ورتکس، انکوباسیون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شده و پس از آن سانتریفیوژ در RPM ۱۲۰۰۰ و دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. پس از پایان زمان سانتریفیوژ در هر میکروتیوب ۳ فاز قابل تشخیص بود شامل: لایهٔ پائینی: فاز فنل، کلروفرم و DNA – لایه حد واسط: پروتئین – لایه بالایی: فاز آبی دارای RNA. پس از انتقال دقیق فاز آبی رویی به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتر RNase free دیگر و افزودن حجم مساوی ایزوپروپانول، ۱۵ دقیقه انکوباسیون در یخچال و سانتریفیوژ در RPM ۱۲۰۰۰ و دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس رسوب ایجاد شده در ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۵٪ حل شد و سانتریفوژ در RPM ۷۵۰۰ و دمای ۴ درجه به مدت ۸ دقیقه انجام شد. در نهایت رسوب حاصل در آب عاری از نوکلئاز جهت استفاده‌های بعدی حل شده و پس از کنترل کمی و کیفی در فریزر ۸۰– درجه نگه‌داری شد.

تیمار با آنزیم DNase I

DNA موجود در RNA تام باعث ایجاد باندهای کاذب در پروفایل بیان ژن‌ها می‌گردد در نتیجه برای حذف آن از تیمار با آنزیم DNase I شرکت فرمنتاز استفاده گردید.

سنتز cDNA

برای سنتز cDNA از ۱ میکرولیتر RNA استخراج شده در مرحله قبل استفاده شد. برای انجام واکنش رونویسی معکوس به منظور سنتز cDNA از دو نوع پرایمر الیگو dT و پرایمر تصادفی ۶ تایی استفاده شد. ۱ میکرولیتر از مخلوط پرایمرهای مذکور به هر یک از تیوب‌های آماده شده در مرحله قبل (تیمار با DNase I) اضافه شده و میکروتیوب‌ها ۵ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ادامه مراحل سنتز توسط کیت پارس توس و طبق پروتکل مربوطه انجام گردید.

انجام Real-time PCR

پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های Bax و Bcl2 و GAPDH (به‌عنوان کنترل داخلی با استفاده از سایت NCBI و نرم‌افزار آنلاین oligoanalyzer طراحی شدند (جدول ۱). ابتدا برای هر ژن mix master طبق پروتکل کیت پارس توس و با استفاده از سایبرگرین این شرکت تهیه شده و پس از میکروفیوژ به هر یک از تیوب‌های Real-time PCR افزوده شد. سپس به هر یک از تیوب‌ها ۱ میکرولیتر از cDNA مورد نظر اضافه شد. در مرحله بعد پس از فیوژ تیوب‌ها با برنامه دمایی ذیل در دستگاه Real-time PCR (ABI، آمریکا) قرار داده شدند: ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ سیکل به صورت ۱۵ ثانیه ۹۵ درجه و ۳۰ ثانیه ۶۰ درجه. آنالیز بیان ژن‌ها به روش نسبی انجام شد.

آنالیز آماری

تست‌های مربوط به هر نمونه با سه تکرار جهت اطمینان از نتایج انجام و نتایج به صورت mean ± SD نشان داده شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون Student's t-test و ANOVA آنالیز شده و $P<0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

طرح پژوهشی حاضر در دانشگاه بیرجند با کد اخلاق IR.BIRJAND.REC.1400.007 به تصویب رسید.

یافته‌ها

بررسی سمیت سلولی عصاره چای ترش بر روی سلول‌های سرطان انسانی ریه (A549)

مطابق نمودار۱ غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش (۳/۲-۰ mg/ml)، تکثیر سلول‌های A549 را در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مهار کرده و میزان زیست پذیری آن ها را در یک رفتار وابسته به غلظت و زمان، به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد؛ همچنین با توجه به این نمودار IC50 یعنی حداقل غلظتی از عصاره که منجر به مرگ ۵۰٪ سلول‌های سرطانی می‌شود در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۳/۴، ۲/۵ و ۲/۳ mg/ml به دست آمد.

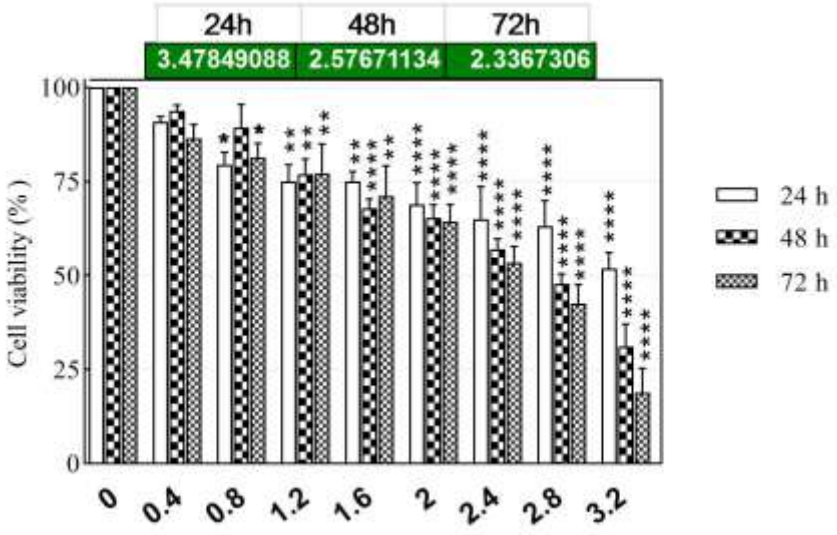
نتایج مربوط به بررسی کمّی بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2 در سطح mRNA در رده سلولی سرطان ریه انسانی (A549)

مطابق نمودار ۲ تیمار سلول‌های سرطانی A549 با غلظت‌های انتخابی از عصاره چای ترش (غلظت IC50 : ۳/۲ و غلظت ۲/۸ mg/ml) در زمان ۲۴ ساعت می‌تواند به طور معنی‌داری منجر به افزایش بیان ژن پروآپوپتوتیک Bax در روندی وابسته به غلظت تیمار شود.

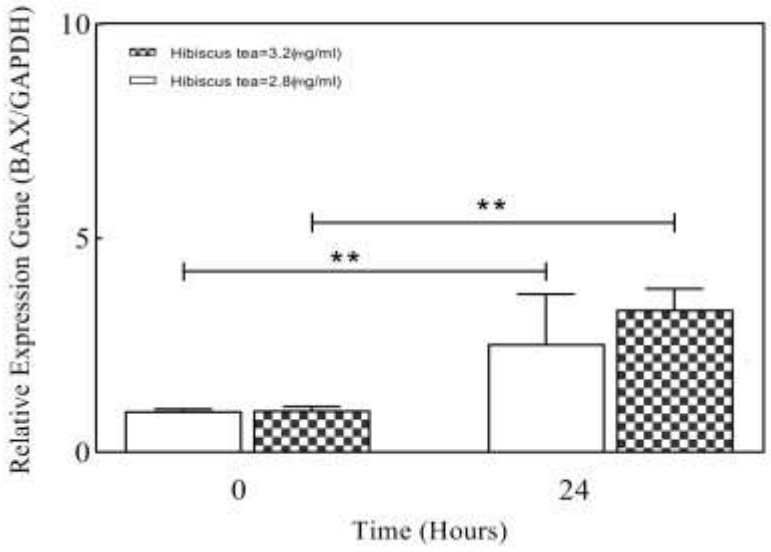
مطابق نمودار۳ تیمار سلول‌های سرطانی A549 با غلظت‌های انتخابی از عصاره چای ترش (غلظت IC50 : ۳/۲ و غلظت ۲/۸ mg/ml) در زمان ۲۴ ساعت می‌تواند به طور معنی‌داری منجر به کاهش بیان ژن آنتی آپوپتوتیک Bcl2 در روندی وابسته به غلظت تیمار شود.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمر رفت (′3→′5)	پرایمر برگشت (′3→′5)
Bcl2	GGTTGTCGCCCTTTTCTA	CGGAGGAAGTCCAATGTC
Bax	GATGTGATGCCTCTGCGAAG	CATGCTGATGTCTCTGGAATCT
GAPDH	GGTCGGAGTCAACGGA	CCAGCATCGCCCCACTT

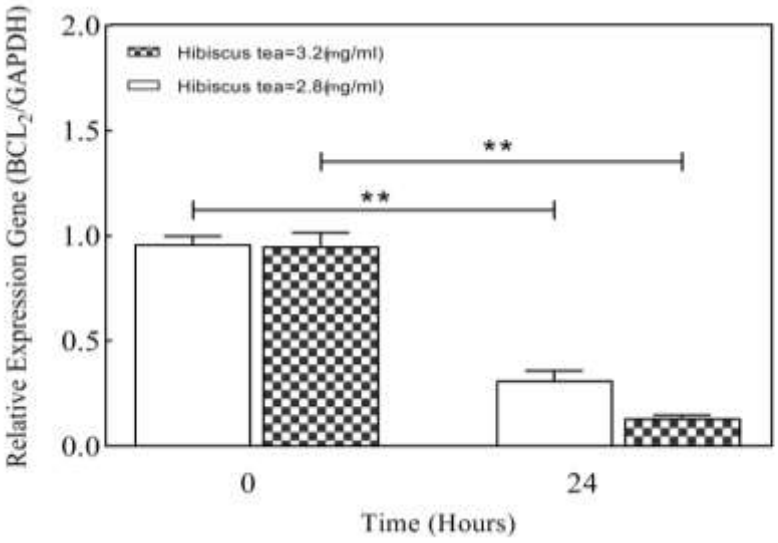


نمودار ۱- درصد زیست پذیری سلول‌های سرطانی A549 تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش (۰-۳/۲ mg/ml) در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت (P value= ۰/۰۱).



نمودار ۲- تغییر بیان ژن Bax تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش در زمان ۲۴ ساعت.

داده‌ها به صورت بیان نسبی ژن (هدف/کنترل داخلی) و mean ± SD سه بار تکرار ارائه شده‌اند (P value= ۰/۰۱).



نمودار ۳- تغییر بیان ژن Bcl2 تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش در زمان ۲۴ ساعت.

داده‌ها به صورت بیان نسبی ژن (هدف/کنترل داخلی) و mean ± SD سه بار تکرار ارائه شده‌اند (P value= ۰/۰۱).

بحث

مطالعات انجام شده تاکنون نشان داده‌اند که عصاره چای ترش دارای ترکیبات زیست فعال ارزشمندی است که خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضد قارچی، ضد التهابی و ضد سرطانی دارند و در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان‌های مختلف کاربرد دارند (۱۳-۱۱).

نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج منتشر شده قبلی نیز مطابقت دارد. به عنوان مثال مطالعه اخیر انجام شده توسط Fithrotunnisa و همکاران که با استفاده از عصاره چای ترش در حلال‌های مختلف انجام شده بود نشان دادند که عصاره این گیاه در حلال‌های اتانول، اتیل استات و ان- هگزان می‌توانند با IC50 به ترتیب ۳۷۴/۰۱، ۷۱۹/۲۸ و ۹۰۶/۵۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به مرگ سلول‌های سرطانی ریه (A549) گردد (۱۴). Lin و همکاران نیز با در معرض قرار دادن سلول‌های سرطانی پروستات (LNCaP, PC3 وDU145) با غلظت‌های ۰/۱ تا ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره چای ترش، به مدت ۲۴ ساعت و انجام تست MTT نشان دادند این تیمار می‌تواند اثر مهاری وابسته به غلظت بر روی سلول‌های سرطانی مذکور داشته باشد. IC50 عصاره در این مطالعه ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (۱۵). در مطالعه Khaghani و همکاران نیز با بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره چای ترش بر سلول‌های سرطانی سینه (MCF7) عنوان کردند غلظت‌های بالاتر از ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر این عصاره در ۴۸ و ۷۲ ساعت می‌تواند منجر به القای مرگ سلولی گردد (۱۶).

مرگ سلولی القا شده در این موارد عمدتاً از نوع آپوپتوز بوده و ناشی از تغییر بیان ژن‌های دخیل در مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز می‌باشد. ژن های Bax و Bcl2 از جمله مهم‌ترین این ژن‌ها هستند.

پروتئین پروآپوتوتیک Bax با القای آزاد شدن سیتوکروم C از غشای میتوکندری منجر به راه‌اندازی آبشار کاسپازی شده و در نهایت منجر به پیشبرد مرگ برنامه‌ریزی شده سلول های سرطانی (آپوپتوز) می‌شود.

پروتئین آنتی آپوپتوتیک Bcl2 با مهار آزادسازی سیتوکروم C از غشای میتوکندری منجر به مهار آپوپتوز می‌گردد. به طور کلی افزایش نسبت Bax/Bcl2 یکی از شاخص‌های مهم القای آپوپتوز

می‌باشد. نتایج به دست آمده در این بخش از پژوهش نیز با نتایج منتشر شده قبلی مطابقت دارد. هرچند مطالعات انجام شده بر روی مکانیسم مولکولی اثر پروآپوپتوتیک عصاره چای ترش تاکنون ناچیز بوده است. به عنوان مثال Lin و همکاران در بررسی مکانیسم مولکولی اثر عصاره چای ترش بر القای آپوپتوز در رده سلولی سرطانی پروستات عنوان کردند این عصاره می‌تواند با کاهش بیان Bcl2 و Mcl-1 و نیز افزایش بیان Bax اثر سیتوتوکسیک خود را اعمال نماید (۱۵). همچنین در مطالعه انجام شده توسط Abdullah و همکاران نیز نشان داده شد که تیمار سلول‌های سرطانی تخمدان با عصاره چای ترش می‌تواند از طریق افزایش نسبت Bax/Bcl2 اثر پروآپوپتوتیک خود را اعمال نماید (۱۷).

افزایش آپوپتوز ناشی از عصاره چای ترش همچنین می‌تواند ناشی از تغییر بیان سایر ژن‌های دخیل در این فرایند نیز باشد. به عنوان مثال Cheng و همکاران در مطالعه انجام شده بر روی اثر این عصاره بر سلول‌های سرطانی ریه فعال‌سازی P53 و AIF را عامل القای آپوپتوز در این سلول‌ها دانستند (۱۸).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره چای ترش می‌تواند با افزایش نسبت Bax/Bcl2 بر مسیر میتوکندریایی آپوپتوز تأثیر گذار باشد و احتمال می‌رود سمیت سلولی دیده شده بر روی سلول‌های سرطانی از این طریق اعمال شده باشد که البته اظهار نظر قطعی در این زمینه نیازمند بررسی‌های بیشتر از طریق تست‌های تخصصی بررسی آپوپتوز می‌باشد. استفاده از این چنین ترکیبات مکملی در کنار داروهای رایج شیمی درمانی می‌تواند با کاهش نیاز به دوز بالای داروهای شیمی درمانی، اثرات جانبی ناخواسته این داروها را به حداقل برساند.

تقدیر و تشکّر

پژوهش حاضر با کد ۱۳۹۸/د/۲۶۶۱۴ وسط معاونت پژوهشی دانشگاه بیرجند مصوب شد که بدینوسیله از زحمات این معاونت تشکر می‌گردد.

تضاد منافع

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

منابع:

1- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA: Cancer J Clin. 2019; 69(1): 7-34. DOI: 10.3322/caac.21551.

2- Demidyuk IV, Shubin AV, Gasanov EV, Kurinov AM, Demkin VV, Vinogradova TV, et al. Alterations in gene expression of proprotein convertases in human lung cancer have a limited number of scenarios. PLoS One. 2013; 8(2): e55752. DOI: 10.1371/journal.pone.0055752.

3- Roozbahani S, Alipourfard F. Cytotoxic effect of extract leaves of T. kotschyanus Boiss. & Hohen on Human Lang Cell. Exp anim Biol. 2015; 4(2): 1-6. [Persian]Link.

4- Dey N, Barwick BG, Moreno CS, Ordanic-Kodani M, Chen Z, Oprea-Ilies G, et al. Wnt signaling in triple negative breast cancer is associated with metastasis. BMC Cancer. 2013; 13: 537-52. DOI: 10.1186/1471-2407-13-537.

5- Xu D-P, Li Y, Meng X, Zhou T, Zhou Y, Zheng J, et al. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. Int J Mol Sci. 2017; 18(1): 96-128. DOI: 10.3390/ijms18010096.

6- Ali BH, Wabel NA, Blunden G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L.: a review. Phytother Res. 2005; 19(5): 369-75. DOI: 10.1002/ptr.1628.

7- Dehghani Nazhvani A, Razmkhah M, Jassbi A, Khademalizadeh M, Mahmoodi A. Evaluation of anticancer effect of Hibiscus Sabdarifa, Otostegia Persica Otostegia Aucheri, and Otostegia Michauxii on oral squamous cell carcinoma cell line. J Dent Med. 2020; 32(4): 208-15. [Persian].Link.

8- Amran N, Rani ANA, Mahmud R, Yin KB. Antioxidant and cytotoxic effect of Barringtonia racemosa and Hibiscus sabdariffa fruit extracts in MCF-7 human breast cancer cell line. Pharmacognosy Res. 2016; 8(1): 66-70 DOI:. 10.4103/0974-8490.171104.

9- Rodriguez JE-AM-V, Miloso M-GN-M. Antitumoral effects of Hibiscus Sabdariffa on human breast cancer cells. Italian journal of anatomy and embryology. 2016; 121(1): 143-43 . DOI: 10.1002/ptr.162 4.

10- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol. 2007; 35(4): 495-516. DOI: 10.1080/01926230701320337.

11- Kapoor M, Kaur G, Kaur N, Sharma C, Batra K, Singh D. The Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology of Genus Hibiscus: A Review. European J Med Plants. 2021: 32(4): 1-37. DOI: 10.9734/ejmp/2021/v32i430382.

12- Al-Yousef HM, Hassan WH, Abdelaziz S, Amina M, Adel R, El-Sayed MA. UPLC-ESI-MS/MS profile and antioxidant, cytotoxic, antidiabetic, and antiobesity activities of the aqueous extracts of three different Hibiscus Species. J Chem. 2020; 1-17. DOI: 10.1155/2020/6749176.

13- Salem MA, Zayed A, Beshay ME, Mesih MMA, Khayal RFB, George FA, et al. Hibiscus sabdariffa L.: phytoconstituents, nutritive, and pharmacological applications. Adv Trad Med. 2021 1-11. DOI: 10.1007/s13596-020-00542-7.

14- Fithrotunnisa Q, Arsianti A, Kurniawan G, Qorina F, Tejaputri NA, Azizah NN. In vitro cytotoxicity of Hibiscus sabdariffa Linn extracts on A549 lung cancer cell line. Pharmacogn J. 2020; 12(١): 14-19. DOI: 10.5530/pj.2020.12.3.

15- Lin H-H, Chan K-C, Sheu J-Y, Hsuan S-W, Wang C-J, Chen J-H. Hibiscus sabdariffa leaf induces apoptosis of human prostate cancer cells in vitro and in vivo. Food Chem. 2012; 132(2): 880-91. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.11.057.

16- Khaghani S, Yajloo MM, Paknejad M, Shariftabrizi A ,Pasalar P, Razi F. Selective cytotoxicity and apoptogenic activity of Hibiscus sabdariffa aqueous extract against MCF-7 human breast cancer cell line. J Cancer Ther. 2011; 2(03): 394-400. DOI: 10.4236/jct.2011.23054.

17- Abdullah AR. Anticancer Effects of Eurycoma longifolia, Nigella sativa and Hibiscus sabdariffa on Ovarian Cancer Cells. Int. j. health allied sci. 2017; 1(1).Link.

18- Cheng Y-L, Lee S-C, Harn H-J, Huang H-C, Chang W-L. The extract of Hibiscus syriacus inducing apoptosis by activating p53 and AIF in human lung cancer cells. Am J Chin Med. 2008; 36(01): 171-84. DOI: 10.1142/S0192415X08005680.