

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 Moudi¹, Morteza Ghorbany¹, Seyed Mousa Mousavi-Kouhi¹, Mahboubeh Sadat Hosseinzadeh¹

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

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

هما ملایی^{۱*}، مریم مودی^۱، مرتضی قربانی^۱، سید موسی موسوی کوهی^۱،
محبوبه سادات حسین‌زاده^۱

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 به دلیل 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: به منظور 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 به عنوان 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): ۲۰-۱۲.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۷

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- دانشگاه بیرجند- دانشکده علوم- گروه زیست‌شناسی

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

مقدمه

سرطان دومین عامل مرگ و میرهای غیرتصادفی در دنیا محسوب می شود که سالانه میلیون ها نفر در سراسر جهان را درگیر کرده است (۱). سرطان ریه شایع ترین سرطان رایج در ایران است. دلیل اصلی سرطان ریه جهش در پروتئین های انکوژن و نیز سرکوب گر تومور می باشد که در نهایت منجر به رشد بی رویه سلولی می شوند (۲). درمان های رایج برای این سرطان همچون سایر انواع سرطان ها، جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی می باشد که با وجود پیشرفت های بسیار زیاد، کارایی کافی ندارند. مقاومت سلول های سرطانی نسبت به داروهای شیمی درمانی و نیز عوارض جانبی این داروها از اصلی ترین چالش های پیش رو در درمان این سرطان می باشد (۳). به نظر می رسد ترکیبات شیمیائی موجود در طبیعت که در قالب های مختلف مثل ادویه ها، عصاره ها و غیره جهت التیام زخم ها و تسکین درد در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرند، منبع غنی از ترکیبات شیمیائی پیچیده ای با اثرات مطلوب درمانی باشند. از سوی دیگر، حدود یک سوم از مرگ های ناشی از سرطان با به کارگیری رژیم غذایی مناسب قابل پیشگیری هستند. در نیم قرن اخیر بررسی های گسترده نشان داده است تعداد زیادی از میوه ها، سبزیجات و ادویه ها 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 مولکول های مؤثر در درمان که نیازمند دوزهای بالاتری است، استفاده می گردند (۴). همچنین مطالعات نشان می دهند که گیاهان غنی از آنتی اکسیدان های طبیعی از جمله: آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها و پلی فنل ها بوده و در مهار رادیکال های آزاد مؤثر می باشند و در نتیجه نقش مهمی در پیشگیری و درمان انواع سرطان ها دارند (۵). گیاه دارویی چای ترش گونه ای گیاهی یک ساله با نام علمی *Sabdariffa Hibiscus* از خانواده Malvaceae می باشد که در ایران بیشتر با عنوان چای ترش یا Sour Tea شناخته شده است. این گیاه سرشار از آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها، اسید اسکوربیک و بسیاری مواد ارزشمند دیگر می باشد و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالا است (۶). همچنین تاکنون مطالعات مختلفی بر روی خواص

آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی عصاره چای ترش در سرطان های مختلف انجام شده؛ اما مکانیسم مولکولی دقیق این اثرات هنوز تا حدود زیادی ناشناخته است (۷-۹). آپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی شده سلولی بی شک یکی از اصلی ترین مکانیسم های مولکولی مرتبط با سرطان زایی می باشد که اختلال در آن در بسیاری از سرطان ها گزارش شده است (۱۰). پروتئین های خانواده Bcl2 تنظیم کننده مسیر داخلی آپوپتوز هستند. به عنوان 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 می شود و سپس با ایجاد یک منفذ در غشای خارجی میتوکندری موجب آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری می گردد. سیتوکروم C نیز با اتصال به کاسپاز ۹ آن را فعال کرده و آبشار کاسپازی را به راه می اندازد. در مقابل پروتئین Bcl2 یک پروتئین آنتی آپوپتوتیک است که آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری را مهار می کند (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 مکانیسم های مولکولی مرتبط با اثرات ضد تکثیری عصاره به دست آمده از طریق ارزیابی بیان ژن های Bcl2 و Bax بپردازیم.

روش تحقیق

کشت و پاساژ دادن سلول ها

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 می باشد. به این منظور سلول ها در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰٪ FBS و ۱۰۰ Units/ml پنی سیلین و ۱۰۰ µg/ml استرپتومایسین، در فلاسک ۲۵ سی سی در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد و رطوبت حاوی ۵٪ گاز CO2 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 هر بارיום 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 میلی لیتر 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 سانتی گراد تغلیظ گردید.

تست MTT جهت ارزیابی بقاء سلولی

جهت بررسی اثر سمیت سلولی عصاره چای ترش بر سلول های 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 پلیت های ۹۶ خانه کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس تیمار با غلظت های مختلف چای ترش (۰-۳/۲ mg/ml) انجام شده و مجدداً پلیت ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. بعد از طی زمان انکوباسیون، مایع رویی چاهک ها خارج شده و سلول ها با PBS شستشو داده شدند. در مرحله بعد به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر پودر MTT افزوده شده و پلیت ها ۳-۴ ساعت انکوبه شدند. سپس محلول رویی همه چاهک ها خارج شده و به هر چاهک ۱۵۰ میکرولیتر محلول DMSO به منظور حل شدن کامل کریستال های 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 (BioTek (Power Wave XS2) اندازه گیری شد. به منظور اطمینان از نتایج به دست آمده، این تست برای هر غلظت سه مرتبه تکرار شد. در نهایت درصد سلول های 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 سلول ها (%)

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

استخراج RNA تام از سلول ها با استفاده از کیت RNX PLUS

با توجه به نتایج تست MTT غلظت های 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 سلول ها با غلظت های ۲/۸ و ۳/۲ mg/ml چای ترش به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. پس از طی زمان ۲۴ ساعت، یک میلی لیتر محلول RNX plus سرد به هر چاهک اضافه شده و سلول ها در میکروتیوب های ۱/۵ جمع آوری، 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 سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شده و پس از آن سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ RPM و دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. پس از پایان زمان سانتریفیوژ در هر میکروتیوب ۳ فاز قابل تشخیص بود شامل: لایه پایینی: 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 میلی لیتر RNase free دیگر و افزودن حجم مساوی ایزوپروپانول، ۱۵ دقیقه انکوباسیون در یخچال و سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ RPM و دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس رسوب ایجاد شده در ۱ میلی لیتر اتانول ۷۵٪ حل شد و سانتریفیوژ در ۷۵۰۰ RPM و دمای ۴ درجه به مدت ۸ دقیقه انجام شد. در نهایت رسوب حاصل در آب عاری از نوکلئاز جهت استفاده های 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 ژن ها می گردد در نتیجه برای حذف آن از تیمار با آنزیم DNase I شرکت فرمنتاز استفاده گردید.

شده و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

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

یافته ها

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

مطابق نمودار ۱ غلظت های مختلف عصاره چای ترش (۳/۲-۰ mg/ml)، تکثیر سلول های A549 را در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مهار کرده و میزان زیست پذیری آن ها را در یک رفتار وابسته به غلظت و زمان، به طور معنی داری کاهش می دهد؛ همچنین با توجه به این نمودار IC50 یعنی حداقل غلظتی از عصاره که منجر به مرگ ۵۰٪ سلول های سرطانی می شود در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۳/۴، ۲/۵ و ۲/۳ mg/ml به دست آمد.

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

مطابق نمودار ۲ تیمار سلول های سرطانی A549 با غلظت های انتخابی از عصاره چای ترش (غلظت IC50 : ۳/۲ و غلظت ۲/۸ mg/ml) در زمان ۲۴ ساعت می تواند به طور معنی داری منجر به افزایش بیان ژن پروآپوپتوتیک Bax در روندی وابسته به غلظت تیمار شود.

مطابق نمودار ۳ تیمار سلول های سرطانی A549 با غلظت های انتخابی از عصاره چای ترش (غلظت IC50 : ۳/۲ و غلظت ۲/۸ mg/ml) در زمان ۲۴ ساعت می تواند به طور معنی داری منجر به کاهش بیان ژن آنتی آپوپتوتیک Bcl2 در روندی وابسته به غلظت تیمار شود.

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 تیوب های آماده شده در مرحله قبل (تیمار با DNase I) اضافه شده و میکروتیوب ها ۵ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس ادامه مراحل سنتز توسط کیت پارس توس و طبق پروتکل مربوطه انجام گردید.

انجام Real-time PCR

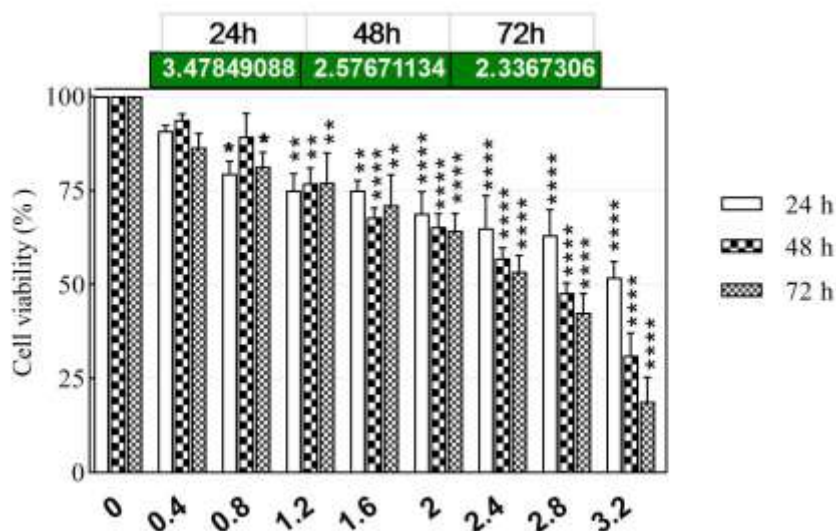
پرایمرهای مورد استفاده برای ژن های Bax و Bcl2 و GAPDH (به عنوان کنترل داخلی با استفاده از سایت NCBI و نرم افزار آنلاین oligoanalyzer طراحی شدند (جدول ۱). ابتدا برای هر ژن mix master طبق پروتکل کیت پارس توس و با استفاده از سایبرگرین این شرکت تهیه شده و پس از میکروپیوژ به هر یک از تیوب های Real-time PCR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

آنالیز آماری

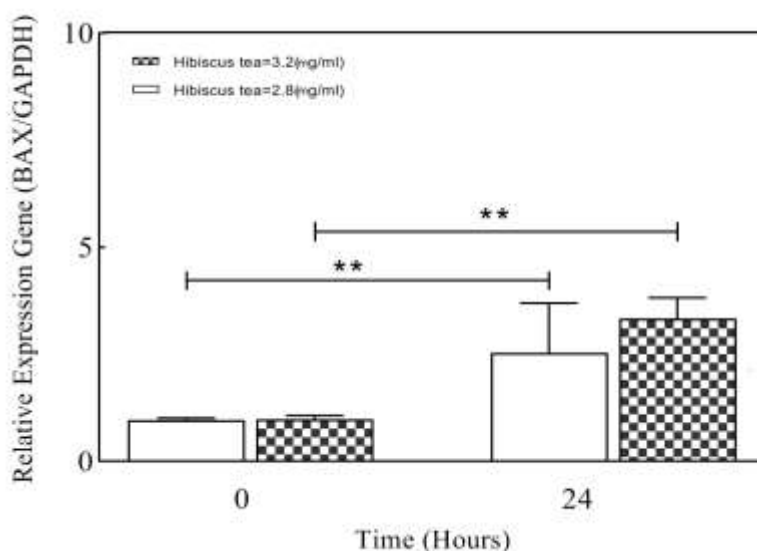
تست های مربوط به هر نمونه با سه تکرار جهت اطمینان از نتایج انجام و نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شدند. داده ها با استفاده از آزمون Student's t-test و ANOVA آنالیز

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده

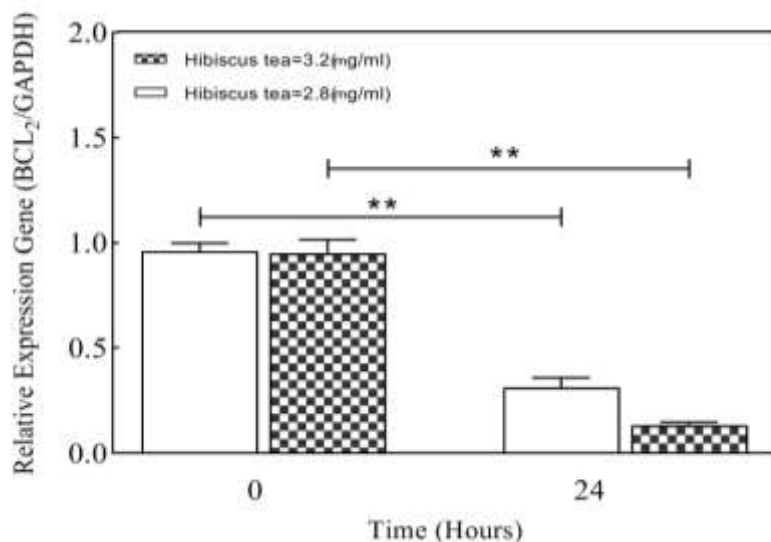
نام ژن	پرایمر رفت (5' → 3')	پرایمر برگشت (5' → 3')
Bcl2	GGTTGTCGCCCTTTTCTA	CGGAGGAAGTCCAATGTC
Bax	GATGTGATGCCTCTGCGAAG	CATGCTGATGTCTCTGGAATCT
GAPDH	GGTCGGAGTCAACGGA	CCAGCATCGCCCCACTT



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 $\text{mean} \pm \text{SD}$ سه بار تکرار ارائه شده‌اند (P value= ۰/۰۱).



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

داده ها به صورت بیان نسبی ژن (هدف/کنترل داخلی) و $\text{mean} \pm \text{SD}$ سه بار تکرار ارائه شده اند ($P \text{ value} = 0.01$).

بحث

مطالعات انجام شده تاکنون نشان داده اند که عصاره چای ترش دارای ترکیبات زیست فعال ارزشمندی است که خواص آنتی اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضد قارچی، ضد التهابی و ضد سرطانی دارند و در درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان های مختلف کاربرد دارند (۱۱-۱۳).

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 حلال های مختلف انجام شده بود نشان دادند که عصاره این گیاه در حلال های اتانول، اتیل استات و ان- هگزان می توانند با IC_{50} به ترتیب $374/01$ ، $719/28$ و $906/57$ میکروگرم بر میلی لیتر منجر به مرگ سلول های سرطانی ریه (A549) گردد (۱۴). Lin و همکاران نیز با در معرض قرار دادن سلول های سرطانی پروستات (LNCaP, PC3 و DU145) با غلظت های $0/1$ تا 1 میلی گرم بر میلی لیتر عصاره چای ترش، به مدت ۲۴ ساعت و انجام تست MTT نشان دادند این تیمار می تواند اثر مهاری وابسته به غلظت بر روی

سلول های سرطانی مذکور داشته باشد. IC_{50} عصاره در این مطالعه $2/5$ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شد (۱۵). در مطالعه Khaghani و همکاران نیز با بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره چای ترش بر سلول های سرطانی سینه (MCF7) عنوان کردند غلظت های بالاتر از $0/4$ میلی گرم بر میلی لیتر این عصاره در ۴۸ و ۷۲ ساعت می تواند منجر به القای مرگ سلولی گردد (۱۶).

مرگ سلولی القا شده در این موارد عمدتاً از نوع آپوپتوز بوده و ناشی از تغییر بیان ژن های دخیل در مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز می باشد. ژن های Bax و Bcl2 از جمله مهم ترین این ژن ها هستند.

پروتئین پروآپوتوتیک Bax با القای آزاد شدن سیتوکروم C از غشای میتوکندری منجر به راه اندازی آبشار کاسپازی شده و در نهایت منجر به پیشبرد مرگ برنامه ریزی شده سلول های سرطانی (آپوپتوز) می شود.

پروتئین آنتی آپوتوتیک Bcl2 با مهار آزادسازی سیتوکروم C از غشای میتوکندری منجر به مهار آپوپتوز می گردد. به طور کلی افزایش نسبت Bax/Bcl2 یکی از شاخص های 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 پروآپوئوتیک 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 پروآپوئوتیک 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

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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055752).
- 3- Roozbahani S, Alipourfard F. Cytotoxic effect of extract leaves of T. kotschyianus Boiss. & Hohen on Human Lung 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1002/ptr.1628).

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر با کد ۲۶۶۱۴/د/۱۳۹۸ 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 منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

- 7- Dehghani Nazhvani A, Razmkhah M, Jassbi A, Khademalizadeh M, Mahmoodi A. Evaluation of anticancer effect of Hibiscus Sabdariffa, 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(1): 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, Sharifabrizi 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](#).