اثر مهاری عصاره تام کورکوما لانگا برمهار بیان و فعالیت تلومراز در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان

رقیه آرزومند[۲]، نصرت الله ضرغامی[۱و ۲*]، محمد رحمتی یامچی[۱]، محمد پورحسن مقدم[۲]، کاظم نجاتی کشکی[۲]، عباس دل آذر[۱]، عباس علی بخشی[۲]، جواد رنجبری[۲]، محمد جعفر ملکی[۱]

[۱]آزمایشگاه رادیو فارماسی ، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. [۲]بخش بیوتکنولوژی پزشکی، گروه بیوشیمی و آزمایشگاههای بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱۵ ، تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۱۱

The inhibitory effect of Curcuma longa total extract on telomerase gene expression and activity in MCF-7 breast cancer cell line

Arezoomand R.[2], Zarghami N.[1,2*], Rahmati M.[1], Pourhassan-Moghaddam M.[2], Nejati-Koshki K.[2], Delazar A.[1], Alibakhshi A.[2], Ranjbari J.[2], Maleki M.J.[1]

[1]Radiophassay Lab, Drug applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

[2]Division of Medical Biotechnology, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Received: 7 Oct. 2009, Accepted: 1 Jun. 2010

Objectives: *Curcuma* longa possesses anti-inflammatory effects and inhibits growth of cancer cells. Principle compound of *Curcuma* longa is curcumin which could interferes with biological pathways. Telomerase is a ribonucleoprotein complex which prevents telomeres from shortening during cell division. In the most cancers, including breast cancer, expression and activity of this enzyme increases to compensate for chromosomes shortening and could be an attractive target of cancer therapy. Therefore, we aimed to study inhibitory effect of curcuma longa total extract on MCF-7 breast cancer cell line for evaluation of its possible anti-telomerase effect in these cells. **Methods:** MCF**-7** cells were cultured, IC_{50} of extract was determined by MTT assay test and then, cells were treated with serial dilutions of extract. Finally, we used TRAP assay to determine inhibition level of telomerase in treated and control cells. **Results:** IC_{50} was determined as 0.057mg/ml. Percentage of relative telomerase activity (expression) (%RTA) was decreased with increasing of *Curcuma* longa n-hexane extract. **Conclusion:** Considering inhibitory effect of *Curcuma* longa total extract on telomerase in the breast cancer cells, it is possible to use it for developing novel breast cancer therapeutics in the future.

Key Words*: Curcuma longa, telomerase, breast cancer*

زمینه و هدف: کورکوما لانگا گیاه بومی مناطق آسیایی است. این گیاه دارای اثرات ضد التهابی بوده و همچنین رشد و تقسیم سلول های سرطانی را مهار می کند. ماده اصلی موجود در کورکوما لانگا، کورکومین می باشد که قادر است در مسیرهای بیولوژیکی دخالت کند. تلومراز یک کمپلکس ریبونوکلئوپروتئینی است که مانع کوتاه شدن تلومرها در دفعات مکرر تکثیر سلولی می شود. در بیشتر سرطان ها از جمله سرطان پستان بیان و فعالیت این آنزیم افزایش می یابد تا مانع از کوتاه شدن کروموزومها گردد. در این مطالعه به بررسی اثرات مهاری عصاره تام کورکوما لانگا بر بیان و فعالیت تلومراز در مدل سلولی سرطان پستان (MCF-7) پرداخته شده است. **روش ها:** پس از کشت دادن سلولهای سرطان پستان میزان IC_{50} با استفاده از تست سایتوتوکسیسیتی تعیین گردید. سپس سلول ها با چند رقت مختلف از عصاره تیمار شدند. میزان مهار شد گی تلومراز در سلول های تیمار شده و همچنین در سلول های کنترل با استفاده از TRAP Assay تعیین گردید. **یافته ها:** میزان IC_{50} ۰/۰۵۷mg/ml تعیین شد. درصد فعالیت نسبی(بیان نسبی) تلومراز (%RTA) در سلول های تیمار شده با عصاره ان-هگزانی کورکوما لانگا با افزایش رقت عصاره کاهش یافت. **نتیجه گیری:** با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می توان پیشنهاد نمود که عصاره تام کورکوما لانگا دارای اثرات مهارکنندگی تلومراز در سلولهای سرطان پستان بوده و می توان از آن در آینده برای طراحی داروهای نوین ضد سرطان پستان بهره برد.

واژه های کلیدی: *کورکوما لانگا، تلومراز، سرطان پستان*

*نویسنده مسئول: نصرت اله ضرغامی، استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، تلفن تماس: ۲۴۱داخلی – ۳۳۶۳۲۳۴-۰۴۱۱
E-mail: Zarghami@tbzmed.ac.ir

**Corresponding Author: Nosratollah Zarghami , Radiophamassay Lab, Drug applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Tel: +98-411-3363234.* E-mail: Zarghami@tbzmed.ac.ir

www.SID.ir

۱- مقدمه

کورکوما لانگا گیاه بومی مناطق آسیایی است. از گذشته های دور انسان از آن به عنوان ادویه استفاده می کرده است. بعلاوه، این گیاه کاربرد های دارویی زیادی در درمان بیماری های التهابی مختلف داشته است. علاوه بر خاصیت ضد التهابی، این گیاه و برخی از مشتقات آن رشد و تقسیم سلول های سرطانی را نیز مهار می کند. مطالعات انجام گرفته تاکنون بر روی کورکومین به عنوان ماده اصلی موجود در کورکوما لانگا معطوف بوده است . این ماده قادر به دخالت در مسیرهای بیولوژیکی مختلف می باشد که همین در ایجاد اثرات درمانی آن دخالت دارد (۱).

اثرات ضد تکثیری کورکومین در مطالعات مختلف بر روی سلول های سرطانی به اثبات رسیده است. کورکومین با اتصال به پروتئین های مختلف باعث مهار و یا افزایش فعالیت کینازهای مختلف می شود. علاوه بر این کورکومین از طریق فعال نمودن یکسری از فاکتورهای رونویسی باعث تنظیم بیان انواعی از آنزیم های مسیرهای التهابی، سیتوکین ها، مولکول های چسبان و پروتئین های حیاتی سلول می شود. کورکومین همچنین باعث تنظیم منفی سیکلین D1، سیکلین E، MDM2 و تنظیم مثبت P21 P27, و p53 می شود.

مطالعات اخیر نشان داده است که کورکومین واجد اثرات ضد تکثیری، ضد تهاجمی و ضد رگ زایی نیز می باشد. این اثرات می تواند به عنوان یک عامل پیشگیری کننده در درمان سرطان و بد خیمی های مختلف در نظر گرفته شود (۲-٤،٦). تلومراز یکی از آنزیم هایی است که کورکومین قادر به مهار آن می باشد. این آنزیم یک کمپلکس ریبو نوکلئوتیدی است که از دو بخش hTERT و hTR تشکیل شده است. تلومراز در سلول های سوماتیک دارای فعالیت بسیار پایینی بوده اما در سلول هایی که نیاز به تقسیم دائمی دارند از جمله سلول های بنیادی و سلول های سرطانی فعالیت بالایی دارد تا مانع کوتاه شدن تلومرهای موجود در انتهای کروموزومها شود. میزان فعالیت تلومراز در سلول های سرطانی مختلف از جمله سرطان پستان افزایشی تا حدود ۸۵ درصد را نشان می دهد.

بنابراین مهار تلومراز می تواند به عنوان یک هدف انتخابی در درمان سرطان ها از جمله سرطان پستان مطرح گردد. در این مطالعه اثر مهار کنندگی عصاره n- هگزانی کورکوما لانگا بر روی فعالیت تلومراز در مدل سلولی سرطان پستان MCF-7 بررسی شده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱: آماده سازی عصاره

۱۰۰ گرم پودر ریشه کورکوما لانگا در ۲۰۰ml n- هگزان حل شد و محلول حاصله به مدت ٤ ساعت در دمای ٤٥°C تکان داده شد. این مرحله سه بار تکرار شد. سپس، مواد باقیمانده در ۲۰۰ ml دی کلرومتان حل شده و به مدت ٤ ساعت در دمای ٤٥°C تکان داده شد. این مرحله نیز سه بار تکرار شد. در مرحله بعدی، روی مواد بجا مانده از مرحله قبلی، ۲۰۰ml متانول ریخته شده و به مدت ٤ ساعت در دمای ٤٥°C تکان داده شد. این مرحله هم سه بار تکرار شد. سرانجام، حلال های مورد استفاده در هر فاز با استفاده از دستگاه Rotatory-Evaporator به دقت خشک گردید و پودر باقیمانده تا زمان استفاده در ۲۰°C- نگهداری شدند.

۲-۲: انتخاب فاز مناسب جهت تیمار

کورکومینوئیدها حداکثر جذب را در طول موج های ٤۲۰-٤۳۰nm دارند. بر این اساس، محتوای کورکومینوئیدی فازهای n- هگزانی، دی کلرومتانی و متانولی عصاره با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید. بطور خلاصه، جذب محلول های ۰/۰۳۸، ۰/۰۳۰٤، ۰/۰۱۹، ۰/۰۱۵۲، ۰/۰۰۷۲ و۰/۰۰۱۹ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شده از کورکومین خالص (سیگما) به عنوان کنترل در DMSO ۱۰٪ و محلول ۰/۰۰۳۸ میلی گرم بر میلی لیتر از هریک از فازها در DMSO ۱۰٪، با اسپکتروفتومتر سه بار در ٤۲۰nm و سه بار در٤۳۰nm خوانده شد. سپس، منحنی استاندارد بر اساس عددهای بدست آمده از فرمول میانگین جذب کورکومین خالص ×۱۰۰، رسم گردید. سرانجام، محتوای نسبی کورکومین هر سه فاز بر اساس منحنی استاندارد تعیین گردید.

۲-۳: کشت سلولی و آزمایش سایتوتوکسیسیتی

سلول های MCF-7 (انستیتو پاستور ایران) در محیط کشت سلولی RPMI1640 (Invitrogen Gibco,) حاوی ۱۵٪ سرم جنین گاوی (Gibco، Invitrogen، آمریکا)، ۲mg/ml بیکربنات سدیم، ۰/۰۵ mg/ml پنی سیلین G (کمپانی Serva ، آلمان) و ۰/۰۸ mg/ml استرپتومایسین (مرک، آلمان) کشت داده شد و در انکوباتور مرطوب ۳۷°C حاوی ۵٪ CO2 انکوبه گردیدند. پس از بدست آوردن تعداد کافی از سلول ها، اثرات سایتوتوکسیک عصاره n- هگزانی کورکوما لانگا با استفاده از MTT assay مطالعه گردید (۵).

بدین ترتیب که ۱۰۰۰ cell/well در یک پلیت ۹٦ خانه کشت داده شد. پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون در انکوباتور ۳۷°C مرطوب حاوی ۵٪ CO_2، سلول ها با غلظت های

www.SID.ir

سریالی از عصاره n– هگزانی (۰ تا۰/۵۷ mg/ml به مدت ۲٤یا ٤۸ یا ۷۲ ساعت و با تکرار ٤ تایی تیمار شدند. به سلولهای کنترل ۲۰۰µl محیط کشت حاوی DMSO ریخته شد. سلول های دریافت کننده ۲۰۰µl محیط کشت حاوی DMSO به عنوان سلول های کنترل عمل کردند. پس از انکوباسیون، محیط کشت چاهک های پلیت با محیط تازه تعویض شد و سلول ها به مدت ۲٤ ساعت دیگر در انکوباتور انکوبه شدند. سپس، محیط کشت کل چاهک ها با دقت حذف شده و ۵۰µl از محلول MTT (۲ mg/ml) (سیگما) به هر چاهک اضافه گردید. پلیت در یک فویل آلومینیومی پیچیده شد و به مدت ۸–٤ ساعت در انکوباتور انکوبه گردید. سپس محتویات کل چاهک ها حذف شد و به هر چاهک۲۰۰ µl از DMSO خالص اضافه شد. در مرحله بعدی ۲۵µl از بافر سورنسن گلایسین اضافه گردید.

بلافاصله جذب نوری چاهک ها در ۵۷۰nm توسط یک میکروپلیت الایزا ریدر (Bio-Tek Instrument) با طول موج رفرنس ٦۳۰nm قرائت گردید. جذب های نوری بدست آمده، آنالیز شده و IC_{50} عصاره n– هگزانی بر روی سلول های MCF-7 تعیین گردید.

٤-۲: تیمار سلولی و اندازه گیری فعالیت و بیان تلومراز با TRAP assay

پس از مشخص شدن IC_{50}، ۱×۱۰٦ عدد سلول MCF-7 با غلظت های متوالی از عصاره n– هگزانی که کمتر از IC_{50} بودند، تیمار شدند (۰/۰۱٤، ۰/۰۲۸، ۰/۰٤۲، ۰/۰۵۷، ۰/۰۸۵ و ۰/۱۱٤ میلی گرم بر میلی لیتر). برای سلول های کنترل، مقدار یکسان با حجم تیمار از DMSO ۱۰٪ فاقد عصاره n– هگزانی به فلاسک سلول های کنترل حاوی ۱×۱۰٦ عدد سلول MCF-7 اضافه شد. سپس فلاسک ها به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از ۲٤ ساعت، سلول ها جمع آوری شده و پروتئین توتال آنها براساس دستورالعمل کیت Telo TAGGG Telomerase PCR ELISA plus (شرکتRoche، آلمان) استخراج گردید. در ادامه مقدار پروتئین توتال هر نمونه بر اساس روش برادفورد و با استفاده از کیت Quick Start Bradford (شرکت BioRad، آمریکا) تعیین گردید.

در آخرین مرحله، براساس دستورالعمل کیت Telo TAGGG Telomerase PCR، مرحله طویل سازی/ تکثیر با بکار بردن ۷µg پروتئین توتال برای هر نمونه انجام شد و محصولات PCR با روش هیبریداسیون مبتنی بر روش الایزا ردیابی شد. جذب نهایی در طول موج ٤۵۰ nm با استفاده از دستگاه الایزا ریدر مدل STAT FAX 2100 قرائت گردید. نهایتاً، فعالیت نسبی (بیان نسبی) تلومراز برای هر نمونه بر اساس دستورالعمل TRAP plus محاسبه گردید.

۳- نتایج

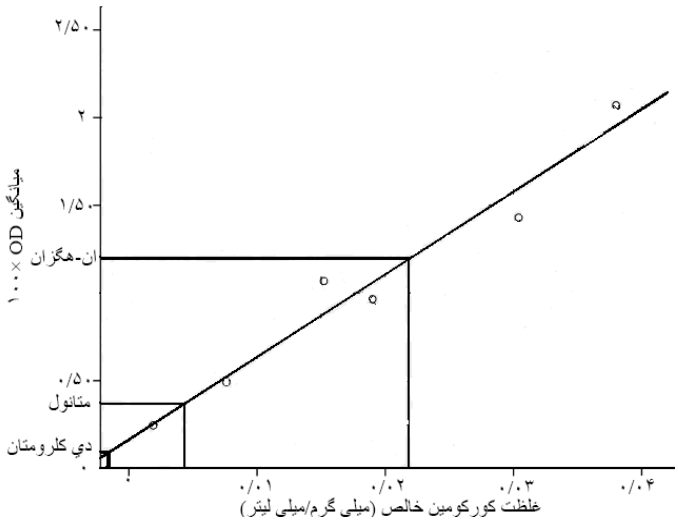
آنالیز اسپکتروفتومتری فازهای عصاره تام نشان داد که فاز n–هگزانی محتوای کورکومینوئیدی بیشتری از فازهای متانولی و دی کلرومتانی دارد (نمودار ۱).

بنابراین، در مطالعه حاضر اثرات فاز n – هگزانی کورکوما لانگا بر روی فعالیت تلومراز در سلول های MCF-7 مطالعه گردید. با بررسی داده های بدست آمده از انجام تست MTT assay، میزان سایتوتوکسیسیتی عصاره n– هگزانی کورکوما لانگا بر روی سلولهای MCF-7، معادل ۰/۰۵۷ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد (نمودار ۲).

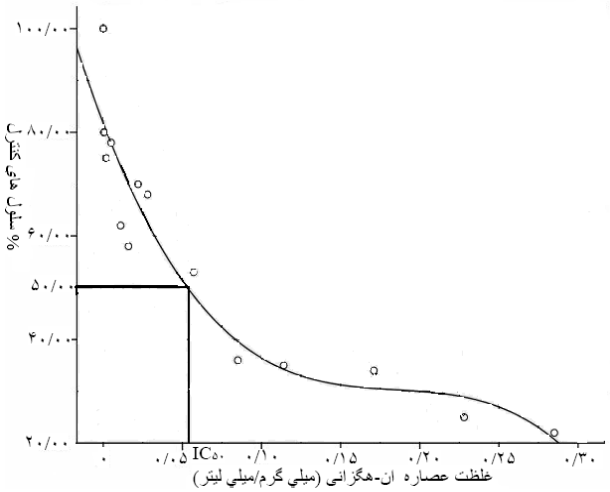
نتایج بدست آمده از انجام تکنیک TRAP Assay نیز نشان داد که با افزایش میزان غلظت عصاره n– هگزانی کورکوما لانگا میزان فعالیت آنزیم تلومراز (RTA) کاهش می یابد (جدول ۱). مطابق نمودار ۳، بین میزان عصاره تیماری و میزان فعالیت نسبی (بیان نسبی) تلومراز رابطه معکوس وجود دارد یعنی هر چه دوز تیماری بیشتر باشد درصد فعالیت (بیان نسبی) تلومراز کمتر می گردد به طوری که در غلظت ۲۰۰ میکرومولار (معادل ۰/۱۱٤) به کمترین حد می رسد.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱. آنالیز اسپکتروفتومتری محتوای کورکومینوئیدی فازهای n- هگزانی، متانولی و دی کلرومتانی عصاره تام کورکوما لانگا.



نمودار ۲. IC_{50} غلظت های مختلف عصاره n- هگزانی کورکوما لانگا بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان

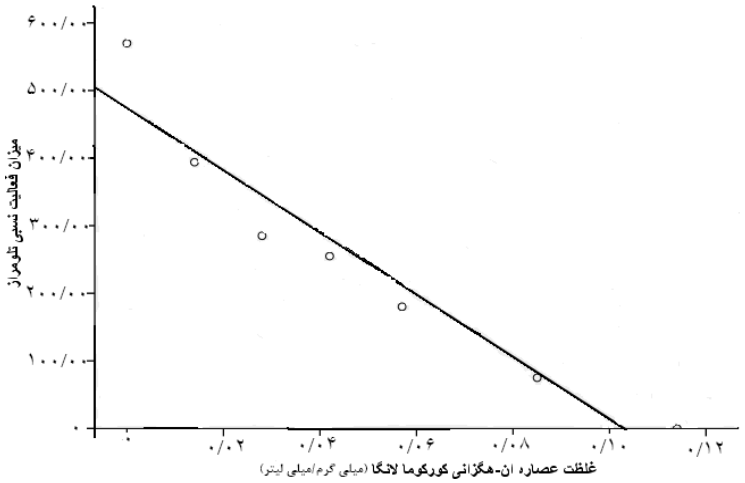
جدول۱. فعالیت (بیان) نسبی تلومراز در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان تیمار شده با دوزهای مختلف عصاره n- هگزانی کورکوما لانگا

غلظت عصاره n-هگزانی (mg/ml)	RTA*	درصد RTA نسبت به کنترل
کنترل(۰)	۵۷۰	۱۰۰
۰/۰۱٤	۳۹٤	٦۹
۰/۰۲۸	۲۸۵	۵۹
۰/۰٤۲	۲۵۵	٤٤
۰/۰۵۷	۱۸۰	۳۱
۰/۰۸۵	۷۵	۱۳
۰/۱۱٤	۰	۰

* RTA (فعالیت نسبی تلومراز)

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳. مهار تلومراز توسط غلظت های مختلف عصاره n- هگزانی در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان

٤- بحث

A.simon و همکاران در سال ۱۹۹۸ در مطالعه ای به بررسی اثرات مهاری کورکومینوئید ها بر روی تکثیر رده سلولی سرطان پستان MCF- ۷ پرداختند و به ارتباط بین اثر کورکومینوئیدها در پیشبرد سیکل سلولی و تکثیر سلول ها تمرکز نمودند. مطالعات انجام گرفته نشان داد که اثرات مهاری ایجاد شده تابعی از دوز و زمان می باشد (۸). Ramachandran و همکاران نیز در مطالعه ای به بررسی حساسیت رده های سلولی سرطان پستان (MCF-10A, MCF-7) نسبت به کورکومین پرداختند. در این مطالعه مشخص شد که سلولهای اپی تلیوم پستانی نسبت به سلولهای سرطان پستان حساسیت کمتری به اثرات سایتوتوکسیک کورکومین داشته و IC_{50} بدست آمده در مورد سلولهای اپی تلیوم پستانی سه و نیم برابر بیشتر از سلول های سرطان پستانی بود.

این مطالعه به بررسی اثر کورکومین بر روی سیکل سلولی و همچنین بر روی روند آپوپتوزیس سلول ها معطوف بود و نشان داد که سلول های سرطان پستانی نسبت به سلولهای اپی تلیوم پستانی در حضور کورکومین بیشتر دچار آپوپتوز می شوند. به طوری که ۲۰ تا ٤۰ میکرومولار از کورکومین باعث افزایش القایی آپوپتوز در سلول های سرطان پستانی می شود (۹).

SHU-XIANGCUI در مطالعه ای دیگر به این مطلب اشاره می کند که احتمالا کاهش تنظیمی hTERT در کمپلکس آنزیمی تلومراز می تواند یکی از عملکرد های فیزیولوژیکی کورکومین بر روی تلومراز باشد. با این حال دلایل دیگر ناشناخته است (۱۰). Yanqiu Xia به بررسی عملکرد و نقش کورکومین روی سلول های سرطان پستان در مدل سلولی MCF-7 پرداخت البته در این مطالعه نقش کورکومین از نظر فعالیت فاکتور رشد شبه انسولینی بررسی گردید. این مطالعه مشابه با سایر مطالعات نشان داد که کورکومین با مهار رشد و القا آپوپتوز در مدل سلولی MCF-7 در مهار رشد آنها موثر است.

یکی دیگر از نتایج Yanqiu xia این بود که کورکومین خالص در غلظت ٦/۲۵ میکرو مولار در ۲٤ ساعت باعث مهار رشد سلول های سرطان پستان در مدل سلولی MCF-7 می شود. این نتیجه با استفاده از MTT assay بدست آمد (۱۱).

Tsao و همکاران به بررسی میزان فعالیت تلومراز در سلول های سرطانی و سلولهای نرمال پستانی در شناسایی این سرطان پرداختند. آنها از TRAP Assay استفاده نمودند و نشان دادند که TRAP Assay قادر است تا ۷٦٪ از موارد کارسینوما پستانی و ۷۵٪ از موارد سرطان مجرای پستانی را نشان دهد (۱۲). Ariel A. Avilion و همکاران سطح RNA تلومرازی و همچنین فعالیت تلومراز با استفاده از TRAP Assay در رده سلولی HEK را مورد ارزیابی قرار دادند. مشابه با موارد قبل فعالیت تلومراز در رده سلولی مربوطه که توسط sv40 ترانسفورم شده بود روند افزایشی را نشان داد. Avilion جهت بررسی تنظیم

www.SID.ir

تلومراز در طی افزایش فعالیت تلومراز سطح RNA تلـومـرازی را بررسـی کرد و نشـان داد کـه افـزایش فعالیـت تلومراز همـراه بـا افـزایـش سطح RNA تلومرازی نمی باشد (۱۳).

SHAWN E. HOLT و همکاران به بررسی تنظیم تلومراز بر اساس پروتکل TRAP Assay در یک سری از رده های سلولی نامیرا پرداختند. آنها نشان دادند که در ۸۵ تا ۹۰ درصد تومورهای اولیه انسانی و ۱۰۰ درصد از رده های سلولی مشتق از تومور های انسانی تلومراز فعال است ولی در مواردی که تومور از نوع خوش خیم باشد میزان فعالیت تلومراز قابل ملاحظه نمی باشد و بنابراین می توان از تلومراز به عنـوان یک هـدف مناسب جهـت تشخیـص پیش آگهی و از نظر کلینیکی استفاده کرد (۱٤).

علاوه بـر مطالعاتـی کـه نشان می دهـد کـورکـومین اثر مهار کنندگی بر روی مهار فعالیت تلومراز در سرطان پستان دارد M. Sh i و همکارانش در سال ۲۰۰٦ در مطالعه شان نشان دادند که کورکومین قادر به مهار فعالیت تلومراز در سل لاین k562 (سل لاین مربوط به سلول های لوکمیا) نیز می باشـــد.

SHU- XIANGCUI و همکاران به بررسی اثر کورکومین بر روی مهار تلومراز در یکسری از سل لاین های سرطانی انسان پرداختند. نتایج بدست آمده با نتایج مطالعه حاضر را تاییـــد می کنـــد. ایـــن سل لایـن هـــا شامـــــل HL60, Be17402, SGC 7901 بودند و نشان دادند کورکومین می تواند بـاعث مهار فعالیت تلومراز در سل لاین های سرطانی انسان شود و علاوه بر مهار فعالیت موجب مهار بیـان و همچنین الـقا آپوپتوز هم می گردد.

SHU-XIANGCUI از تکنیک TRAP-silver staining Assay جهت بررسی میزان فعالیت تلومراز استفاده کرد. در این روش مرحله آخر به جای الایزا از رنگ آمیری نقره استفاده می گردد. فعالیت تلومراز در سل لاین های سرطانی مربوطه را بعد از اینکه سلول ها را در معرض کورکومین قرار دادند با تکنیک TRAP-silver staining Assay فعالیت تلومراز را ارزیابی کردند. کارایی مهار ایجاد شده نیز با حساسیت اثر ضد تکثیری بر روی هر سه رده همراه بود.

بـا توجـه بـــه مـوارد اشاره گردیده ایـن مطلب پیشنهـاد می گردد کـه کورکومین خالـص ممکن است باعث مهار رشـد سلول هـــا از طریـق کاهش فـعالیت تلـومراز به همـراه القا آپاپتوز شـود و احتمالا اثـرات ضـد تکثیری کـورکومین از طـریق مهار فعالیت تلومراز و القا آپاپتوز انجام می گردد (۱۰).

Mondello, Zhang, Arragona, Harington هر کدام در مطالعات جداگانه ای که انجام دادند نشان دادند که کورکومین باعث مهار رشد سلول ها می گردد علاوه بر این می تواند باعث القا آپاپتوز شود و این کار را از طریق کاهش بیان شدن **تلومراز انجام** می دهد (۱۷-۱۵). در سال ۲۰۰۲ مطالعه ای توسط cheppail Ramachandran و همکارانش انجام گرفت کـه بسیار شبیه ایـن مطالعه بـود. در این مطالعه محقق به این مطلب فوکوس کرد که کورکومین باعث مهار فعالیت تلومراز می شود و این عملکـرد مهاری از طریـق مهارhTERT در رده سلـولـی MCF-7 ایجـاد می گردد.

در این مطالعه محقق نشان داد که فعالیت تلومراز در رده سلولی MCF-7، ٦/۹ برابر بیشتر از فعالیت تلومراز در رده سلولی اپی تلیوم پستانیMCF-10A است (۹). علاوه بر این در این مطالعه مشخص شد که فعالیت تلومراز با افزایش غلظت کورکومین کاهش می یابد میزان این مهار نیز در حـدود ۹۰ درصد است. ایـن عملکرد مهاری ممکن است همراه با تنظیم کاهشی بیان hTERT انجام گردد. علاوه بر این افزایش غلظت کورکومین منجر به کاهش تدریجی در سطح mRNA مربوط به hTERT در رده سلولی MCF-7 می شود.

IC_{50} بـدست آمـده بـا استفاده از تست سایتوتوکسیسیتی MTT Assay در رده سلولی MCF-7 در حدود ۲٦ میکرو مولار بود در صورتی که این میزان در رده سلولـی اپی تلیوم پستانی ۲ برابر شـده بـود و ایـن نشان می دهد که MCF-7 به کورکومین حساسیت بالاتری دارد. مطالعات انجام گرفته اکثرا بر روی اثر کورکومین خالص بر روی روند رشدی سلولهای سرطانی با دخالت در روند فعـالیت تلومراز، آپـاپتوز و یا فعالیت فاکتور رشـد معطـوف بودنـد.

از بیـن ایـن مطالعـات مطالعـه Ramachandran شباهت بیشتری با مطالعه ما از نظر نوع سلول تیمار شده و اثر بر روی تلومراز داشت. البته در این مطالعه اثر کورکومین خالص بررسی گردیده بود.

با توجه به اینکه کورکومین خالص ماده موثره ی بیشتری را دارد. انتظار مـــــی رفـت در مطالـعـه مـا کـــه از فـــاز n- هگزانی کورکومالانگا استـفاده کرده ایم میزان IC_5. بیشتر گردد که این مطلب در این مطالعه حاصل گردید و بعلاوه در مطالعه ما نیز مشابه با مطالعات بیان شده، ترکیبات بدست آمده از گیاه کورکومالانگا باعث مهار فعالیت تلومراز می گردند و از این طریق باعث مهار رشد سلول های سرطانی می گردند.

www.SID.ir

۵- نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ارتباط بین میزان فعالیت تلومراز و غلظت عصاره به کار رفته جهت تیمار سلول ها معکوس می باشد. به طوری که با افزایش دوز میزان فعالیت کاهش می یابد. بنابراین می توان پیشنهاد نمود که احتمالا عصاره n- هگزانی کورکوما لانگا همانند کورکومین خالص دارای اثرات ضد تلومرازی است و از این طریق مانع رشد سلول های سرطانی پستان گردیده است. با توجه به پایه گیاهی این ترکیب و این که این ماده را می توان از طریق فاز n- هگزانی از ریزوم گیاه تهیه گردد می تواند جایگزینی برای کورکومین خالص، که تهیه آن به هزینه بسیار بیشتری نیاز دارد، باشد و با انجام مطالعات تکمیلی در آینده می توان از آن جهت طراحی داروهای نوین ضد سرطان پستان بهره جست.

۶- تشکر و قدردانی

هزینه این طرح تحقیقاتی از طرف مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تامین گردیده است. نویسندگان مراتب تشکر را از آزمایشگاه رادیوفارماسی مرکز تحقیقات کاربردی داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در زمان اجرای طرح ابراز می دارند.

Reference

1. Srimal R. C. Turmeric: a brief review of medicinal properties, Fitoterapia, 1997, 68: 483-493.

2. Sreejayan N., Rao MN. Free radical scavenging activity of curcuminoids, Arzneimittelforschung, 1996, 46(2): 169-71.

3. Bonté F., Noel-Hudson MS., Wepierre J., Meybeck A. Protective effect of curcuminoids on epidermal skin cells under free oxygen radical stress, Planta Med., 1997, 63(3): 265-6.

4. Van Erk MJ., Teuling E., Staal YC., Huybers S., Van Bladeren PJ., Aarts JM., et al. Time- and dose-dependent effects of curcumin on gene expression in human colon cancer cells, J Carcinog., 2004, 3(1): 8.

5. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, J Immunol Methods, 1983, 65(1-2): 55-63.

6. Araújo CC., Leon LL. Biological activities of Curcuma longa L, Mem Inst Oswaldo Cruz.,2001, 96(5): 723-8.

7. Goel A., Kunnumakkara AB., Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic, Biochem Pharmacol, 2008, 75(4): 787-809.

8. Simon A., Allais DP., Duroux JL., Basly JP., Durand-Fontanier S., Delage C. Inhibitory effect of curcuminoids on MCF-7 cell proliferation and structure-activity relationships, Cancer Lett., 1998, 129(1): 111-6.

9. Ramachandran C., You W. Differential sensitivity of human mammary epithelial and breast carcinoma cell lines to curcumin, Breast Cancer Res Treat., 1999, 54(3): 269-78.

10. Mukhopadhyay A., Banerjee S., Stafford L J., Xia C., Liu M., Aggarwal B.B. Curcumin-induced suppression of cell proliferation correlates with down-regulation of cyclin D1 expression and CDK4-mediated retinoblastoma protein phosphorylation, Oncogene. 2002, 21(57): 8852-61.

11. Cui SX., Qu XJ., Xie YY., Zhou L., Nakata M., Makuuchi M., et al. Curcumin inhibits telomerase activity in human cancer cell lines, Int J Mol Med., 2006, 18(2): 227-31.

12. Xia Y., Jin L., Zhang B., Xue H., Li Q., Xu Y. The potentiation of curcumin on insulin-like growth factor-1 action in MCF-7 human breast carcinoma cells, Life Sci., 2007, 80(23): 2161-9.

13. Tsao J., Zhao Y., Lukas J., Yang X., Shah A., Press M., et al. Telomerase activity in normal and neoplastic breast, Clin Cancer Res., 1997, 3(4): 627-31.

14. Avilion AA., Piatyszek MA., Gupta J., Shay JW., Bacchetti S., Greider CW. Human telomerase RNA and telomerase activity in immortal cell lines and tumor tissues, Cancer Res., 1996, 56(3): 645-50.

15. Holt SE., Wright WE., Shay JW. Regulation of telomerase activity in immortal cell lines, Mol Cell Biol., 1996, 16(6): 2932-9.

www.SID.ir

16. Mondello C., Scovassi AI. Telomeres, telomerase, and apoptosis, Biochem Cell Biol., 2004, 82(4): 498-507.

17. Zhang Z., Liong EC., Lau TY., Leung KM., Fung PC., Tipoe GL. Induction of apoptosis by hexamethylene bisacetamide is p53-dependent associated with telomerase activity but not with terminal differentiation, Int J Oncol., 2000, 16(5): 887-92.

18. Aggarwal BB., Kumar A., Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies, Anticancer Res., 2003, 23(1A): 363-98.

www.SID.ir