Research Article

Nova Biologica Reperta 9(4): 246-256 (2023)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.9.4.246

مقاله پژوهشی

یافته‌های نوین در علوم زیستی

جلد ۹، شماره ۴، صفحات ۲۴۶ الی ۲۵۶ (۱۴۰۱)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

اثر ضد سرطانی عصاره آرتمیزیا و داروی سیس پلاتین در القای آپوپتوز و مهار تکثیرسلول‌های A2780 سرطان تخمدان انسان

ندا رضازاده[۱]،جواد بهارآرا[۲] و خدیجه نژادشاهرخ‌آبادی[۱]

[۱]گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران؛ [۲]گروه زیست شناسی و مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد،ایران

مسئول مکاتبات: جواد بهارآرا، baharara@mshdiau.ac.ir

چکیده. سیس پلاتین به عنوان یک داروی شیمی درمانی به‌دلیل عوارض جانبی در مراحل پیشرفته بیماری مشکلاتی ایجاد می‌کند. اخیراً گیاه آرتمیزیا بدلیل داشتن ترکیبات فعال زیستی، اثرات ضد تکثیری و ضد التهابی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد سرطانی و آنتی متاستازی گیاه آرتمیزیا و سیس پلاتین به تنهایی و به صورت ترکیبی در رده سلولی A2780 سرطان تخمدان انسان است. زیستایی سلول‌های A2780 پس از تیمار با عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا، سیس پلاتین و توأم آن توسط آزمون MTT ارزیابی شد و تغییرات ریخت‌شناسی هسته سلول با رنگ آمیزی DAPI بررسی شد. القای آپوپتوز توسط آزمون انکسین، اثرات ضد تهاجمی به وسیله سنجش مهاجرت سلولی و تغییرات سطح بیان ژن‌های آپوپتوزی (Bax و P53) و ژن‌های درگیر در متاستاز (MMP2 و MMP9) با استفاده از Real-time PCR مورد سنجش قرار گرفت. داده‌های آزمایش MTT نشان داد که عصاره آرتمیزیا، سیس پلاتین و توأم آن منجر به مرگ نیمی از سلول‌ها شدند. تست DAPI و انکسین V، قطعه قطعه شدن DNA و افزایش درصد آپوپتوز سلولی نسبت به گروه کنترل را نشان داد. در آزمون مهاجرت و Real-time PCR غلظت‌های تیماری منجر به کاهش تهاجم، افزایش بیان ژن‌های آپوپتوزی (Bax و P53) و کاهش بیان ژن‌های درگیر در متاستاز (MMP2 و MMP9) در سلول‌های سرطانی شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره گیاه آرتمیزیا و داروی سیس پلاتین به تنهایی دارای اثر ضد تکثیری، القا کننده آپوپتوز و دارای اثر آنتی متاستازی مناسب در رده سلولی A2780 است. همچنین، استفاده توأم از این گیاه همراه با سیس پلاتین علاوه بر داشتن اثرات مذکور باعث کاهش غلظت سیس پلاتین و عوارض جانبی ناشی از آن در درمان این بیماری می‌شود.

واژه‌های کلیدی. آزمون انکسین ،آزمون مهاجرت، ترکیبات فعال زیستی ،ریخت شناسی هسته سلول ،زیستایی سلول

Anticancer effect of *Artemisia* extract and cisplatin on the induction of apoptosis and inhibition of proliferation in A2780 human ovarian cancer

Neda Rezazadeh[1], Javad Baharara[2] & Khadija Nejad Shahrokhabadi[1]

[1]Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran; [2] Department of Biology and Applied Biology Research Center of Animal Development, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Correspondent author: Javad Baharara, baharara@mshdiau.ac.ir

Abstract. Cisplatin, as a chemotherapy drug, causes serious side effects in the advanced stages of the cancer. Recently, *Artemisia* has been considered for its bioactive compounds, anti-proliferative and anti-inflammatory effects. The aim of this study was to evaluate the anti-cancer and anti-metastatic effects of the methanolic extract of aerial organs of Artemisia and cisplatin, either alone or in combination, in human ovarian cancer cell line A2780. The viability of A2780 cells after treatment with Artemisia extract, cisplatin and their combination was evaluated by MTT assay and the alterations in the morphology of the cell nuclei were examined by DAPI staining. The induction of apoptosis was assessed by Annexin V test, cell migration and changes in expression levels of apoptotic genes (Bax and P53) and metastasis (MMP2 and MMP9) using real-time PCR. MTT test data showed that Artemisia extract, cisplatin and their combination decreased the viability of ovarian cancer cells. DAPI and Annexin V indicated the DNA fragmentation and

Received 08.11.2021/ Revised 23.07.2022/ Accepted 09.08.2022/ Published 20.03.2023

دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۷/ اصلاح: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱/ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۸/ انتشار: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]

increased percentage of cellular apoptosis in comparison with the control group. The migration and real-time PCR data showed a decline in thr cell invasion and expression of genes involved in metastasis (MMP2 and MMP9) in cancer cells while the expression of apoptotic genes (Bax and P53) was increased in the treated groups. The results of this study showed that while both Artemisia extract and cisplatin posses anti-proliferative effect, apoptotic and suitable anti-metastatic effects on their own in A2780 cell line, their combination have synergic effects and posses those desired properties in lower concentration of cisplatin, which can reduce the side effects of cisplatin in cancer treatment.

Key words. Annexin test, Bioactive compounds, Cell biology, Cell nucleus morphology, Immigration test

مقدمه

سرطان تخمدان در بین سرطان‌های زنان چهارمین عامل اصلی مرگ و میر است (Moradi et al., 2016). این بیماری در ایران به عنوان رتبه هشتم در بین سرطان‌های شایع و از نظر کشندگی رتبه دوازدهم و شانزدهم با توجه به نوع سرطان را دارد (Masoompour et al., 2011). عوامل مختلفی در ایجاد این بیماری نقش دارند از جمله: دخانیات، الکل، آلودگی آب و مواد غذایی، چاقی، کاهش فعالیت بدنی، عوامل عفونی و میدان‌های الکترومغناطیس است (Razi et al., 2016). راه‌های درمانی رایج در این بیماری شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی درمانی، درمان ترکیبی و لیزر درمانی است (Mansoori et al., 2017). درمان‌های جراحی و شیمی درمانی می‌تواند منجر به نارسایی تخمدان، یائسگی زودرس و از دست دادن توان باروری شود (Zahedi et al., 2012). سیس پلاتین به عنوان یک داروی موثر در درمان این سرطان است که با ایجاد تداخل در مسیرهای آپوپتوز باعث ایجاد سمیت در سلول‌ها می‌گردد (Motaharinia & Nabiuni, 2022). این دارو در جهت مهار تکثیر و القا آپوپتوز سلول‌های سرطانی کاربرد دارد با این وجود عوارض جانبی جدی پس از تجویز این دارو در بیماران مشاهده شده است، همچنین در سال‌های اخیر محققان درمان‌های ترکیبی را با هدف کاهش عوارض جانبی داروی سیس پلاتین پیشنهاد کردند و پژوهش‌های فراوانی در زمینه به دست آوردن ترکیباتی موثر به منظور افزایش اثر ضد سرطانی سیس پلاتین در غلظت‌های کم انجام شده است (Liu et al., 2019). برای استفاده از ترکیبات طبیعی شناخت بیشتر مکانسیم‌های دخیل در بیماری سرطان لازم است. یکی از مشکلات سرطان، متاستاز است که شامل انتقال سلول‌های توموری اولیه به بافت‌های اطراف و سپس انتقال این سلول‌ها به گردش خون و خارج شدن از دیواره‌های عروقی به بافت‌های پارانشیم دور دست است (et al., Lambert 2017). پژوهش‌هایی در مورد تغییر در ویژگی های بیوفیزیکی سلول‌های سرطانی به خواص بیومکانیکی متاستاتیک این سلول‌ها منجر به پیشرفت‌هایی در زمینه درمان سرطان می‌شود (Wirtz et al., 2011). روش‌های نوین شیمی درمانی که شامل جداسازی و ارزیابی مولکول‌ها با منشأ طبیعی است، به عنوان داروهای شیمی درمانی در معالجه بالینی سرطان کاربرد دارند که بیشتر آن‌ها محصولات طبیعی همانند مشتقات محصول طبیعی و یا آنالوگ های نیمه حساس طبیعی هستند (Gu et al., 2015).

امروزه استفاده از گیاهان دارویی به دلیل اثرات جانبی و هزینه کمتر در مهار فرایند تومورزایی و القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی به عنوان یک راهکار نوین برای مقابله با سرطان است (Kim et al., 2018). در حال حاضر پژوهش‌هایی در مورد اثر گیاهان دارویی در طب سنتی مورد بررسی قرار گرفته است، همچنین از این ترکیبات در درمان بسیاری از بیماری ها شامل: آسم، اگزما، سندرم قبل از قاعدگی، روماتوئید، میگرن، سندرم روده تحریک پذیر و سرطان کاربرد دارد (Schutz et al., 2006). درحال حاضر استفاده از موادی مانند آنتی اکسیدان‌های طبیعی در گیاهان دارویی با توجه به آثار مفید آن‌ها در سلامتی به عنوان مکمل‌های غذایی مورد توجه بسیاری قرارگرفته است (Shali et al., 2018). این مواد بر روی سلول‌های سرطانی اثر سمی دارند و در نابودی سرطان با تأثیر در رادیکال‌ها نقش دارند. البته،کاهش مقدار آنتی اکسیدان منجر به آسیب به سلول‌های بدن می‌شود و به این فرایند آسیب اکسیداتیو می گویند که در پیدایش و پیشروی سرطان نقش دارند (Bhikha, 2016 & Simoloka).

گیاه آرتمیزیا یا درمنه متعلق به یکی تیره کاسنیان (Asteraceae) است. این تیره شامل بیش از ۱۶۰۰ سرده و ۲۳۰۰۰ گونه است و انواع متعددی از این گیاه به عنوان اهداف دارویی از اهمیت اقتصادی و کارایی بالایی برخوردار هستند. البته درگذشته، استفاده از گونه‌های کاسنیان در طب سنتی توسط محققان برای بررسی ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی روغن‌های اساسی موجود در آن‌ها مورد پژوهش قرار گرفته است (Vidic et al., 2016). گیاه آرتمیزیا *Artemisia absinthium* (درمنه) (Firestone & Sundar, 2009) دارای کاربردهای زیادی از جمله داروسازی در برخی از اختلالات زنان و بیماری مالاریا است (Koloren et al., 2019). این گیاه به دلیل ترکیبات فتوشیمیایی و اجزاء منحصر به فرد از جمله

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]

آرتمیسین و مواد آروماتیک یا مشتقات فنل در داروسازی و طب سنتی به عنوان یکی از پرکاربردترین گیاهان دارویی در سراسر جهان مورد تحقیق قرار گرفته است (Abad et al., 2012). گیاهان مذکور دارای مواد مؤثر از قبیل: لیمونن، اوژنول، آلفا و بتاپینن توژون، کاپیلن، کامفور و مقادیر زیادی آرتمیزین است که در تحقیقات متعدد، ترکیبات به دست آمده از این گیاه بر القای آپوپتوز، مهار رگزایی، توقف چرخه سلولی در M/G2، متاستاز و مهار رشد تومور در شرایط بالینی و آزمایشگاهی نقش خود را ایفا می‌کنند (Zare Mongabadi et al., 2018).

با توجه به شیوع قابل ملاحظه سرطان تخمدان و عوارض گسترده حاصل از شیمی درمانی، هدف این مطالعه بررسی اثر ضدسرطانی و آنتی متاستازی عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا همراه با سیس پلاتین بر سلول‌های سرطان تخمدان انسان (رده سلولی A2780) و همچنین تغییرات بیان ژن‌های آپوپتوزی (Bax و P53) و ژن‌های درگیر در متاستاز (MMP2 و MMP9) است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره متانولی گیاه

به منظور استخراج عصاره متانولی، گیاه آرتمیزیا (*Artemisia absinthium*) با کد ۴۵۹۵۲ از هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد (FUMH) تهیه شد. ابتدا اندام‌های هوایی گیاه خشک و پودر شد. سپس به ازای هر یک گرم از پودر گیاه ۱۰ میلی‌لیتر متانول اضافه و به مدت ۷۲ ساعت در محل تاریک و در دمای اتاق قرار داده شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ واتمن صاف و در نهایت عصاره‌گیری توسط دستگاه Rotary Evaporator انجام شد. در نهایت متانول عصاره تبخیر و در تاریکی نگهداری گردید (Mehrbakhsh et al., 2020).

تست MTT

سلول‌های سرطان تخمدان انسان رده سلولیA2780 از انستیتو پاستور ایران تهیه و به منظور کشت رده سلولی از محیط کشت RPMI-1640 (شرکت Bioidea، ایران) حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد آنتی بیوتیک (استرپتومایسین/ پنی‌سیلین) استفاده شد.

تست MTT یک روش رنگ سنجی برای ارزیابی زیستایی سلول‌ها است که براساس تبدیل نمک تترازولیوم زرد رنگ (MTT) در سلول‌های زنده به فورمازان بنفش رنگ است که این تغییر رنگ را می‌توان توسط اسپکتروفتومتری سنجید. جهت انجام این تست ابتدا سلول‌های سرطانی A2780 به تعداد 1×10^4 در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، سلول‌های A2780 با غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و غلظت‌های داروی سیس پلاتین (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۲ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و به صورت ترکیبی از غلظت‌های موثر عصاره آرتیمزیا (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و داروی سیس پلاتین (۰/۵ و ۰/۷۵میکروگرم بر میلی‌لیتر) در طی مدت زمان ۲۴ ساعت تیمار شدند و زیستایی سلول‌ها با روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. به این صورت که ۱۰ میکرولیتر از رنگ MTTبه هر خانه پلیت اضافه گردید و به مدت سه الی چهار ساعت در محیط تاریک انکوبه شدند. سپس۸۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفواکسید (DMSO) به چاهک‌ها افزوده شد و در نهایت جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد. درصد زیست پذیری سلول‌ها با فرمول زیر محاسبه شد (Amini et al., 2019).

۱۰۰ × (میانگین جذب نمونه کنترل/ میانگین جذب نمونه تیمار شده) = درصد سلول‌های زنده

بررسی ریخت‌شناسی هسته‌های سلولی با استفاده از رنگ آمیزی DAPI

رنگ DAPI (۴ و ۶ – دی آمینو – ۲ فنیل ایندول دی هیدروکلراید) به نقاط غنی از آدنین و تیمین در ساختار DNA متصل می‌شود و رنگ فلوئوروسنت از خود ساطع می‌کند، در نتیجه تغییرات ناشی از آپوپتوز از جمله تراکم کروماتین، قطعه قطعه شدن و چروکیده شدن هسته با این روش قابل مشاهده است. جهت انجام این رنگ آمیزی ابتدا سلول‌های A2780 به تعداد 2×10^4 در پلیت‌های ۶ خانه کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت سلول‌ها با غلظت بهینه عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و توام (آرتمیزیا ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر همراه با سیس پلاتین ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. سپس محیط رویی سلول‌ها حذف شد و ۱ میلی‌لیتر متانول جهت تثبیت سلول‌ها افزوده شد و با رنگ DAPI رنگ آمیزی شدند. سرانجام ریخت‌شناسی سلول‌ها به وسیله میکروسکوپ فلورسنت (Olympus,Japan) مورد بررسی قرار گرفتند (Dong et al., 2018).

بررسی درصدآپوپتوز توسط آزمون Annexin V- FITC

به منظور تعیین نوع مرگ سلولی از کیت Annexin V-FITC (شرکت Abcam، انگلیس) استفاده شد .جهت انجام این تست ابتدا رده سلولی A2780 در پلیت ۶ خانه کشت داده شد و سپس با غلظت موثر عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]

(۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و توام (آرتمیزیا ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر همراه با سیس پلاتین ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تیمار شدند. سپس به هر نمونه ۵۰۰ میکرولیتر بافر Binding Buffer ۱X ، ۵ میکرولیتر Annexin V-FITC و ۵ میکرولیتر پروپیدیوم یدید افزوده شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و در محل تاریک انکوبه شدند. در نهایت توسط دستگاه فلوسایتومتری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (Motaharinia & Nabiuni, 2022).

سنجش مهاجرت سلولی

توانایی مهاجرت و تهاجم سلول‌ها با استفاده از تست خراش سنجیده شد. ابتدا سلول‌های A2780 در پلیت ۶ خانه کشت داده شد و بعد از رسیدن سلول‌ها به تراکم مناسب (۸۰ درصد) شکافی توسط نوک پیپت در کف چاهک‌ها ایجاد شد (Amini et al., 2019). سپس سلول‌ها با غلظت‌های عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و توام (آرتمیزیا ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر همراه با سیس پلاتین ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. در نهایت میزان مهاجرت سلولی توسط عکس‌برداری و میزان پر شدن خراش در گروه‌های کنترل و تیماری، در زیر میکروسکوپ معکوس (Olympus, Japan) و توسط نرم افزار Image J مورد بررسی قرار گرفت (Bagheri et al 2018).

بررسی میزان بیان ژن‌های درگیر در آپوپتوز و متاستاز با روش Real Time PCR

تعداد ۱×۱۰^{۶} سلول در فلاسک کوچک کشت داده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، سلول‌ها با غلظت موثر عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و توام (آرتمیزیا ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر همراه با سیس پلاتین ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تیمار شدند. سپس جهت بررسی بیان ژن‌های مورد نظر توسط Real Time -PCR استخراج RNA طبق دستور عمل کیت پارس توس صورت گرفت و جهت ساخت cDNA مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمرها توسط شرکت بن یاخته و تکاپوزیست بترتیب طراحی و سنتز شد و به شرح جدول ۱ مشخص شدند. بیان ژن‌های BAX، p53، MMP 2 و MMP9 در سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780 درگروه‌های شاهد و تیماری با استفاده از دستگاه Bio-Rad Real Time -PCR و رنگ SYBR Green تحت نرم افزار Bio-Rad CFX با روش ΔΔct ارزیابی شد.

آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار GraphPad Prism 8 و آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و تست Tukey استفاده شد و نمودار توسط نرم افزار اکسل ترسیم شد. به منظور مقایسه نسبی زنده مانی میان گروه‌ها، داده‌ها با حداقل سه بار تکرار محاسبه شده‌اند و $p<۰/۰۵$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر غلظت‌های مؤثر عصاره آرتمیزیا، سیس پلاتین و توام بر میزان بقای سلولی

به منظور بررسی زیستایی سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780تحت تاثیر غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر از عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا و شاهد آزمایشگاهی (حلال DMSO) از تست MTT استفاده شد. نتایج بررسی بقا سلولی نشان داد تیمار سلول‌های A2780 با غلظت‌های مختلف عصاره آرتمیزیا به صورت وابسته به غلظت باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطان تخمدان شد که در غلظت ۲۵۰ میکروگرم / میلی‌لیتر باعث مرگ نیمی (IC50) از سلول‌ها شده است. همچنین در غلظت‌های بالاتر عصاره آرتمیزیا دارای سمیت سلولی بیشتر بوده و منجر به مرگ سلولی اکثر سلول‌های سرطان تخمدان شد (شکل۱).

جدول۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکنیک Real-time PCR.

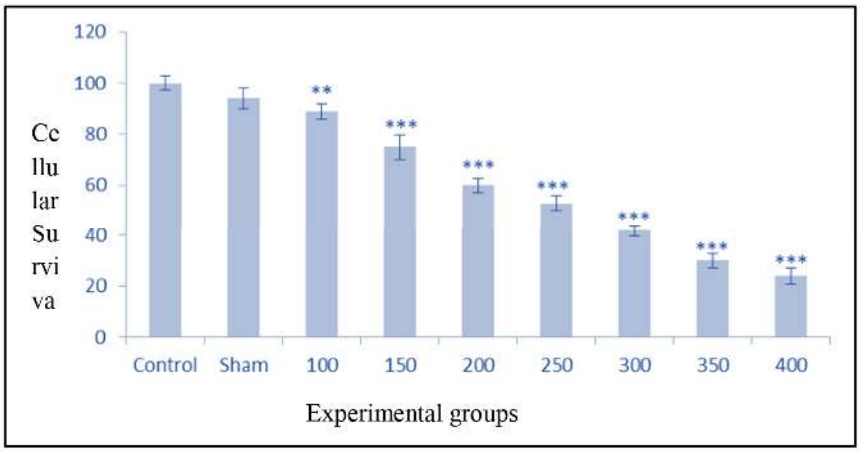
Table 1. Sequence of primers used in Real-time PCR technique.

Gene	Sense	Antisense
GAPDH	TGACTTCAACAGCGACACC	TTGCTGTAGCCAAATTCGTT
BAX	TTTGCTTCAGGGTTTCATCCA	CTCCATGTTACTGTCCAGTTCGT
p53	TTGCCGTCCCAAGCAATGGA	TCTGGGAAGGGACAGAAGATG
MMP 2	CTGATAACCTGGATGCCGTCGT	TGCTTCCAAACTTCACGCTCTT
MMP 9	GCCTGCACCACGGACGGTCGCTCC	GAGGTGCCGGATGCCATTCACGTC

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

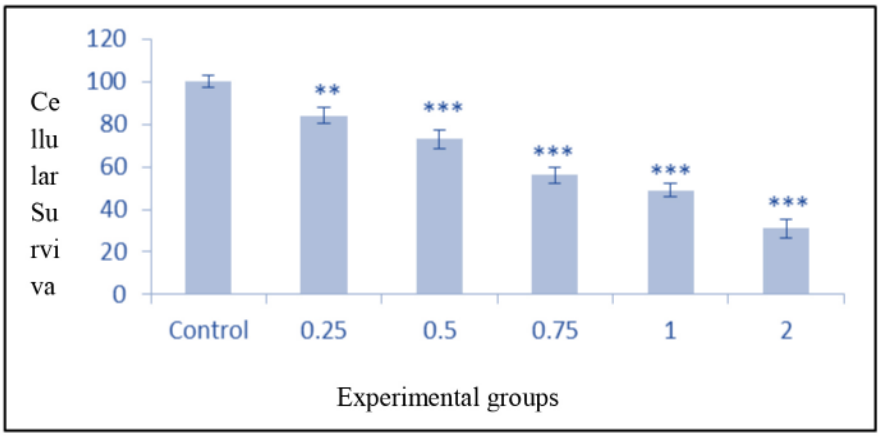
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]

همچنین سلول‌های A2780 را با غلظت‌های مختلف داروی سیس پلاتین (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و۲ میکروگرم / میلی‌لیتر) تیمار شدند. نتایج این بررسی نشان داد، داروی سیس پلاتین در غلظت ۱ میکروگرم / میلی‌لیتر می‌تواند باعث مرگ نیمی (IC50) از سلول‌های A2780 شود (شکل ۲). به منظور کاهش غلظت داروی سیس پلاتین و اثرات جانبی آن، در این پژوهش اثر توام غلظت‌های مختلف عصاره آرتمیزیا و داروی سیس پلاتین بر بقا سلول‌های سرطان تخمدان بررسی شد. در نتیجه سلول‌های A2780 با غلظت ۰/۵ میکروگرم / میلی‌لیتر از داروی سیس پلاتین توام با غلظت‌های مؤثر عصاره آرتمیزیا (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) تیمار شدند. در نهایت، نتایج نشان داد زیستایی نیمی از سلول‌های A2780 در غلظت ۰/۵ میکروگرم / میلی‌لیتر داروی سیس پلاتین همراه با غلظت ۲۰۰ میکروگرم / میلی‌لیتر عصاره آرتمیزیا کاهش یافته است. همچنین نتایج تیمار سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780 با غلظت ۰/۷۵ میکروگرم / میلی‌لیتر از داروی سیس پلاتین همراه با غلظت‌های موثر عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم / میلی‌لیتر) نشان داد غلظت توام ۰/۷۵ میکروگرم / میلی‌لیتر داروی سیس پلاتین و غلظت ۱۵۰ میکروگرم / میلی‌لیتر عصاره آرتمیزیا باعث مرگ نیمی (IC50) از سلول‌ها شده است (شکل ۳).



شکل ۱- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (µg/ml) بر درصد بقا سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780. داده‌ها به صورت میانگین ± SD نمایش داده شده است. مقدار P (**p<۰/۰۱ و ***p<۰/۰۰۱) اختلاف معناداری را در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهد.

Figure 1. Comparison of the effect of different concentrations of Artemisia aerial organ methanolic extract (µg/ml) on survival of human ovarian cancer cells A2780. Data is displayed as ± SD mean. P value (**p <0.01 and ***p <0.001) showed a significant difference compared to the control group.

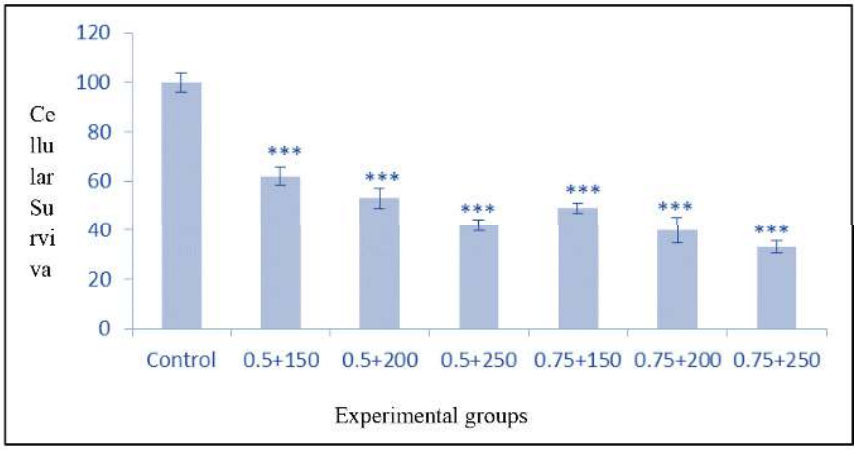


شکل۲- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف داروی سیس پلاتین (µg/ml) بر درصد بقا در سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780. داده‌ها به صورت میانگین ± SD نمایش داده شده است. مقدار P (**p<۰/۰۱ و ***p<۰/۰۰۱) اختلاف معناداری را در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهد.

Figure 2. Comparison of the effect of different concentrations of cisplatin (µg/ml) on survival in human ovarian cancer cells A2780. Data is displayed as ± SD mean. P value (**p <0.01 and ***p <0.001) showed a significant difference compared to the control group.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]



شکل ۳- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا همراه با داروی سیس پلاتین (µg/ml) به صورت توام بر درصد بقا سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780. داده‌ها به صورت میانگین ± SD نمایش داده شده است. مقدار P (***p<۰/۰۰۱) اختلاف معناداری را در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهد.

Figure 3. Comparison of the effect of different concentrations of Artemisia aerial organ methanolic extract with cisplatin (µg/ml) on the percentage of survival in human ovarian cancer cells A2780. Data is displayed as ± SD mean. The value of P (***p <0.001) shows a significant difference compared to the control group.

رنگ آمیزی DAPI

رنگ آمیزی DAPI به منظور بررسی ریخت‌شناسی هسته سلول‌های A2780 تحت تاثیر غلظت‌های موثر عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (۲۵۰میکروگرم / میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱میکروگرم / میلی‌لیتر) و توام (۰/۵ میکروگرم / میلی‌لیتر داروی سیس پلاتین همراه با ۲۰۰ میکروگرم / میلی‌لیتر عصاره آرتمیزیا) انجام شد. نتایج حاصل از رنگ آمیزی DAPI، تغییرات مورفولوژیک هسته همچون فشردگی، چروکیدگی هسته و تشکیل اجسام آپوپتوتیک در سلول‌های سرطان تخمدان تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره آرتمیزیا، داروی سیس پلاتین و توام را در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد (شکل۴).

تست Annexin V- FITC

انکسین v می‌تواند به طور انتخابی به فسفاتیدیل سرین متصل شود و در نتیجه به عنوان مارکری برای تشخیص سلول‌های آپوپتوزی استفاده شود. در این مطالعه سلول‌های سرطان تخمدان با غلظت‌های مهاری (IC50) عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا (۲۵۰میکروگرم/ میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱میکروگرم/ میلی‌لیتر) و توام (۰/۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر داروی سیس پلاتین همراه با ۲۰۰ میکروگرم / میلی‌لیتر عصاره آرتمیزیا) تیمارشدند. نتایج به صورت منحنی‌های دارای چهار ناحیه (سلول‌های سالم، آپوپتوز اولیه، آپوپتوز ثانویه، نکروز) مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به منحنی‌های حاصل از تست انکسین، مشاهده شد که در غلظت‌های تیماری، درصد آپوپتوز سلولی نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است (شکل ۵).

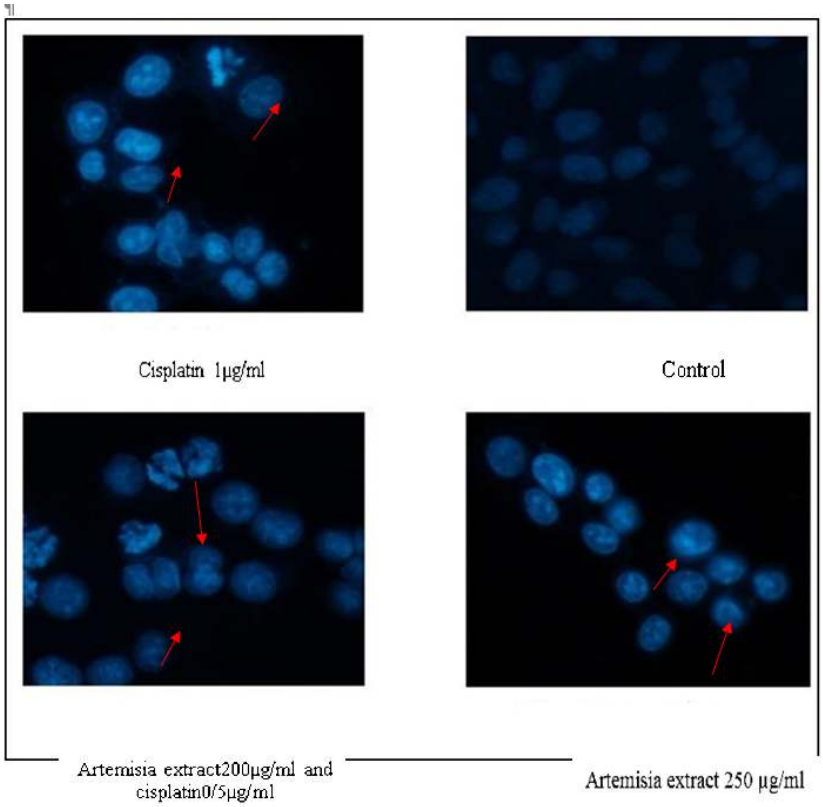
سنجش مهاجرت سلولی

به منظور بررسی اثر ضد متاستازی، سلول‌های سرطان تخمدان انسان توسط غلظت‌های مؤثر عصاره آرتمیزیا، سیس پلاتین و توام تیمار شدند. نتایج این بررسی نشان داد در گروه کنترل سلول‌های A2780 ناحیه خراش را پرکرده که این نشان دهنده مهاجرت و تهاجم این سلول‌ها است. درحالی که(۲۵۰میکروگرم/میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱ گروه‌های تیماری با عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا میکروگرم/میلی‌لیتر) و توام (۰/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر داروی سیس پلاتین همراه با ۲۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر عصاره آرتمیزیا) باعث کاهش مهاجرت و میزان تهاجم سلول‌های سرطان تخمدان شد (شکل۶).

بررسی بیان ژن توسط آزمون Real-Time PCR

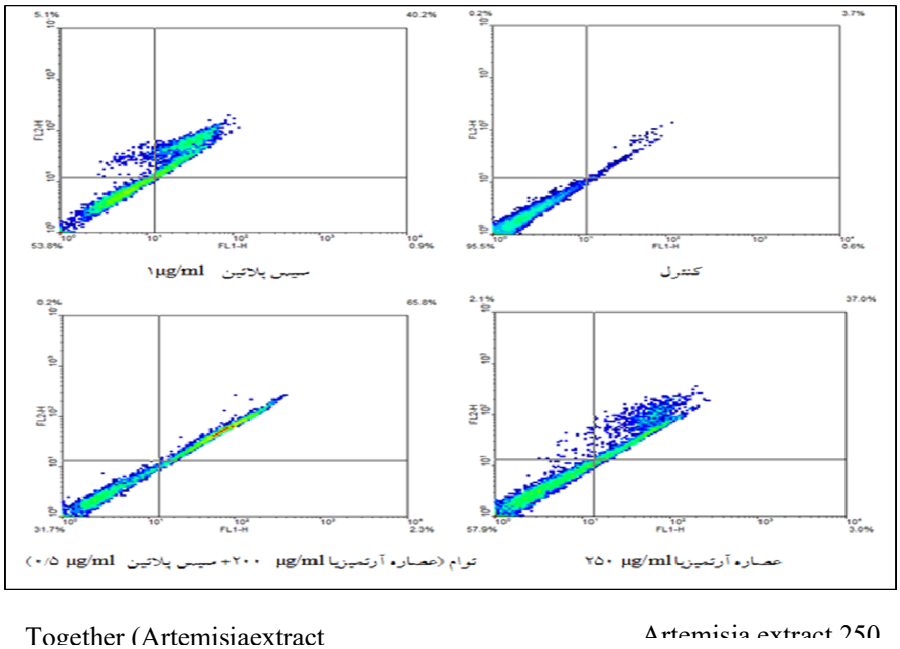
در این پژوهش بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز و متاستاز شامل BAX، p53، MMP2 و MMP9 در سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780 با استفاده از روش Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد بیان ژن‌های آپوپتوزی در سلول‌های سرطان تخمدان پس از تیمار با غلظت‌های مهاری (IC50) عصاره آرتمیزیا (۲۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر)، داروی سیس پلاتین (۱ میکروگرم / میلی‌لیتر) و توام (۰/۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر داروی سیس پلاتین همراه با ۲۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر عصاره آرتمیزیا) افزایش یافت. همچنین در این گروه‌های تیماری بیان ژن‌های MMP2 و MMP9 در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (شکل۷).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]



شکل ۴- رنگ آمیزی DAPI نشان دهنده تغییرات در هسته سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780 در گروه‌های کنترل و تیماری (بزرگنمایی X400) پیکان قرمز قطعه قطعه شدن هسته را نشان می‌دهد.

Figure 4. DAPI staining showing changes in the nucleus of human A2780 ovarian cancer cells in control and treatment groups (X400 magnification). The red arrow indicates the fragmentation of the nucleus.



شکل ۵ -نتایج بررسی آپوپتوز در سلول‌های سرطان تخمدان انسان A2780 در گروه‌های کنترل و تیماری براساس آزمون Annexin V- FITC.

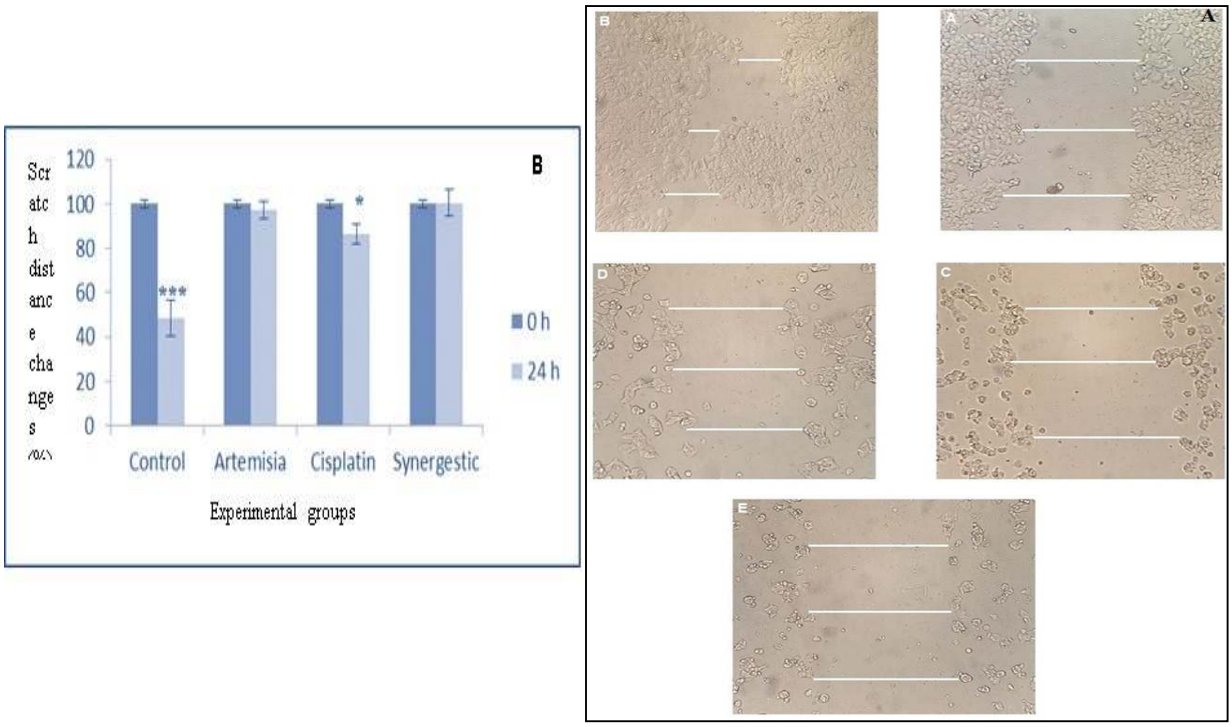
Figure 5. Results of apoptosis in human ovarian cancer cells A2780 in control and treatment groups based on Annexin V-FITC test.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]

بحث

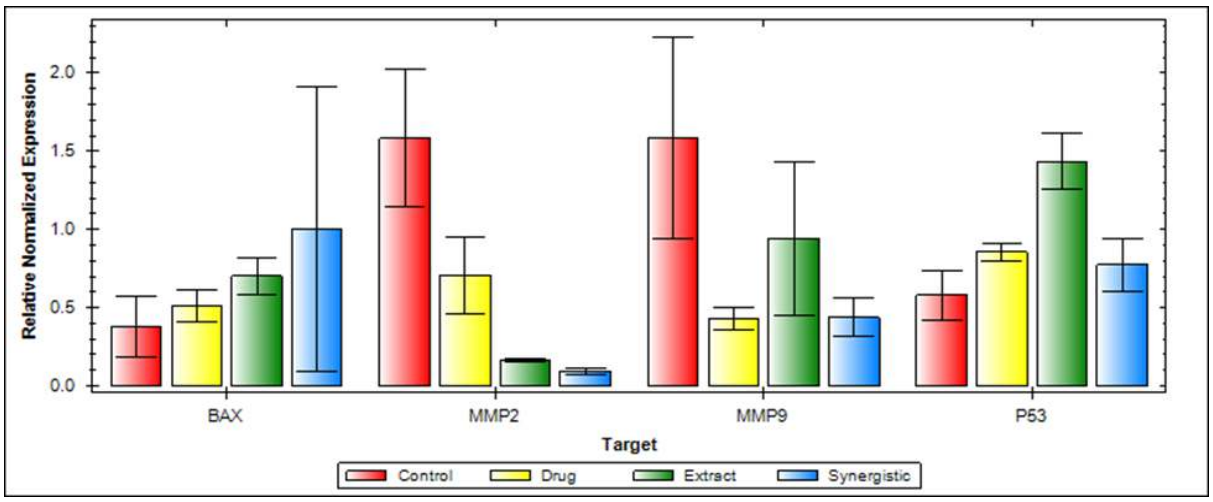
سرطان تخمدان، یکی از بیماری‌های بسیار کشنده است که برای سلامت و ایمنی زنان در جهان به عنوان یک خطر جدی شناخته شده است که به علت پیش آگهی ضعیف آن در اکثر افراد، بیماری در مراحل آخر تشخیص داده می‌شود (Hua et al., 2016). اگر چه استفاده از روش‌های جراحی و شیمی درمانی منجر به پیشرفت در جنبه‌های بالینی و پزشکی شده است اما در اغلب افرادی که از شیمی درمانی استفاده کردند عود بیماری مشاهده شده است که نشان دهنده مقاومت این بیماری در برابر شیمی درمانی است(Liu et al; 2016). امروزه استفاده از ترکیبات جایگزین داروهای شیمیایی،مانند گیاهان و فراورده‌های طبیعی که دارای اثرات ضد سرطانی همراه با سمیت کمتر و میزان اثرگذاری بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، به همین علت گیاه دارویی آرتمیزیا که دارای ترکیبات فعال زیستی همچون آرتمیزین است که به دلیل داشتن خواص ضد سرطانی و ضد آپوپتوزی قادر است به عنوان مطلوب ترین روش برای درمان سرطان استفاده شود (Zare Mongabadi et al., 2018). مطالعات اخیر نشان می‌دهد، در حالی که گیاه آرتمیزیا دارای اثرات ضد تکثیری و مهاری در رده‌های سلولی سرطانی مختلف است، در سلول‌های طبیعی دارای سمیت سلولی کمتری است (Taleghani et al., 2019). همچنین مشخص شده است که این گیاهان و ترکیبات طبیعی در رده‌های سلولی مختلف و در شرایط متفاوت آزمایشگاهی دارای سمیت سلولی و اثرات ضد سرطانی متفاوتی هستند (Zyad et al., 2017). در نتیجه با توجه به شیوع گسترده سرطان تخمدان در ایران و جهان، در این مطالعه از رده سلولی A2780 سرطان تخمدان انسان استفاده شد.



شکل ۶- مهاجرت سلولی. الف) اثر غلظت‌های عصاره متانولی اندام‌های هوایی آرتمیزیا، سیس پلاتین و توام آن بر مهاجرت سلول‌های سرطان تخمدان انسان (A2780). A) سلول‌های A2780 در زمان ایجاد خراش (ساعت صفر). B) گروه کنترل پس از گذشت ۲۴ ساعت. C) تیمار سلول‌ها با عصاره آرتمیزیا (۲۵۰میکروگرم / میلی‌لیتر) D) تیمار سلول‌ها با داروی سیس پلاتین (۱میکروگرم/ میلی‌لیتر) E) تیمار توام سلول‌ها (۰/۵ میکروگرم / میلی‌لیتر داروی سیس پلاتین همراه با ۲۰۰ میکروگرم / میلی‌لیتر عصاره آرتمیزیا). ب) نمودار بررسی تغییرات فاصله خراش در گروه‌های تجربی. داده‌ها به صورت میانگین ± SD نمایش داده شده است. مقدار P (*p<۰/۰۵ و ***p<۰/۰۰۱) اختلاف معناداری را در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهد.

Figure 6. Cell migration. Effect of Artemisia aerial organ methanolic extract, cisplatin extract and its synergistic effect on human ovarian cancer cell migration (A2780). A) A2780 cells at the time of scratching. B) Control group after 24 hours. C) Treatment of cells with Artemisia extract (250 µg / ml) D) Treatment of cells with cisplatin (1µg / ml). E) Synergistic treatment of cells (0.5 µg / ml cisplatin with 200 µg / ml Artemisia extract). Diagram of scratch distance alterations in experimental groups. Data is displayed as ± SD mean. P value (*p <0.05 and ***p <0.001) showed a significant difference compared to the control group.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]



شکل ۷- تغییرات سطح بیان ژن‌های BAX، p53، MMP2 و MMP9 در سلول‌های سرطان تخمدان توسط Real-Time PCR.

Figure 7. Changes in expression levels of BAX, p53, MMP2 and MMP9 genes in ovarian cancer cells by Real-Time PCR.

در مطالعه‌ای که توسط برخی محققین در سال ۲۰۱۵ انجام گردید، اثر عصاره اتانولی ریشه گیاه *Bupleurum chinense* روی رده سلولیHO- 8910 سرطان تخمدان مورد بررسی قرار گرفت و یافته‌های آن‌ها نشان داد که استفاده این گیاه تأثیر قابل توجهی در نابودی سلول‌های سرطانی دارند (Gu et al., 2015)، که با نتایج تحقیق حاضر هم راستا است. بدین صورت که اثر عصاره متانولی اندام‌های هوایی گیاه آرتمیزیا بر روی سرطان تخمدان رده سلولی A2780 بررسی شد.

با سنجش مهاجرت سلولی مشخص شدکه عصاره الکلی گیاه آرتمیزیا بر روی رده سلولی A2780 مؤثر است و باعث کاهش تهاجم این سلول‌ها گردید که این اثر ضد سرطانی گیاه را اثبات می نماید. علاوه بر این کاربرد توام عصاره آرتمیزیا و سیس پلاتین منجر به کاهش مقدار داروی شیمی درمانی مورد استفاده شد و اثر ضد تکثیری و آپوپتوزی آن برروی سلول‌های سرطان تخمدان مشاهده گردید، بدین صورت که آزمون MTT کاهش زیستایی سلول‌های A2780 را نشان داد. همچنین رنگ آمیزی DAPI، آزمون انکسین و بررسی بیان ژن‌های BAX و p53 نشان دهنده افزایش آپوپتوز در سلول‌های تیمار شده با عصاره آرتمیزیا همراه با سیس پلاتین است، علاوه بر این با بررسی سنجش مهاجرت سلولی مشخص شد که عصاره الکلی گیاه آرتمیزیا بر روی رده سلولی A2780 مؤثر است و باعث کاهش تهاجم این سلول‌ها گردیدکه این اثر ضدتکثیری گیاه بر علیه سلول‌های سرطانی اثبات می‌نماید. محققین در سال ۲۰۱۵ در طی پژوهشی اثرات ضد سرطانی مشتقات آرتمیسینین بر روی سرطان تخمدان را بیان کردند که این مواد منجر به استرس اکسیداتیو، شکستگی DNA دو رشته‌ای و کاهش پروتئین ترمیم ترکیبی همولوگ RAD51 می‌شود، همچنین منجر به حساسیت سلول‌های سرطانی تخمدان به سیس پلاتین می‌شود (Wang et al., 2015). نتایج تحقیق ما نیز هم راستا با این مطالعات نشان داد که کاربرد توام گیاه آرتمیزیا و سیس پلاتین باعث افزایش حساسیت سلول‌های سرطان تخمدان به سیس پلاتین و کاهش غلظت این دارو شد، همچنین رنگ‌آمیزی DAPI نشان داد که DNA سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های مهاری (IC50) عصاره آرتمیزیا (۲۵۰میکروگرم/ میلی‌لیتر) دچار آپوپتوز شده و به صورت قطعه قطعه است. طی تحقیقی در سال ۲۰۱۳ مشخص شد تمام قسمت‌های گیاه آرتمیزیا سیبری که در دو منطقه جغرافیایی اصفهان و خراسان رویش یافته باعث ایجاد مرگ سلولی در رده سرطان سینه MCF7 شده است (Gordanian et al., 2013). در مطالعه حاضر نیز عصاره قسمت‌های هوایی گیاه آرتمیزیا رویش یافته در منطقه خراسان بر سلول‌های سرطان تخمدان A2780 بررسی شد. نتایج تست انکسین در مطالعات ما نشان دهنده افزایش آپوپتوز درسلول‌های A2780 پس از تیمار با عصاره آرتمیزیا است. افزایش سطح بیان ژن‌های BAX و p53 نیز تاییدکننده افزایش آپوپتوز و فعال شدن مسیر میتوکندریایی در سلول‌های سرطان تخمدان است. در نتیجه با توجه به تغییرات سطح بیان این ژن‌ها و سایر مطالعات انجام شده بر گونه‌های مختلف گیاه آرتمیزیا می‌توان مکانسیم احتمالی القای مسیر میتوکندریایی از طریق تنظیم پروتئین‌های پروآپوپتوزی را پیشنهاد داد (Kim et al., 2017). در مطالعه‌ای دیگر اثر سمیت عصاره متانولی شش گونه آرتمیزیای ترکیه‌ای به نام های

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]

Artemisia vulgaris - *Artemisia absinthiumArtemisia*) *santonicum arborescens* – *Artemisia campestris* - *Artemisia scoparia* -) در چند رده سلولی شامل رده سلولی سرطان ریه A549، سرطان سینه MCF7، سرطان رحم HeLa را نشان داد (Zare Mongabadi et al., 2018). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان دهنده اثر سیتوتوکسیک عصاره آرتمیزیا گونه *Artemisia absinthium* بر سلول‌های سرطان تخمدان انسان است که تست MTT کاهش زیستایی سلول و مهار تکثیر سلول‌های سرطان تخمدان را با افزایش غلظت عصاره آرتمیزیا تاییدکرد. همچنین کاربرد توأم عصاره آرتمیزیا و داروی سیس پلاتین افزایش آپوپتوز و کاهش زیستایی در سلول‌های سرطان تخمدان را با غلظت کمتر از داروی سیس پلاتین را نشان داد.

نتیجه گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که کاربرد توأم عصاره آرتمیزیا به همراه داروی سیس پلاتین دارای اثر ضد تکثیری و القا کننده آپوپتوز در سلول‌های سرطان تخمدان انسان رده سلولی A2780است. عصاره آرتمیزیا همراه با سیس پلاتین باعث افزایش آپوپتوز و قطعه قطعه شدن DNA در سلول‌های سرطان تخمدان شد، همچنین کاهش مهاجرت و تهاجم سلول‌ها پس از تیمار نشان دهنده اثر ضد متاستازی آن است. با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمی درمانی و توجه بیشتر محققین به استفاده روزافزون از فراورده‌های طبیعی، عصاره آرتمیزیا می‌تواند گزینه مناسبی برای کاهش غلظت و عوارض جانبی داروی سیس پلاتین باشد، بنابراین می‌توان بیان کرد که هم‌افزایی عصاره گیاه آرتمیزیا با سیس پلاتین می‌تواند به عنوان گزینه‌ای مناسب برای مطالعات بیشتر بر روی سرطان تخمدان مورد استفاده قرار گیرد، البته ذکر این نکته حائز اهمیت است که برای تجاری سازی این گونه فراورده‌ها نیاز به تحقیقات بیشتر بر روی مدل‌های جانوری و بالینی است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی همکاران و دوستان در پژوهشکده خوارزمی و گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد کمال تشکر و قدر دانی را دارم. ضمنا نویسندگان در تحقیق، پژوهش و نگارش مقاله هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

REFERENCES

Abad, M.J., Bedoya, L.M., Apaza, L. & Bermejo, P. 2012. The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. Molecules 17: 2542-2566.

Amini, E., Nabiuni, M., Baharara, J., Behzad, SB., Seyfi, D. & Salek, F. 2019. Investigating the anticancer effect of *Lippia citriodora* leaf alcoholic extract: in suppression of A2780 ovarian cancer cell metastasis via restoration of E-cadherin expression. Journal of Cell & Tissue 10: 24-34. (In Persian).

Bagheri, M., Fazli, M. & Ahmadiankia, N. 2018. Study the effect of sulforaphane on the expression of CXCR4 and snail in breast cancer cells. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 13: 8-13. (In Persian).

Dong, X., Ni, B., Fu, J., Yin, X., You, L., Leng, X. & Ni, J. 2018. Emodin induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepaRG cells via the mitochondrial caspase-dependent pathway. Oncology Reports 40: 1985-1993.

Gordanian, B., Behbahani, M., Carapetian, J. & Fazilati, M. 2013. Evaluation of cytotoxicity of sagebrush plain extract on human breast cancer MCF7 cells. Armaghane Danesh-Yasuj University of Medical Sciences Journal 3: 241-251. (In Persian).

Gu, L.Y., Chen, Z., Zhao, J., Ruan, X.J., Zhao, S.Y. & Gao, Hui. 2015. Antioxidant, anticancer and apoptotic effects of the *Bupleurum chinense* root extract in HO-8910 ovarian cancer cells. Journal of the Balkan Union of Oncology 20: 1341-1349.

Hua, X., Yu, L., You, R., Yang, Y., Liao, J., Chen, D. & Yu, L. 2016. Association among dietary flavonoids, flavonoid subclasses and ovarian cancer risk: a meta-analysis. PLOS ONE 11: 1-15.

Kim, E.J., Kim, GT., Kim, B.M., Lim, E.G., Kim, S.Y. & Kim, Y.M. 2017. Apoptosis-induced effects of extract from *Artemisia annua* Linné by modulating PTEN/p53/PDK1/Akt/ signal pathways through PTEN/p53-independent manner in HCT116 colon cancer cells. BMC Complementary Medicine and Therapies 28: 1-12

Kim, J., Jung, K.H., Yan, H.H., Cheon, M.J., Kang, S., Jin, X., Park, S., Oh, M.S. & Hong, S.S. 2018. *Artemisia capillaris* leaves inhibit cell proliferation and induce apoptosis in hepatocellular carcinoma. BMC Complementary and Alternative Medicine 18: 1-10.

Koloren, O., Koloren, Z., Atli Sekeroglu, Z., Colayvaz, M. & Karanis, P. 2019. Amoebicidal and amoebistatic effects of *Artemisia argyi* methanolic extracts on *Acanthamoeba castellanii* trophozoites and cysts. Acta Parasitologica 64: 63-70.

Lambert, W.A., Pattabiraman, R.D. & Winberg, A.R. 2017. Emerging biological principles of metastasis. Cell 168: 670-691.

Liu, L., Fan, J., Ai, G., Liu, J., Luo, N., Li, C. & Cheng, Z.h. 2019. Berberine in combination with cisplatin induces necroptosis and apoptosis in ovarian cancer cells. Biological Research 52:1-14.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]

Liu, X., Gao, Y., Shen, J., Yang, W., Choy, E., Mankin, H., J. Hornicek, F. & Duan, Z.H. 2016. Cyclin-dependent kinase 11 (CDK11) is required for ovarian cancer cell growth in vitro and in vivo, and its inhibition causes apoptosis and sensitizes cells to paclitaxel. Molecular Cancer Therapeutics 15: 1691-1702.

Mansoori, B., Mohammadi, A., Davudian, S., Shirjang, S. & Baradaran, B. 2017. The different mechanisms of cancer drug resistance: a brief review. Advanced Pharmaceutical Bulletin 7: 339-348.

Masoompour, S.M., Yarmohammadi, H., Rezaianzadeh, A. & Lankarani, K.B. 2011. Cancer incidence in southern Iran, 1998-2002: results of population-based cancer registry. Cancer Epidemiol 35: 42-47.

Mehrbakhsh, A., Baharara, J., Zafar Balanejad, S. & Kerachian, M.A. 2020. Effect of cannabis sativa extract on induced damage to electromagnetic fields on ovarian follicle maturation and hormonal surface changes in mice. Nova Bioloica Reperta 7: 267-277. (In Persian).

Moradi, Y., Jafari, M., Chaichian, S.H., Khateri, S., Akbarian, A.R., Moazzami, B., Mansori, K., Mahmodi, Y. & Samie, S. 2016. Trends in ovarian cancer incidence in Iran. Iranian Journal of Cancer Prevention 9: 1-5.

Motaharinia, M. & Nabiuni, M. 2022. Study of cisplatin effects in comparison with curcumin on Cdc42 gene expression in human Calu-6 lung carcinoma cell line. Nova Bioloica Reperta 8: 253-264. (In Persian).

Razi, S., Ghoncheh, M., Mohammadian-Hafshejani, A., Aziznejhad, H., Mohammadian, M. & Salehiniya, H. 2016. The incidence and mortality of ovarian cancer and their relationship with the human development index in Asia. Ecancermdical Science 10: 1-11.

Schutz, K., Carle, R. & Schieber, A. 2006. *Taraxacum*—a review on its phytochemical and pharmacological profile. Journal of Ethnopharmacology 107: 313-323.

Shali, R., Neamati, A. & Ardalan, P. 2018. Investigating the cytotoxic effect and antioxidant properties of green synthesized silver nanoparticles from the root of *Persicaria bistorta* on human liver cancer cell line (Hep G2). Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 26: 133-142.

Simoloka, A. & Bhikha, P.R. 2016. Four foods that fight cancer. Ascience of Medicine the Artofcare 2: 1-12.

Taleghani, A., Emami, SA. & Tayarani-Najaran, Z. 2019. Artemisia promising plant for the treatment of cancer. Bioorganic & Medicinal Chemistry 28: 1-22.

Vidic, D., Cavar Zeljkovic, S., Dizdar, M. & Maksimovic, M. 2016. Essential oil composition and antioxidant activity of four Asteraceae species from Bosnia. Journal of Essential Oil Research 28: 1-13.

Wang, B., Hou, D., Liu, Q., Wu, T., Guo, H., Zhang, X. & Zou, Y. 2015. Artesunate sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin by downregulating RAD51. Cancer Biology & Therapy 16: 1548-1556.

Wirtz, D., Konstantopoulos, K. & Searson, P.C. 2011. The physics of cancer: the role of physical interactions and mechanical forces in metastasis. Nature Reviews Cancer 11: 512-522.

Zahedi, P., Aminimoghaddam, S., Sayahpour, F.A., Haghpanah, V., Amiri, P. & Fereidoni, F. 2012. Association of surviving gene polymorphism with endometrial cancer. International Journal Gynecol Cancer 22: 35-37.

Zare Mongabadi, M., Farhadi, M., Torabzadeh Khorasani, P. & Hedayati, M.H. 2018. Comparison of the apoptotic effects of Iranian Artemisia (*Artemisia scoparia* and *A. sieberi*) with Taxol on SK _BR3 breast cancer cell line. Razi Journal of Medical Sciences 25: 70-80.

Zyad, A., Tilaoui, M., Jaafari, A. & Oukerrou, M.A. 2017. More insights into the pharmacological effects of artemisinin. Phytotherapy Research 2017: 1-14.

*****

How to cite this article:

Rezazadeh, N., Baharara, J., Shahrokhabadi, M.H. & Mostafavi, Kh. 2023. Anticancer effect of *Artemisia* extract and cisplatin on induction of apoptosis and inhibition of proliferation in A2780 human ovarian cancer. Nova Biologica Reperta 9: 246-256. (In Persian).

رضازاده، ن.، بهارآرا، ج. و نژادشاهرخ‌آبادی، خ. ۱۴۰۱. اثر ضد سرطانی عصاره آرتمیزیا و داروی سیس پلاتین در القای آپوپتوز و مهار تکثیرسلول‌های A2780 سرطان تخمدان انسان. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۹: ۲۵۶-۲۴۶.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.4.1.3]