مقاله پژوهشی

اثر عصاره گیاه درمنه ترکمنی (*Artemisia turcomanica*) بر بیان ژن‌های bax و bcl2 رده سلولی سرطان دهانه رحم (*Hela*)

فرناز اسلامیان[1]، زهرا کشتمند (نویسنده مسئول)[2*] و اردشیر حسام‌پور[3]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران،farnaz.esl@yahoo.com

۲*- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران،zkeshtmand2001@gmail.com

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، a.hesampour@gmail.com

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۱

The effect of *Artemisia turcomanica* plant extract on the expression of bax and bcl2 genes in cervical cancer cell line (Hela)

Farnaz Eslamian[1], Zahra Keshtmand (Corresponding author)*[2] and Ardeshir Hesampour[3]

1- M.Sc Student, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, farnaz.esl@yahoo.com

2*- Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, zkeshtmand2001@gmail.com

3- Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, a.hesampour@gmail.com

Received: October 2022 Accepted: December 2022

چکیده

اصلی‌ترین عامل مرگ و میر در جوامع انسانی سرطان است و گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن ترکیبات موثر می‌توانند نقش مهمی در درمان سرطان ایفا کنند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضدسرطانی عصاره گیاه درمنه ترکمنی (*Artemisia turcomanica*) بر زنده مانی رده سلولی سرطان دهانه رحم (Hela) و اثر آن بر بیان ژن‌های bcl2 و Bax می‌باشد. در این مطالعه تجربی، ابتدا عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه ترکمنی تهیه وسلول‌های سرطانی Hela در محیط کشت RPMI1640 حاوی سرم جنین گاوی و پنی سیلین/ استرپتومایسین کشت و با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی درمنه ترکمنی(۵۰۰،۲۵۰، ۱۲۵،۶۲/۵ و۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸و ۷۲ ساعت تیمار شدند. اثر ضد سرطانی عصاره به روش MTT بررسی و درنهایت در غلظت ۵۰ درصد کشندگی بیان ژن‌های Bax, Bcl2 با روش Real-Time PCR ارزیابی شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS، آنالیز واریانس یک طرفه، تست توکی و p کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شد. این پژوهش نشان داد اثر ضد سرطانی عصاره بر سلول‌ها با افزایش غلظت و زمان نسبت به نمونه‌های کنترل افزایش معنی‌داری داشته، همچنین نتایج Real-Time PCR نشان داد که بیان ژن‌های Bax و Bcl2 در زمان‌های ۴۸ و۷۲ ساعت به‌طورمعنی‌داری نسبت به نمونه کنترل تغییر یافت. نتایج نشان داد که عصاره گیاه درمنه ترکمنی یک ترکیب ضدسرطانی مؤثر بر سلول‌های سرطانی دهانه رحم می‌باشد و احتمالا با بررسی‌های بیشتر و شناسایی ترکیبات مؤثر موجود در عصاره گیاه، بتوان گامی در جهت یافتن و طراحی داروهای جدید و مؤثر در درمان سرطان برداشت.

کلمات کلیدی: آپوپتوز، درمنه ترکمنی، زنده‌مانی، رده سلولی دهانه رحم (Hela)

Abstract

The main cause of death in human societies is cancer, and medicinal plants can play an important role in cancer treatment due to their effective compounds. The purpose of this study is to investigate the anticancer effects of *Artemisia turcomanica* extract on the viability of cervical cancer cell line (Hela) and its effect on bcl2 and Bax gene expression. In this experimental study, first, the hydroalcoholic extract of the *Artemisia turcomanica* was prepared and Hela cancer cells were cultured in RPMI1640 culture medium containing fetal bovine serum and penicillin/streptomycin and treated with different concentrations of the hydroalcoholic extract of the *Artemisia turcomanica* (500,250,125,62.25 and31.125 µg /ml) for 24, 48, and 72 hours. The anticancer effect of the extract was evaluated by MTT method and finally, at 50% lethal concentration, the expression of Bax, Bcl2 genes was evaluated by Real-Time PCR method. Data were analyzed with SPSS software, one-way variance, Tukey test and p less than 0.05. This research showed that the anti-cancer effect of the extract on the cells increased significantly with increasing concentration and time compared to the control samples, also, Real-Time PCR results showed that the expression of Bax and Bcl2 genes changed significantly compared to the control sample at 48 and 72 hours. The results showed that the *Artemisia turcomanica* extract is an effective anti-cancer compound on cervical cancer cells, and probably with further investigation and identification of the effective compounds in the extract, a step can be taken in the direction of finding and designing new and effective drugs in the treatment of cancer.

Keywords: Apoptosis, *Artemisia turcomanica*, Cervical cell line (Hela), Viability cell

مقدمه و کلیات

سرطان یکی از مشکلات عمده سلامت و علت اصلی مرگ در جهان است. اخیرا، دانشمندان با تلاش‌های فراوان در زمینه سرطان توانسته‌اند برخی از بیماری‌های بدخیم را به مرحله درمان برسانند (Abdalan *et al*., 2018). از آنجا که روش‌های درمانی مختلفی مورد استفاده در زمینه سرطان با محدودیت‌ها و عوارضی همراه می‌باشند از این رو دستیابی و استراتژی درمان‌های اخیر نیاز به تحقیقات بیشتر در محصولات طبیعی داشته که سبب تولید داروهای موثری در درمان سرطان گردیده است (Mousavi *et al*., 2018).روش‌های درمانی به کار گرفته شده برای درمان انواع سرطان‌ها از جمله رحم شامل ترکیبی از شیمی درمانی، پرتو درمانی و جراحی بوده که در اکثر موارد پیچیده، گران و دارای عوارض جانبی است (Momeni Movahed *et al*., 2017). بنابراین، یکی از راهکارهای جدید برای مقابله با سرطان به کارگیری ترکیبات طبیعی همچون گیاهان دارویی به منظور مهار فرآیند تومورزایی و القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی است که دارای اثرات جانبی و هزینه کمتری می‌باشند (Abdalan *et al*., 2018). داروهای گیاهی از زمان‌های قدیم برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها مورد استفاده قرارگرفته و نقشی کلیدی در بهداشت جهانی ایفا کرده‌اند. یکی از این گیاهان آرتمیزیا گیاهی از شاخه *plantae*راسته *Asteraceae* تحت خانواده‌ی *Asteroideae*و جنس *Artemisia* است که در فارسی به آن *درمنه* گفته می‌شود (Trifan *et al*., 2022). گزارشات حاکی از آن است که این گیاه دارای فعالیت‌های آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدباکتریایی و آنتی‌دیابتیک می‌باشد (Hussain *et al*., 2017). در مقالات مختلف مشخص شده است که آرتیمیسین موجود در این گیاه خواص ضد باکتریایی، ضد قارچ، ضد لیشمانیا، آنتی اکسیدان، ضد تومور و ضد التهابی داشته و به اثر ضدکارسینوژیک کمک می کنند که سبب مهار تکثیر سلولی در شرایط آزمایشگاهی می‌شوند(Hussain, 2020) . همچنین در طب سنتی، از این گیاه در درمان بیماری‌های مختلف انگلی، باکتریایی، قارچی، التهابی و توموری نقش دارد و قادر به القای آپوپتوزیس و فعالیت ضدتکثیری و آنتی‌اکسیدانتی نیز می‌باشد (Isani *et al*., 2019). آرتمیزیا دارای گونه‌های متعددی است به طوری که از میان ۲۰۰۰ گونه آرتمیزیا، ۳۴ گونه در ایران وجود دارد که درمنه ترکمن(*Artemisia turcomanica*) یکی از گونه‌های بومی ایران بوده و دارای محتوای بالایی فلاونوئید، ترپنوئید و همچنین دارای ماده شیمیایی به نام تانن است که در درمان سرطان‌ها نقش بسزایی دارند(Fathi *et al*., 2020). نتایج حاصل از پژوهش‌های مختلف نشان داده فرآیند ایجاد بسیاری از سرطان‌ها به وسیله اختلال در چندین مسیر سیگنالینگ رخ می‌دهد که سبب تکثیر، مهار آپوپتوز و کاهش متاستاز می‌شود (Lotfi *et al*., 2021). القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول(آپوپتوز) یکی از رویکردهای جذاب در درمان سرطان به شمار می‌رود. بنابراین بیشتر مطالعات سال‌های اخیر در جهت یافتن داروهای ضدسرطانی می‌باشد که بتواند آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی القا کند.

در طی مسیر آپوپتوز سلول‌ها، تخریب غشای هسته و سیتوپلاسم منجر به قطعه قطعه شدن سلول شده که سریعاً توسط فاگوسیت‌ها بلعیده می‌شوند (Tayarani-Najaran *et al.*, 2010). با توجه به مطالعات، مشخص شده است که تاکنون مطالعه‌ای روی اثرات سمی عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه ترکمنی بر رده سلولی سرطانی Hela صورت نگرفته، همچنین، تاکنون ارزیابی بیان ژن‌های آنتی‌آپوپتوتیک Bcl2 و آپوپتوتیک Bax در سلول‌های سرطانی تیمار شده توسط این عصاره انجام نشده است. از این‌رو، در این مطالعه میزان سمیت عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه ترکمنی و تغییرات بیان دو ژن Bax و Bcl-2 در رده سلولی سرطانی دهانه رحم(Hela) بررسی شد.

فرآیند پژوهش

تهیه گیاه: گیاه درمنه‌ی ترکمنی *(Artemisia turcomanica)* از موسسه‌ی ذخایر ژنتیکی ایران تهیه شد.

تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه ترکمنی: برای تهیه عصاره، گیاه را ابتدا در جریان هوا قرار داده، سپس در سایه کاملا خشک و با آسیاب پودر گردید. از پودرتهیه شده برای عصاره گیری به روش سوکسله استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰گرم از پودر *گیاه* درمنه‌ی ترکمنی*(Artemisia turcomanica)* به ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول اضافه گردید. عصاره گیری به مدت ۱۲ ساعت صورت گرفت. پودر جامد بدست آمده توسط آب مقطر دو بار تقطیر به حجم رسانیده شد و عصاره‌ی تهیه شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده برای بررسی تاثیر بر سلول سرطانی نگهداری شد(Aboeepoor *et al.*, 2020).

کشت، پاساژ سلول و ارزیابی درصد زنده مانی: به منظور کشت سلولی، رده سلولی Hela ازانستیتوپاستور ایران تهیه و در محیط RPMI1640 غنی شده با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) (Gibco, Scotland) در شرایط ۵ درصد دی اکسیدکربن و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. به منظور بررسی اثر میزان سمیت عصاره بر رده سلولی از روش رنگ سنجی MTT (سیگما، آلمان) استفاده شد. غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی درمنه ترکمنی (۵۰۰،۲۵۰، ۳۱/۲۵،۶۲/۵،۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد و رده سلولی سرطانی در بازه های زمانی ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت توسط غلظت‌های تهیه شده از عصاره تیمار شدند. پس از گذشت زمان فوق محتوای پلیت ۹۶ خانه‌ای به دقت خارج شد و ۲۰میکرولیتر رنگMTT با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و پلیت به مدت ۴ ساعت در شرایط ۵ درصد دی اکسیدکربن و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. در نهایت، پس از گذشت ۴ ساعت رنگ MTT از پلیت خارج شد و کریستال‌های فورامازان تولید شده توسط سلول‌های زنده، در ایزوپروپانول حل گردید. در نهایت جذب نوری رنگ حاصله توسط دستگاه قرائتگر الایزا (هلند، ELISA reader Oraganon Teknika) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و میزان بقای سلول‌ها از تقسیم جذب نوری سلول‌های تیمار شده به جذب نوری تیمار نشده به عنوان کنترل محاسبه گردید(Sofalian *et al.*, 2020). در این تست، برای

هر غلظت ۳ بار تکرار در نظر گرفته شد و میزان دوز Inhibitor concentration (IC50یا دوز ۵۰ درصدکشندگی سلول‌ها) نیز محاسبه شد.

بیان ژن‌های Bax و Bcl2 با روش Real Time: میزان بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و ضدآپوپتوزی Bcl-2 با استفاده از روش Real Time-PCRمورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، ابتدا استخراج RNA سلول‌ها با استفاده از کیت مخصوص (RNA کیاژن، آمریکا) انجام شد. سنتز cDNA بر اساس پروتکل ساخت مولکول‌های DNAمکمل با کیت سنتز cDNA (فرمانتاز،لیتوانی) انجام گرفت. به منظور انجام واکنش Real Time-PCR، ژن‌های Bax و Bcl-2 به عنوان ژن‌های هدف و ژن بتا اکتین به عنوان ژن مرجع در نظرگرفته شدند. توالی پرایمرهای به کار گرفته شده در این واکنش در جدول ۱ مشخص شده است. برنامه زمانی گرمایی دستگاه در سه مرحله شامل: مرحله اول که منجر به واسرشت شدن مولکول‌های cDNA و فعال شدن آنزیم پلیمراز می‌شود؛ در ۹۵ درجه سانتیگراد، به مدت ۱۰ دقیقه و مرحله دوم ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه و در نهایت، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه برای ۴۰ چرخه متوالی انجام شد.در نهایت، تجزیه و تحلیل داده‌ها مطابق مقایسه چرخه آستانه انجام گرفت و اختلاف چرخه آستانه به‌دست آمده از سلولهای تیمار شده با عصاره و سلول تیمار نشده با عصاره محاسبه شد و با استفاده از فرمول ΔΔCt، نسبت ژن هدف به ژن مرجع از طریق فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ مورد محاسبه قرار گرفت(Lee *et al*., 2020).

جدول ۱- توالی پرایمر مورد استفاده

Table 1- Primer sequence used

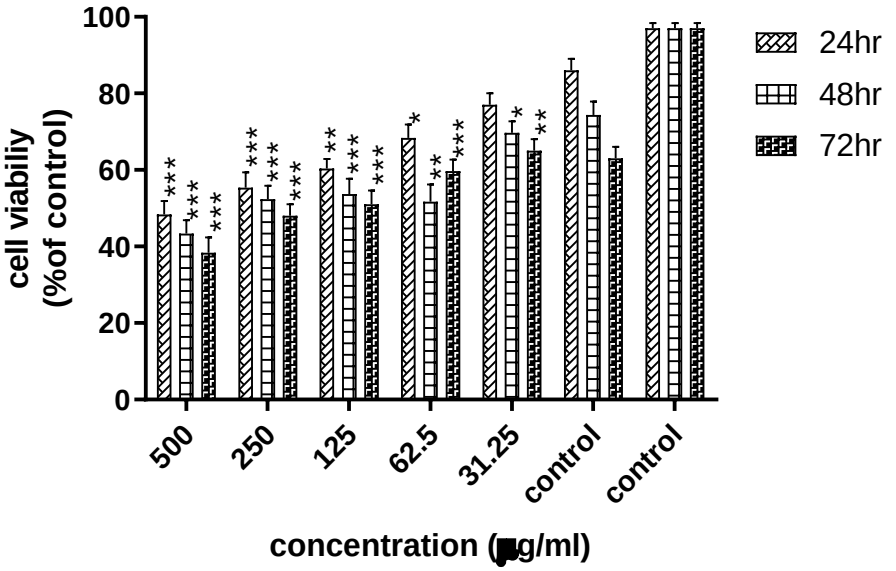
ژن	توالی پرایمر	طول قطعه محصول	دمای انصال
Bactin	Forward: 5'- AGAGCTATGAGCTGCCTGAC-3' Revers: 5'- AATTGAATGTAGTTTCATGGATG-3'	129 bp	55
Bax	Forward:5'- GAGCTGCAGAGGATGATTGC -3′ Revers: 5'- AAGTTGCCGTCAGAAAACATG -3'	92 bp	57
Bcl2	Forward: 5'- ATTGGGAAGTTTCAAATCAGC -3' Reverse: 5'- CAGTCTACTTCCTCTGTGATGTTG -3'	150 bp	55

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزارSPSS نسخه ۲۳، آزمون آماری واریانس یک طرفه و تست توکی برای مقایسه گروه‌ها با کنترل استفاده شد. همچنین ($P<۰/۰۵$) معنی‌دار درنظر گرفته شد.

نتایج و بحث

تیمار سلول‌های Hela سرطان دهانه رحم با غلظت‌های مختلف عصاره (۵۰۰،۲۵۰، ۶۲/۵،۱۲۵، ۳۱/۲۵، میکروگرم بر میلی‌لیتر) با روش MTT طی مدت ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت انجام شد. کمترین درصد زنده مانی سلول‌ها در غلظت ۵۰۰،۲۵۰و ۱۲۵میکروگرم بر میلی لیتر عصاره گیاه *درمنه ترکمنی*

نسبت به گروه کنترل به صورت معناداری نشان داده شد(شکل ۱). بر اساس نتایج بدست آمده درصد زنده مانی سلول‌ها با افزایش غلظت و زمان کاهش یافته، همچنین غلظت ۵۰ درصد کشندگی عصاره گیاه *درمنه ترکمنی* در۲۴ ساعت ۴۹۳/۶۷ میکروگرم بر میلی لیتر،در ۴۸ ساعت ۲۹۴/۴۳ میکروگرم بر میلی لیتر و در ۷۲ ساعت ۱۲۵/۷۶ میکروگرم بر میلی لیترتعیین شد.

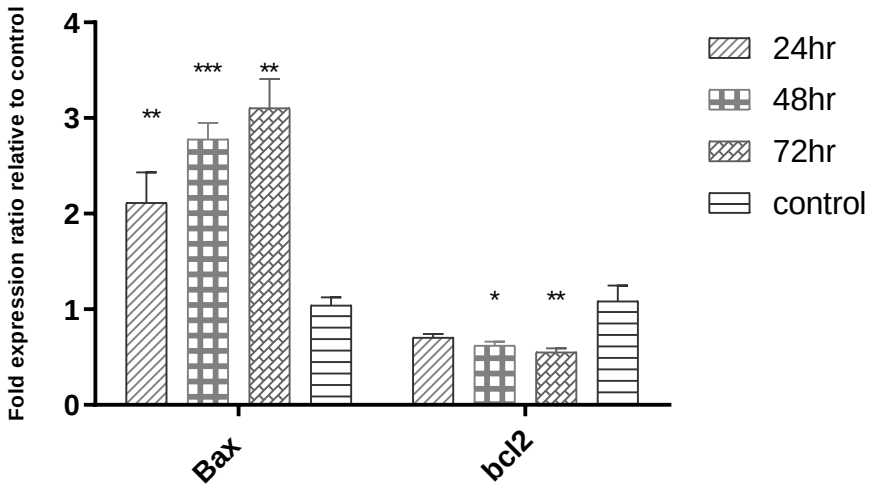


شکل ۱- بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره درمنه ترکمنی در مدت زمان‌های ۴۸،۲۴و۷۲ ساعت بردرصد زنده مانی رده سلولی Hela (نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌است)

**** P <۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، *** P <۰۰۱/ در مقایسه با گروه کنترل**

Fig 1- Investigation of the effect of different concentrations of *Artemisia turcomanica* extract in 24, 48 and 72 hours on the viability percentage of Hela cell line (The results are expressed as mean ± standard deviation)
**** P < 0.01 compared to the control group, *** P < 0.001 compared to the control group**

بررسی تاثیر غلظت‌هایIC50 (۴۹۳/۶۷، ۲۹۵/۴۳، ۱۲۵/۷۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) عصاره گیاه *درمنه ترکمنی* بر بیان ژن‌های Bax و Bcl2: تیمار رده سلول سرطان دهانه رحم Hela با غلظت۵۰ درصد کشندگی در زمان‌های مختلف ۴۸،۲۴ و۷۲ساعت برمیزان بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 نسبت به گروه تیمار نشده نشان داد، تغییرات بیان ژن‌ها در مدت زمان ۲۴ ساعت معنادارنبوده اما با افزایش زمان(۴۸، ۷۲ ساعت) تغییرات به صورت معنادار نشان داده شد(شکل ۲).



شکل ۲- بررسی تاثیر غلظت‌های *IC50* (۴۹۳/۶۷، ۲۹۵/۴۳و۱۲۵/۷۶میکروگرم بر میلی‌لیتر)عصاره *گیاه درمنه ترکمنی* بر بیان ژن‌های *Bax* و *Bcl-2* در رده‌ی *Hela*.(نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌است)

*** P < ۰/۰۱در مقایسه با گروه کنترل، ** P < ۰/۰۰۱در مقایسه با گروه کنترل**

Fig 2 - Investigating the effect of IC50 concentrations (493.67, 295.43 and 125.76 µg/ml) of the extract of the *Artemisia turcomanica* on the expression of Bax and Bcl-2 genes in Hela strain (The results are expressed based on the mean ± standard deviation)

*** P < 0.01 compared to the control group, ** P < 0.001 compared to the control group**

یکی از بیماری‌های روبه رشد و از مهم‌ترین دلایل مرگ و میر در سراسر جهان سرطان است (Siegel 2022 *et al.*,) . بیشتر گیاهانی که در طبیعت وجود دارند دارای خاصیت دارویی بوده و ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در گیاهان به عنوان خاصیت ضدسرطانی و برخی دیگر از خواص عصاره‌های گیاهی از چندین سال قبل شناخته شده، از این رو استفاده مجدد از فرآورده‌های طبیعی همچون گیاهان دارویی می‌تواند رویکرد مثبتی در کنترل و درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله سرطان باشد(Michel *et al.*, 2020). مطالعات مختلفی در ارتباط با اثرات سمیت سلولی عصاره گیاهان بر رده‌های سلولی سرطانی صورت گرفته است. نتایج به دست آمده نشان داده است، ترکیبات طبیعی همچون عصاره‌ها قابلیت استفاده در درمان سرطان را داشته و سبب کاهش عوارض جانبی و افزایش اثربخشی درمان می‌شود(Chu Xin *et al.*, 2022) . همچنین استفاده از گیاهان به علت دسترسی آسان، ارزان بودن وعوارض جانبی کمتر، نسبت به روش‌های درمانی رایج مانند شیمی درمانی، پرتو درمانی و هورمون درمانی مورد توجه محققان قرار گرفته است(Moalemzadeh *et al.*, 2020). در مطالعه حاضر اثرات ضد سرطانی گیاه درمنه ترکمنی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از تستMTT نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه ترکمنی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنا داری بر سمیت سلولی رده سرطانی دهانه رحم (Hela) دارد. بیشترین اثر مهاری این عصاره در غلظت‌های۵۰۰، ۲۵۰و۱۲۵میکروگرم برمیلی‌لیتر نشان داده شد، تغییر دربیان ژن‌های آپوپتوزی Bax وBcl2

در غلظت ۵۰ درصد کشندگی عصاره در زمان های مختلف نیز گزارش داده شد. نتایج تست MTT نشان داد که اثر سمیت سلولی عصاره از الگوی وابسته به دوز و زمان پیروی می‌کند. به طوری که بیشترین سمیت سلولی عصاره درمنه ترکمنی بر رده سلولی در مدت زمان ۷۲ ساعت نشان داده شد. افزایش تغییردر بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl2 در گروه تیمار شده با غلظت ۵۰ درصد کشندگی عصاره نیز با گذشت زمان مشاهده شد. فتحی و همکارانش در سال ۱۳۹۹ اثرات ضدّمیکروبی و ضدّسرطانی عصاره گیاه درمنه ترکمنی(*Artemisia turcomanica*) رادر رده سلولی سرطان معده (AGS) نشان دادند (Fathi *et al.*, 2020). سفالیان و همکارانش در سال ۱۳۹۹ اثرات ضدّسرطانی عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه ایرانی(*Artemisia persica*) را در رده سلولی سرطان معده (AGS) مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره درمنه ایرانی دارای سمّیت سلولی وابسته به دوز و زمان می‌باشد و می‌تواند آپوپتوز را القا کند(Sofalian *et al.*, 2020). اثر ضدتکثیری عصاره گونه‌های مختلف درمنه در ایران بر رده‌های سلولی MCF7, AGS, Hela, (AGS) و رده سلولی نرمال(L-929)نشان داد که گونه‌های مختلف درمنه خاصیت ضدتکثیری دارند(Taghizadeh Rabe *et al.*, 2011). محققان نشان دادند که عصاره‌های مختلف *A. turanica* و *A. biennis* در مدت زمان ۴۸ ساعت بیشترین اثر ضدتکثیری بر رده‌های سلولی سرطان خون (HL-60) و (K562) را نشان داد (Mashati *et al.*, 2017). نتایج حاصل از بررسی تاثیر عصاره در این مطالعه نیز هم جهت با مطالعات پیشین است و خاصیت القای آپوپتوزی حاصل از مطالعه حاضر روی رده سلولی Hela را تایید می‌کند.

مکانیسم‌های احتمالی اثرات ضدسرطانی عصاره *درمنه ترکمنی* در رده سلول سرطان رحم مربوط به وجود ترکیبات متنوع با خاصیت ضدسرطانی و آنتی اکسیدانتی گیاه آرتمیزیا لیمونن، اوژنول، آلفاپینن، توژون، بورنئول، پیپریتون، کامفور فلاونوئیدها، ترکیبات فنولی و مقادیر زیادی آرتیمیزین است (Kim *et al.*, 2015). آرتیمیزین یکی از پرکاربردترین داروهای ضدسرطانی است که از آرتیمیزیا تخلیص می‌گردد. نتایج حاصل از تحقیقات گذشته نشان داده است که استفاده روزانه آرتیمیزین می‌تواند در پیشگیری و یا جلوگیری از توسعه سرطان می‌تواند مفید باشد(Abbasi *et al.*, 2019). تحقیقات نشان داده‌اند آرتیمیزین از طریق القاء مرگ در سلول‌های پیش سرطانی و همچنین فعال‌سازی مسیر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی مانع از القاء و یا گسترش سرطان می‌گردد(Mousavi *et al.*, 2018). باتوجه به نقش مضر رادیکال‌های آزاد از قبیل سوپراکساید و هیدروکسیل در القاء بیماری‌های مزمن از قبیل سرطان، وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و غیره، از جمله دیگر دلایل خواص ضدتوموری گیاهان خانواده *Artemisia* بیان شده‌اند (Lai *et al.*,2013; Tayarani-Najaran *et al.*, 2011). این ترکیبات با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد حاصل از برخی متابولیسم‌های موجود در بدن، از آسیب به DNA ، پروتئین‌ها و سایر اجزاء مهم سلول جلوگیری می‌کنند(Hosseinzadeh *et al.*, 2018). یکی از

مسیرهای درگیر در آپوپتوز، مسیر درونی(یا مسیر میتوکندریایی) است. در این مسیر، تغییرات مختلف درون سلولی از جمله شرایط تنش‌های اکسیداتیو، آسیب DNA و جهش در ژن‌های مسئول در آپوپتوز می‌توانند به عنوان سیگنال‌های داخلی عمل کنند. این سیگنال‌ها منجر به برهمکنش‌های پروتئین‌های ویژه‌ای از خانواده‌ای به نام خانواده ی Bcl -2 شده است؛ از این طریق، سیتوکروم C از فضای بین دو غشاء میتوکندری وارد سیتوزول می‌گردد و با تشکیل کمپلکسی به نام آپوپتوزوم، مسیر آبشاری کاسپازها فعال می‌شود (Mehrbod *et al.*, 2019; Sorice, 2022). ژن Bax یک نقطه ورود منحصر به فرد برای مسیر سیگنالینگ آپوپتوز درونی است. این مسیر توسط محرک‌های مختلف از جمله محرومیت سیتوکین و تنش سیتوتوکسیک آغاز می‌شود. پروتوآنکوژن Bcl-2 به عنوان یک مهارکننده آپوپتوز شناخته شده که سبب تجمع و انتشار سلول‌های حاوی تغییرات ژنتیکی شده و به نظر می‌رسد فعالیت غیرطبیعی ژن Bcl- 2 می‌تواند سبب مهار آپوپتوز و تسهیل فرآیند تومورزایی گردد (Mohammed *et al.*, 2022).

نتیجه‌گیری کلی

امروزه گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به طور کلی فراورده‌های طبیعی رو به افزایش بوده به طوری که داروهای گیاهی سهم بزرگی از فراورده‌های دارویی تجاری ساخته‌شده را به خود اختصاص داده‌اند در این مطالعه، برای اولین بار به بررسی سمیت عصاره هیدروالکلی گیاه درمنه ترکمنی و بومی کشور ایران علیه رده سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela) پرداخته شد و مشخص شد که عصاره هیدروالکلی این گیاه دارای اثر توکسیسیتی علیه رده سلولی Hela بوده و می‌تواند سبب القای آپوپتوز از طریق افزایش بیان ژن آپوپتوتیک Bax در سلول های Hela شود. بنابراین با توجه به مشکلاتی که در به کارگیری جراحی، پرتودرمانی و شیمی درمانی در درمان سرطان وجود دارد، میتوان با مطالعه بیشتر گیاه درمنه ترکمنی و تأیید اثرات آن در محیط آزمایشگاهی و اثرات ضد سرطانی آن در مدل‌های حیوانی را مورد بررسی قرار داد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی‌ارشد ژنتیک با کد پایان‌نامه ۰۱۲۹۳۳۶۹۸۳۸۱۹۲۱۴۰۰۱۶۲۴۳۱۰۸۸ مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می‌باشد از تمام کسانی که در انجام پروژه همکاری داشته اند سپاسگزاریم.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش این مطالعه، با نامه IR.IAU.CTB.REC.1400.029 **در** تاریخ ۲۰۲۱/۰۹/۲۹، مورد تایید کمیته اخلاق قرار گرفته است.

منابع

1) Abbasi, N, Aidi A. and E, Karimi. 2019.Evaluating the effect of silver nanoparticles using Artemisia turcomanica extract on cancer cell lines (an In Vitro study). *Journal of Ilam University of Medical Sciences*,1 (4).

2) Abdalan, S., Baghbani-Arani, F. and S.A, Sadat Shandiz. 2018.Evaluation of Anticancer Effect of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of *Quercusin Fectoria* Leaf against Colon Cancer HT29 Cell Line. *Journal* of *Arak University Medical Sciences*, 21(4): 48-57.

3) Aboeepoor, S., Dehghani Ashkezari,M., Aboee-Mehrizi, F., Haghiralsadat ,B.F. and N.J, Nikoonahad Lotfabadi. 2020.Designing and Characterizing Nano-carriers Containing *Nepeta Persica* Extract and Their Effect on Bone Cancer. *Internal Medicine Today*, 26(2): 142-155.

4) Fathi, N., Tafvizi, F. and A, Mirzaie. 2020.Antibacterial and anti-cancer activities of *Artemisia turcomanica* extract on gastric cancer cell line (AGS) and its interaction on cyclin D1 and cyckin E genes. *Journal of Medicinal Plants*, 19(74): 163-176.

5) Hosseinzadeh, L., Malekshahi A., Ahmadi F., Emami, S.A., Hajialyani, M. and M, Mojarrab. 2018.The Protective effect of different extracts of three Artemisia species against H2 O2 -Induced Oxidative Stress and Apoptosis in PC12 Neuronal Cells. *Pharmacognosy Research*, 10(1): 64-71.

6) Hussain, A. 2020. The Genus Artemisia (Asteraceae): A Review on its Ethnomedicinal Prominence and Taxonomy with Emphasis on Foliar Anatomy, Morphology, and Molecular Phylogeny. Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: Pakistan Academy of Sciences, 57 (1): 1–28.

7) Hussain, A.,Hayat, M.Q., Sahreen, S., Ain, Q.U. and S.A.I, Bokhari. 2017.Pharmacological Promises of Genus *Artemisia (Asteraceae*): a Review. Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. *Life and Environmental Sciences*, 54(4): 265–287.

8) Isani, G., Bertocchi, M,.Andreani, G., Farruggia, G., Farruggia, G., Cappadone, C . and R, Salaroli. 2019. Cytotoxic Effects of *Artemisia annua* L. and Pure Artemisinin on the D-17 Canine Osteosarcoma Cell Line. *Oxidative* Medicine *and* Cellular Longevity, 2019: 1-9.

9) Kim, W.S., Choi, W.J., Lee, S., Kim, W.J., Lee, D.C. and U.D, Sohn. 2015. Anti-inflammatory, Antioxidant and Antimicrobial Effects of Artemisinin Extracts from Artemisia annua L. Korean *Journal of Physiology* & *Pharmacology*, 19(1): 21-27.

10) Lai, H.C., Singh, N.P. and T.J, Sasaki. 2013.Development of *Artemisinin* compounds for cancer treatment. *Investigational* New Drugs *provides*,31(1): 230-246.

11) Lee, M.M., Chan, B.D., Wong, W.Y., Qu, Z., Chan, M.S. and T.W, Leung. 2020.Anti-cancer activity of *Centipeda minima* extract in triple negative breast cancer via inhibition of AKT, NF-κB, and STAT3 signaling pathways. *Frontiers in* Oncology, 9(10): 491.

12) Lotfi, Z., Morovati-Sharifabad, M., Salehi, E., Sarkargar, F. and Gh, Pourghanbari. 2021.Evaluation of Anti-Cancer Effects of Alcoholic Extract of *Ginger* on SORT1 Gene Expression and Viability of the A2780s Ovarian Cancer

Cell Line. *Quarterly of "The Horizon of Medical Sciences*, 27(3): 418-433.

13) Mashati, P., Esmaeili, S., Dehghan, Nayeri N., Darvishi, M. and AJ, Gharehbaghian. 2017.The effect of methanolic extract of aerial parts of Artemisiaannua on proliferation and apoptosis of acute lymphoblasticleukemia cell lines, Nalm-6 and Reh.Scientific. *Journal of Iranian Blood Transfusion Organization*,14(1):34-43.

14) Mehrbod, P., Ande, S.R., Alizadeh, J., Rahimizadeh, S., Shariati, A. and H, Malek. 2019.The roles of apoptosis, autophagy and unfolded protein response in arbovirus, influenza virus and HIV infections. *Virulence*, 10(1): 376-413.

15) Michel, J., Abd Rani, N.Z. and K, Husain. 2020.A Review on the Potential Use of Medicinal Plants from Asteraceae and Lamiaceae Plant Family in Cardiovascular Diseases. *Front in Pharmacology*, 11(852): 1-26

16) Moalemzadeh, Sh., Rajabbeigi, E. and M, Montazeri. 2020.Investigation on cytotoxic effect of hydroalcoholic extract of *Artemisia sieberi* on SKBr3cell line. *Journal of Cell & Tissue*, 4(4): 252-260.

17) Momeni movahed, Z. and H, Salehinita. 2017. Incidence, mortality and risk factors of cervical cancer in the world. *Biomedical Research* and *Therapy* ,4(12): 1795-1811.

18) Mousavi, B., Tafvizi, F. and S, Zake,r Bostanabad. 2018.Green synthesis of silver nanoparticles using *Artemisia turcomanica* leaf extract and the study of anti-cancer effect and apoptosis induction on gastric cancer cell line (AGS). *Rtificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 46(sup1): 499-510.

19) Mohammed, R.N., Khosravi, M., Rahman, H.S., Adili, A., Kamali, N. and P.P, Soloshenkov. 2022. Anastasis: cell recovery mechanisms and potential role in cancer. *Cell Communication* and *Signaling*, 20(81): 1-9.

20) Mousavi, B., Tafvizi, F. and S, Zaker Bostanabad. 2018.Green synthesis of silver nanoparticles using Artemisia turcomanica leaf extract and the study of anti-cancer effect and apoptosis induction on gastric cancer cell line (AGS). *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*; 46(sup1): 499-510.

21) Ng, C.X., Affendi, M.M. and P.P, Chong. 2022. The Potential of Plant-Derived Extracts and Compounds to Augment Anticancer Effects of Chemotherapeutic Drugs. *Nutrition and Cancer*, 74(9): 3058-3076.

22) Siegel, R.L., Miller, K.D., Fuchs, H.E. and A, Jemal. 2022. Cancer statistics. 2022. A Cancer *Journal for Clinicians*,72(1): 7-33.

23) Sofalian,O., Zare N., Latifi Navid, S., Hasanpour Reyhani, K. and S, Motallabian. 2020.Evaluation of anticancer effect of Mentha longifolia and *Artemisia persica* hydro -alcoholic extracts against human gastric cancer cells (AGS). *Motallebinia Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 9(1): 1-10.

24) Sorice, M. 2022. Crosstalk of Autophagy and Apoptosis. *Cells*, 11(9): 1479.

25) Taghizadeh Rabe, S.Z., Mahmoudi, M., Ahi, A. and S.A, Emami. 2011.Antiproliferative effects of extracts from Iranian *Artemisia* species on cancer cell lines. *Pharmaceutical Biology*, 49 (9): 962 -969.

26) Tayarani-Najaran, Z., Sadat Makki, F., Sadat Alamolhodaei, N. and M, Mojarrab. 2017.Cytotoxic and apoptotic effects of different extracts of *Artemisia biennis* Willd. On K562 and HL-60 cell lines. *Iranian Journal* of *Basic* Medical Sciences, 20(2): 166-171.

27) Rifan, A., Zengin, G.,Sinan, K.I.,Sieniawska, E., Sawicki, R.and M, Maciejewska-Turska, 2022. Unveiling the Phytochemical Profile and Biological Potential of Five Artemisia Species. *Antioxidants*, 11(1017): 1-22.