

تحقیقی

اثر کرایزین بر رده سلولی AGS سرطان معده انسان

نعمت الله امینی سرتشیزی^۱، دکتر حسین تیموری*^۲، دکتر صابر زهری^۳، دکتر محسن مبینی دهکردی^۴، دکتر سمیه خسروی^۵، رقیه امینی سرتشیزی^۶
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل. ۲- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۳- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل. ۴- استادیار، گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد. ۵- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۶- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

چکیده

زمینه و هدف: کرایزین یک ترکیب طبیعی و فعال از لحاظ بیولوژیکی است که از بسیاری از درختان، عسل و پروپولیس استخراج می‌گردد. کرایزین دارای چندین فعالیت فارماکولوژیکی از جمله خصوصیات ضدالتهابی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی قوی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر کرایزین بر *AGS human gastric epithelial cell line* سرطان معده انسان انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - تحلیلی کرایزین در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) حل و اثرات سائیتوتوکسیستی غلظت‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر کرایزین بر سلول‌های AGS بررسی شد. زیستایی سلول‌ها با استفاده از آزمایش سنجش *MTT* بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار اندازه‌گیری و با زیستایی نمونه‌های کنترل مقایسه گردید.

یافته‌ها: کرایزین از رشد و تکثیر رده سلولی *AGS* سرطان معده انسان ممانعت نمود. این اثرات وابسته به غلظت کرایزین و زمان تیمار بود. *IC50* تقریباً برابر با ۶۰ و ۳۰ و ۲۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر به ترتیب در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت به دست آمد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: کرایزین در محیط آزمایشگاهی، فعالیت ضدتکثیری بر روی سلول‌های سرطانی معده انسان نشان داد.
کلید واژه‌ها: کرایزین، *AGS*، *MTT*، زیستایی سلول، سرطان معده

* نویسنده مسؤول: دکتر حسین تیموری، پست الکترونیکی hteimori@skums.ac.ir

نشانی: شهرکرد، رحمتیه، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، تلفن ۰۳۸۱-۳۳۴۶۶۹۲، نمابر ۳۳۳۰۷۰۹
وصول مقاله: ۹۲/۱۱/۱۹، اصلاح نهایی: ۹۲/۱۲/۱۷، پذیرش مقاله: ۹۲/۱۲/۱۸

مقدمه

سرطان معده یا وقوع متاستاز به غدد لنفاوی (تقریباً در ۵۰ درصد موارد) پس از یک جراحی موفق است (۵). لذا جستجوی استراتژی‌های درمانی مناسب برای درمان سرطان معده ضروری است. محصولات طبیعی یک منبع امیدبخش برای کشف داروهای جدید و درمان سرطان هستند (۸). در میان محصولات طبیعی، پروپولیس (ماده رزینی جمع‌آوری شده به وسیله زنبور عسل) دارای مقادیر زیادی ترکیبات بیولوژیکی و فارماکولوژیکی است و به علت فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی، ضدالتهابی، تعدیل‌کننده ایمنی، حمایت‌کنندگی کبد و اخیراً هم فعالیت‌های ضدسرطانی، محققان علاقه زیادی به این محصول زنبور عسل برای توسعه داروهای جدید نشان داده‌اند (۹-۱۴).

کرایزین یک فلاونوئید طبیعی یافت شده در پروپولیس و یکی از ترکیبات فعال از لحاظ بیولوژیکی است (۱۵). فلاونوئیدها یک کلاس وسیع از پیگمان‌های گیاهی هستند که در غذاهای مشتق از گیاهان و میوه‌ها نیز وجود دارند (۱۶ و ۱۷). بیش از ۴۰۰۰ نوع از فلاونوئیدهای فعال شناسایی شده‌اند که می‌توانند به فلاون‌ها، فلاوانون‌ها، فلاوانول‌ها و فلاوان‌ها تقسیم شوند. فلاونوئیدها

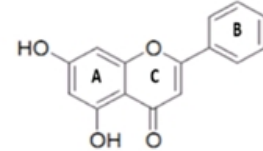
سلول‌های سرطانی به وسیله رشد و تکثیر غیر کنترل شده در اثر عملکرد غیر نرمال ژن‌ها و پروتئین‌های مسؤول کنترل رشد و تنظیم چرخه سلولی شناخته می‌شوند (۱). با وجود کاهش پیش‌رونده میزان وقوع سرطان معده در ۵۰ سال گذشته، سرطان معده چهارمین سرطان رایج در جهان و دومین عامل مرگ ناشی از سرطان را در جهان به خود اختصاص داده است (۲). در ایران ۵۰ درصد سرطان‌های شایع کشور مربوط به دستگاه گوارش است و در این میان سرطان معده از همه شایع‌تر است. از سویی با افزایش امید به زندگی انتظار می‌رود که در آینده‌ای نزدیک میزان بروز و مرگ و میر این بیماری مهلک در کشور به سرعت افزایش یابد (۳ و ۴). به علت فقدان علائم بالینی ابتلا به سرطان معده، این بیماری در اغلب موارد در مرحله پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شود. درمان‌های استاندارد رایج برای سرطان معده شامل جراحی و شیمی‌درمانی است (۵ و ۶). مهم‌ترین عامل عدم موفقیت شیمی‌درمانی سرطان معده کارایی نسبتاً کم، سمیت قابل توجه و مقاومت دارویی است (۷) و مهم‌ترین عامل عدم موفقیت جراحی غدد سرطانی، وقوع مجدد

غلظت‌های مختلف کرایزین (10^{-1} تا 10^{-10} μM) برای تیمار سلول‌ها با DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS قبل از تیمار تهیه شدند.

بررسی زیست‌تایی سلول‌ها با استفاده از کیت سنجش MTT [3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazoliumbromide] (شرکت ایده زیست - ایران) انجام شد. سنجش زیست‌تایی سلول‌های AGS در حضور غلظت‌های مختلف کرایزین در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام شد. سلول‌ها از پلیت‌های دارای تراکم ۹۰-۸۰ درصد ترپسینه شدند و در محیط کشت رشد تعلیق شدند. سپس سلول‌ها شمارش شدند و به میزان ۵۰۰۰ سلول و در حجم ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت در هر چاهک پلیت کشت ۹۶ خانه کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور مرطوب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دی‌اکسید کربن ۵ درصد انکوبه شدند. بعد از ۲۴ ساعت محیط کشت خارج شد (۱۷) و سلول‌ها براساس اصل آزمون سائیتو توکسیسیتی به روش MTT به دو گروه کنترل (شاهد) و تیمار تقسیم شدند و سلول‌های گروه تیمار (بر اساس اصل ایجاد حداقل و حداکثر آسیب سلولی) در ۹ گروه با محیط کشت دارای غلظت‌های مختلف کرایزین (۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر) برای زمان‌های ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. سلول‌هایی که با کرایزین تیمار نشده بودند و تنها محیط کشت آنها با محیط کشت رشد جدید تعویض شد؛ به عنوان کنترل (غلظت صفر میکرومولار) در نظر گرفته شدند. همچنین برای خنثی‌سازی اثر DMSO گروه‌های کنترل با غلظت ۰/۱ درصد DMSO که به عنوان حلال کرایزین استفاده شده بود؛ تیمار شدند. هر غلظت کرایزین در هر آزمایش با سه تکرار انجام شد و هر آزمایش سه بار تکرار شد. بعد از ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت محیط کشت از چاهک‌های پلیت‌های ۹۶ خانه حذف شد و هر چاهک با ۱۵۰ میکرولیتر PBS (Phosphate-Buffered Saline) شسته شد. سپس به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت بدون رنگ RPMI-1640 (موجود در کیت MTT) اضافه گردید و ۱۰ میکرولیتر از محلول زرد رنگ MTT (۱۲ mM) به آن اضافه گردید و پلیت با فویل آلومینیومی پوشانده شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور در شرایط استاندارد انکوبه شد. پس از ۴ ساعت محیط کشت RPMI-1640 حاوی محلول MTT از چاهک‌ها خارج شد و ۱۵۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد و پلیت دوباره با فویل آلومینیومی پوشانده شد و به مدت ۱۰ دقیقه دیگر در انکوباتور انکوبه شد. سپس پلیت به مدت ۵ دقیقه بر روی شیکر در RPM ۱۵۰ شیک شد و در نهایت جذب نوری هر چاهک با دستگاه الایزا ریدر (AWARENESS) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. برای کم کردن میزان خطای آزمایش در چند عدد از چاهک‌های بدون سلول نیز به میزان ۱۰۰ میکرولیتر RPMI-1640 اضافه شد و به

می‌توانند به آسانی مورد مصرف انسان قرار گیرند (۱۸). کرایزین یک فلاون است (۱۹). فلاون‌ها یک ساختار شیمیایی مشترک شامل اتصال حلقه‌های A و C و یک حلقه B (فیل) متصل به موقعیت ۲ حلقه C هستند. کرایزین از ساختار مشترک فلاون‌ها به علاوه هیدوکسیل‌های اضافی در موقعیت‌های ۵ و ۷ حلقه A برخوردار است (۱۹) (شکل یک).

Chrysin (ترکیبی از پروپولیس)



شکل ۱: ساختار مولکولی کرایزین
نام مترادف: 5,7-Dihydroxy flavones
فرمول مولکولی: C15H10O4
وزن مولکولی: ۲۵۴/۲۴ g/mol
شماره محصول: C80105

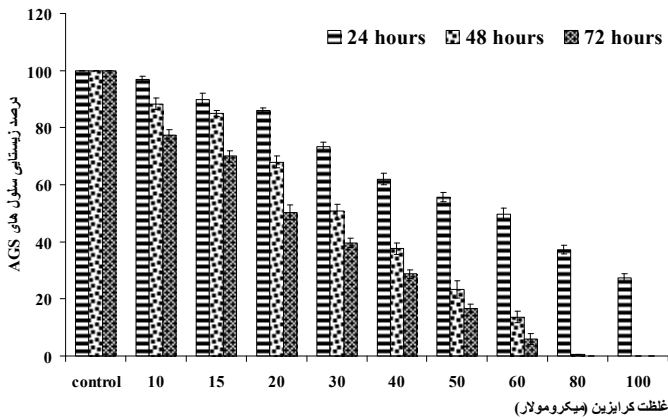
کرایزین دارای اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی است (۲۰ و ۲۱). همچنین فعالیت ضدسرطانی آن از طریق القای آپوپتوز در برخی از تیپ‌های سلول‌های انسان و موش نشان داده شده است (۱۹). به‌طور کلی مطالعات اثرات کرایزین بر سرطان‌های انسانی کم است. این مطالعه به منظور تعیین اثر کرایزین بر AGS human gastric epithelial cell line سرطان معده انسان انجام شد.

روش بررسی

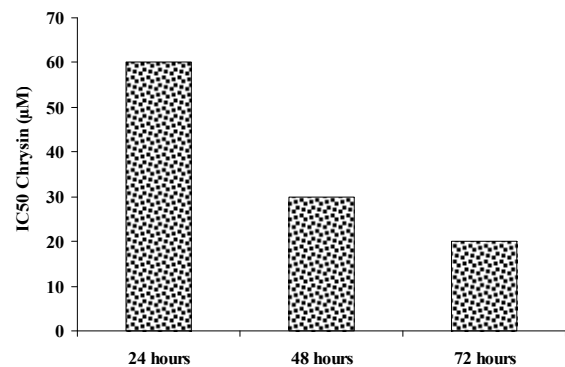
این مطالعه توصیفی - تحلیلی روی رده سلولی AGS سرطان معده انسان خریداری شده از پژوهشگاه رویان تهران، در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد در سال ۱۳۹۲ انجام شد.

سلول‌ها در فلاسک T25 و در محیط کشت DMEM (Dulbeccos modified Eagles Medium) (شرکت Gibco - آمریکا)، حاوی ۱۰ درصد FBS (Fetal bovine Serum) (شرکت Gibco - آمریکا) و یک درصد پنی‌سیلین - استرپتومایسین (شرکت Gibco - آمریکا) تحت شرایط استاندارد انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، دی‌اکسید کربن ۵ درصد و رطوبت ۹۸ درصد) کشت داده شدند (۲۲). سلول‌ها در تراکم ۷۰-۸۰ درصد هفته‌ای یک بار با استفاده از تریپسین-EDTA (شرکت Gibco - آمریکا) پاساژ داده شدند و در فاز لگاریتمی حفظ شدند (۲۳). کرایزین (شرکت سیگما آلدریج - آمریکا) به غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار بر میلی‌لیتر در DMSO (Dimethyl sulfoxide) (شرکت سیگما آلدریج - آمریکا) به عنوان حلال حل شد و در حجم‌های ۱۰۰ میکرولیتری در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی دار بین همه غلظت‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه کنترل بود ($P < 0/001$).



نمودار ۱: زیستایی سلول‌های AGS در تیمار با کرایزین در غلظت‌های مختلف طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تفاوت آماری معنی‌داری در همه غلظت‌های تیمار شده و سه زمان مورد بررسی (به‌جز غلظت ۱۰ میکرومولار ۲۴ ساعته) نسبت به گروه کنترل وجود داشت ($P < 0/001$).



نمودار ۲: مقایسه IC_{50} کرایزین در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت غلظت IC_{50} برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار سلول‌های AGS با کرایزین به ترتیب حدود ۶۰، ۳۰ و ۲۰ میکرومولار به‌دست آمد که خود به وضوح گویای اثر زمان تیمار بر زیستایی این سلول‌ها است.

ممانعت برجسته از زیستایی سلول‌های AGS در ۷۲ ساعت تیمار با کرایزین مشاهده شد. پس از تیمار با کرایزین به مدت ۷۲ ساعت بالاترین کاهش زیستایی در غلظت‌های ۵۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر مشاهده شد. به طوری که میزان زیستایی به ترتیب ۱۶/۶۷ درصد، ۶ درصد، صفر درصد و صفر درصد به‌دست آمد. میزان IC_{50} برای تیمار ۷۲ ساعته در حدود ۲۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر حاصل شد (نمودار یک). نتایج تیمار ۷۲ ساعته کرایزین نشان داد که بین تمام غلظت‌های تیمار شده با نمونه کنترل از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/001$).

برای بررسی اثر مدت زمان تیمار کرایزین بر زیستایی سلول‌های AGS، نتایج حاصل از تیمار کرایزین در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان داد که تمام غلظت‌های تیمار شده کرایزین از لحاظ زمان تیمار نیز باعث کاهش زیستایی سلول‌ها شده‌اند. به طوری که

میزان ۱۰ میکرولیتر محلول MTT به آنها اضافه گردید و سپس محتوی آن مانند دیگر چاهک‌ها خارج شد و ۱۵۰ میکرولیتر DMSO به آنها اضافه شد و همراه دیگر چاهک‌ها میزان جذب آنها خوانده شد و در نهایت از کل جذب‌ها کم گردید. میزان زیستایی با استفاده از فرمول ذیل مورد محاسبه قرار گرفت.

درصد زیستایی = میانگین جذب نوری تیمار تقسیم بر میانگین جذب نوری کنترل ضرب در عدد ۱۰۰
همچنین IC_{50} به صورت غلظتی از دارو در نظر گرفته شد که میزان جذب نوری را ۵۰ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش داد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-19 وارد رایانه شدند. آنالیز آماری داده‌های حاصل از سنجش MTT برای غلظت‌های مختلف کرایزین در طول هر دوره زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت که به صورت درصد زیستایی محاسبه شده بودند؛ به‌وسیله تست One-way ANOVA و به دنبال آن با Dennett's test انجام شد. همچنین برای بررسی اثر زمان تیمار بر زیستایی سلول‌های AGS داده‌های حاصل از هر دوره زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از تست measure Anova Repeated و به دنبال آن با LSD با یکدیگر مقایسه و از لحاظ آماری بررسی شدند. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطوح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

۲۴ ساعت بعد از تیمار، همه غلظت‌های آزمایش شده کرایزین زیستایی سلول‌های AGS را کاهش دادند. نتایج نشان داد کرایزین در غلظت‌های ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر بعد از ۲۴ ساعت تیمار باعث توقف رشد سلول‌های AGS می‌شود. بیشترین ممانعت از رشد بعد از به کار بردن کرایزین در غلظت‌های ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر مشاهده شد. به طوری که میزان زیستایی به ترتیب ۳۷/۳۳ درصد و ۲۷/۳۳ درصد به دست آمد. در کل ۲۴ ساعت تیمار سلول‌های AGS باعث کاهش زیستایی سلول‌های AGS با IC_{50} حدود ۶۰ میکرومولار شد (نمودار یک). نتایج تیمار ۲۴ ساعته کرایزین نشان داد که بین تمام غلظت‌های تیمار شده (به غیر از غلظت ۱۰ میکرومولار) با نمونه کنترل از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/001$).

همچنین ۴۸ ساعت بعد از تیمار با کرایزین نیز زیستایی سلول‌های AGS در یک شیوه وابسته به غلظت کاهش یافت. بیشترین ممانعت از رشد بعد از به کار بردن کرایزین در غلظت‌های ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر مشاهده شد. به طوری که میزان زیستایی به ترتیب ۱۳/۶ درصد، ۰/۴۳ درصد و صفر درصد به‌دست آمد. در کل ۴۸ ساعت تیمار سلول‌های AGS باعث کاهش زیستایی سلول‌های AGS با یک IC_{50} حدود ۳۰ میکرومولار شد (نمودار یک). نتایج تیمار ۴۸ ساعته کرایزین

چرخه سلولی در فاز G1 و کاهش فاز S می‌شود. همچنین کرایزین فعالیت CDK4/cyclin D و CDK2/cyclin E را با افزایش سطح پروتئین P21 در اثر القای فعالیت P38MAPK کاهش داده است (۲۷ و ۱۶).

مطالعه دیگری بر سلول‌های سرطانی لوکمی نشان داد که کرایزین آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی U937 با غیرفعال‌سازی مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT و نیز تنظیم کاهشی NF-KB، رهایی سیتوکروم C از میتوکندری به سیتوپلاسم و تحریک کاسپاز ۳ القا می‌کند (۲۸). همچنین مشخص شده که کرایزین در مسیر درونی آپوپتوز در سلول‌های HCT116 کولورکتال، رده سلول سرطانی HepG2 کبد انسان و سلول‌های CNE-1 کارسینومای بینی حلقی انسان شرکت می‌کند (۲۹). همچنین کرایزین آپوپتوز القا شده با TNF- α را به طور برجسته‌ای از طریق فعال‌سازی آبشار کاسپازی فعال‌کننده کاسپاز ۳ و ۸ القا می‌کند و از فعالیت کینازی IK-B و NF-KB و ژن ضد آپوپتوزی c-FLIP ممانعت می‌کند (۲۹). مطالعه اثرات کرایزین در سلول‌های DU145 سرطان پروستات نشان داد که این ترکیب یک بازدارنده قوی HIF-1 α است و بیان VEGF را تحت شرایط هیپوکسی کاهش می‌دهد. همچنین کرایزین از رنگ‌زایی تومور به طور برجسته‌ای در شرایط *in vivo* ممانعت می‌کند (۱۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که کرایزین قویاً از رشد و تکثیر سلول‌های AGS سرطان معده انسان از طریق القای اثرات سائتوتوکسیک جلوگیری می‌کند. اثرات سائتوتوکسیک القا شده بر سلول‌های AGS توسط کرایزین وابسته به غلظت و زمان تیمار بودند. بنابراین با توجه به اثرات قوی کرایزین بر سلول‌های سرطانی معده و از طرفی با توجه به غیرسمی و بی‌خطر بودن، می‌تواند به عنوان یک عامل بالقوه برای شیمی‌درمانی یا به عنوان یک عامل اجوات همراه با دیگر داروها در شیمی‌درمانی سرطان معده انسان مطرح شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه آقای نعمت‌الله امینی سرتشنیزی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی علوم سلولی و مولکولی از دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی بود. همچنین بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۱۳۹۴) معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بود و با حمایت مالی آن معاونت به انجام رسید. بدین‌وسیله از کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد سپاسگزاری می‌نمایم.

در یک غلظت تیمار شده هر چه سلول‌ها مدت زمان بیشتری در معرض تیمار با کرایزین قرار گرفتند؛ زیستایی نیز به میزان بیشتری کاهش یافت. برای مثال در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار در غلظت ۱۰ میکرومولار میزان زیستایی به ترتیب ۹۷ درصد، ۸۸/۳۳ درصد و ۷۷/۳۳ درصد به دست آمد. مقایسه غلظت IC50 در مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت خود به خوبی اثر گویای اثر مدت زمان تیمار بر زیستایی سلول‌ها است (نمودار ۲). نتایج نشان داد که در تمام غلظت‌های تیمار شده، بین دوره‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد. به طوری که برای غلظت ۶۰ میکرومولار $P < 0.003$ و برای بقیه غلظت‌ها $P < 0.001$ حاصل شد. ارتباط بین رشد سلول‌های AGS، غلظت و زمان تیمار نشان داد که کرایزین زیستایی سلول‌های AGS را در یک شیوه وابسته به غلظت و زمان کاهش می‌دهد.

بحث

براساس یافته‌های این مطالعه، کرایزین قویاً از رشد و تکثیر سلول‌های AGS سرطان معده انسان از طریق القای اثرات سائتوتوکسیک جلوگیری می‌کند. اثرات سائتوتوکسیک القا شده بر سلول‌های AGS توسط کرایزین وابسته به غلظت و زمان تیمار بودند و هرچه غلظت و زمان تیمار کرایزین زیادتر بود؛ زیستایی کاهش بیشتری نشان داد. این حقیقت که ممانعت از زیستایی سلول‌های AGS وابسته به زمان تیمار افزایش می‌یابد؛ ممکن است یک کاربرد بالینی داشته باشد و باعث کاهش مصرف کرایزین یا محصولات حاوی این ماده شود (۲۴).

فلاونوئیدها در میوه‌ها، گیاهان، عصاره‌های مشتق از گیاهان و بسیاری از مکمل‌های غذایی یا داروهای گیاهی وجود دارند. کرایزین یک فلاونوئید طبیعی، غیرسمی و بی‌خطر موجود در پروپولیس است و اثرات ضدسرطانی قوی بر سلول‌های سرطانی اعمال می‌کند. هماهنگی با نتایج این مطالعه، مطالعات Zhang و همکاران نشان دادند که کرایزین از تکثیر سلول‌های سرطانی HeLa ممانعت و آپوپتوز را در آنها القا می‌کند. به علاوه مطالعات آنها نشان داد که کرایزین دارای اثرات سائتوتوکسیک بر رده سلولی KYSE-510 کارسینومای فلسی مری در یک شیوه وابسته به غلظت و زمان است (۲۵). مطالعات Parajuli و همکاران نیز نشان داد که کرایزین دارای اثرات ضدتوموری خاصی بر دامنه متنوعی از رده‌های سلول سرطانی از جمله سلول‌های U87-MG و U251، سلول‌های MDA-MB231 کارسینومای پستان و سلول‌های سرطان پروستات اعمال می‌کند (۲۶). نتایج مطالعات کرایزین بر سلول‌های گلیومای C6 موش‌های صحرایی نیز نشان داده که تیمار با کرایزین رشد و تکثیر را کاهش می‌دهد. به علاوه کرایزین باعث توقف

References

- Pecorino L. Molecular biology of cancer: Mechanisms, targets, and therapeutics. 3rd. Oxford: Oxford University Press. 2012; pp: 112-83.
- Ajani JA. Evolving chemotherapy for advanced gastric cancer. *Oncologist*. 2005;10(3): 49-58.
- Semnani S, Besharat S, Arabali A, Kestkar AA, Roshandel Gh, Abdolahi N, et al. [Relation between drinking water hardness and the incidence of esophageal and gastric cancers]. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2009; 11(3):76-80. [Article in Persian]
- Asmariyan NS, Kavousi A, Salehi M, Mahaki B. Mapping of Stomach Cancer Rate in Iran Using Area-to-Area Poisson Kriging. *J Health Syst Res*. 2012;8(4) 681-7
- Lang SA, Gaumann A, Koehl GE, Seidel U, Bataille F, Klein D, et al. Mammalian target of rapamycin is activated in human gastric cancer and serves as a target for therapy in an experimental model. *Int J Cancer*. 2007 Apr;120(8):1803-10.
- Wang F, Li T, Zhang B, Li H, Wu Q, Yang L, et al. MicroRNA-19a/b regulates multidrug resistance in human gastric cancer cells by targeting PTEN. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 May; 434(3):688-94.
- Wong H, Yau T. Molecular targeted therapies in advanced gastric cancer: does tumor histology matter? *Therap Adv Gastroenterol*. 2013 Jan;6(1):15-31.
- Sforzin JM, Bankova V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol*. 2011 Jan; 133(2):253-60.
- Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol*. 1998 Apr;36(4):347-63.
- Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol*. 1999 Mar;64(3):235-40.
- Ahn M-R, Kumazawa S, Usui Y, Nakamura J, Matsuka M, Zhu F, et al. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*. 2007;101(4):1383-92.
- Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. 1995;26(2):83-99.
- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res*. 2001 Nov;15(7):561-71.
- Kim DM, Lee GD, Aum SH, Kim HJ. Preparation of propolis nanofood and application to human cancer. *Biol Pharm Bull*. 2008 Sep; 31(9):1704-10.
- Williams CA, Harborne JB, Newman M, Greenham J, Eagles J. Chrysin and other leaf exudate flavonoids in the genus *Pelargonium*. *Phytochemistry*. 1997 Dec;46(8):1349-53.
- Weng MS, Ho YS, Lin JK. Chrysin induces G1 phase cell cycle arrest in C6 glioma cells through inducing p21^{Waf1/Cip1} expression: Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase. *Biochem Pharmacol*. 2005; 69(12): 1815-1827.
- Fu B, Xue J, Li Z, Shi X, Jiang BH, Fang J. Chrysin inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1alpha through reducing hypoxia-inducible factor-1alpha stability and inhibiting its protein synthesis. *Mol Cancer Ther*. 2007 Jan;6(1):220-6.
- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001 Oct;74(4):418-25.
- Khoo BY, Chua SL, Balam P. Apoptotic effects of chrysin in human cancer cell lines. *Int J Mol Sci*. 2010; 11(5): 2188-99.
- Lapidot T, Walker MD, Kanner J. Antioxidant and prooxidant effects of phenolics on pancreatic beta-cells in vitro. *J Agric Food Chem*. 2002 Dec;50(25):7220-5.
- Cho H, Yun CW, Park WK, Kong JY, Kim KS, Park Y, et al. Modulation of the activity of pro-inflammatory enzymes, COX-2 and iNOS, by chrysin derivatives. *Pharmacol Res*. 2004 Jan; 49(1):37-43.
- Kang DW, Min G, Park DY, Hong KW. Rebamipide-induced downregulation of phospholipase D inhibits inflammation and proliferation in gastric cancer cells. *Exp Mol Med*. 2010 Aug; 42(8): 555-64.
- Karagozlu MZ, Kim JA, Karadeniz F, Kong CS, Kim SK. Anti-proliferative effect of aminoderivatized chitooligosaccharides on AGS human gastric cancer cells. *Process Biochemistry*. 2010;45(9):1523-8.
- Markiewicz-Żukowska R, Car H, Naliwajko SK, Sawicka D, Szynaka B, Chyczewski L, et al. Ethanolic extract of propolis, chrysin, CAPE inhibit human astroglia cells. *Adv Med Sci*. 2012;57(2):208-16.
- Zhang T, Chen X, Qu L, Wu J, Cui R, Zhao Y. Chrysin and its phosphate ester inhibit cell proliferation and induce apoptosis in Hela cells. *Bioorg Med Chem*. 2004 Dec;12(23):6097-105.
- Parajuli P, Joshee N, Rimando AM, Mittal S, Yadav AK. In vitro antitumor mechanisms of various *Scutellaria* extracts and constituent flavonoids. *Planta Med*. 2009 Jan;75(1):41-8.
- Kuo HC, Kuo WH, Lee YJ, Lin WL, Chou FP, Tseng TH. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on the growth of C6 glioma cells in vitro and in vivo. *Cancer Lett*. 2006 Mar; 234(2):199-208.
- Woo KJ, Jeong YJ, Park JW, Kwon TK. Chrysin-induced apoptosis is mediated through caspase activation and Akt inactivation in U937 leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Dec;325(4):1215-22.
- Li X, Huang Q, Ong CN, Yang XF, Shen HM. Chrysin sensitizes tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in human tumor cells via suppression of nuclear factor-kappaB. *Cancer Lett*. 2010 Jul; 293(1):109-16.

Original Paper

Effect of Chrysin on AGS human gastric cancer cell line

Amini Sarteshnizi N (B.Sc)¹, Teimori H (Ph.D)*², Zahri S (Ph.D)³
Mobini Dehkordi M (Ph.D)⁴, Khosravi S (Ph.D)⁵, Amini Sarteshnizi R (M.Sc)⁶

¹M.Sc Student in Cellular and Molecular Biology, Department of Biology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ²Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. ³Associate Professor, Department of Biology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ⁴Assistant Professor, Department of Genetic, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. ⁵Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. ⁶M.Sc in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Chrysin is a natural and active biological component which is extracted from plants, honey and propolis. Chrysin has anti-inflammatory, anticancer and antioxidant properties. This study was done to evaluate the effect of chrysin on AGS human gastric cancer cell line.

Methods: In this descriptive - analytic study, chrysin was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) and the cytotoxic effects of concentrations of 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, and 100 μ M/ml of chrysin on AGS cells was evaluated. Viability of the cells was determined with MTT assay after 24, 48 and 72 hours and compared to controls.

Results: Chrysin inhibited the growth and proliferation of human gastric cancer AGS cell line. The antiproliferative effect of chrysin was dose and time dependent. The IC₅₀ values were determined for 60, 30 and 20 μ M, in incubation time of 24, 48 and 72 hour, respectively ($P < 0.05$).

Conclusion: Chrysin proved to have antiproliferative activity on human gastric cancer cells in culture medium.

Keywords: AGS human gastric cancer cell line, Chrysin, MTT assay, Cell viability

* **Corresponding Author:** Teimori H (Ph.D), E-mail: hteimori@skums.ac.ir

Received 8 Feb 2014

Revised 8 Mar 2014

Accepted 9 Mar 2014