



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان
دانشکده پزشکی
گروه بیوشیمی بالینی

بررسی اثر یک کمپکس مس (II) بر بیان برخی ژن های مسیر آپوپتوز در رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) و همچنین مطالعه بر همکنش این ترکیب با آلبومین سرم گاوی (BSA)

اساتید راهنما:

دکتر مهدی محمودی

دکتر محمدرضا حاجی زاده

اساتید مشاور:

دکتر علیرضا خوشدل

دکتر محمد علی فهمیده کار

دکتر محمدرضا میرزایی

دکتر سوده فلاحتی

نگارش:

فاطمه محمدی زاده

زمستان ۱۳۹۶

چکیده

زمینه و هدف: تا کنون تحقیقات زیادی برای کشف ترکیبات ضد سرطانی بر پایه فلز که محدودیت های سیس پلاتین را نداشته باشد، انجام شده است. مس یک فلز احیا کننده و سازگار با سیستم بیولوژی بدن است از اینرو کمپلکس های مسی بهترین جایگزین برای سیس پلاتین محسوب می شوند. در این مطالعه، فعالیت ضد سرطانی $Cu(L)(phen)$ را روی سل لاین سرطانی MCF-7 و همچنین برهمکنش این ترکیب را با آلبومین سرم گاوی بررسی کردیم.

مواد و روش ها: برای تعیین اثر $[Cu(L)(phen)]$ روی رشد سلولهای سرطانی MCF-7 و سلولهای L929 به عنوان سلولهای سالم، سلولها با غلظت های افزایشی کمپلکس مس ($0.6-40 \mu g/ml$)، به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند و میزان رشد سلولها با استفاده از روش MTT ارزیابی شد. میزان تغییر در بیان ژن های bax ، $bcl-2$ ، $p53$ و $Caspase8$ با استفاده از تکنیک Real time PCR بررسی شد. همچنین برهمکنش کمپلکس مس را با BSA توسط اسپکتروفتومتری فلورسانس بررسی کردیم. نتایج: نتایج نشان داد مهار رشد توسط این ترکیب در سلولهای سرطانی بیشتر از دوبرابر نسبت به سلولهای سالم است. این موضوع نشان می دهد که سلولهای سالم آسیب پذیری کمتری به این ترکیب دارند. نتایج Real time PCR در سل لاین سرطانی MCF-7 نشان داد، میزان بیان ژن $bcl-2$ کاهش در حالیکه میزان بیان ژن های bax ، $p53$ و $caspase8$ در مقایسه با سلولهای تیمار نشده و سلولهای L929 تیمار شده با کمپلکس مس، افزایش داشت. همچنین نتایج نشان داد مکانیسم برهمکنش کمپلکس مس با BSA و فرونشانی فلورسانس BSA از نوع استاتیک است.

بحث و نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد، $Cu(L)(phen)$ سبب مهار رشد در سل لاین سرطانی MCF-7 می شود، در حالیکه سل لاین L929 حساسیت کمتری نسبت به این ترکیب دارد $Cu(L)(phen)$. دارای خاصیت سایتو توکسیتی و القا آپوپتوز از طریق هر دو مسیر داخلی و خارجی، در سل لاین سرطانی MCF-7 است که این موضوع در تولید داروهای ضد سرطانی از اهمیت زیادی برخوردار است. همچنین این ترکیب قابلیت اتصال مناسب با آلبومین سرم گاوی را دارد. در نهایت می توان گفت این ترکیب با انجام آزمایشات بیشتر و کارآزمایی های بالینی احتمالاً قابلیت تبدیل به داروی ضد سرطانی را دارد.

کلید واژه ها: آپوپتوز، سرطان، کمپلکس مس، فنانترولین، آلبومین سرم

The effect of a copper (II) complex on the expression of some apoptotic pathway genes in the breast cancer cell line (MCF-7) and also the study on the interaction of this compound with bovine serum albumin (BSA).

Abstract:

Aim and background: there is concerted effort to discover newer metal-based cancer chemotherapeutic agents that could overcome the limitations of cisplatin and copper is biocompatible and redoxactive metal and cu complexes offers potential as alternative to cisplatin. The present study aimed to evaluate the anti-breast cancer activities of [Cu(L)(phen)] using human breast adenocarcinoma cell line (MCF7) and interaction properties with BSA were investigated **Method:** To determine the effect of [Cu(L)(phen)] on growth of breast cancer MCF-7 and L929 as normal cell were treated with increasing concentrations of Cu complex (0.6–40 μ M) for 24 , 48h, and cell growth was assessed by MTT assay. The fold changes of bax, bcl-2, p53 and caspase-8 expression were determined by real-time-PCR technique. Also we demonstrated the interaction between cu complex and BSA by fluorescence spectroscopy.

Results & Conclusions: The results showed that growth inhibition by this compound in cancer cells was more than two times normal cells ($p < 0.05$). This suggests that normal cells are less susceptible to this compound. Real time- PCR analysis in MCF-7 cell line, indicated that the gene expression level of Bcl-2 down-regulated while bax, p53 and caspase-8 were up-regulated in compare to untreated control cells and L929 cells treated with cu complex. The invitro results indicate that the quenching mechanism of fluorescence of BSA by cu complex is a static quenching procedure. Conclusion The present study confirmed that [Cu(L)(phen)] complex exerted inhibitory effects on MCF-7 cells, whereas L929 (normal cells) was less sensitive to the complex. The Cu complex exhibited cytotoxic activities and induced apoptosis via both extrinsic and intrinsic pathways in MCF-7 cells, that could be useful in the production of anti-cancer drugs. The complex also indicated good binding propensity to BSA. Finally, we found that [Cu(L)(phen)] complex possess the potential for development as an anti-cancer drug for human breast cancer. Moreover, future studies are required to investigate DNA interaction, cleavage and molecular mechanisms involved in apoptosis induction of [Cu(L)(phen)] complex.

Keywords: Apoptosis, cancer, Cu complex, phenanthroline, BSA



Rafsanjan University of Medical Sciences
Medical School
Clinical Biochemistry Department

The effect of a copper (II) complex on the expression of some apoptotic pathway genes in the breast cancer cell line (MCF-7) and also the study on the interaction of this compound with bovine serum albumin (BSA).

Supervisors:

Dr. Mahdi Mahmoodi
Dr. Mohammad Reza Hajizadeh

Advisors:

Dr. Alireza Khoshdel
Dr. Mohammad Ali Fahmideh Kar
Dr. Mohammad Reza Mirzaei
Dr. Soodeh Falahati

By:

Fatemeh Mohammadizadeh

Winter 2018