بررسی اثر عصاره رزماری در بیان ژن BAX و BCL-2 در رده سلول سرطانی غدد پستانی سگ (CF41.Mg)

سمانه شبانی[۱]، پژمان مرتضوی[۲*]

چکیده

آپوپتوزیس به مرگ برنامه‌ریزی شده ژنتیکی سلول گفته می شود که در بسیاری از شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک نقش مهمی ایفا میکند. پروتئین BAX بـه عنـوان یـک پروتئین کلیدی در آپوپتوز القاء شده توسط عوامـل مختلـف در مسیر داخلی آپوپتوز عمل نموده و BCL -2 یک اثـر آنتـی آپوپتوتیـک در پاسخ به محرک های مختلف آپوپتوز از طریق جلوگیری از رها شدن سیتوکروم C از میتوکندری، دارد.

در مطالعه‌ی حاضر اثر دزهای مختلف عصاره گیاه رزماری بر بیان ژن‌های BCL-2 و BAX بر روی سلول‌های سرطان پستان سگ (CF41.Mg)، در محیط invitro مورد بررسی قرار گرفت و با گروه کنترل (که رده‌ی سلولی CF41.Mg بدون دارو بود) مقایسه شد. سلول‌ها با دوزهای۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۰ و ۵ میکرومولار عصاره گیاه رزماری به مدت ۷۲، ٤۸ و ۲٤ ساعت تحت درمان قرار گرفتند. سپس با استفاده از روش MTT، اثر غلظت های مختلف عصاره روی حیات سلولی مورد بررسی قرار گرفت.

با استفاده از روش Real Time PCR میزان بیان ژنهایBCL2 و BAX در گروههای تحت درمان با مقادیر مختلف عصاره رزماری سنجش شد. نتایج نشان دهنده افزایش بیان ژن BAX در دز ۲۵ میکرو مولار پس از ٤۸ ساعت کشت سلولی بود. این نتایج حاکی از آن است که فعالیت ضد توموری این عصاره پس از ٤۸ ساعت و با دز ۲۵ mg/ml موثر تر واقع شده است. نتایج حاصل از این پژوهش تأیید کننده‌ی اثر مهاری عصاره گیاه رزماری بر تکثیر رده ی سلول سرطانی CF41.Mg می‌باشد.

واژگان کلیدی: تومور غدد پستانی سگ، کشت سلول، عصاره گیاه رزماری، BAX،BCL-2.

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/٦/۲

مقدمه

بدن موجود زنده، مجموعه‌ای از سلول‌هایی است که هر کدام وظیفه‌ی خاصی بر عهده دارند. اگر سلولی به صورت غیرقابل کنترل، رشد و تکثیر پیدا کند، مشکلات متعددی برای خود و دیگر سلول‌ها ایجاد خواهد کرد (٤). سرطان در واقع رشد غیر قابل کنترل سلول است. تکثیر سلولی، منجر به تشکیل توده‌ای موسوم به «نئوپلاسم» یا «تومور» می‌شود که ممکن است با انتشار به محل‌های دورتر به متاستاز منتهی گردد. اساس ایجاد تمام نئوپلاسم‌ها فقدان پاسخ به مهارهای طبیعی رشد و همچنین فقدان کنترل چرخه‌ی سلولی است (۲).

در جوامع انسانی، سرطان پستان یکی از شایع‌ترین و کشنده‌ترین بیماری‌ها در زنان است. این بیماری بعد از سرطان ریه، مهم‌ترین عامل مرگ ناشی از سرطان در زنان می‌باشد(٤). در سگ‌سانان نیز تومورهای غدد پستانی، شایع‌ترین تومورها از بین انواع تومورها بعد از تومورهای پوستی هستند. شیوع این تومور در سگ‌ها سه برابر انسان‌ها است(۱۱).

سگ و انسان تا حدودی شباهت ژنومی دارند؛ بنابراین می توان از سگ جهت بررسی بیماری‌های مونوژنیک و پیچیده‌ی ژنتیکی به عنوان یک مدل استفاده کرد (۱۱).

یکی از فاکتورهایی که در بروز سرطان نقش دارد، آسیب ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد در سلول‌هاست. از طرفی مصرف گسترده‌ی داروهای رایج ضدسرطان از قبیل تاکسان و آنتراسیکلین‌ها موجب ایجاد مقاومت‌های درمانی نیز می‌شود به طوری که سایر گزینه های درمانی را محدود می‌کنند. در حال حاضر یکی از روشهای رایج درمانی در ارتباط با سرطان غدد پستانی سگ، روش جراحی برداشت غدد پستانی درگیر (Mastectomy) می‌باشد(۱۱).

شواهد قابل ملاحظه‌ای که از مطالعات شیمیایی و تحقیقات کشت سلول به‌دست آمده است نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان‌ها

۱- دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه ازاد اسلامی ،تهران، ایران

*۲- دانشیار گروه پاتولوژی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه ازاد اسلامی، تهران، ایران (sp.mortazavi@gmail.com)

ممکن است در پیشگیری‌های اولیه، بروزسرطان را کند نمایند، یا احتمالاً از بروز آن جلوگیری کنند (۲).

اثرات مختلف ضدتوموری از قبیل القای آپوپتوز، ضد رگزایی، القای تمایز سلولی همچنین خواص آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و تغییر متابولیسم کارسینوژنی در عصاره گیاه رزماری مشاهده شده است(۱۰و۳). با توجه به نقش مهم آنتی اکسیدان ها در تنظیم و کنترل تومورها و البته خواص درمانی آنها و اینکه بیشتر تحقیقات پیرامون تاثیر این مواد در انسان بوده است و همچنین مطالعه ای مبنی بر اثر گیاه رزماری روی سلول های سرطانی پستان سگ و بیان ژنهای BCL2و BAX صورت نگرفته است، این تحقیق سعی دارد به بررسی اثر عصاره رزماری در سرطان پستان سگ که نسبت به سایر سرطان ها در این حیوان شایع تر است بپردازد. در این تحقیق از رده سلولی سرطانی غدد پستانی سگ و کشت آن بهره گرفته شده است.

مواد و روش کار

این مطالعه از نوع تجربی بوده و کلیه مراحل کـار در آزمایشـگاه کشت سلول دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقـات انجـام گرفته است. مراحل کار بطور خلاصه به شرح زیر می‌باشد.

۱- تهیه گیاه و عصاره گیری

ابتدا پس از جمع آوری برگ گیاه رزماری (که از عطاریهای سطح شهر تهران انجام گرفت)، آنها را خشک نموده و با استفاده از الکل اتانول ۷۰٪ به نسبت ۱۰ به ۱ عصاره‌گیری صورت گرفت(۳).

۲ – کشت و پاساژ رده‌ی سلولی

رده سلولی سرطان غدد پستانی سگCF41.Mg از بانک سلولی انستیتیو پاستور ایران تهیه گردید. محیط کشت DMEM (high glucose) بر اساس دستور تهیه شرکت سازنده(sigma) ساخته شد و محلول ۲۵٪ Tripsin-EDTA جهت پاساژ سلول آماده گردید.

رده سلولی سرطانی در محیط کشت DMEM که محتوی ۱۰درصد سرم جنین گاوی همراه با ۱۰۰ میکرولیتر جنتامایسین بود، کشت داده شد. سلول‌ها در انکوباتور حاوی ۵٪ co2، ۹۵٪ هوا، ۹۵٪ رطوبت و دمای ۳۷ درجه قرار داده شده و محیط کشت سلول‌ها بر حسب نیاز و به طور میانگین هر سه روز یکبار تعویض و زمانی که به ۸۵٪ هم بارزی (confluency) رسید پاساژ داده شد.

۳- تیمار رده‌ی سلولی با غلظت‌های مختلف عصاره رزماری

سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای با دانسیته سلولی ۳۰۰۰۰ سلول بر میلی‌لیتر (که بر اساس رنگ سنجی با تریپان بلو و شمارش در لام هموسیتومتر انجام گرفت)، کشت داده شده و در دو گروه کلی شامل گروه کنترل بدون اضافه کردن هیچ دارویی در سه بازه ۷۲، ٤۸ و۲٤ ساعت و گروه تیمار با عصاره رزماری با پنج دوز ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۰ و ۵ میکرومولار در سه بازه ۲٤و ٤۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند(۳).

٤- بررسی کمیت سلول‌ها به روش MTT assay

به منظور ارزیابی اثر مهاری عصاره رزماری روی زیست پذیری سلول‌های CF41.Mg از آزمون MTT استفاده شد. جهت انجام این آزمایش، محلول MTTبا غلظت نهایی ۰/۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر به محیط کشت هر خانه پلیت اضافه شد و ٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس محیط خارج و رسوب در ایزوپروپانول حاوی ۰/۰۸درصد HCLحل و جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر خوانده شد. در نهایت درصد سلول‌های زنده با فرمول: نسبت ODexp به ODcon ضرب در ۱۰۰ ، محاسبه گردید. ODexp و ODcon به ترتیب جذب نوری گروه مواجه یافته و گروه کنترل است. میزان جذب به طور مستقیم با تعداد سلول‌های زنده متناسب است.

۵- آزمایشات RT PCR و Real Time PCR

برای فهم مکانیسم‌های درگیر در القای مرگ سلولی ، به ترتیب پس از زمان‌های ۲٤و ٤۸ و ۷۲ ساعت، RNA آن ها طبق

دستور العمل رایج، استخراج گردید(۷). سپس مراحل تبدیل RNAبه cDNA، انجام گرفت.. جهت تبدیل RNA به cDNA از کیت RevertAid First Strand Synthesis Kit cDNA شرکت فرمنتاز (Thermo) استفاده شد. پس از سنتز cDNA به منظور بررسی بیان ژن‌های درگیر در آپوپتوز، ژنهای BCL2 و BAX انتخاب گردید و به منظور اعتبار سنجی آزمون، از ژن کنترلS26 (که در تمام سلول‌ها بیان می گردد) استفاده گردید.بدین منظور، از پرایمرهای جدول ۱ در آزمون RT-PCR استفاده شد.

جدول ۱ـ ترادف نوکلئوتیدی مورد استفاده برای بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه که از بانک ژن NCBI استخراج گردیده است.

پرایمر	ترادف (5´ → 3´)	اندازه باند
S26	Forward: CGTGCTTCCCAAGCTGTACGTGA Reverse: CGATTCCGGACTACCTTGCTGTG	75 bp
BAX	Forward:TTCCGAGTGGCAGCTGAGATGTTT Reverse:TGCTGGCAAAGTAGAAGAGGGCAA	79 bp
BCL-2	Forward:CATGCCAAGAGGGAAACACCAGAA Reverse:GTGCTTTGCATTCTTGGATGAGGG	76 bp

طبق دستورالعمل، بعد از تهیه مواد در یک میکروتیوب ۰/۲ میلی لیتر به همراه شاهد مثبت و منفی(شاهد مثبت شامل نمونه استخراج شده از موش صحرایی و در کنترل منفی به جای cDNA، آب مقطر به مواد PCR افزوده شد) به دستگاه Thermo cycler منتقل شد. پس از اتمام کار دستگاه Thermo cycler محصول RT-PCR به روی ژل آگاروز ۱/۵٪ برده شد.

سپس برای بررسی میزان بیان ژن های مورد نظر از آزمون Real Time-PCR استفاده گردید. در این روش نیز از پرایمرهای جدول ۱ استفاده شد و محتویات PCR Master Real time –mix طبق جدول ۲ اضافه گردید.

جدول ۲ـ محتویات Real time –PCR Master mix به ازای یک نمونه جهت بررسی یک ژن.

ماده	میزان بر اساس میکرو لیتر
Master mix	۱۲/۵
آب مقطر	۸/۵
Forward Primer	۰/۵
Reverse Primer	۰/۵
cDNA	۳
حجم کل	۲۵

پس از انتقال به دستگاه Thermo cycler طبق برنامه زمانی و دمایی جدول ۳، Real Time PCR انجام شد.

جدول۳ـ برنامه زمانی و دمایی آزمون Real Time-PCR برای ژن‌ها

مرحله	دما	زمان	تعداد تکرار
UNG treatment[1]	۵۰ درجه سلسیوس	۲ دقیقه	۱
Initial denaturation and polymerase activation	۹۵ درجه سلسیوس	۲ دقیقه	۱
Denaturation	۹۵ درجه سلسیوس	۱۵ ثانیه	۵۰-۴۰
Annealing and elongation	۶۵-۶۰ درجه سلسیوس[۲]	**۱ دقیقه**[۳]	۵۰-۴۰

۱- چرخش تکاملی مرحله ۱ تنها در صورتی لازم است که UNG(اوراسیل-ان-گلیکوزیلاز) تیمار اعمال شود.۲-دمای اتصال بستگی به درجه ذوب پرایمرها و پروب DNAاستفاده شده، دارد.۳-زمان بسط بستگی به طول قطعه دارد (۱دقیقه برای قطعه ۵۰۰ جفت باز).

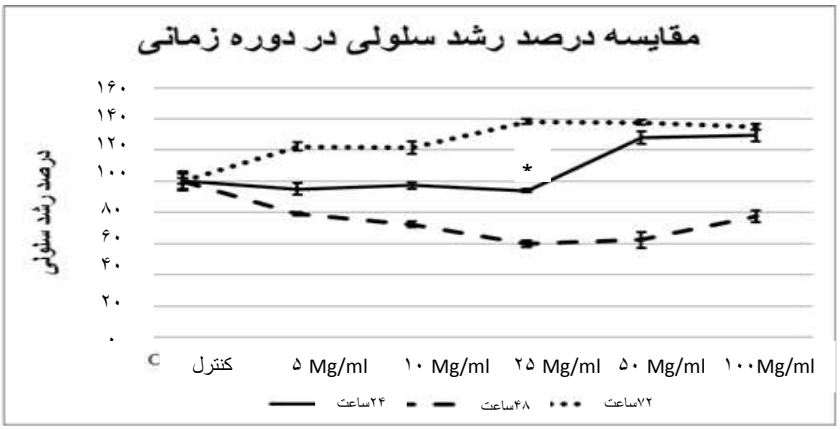
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تائید تست Dunnett و با استفاده از نرم افزارs ۱۸ Spss انجام شد. نمودارها از طریق نرم‌افزار sigmaplat رسم شدند و$P<۰/۰۵$ به عنوان اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شده است.

نتایج

بررسی نتایج MTT

نتایج آزمون MTT نشان داد که عصاره گیاه رزماری توانسته در دزهای مختلف باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطانی شود. نتایج این بررسی در نمودار ۱ نشان داده شده است.

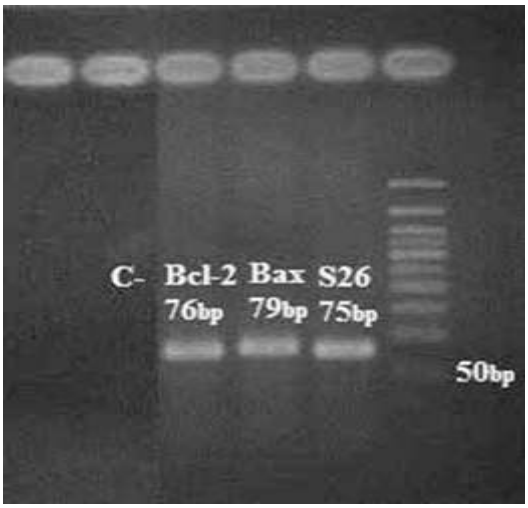


نمودار ۱ـ مقایسه تاثیر دوزهای مختلف عصاره رزماری در ساعت‌های مختلف کشت در آزمون MTT (*نشان‌دهنده سطح معنی‌دار در $P<۰/۰۵$ می‌باشد).

مقایسه درصد رشد سلولی در دوره‌های زمانی ۲٤و ٤۸ و ۷۲ ساعت نشان می دهد که عصاره رزماری با دز۲۵ mg/mlدر زمان ٤۸ ساعت بیشتر اثر خود را گذاشته و موجب کاهش رشد سلول های سرطانی شده است.

نتایج آزمون RT-PCR

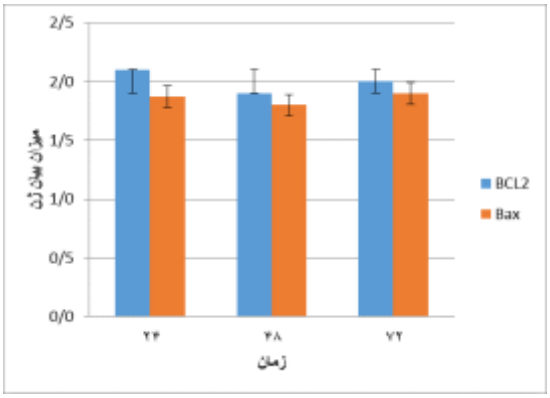
در آزمایش RT PCR، ژن های BCL2 و Bax وs26 در تمام گروههای کنترل و درمان تحت مطالعه در ژل آگارز در بالاتر از۵۰ bp، بیان گردید(نگاره ۱). بنابراین با توجه به بیان ژنها در تمام گروه‌ها، مجبور به استفاده از آزمون Real Time PCR شدیم تا با استفاده از آن به صورت کمی، میزان بیان ژنها در هر کدام از گروه‌های آزمایش مشخص گردد.



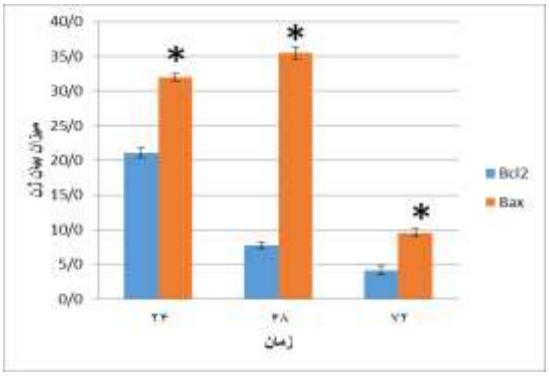
نگاره ۱ـ بیان ژن های BCL2، Bax و S26 در گروه۲۵ mg/ml در ٤۸ ساعت. Cنشان دهنده کنترل منفی است.

نتایج آزمون Real Time PCR

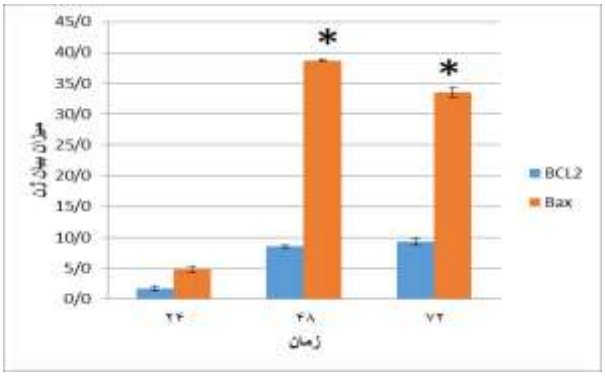
میزان بیان ژن‌های BCL-2, BAX در نمودارهای ۲ تا ٦ آمده است. همانطور که مشاهده می گردد بیان ژن BAX به عنوان یک ژن پیش برنده آپوپتوز در ٤٨ ساعت پس از درمان با عصاره رزماری با دز ۲۵ mg/ml نسبت به بقیه گروه‌ها بیشتر بوده است که دقیقا مطابق با آزمون MTT بوده است. در همین دوز میزان بیان ژن BCL2 به عنوان یک ژن مهارکننده آپوپتوز به طور معنی‌داری پایین بوده است. لازم به ذکر است با توجه به آنکه فقط بیان ژن s26 به عنوان ژن کنترل در آزمون RT PCR مورد استفاده قرار می‌گیرد، در آزمون کمی Real Time مورد استفاده قرار نگرفته است(۷).



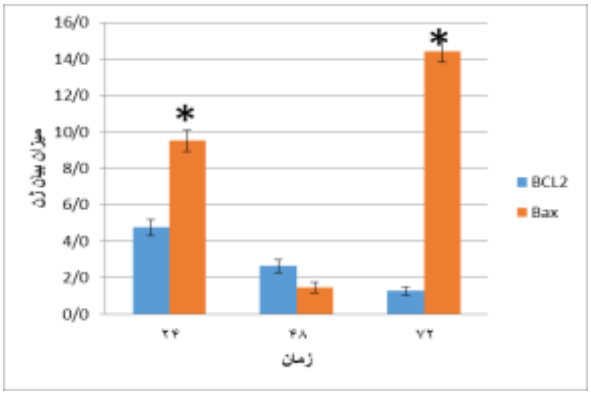
نمودار ۲ـ مقایسه بین میزان بیان ژن BCL2 و Bax در بازه زمانی مختلف در کشت‌های سلولی تحت درمان با دز ۵۰mg/ml(اختلاف آماری معنی‌داری در P<۰/۰۵ مشاهده نمی‌گردد).



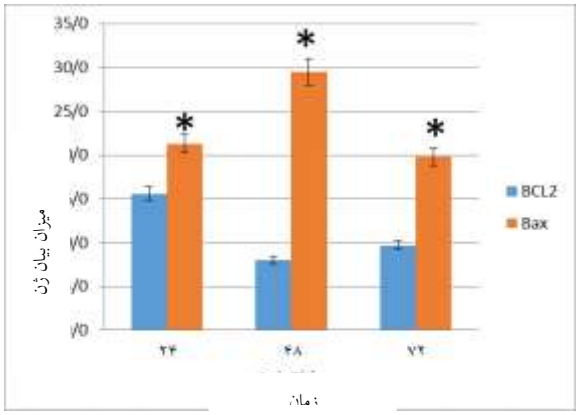
نمودار۳ـ مقایسه بین میزان بیان ژن BCL2 و Bax در بازه زمانی مختلف در کشت‌های سلولی تحت درمان با دوز ۱۰mg/ml(*نشان‌دهنده سطح معنی‌دار در P<۰/۰۵ می‌باشد).



نمودار٤: مقایسه بین میزان بیان ژن BCL2 و Bax در بازه زمانی مختلف در کشت‌های سلولی تحت درمان با دوز ۲۵mg/ml(*نشاندهنده سطح معنی‌دار در P<۰/۰۵ می‌باشد).



نمودار ۵ـ مقایسه بین میزان بیان ژن BCL2 و Bax در بازه زمانی مختلف در کشت‌های سلولی تحت درمان با دوز ۵۰mg/ml(*نشاندهنده سطح معنی‌دار در P<۰/۰۵ می‌باشد).



نمودار ٦ـ مقایسه بین میزان بیان ژن BCL2 و Bax در بازه زمانی مختلف در کشتهای سلولی تحت درمان با دوز ۱۰۰mg/ml(*نشاندهنده سطح معنی‌دار در P<۰/۰۵می باشد).

بحث

در این مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره رزماری بر میزان رشد سلول‌های سرطانی غدد پستانی سگ در محیط کشت سلول مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره گیاه رزماری توانایی مهار رشد سلول‌های سرطانی غدد پستانی سگ را داشته که در دز ۲۵mg/mlو در ٤٨ ساعت پس از درمان بیشترین اثربخشی را داشته است. همچنین نتایج نشاندهنده میزان بالای ژن BAX به عنوان یک ژن پیش برنده آپوپتوز در همین دز دارویی و بازه زمانی بوده است. اثرات ضد سرطانی گیاه رزماری در مطالعات اندکی که بر روی برخی سلول‌های سرطانی انجام گرفت، مشاهده شده است. در مطالعه همتا و همکاران(۱۳۹۰) که به منظور بررسی خواص ضد سرطانی تاکسول و عصاره های الکلی و آبی رزماری بر سلول های سرطان پستان القا شده توسط DMBAدر رت های نژاد SD صورت گرفت، نتایج حاصل حاکی از اثر سایتوتوکسیک این عصاره بر روی سلول های سرطانی بود که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد (۳).

در مطالعه بشاش و همکاران(۱۳۹۱)، نقش عصاره گیاه خارمریم برروی سلول‌های سرطانی پستان رده MCF7 بررسی گردید و مشخص شد که میزان بیان mRNA ژن BAX از نظر آماری به طور معناداری افزایش پیدا کرده است، در حالی که در بیان BCL2 تغییری مشاهده نگردید. در PCR هم میزان بیان پروتئین BAX به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد در حالی که در بیان BCL2 تاثیری نداشته است(۱). در این مطالعه، اثربخشی عصاره گیاه خارمریم بر روی سرطان پستان انسان تائید گردید. در تحقیق حاضر نیز ما با استفاده از عصاره رزماری به همین نتایج مبنی بر بیان معنادار ژن BAX دست یافتیم. در مطالعه ما نیز یشترین میزان بیان ژن BAX در دوز ۲۵ و پس از ٤٨ ساعت مشاهده گردید که منطبق با نتایج آزمون MTT بود (۱).

Lee و همکاران (۱۹۹٦)، با مطالعه روی ۱۰۱ بیمار مبتلا به سرطان مجاری پستان نشان دادند که درصد مثبت شدن ژن BCL2 در درجات پایین‌تر بدخیمی، بیشتر می‌باشد و به این ترتیب، بیان ژن BCL2 می‌تواند با پیش اگهی خوبی همراه باشد. در مطالعه حاضر نیز با استفاده از عصاره رزماری افزایش بیان ژن BAX به‌عنوان عامل پیش برنده آپوپتوز نسبت به ژن BCL-2 در جلوگیری از رشد سلول های سرطانی مشاهده گردید که با مطالعه Lee و همکاران مطابقت دارد (٦).

Kroger و همکاران (۲۰۰٦)، ۳۰۲نمونه سرطان پستان با درگیری بیش از ۱۰ گره لنفاوی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که BCL2 یک عامل پیش اگهی مثبت برای بقا می باشد. ولی فاکتور پیش گویی کننده در سرطان اولیه پستان نمی باشندنتایج مطالعه ما با مطالعه Kroger و همکاران مطابقت ندارد چون میزان بالای مرگ سلول‌های سرطانی در مطالعه حاضر با بیان پایین BCL2 همراه بود (۸).

Silvestrini وهمکاران (۱۹۹٤) بر روی ۲۸۳ نمونه کارسینوم پستان بدون درگیری غدد لنفاوی مطالعه ای انجام دادند و به این نتیجه دست یافته اند که بیان ژن BCL2 با بقای کلی و عدم عود ٦ ساله سرطان همراه می باشد. در مطالعه حاضر نیز بیان بالای ژن BAX و میزان پایین بیان ژن BCL2 با میزان بالای مرگ سلول‌های سرطانی ارتباط مستقیم و معنی‌داری را نشان داد که با مطالعه Silvestrini وهمکاران مطابقت دارد (۹).

Gasparini و همکاران (۱۹۹۵) در مطالعه ای با روش ایمنوهیستوشیمی که روی ۱۸۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان اولیه که درگیری غدد لنفاوی داشتند، مشخص کردند که بین میزان بیان ژن BCL2 و درگیری غدد لنفاوی ارتباطی وجود ندارد و گروهی که BCL2 مثبت هستند پیش اگهی بهتر و بقای ۵ ساله بدون عود دارند که مخالف نتایج مطالعه ما می باشد (۵).

Linjawi و همکاران (۲۰۰٤) در مطالعه ای که بر روی ۷۵ نمونه سرطان پستان انجام دادند، نشان دادند که بیان BAX وBCL2 با میزان بقا ارتباط نداشت و P53 جهش یافته با کاهش واضح در میزان بقای عمر ۵ساله همراه بود (۷).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر با مطالعات صورت گرفته توسط Kroger، Silverstrini و Gasparini مطابقت داشت اما با توجه به ارتباط مستقیم بیانBax با مرگ سلول‌های سرطانی در مطالعه حاضر، نتایج این تحقیق با مطالعه Linjawi مغایرت دارد (۹و ۵،۷،۸).

در مطالعه حاضر بغیر از دوز ۵mg، بقیه دوزها دارای اثرات مهارکنندگی بر رشد سلول‌های سرطانی بودند، ولی میزان سیتوتوکسیسیته عصاره رزماری در دوز ۲۵ mg و در بازه زمانی ٤۸ ساعت پس از کشت سلول نسبت به بقیه دوزها و درساعات مختلف بیشتر بوده است.

همچنین پس از سنجش میزان بیان ژن BAX بعنوان یک عامل پیش برنده آپوپتوز و مرگ سلولی، مشخص گردید که بیشترین میزان بیان این ژن در دزmg ۲۵و پس از ٤۸ ساعت کشت سلولی بوده است که کاملا با نتایج حاصل از MTT مطابقت دارد.

میزان بیانBCL2 نیز به طور معنی‌داری کاهش یافته است. البته لازم به ذکر است که میزان بیان BAX در ۲٤ و ۷۲ ساعت نیز در دزهای ۱۰و ۵۰ و ۱۰۰ نیز افزایش داشته ولی بیشترین میزان آن مربوط به دز ۲۵ و زمان ٤۸ ساعت بوده که این امر ممکن است به علت اشباع گیرنده های سطح سلولی در دوزهای بالاتر از ۲۵ mg باشد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر و همچنین تحقیقات گذشته باید بیان کرد که میزان بالای بیان ژنBCL2 در جلوگیری از پیشرفت سرطان میتواند نقش کلیدی داشته باشد. چون مطالعه حاضر بر روی محیط کشت سلول‌های سرطانی بوده است، بنابراین بیان این ژن نقشی در مهار رشد سلولی نداشته است و برعکس بیان بالای ژن BAX توانسته از رشد سلول‌های سرطانی جلوگیری کند.

با توجه به دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی بالای گیاه رزماری که در تحقیقات گذشته نیز به اثبات رسیده است (۱۰و۳) و با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می توان بیان نمود که عصاره گیاه رزماری از طریق القا آپوپتوز بواسطه افزایش بیان ژن BAX باعث از بین بردن سلول‌های سرطانی رده CF41.Mg شده است.

البته لازم به ذکر است با توجه به رفتارهای متفاوت سلول‌های سرطانی در داخل بدن نسبت به محیط کشت سلول لزوم تحقیقات بیشتر بخصوص مطالعه در مدل‌های حیوانی آزمایشگاهی و به دست آوردن موثرترین دوز در این زمینه وجود دارد.

باید توجه داشت که سرطان در اثر عوامل متعددی ایجاد می شود، بنابراین راه درمان آن نمی تواند محدود به استفاده از یک روش درمانی و داروئی بوده و می بایست که ترکیبی از روشهای درمانی که کمترین اثر سوء را بر روی سلول‌های زنده داشته باشند بکار گرفته شود و استفاده از گیاهان داروئی به عنوان ترکیبات غنی از آنتی اکسیدان با حداقل اثرات سوء بر سلول‌های میزبان یکی از روش‌های درمانی در کنار دیگر درمان‌ها می‌باشد.

فهرست منابع

۱. بشّاش، د.، صفا، م.، شهبازی، ع.، محمدیان، م. (۱۳۹۱): اثر آپوپتوتیکی عصاره گیاه خارمریم برروی سلول سرطان سینه رده MCF-7، فصلنامه علمی- پژوهشی طب مکمل، ۱: ۹۵-۸۵.

۲. پکورینو، ل. (۱۳۹۱): زیست شناسی مولکولی سرطان، ترجمه‌ی امیری نودیجه، ع.، داوری، م. نشر خانه‌ی زیست‌شناسی تهران، ایران،: ۱۰-۱۱.

۳. همتا، الف.، پروینی، پ. (۱۳۹۰): بررسی خواص ضد سرطانی تاکسول و عصاره های الکلی و آبی رزماری بر سلول های سرطانی پستان القا شده توسط DMBAدر رت های نژادSD، مجله علمی سلول و بافت، ۲ (۲): ۱۲٦-۱۱۷

4. Croce, C.M. (2008): Oncogenes and cancer. N Engl J Med. 358(5): 502–11.
5. Gasparini, G., Barbareschi, M., Doglioni, C., Palma, P.D., Mauri, F.A., Boracchi, P. (1995): Expression of bcl-2 protein predicts efficacy of adjuvant treatments in operable node-positive breast cancer. Clin. Cancer. Res.1 (2): 189-98.
6. Lee, W.Y., Jin, Y.T., Tzeng, C.C. (1996): Reciprocal expression of Bcl-2 and P53 in breast ductal carcinoma. Anticancer Res. 16(5): 3007-312.
7. Li njawi, A., Kontogiannea, M., Halwani, F., Edwardes, M., Meterissian, S. (2004): prognostic significance of P53, bcl-2, and Bax expression in early breast cancer. J. Am. Coll. Surg. 198(1): 83-90.
8. Kroger, N., Langosch, K., Riethdorf, S., Schmoor, C., Schumacher, M., Zander, A.R. (2006): Prognostic and predictive effects of immunohistochemical factors in high- risk primary breast cancer patients. Clin. Cancer. Res. 12(1): 159-68.
9. Silvestrini, R., Veneronis, S., Daidone, M.G., Benini, E., Boracchip, P., Mezzettim, M. (1994): The Bcl2 protein: a prognostic indicator strongly related to P53 proteiN in Lymph node-negative breast cancer Patients. J. Natl. Cancer. Inst. 86(7): 499-504.
10. Sakr, S.A., Lamfon, H.A. (2012): Protective Effect of Rosemary (Rosmarinus Officinalis) Leaves Extract on Carbon Tetrachloride - Induced Nephrotoxicity in Albino Rats. Life. Sci. J. 9(1):779-785
11. Wilbe, M., Jokinen, P., Truve, K. (2010): Genome-wide association mapping identifies multiple loci for a canine SLE-related disease complex. Nate. Genet. 42:250-254.