

## تأثیر سیتوتوکسیک کورکومین (curcumin) بر توان زیستی و میزان بیان ژن‌های *p21* و *Bcl-2* در رده سلولی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736)

پریناز توکلی<sup>۱</sup>، لیلا روحی<sup>۲\*</sup>، سمیه رئیسی<sup>۳</sup>، خلیل خاشعی ورنامخواستی<sup>۴</sup>

۱. کارشناس ارشد، گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳. استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه دولتی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. مربی، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون، کازرون، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** کارسینومای آناپلاستیک تیروئید (ATC)، یکی از انواع بدخیمی‌های تیروئیدی است. پیش‌آگاهی ATC بد بوده و مبتلایان دارای بقاء ۲-۶ ماهه هستند. در مطالعه‌ی حاضر اثر کورکومین بر توان زیستی و میزان بیان ژن‌های *p21* و *Bcl-2* در رده سلولی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736) مورد بررسی قرار گرفت.

**روش‌ها:** در این مطالعه رده سلولی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736) در محیط کشت RPMI-1640 با ۱۰٪ سرم جنین گاوی کشت داده شد. با تیمار سلول‌ها در غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار کورکومین و انکوبه شدن در طی زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، توان زیستی با روش رنگ سنجی MTS تعیین گردید. میزان بیان ژن‌های *p21* و *Bcl-2* نیز به وسیله‌ی آنالیز Real Time-PCR در رده سلولی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید تیمار شده، مشخص گردید.

**نتایج:** بر طبق یافته‌ها، توان زیستی سلول‌های آناپلاستیک تیروئید در هر دو زمان انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت، در تیمار با غلظت ۷/۵ میکرومولار از کورکومین به طور چشمگیرتری نسبت به گروه کنترل و در مقایسه با گروه‌های آزمایشی دیگر کاهش یافت. همچنین تیمار سلول‌ها با غلظت‌های (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار) کورکومین به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، سبب تغییر معنی‌داری در میزان بیان ژن *Bcl-2* و *p21* نسبت به گروه کنترل گردید.

**نتیجه‌گیری:** کورکومین اثر مهاری بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی آناپلاستیک تیروئیدی انسان دارد.

### کلید واژه‌ها:

کورکومین، *p21*، *Bcl-2*، رده سلولی SW-1736، کارسینومای آناپلاستیک، تیروئید

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

### مقدمه

دارند، ولی سن ابتلاء معمولاً بین ۵۵-۶۵ سالگی و اوج آن در دهه‌ی ۶۰-۷۰ سالگی است. همچنین احتمال ابتلای زنان به این بیماری ۳ برابر بیشتر از مردان است و پیش‌آگاهی در مورد آن حداکثر ۴-۱۲ ماه از زمان تشخیص اولیه است (۲-۴).

کارسینومای آناپلاستیک تیروئید (anaplastic thyroid cancer (ATC) یکی از بدخیم‌ترین و کشنده‌ترین تومورهای جامد شناخته شده در انسان می‌باشد (۱). این تومورها بسرعت رشد کرده، بافت اطراف گلو را درگیر می‌کنند و به کندی به درمان پاسخ می‌دهند. حدود ۹۰٪ مبتلایان بیش از ۵۰ سال سن

\*آدرس نویسنده مسئول: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیولوژی

آدرس پست الکترونیک: [lrouhi59@gmail.com](mailto:lrouhi59@gmail.com)

ژن‌های دخیل در مرگ برنامه ریزی شده‌ی سلول نظیر *Bcl-2* و *p21* انجام می‌دهد (۱۱).

ژن *Bcl-2* در موقعیت کروموزومی ۱۸q۲۱ قرار دارد و وزن مولکولی پروتئین آن ۲۵ کیلو دالتون و طولش ۲۳۹ اسید آمینه می‌باشد. این پروتئین فعالیت آنزیم‌های کاسپازی را تنظیم می‌کند و در همکاری با پروتئین‌های *Bcl-2*، *Bcl-X* و *Mcl-1* مانع از مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود (۱۲). *p21* پروتئینی از خانواده *Cip/kip* و رمز شونده توسط ژن *WAF1* واقع در موقعیت کروموزومی 6p21.2 می‌باشد که نقش مهمی در عبور از فاز *G1* به فاز *S* و کنترل چرخه سلولی ایفا می‌کند. بعلاوه این پروتئین در فرآیندهای آپوپتوز، ترمیم *DNA* و رشد سلولی نیز نقش دارد. فعالیت ژن رمزکننده‌ی پروتئین *p21* سبب توقف یا کندی سیکل سلولی تا زمانی که سطح انرژی سلول به حالت طبیعی بر گردد، می‌شود. به محض وقوع آسیب در *DNA*، سطح *p53* به منظور ترمیم *DNA* یا القاء آپوپتوز افزایش می‌یابد. در این زمان پروتئین *p53* از طریق اتصال به *DNA* باعث تحریک ژن *WAF1* می‌شود. پروتئین *P21* به پروتئین *CDK2* می‌چسبد و اجازه‌ی ورود سلول به مرحله‌ی بعد را نمی‌دهد و سیکل سلولی را به منظور انجام ترمیم متوقف می‌کند (۱۴، ۱۳). در نتیجه نیاز به تحقیقات هر چه بیشتر جهت تایید اثرات ضد سرطانی کورکومین، در مطالعه حاضر اثر کورکومین بر توان زیستی و میزان بیان ژن‌های *p21* و *Bcl-2* در رده سلولی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان -SW (1736) مورد بررسی قرار گرفت.

#### روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی از آبان ۱۳۹۵ تا بهمن ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات سلولی-تکوینی و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد. رده‌ی سلولی SW-1736 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری شد. در محیط کشت RPMI (Roswell Park Memorial Institute) (USA) (Gibco) حاوی ۱۰٪ FBS

بررسی‌های سیتوژنتیکی صورت گرفته بر روی سلول‌های آناپلاستیک بدخیم با کمک روش هیبریداسیون ژنومی مقایسه-ای و یا شناسایی حذف و اضافه‌ی ژنی در مناطقی از کروموزوم ثابت کرده است که این سلول‌ها دارای درجه‌ی بالایی از بی‌نظمی‌های عددی و ساختاری در ژنوم خود هستند که سبب بروز تغییرات اساسی در بیان ژن‌های آنها شده است (۵). دارا بودن درجه‌ی بالایی از بی‌نظمی این موضوع را که کدام یک از این ناپایداری‌های کروموزومی عامل رشد تومور است دچار مشکل کرده است. تشخیص کارسینومای آناپلاستیک تیروئید معمولاً در معاینات بالینی صورت می‌گیرد. در معاینه‌ی بالینی افراد مسن، از طریق مشاهده‌ی توده‌ی بزرگی که به سرعت رشد کرده و سفت و غیر متحرک می‌باشد، مشخص می‌گردد (۶).

درمان بیماران مبتلا به کارسینومای آناپلاستیک تیروئید بسیار دشوار است، چراکه رویکردهای درمانی مرسوم نظیر: شیمی-درمانی و رادیودرمانی، تنها دارای اثر تسکینی بر احوال مبتلایان به *ATC* بوده و برای زنان مبتلای باردار نیز قابل استفاده نمی‌باشند، همچنین انجام تیروئیدکتومی فقط می‌تواند از تراکم راه هوایی بکاهد لذا تقریباً این بدخیمی با مرگ همراه است و بررسی ترکیبات جدید با منشأ طبیعی و خواص درمانی اجتناب ناپذیر می‌باشد (۷-۹).

کورکومین ماده مؤثره و اصلی گیاه زردچوبه، یکی از ترکیبات مهم با منشأ گیاهی می‌باشد که به عنوان دارویی قدیمی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد، به طوری که در طب سنتی در برخی از کشورها مانند هند و ایران برای درمان بیماری‌های تنفسی، کبدی، سینوزیت، گوارشی، بهبود زخم، کاهش درد و درمان سرطان استفاده شده است (۱۰). اثر این ترکیب در پیشگیری و درمان بیماری سرطان نشان داده شده است. همچنین کورکومین تنظیم رشد سلول‌های سرطانی و مهار آنها را با تنظیم مسیرهای پیام رسان حیاتی سلول از طریق تأثیر بر آنزیم‌های سلولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بیان

ساعت تیمار و انکوبه گردید. پس از گذشت زمان‌های سه گانه ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، سلول‌ها در چهار گروه تست (شامل چهار غلظت مختلف) و گروه کنترل، برداشت و پس از شستشو با بافر PBS، Total RNA سلولی با استفاده از معرف بایوزول (Biozol Total RNA Extraction reagent)، با شماره محصول (BSC51M1)، (BioFlux, China)، جدا گردید. با استفاده از کیت فرمنتاس (DNase I, RNase free) روی نمونه‌های RNA استخراج شده، تیمار DNase صورت گرفت تا DNA حذف شود و فقط RNA خالص در نمونه موجود باشد. در ادامه تمام توالی‌های RNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (RevertAID (Termo Scientific, Lithuania)، به cDNA تبدیل و به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

سنجش میزان بیان ژن‌های *Bcl-2* و *p21* با استفاده از دستگاه Real Time PCR مدل (Rotor gene 6000 corbett, Australia) ارزیابی گردید. برای انجام واکنش، مخلوط واکنشی متشکل از cDNA، به مقدار ۱/۵ میکرولیتر، پرایمر رفت و برگشت هر کدام به مقدار ۰/۳ میکرولیتر و RNase-free water، به مقدار ۵/۴ میکرولیتر تهیه گردید. توالی پرایمرهای رفت (Forward) و برگشت (Reverse) ژن‌های *GAPDH*، *Bcl-2* و *p21* با استفاده از نرم افزار Oligo6 طراحی و سپس با Blast نمودن در NCBI از صحت آنها اطمینان حاصل شد و نهایتاً توسط شرکت Macrogen سنتز گردید (جدول ۱).

(Penstrep ۱٪ (Gibco, USA) (Foetal Bovine Serum) در انکوباتور (Penicillin-Streptomycin) (Gibco, USA) با فشار ۵٪ گاز CO<sub>2</sub>، رطوبت ۹۰٪ و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، در فلاسک ۷۵ کشت داده شد. محیط کشت هفته‌ای سه بار تعویض و برای برداشت سلول‌ها از محلول تریپسین/EDTA استفاده شد. کورکومین به حالت جامد از شرکت SIGMA-ALDRICH با نام تجاری Curcumin-from powder، *curcuma longa* (Turmeric) و شماره محصول (C۱۳۸۶) تهیه گردید.

توان زیستی سلول‌های رده‌ی SW-1736 تیمار شده با غلظت‌های مختلف کورکومین، با استفاده از کیت MTS (Promega, USA) با شماره محصول G5421 مورد ارزیابی قرار گرفت. به این ترتیب که، تعداد  $5 \times 10^3$  سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ چاهکی کشت داده شد و سپس با غلظت‌های ۰، ۲/۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار کورکومین برای مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار و انکوبه گردید. پس از اتمام زمان انکوباسیون، محیط رویی تیمار جمع آوری شد و مقدار ۲۰ میکرولیتر محلول MTS به هر چاهک اضافه گردید و انکوباسیون ۴ ساعته صورت گرفت. در نهایت جذب نمونه‌ها توسط دستگاه ELISA-reader با طول موج ۴۹۲ نانومتر ثبت گردید. به منظور بررسی میزان بیان ژن‌های *Bcl-2* و *p21*، تعداد  $3 \times 10^5$  سلول در پلیت‌های ۶ خانه کشت داده شد و سپس، با غلظت‌های ۰، ۲/۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار کورکومین در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد مطالعه

ردیف	نام ژن	شناسه ژن	توالی پرایمر	طول پرایمر
۱	<i>p21</i>	NM-001291549.1	رفت CATGTGGACCTGTCACCTGCTT	۲۲
			برگشت CTGGTCTGCCGCCGTTTTC	۱۹
۲	<i>Bcl-2</i>	XM-01702591701	رفت GGGAGGATTGTGGCCTTCTTT	۲۱
			برگشت GGTTCAGGTACTCAGTCATCCA	۲۲
۳	<i>GAPDH</i>	NM-001256799.2	رفت CACATGGCCTCCAAGGAGTAAG	۲۲
			برگشت AGGGGAGATTCAGTGTGGTG	۲۰

تحت تأثیر برنامه‌ی دمایی ذکر شده در جدول ۲ قرار گرفت. نهایتاً تحلیل آماری با استفاده از آزمون ANOVA از طریق نرم افزار SPSS و همچنین برنامه‌ی Excel انجام شد. حدود اطمینان برای همه‌ی آزمایشات ۹۵٪ منظور گردید.

از ژن *GAPDH*، به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. همچنین از رنگ سایبرگرین (Takara, Japan) که به صورت اختصاصی به DNA دو رشته متصل می‌گردد، به عنوان گزارش‌گر، به مقدار ۷/۵ میکرولیتر در ساخت مخلوط واکنش استفاده شد. سپس مخلوط واکنش پس از آماده سازی با حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر

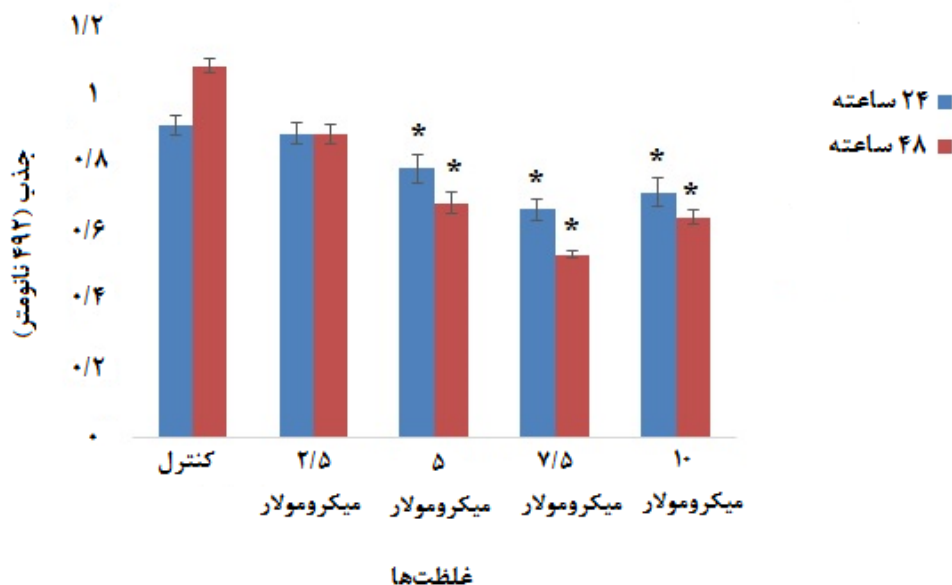
جدول ۲. شرایط دمایی واکنش Rael Time PCR

مرحله	زمان	دما	چرخه
دناوراسیون اولیه	۱۰ دقیقه	۹۵ درجه‌ی سانتی گراد	۱ سیکل
دناوراسیون	۱۵ ثانیه	۹۵ درجه‌ی سانتی گراد	
آنیلینگ ژن <i>p21</i>	۶۰ ثانیه	۶۲ درجه‌ی سانتی گراد	
آنیلینگ ژن <i>Bcl-2</i>	۶۰ ثانیه	۶۱ درجه‌ی سانتی گراد	
آنیلینگ ژن <i>GAPDH</i>	۶۰ ثانیه	۶۱ درجه‌ی سانتی گراد	۴۰ سیکل

کورکومین رشد سلول‌های کارسینومای آناپلاستیک تیروئید در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در غلظت مشخص ۷/۵ میکرومولار از کورکومین به طور چشمگیرتری نسبت به گروه کنترل و در مقایسه با گروه‌های آزمایشی دیگر کاهش می‌دهد (شکل ۱).

#### نتایج

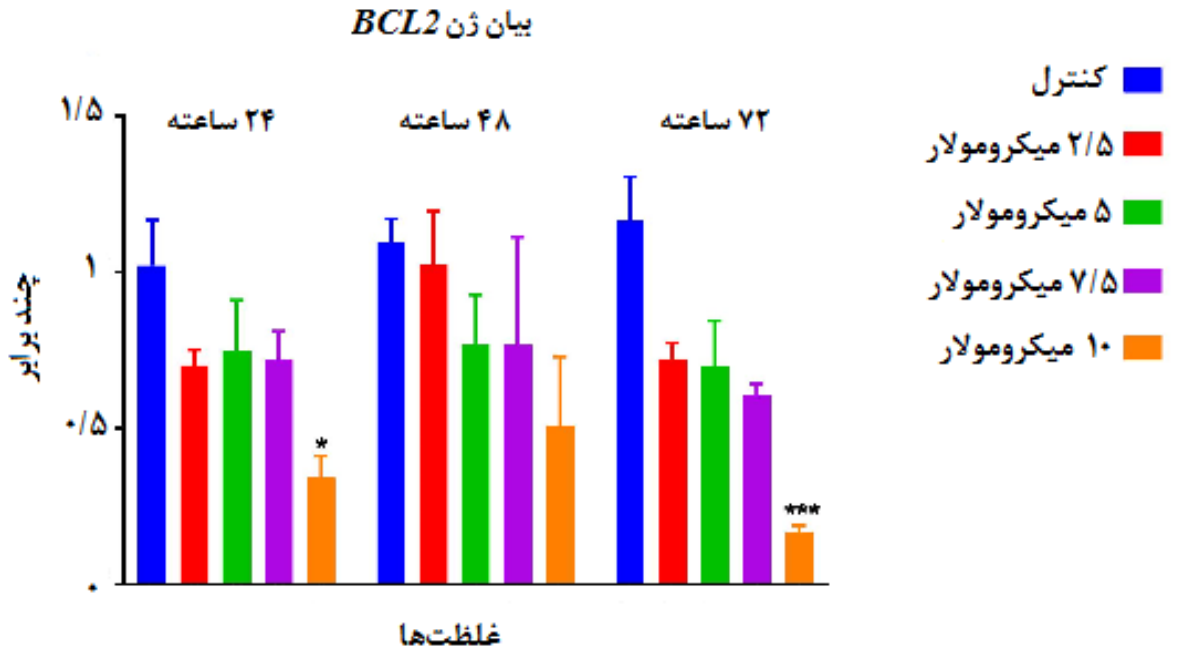
توان زیستی سلول‌های رده‌ی SW-1736 تیمار شده با غلظت‌های مختلف کورکومین (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار)، بعد از گذشت زمان‌های دو گانه‌ی انکوباسیون (۲۴ و ۴۸ ساعت) با استفاده از تست MTS بررسی گردید. نتایج حاکی است که



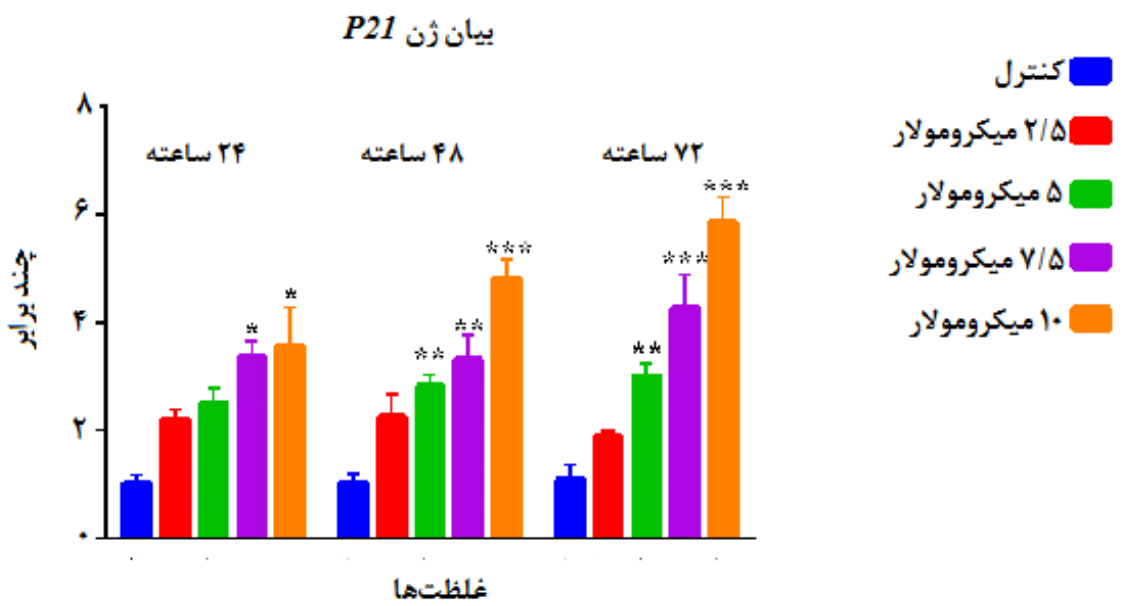
شکل ۱. اثر کورکومین بر توان زیستی رده سلولی SW-1736 در مدت زمان انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت، علامت (\*) نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار غلظت‌های ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار در سطح  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل در هر دو زمان انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعته

حاصل از دستگاه Real Time PCR با استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ، بیانگر کاهش معنی‌دار در میزان بیان ژن *Bcl-2* و افزایش معنی‌دار در میزان بیان ژن *p21* نسبت به گروه کنترل می‌باشد (شکل های ۲ و ۳).

میزان بیان ژن‌های *Bcl-2* و *p21* در رده سلولی SW-1736 تیمار شده با غلظت‌های مختلف کورکومین (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار)، بعد از گذشت زمان‌های سه گانه‌ی انکوباسیون (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) با استفاده از تست RT-Real Time-PCR مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل مقادیر Ct



شکل ۲. نمودار میزان بیان ژن *Bcl-2* براساس Ct در غلظت‌های (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار) و زمان انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته. علامت (\*) نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کنترل



شکل ۳. نمودار میزان بیان ژن *p21* براساس Ct در غلظت‌های (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار) و زمان انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته. علامت (\*) نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کنترل

سایتوتوکسیستی پاکلیتاکسل علیه سلول‌های سرطانی معده همراه با کورکومین بیشتر است (۱۸). علاوه بر آن تیمار رده سلولی SW-1736 با غلظت‌های مختلف کورکومین (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میکرومولار) و انکوباسیون آنها برای مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نتایج قابل توجهی را در میزان بیان ژن‌های *p21* و *Bcl-2* در برخی از گروه‌های آزمایشی و زمان‌های انکوباسیون، در مقایسه با گروه‌های آزمایشی دیگر، نسبت به گروه کنترل نشان داد. بدین صورت که بیان ژن *Bcl-2* در هر سه زمان انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در تمام گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است، اما این کاهش در گروه آزمایشی که سلول‌ها در معرض غلظت ۱۰ میکرومولار از کورکومین قرار داشته‌اند، در زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت به طور چشمگیرتر قابل مشاهده است. بیان ژن *p21* نیز در تمام گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است، این افزایش به صورت وابسته به دوز و زمان بوده است، یعنی با افزایش زمان انکوباسیون و افزایش غلظت کورکومین میزان افزایش چشمگیرتر شده است.

بررسی مکانیسم اثر ملکولی کورکومین بر سلول‌های سرطانی تیروئید در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که کورکومین از طریق مهار مسیر سیگنالی PI<sub>3</sub>/Akt مانع از تهاجم سلول‌های سرطانی تیروئید می‌شود (۱۹). بررسی اثر کورکومین بر رده سلول‌های سرطانی مختلف تیروئید از جمله: Tpc-1(Papillary)، Ftc-133(Follicular) و BHT-101(Anaplastic) نشان داد که کورکومین در رده سلول‌های مورد بررسی باعث القاء توقف چرخه‌ی سلولی در مرحله‌ی G<sub>2</sub>/M، القاء آپوپتوز، مهار مسیر سیگنالی NF-KB و بیان ژن‌های مختلف از جمله: *PARP*، *p53* و *p21* می‌شود (۲۰). بررسی اثر کورکومین بر القاء آپوپتوز در سلول‌های آناپلاستیک تیروئید نشان داد که کورکومین قادر است از طریق تغییر بیان ژن‌های دخیل در فرآیند آپوپتوز بر رشد تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطانی آناپلاستیک تیروئید اثر مهاری داشته باشد (۲۱). در مطالعه حاضر به دلیل محدودیت در جمع‌آوری نمونه‌های بیوپسی بافتی بررسی تنها در سطح

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی توانایی ماده موثره‌ی کورکومین در کاهش رشد، تکثیر و نهایتاً مهار فعالیت سلول‌های سرطانی رده‌ی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736)، انجام شده است. در این تحقیق توان زیستی سلول‌های تحت تیمار با ماده موثره‌ی کورکومین از طریق کیت MTS مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین صورت که سلول‌ها برای مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تحت تاثیر غلظت‌های مختلف ماده موثره‌ی کورکومین انکوبه شدند. نتایج حاکی است که ماده موثره‌ی کورکومین قادر است رشد سلول‌های کارسینومای آناپلاستیک تیروئید را در غلظت مشخص مهار کند و توان زیستی آنها را تا حد زیادی نسبت به گروه کنترل کاهش دهد. طبق نتایج به دست آمده می‌توان گفت در هر دو زمان انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت توان زیستی سلول‌های SW-1736 در غلظت ۷/۵ میکرومولار به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل کاهش داشته است. همراستا با این نتایج در مطالعه دیگری، کاهش توان زیستی رده سلول سرطانی پستان تحت تیمار با کورکومین کپسوله شده در نانو ذرات PLGA-PEG گزارش شده است (۱۵). در تحقیق دیگری تاثیر کورکومین در پیشگیری از بروز سرطان نشان داد که کورکومین با مهار رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن موجب مهار آسیب‌های DNA ناشی از عوامل اکسیداتیو نظیر پرتوهای یونیزان می‌شود و می‌تواند نقش مهاری در شروع سرطان داشته باشد (۱۶).

بررسی تاثیر کورکومین در کاهش عوارض جانبی ناشی از شیمی درمانی و رادیوتراپی در مبتلایان به سرطان‌های کبد، کلیه، معده، ریه و تخمدان نشان داد که در مبتلایان تحت تیمار با کورکومین، عوارض جانبی شیمی درمانی نظیر تهوع، اسهال، یبوست، عفونت، کاهش وزن و همچنین عوارض جانبی مربوط به رادیوتراپی از جمله ضایعات پوستی، زخم‌های دهان و حلق، مشکلات بلع و غیره نسبت به مبتلایانی که تحت تیمار نبودند، کمتر است (۱۷). در پژوهش دیگری مشخص گردید که افزایش

در سال ۱۳۹۵ با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1397.028 می‌باشد.

### تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

### مشارکت نویسندگان:

- (۱) مفهوم پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع آوری داده‌ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: پریناز توکلی، لیلا روحی، سمیه رئیسی، خلیل خاشعی و رنامخواستی
- (۲) تهیه پیش نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: پریناز توکلی، لیلا روحی، سمیه رئیسی، خلیل خاشعی و رنامخواستی
- (۳) تایید نهایی دستنوشته پیش از ارسال به مجله: لیلا روحی، سمیه رئیسی

سلول صورت گرفته است، لذا بررسی اثر کورکومین در سطح بافت روی نمونه‌های بیوپسی آناپلاستیک تیروئید در مطالعات آینده پیشنهاد می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی اخیر نشان داد که کورکومین با کاهش میزان بیان ژن‌های آنتی آپوپتوزی و افزایش میزان بیان ژن‌های پروآپوپتوزی، رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی آناپلاستیک تیروئید را مهار می‌کند. بنابراین کورکومین می‌تواند برای درمان کارسینومای آناپلاستیک تیروئید مفید باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان بررسی اثر کورکومین بر توان زیستی و میزان بیان ژن‌های *p21* و *Bcl-2* در رده سلولی کارسینومای آناپلاستیک تیروئید انسان (SW-1736) مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

## References

- Iyer P. C, Dadu R, Gule-Monroe M, Busaidy N. L, Ferrarotto R, Habra M. A. Salvage pembrolizumab added to kinase inhibitor therapy for the treatment of anaplastic thyroid carcinoma. *Journal for immunotherapy of cancer* 2018; 6(1): 1-10.
- Deeken-Draisey A, Yang G-Y, Gao J, Alexiev BA. Anaplastic thyroid carcinoma: an epidemiologic, histologic, immunohistochemical, and molecular single-institution study. *Human pathology* 2018;82:140-8.
- Tiedje V, Stuschke M, Weber F, Dralle H, Moss L. Anaplastic thyroid carcinoma: review of treatment protocols. *Endocrine-related cancer* 2018; 25(3): R153-R161.
- Sugitani I, Onoda N, Ito K. I, Suzuki S. Management of anaplastic thyroid carcinoma: the fruits from the ATC research consortium of Japan. *Journal of Nippon Medical School* 2018; 85(1): 18-27.
- Inazawa J, Inoue J, Imoto I. Comparative genomic hybridization (CGH)-arrays pave the way for identification of novel cancer-related genes. *Cancer science* 2004;95(7):559-63.
- Bonhomme B, Godbert Y, Perot G, Al Ghuzlan A, Bardet S. Molecular pathology of anaplastic thyroid carcinomas: a retrospective study of 144 cases. *Thyroid* 2017; 27(5): 682-692.
- Viola D, Valerio L. Treatment of advanced thyroid cancer with targeted therapies: ten years of experience. *Endocrine-related cancer* 2016; 23(4): 185-205.
- Broecker-Preuss M, Becher-Boveleth N. The BH3 mimetic drug ABT-737 induces apoptosis and acts synergistically with chemotherapeutic drugs in thyroid carcinoma cells. *Cancer cell international* 2016; 16(1): 1.
- Broecker-Preuss M, Viehof J. Cell death induction by the BH3 mimetic GX15-070 in thyroid carcinoma cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2015; 34(1): 15-186.
- Esatbeyoglu T, Huebbe P. Curcumin from molecule to biological function. *Angew Chem Int Ed Engl* 2012; 51(22): 5308-3.
- Tomeh M. A, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *International journal of molecular sciences* 2019; 20(5): 1033.
- Campbell K. J, Tait S. W. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. *Open biology*, 2018; 8(5): 180002.
- Karimian A, Ahmadi Y, Yousefi B. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage. *DNA repair* 2016; 42: 63-71.
- Li X. L, Zhou J, Chen Z. R, Chng W. J. P53 mutations in colorectal cancer-molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World journal of gastroenterology: WJG*, 2015; 21(1): 84.
- Tabatabaei Mirakabad F. S, Akbarzadeh A, Milani M, Zarghami N, Taheri-Anganeh M, Zeighamian V. A Comparison between the cytotoxic effects of pure curcumin and curcumin-loaded PLGA-PEG nanoparticles on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology* 2016; 44(1): 423-430.
- Shafaghati N, Hedayti N. Protective effects of curcumin against genotoxicity induced by 131-iodine in human cultured lymphocyte cells. *Pharmacognosy Magazine* 2014; 10(38):106-110.



17. Belcaro G, Hosoi M. A controlled study of a lecithinized delivery system of curcumin (meriva(R)) to alleviate the adverse effects of cancer treatment. *Phytother Res* 2014; 28(3): 444-50.
18. Ebrahimifar M, Roudsari M. H, Kazemi S. M, Shahmabadi H. E. Enhancing effects of curcumin on cytotoxicity of paclitaxel, methotrexate and vincristine in gastric cancer cells. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 2017; 18(1): 65.
19. Xu X, Qin J. Curcumin inhibits the invasion of thyroid cancer cells via down-regulation of PI3K/Akt signaling pathway. *Gene* 2014; 546(2): 226-32.
20. Schwertheim S, Wein F. Curcumin induces G2/M arrest, apoptosis, NF-κB inhibition, and expression of differentiation genes in thyroid carcinoma cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 2017; 1-12.
21. Khashei Varnamkhasti KH, Rouhi I, Reisi S. Apoptosis induction and enhanced expression of p53 and PARP genes in the human anaplastic thyroid carcinoma cells line (SW-1736) with Curcumin. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci* 2019; 26(9): 759-69.

## Cytotoxic effect of curcumin on viability and *P21* and *Bcl-2* genes expression of the human anaplastic thyroid Carcinoma cells line (SW-1736)

Parinaz Tavakoli<sup>1</sup>, Leila Rouhi<sup>2\*</sup>, Somayee Raisi<sup>1,3</sup>, Khalil Khashei Varnamkhasti<sup>1,4</sup>

1. M.Sc, Department of genetic, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Ph.D, Department of Physiology, Shahrekord Branch, University of Islamic Azad, Shahrekord, Iran

3. Ph.D, Department of Genetic, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

4. Ph.D, Department of Genetics, School of Medicine, University of Islamic Azad, Kazerun, Iran

Corresponding author: [lrouhi59@gmail.com](mailto:lrouhi59@gmail.com)

### Abstract

**Background & Aim:** Anaplastic thyroid carcinoma (ATC) is an uncommon malignancy of the thyroid .with poor prognosis and 2 to 6 month of survival time. The aim of this study was to explore the effect of curcumin on bioavailability and expression of *p21* and *Bcl-2* genes in human anaplastic thyroid carcinoma cell line (SW-1736).

**Methods:** In this study, human anaplastic thyroid carcinoma (SW-1736) cell line were cultured in RPMI-1640 medium with 10% bovine serum.

The cells were treated with different concentration (2.5, 5, 7.5, 10  $\mu$ M) of curcumin and incubated for 24 and 48 hours. Bioavailability was analyzed by MTS kit. The expression of *p21* and *Bcl-2* genes were investigated after 24, 48 and 72 hours by Real Time- PCR analysis in treated anaplastic thyroid carcinoma cell line.

**Results:** The results of the MTS assay indicate that the treatment with concentration of 7.5 mM of curcumin at both incubation times significantly reduced the bioavailability of the anaplastic thyroid cells compared to the control and other experimental groups. Furthermore, the *P21* and *Bcl-2* genes expression were significantly changed in treatment with 2.5, 5, 7.5 and 10  $\mu$ M concentrations of curcumin for 24, 48 and 72 hours, compared to control group.

**Conclusion:** Curcumin has an inhibitory effect on the growth and proliferation of anaplastic thyroid cancer cells.

### Keywords:

Curcumin, *p21*,  
*Bcl-2*,  
SW-1736 cell line,  
Anaplastic carcinoma,  
Thyroid

**How to cite this Article:** Tavakoli P, Rouhi L, Raisi S, Khashei Varnamkhasti K. Cytotoxic effect of curcumin on viability and P21 and Bcl-2 genes expression of the human anaplastic thyroid Carcinoma cells line (SW-1736). Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2021;9(1):1-10.