

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه بر بیان ژن COX در سرطان

القا شده تخمدان موش

لاله ضیائی^۱، خدیجه شاهرخ آبادی^{۱*}، جواد بهارآرا^۲ و امیررضا تفرشیان^۳

^۱ ایران، مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست‌شناسی و مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی

^۳ ایران، اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۷

چکیده

سرطان تخمدان بالاترین موارد مرگ‌ومیر را در بین همه بدخیمی‌های دستگاه تناسلی زنان دارد. این سرطان ششمین سرطان در کشورهای غربی و رتبه هشتم سرطان در زنان ایرانی است که در مراحل اولیه حتی مراحل بالاتر هیچگونه علامتی ندارد. یکی از ژن‌هایی که در این سرطان بیان زیادی دارد و مهار آن باعث افزایش پاسخ به درمان می‌شود ژن Cox است. لذا هدف از این مطالعه بررسی سرطان تخمدان در مراحل اولیه، بررسی بیان ژن Cox و آنزیم‌های SGPT و SGOT و همچنین بررسی تیمار غلظت‌های مختلف عصاره گیاه گزنه است. در این مطالعه تجربی عصاره هیدروالکلی ساقه، برگ و ریشه گیاه گزنه تهیه و دوزهای ۷۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن آماده گردید. جهت القا سرطان تخمدان در موش کوچک آزمایشگاهی از ماده DMBA استفاده گردید. پس از ۲۸ روز برای سنجش مقدار آنزیم خونگیری انجام شد. سپس بافت تخمدان جداسازی، توزین و از لحاظ مرفولوژی با سایر اندام‌ها مقایسه گردید. استخراج RNA، نانودراپ، الکتروفورز، سنتز cDNA، و بررسی بیان ژن انجام شد. نتایج توسط نرم‌افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج سنجش آنزیم SGOT نشان داد تیمارهای R250 و S75 و T2 دارای تغییرات معنی‌داری هستند. حد نرمال بیان ژن Cox مربوط به شاهد آزمایشگاهی (۱/۶۳) بوده و کمترین میزان بیان ژن مربوط به تیمار S75 در روز ۲۸ام و بیشترین میزان بیان مربوط به R75 در همان روز است. بنابراین بنظر می‌رسد تغییرات بیان ژن Cox و آنزیم SGOT می‌تواند به عنوان مارکری جهت تشخیص زودرس سرطان تخمدان مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: سرطان تخمدان، ژن Cox، آنزیم SGOT، گیاه گزنه.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۳۸۴۵۰۵۰، پست الکترونیکی: Shahrokhahady@yahoo.com

مقدمه

مسئله‌ای چالش برانگیز در علم پزشکی شناخته شده است (۴۲). سرطان تخمدان دومین رتبه را از نظر شیوع و پنجمین مکان را از لحاظ مرگ‌ومیر دارا می‌باشد (۳۴). پیش‌بینی سازمان بهداشت جهانی در خصوص سرطان در ایران در سال ۲۰۲۰ حدود ۸۵ هزار مورد ابتلا در کل جمعیت و حدود ۶۲ هزار مورد مرگ‌ومیر است که سهم سرطان تخمدان از آن حدود ۷ درصد است. دومین گزارش ثبت سرطان مبتنی بر کل جمعیت ایران تحت نام "نظام

سرطان بعد از بیماری‌های قلبی عروقی، دومین عامل مرگ‌ومیر در بسیاری از جوامع دنیا محسوب می‌شود. عوامل مختلفی در بروز سرطان نقش دارند. از جمله می‌توان به عوامل محیطی اشاره کرد که بیش از ۷۵٪ موارد ابتلا به سرطان را شامل می‌شوند (۲۹). آسیب‌ها و تغییرات ژنتیکی و همچنین جهش در ژن‌ها در بروز سرطان موثرند. سرطان وتومورها در نتیجه تقسیم سلولی کنترل نشده بوجود می‌آیند (۸، ۳۱). امروزه درمان سرطان بعنوان

ثبت سرطان ایران" نیز همسو با گزارش سازمان بهداشت جهانی است. بطور کلی ایران در منطقه "خطر متوسط" سرطان جهان قرار دارد و بر طبق این گزارش سرطان تخمدان رتبه هشتم سرطانها در زنان ایرانی است (۴۳). سرطان تخمدان یکی از شایع‌ترین انواع سرطان‌های موجود در میان زنان می‌باشد که بدلیل تغییرات بدخیم سلول‌های تخمدانی بوجود می‌آید (۱۱). متداولترین شکل تومورهای بدخیم تخمدانی از نوع اپیتلیالی می‌باشد که برای سرطانی شدن سلول‌های اپیتلیالی پوشاننده سطح تخمدان بوجود می‌آید. حدود ۹۰ درصد سرطان‌های تخمدان مربوط به این لایه نازک بافتی است. اما گاهی سرطان مربوط به سلول‌های تولیدکننده هورمون است که تومور استروما نامیده می‌شود و حدود ۷ درصد تومورهای تخمدان است. سایر تومورها نیز بسیار نادرتر هستند (۲۲). سرطان تخمدان در مراحل اولیه بروز هیچگونه علامتی از خود نشان نمی‌دهد، حتی در زمانی که توده سرطانی خیلی بزرگ می‌شود. این بیماری بغیر از علائمی چون: شکم درد، تنگی نفس خفیف، تهوع و بی‌اشتهایی، خونریزی‌های غیر عادی واژینال، چاقی شکمی و گاهی سوءهاضمه، علائم مهم دیگری ندارد. بنابراین یکی از علل کشنده بودن سرطان تخمدان همین است که در بیش از ۷۰٪ موارد، در مرحله پیشرفته تشخیص داده می‌شود (۷، ۳۵). از آنجائیکه سرطان یکی از مشکلات مهم در حوزه سلامت، در کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شود، پیشگیری و همچنین استفاده مکمل‌های درمان، یکی از چالش‌های بزرگ، در جوامع بشری سراسر دنیا بشمار می‌آید. معرفی داروهای مورد استفاده در طب سنتی، بویژه گیاهان دارویی، سرآغاز مناسبی برای تدوین پروژه‌های تحقیقاتی بر روی سرطان می‌باشد (۵). در این زمینه نیز ایران، یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان بشمار می‌رود که دارای تنوع زیستگاهی بالا، برای انواع گیاهان می‌باشد (۱۴). استفاده از گیاهان دارویی از دیرباز مورد توجه متخصصان طب بوده است (۶). گزنه با نام علمی *Urtica dioica L* و نام عمومی

Nettle گیاهی از تیره *Urticaceae*، جنس *Urtica* و گونه *Dioica* می‌باشد. گیاهی دو پایه، علفی، چندساله، پایا، سبز و دارای کرک‌های گزنده می‌باشد. قسمت‌های مورد استفاده آن برگ‌های تازه، ریشه و شیره حاصل از آن است و دانه آن نیز کم و بیش مورد مصرف است (۲۷). عصاره گزنه دارای ترکیباتی از قبیل اسیدهای چرب از جمله اسید آلفالینولئیک و همچنین کارتنوئیدها مانند ایزومرهای لوتئین و ایزومرهای بتاکاروتن و لیکوپن، فنول‌ها مثل اسید فرولیک، اسید گالیک، اسید سینرژیک، فلاونوئیدها مثل کاتیچن و اپی‌کاتیچن و ترکیبات دیگر مثل نوگزانتین و ویلوگزانتین است (۲۵، ۳۸). گزنه دویایه بومی مناطق معتدل اروپا و آسیا می‌باشد و جهت معالجه بیماری‌هایی نظیر اگزما، ناراحتی‌های دستگاه گوارش و تناسلی، کم‌خونی و دردهای مفاصل و دیابت از عصاره آن استفاده می‌شود (۲۶). مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاه گزنه از یک طرف باعث کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی و سکنه شده و از طرف دیگر از پیشرفت سرطان‌ها که موجب آسیب به DNA می‌شوند، جلوگیری بعمل می‌آورند. این ترکیبات با پیشگیری و کند نمودن آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون در بدن بعنوان خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌نمایند (۳۰). ترکیب‌های بیولوژیکی همچون فنل‌ها، فلاون‌ها، الکلونوئیدها، کارتنوئیدها، تری‌ترپن‌ها، کاروتن و گزانتوفیل در برگ گیاه گزنه موجب می‌شود که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آن افزایش یافته و در مهار رادیکال آزاد مفید باشد. گیاه گزنه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود نقش مهمی را در فعالیت ضدباکتریایی و ضدتوموری بازی میکند (۲۳). برگ گزنه باعث کاهش التهاب می‌گردد و ریشه گزنه، پرولیفراسیون سلولی در بافت‌ها، هیپرپلاستیک خوش‌خیم پروستات و فعالیت اتصال‌گلوبین متصل شونده به هورمون‌های جنسی را مهار می‌نماید (۱۶). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سیکلواکسیژنازها در سرطان‌های مختلف افزایش یافته و بطور کلی در تمامی مراحل تومورزایی بدخیم، نظیر

و همکاری‌های اعلام نمودند که استفاده داخل معدی (گاوآژ) نوعی هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای موجب افزایش رخداد سرطان پستان در موش‌های صحرائی ماده نژاد SD می‌گردد. از آن زمان برای مطالعه انواع سرطان‌ها استفاده گسترده‌ای از آن شده است (۱۵). آنزیم‌های آلانین ترانسفراز (ALT) یا همان SGPT و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) یا SGOT، جزء آنزیم‌های غیر عملکردی پلاسما محسوب می‌شوند. چنانچه مقدار آئین آنزیم‌ها از حدود طبیعی فراتر رود نشان دهنده افزایش تخریب بافتی می‌باشند (۲). عمل اصلی ترانس آمینازها در داخل سلول است. هنگام صدمه دیدن و تخریب بافت، این آنزیم‌ها از بافت خارج شده و مقدار آنها در سرم زیاد می‌شود (۳۷، ۴۰). به طور طبیعی AST در انواع مختلف بافت‌ها از قبیل قلب، عضلات اسکلتی، مغز، کلیه‌ها، کبد، و گلبول‌های قرمز وجود دارد. به طور طبیعی ALT نیز در کبد یافت می‌شود و در عضلات اسکلتی و کلیه‌ها ب میزان کم نیز موجود است. در آسیب کبدی، این آنزیم وارد خون می‌شود. بنابراین ALT بعنوان شناساگر ویژه آسیب کبدی استفاده می‌شود (۲۴، ۱۲). در آسیب سایر بافت‌های بدن میزان آنزیم AST در خون افزایش می‌یابد (۱). علیرغم پیشرفت‌های پژوهشی، در حال حاضر هیچ روش غربالگری بمنظور تشخیص سرطان تخمدان خصوصا در افرادی که هیچ علائمی ندارند و در معرض خطر بالای ابتلا هستند وجود ندارد. بنابراین باید در جستجوی راهی سریع و مطمئن برای تشخیص سرطان بود. در این میان مارکرها و ژن‌های درگیر در سرطان کاندید مناسبی برای تشخیص زودرس سرطان هستند. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ساقه، برگ و ریشه گیاه گزنه بر سرطان اولیه تخمدان و میزان بیان ژن Cox و همچنین میزان تغییرات آنزیم‌های SGPT و SGOT انجام گردید. یکی از ویژگی‌های این تحقیق مطالعه مراحل اولیه تومور در بافت تخمدان، و همزمان انجام تیمار و بررسی

افزایش تکثیر سلولی، کاهش آپوپتوزیس، تحرک سلول‌های سرطانی و رگزایی نقش دارند (۱۳). سیکلواکسیژنازها، آنزیم‌هایی هستند که کاتالیز پروستاگلندین، پروستاگلین و ترومبوکسان‌ها را از اسید آراشیدونیک، بر عهده دارند و به سه شکل ایزوفرمی Cox1، Cox2، و Cox3 وجود دارند (۲۰). ژن Cox1 در بیشتر بافت‌های طبیعی بدن بیان شده و تولید پروستاگلندین می‌کند که برای هموستازی فیزیولوژیک لازم می‌باشد. ژن Cox2 توسط فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها و پروموتورهای تومور القا می‌شود (۱۹). در بررسی که در آمریکا انجام شد، مشخص گردید که در پستانداران آنزیم‌های سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ با ژن‌های مستقل و الگوی بیانی متفاوت وجود دارند. سیکلواکسیژناز ۱ در اکثر بافت‌ها بیان می‌شود ولی سیکلواکسیژناز ۲ توسط برخی سایتوکاین‌ها، میتوزن‌ها و محرک‌های التهابی و فاکتورهای رشد به ویژه Epidermal Growth Factor و Vascular Endothelial Growth Factor در شرایط استرس‌زا، سرطان‌ها، متاستازها، دژنراسیون اعصاب و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول افزایش پیدا می‌کند. به همین دلیل ژن سیکلواکسیژناز ۲ را ژن پاسخ فوری می‌نامند (۲۸). همچنین یکی از آنزیم‌هایی که در تومور بیان زیادی دارد و مهار آن باعث افزایش پاسخ به درمان و مرگ سلول‌های توموری می‌شود، ژن Cox2 است. بیان زیاد ژن Cox2 با رفتار تهاجمی‌تر تومور و پرگنوز بدتر و خصوصیت بدخیمی بیشتر در ارتباط است (۱۸). یکی از روش‌های مناسب برای مطالعه مراحل اولیه سرطان، القاء تومور در مدل‌های حیوانی است. تومور توده بافتی است که در نتیجه تقسیم بی رویه و خارج از کنترل سلول‌های خودی ایجاد می‌شود. تکثیر زیاد و تهاجم به بافت‌های نرمال مجاور و دور دست از مهم‌ترین خصوصیات سلول‌های توموری محسوب می‌گردد (۳۲).

دی متیل بنزانتراسن (DMAB) یک هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای است که برای ایجاد تومور در حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اولین بار Huggins

آنزیم‌های سرم خون و بررسی میزان تغییرات بیان ژن می‌باشد.

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه گزنه از منطقه طرقله (مسجد اولیا) صورت گرفت و سپس توسط کارشناس هرباریوم در آزمایشگاه تحقیقات سیستماتیک گیاهی مورد شناسایی و با کد ۱۰۰۲۹ ثبت گردید. پس از خشک کردن و پودر کردن ریشه، ساقه و برگ به طور جداگانه، استخراج عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه به روش سوکسله انجام پذیرفت. عصاره تهیه شده از ریشه، R و عصاره تهیه شده از ساقه و برگ گیاه، S نامگذاری گردید. عصاره تهیه شده پس از تغلیظ، لایفولایز و از هر کدام دوزهای ۷۵ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg تهیه گردید. سپس ۵۴ سر موش کوچک آزمایشگاهی ماده با وزن تقریبی ۲۲-۳۰ گرم در ۷ قفس جداگانه (دو گروه شاهد و شاهد آزمایشگاهی و پنج گروه تجربی یا آزمون) و در دمای ۲۳-۲۵ °C و در اتاق حیوانات به مدت یک هفته نگهداری گردید (۴۴). سپس در روز صفر با رعایت اصول اخلاقی و مطابق با جدول ۱، به پنج گروه تجربی میزان ۴ mg/kg وزن بدن موش، ماده کارسینوژن DMBA بصورت

صفاقی تزریق گردید. عصاره‌های چهارگانه هر کدام به ۹ عدد موش در چهار گروه و در دو نوبت روز ۷ و روز ۱۴ تزریق شد. بدین ترتیب پنج گروه تجربی شامل گروه توموری، و چهار گروه توموری و تیمار با عصاره ریشه و ساقه آماده شد. سپس در روز ۲۸ ام عمل خونگیری مطابق با پروتکل اخلاقی کار با حیوانات پس از بیهوش کردن صورت گرفت تا آنزیم‌های SPGT و SGOT در آزمایشگاه مورد سنجش قرار گیرد. جدول ۱ تعداد، مراحل و روزهای تزریق را نشان می‌دهد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز ANOVA و با سطح معنی‌داری $P < 0.05$ انجام پذیرفت. بلافاصله پس از خونگیری موش‌ها بطور کامل تشریح شدند و پس از بررسی مرفولوژی اعضا و جوارح داخلی عمل استخراج RNA توسط کیت شرکت دنایزست از تخمدان موش‌ها صورت پذیرفت. نانودراپ، تهیه cDNA توسط کیت پارس طوس، الکتروفورز و بیان ژن Cox توسط Realtime-PCR بر روی نمونه‌ها انجام و بررسی تغییرات بیان ژن در سه دوره زمانی ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز و اندازه‌گیری آنزیم‌های SGOT و SGPT و با سه تکرار در هر دوره زمانی صورت پذیرفت (۴).

جدول ۱- نحوه‌ی تزریق عصاره‌ها و ماده‌ی سمی به گروه‌های مختلف موش‌های مورد آزمون در روزهای مختلف

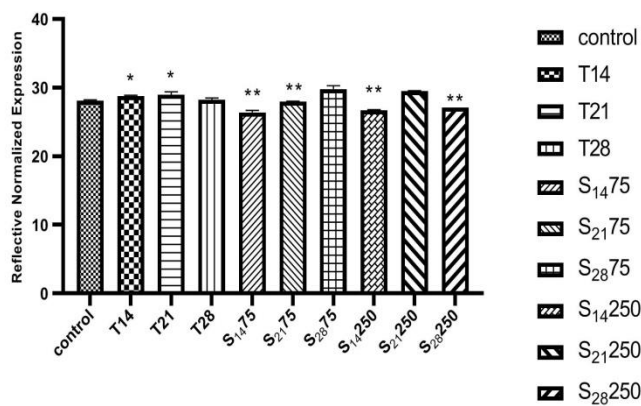
گروه‌ها	تعداد	تزریق در DMBA در روز صفر	تیمار با عصاره پس از ۷ روز	تیمار با عصاره پس از ۱۴ روز	موش‌های تشریح شده بعد از ۱۴ روز	موش‌های تشریح شده بعد از ۲۱ روز	موش‌های تشریح شده بعد از ۲۸ روز
شاهد	۳	منفی	-	-	۱	۱	۱
T توموری	۹	+	-	-	۳ (T ₁ , T ₂ , T ₃)	۳ (T ₁ , T ₂ , T ₃)	۳ (T ₁ , T ₂ , T ₃)
S _{۷۵}	۹	+	+	+	۳ (S ₁ 75, S ₂ 75, S ₃ 75)	۳ (S ₁ 75, S ₂ 75, S ₃ 75)	۳ (S ₁ 75, S ₂ 75, S ₃ 75)
S _{۲۵۰}	۹	+	+	+	۳ (S ₁ 250, S ₂ 250, S ₃ 250)	۳ (S ₁ 250, S ₂ 250, S ₃ 250)	۳ (S ₁ 250, S ₂ 250, S ₃ 250)
R _{۷۵}	۹	+	+	+	۳ (R ₁ 75, R ₂ 75, R ₃ 75)	۳ (R ₁ 75, R ₂ 75, R ₃ 75)	۳ (R ₁ 75, R ₂ 75, R ₃ 75)
R _{۲۵۰}	۹	+	+	+	۳ (R ₁ 250, R ₂ 250, R ₃ 250)	۳ (R ₁ 250, R ₂ 250, R ₃ 250)	۳ (R ₁ 250, R ₂ 250, R ₃ 250)
AZ شاهد	۶	منفی	+	+	۲	۲	۲

نتایج

ترسیم نمودارهای بیان ژن‌ها به دو شکل صورت گرفت:

شکل ۱ مقادیر مختلف بیان ژن را در نمونه‌های شاهد، توموری و تیمار با عصاره ساقه گیاه گزنه با دوز ۷۵ و ۲۵۰، در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نشان می‌دهد. در شکل میزان بیان ژن در نمونه‌های توموری با نمونه شاهد

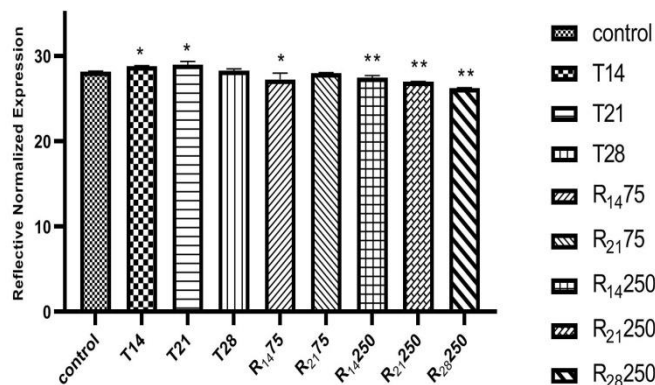
($p < 0.05$) و نمونه‌های تیمار با عصاره ساقه با نمونه‌های توموری ($p < 0.01$) مقایسه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، افزایش میزان بیان ژن در نمونه توموری روز ۱۴ و ۲۱ نسبت به شاهد و نمونه‌های تیمار با عصاره ساقه دوز ۷۵ در روز ۱۴ و ۲۱، و نمونه‌های تیمار با عصاره ساقه دوز ۲۵۰ روز ۱۴ و ۲۸ نسبت به توموری کاهش معنادار را نشان می‌دهد.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی ساقه گیاه گزنه بر تغییرات بیان ژن Cox در روزهای مختلف. نمونه‌های توموری با حرف T و نمونه‌های تیمار شده با عصاره ساقه با حرف S نشان داده شده است. * تفاوت معنادار بین گروه‌ها با $p < 0.05$ و ** تفاوت معنادار بین گروه‌ها با $p < 0.01$ را نشان می‌دهد.

معنادار است ($p < 0.05$)، و همچنین نمونه تیمار شده با عصاره ریشه دوز ۷۵ در روز ۱۴ و تمامی نمونه‌های تیمار شده با عصاره ریشه در روزهای مختلف نسبت به نمونه توموری کاهش معنادار بیان ژن را نشان می‌دهد ($p < 0.01$).

شکل ۲ میزان بیان ژن را در نمونه‌های شاهد، توموری و تیمار شده با عصاره ریشه دوز ۷۵ و ۲۵۰ نشان می‌دهد. همانطور که در شکل دیده می‌شود افزایش میزان بیان ژن در نمونه‌های توموری روز ۱۴ و ۲۱ نسبت به نمونه شاهد



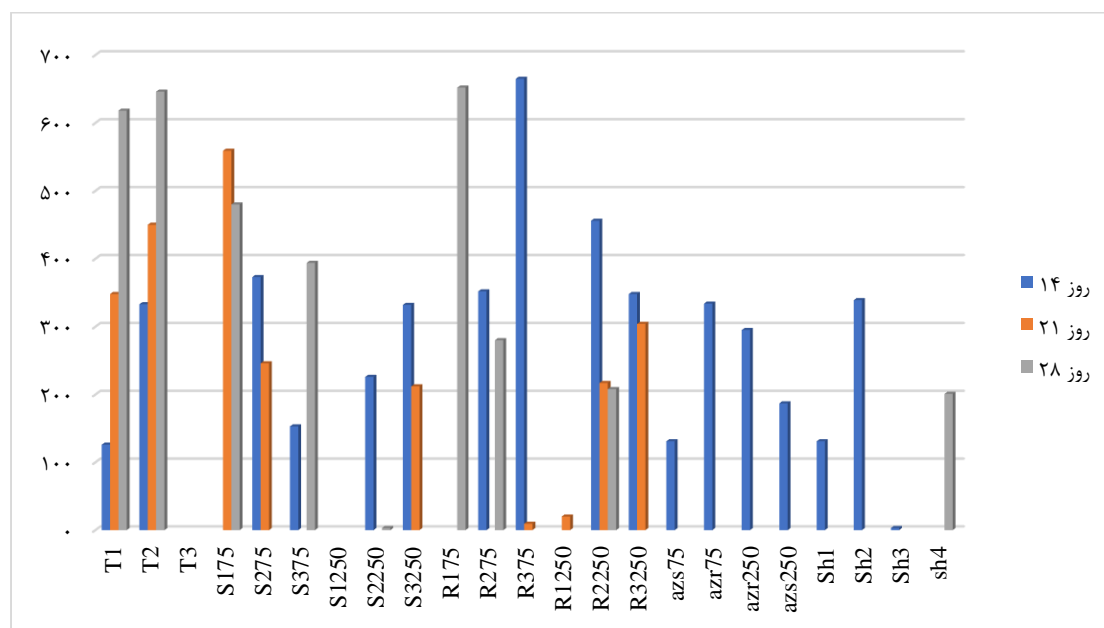
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه گزنه بر تغییرات بیان ژن Cox در روزهای مختلف. نمونه‌های توموری با حرف T و نمونه‌های تیمار شده با عصاره ریشه با حرف R نشان داده شده است. * تفاوت معنادار بین گروه‌ها با $p < 0.05$ و ** تفاوت معنادار بین گروه‌ها با $p < 0.01$ را نشان می‌دهد.

روند تغییرات در این دو پارامتر در این تیمارها نیز همسو است. بیشترین مقدار آنزیم SGPT مربوط به توموری در روز ۲۱ و کمترین مقدار آن مربوط به شاهد آزمایشگاهی در روز ۱۴ است. نمودار ۲ نتایج این سنجش را نشان می‌دهد.

تحلیل داده‌های بیوشیمیایی آنزیم SGOT توسط آزمون ANOVA: نمودار ۱ داده‌های بیوشیمیایی آنزیم SGOT را نشان می‌دهد. در گروه توموری در نمونه T2 تفاوت سطح آنزیم در سه بازه زمانی معنی‌دار بود به دلیل آنکه در این گروه دریافت هیچگونه عصاره‌ای صورت نمی‌گیرد و موش‌ها فقط دریافت‌کننده ماده‌ی توکسیک DMBA می‌باشند. پس تنها حالت القا تومور در این نمونه‌ها انجام شده که با گذشت زمان شدت نیز می‌یابد (Pvalue= 0.0348). برای تیمار S75 نیز تفاوت سطح آنزیم در سه دوره زمانی معنی‌دار بود (Pvalue = 0,0483). برای تیمار R250 تفاوت سطح آنزیم در سه زمان نیز معنی‌دار بود (Pvalue=0,0429).

نتایج سنجش میزان آنزیم SGOT: در نمودار ۱ مقادیر عددی آنزیم SGOT و مقایسه نمونه‌های توموری، شاهد و تیمار مشاهده می‌شود. افزایش میزان عددی آنزیم با روند افزایشی بیان ژن Cox با نمونه‌های توموری شکل ۱ همسو می‌باشد. در مجموع سنجش مقدار آنزیم مطابق نمودار ۱ نشان دهنده افزایش معنادار مقدار آنزیم در نمونه‌های توموری و کاهش آن در نمونه‌های تیمار شده با عصاره ساقه و ریشه است. در این سنجش میانگین عددی مقدار آنزیم در نمونه‌های شاهد و شاهد آزمایشگاهی به عنوان مقدار نرمال در نظر گرفته شده است.

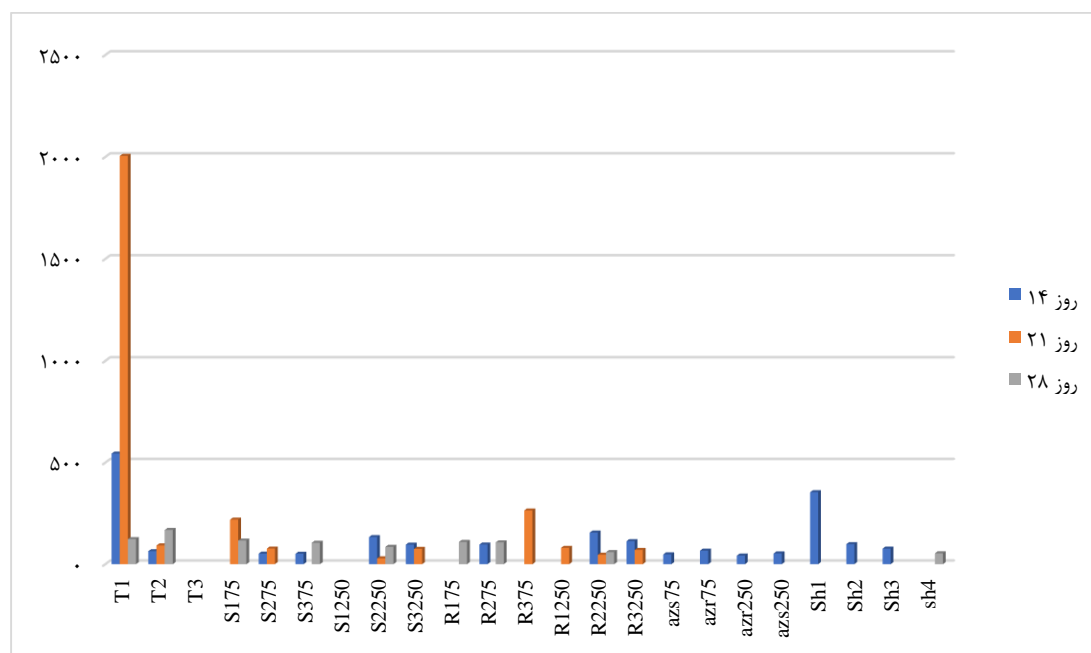
نتایج سنجش میزان آنزیم SGPT: با مقایسه مقدار عددی آنزیم SGPT در گروه توموری روز ۱۴ و توموری روز ۲۱، افزایش مقدار عددی آنزیم مشاهده می‌شود. بعبارتی از روز ۱۴ تا ۲۱ افزایش مقدار آنزیم و افزایش بیان ژن همسو بوده است. از طرفی در مورد تیمارهای S75 در روز ۱۴، ۲۱ و ۲۸، مقدار عددی آنزیم و بیان ژن هر دو از روز ۱۴ به ۲۱ افزایشی و از ۲۱ به ۲۸، کاهشی است. بنظر می‌رسد



نمودار ۱- مقایسه مقدار عددی آنزیم SGOT در نمونه‌های توموری، تیمار شده با عصاره هیدروالکلی ساقه و ریشه گیاه گزنه و شاهد آزمایشگاهی. برای هر نمونه روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نشان داده شده است. T نماد توموری شدن، S عصاره ساقه با دوزهای ۷۵ و ۲۵۰، R عصاره ریشه با دوزهای ۷۵ و ۲۵۰، az شاهد آزمایشگاهی و sh نمونه شاهد است. شماره‌های ۱، ۲ و ۳ تعداد تکرار در هر نمونه است.

در جداول تحلیل داده‌های بیوشیمیایی، شاخص $cl\ of$ discrepancy ۹۵٪ را نشان می‌دهد که با ۹۵٪ اطمینان اگر

این تست ۱۰۰ بار تکرار شود با سطح معنی‌داری کمتر از ۰،۰۰۵، نتایج چه مقدار معنادار خواهد بود.



نمودار ۲- مقایسه مقدار عددی آنزیم SGPT در نمونه‌های مختلف و تیمار شده با عصاره هیدروالکلی ساقه و ریشه گیاه گزنه. برای هر نمونه روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نشان داده شده است. T نماد توموری شدن، S عصاره ساقه با دوزهای ۷۵ و ۲۵۰، R عصاره ریشه با دوزهای ۷۵ و ۲۵۰، az شاهد آزمایشگاهی و sh نمونه شاهد است. شماره‌های ۱، ۲ و ۳ تعداد تکرار در هر نمونه است.

بحث

گزنه بر التهاب اولیه تخمدان بوده است. همچنین در این مطالعه آنزیم‌های سرمی SGOT و SGPT نیز بعنوان مارکرهایی مهم در تعیین سلامت یا اختلال بافتی مورد سنجش قرار گرفتند. در گروه شاهد مقدار عددی آنزیم برای SGOT ۱۶۸/۵ و مقدار ۱۴۵/۲۵ برای آنزیم SGPT در نظر گرفته شد. بنابراین عصاره‌هایی که باعث کاهش عددی آنزیم SGOT و SGPT از مقدار میانگین آنزیم در نمونه‌های توموری می‌شوند، از سایر عصاره‌ها موثرترند. موثرترین عصاره در کاهش آنزیم SGOT، مربوط به تیمار S250 در روز ۲۸ ام می‌باشد. در مورد آنزیم SGPT، تیمار S250 در روز ۲۱ ام است که البته این تیمار موثرترین کاهش حالت توموری را در بررسی مرفولوژی تخمدانی نیز داشته است. در مطالعه پورعلی و همکاران (۲۰۱۵) نیز، با میانگین گرفتن مقدار عددی آنزیم‌ها در نمونه‌های شاهد، مقدار عددی این دو آنزیم، ۵۵ برای SGPT و ۷۰ برای SGOT در

این مطالعه با هدف بررسی تغییرات مولکولی در بافت تخمدانی که با ماده کارسینوژن مواجه شده است، صورت گرفت. از ماده کارسینوژن به عنوان القاء کننده تومور استفاده شد تا ضمن تیمار با عصاره گزنه تغییرات مولکولی در مراحل اولیه توموری شدن بافت در مواجهه با ماده سمی مورد بررسی قرار گیرد. پس از تزریق ماده سمی، تیمار با عصاره‌های ریشه و ساقه گیاه با دوزهای ۷۵ و ۲۵۰ در طی دو مرحله صورت گرفت. سپس در سه بازه زمانی ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز خونگیری و تشریح جانوران انجام گردید. اولین نتایج بدست آمده، مقایسه شکل ظاهری و اندازه قطر تخمدان بود. افزایش اندازه و قطر تخمدان در نمونه‌های توموری نشان دهنده اثر ماده سمی و کاهش اندازه در نمونه‌های تیمار شده نشان دهنده اثربخشی تیمار عصاره

موارد بالاتر از گروه‌های تیمار در دوره‌های زمانی مشابه بود.

تری (۲۰۰۶) و زویام (۲۰۰۸) خاطر نشان کردند که به طور کلی سیکلواکسیژنازها در همه مراحل تومورزایی بدخیم، نظیر افزایش تکثیر سلولی، کاهش آپوپتوزی، رگزایی و تحرک سلول‌های سرطانی نقش دارند (۳۹، ۴۱). هاشمی (۲۰۰۲) نشان داد که سیکلواکسیژنازها موجب غیرفعال شدن گیرنده‌های مرگ سلولی شده است (۱۷). در این تحقیق نیز اثر افزایش بیان ژن Cox در تشدید توموری شدن بررسی شد. شکل ۱ روند توموری شدن گروه توموری را به صورت افزایشی در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نشان داد. با کاهش اثر ماده سمی، افزایش بیان در نمونه‌های توموری تشدید پیدا کرد. در مورد اثر تیمارها در بیان ژن Cox، عصاره S75 در روز ۲۸ ام از همه موثرتر بوده است. ضمن اینکه بررسی‌های روز ۲۱ نشان دهنده اختلافاتی معنادار در کاهش و افزایش بیان ژن و همچنین میزان آنزیم است که نیاز به مطالعاتی ویژه با رویکردی متفاوت دارد.

برای (۲۰۱۶) و شائو (۲۰۱۵) نشان دادند که بیان ژن Cox2 در انواع سرطان مثبت و بالاست. دلیل این امر ممکن است تکثیر بیش از حد سلول‌های تومورال و نیاز به رگزایی بیشتر جهت فرایند تکثیر و انتقال اکسیژن و مواد غذایی به سلول باشد (۹، ۳۶). در این تحقیق نیز با بررسی شکل ۱ مربوط به نحوه بیان ژن Cox در گروه توموری، با گذشت زمان بیان ژن افزایشی است که نشان دهنده بالا رفتن بیان ژن Cox در طی زمان و تشدید حالت توموری است. در سایر نمونه‌ها نیز در مقایسه گروه توموری با سایر گروه‌ها، شدت بیان ژن Cox، در گروه توموری که دریافت کننده هیچگونه تیمار گیاهی نبوده، در اکثر مواقع بالاتر است.

براوون و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند هنگامی که محقق هدفش مطالعه بر روی ژن خاصی است و یا داروی هدفمندی برای درمان سرطان ساخته است می‌تواند سل

نظر گرفته شد (۳۳). در تحقیقی آقابابا (۲۰۱۱)، به بررسی عصاره آبی-الکلی گیاه گزنه بر سطح پلاسمایی آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار پرداخت. نتایج نشان داد که سطح سرمی آنزیم‌های کبدی SGPT و SGOT در گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری ندارد (۳). در این پژوهش نیز انتظار ما این بود که نمونه‌های شاهد (بدون هیچ دریافتی) و نمونه‌های شاهد آزمایشگاهی (که فقط عصاره دریافت کرده اند) اختلاف معناداری نشان ندهند. نمودارهای ۱ و ۲ (با چشم پوشی از دو مورد) با تحلیل آماری نشان دهنده این موضوع بود. بنابراین با توجه به میانگین عددی شاهد، (۱۴۵/۲۵ برای SGPT و ۱۶۸/۵ برای SGOT) و با مقایسه مقدار عددی SGPT و SGOT در مورد تیمارها با نمونه شاهد می‌توان به این نکته دست یافت که اثر هر عصاره با غلظت مشخص در کاهش عدد آنزیمی موثر بوده است. از طرفی نمونه توموری T2 و تیمارهای S75 و R250 دارای سطح معنی‌داری در سه دوره زمانی نسبت به گروه کنترل می‌باشند. ذکر این نکته مهم است که در این پژوهش نمونه‌های تیمار با عصاره، همان نمونه‌های توموری شده بودند که با عصاره تیمار گردیدند.

در تحقیق دیگری تایانلو (۲۰۱۵) به بررسی تاثیرات عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه بر فاکتورهای التهابی کبدی رت‌های ویستار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القا شده با استرادیول والرات پرداخت و نتیجه گرفت که عصاره گزنه در کاهش علائم و التهابات ناشی از کبد چرب غیر الکلی در موش‌های PCOS تیمار شده با عصاره گزنه موثر بوده است (۳۸). در این تحقیق نیز همسو با نتایج ذکر شده و با بررسی نمودارهای بیان ژن Cox، و مقایسه با روند بیان ژن در گروه‌های توموری و تیمارها در بازه زمانی مشابه، به خوبی به تاثیر مثبت عصاره‌های ریشه و ساقه، در تخفیف التهابات ناشی از حالت توموری پی بردیم. نتایج نشان می‌دهد به طور متوسط بیان ژن در گروه توموری، در اکثر

توموری دارد. تومورهای بدخیم دارای عروق زیادی هستند و رشدشان سریع است و در نهایت گسترش سیستم عروقی احتمال تهاجم سلول‌های توموری را از طریق وارد شدن به جریان خون و انتشار به اندام‌های دیگر افزایش می‌دهد (۲۱). همانطور که در شکل ۲ دیده می‌شود التهاب بافت مجاور تخمدان و گسترش سیستم عروق خونی در ظاهر بافت‌ها نشان دهنده رشد تومور و تحریک سلول‌ها به سمت سرطانی شدن است.

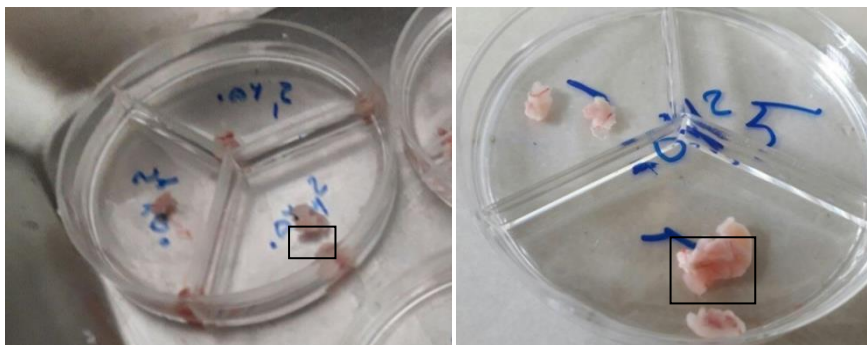
در این مطالعه تجربی همچنین مرفولوژی و اندازه قطر تخمدان مورد مقایسه قرار گرفت. شکل ۳ (سمت راست)، تخمدان توموری شده موش مربوط به تیمار S250 در روز ۱۴ با قطر حدود ۱/۵ سانتیمتر را نشان می‌دهد. شکل سمت چپ همان تیمار پس از ۲۸ روز را نشان می‌دهد. کاهش اندازه تخمدان به حدود طبیعی ۰/۵ سانتیمتر نشان دهنده اثر بخش بودن تیمار عصاره ساقه با غلظت ۲۵۰ بوده است.

کربل و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که ادامه رشد نئوپلازم اولیه و متاستاز بستگی به خون‌رسانی کافی به منطقه توموری دارد. تومورهای بدخیم دارای عروق زیادی هستند و رشدشان سریع است و در نهایت گسترش سیستم عروقی احتمال تهاجم سلول‌های توموری را از طریق وارد شدن به جریان خون و انتشار به اندام‌های دیگر افزایش می‌دهد (۲۱).

لاینی را انتخاب کند که میزان بیان ژن مورد مطالعه قبلاً در آن اندازه‌گیری شده و با افزایش فعالیت ژن و یا مهار آن می‌تواند کارایی داروی ساخته شده را بیازماید و به هدف خود که درمان سرطان است برسد (۱۰). در این مطالعه تجربی نیز بیان ژن Cox مورد بررسی قرار گرفت تا افزایش یا کاهش بیان ژن در گروه‌های مختلف تیمار و در زمان‌های متفاوت مورد مقایسه قرار گرفته تا موثرترین عصاره در بهبود و یا تشدید حالت توموری در تخمدان مشخص گردد. مطلب و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه تجربی بر روی عصاره گزنه، دریافتند که برای سیستم‌هایی که از حلال‌های آلی جهت استخراج عصاره استفاده می‌کنند، اتانول بسیار قوی‌تر عمل می‌کند (۲۷). بر همین اساس، در این پژوهش نیز از روش سوکسله و حلال اتانول، برای تهیه عصاره‌های ساقه و ریشه گیاه گزنه استفاده گردید.

کرامتی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که با مهار سیکلوآکسیژنازها در نتیجه مهار آنزیم‌ها، کاهش تکثیر سلولی و افزایش آپوپتوزیس موجب کاهش رشد تومور و بلعکس می‌گردد (۲۰). مطالعه تغییرات بیان ژن Cox در این پژوهش نیز در همین راستا صورت گرفت. بطوریکه تاثیر عصاره‌ها بر نمونه توموری باعث کاهش بیان ژن گردید که اثر آن بویژه در مرفولوژی تخمدان بخوبی روئت گردید.

کربل و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که ادامه رشد نئوپلازم اولیه و متاستاز بستگی به خون‌رسانی کافی به منطقه



شکل ۳- مقایسه مرفولوژی و اندازه تخمدان موش در تیمار S250. سمت راست پس از ۱۴ روز و سمت چپ تیمار پس از ۲۸ روز را نشان می‌دهد. کاهش اندازه تخمدان پس از تیمار ۲۸ روزه نشان دهنده تاثیر مثبت عصاره ساقه بر کاهش اندازه تخمدان است.

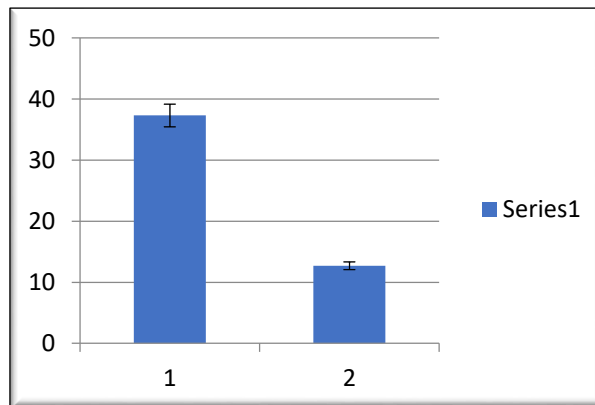


شکل ۴- تشریح و مقایسه اندام‌های داخلی موش تحت تیمار. التهاب، بزرگ شدن اندام‌ها و گسترش عروق خونی نشان دهنده توموری شدن بافت‌های موش تحت تاثیر ماده سرطانی می‌باشد. پیکان‌ها مناطق ملتهب را نشان می‌دهد.

در این تحقیق ما نیز علاوه بر تخمدان بافت‌های اطراف، از جمله روده‌ها را از نظر شکل ظاهری مورد بررسی و مقایسه قرار دادیم. همچنان که در شکل ۴ دیده می‌شود التهاب بافت‌های مجاور تخمدان و گسترش سیستم عروق خونی در ظاهر بافت‌ها نشان دهنده رشد تومور و تحریک سلول‌ها به سمت سرطانی شدن است. همچنین از شکل ۳، بافت تخمدان با درشتنمایی ۱۰ با نرم افزار ImageJ مورد بررسی قرار گرفت. متغییر مورد بررسی اندازه و حجم تخمدان بود. شکل ۵ نتیجه این مقایسه را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که عصاره‌های ریشه و ساقه بر اساس غلظت و زمان تزریق عصاره، فاصله زمانی تا تزریق ماده DMBA بر روی بیان ژن Cox اثر متفاوتی دارد.



شکل ۵- مقایسه اندازه و حجم بافت تخمدان با نرم افزار ImageJ. ستون ۱ تیمار پس از ۱۴ روز و ستون ۲ تیمار پس از ۲۸ روز با عصاره ساقه دوز ۲۵۰. کاهش اندازه تخمدان در ستون ۲ نشان دهنده تاثیر مثبت عصاره است. (سطح معناداری $p < 0.05$)

در مورد اثر تیمارها در بیان ژن Cox، عصاره $S75 = 0/602$

در روز ۲۸ ام از همه موثرتر بوده و عصاره ساقه $\frac{S75}{28}$ با بیشترین تاثیر در کاهش بیان ژن Cox و احتمالاً مهار سیکلواکسیژناز و مهار آنژیوژنز در سلول‌های سرطانی، موجب افزایش آپوپتوزیس و در نهایت موجب تخریب بافت توموری می‌گردد. این تحقیق اثر کاهشی و افزایشی هر عصاره را بر اساس نوع و دوز آن و زمان تزریق ماده

تشکر و قدردانی

مولفین بر خود لازم می‌دانند از مدیر محترم گروه زیست‌شناسی، اساتید و کارشناسان آزمایشگاه تحقیقاتی و همچنین پژوهشکده خوارزمی تشکر و سپاس‌گذاری نمایند.

منابع

- 1- Afrasiabic M, Mokhtari M. 2016. Effect of *Dianthus caryophyllu* extract on the induced hepatotoxicity by Gentamicin in wistar Rats. *Journal Gorgan Med SCI*. 18: 22-9.
- 2- Agagi OB. 2004. Acid deficiency of activities of aspartate amino transferase and alanine aminotransferase in liver and serum of albino rats. *Nahrung*. 48(2): 88-90.
- 3- Aghababa H, Hosseiny M, Hosseiny A. 2011. Effect of aqueous-alcoholic extract of *Urtica dioica* on the plasma Level of Hypophyseal - Thyroid Hormones. *Journal of Animal Biology*. 3 (4)
- 4- Alipoor FJ, Asadi MH, Torkzadeh-Mahani M. 2017. LncRNA MIAT Promotes Proliferation of Cervical Cancer Cells and Acts as an Anti-apoptotic Factor. *J Genet Resour*. 3(2):80-86.
- 5- Amini A, Gali-Muhtasib H, Ocker M, Stock RS. 2009. Overview of Major classes of Plant-Derived Anticancer Drugs. *IJBS*. 5(1):1-11.
- 6- Babashpour-Asl M, Baleghi M, Sajadi P, Golalipour MJ. 2014. Different aspects and Results of modern studies of *Urtica Dioica*, a review. *Jbabol unirmed sei*. 16(11):47-54.
- 7- Behtash N, Chayouri Azar E, Fakhrejehani F. 2008. Symptoms of ovarian cancer in young patients 2 years before diagnosis, a case-control study. *European Journal of cancer care*. 17(5): 483-7.
- 8- Bakrani M, Shahanipour K & Mehrzad VA. 2014. Comparison of the serum level of B-hcg, calcium phosphorus and Alkaline phosphatase activity between ovarian cancer patients and healthy individuals. *Quarterly of Horizon of Medical sciences*. 20(3):145-9.
- 9- Barari AR, Mojhde MA, Farzanegi PA, Ghasemi MO. 2016. Effect of six weeks of Endurance Training and Alovera on Cox -2 and MMP-9 Levels in Mice with Breast cancer. *J shahid Sadughi Univer Med Sci*. 24(1):65-73.
- 10- Browne BC, Cown J, Venkatesan N, Duffy MJ, Clynes M. 2011. Inhibition of IGF1R activity enhances response to trastuzumab in HER-2-positive breast cancer cells. *Ann Oncol*. 22: 68-73.
- 11- Davoodi B, Onsory Kh & Heydari Nasrabadi M. 2015. Genetic Polymorphism of the Axin2 Gene in Wnt Pathway in Patients with Ovarian Cancer. *Journal of Ardabil university of Medical Sciences*. 15(2): 220-7.
- 12- Ebrahimi Daryani N, Taher M, Shirzad S, Tatabai Vakili S. 2012. Liver enzyme disorder. *Journal of the Islamic Republic of Iran Medical System*. 30 (3): 272-87.
- 13- Firozi-Niyaki M, Barari AR, Abbassi-Dalooi A. 2018. The effect of endurance training and taxol consumption on cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 levels in the liver tissue of mice with cervical cancer. *Feyz Journal of Kashan University of medical sciences*. 22(5):517-524.
- 14- Haggirossadat F, Beenafid F, Kalantar M. 2010. Chemical assessment and Evaluation of its Antioxidant Effects. *Journal of Shahid Sadoughi university of Medical sciences*. 18(3): 284-91.
- 15- Hamta A, Parvini P. 2013. BRCA1 gene expression in DMBA induced breast cancer in rats. *Journal of Gorgan University of medical sciences*. 15(3): 25-31.
- 16- Harput Us, Saracoglu I, Ogihava Y. 2005. Stimulation of lymphocytic proliferation and inhibition of nitric oxide production by aqueous *Urtica dioica* extract. *Phytother Res*. 19(4):346-8.
- 17- Hashemi M, Karami-Tehrani F, Ghavami S. 2004. Cytotoxicity effect of cladribine on the MCF-7 human breast Cancer cell line. *Iranian biomedical Jou*. 8: 7-12.
- 18- Jalalabadi Y, Shirazi A, Charam-Nasiri M, Ale Davood A, Sarvari D. 2016. Increasing Tumor sensitivity to Radiation with the use of celecoxib. *Journal of Sabsevar University of Medical sciences*. 22(7): 1139-57.
- 19- Keramatti K, Habibi F, Babakhani A, Mehranpour M. 2011. The effect of Ketobrophen on induced cancer by DMBA in female rat. *Journal of North Khorasan University of medical scienc*. 3(4): 125-32.
- 20- Keramati K, Mehranpour M, Babakhani A, Vaezi GH, Habibi F. 2012. Effect of flunixin on ovarian cancer Induced by DMBA in female wistar Rats. *Knowledge & Health Journal*. 7(1): 44-49.
- 21- Kerbel RS. 2008. Tumor angiogenesis. *N Eng J Med*. 358(19): 2039-49.
- 22- Kim A, Veda Y, Naka T, Enomoto T. 2012. Strategies in epithelial ovarian cancer. *Journal of Experimental & clinical cancer Research*. 31(1): 14.

- 23- Modarresi Chardehi A, Salimash F, Abolhasane F. 2012. The Effect of alcoholic extract of nettle plant (*Urtica dioica* L) on the gram positive and negative bacterial Journal of Medicinal Plants. 42 (11): 98-104.
- 24- Modarresi M, Golsakhti S, Majlesi M. 2014. Effect of Hydroalcoholic Extract of *Melissa officinalis* on Liver Enzymes and Tissue in little mouse. Journal of Animal Biology. 7 (2): 71-79.
- 25- Monfared M, Kamkar A, Ghaffari-khaligh S, Jebeli-Javan A, Asadi F, Akhund zadeh-Basti A. 2011. Antioxidative effects of Iranian *Urtica dioica* L. extract on the oxidation of sunflower oil. J. Med plants Res. 5: 4438-45.
- 26- Moradi M, Amini K. 2017. Extraction and Its Antibacterial and Antifungal properties. Mazandaran Univ med sci Jou. 15(1): 74-85.
- 27- Motaleb Gh-R, Lohrasbi Dashtaki M.R, Nejati YazdiNejad M. 2014. Comparison of microwave assisted and traditional extraction of *Urtica dioica* L. evaluation of its antioxidant activity by HPLC assay. Jou of Plant Res. 28(2).
- 28- Naji T, Adibi N. 2014. Evaluation of cyclooxygenase 2 gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. Journal of laboratory Diagnosis. 12(2): 34-37.
- 29- Nikumanesh S, Ascharian AM. 2016. Antioxidant and cytotoxic effect Nettle leaf (*L.Urtica dioica*) on the A549 cell line. New's cellular-molecular biotechnology journal. 27-34.
- 30- Noguchi N, Niki E. 2000. Phenolic antioxidants A rational for design evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. Free rad biomed. 28(10):1538-46
- 31- Noori Dalouei M, Rashvand Z. 2010. Molecular Genetics on Gene therapy in ovarian cancer. Ofogh-e-Danesh. 16 (3).
- 32- Pak F, Barati M, Shokrollahi M, Cukhai P. 2014. Tumor Immunology and Tumor Cell Volatile Mechanisms of the Immune Response. Journal Kumesh. 15(4): 412-30.
- 33- Purali P, Hojjati V. 2017. Effect of berberine on blood and some liver enzymes in healthy and diabetic rats with streptozotonic. Jurnal nums. 5(4) 17.
- 34- Reid BM, Permuth J, Boosellers TA. Epidemiology of ovarian cancer. 2017. A review cancer Biology Medicine. 14(1): 320-9.
- 35- Safdary R, Shah moradi L, Danesh var M, Pourtorkan E, Cholam zadeh M. 2019. Decision Modeling for Diagnosis and screening of ovarian Epithelial cancer. Payavard. tums Journal. 12(1): 44- 52.
- 36- Shao N, Lu Z, Zhang Y, Wang M, Li W, Hu Z. 2015. Interlukin 8 up regulates integrin B3 Expression and promotes estrogen receptor - negative breast cancer cell invasion by inactivating the PI 3K/Akt/NF- κ B pathway. Cancer Lett. 364(2): 165-72.
- 37- Stokham SL, Scott MA. 2013. Fundamentals of veterinary clinical Pathology. John Wiley & Sons.
- 38- Tayanloo A, Zare S, Karimzadeh-Bardeh L, Hoseini S. 2017. Effect of *Urtica dioica* hydroalcoholic extract on liver inflammatory factors in polycystic ovarian syndrome induced in wistar. Nova Biologica Reperta. 4(2) :181-8.
- 39- Teri LL, Marche N, Shailesh S. 2006. Inhibition of cyclooxygenase-2 decrease Breast cancer cell motility invasion and matrix metalloproteinase expression. BMC Cancer. 6:179-181.
- 40- Vahdatpoor H, Shakeryan S. 2018. Liver enzyme changes following the consumption of ginger and eccentric exercises in overweight girls. Journal of kashan University of Medical sciences. 22(2):162-8.
- 41- Zhu Ym, Azahri DC, Woll P. 2008. Effect COX2 inhibition on expression of Vascular endothelial growth factor and interleukin & in lung cancer cells. BMC Cancer. 8: 216- 18.
- 42- Zuga zagoitia J, Guedes C, Ponce S, Ferrer I, Molina - Pinelo SOV, Pazares L. 2016. Current challenges in cancer treatment. Clinical Therapeutics. 38(7): 66-1551.
- 43- National Cancer Registrars Association [home page on the internet]. Available from: <http://www.NCRA,usa.org>
- 44- Tehranipour M, Emamyian MZ, Vaezi GH, ShahrokhAbadi Kh. 2018. The Effect of Aqueous Extract of *Cichorium intybus* L. Stem on the Biochemical Parameters of Serum and Urine in Male Rats with Nephrolithiasis. Iranian J Bio Sci. 13(3): 53-61.

Evaluation of the effect of hydroalcoholic extract of nettle plant on the expression of the COX gene in cancer induced mouse ovaries

Ziaee L.¹, Shahrokhadi Kh.¹, Baharara J.² and Tafreshian A.R.³

¹ Dept. of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

² Research Center for Animal Development Applied Biology & Dept. of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. of Iran

³ Dept. of Immunology Medical College, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Ovarian cancer has the highest mortality rate among all genital malignancies. It is the sixth cancer in the western world that has no symptoms at all in the early stages. One of the genes that is highly expressed and inhibited in cancer is the Cox gene. The aim of this study was to evaluate ovarian cancer in early stages, evaluation of Cox gene expression and SGPT and SGOT enzymes, and also investigated the treatment of different concentrations of nettle extract. In this experimental study, hydroalcoholic extract of nettle leaf, stem and root was prepared and doses of 75 and 250 mg/kg body weight were prepared. DMBA was used to induce ovarian cancer in mice. Blood samples were taken after 28 days to measure enzyme levels. Ovarian tissue was then separated, weighed and morphologically compared with other organs. RNA extraction, nanodrape, electrophoresis, cDNA synthesis, and gene expression analysis were performed. The results were evaluated by SPSS software. The results of SGOT enzyme assay showed that R250, S75 and T2 treatments had significant changes. The normal expression level of Cox gene was in the laboratory control (1.63) and the lowest gene expression was related to S75 treatment on day 28 and the highest expression was related to R75 on the same day. Cox gene expression changes and the SGOT enzyme can be used as a marker for early detection of ovarian cancer.

Key words: Ovarian Cancer, Cox Gene, SGOT Enzyme, *Urtica dioica* L.