مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

اثر مهاری کمپلکس طلا(III)– هیدانتوئین بر مهاجرت ردهٔ سلولی آدنوکارسینومای معده انسان(AGS) از طریق تغییر بیان ژن‌های *SNAIL*، *MMP14* و *miR-22*

فرانک شیاسی ارانی[۱]، محمد نبیونی[۲*]، فتاح ستوده نژاد نعمت الهی[۱]، شهره زارع کاریزی[۳]**

[۱] گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
[۲] گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
[۳] گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: سرطان معده یکی از بیماری‌های پیچیده و هتروژن انسانی است که به دلیل میزان بالای مرگ و میر در سرتاسر جهان از چالش‌های اصلی سلامت جهانی محسوب می‌شود. هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی اثرات مهاری بر مهاجرت سلول‌های AGS سرطان معده انسانی از طریق تغییرات بیان ژن‌های درگیر در فرآیند مهاجرت *MMP14*، *SNAIL* و همچنین *miR-22* می‌باشد.

روش کار: سلول‌های AGS کشت داده شده با دوزهای 3µg/ml و 5µg/ml از کمپلکس طلا(III)-هیدانتوئین تیمار شدند. بررسی مهاجرت سلول‌ها در گروه‌های تیمار و کنترل به روش تست خراش مورد بررسی قرار گرفت. بیان ژن‌های *MMP14* و *SNAIL* و همچنین تغییرات بیان *miR-22* به کمک روش qRT-PCR بررسی و مطالعه شد.

یافته‌ها: نتایج تست خراش نشان داد که کمپلکس طلا توانست از مهاجرت سلول‌ها نسبت به گروه کنترل ممانعت به عمل آورد. تغییرات بیان در فاکتورهای *MMP14* و *SNAIL* نشان دادند که این کمپلکس توانست میزان بیان *MMP14* را به شدت کاهش دهد با این حال بر کاهش سطح بیان *SNAIL* تأثیر معنی داری ایجاد نکرد. از طرف دیگر *miR-22* نسبت به ژن مرجع افزایش بیان نشان داد.

نتیجه گیری: کمپلکس طلا(III) از طریق تغییراتی که در سطح بیان *miR-22* ایجاد می‌کند می‌تواند بر میزان بیان ژن‌های هدف خود *MMP14* و *SNAIL* تأثیر گذاشته و اثرات مهاری بر مهاجرت روی ردهٔ سلولی AGS اعمال کند. با توجه به پیچیدگی مسیرهای مولکولی، یافتن مکانیسم دقیق اثر کمپلکس طلا (III)-هیدانتوئین به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

واژه‌های کلیدی: سرطان معده، AGS، *SNAIL*، *MMP14*، *miR-22*

نویسندگان مسئول، پست الکترونیک:* nabiuni@khu.ac.ir ،** Fattah@iau.ac.ir

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

مقدمه:

سرطان معده از جمله بدخیمی‌هایی محسوب می‌شود که منشأ آن بافت اپی‌تلیالی معده است. این بیماری پیچیده بر اثر عوامل خطر متعددی ایجاد می‌شود که پنجمین سطح بدخیمی‌ها و چهارمین سطح از مرگ و میرهای مرتبط با سرطان در کل دنیا را به خود اختصاص می‌دهد(۲۶). شانس ابتلا به این بیماری در مردان ۱۵/۸ مورد و در زنان ۷/۰ مورد در هر صدهزار مورد است که نشان دهندهٔ آسیب پذیرتر بودن جامعهٔ مردان نسبت به این بدخیمی می‌باشد(۲۰, ۲۲). در ایران سرطان معده یکی از رایج-ترین سرطان‌ها در میان مردان و زنان با تعداد ابتلا سالانه ۷۳۰۰ مورد، محسوب می‌شود. از طرف دیگر اولین عامل مرگ در اثر ابتلا به سرطان در هر دو جنس مربوط به سرطان معده است که دلیل اصلی آن را می‌توان شناسایی این بیماری در مراحل پیشرفته دانست(۷). شناسایی به موقع و درمان مؤثر سرطان معده یکی از چالش‌های پیش روی جامعهٔ بهداشت و درمان است و در قرن بیستم به کارگیری روش‌های درمانی رادیوتراپی و شیمی درمانی برای درمان این سرطان مورد توجه قرار گرفته است(۱۵). کمپلکس‌های فلزی به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد فلزات از جمله فعالیت‌های اکسایش-کاهش و واکنش پذیری با سوبستراهای آلی، اهداف مطالعاتی جذابی برای متخصصین حوزه‌ی داروسازی و درمانِ سرطان هستند(۱۲). در موضوع سرطان، فلز طلا در دهه‌های اخیر مورد توجه ویژه دانشمندان قرار گرفته است و این رویکرد احتمالاً به دلیل چالش‌هایی است که دربارهٔ داروهای شیمی درمانی رایج مبتنی بر فلزات مانند پلاتین وجود دارد؛ ایجاد شده است. کمپلکس‌های طلا با سمیت کمتر و اختصاصیت بیشتر، در بهبود سرطان مؤثرتر عمل می-کنند(۲۹).

هیدانتوئین، یک مولکول ارزشمند با خواص بیولوژیک محسوب می‌شود. این ترکیب در ساختار حلقه مانند خود دارای اتم‌های گوگرد یا اکسیژن یا نیتروژن و یک اتم کربن است که می‌تواند به عنوان دهنده یا گیرندهٔ هیدروژن عمل کرده و پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی با اهداف بیولوژیک برقرار کند(۳, ۱۳). ساختارهای دارای هیدانتوئین خواص بیولوژیک متعددی از جمله خواص ضدسرطانی، ضد التهابی، ضد دیابتی، ضدمیکروبی، ضد انعقادی و غیره را نشان می‌دهند(۱۳). خواص ضدسرطانی مشتقات هیدانتوئین مربوط به انواع مختلف اهداف سلولی است و از مهم‌ترین آنها می‌توان به آنزیم‌های هیستون داستیلازها، Bcl-2، پلیمریزاسیون توبولین و مهارکننده‌های EGFR اشاره کرد(۱۳). علاوه بر خواص ضدسرطانی مشتقات هیدانتوئین، این ترکیب‌ها می‌توانند به عنوان لیگاندهای بیولوژیک برای ارتقا و بهبود خواص ضدسرطانیِ عناصر فلزی نیز به کارگرفته شوند. کنژوگه کردن عنصر طلا با ترکیب‌های آلی مانند مشتقات هیدانتوئین علاوه بر ارتقای اثرات ضد سرطانی آن منجر به افزایش پایداری عنصر طلا در شرایط فیزیولوژیک می‌شود. با توجه به عملکرد متفاوت عنصر طلا نسبت به داروهای رایج شیمی درمانی مانند سیس‌پلاتین، مطالعه و بررسی ترکیب‌های حاوی عنصر طلا مورد توجه مطالعات اخیر قرار گرفته است(۲۹).

گروهی از آنزیم‌های پروتئازی حاوی زینک که در طیف گسترده-ای از بافت‌ها بیان می‌شوند، ماتریکس متالوپروتئینازها هستند و در متاستاز و تجزیهٔ ماتریکس خارج سلولی نقش ایفا می‌کنند. این آنزیم‌ها مسیرهای مهاجرت سلولی و سیگنال‌های انکوژنیک را به راه می‌اندازند. MMP-14 یک عضو از این خانواده است که توانایی زیادی در تجزیهٔ ماتریکس خارج سلولی دارد (۹). مطالعات مختلف، اثر ترکیب‌های دارای هیدانتوئین را بر التهاب و مهاجرت سلولی نشان دادند که از آنزیم‌های هدف آن، آنزیم-هایی مانند MMP-9 (تجزیه کنندهٔ کلاژن و غشای پایه) و همچنین MMP-13 می‌باشند. مطالعات نشان داده است که استخلاف‌های متفاوتی از هیدانتوئین‌ها می‌توانند با مهار آنزیم MMP-9 و MMP-13 از تهاجم سلول‌های سرطانی جلوگیری کنند(۱۷).

فرآیند EMT (اپی تلیال مزانکایمال ترنزیشن) یک نشانه پاتولوژیک بدخیمی‌ها محسوب می‌شود و در آن سلول‌ها ویژگی-

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

های اپی‌تلیالی و مزانشیمی را توأماً نشان می‌دهند. در بروز این شرایط فاکتورهای رونویسی مختلفی نقش ایفا می‌کنند. خانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی انگشت روی با عنوان خانواده *SNAIL* شناخته می‌شوند. *SNAIL* اولین و مهم‌ترین فاکتور رونویسی شناخته شده است که منجر به مهار E-cadherin شده و با همکاری Ras توسط TGF-β القا می‌شود. این فاکتور رونویسی در پیشبرد فرآیند EMT و مهاجرت سرطان معده نقش ایفا می‌کند(۱۹).

microRNAها، RNAهای تک رشته‌ای با طول تقریبی ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند که مکمل mRNAهای ژن‌های کد کنندهٔ پروتئین بوده و می‌توانند از بیان ژن‌های مرتبط و تشکیل پروتئین‌های آنها، جلوگیری کنند (۱۴). به دلیل هدف قرار گرفتن بخش عمده‌ای از mRNAهای درون سلول توسط miRNAها، این مولکول‌ها قادر هستند نقش تنظیمی بسیار مهمی در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و تکوینی مانند تمایز سلول، تکثیر سلولی، اپوپتوز و حتی ناپایداری ژنتیکی ایفا کنند. از سویی دیگر این مولکول‌ها در پاسخ‌های سلولی به استرس‌های محیطی، کمبود مواد غذایی، کمبود اکسیژن، استرس‌های اکسیداتیو و آسیب‌های مولکول DNA که در بیماری‌های پیچیدهٔ انسان مهم هستند، نقش ایفا می‌کنند(۱, ۶). به دلیل پیچیدگی‌های مولکولی درون سلول در پی عملکرد miRها و همچنین تغییرات این مولکول‌ها در پیشرفت سرطان، هدف مطالعهٔ حاضر بررسی اثر مهاری کمپلکس طلا-هیدانتوئین بر مهاجرت سلول‌های سرطان معدهٔ انسانی AGS از طریق تغییرات بیان ژن‌های *MMP14* ، *SNAIL* و همچنین *miR-22-3p* است.

مواد و روش‌ها

آماده سازی کمپلکس طلا- هیدانتوئین برای تیمار

کمپلکس طلا(III)- هیدانتوئین با فرمول کامل ۵- متیل-۵-(۲-پیریدیل)-۲،۴- ایمیدازولیدین دیون- طلا (III) به صورت پودر زرد رنگ (دانشکده شیمی،دانشگاه بوعلی سینا-همدان، ایران) خریداری شد. این کمپلکس برای اولین بار در سال ۲۰۱۴ توسط صابونچی و همکارانش سنتز و مشخصه یابی شده است(۱۸). این ماده به صورت پودر جامد و در شرایط تاریکی نگه‌داری شد تا ساختار آن پایدار بماند و برای هر آزمایش محلول استوک تازه تهیه شد. برای تهیه محلول استوک اصلی با غلظت 1mg/ml، هر بار مقدار 1mg از پودر زرد را در شرایط تاریکی با ترازو دیجیتال (Adam، سوئیس) اندازه گیری و سپس در مقدار 50µl DMSO (Merck، آلمان) حل شد. پس از یکنواخت سازی مقدار 950µl محیط کشت (Gibco-invitrogene، آمریکا) به محتوای میکروتیوب اضافه و به خوبی پیپت شد. به منظور جلوگیری از اثر کشندگی DMSO بر سلول‌ها، غلظت این حلال در تمام تست‌ها زیر ۰/۵ درصد در نظر گرفته شد. باتوجه به میزان IC_{50} کمپلکس طلا بر سلول‌های AGS، غلظت 5µg/ml و 3µg/ml (یک غلظت تقریباً برابر با IC_{50} و غلظت دوم کمتر از IC_{50}) برای تیمار سلول‌ها در نظر گرفته شد.

کشت سلول

ردهٔ سلولی AGS انسانی از بانک سلولی مرکز ملی ذخایر ژنتیک و زیستی ایران (کد کاتالوگ: IBRC/C11442) خریداری شد. سلول‌های AGS به غلظت 2×10^4 cell/ml در محیط کشت high glucose DMEM (Gibco-invitrogene، آمریکا) حاوی ۱۰٪ FBS (سرم جنین گاو) (Gibco-invitrogene، آمریکا) و آنتی‌بیوتیک (Gibco-invitrogene، آمریکا) پنی-سیلین 1unit/ml و استرپتومایسین 100µg/ml، در فلاسک‌های ۲۵ سانتی‌متر مربع کشت داده شدند و درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و ۵٪ CO_2 انکوبه شدند. به منظور بررسی ظاهری سلول‌ها و عدم آلودگی، به صورت دوره‌ای هر ۲۴ ساعت سلول‌ها توسط میکروسکوپ معکوس (Biomedia، اروپا) مشاهده شدند. تعویض محیط کشت با مشاهدهٔ تغییر رنگ محیط به رنگ زرد (حالت اسیدی) هر ۲۴

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

تا ۴۸ ساعت یکبار، انجام شد. هنگامی که سلول‌ها ۸۰٪ سطح فلاسک را پوشش دادند، پاساژ سلولی انجام شد.

بررسی مهاجرت سلولی

بررسی مهاجرت سلولی به روش تست خراش (Scratch assay) انجام شد. برای این منظور ابتدا تعداد ۲×۱۰^{۴} سلول AGS در هر خانهٔ پلیت کشت ۲۴ خانه، دانه گذاری شدند و حجم کلی هر خانه با محیط کشت کامل به 1ml رسید. به منظور چسبیدن سلول‌ها به کف چاهک پلیت و دستیابی به تراکم سلولی۸۰٪، مدت زمان ۲۴ ساعت پلیت‌ها در انکوباتور نگه‌داری شدند. سپس با میکروسکوپ معکوس سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفته و به وسیلهٔ سرسمپلر کریستالی با یکبار حرکت دست و به صورت بالا به پایین سطح هر چاهک خراش ایجاد شد. محیط کشت مصرف شده حاوی سلول‌های جدا شده، به آرامی و با کمک سمپلر از گوشهٔ هر پلیت برداشت و حذف شدند. در هر خانهٔ آزمایش غلظت 5µg/ml (این غلظت براساس میزان IC_{50} این کمپلکس بر سلول‌های AGS انتخاب شده است) از محلول کمپلکس طلا و در خانه‌های کنترل محیط کشت کامل با حجم کلی 1ml اضافه شد. به وسیلهٔ میکروسکوپ معکوس مجدد پلیت کشت مورد بررسی قرار گرفت و در لحظهٔ صفر و ۴۸ ساعت بعد، ناحیه خراش با میکروسکوپ معکوس بررسی و تصویر برداری شد. تصاویر به کمک نرم افزار Image J ورژن 1.54g(National Institutes of Health (NIH), USA) مقیاس گذاری و مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان بهبود زخم و مهاجرت سلولی به روش سوارز-آرندو و همکاران(۲۰۲۰) محاسبه گردید(۲۱).

بررسی تغییرات بیان ژن‌های *SNAIL*، *MMP14* و *miR-22*

بررسی تغییرات بیان ژن‌های *SNAIL*، *MMP14* و *miR-22* در سطح ترانسکریپت با استفاده از روش qRT-PCR انجام شد. برای این منظور استخراج RNA کلِ سلول‌های تیمار شده و کنترل با استفاده از کیت RNX- Plus Solution (شرکت سیناکلون، ایران Cat. No.: EX6101) طبق دستورالعمل کارخانه انجام پذیرفت. به منظور بررسی سطح بیان ژن‌های *MMP14* و *SNAIL*، ابتدا ساخت تک رشتهٔ DNA مکمل از رشته RNA الگو با استفاده از کیت M-MLV RT kit (شرکت یکتا تجهیز آزما، ایران، Cat No: YT4500) و براساس شیوه نامه شرکت سازنده، انجام گرفت. برای فرآیند سنتز cDNA ژن‌های *MMP14* و *SNAIL* از پرایمرهای تصادفی هگزامری و برای *miR-22* از پرایمر ساقه-حلقه (Stem-loop) اختصاصی، با برنامه‌ی دمایی دمای 25°C مدت زمان ۱۰ دقیقه. دمای 37°C مدت زمان ۵۰ دقیقه و دمای 85°C به مدت ۵ دقیقه (این مراحل ۵ بار تکرار شد) استفاده شد. پس از سنتز cDNA، بررسی سطح بیان هریک از ژن‌ها به کمک روش qRT-PCR به روش سایبرگرین انجام شد. در این آزمایش مسترمیکس سایبرگرین از شرکت امپلیکون (دانمارک، Cat. No.: A325402) تهیه شد که حاوی رنگ سایبرگرین، بافر مخصوص واکنش، آنزیم DNAپلیمراز، و dNTP های مخلوط است. برای هر نمونه آزمایش از DNA الگو به مقدار 20ng حجم 1µl، پرایمرهای فوروارد و ریورس با غلظت 10µM، هرکدام 0.3µl و مسترمیکس RealQ Plus Master Mix Green, High ROX™ به میزان 5µl، آب دیونیزه به میزان 3.4µl به کار گرفته شد. پرایمرهای فوروارد و ریورس از طریق سایت Oligo7 و srnaprimerdb طراحی و سپس سنتز شدند. توالی پرایمرها در جدول- ۱ ارائه شده است. بیان نسبی ژن‌های مورد آزمایش نسبت به ژن مرجع *B2M* (بتا-۲-میوگلوبین) و بیان نسبی *miR-22* نسبت به microRNA مرجع *U6* مورد ارزیابی قرار گرفتند. برنامه دمایی و مدت انکوباسیون در دستگاه ترموسایکلر(eppendorf، آلمان) به این ترتیب اجرا شد: چرخه اول در دمای 95°C مدت زمان 15 دقیقه، چرخه دوم در دمای

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

95°C به مدت ۱۵ ثانیه، 62°C به مدت ۳۰ ثانیه و 72°C به مدت ۱۰ ثانیه که این مرحله ۴۵ بار تکرار شد، چرخه سوم در دمای72°C به مدت ۹۰ دقیقه. در پایان مراحل، نمودار CT توسط دستگاه ثبت و میزان fold change نمونه‌ها با رابطه عمومی $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه گردید(۱۰).

آنالیزهای آماریبه منظور بررسی و آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار GraphPad Prism ورژن 10.5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) استفاده شد. هر تست به طور جداگانه ۳ بار تکرار شد و برای هر نمونه نیز ۳ تکرار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) ارائه شدند. مقایسه‌ی بین گروه کنترل و گروه تیمار با استفاده از آزمون t مستقل دوطرفه انجام شد. میزان P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول- ۱: توالی الیگومری مورد استفاده جهت ارزیابی بیان ژن‌های *SNAIL*، *MMP14* ، *B2M* و *miR-22-3p*

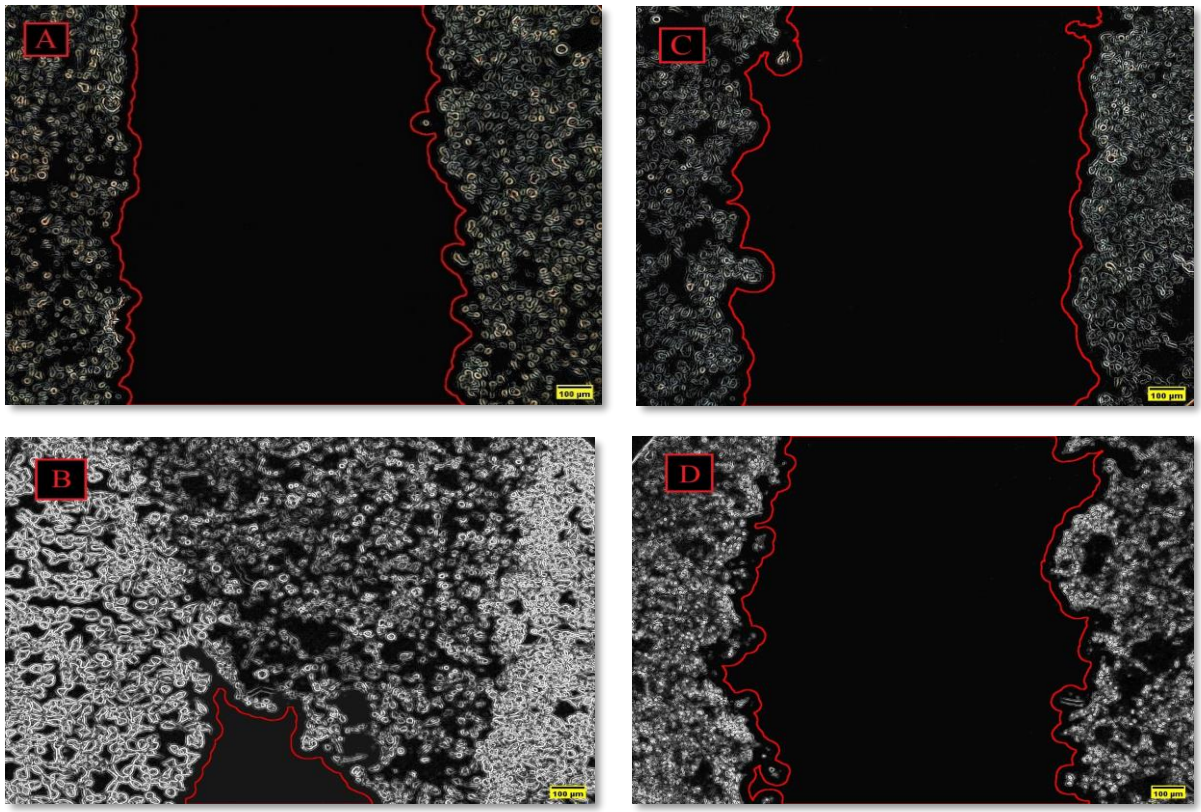
Gene	*Forward primer*	*Reverse Primer*	Product length
B2M	5′-GACCACTTACGTTCATTGACTCC-3′	5′-CAGGGTTTCATCATACAGCCAT-3′	126bp
SNAIL	5′- ATGCACATCCGAAGCCACA-3′	5′-CATCTGAGTGGGTCTGGAGG-3′	187bp
MMP14	5′- CCGTGGAAACAAGTACTACC -3′	5′-AAGTGAAGACTTCATCGCTG-3′	137bp
has-miR-22-3p	5′ -AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU-3′		
Stem-loop primer (specific)	5′ -GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACACAGTTC-3′		
Forward	5′ -CGAGGTAAGCTGCCAGTTG-3′		
Universal (Reverse)	5′ -CAGTGCAGGGTCCGAGG-3′		

نتایج مهاجرت سلول‌ها

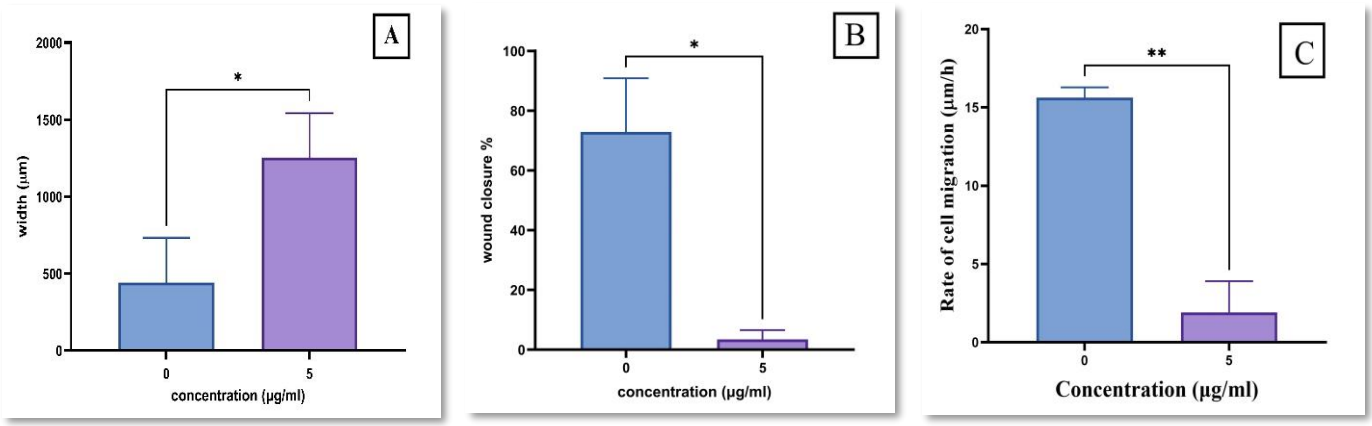
به منظور بررسی تأثیر کمپلکس طلا(III) بر مهاجرت سلول‌های AGS، از روش تست خراش بهره گرفتیم. تصاویر میکروسکوپ معکوس در لحظهٔ صفر از نمونه‌های تست و کنترل با تصاویر نمونه‌ها پس از مدت زمان ۴۸ ساعت، نشان دادند که ناحیهٔ خراش در نمونه‌های کنترل به شکل قابل توجهی باریکتر شده است؛ در حالی که در گروه تیمار ناحیهٔ خراش تفاوت قابل ملاحظه‌ای با ساعت صفر نداشت(شکل-۱ A,C). پس از مدت زمان ۴۸ ساعت، بیشترِ ناحیهٔ خراش در گروه کنترل از سلول‌هایAGS پر شده بود؛ در مقابل در گروه تیمار ناحیهٔ خراش تفاوت چشم‌گیری با ساعت اولیه نداشت (شکل-۱ D,B).

مقایسهٔ میانگین مقادیر عرض خراش در گروه‌های کنترل در مدت زمان‌های صفر و ۴۸ ساعت تفاوت معنی‌دار نشان دادند (P value=0.027*). در مقابل در گروه‌های تیمار تفاوت معنی داری در بین ساعت‌های ذکر شده مشاهده نشد (شکل-۲ A). میزان بسته شدن خراش در گروه کنترل افزایش و همچنین در گروه تیمار کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد(P = 0.019*) (شکل-۲ B). همچنین میزان مهاجرت سلول‌ها در گروه‌های کنترل نسبت به گروه تیمار افزایش معنی داری نشان دادند(P = 0.004**) (شکل-۲C).

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356



شکل-۱: آنالیز تصاویر میکروسکوپی سلول‌های AGS به کمک نرم افزار image J و محاسبهٔ مساحت خراش. خطوط قرمز محدودهٔ مساحت خراش را در گروه کنترل در زمان صفر (A)، ۴۸ ساعت (B) و گروه تیمار شده با غلظت 5µg/ml (C) زمان صفر، (D) ۴۸ساعت، نشان می‌دهد، تصاویر با بزرگنمایی x10 ثبت شده است و مقیاس تصاویر 100µm است.

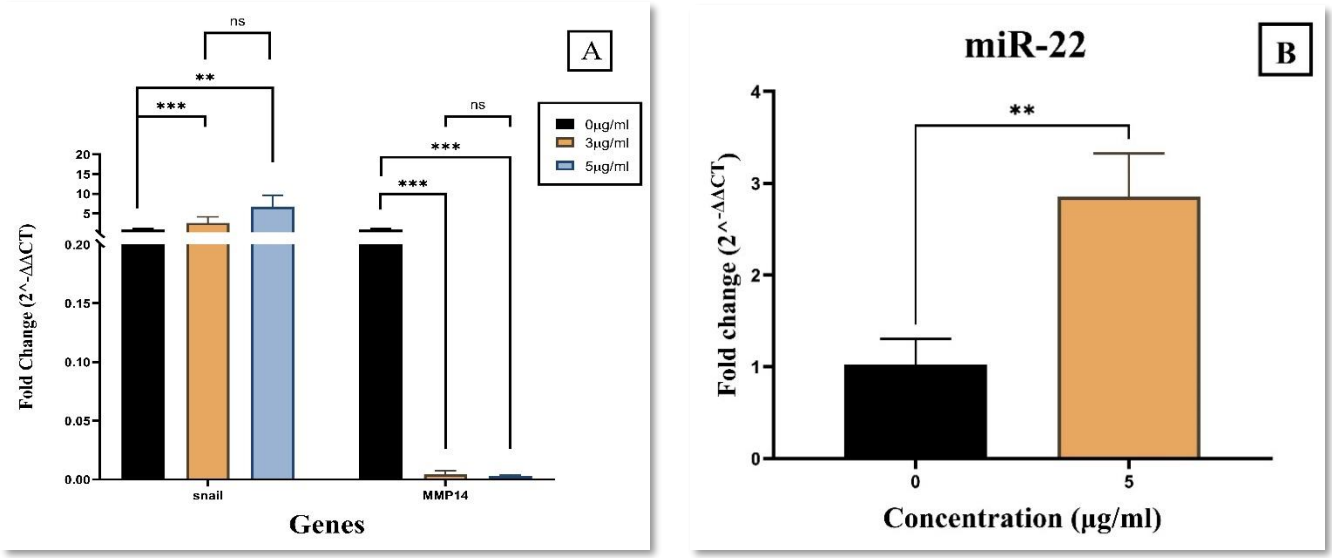


شکل-۲: مقایسهٔ میانگین عرض خراش (µm) (A)، میزان بسته شدن خراش (٪) (B) و سرعت مهاجرت سلولی (µm/h) (C) در گروه‌های کنترل و تیمار در زمان‌های صفر و ۴۸ ساعت. مقایسهٔ بین گروه کنترل و تیمار با استفاده از آزمون t دو طرفه انجام شده است(P Value<0.05).

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

نتایج بررسی بیان ژن‌های *SNAIL, MMP14* و *miR-22*

میزان بیان ژن‌های *SNAIL* و *MMP14* و *miR-22* در سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های 3,5 µg/ml کمپلکس طلا به روش qRT-PCR بررسی شد. سلول‌های تیمار شده با غلظت 3µg/ml افزایش بیان ژن *SNAIL* ($P < 0.05^{***}$) و کاهش بیان *MMP14* ($P < 0.05^{***}$) را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. همچنین میزان کاهش بیان ژن *MMP14* در غلظت 5µg/ml با کاهش بیشتری روبرو بود ($P < 0.05^{***}$). سطح بیان ژن *SNAIL* در غلظت 5µg/ml نسبت به گروه کنترل، همچنان افزایش بیان را نشان داد ($P < 0.05^{***}$) (شکل-۳ A). میزان تغییرات بیان *miR-22-3p* در سلول‌های AGS تیمار شده با غلظت 5µg/ml کمپلکس طلا در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش بیان نشان داد ($P < 0.05^{***}$) (شکل-۳ B).



شکل-۳: میزان تغییرات بیان (fold Change) ژن-های *Snail* و *MMP14* پس از تیمار با غلظت‌های ۳ و۵ µg/ml و *miR-22* پس از تیمار با غلظت ۵ µg/ml. برای هر گروه حداقل ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مقایسهٔ بین گروه کنترل و تیمار با استفاده از آزمون t دو طرفه انجام شده است (PValue<0.05).

بحث

در سال‌های اخیر، یکی از چالش‌های اصلی سلامت در سرتاسر جهان مربوط به بیماری سرطان، تشخیص مناسب و زودهنگام و رویکردها و روش‌های درمانی مؤثر آن است(۲۳). از نظر زیست شناختی یکی از تظاهرات مهم و اساسی تومورهای بدخیم و سرطانی، جابجایی و مهاجرت سلول‌های بدخیم و در نتیجه متاستاز می‌باشد که عامل اساسی در مرگ بیماران مبتلا به سرطان محسوب می‌شود. سلول سرطانی برای بروز فنوتیپ بدخیمی نیاز دارد که از مکان اولیهٔ خود جدا شده و از غشای پایه عبور کند به ماتریکس خارج سلولی نفوذ کرده و وارد گردش خون شود(۲۵). در مطالعات مختلف، متاستاز سرطان معده به بافت‌های کبد، صفاق، ریه، استخوان و گره‌های لنفی گزارش شده است(۸). در این پژوهش، هدف ما بررسی اثرات کمپلکس طلا(III)- هیدانتوئین بر مهاجرت سلول‌ها در شرایط *invitro* بود. مشاهدهٔ تصاویر میکروسکوپی تست خراش برای گروه‌های تیمار و کنترل نشان دادند که کمپلکس طلا-هیدانتوئین قادر

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

است جلوی مهاجرت سلول‌ها را گرفته و مانع پر شدن ناحیه خراش شود. در فرآیند تهاجم و مهاجرت سلول‌های سرطانی، فاکتورهای مولکولی متعددی نقش ایفا می‌کنند که از مهم‌ترین آنها مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی و فاکتورهای رونویسی درگیر در فرآیند EMT هستند. از عوامل مهم در فرآیند سیگنالینگِ فنوتیپ EMT می‌توان به فاکتور رشد تبدیل کننده بتا (TGFβ) و فاکتورهای رونویسی مانند ZEB، Snail و Twist اشاره کرد(۱۶). در این پژوهش هدف دیگر ما بررسی سطح بیان آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز*MMP14* و همچنین فاکتور رونویسی *SNAIL* بود که به روش qRT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که در سرطان معده، *MMP14* دچار افزایش بیان شده و این افزایش با تهاجم سلول‌های سرطانی مرتبط است. این آنزیم در تجزیه‌ی ECM و در نهایت تهاجم نقش ایفا می‌کند و می‌تواند منجر به ترشح pro-MMP2 و pro-MMP9 شود(۲, ۴). فرآیند EMT یک برنامه‌ی مولکولی برای تبدیل سلول‌های اپی-تلیالی غیرمتحرک به سلول‌های مزانشیمی متحرک می‌باشد و نقش مهمی در تهاجم و متاستاز تومور ایفا می‌کند(۲۹). *SNAIL* یک فاکتور رونویسی کلیدی در مسیر EMT می‌باشد و نقش مهمی را در پیشرفت سرطان به عهده دارد (۲۴). متاستاز سرطان معده به گره‌های لنفی می‌تواند با افزایش بیان بیش از حد *SNAIL* مرتبط باشد(۵). در پژوهش حاضر، نتایج آزمایش-های ما در مورد *MMP14* نشان دادند که کمپلکس طلا می‌تواند در بیان این فاکتور در یک روند وابسته به دوز تأثیرگذار باشد. از سوی دیگر بررسی بیان فاکتور رونویسی *SNAIL* نشان داد که تیمار سلول‌ها با کمپلکس طلا نتوانست منجر به کاهش معنی داری در سطح بیان این ژن شود. در مطالعات جدید تغییرات بیان بعضی از ژن‌ها را مرتبط با بیان میکروRNA های خاصی دانسته‌اند و در مورد *SNAIL* و *MMP14* نیز مطالعاتی انجام شده است که *miR-22* بر بیان این فاکتورها تأثیر گذار است. کاهش بیان *miR-22* می‌تواند با تهاجم و متاستاز از طریق تغییر ECM و EMT به طور مستقیم با هدف قرار دادن *MMP14* و *SNAIL*، مرتبط باشد(۲۹). نقش تنظیمی میکروRNAها در بیان فاکتورهای رونویسی مربوط به توالی هدف ۲ تا ۸ نوکلئوتیدی در ناحیه ی 3'UTR رونوشت mRNA است(۱۶). در مطالعات بیوانفورماتیک نشان داده شده است که جایگاه اتصال بین *miR-22* و *SNAIL* با هم مکمل هستند(۲۸). نقش *miR-22* در مسیر EMT و تهاجم سلول‌های سرطانی از مسیرهای مختلف و با اهداف مولکولی متنوع امکان پذیر است که مطالعات اخیر به آنها اشاره کرده‌اند. در مطالعه‌ای که Zhao و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی سرطان ریه انجام دادند، نشان دادند که کاهش بیان *miR-22* نقش اصلی را در EMT و تهاجم سلول‌های سرطانی ریه با بالابردن سطح *SNAIL* اعمال می-کنند. افزایش بیان *miR-22* می‌تواند EMT و تهاجم سرطان ریه را از طریق مهار هدفمند *SNAIL* کنترل کند (۲۸). همچنین در سال ۲۰۲۰ Ling-Min Kong و همکاران بر روی سرطان کبد کار کردند و نشان دادند که بیان *miR-22* در بافت‌های سرطانی بسیار کمتر از میزان آن در گروه کنترل طبیعی است. بیان *miR-22* با توانایی متاستاز سرطان کبد رابطهٔ معکوس داشت. مطالعهٔ آنها ادعا کردند که مکانیسم تنظیمی *miR-22* در EMT سلول‌های سرطان کبد از طریق مسیر *SNAIL/MAPK1* کنترل می‌شود(۱۱). Jung و همکاران در سال ۲۰۲۵ تنظیم چرخهٔ سلولی وEMT را از طریق محور *Galectin-1/miR-22-3p* در سرطان پستان گزارش کردند. فاکتور*Galectin-1* که نقش مهمی در تهاجم و مهاجرت سلولی، چسبندگی ماتریکس خارج سلولی، رگ‌زایی و اپوپتوز بازی می‌کند، با *miR-22-3p* کنترل می‌شود و آنها تأیید کردند که این microRNA می‌تواند جلوی رشد سرطان پستان را با مهار این فاکتور بگیرد(۲۷). بر اساس این پژوهش‌ها و اهداف مولکولی متعدد *miR-22* در سرطان‌های مختلف، یکی از اهداف پژوهش حاضر نیز بررسی تغییرات بیان *miR-22-3p* پس از تیمار سلول‌ها با کمپلکس طلا بود. به دلیل اینکه *miR-22-3p*

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

در سرطان معده دچار کاهش بیان می‌شود و چون در فرآیندهای متعدد سلولی از جمله فرآیند EMT نقش ایفا می‌کند یکی از هال مارک‌های سرطان معده محسوب می‌شود.

در این مطالعه، بررسی نتایج تیمار سلول‌های AGS، افزایش بیان معنی‌دار *miR-22-3p* را نشان داد. از طرفی ژن *SNAIL* در سلول‌های تیمار شده کاهش بیان قابل ملاحظه‌ای نشان نداد. از آنجایی که یکی از اهداف *miR-22-3p* ژن *SNAIL* می‌باشد و به منظور اثر *miR-22-3p* بر کاهش بیان ژن *SNAIL*، به برهمکنش آن با ناحیه مکمل در رونوشت *SNAIL* نیاز است، می‌توان اینگونه تفسیر کرد که کمپلکس طلا در مدت زمان تیمار توانسته است میزان *miR-22-3p* را افزایش دهد اما در این مدت زمان همچنان قادر به کاهش سطح رونوشت ژن *SNAIL* نبوده و برای مشاهده‌ی نتیجه‌ی این برهمکنش، مدت زمان طولانی‌تری لازم است. بنابراین احتمالاً افزایش مدت زمان تیمار با کمپلکس طلا می‌تواند شرایط لازم برای کاهش سطح رونوشت ژن *SNAIL* را فراهم کند. همچنین برهمکنش مسیرهای مولکولی مختلف در اهداف میکروRNAهای درون سلول نیز می‌تواند علت دیگری برای این افزایش سطح بیان در *SNAIL* باشد. از سوی دیگر، طبق مطالعات انجام شدهٔ قبلی که نقش *miR-22* می‌تواند در بیان آنزیم *MMP14* نیز تأثیرگذار باشد، نتایج ما نیز نشان داد که میزان بیان این آنزیم پس از تیمار با کمپلکس طلا-هیدانتوئین به شدت کاهش یافته است و می‌توان نتیجه گرفت که همین میزان بیان *miR-22* قادر است بر بیان این ماتریکس متالوپروتئیناز تأثیر گذاشته و از پیشرفت تهاجم سلولی جلوگیری کند. بر این اساس کمپلکس طلا احتمالاً می‌تواند مسیر *miR-22-3p/SNAIL* تحت تأثیر قراردهد و از این طریق منجر به کاهش مهاجرت و پیشرفت سرطان معده شود اما برای روشن شدن آن به مطالعات مولکولی در مدت زمانِ تیمار بیشتر و همچنین بررسی‌هایی در سطح پروتئین این فاکتور رونویسی نیاز است که یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر محسوب می‌شود. با همهٔ این تفاسیر با توجه به پیچیدگی مسیرهای مولکولی و هدف‌های متعددی که برای میکروRNAها وجود دارد، پژوهش‌های آتی در این زمینه، ضروری محسوب می‌شود.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان دادند که کمپلکس طلا(III)- هیدانتوئین می‌تواند در سلول‌های AGS بر سرعت مهاجرت سلول‌ها با یک روند وابسته به زمان تأثیر گذار باشد. همچنین تغییرات بیان در فاکتورهای مهم در فرآیند مهاجرت سلولی *MMP14* و *SNAIL* نشان دادند که این کمپلکس توانست میزان بیان *MMP14* را به شدت کاهش دهد اما بر کاهش بیان *SNAIL* در این مدت زمان تأثیر معنی داری نداشته باشد که می‌تواند به دلیل اثرات تنظیمی متقابل و پیچیده‌ی میکروRNAهای مؤثر در تنظیم بیان این فاکتور باشد. از طرف دیگر *miR-22* افزایش بیان را نسبت به ژن مرجع نشان داد. نتیجه نهایی را می‌توان این‌گونه عنوان کرد که کمپلکس طلا(III)- هیدانتوئین دارای اثرات مهاری بر مهاجرت روی ردهٔ سلولی AGS است و می‌تواند به عنوان کاندیدی برای توسعهٔ روش‌های درمانی نوین انتخاب شود با این حال برای رسیدن به این هدف به مطالعات مولکولی، بیوانفورماتیک و *in vivo* بیشتری نیاز است.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله هیچ گونه تضاد منافعی با هم ندارند.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در مرکز تحقیقات زیست شناسی سلولی و تکوینی دانشگاه خوارزمی کرج انجام گرفته است. مراتب سپاسگزاری خود را از حمایت‌های سرکار **خانم دکتر لطیفه کریم زاده** برای پیشبرد این پژوهش اعلام می‌داریم. لازم به ذکر است این پژوهش هیچگونه حمایت مالی از سوی سازمان یا مؤسسه‌ای

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

دریافت نکرده است و هزینه های آن توسط نویسنده اول تأمین شده است.

فهرست منابع

1. Ali Syeda Z. Saratu' Langden S. S. Munkhzul C. Lee M. Song S. J (2020). Regulatory Mechanism of MicroRNA Expression in Cancer. Int J Mol Sci.21(5). https://doi.org/10.3390/ijms21051723.
2. Budd W. Seashols-Williams S. Clark G. Weaver D. Calvert V. Petricoin E (2015). Dual Action of miR- 125b As a Tumor Suppressor and OncomiR-22 Promotes Prostate Cancer Tumorigenesis. PLoS One.10(11). https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142373
3. Cho S. Kim S. H. Shin D (2019). Recent applications of hydantoin and thiohydantoin in medicinal chemistry. Eur J Med Chem.164:517–45. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.12.066.
4. De la Pena S. Sampieri C. Ochoa-Lara M. Leon-Cordoba K. Remes-Troche J.(2014). Expression of the matrix metalloproteases 2, 14, 24, and 25 and tissue inhibitor 3 as potential molecular markers in advanced human gastric cancer. Dis Markers 2014.285906 .
5. He H. Chen W. Wang X.Wang C. Liu F. Shen Z (2012). Snail is an independent prognostic predictor for progression and patient survival of gastric cancer. Cancer Sci 103:1296–303.
6. Hussen B M. Hidayat H. J. Salihi A. Sabir D. K. Taheri M. Ghafouri-Fard S (2021). MicroRNA: A signature for cancer progression. Biomed Pharmacother.138:111528. https://doi.org/10/1016.j.biopha.2021.111528.
7. Kalan Farmanfarma K .Mahdavifar N . Hassanipour S. Salehiniya H (2020). Epidemiologic Study of Gastric Cancer in Iran: A Systematic Review. Clin Exp Gastroenterol.13:511–42. https://doi.org/10.2147/CEG.S256627.
8. Kang D. Kim I. H(2022). Molecular Mechanisms and Potential Rationale of Immunotherapy in Peritoneal Metastasis of Advanced Gastric Cancer. Biomedicines.10(6). https://doi.org/10.3390/biomedicines10061376.
9. Kasurinen A. Gramolelli S. Hagström J. Laitinen A. Kokkola A. Miki Y. et al (2019). High tissue MMP14 expression predicts worse survival in gastric cancer, particularly with a low PROX1. Cancer Medicine.8:6995–7005. https://doi.org/10.1002/cam4.2576.
10. Kazemi N. Beigi Shahrestani S (2018). Effect of Saffron Extract on Expression of Bax and Bcl-2 Genes in Gastric Adenocarcinoma Cell Line (AGS). Gene, Cell and Tissue.In Press(In Press). https://doi.org/10.5812/gct.63608.
11. Liao Cheng-Gong. Qu Zhi, Guo Zao-Xia. Liang Xiao-Hua. Kong Ling-Min (2020) .miR-22 Suppresses Epithelial-Mesenchymal Transition by Modulating Snail and MAPK1 in Hepatocellular Carcinoma. Research Square. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-120252/v1.
12. Lucaciu R. L. Hangan A. C. Sevastre B. Oprean L. S (2022). Metallo-Drugs in Cancer Therapy: Past, Present and Future. Molecules.27(19).

DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

https://doi.org/10.3390/molecules27196485.
13. moamen H. Muhamad M. Eman B. Heba H. Omar A (2023). Hydantoin derivatives: A review on their anticancer activities. Octahedron Drug Research https://doi.org/10.21608/odr.2023.232555.1029.
14. Naghmana K. Othman A. S. Haider A.-Z. Haider M.Mirzaei A. Heidari M (2023). Comprehensive analysis of microRNA (miRNA) in cancer cells. Cellular, Molecular and Biomedical Reports.3(2):89–97. https://doi.org/10/55705.cmbr.2022.364591.1070.
15. Ndagi U. Mhlongo N. Soliman M. E (2017). Metal complexes in cancer therapy - an update from drug design perspective. Drug Des Devel Ther.11:599–616. https://doi.org/10.2147/DDDT.S119488.
16. Nguyen J. T. Huang L. Levine H. Lu M .Bleris L (2026). Rewiring miR-22/SNAI1 via CRISPR-based edge editing destabilizes the epithelial phenotype. NPJ Syst Biol Appl.12(1). https://doi.org/10.1038/s41540-026-00720-4.
17. Obradović A. Matić M. Paunović M. Ognjanović B. Božić B (2024) .Hydantoin derivatives: Harnessing antitumor and immunomodulation potential. Biologia Serbica. 46: 21–7. https://doi.org/10.5281/zenodo.14535535.
18. Sabounchei S. J. Shahriary P. Salehzadeh S. Gholiee Y .Nematollahi D. Chehreganib A. et al (2014) . Gold(III) complexes of 5-methyl-5-(pyridyl)-2,4- imidazolidenedione: synthesis, physicochemical,theoretical, antibacterial, and cytotoxicity investigation. New Journal of Chemistry.38:1199–210. https://doi.org/DOI: 10.1039/C3NJ01042B.
19. Saitoh M (2023).Transcriptional regulation of EMT transcription factors in cancer. Elsevier.1–28. https://doi.org/https://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0./
20. Sitarz R. Skierucha M. Mielko J. Offerhaus G. J. A. Maciejewski R. Polkowski W. P (2018). Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. Cancer Manag Res.10:239–48. https://doi.org/10.2147/CMAR.S149619.
21. Suarez-Arnedo A. Torres Figueroa F. Clavijo C. Arbelaez P. Cruz J. C. Munoz-Camargo C (2020). An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. PLoS One.15(7):e0232565. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232565.
22. Sung H. Ferlay J. L. S. R. Laversanne M. Soerjomataram I. Jemal A et al (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin.71(3):209–49. https://doi.org/10.3322/caac.21660.
23. Thrift A. P. El-Serag H. B.(2020). Burden of Gastric Cancer. Clin Gastroenterol Hepatol.18(3):534–42. https://doi.org/10.1016/j.cgh.2019.07.045.
24. Wang Y. Shi J. Chai K. Ying X. Zhou B(2013). The role of Snail in EMT and tumorigenesis .Curr Cancer Drug Targets.13:963–72 .
25. Wu J. S. Jian J. Chen B. J. Wang K. Tang Y. L. Liang X. H (2021). Plasticity of cancer cell invasion: Patterns and mechanisms. Transl

DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

Oncol.14(1):100899. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100899.
26. Yang W. J. Zhao H. P. Yu Y. Wang J. H. Guo L. Liu J. Y. et al (2023). Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer. World J Gastroenterol.29(16):2452–68. https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i16.2452.
27. Yeon K. J. Ho L. J. Jung J. E. Sim S. Y. Jin P. H. Myung K. J. et al (2025). Therapeutic Targeting of the Galectin-1/miR-22-3p Axis Regulates Cell Cycle and EMT Depending on the Molecular Subtype of Breast Cancer. Cells.14(4). https://doi.org/10.3390/cells14040310.
28. Zhang K. LI X. Y. Wang Z.-M. Han Z.-F. Zhao Y.-H (2017). MiR-22 inhibits lung cancer cell EMT and invasion through targeting Snail. European Review for Medical and Pharmacological Sciences.21:3598–604 .
29. Zou T. Lum C. T. Lok C. N. Zhang J. J. Che C. M (2015). Chemical biology of anticancer gold(III) and gold(I) complexes. Chem Soc Rev.44(24):8786–801. https://doi.org/10.1039/c5cs00132c.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۴-۱۴۶
DOI: 10.22034/cmr.2026.8818.3356

Inhibitory effects of Gold (III)-Hydantoin on human gastric adenocarcinoma (AGS) migration through alternation of *SNAIL*, *MMP14* and *miR-22* expression

Faranak Shiassi Arani[1], Mohamad Nabiuni[2]*, Fattah Sotoodehnejadnematalahi[1], Shohreh Zare Karizi[3].**

[1.] Department of Biology. SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2.] Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi university, Tehran, Iran.
[3.] Department of Genetics and Biotechnology, VaP.C, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

*Corresponding author Email: Nabiuni@khu.ac.ir
**Co-corresponding author Email: Fattah@iau.ac.ir

Abstract:

Background and objective: Gastric cancer is a heterogeneous and complicated human disease. The high mortality rate of gastric cancer has made it a critical health challenge worldwide. The aim of this study is to investigate the inhibitory effects of gold (III)-Hydantoin complex on AGS cell line migration through changes in the expression of genes involved in the migration process, *MMP14*, *SNAIL*, and *miR-22*.

Methods: AGS cells were cultured and treated with 3,5 µg/ml of the gold (III)-Hydantoin complex. The cell migration was investigated in the treatment and control groups by the scratch assay. The expression level of *MMP14*, *SNAIL* and *miR-22* were examined using qRT-PCR.

Results: The scratch assay results revealed that the gold complex was able to inhibit cell migration compared to the control group. The gold complex significantly reduced the expression of *MMP14*. Although The gold complex did not significantly affect the reduction of *SNAIL* expression. On the other hand, *miR-22* showed increased expression compared to the reference gene.

Conclusion: The gold (III)-Hydantoin complex exert inhibitory effects on AGS cell migration by modulating *miR-22* expression and regulating expression target genes *MMP14* and *SNAIL*. Considering the complexity of the underlying molecular pathways, further studies are required to clarify the exact mechanism of action of this complex.

Keywords: Gastric Cancer, AGS, *SNAIL, MMP14, miR-22*