دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و پنجم، شماره ۵، صفحه ۴۴۱-۴۲۲ (آذر و دی ۱۴۰۱)

Iran South Med J 2022; 25(5): 422-441

بیان ژن‌های آپوپتوتیک در سلول‌های سرطانی MCF-7 پس از القاء با محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی چربی انسانی و عصاره رزماری

فروزان امیدوار (MSc)[1*]، مریم حاجی قاسم‌کاشانی (PhD)[1**]، طیبه سادات طباطبایی (MSc)[1]

[1] گروه علوم سلولی- ملکولی، دانشکده زیست‌شناسی و پژوهشکده علوم زیستی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۸/۱۲- پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰)

چکیده

زمینه: تأثیر محیط کاندیشنال بر آپوپتوز و تهاجم MCF-7 هنوز مورد بحث است. همچنین گزارش شده کارنوسیک اسید که از ترکیبات عصاره رزماری می‌باشد، از خاصیت ضدسرطانی برخوردار است. لذا در این پژوهش، وقوع آپوپتوز از طریق مسیر وابسته به AIF در سلول‌های MCF-7 تیمارشده با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری با بررسی بیان ژن‌های AIF، Bax، Bcl-2، P53 مورد مطالعه قرارگرفت.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق گروه‌های آزمایشی شامل: سلول‌های MCF-7 کشت داده شده در محیط کشت و سرم (کنترل)، سلول‌های کشت داده شده در محیط کاندیشنال حاوی سرم (گروه محیط کاندیشنال)، سلول‌های کشت داده شده در محیط کشت حاوی عصاره رزماری با غلظت‌های متفاوت (۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت (گروه های تیمار) می‌باشند. میزان تکثیر سلولی با روش MTT بررسی شد. همچنین بیان ژن‌ها با روش RT-PCR بررسی شدند.

یافته‌ها: میزان بقاء سلول‌های تیمار شده با محیط کاندیشنال و سرم به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت، کاهش معنی‌داری در مقایسه با سلول‌های گروه کنترل نشان داد. در حالیکه افزایش معنی‌دار بقاء سلول‌های MCF-7 کشت داده شده با رزماری ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر حاوی سرم، به مدت ۴۸ ساعت در مقایسه با گروه تیمار شده با محیط کاندیشنال و سرم مشاهده شد. افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های P53، AIF و Bax و همچنین کاهش معنی‌دار بیان ژن Bcl-2 در سلول‌های تیمار شده با محیط کاندیشنال و سرم به مدت ۲۴ و ۴۸ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. رزماری ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و سرم پس از ۴۸ ساعت منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های P53، AIF و Bcl-2 و رزماری ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر حاوی سرم پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن Bax در مقایسه با گروه محیط کاندیشنال و سرم گردید.

نتیجه‌گیری: مسیر آپوپتوزی وابسته به AIF در سلول‌های MCF-7 پس از تیمار با محیط کاندیشنال پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت و رزماری ۱۰۰ حاوی سرم پس از ۴۸ ساعت فعال گردیده است.

واژگان کلیدی: سلول‌های MCF-7، آپوپتوز، محیط کاندیشنال، عصاره رزماری

**دامغان، گروه علوم سلولی- ملکولی، دانشکده زیست‌شناسی و پژوهشکده علوم زیستی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران

E.mail: kashani@du.ac.ir
*ORCID: 0000-0002-8436-4631
**ORCID: 0000-0001-8889-6427

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

مقدمه

سلول‌های MCF7 رایج‌ترین رده سلولی سرطان پستان در جهان گزارش شده‌اند، که برای نخستین بار در سال ۱۹۷۳ در بنیاد سرطان میشیگان مورد استفاده قرار گرفت. علت محبوبیت این ردهٔ سلولی به منظور مطالعات آزمایشگاهی در زمینهٔ سرطان پستان، حساسیت هورمونی شدید آن در اثر بیان گیرنده‌های استروژنی است، که باعث شده یک مدل ایده‌آل برای مطالعهٔ پاسخ هورمونی باشد (۱). مطالعات مختلف بر روی فاکتورهای ترشح شده از سلول‌های بنیادی در شرایط کشت آزمایشگاهی صورت گرفته است. فاکتورهای ترشح شده تحت عنوان میکروویزیکول، سکروتوم یا اگزوزوم می‌باشند، که در محیط کشت سلول‌های بنیادی شناسایی شده‌اند که به آن ، محیط – کاندیشنال (CM) می‌گویند(۲).

از آنجا که محیط کاندیشنال فاقد سلول است، از وقوع واکنش‌های ایمنی جلوگیری می‌کند و مشکل رد پیوند نیز وجود ندارد. تعداد سلول، نوع سلول، شرایط کشت، نوع محیط کشت و تعداد پاساژها بر کیفیت محیط کاندیشنال تأثیر می‌گذارند. محیط کاندیشنال مزیت‌های زیادی دارد از جمله اینکه به راحتی تولید، فریز، بسته‌بندی شده و قابل انتقال است که به‌خاطر این ویژگی‌ها، از محیط کاندیشنال برای تولید دارو نیز استفاده می‌شود و همچنین نیاز به حفاظت ویژه مثل آنچه که در مورد سلول‌های بنیادی باید رعایت کرد را ندارد (۳). تحقیقات نشان داده است که محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی چربی به دلیل داشتن عوامل پاراکراین و مقدار زیادی از سیتوکین‌ها، کموکین‌ها و فاکتورهای رشد دارای اثرات ضدآپوپتوزی، پیش‌برندهٔ آنژیوژنز، ضدالتهابی و متعادل‌کنندهٔ سیستم ایمنی و ضد اسکاری است (۴ و ۵). در رابطه با اثر آپوپتوتیک محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر سلول‌های سرطانی در شرایط in vitro مطالعات گسترده‌ای صورت گرفته است. خانم باقری و همکاران، گزارش دادند، محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان و غشاء آمنیوتیک انسان منجر به کاهش بقاء و تکثیر سلول‌های سرطانی SCC (Squamous Cell Carcinoma) می‌گردد. به طوری‌که نتایج فلوسایتومتری نیز نشان داد، سلول‌های Ki67 (مارکر تکثیر سلولی) مثبت کاهش یافته‌اند. همچنین بیان پروتئین Bcl-2 (پروتئین آنتی‌آپوپتوتیک) را در آن‌ها کاهش می‌دهد (۶). نقش ضد سرطانی محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی مزانشیمی بندناف در سلول‌های سرطانی تخمدان، سینه، استخوان، مثانه و لنف در شرایط in vitro و in vivo نیز گزارش شده است (۷). در تحقیق دیگری، خانم پاشایی و همکاران، گزارش دادند، محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی مزانشیمی مایع آمنیوتیک انسان، با القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی سینه باعث کاهش بقاء این سلول‌ها می‌گردد (۶). گزارش شده است که سلول‌های بنیادی آمنیوتیک انسان در شرایط کشت آزمایشگاهی، سیتوکین‌هایی مثل IFN-Y، TGF-ß و TNF-α و TNF-ß را بیان می‌کنند که فاکتورهای القاء کننده آپوپتوز می‌باشند (۷). همچنین بسیاری از اینترلوکین‌ها از جمله IL-3، IL-4 و IL-2 که سیتوتوکسیسیتی در NK-cells را تحریک می‌کنند، در محیط کاندیشنال یافت می‌شوند. سلول‌های NK، هدف سلول‌های سرطانی بوده و با از بین رفتن این سلول‌ها، تومور سرطانی شکل می‌گیرد (۸). تحقیقات گسترده‌ای به بررسی اثر ضدسرطانی محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی مزانشیمی پرداخته‌اند (۹). سلول‌های بنیادی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

مزانشیمی انسانی همچنین قادرند IFN-Y و CXCl10 را که از مهارکننده‌های آنژیوژنز می‌باشند، بیان کنند (۱۰). محیط کاندیشنال، آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی در مراحل G1 و G2/M القاء می‌کند (۱۱). تحقیقات زیادی در زمینهٔ نقش ضدسرطانی عصاره رزماری صورت گرفته و همگی بر این باورند که فعالیت ضدسرطانی عصارهٔ رزماری به اثرات آنتی آنژیوژنیک، اپی ژنتیک، تنظیم پاسخ ایمنی و ضدالتهابی مربوط می‌شود. همچنین این ماده با تغییر مسیرهای سیگنالینگ هورمونی، تنظیم فعالیت‌های متابولیکی ویژه و افزایش بیان ژن‌های سرکوب کنندهٔ سرطان می‌تواند نقش ضدسرطانی داشته باشد (۱۲). عصاره رزماری از طریق فعال کردن فاکتورهای رونویسی ژن‌های (Nrf2) nuclear transcription factor، سیستم‌های آنتی اکسیداتیو داخل سلول را کنترل می‌کند (۱۳). **هاهری** (haheri) و همکاران، گزارش دادند کارنوسیک اسید که از ترکیبات اصلی عصاره رزماری است، مانع از ورود سلول‌های سرطان سینه به مرحله G2 سیکل سلولی می‌گردد، و نیز با ایجاد استرس اکسیداتیو، مرگ برنامه‌ریزی شده و اتوفاژی در این سلول‌ها را تحریک می‌کند (۱۴). در تحقیق دیگری نیز گزارش شده کارنوسیک اسید با ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌های سرطانی، مانع از رشد سریع تومور می‌گردد (۱۵). گزارش شده کارنوسیک اسید به صورت آنتاگونیست رسپتورهای استروژنی که بر روی سلول‌های سرطان سینه قرار دارند عمل می‌کند (۱۶ و ۱۷).

شواهد نشان می‌دهند که کارنوسیک اسید ($C_{20}H_{28}O_4$) که یک جزء آنتی‌اکسیدانتی عصاره رزماری است، بقای سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهد و آپوپتوز را با تحریک بیان ژن‌های P53 و Bax و آزاد شدن سیتوکروم C و فعال کردن کاسپازهای ۹، ۷ و ۳ و مهار بیان Bcl-2 و Bcl-xL افزایش می‌دهد (۱۸). چندین نوع مکانیسم آپوپتوزی وجود دارد، که یکی از آن‌ها مسیر گیرندهٔ مرگ Fas است، که باعث فعال شدن کاسپازهای ۸ و ۱۰ می‌شود. همچنین یکی دیگر از مکانیسم‌های مهم آپوپتوز، مسیر میتوکندریایی است، که از طریق مسیرهای وابسته به کاسپاز و غیروابسته به کاسپاز وابسته به فاکتور القاء کننده آپوپتوز (AIF) (Apoptosis-inducing factor) صورت می‌گیرد. در این مسیرها فاکتور AIF و سیتوکروم C، با افزایش نفوذپذیری غشاء خارجی میتوکندری به درون سیتوپلاسم آزاد می‌شوند (۱۹ و ۲۰). فاکتور AIF با انتقال به هسته و قطعه قطعه کردن DNA، آپوپتوز را از طریق مسیر غیروابسته به کاسپاز تحریک می‌کند (۲۸-۲۱). همچنین ژن سرکوب‌گر تومور (P53) با تحریک پایداری ژنومی، توقف چرخه سلولی و آپوپتوز نقش مهمی در سرکوب تومورزایی دارد. پروتئین P53 رونویسی تعداد زیادی از ژن‌هایی که در فرآیندهای مختلف شامل کنترل چرخه سلولی، آپوپتوز، پیری، تمایز و ترمیم DNA نقش دارند، متعادل نموده و با تحریک رونویسی ژن‌های پیش‌آپوپتوزی مختلف شامل PUMA، NOXA، Bax، آپوپتوز را تحریک می‌نماید (۲۱ و ۲۹). پروتئین P53 تولید فاکتور AIF فعال را افزایش داده و در انتقال آن به هسته نقش دارد (۲۵، ۳۰ و ۳۱). با آزاد شدن سیتوکروم C، فاکتور فعال‌کنندهٔ پروتئاز آپوپتوزی-۱ (Apaf-1) و سپس پروکاسپاز ۹ فعال شده و کمپلکس پروتئینی تحت عنوان آپوپتوزوم را ایجاد می‌نماید. بدین ترتیب کاسپازهای ۸ و ۹ فعال شده و سپس کاسپاز ۳ را فعال نموده و نهایتاً کاسپاز ۳

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]
[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

آپوپتوز را تحریک می‌نماید. گزارشات حاکی از این است که Bax و Bcl-2 دو ژن تنظیم کنندهٔ مهم مسیر آپوپتوزی میتوکندریایی هستند (۱۹). همچنین گزارش شده که نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری به وسیلهٔ این دو ژن تنظیم می‌شود (۲۰ و ۲۱). پروتئین Bax نفوذپذیری غشای میتوکندری را افزایش می‌دهد و یک پروتئین پیش‌آپوپتوزی است که با پیام آپوپتوزی فعال می‌شود. پروتئین‌های ضد آپوپتوزی خانواده Bcl-2 برای نخستین بار در سال ۱۹۸۴ به‌عنوان انکوژن یا ژن سرطان‌زا شناخته شدند (۲۲ و ۲۳)، فعالیت پروتئین Bax را متوقف نموده و نفوذپذیری غشای میتوکندری را کاهش داده و از آزاد شدن سیتوکروم C جلوگیری می‌نماید (۲۶-۲۴). بنابراین بیان بیش از حد Bax باعث تسریع در روند آپوپتوز می‌شود (۲۷ و ۲۸)، در حالیکه بیان بیش از حد Bcl-2 از طریق توقف فعالیت پروتئین Bax، باعث مهار آپوپتوز و به دنبال آن پیشرفت سرطان می‌گردد (۲۹ و ۳۰). از آنجایی که سلول‌های MCF7 نسخه سالم کاسپاز ۳ را بیان نمی‌کنند، فاکتور تحریک‌کنندهٔ آپوپتوز (AIF) آزاد می‌شود. تأثیرات پیش‌آپوپتوزی این فاکتور با مهارکننده‌های کاسپاز فارماکولوژیکی مهار نمی‌شود و این نشان می‌دهد که AIF آپوپتوز را با روش غیروابسته به کاسپاز به راه می‌اندازد (۲۰). در مطالعه حاضر با بررسی بیان ژن‌های Bax، Bcl-2، P53 و AIF، مکانیسم مولکولی آپوپتوز در سلول‌های MCF7 تیمارشده با محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی بافت چربی انسانی و عصاره رزماری از طریق مسیر غیر وابسته به کاسپاز وابسته به AIF مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه به روش تجربی – آزمایشگاهی و پس از اخذ مجوز کتبی از کمیته اخلاق دانشگاه با کد اخلاق: ۰۰۱. IR.DU.REC .۱۴۰۱ انجام شد. مراحل این پژوهش در پنج مرحله با شرح زیر صورت گرفت:

تهیه و جمع‌آوری محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی بافت چربی انسانی

پس از آنکه سلول‌های بنیادی چربی انسانی به پاساژ چهارم رسیدند، تعداد ۵×۱۰^{۵} سلول به داخل یک فلاسک کشت منتقل شد و پس از اضافه کردن ۱/۵ تا ۲ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM (Invitrogen، آمریکا) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد و CO2 ۵ درصد انکوبه شدند. پس از گذشت ۷۲ ساعت، محیط رویی جمع‌آوری شده و به مدت ۵ دقیقه با دور rpm ۲۰۰۰ سانتریفیوژ (Eppendorf، آلمان) شد، سپس با فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شده، تا عاری از هر گونه آلودگی میکروبی و قطعات سلولی شود. محیط کاندیشنال به دست آمده، الیکوت و در فریزر ۷۰- نگهداری شد (۶ و ۳۱).

تهیهٔ عصاره رزماری

در این تحقیق از عصاره رزماری حاوی ۴۰ درصد کارنوسیک اسید Hunan Geneham Biomedical (Technology – چین) و با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده شد (۳۲ و ۳۳).

کشت رده سلول سرطان سینه انسانی رده (MCF-7)

سلول‌های سرطانی رده MCF-7 از بانک سلولی انستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد، CO2 ۵ درصد و با محیط کشت DMEM حاوی ۱۰

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

درصد سرم جنین گاوی (Gibco، انگلستان) کشت داده شدند.

گروه‌های مورد مطالعه در این پژوهش شامل:

مدیوم + سرم: (گروه کنترل) سلول‌هایی که در محیط کشت حاوی سرم۱۰ درصد کشت داده شدند.

محیط کاندیشنال + سرم: سلول‌های MCF-7 که در محیط کاندیشنال حاوی سرم۱۰ درصد کشت داده شدند.

رزماری ۵۰ + سرم: سلول‌های MCF-7 که در که در محیط کشت حاوی عصاره رزماری با غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و سرم ۱۰ درصد کشت داده شدند.

رزماری ۱۰۰ + سرم: سلول‌های MCF-7 که در محیط کشت حاوی عصاره رزماری با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و سرم ۱۰ درصد کشت داده شدند. پس از تیمار به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت، میزان بقاء سلول‌ها با روش MTT و همچنین بیان ژن‌های آپوپتوتیک با روش PCR بررسی شد.

ارزیابی میزان بقاء سلول‌ها با روش MTT

سلول‌های MCF7 با تراکم ۱۰۴ سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه حاوی محیط کشت DMEM و سرم ۱۰ درصد کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت و چسبیدن سلول‌ها به کف چاهک‌ها، سلول‌ها در معرض محیط کاندیشنال و غلظت‌های مختلفی از عصاره رزماری ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار داده شدند. پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار، پلیت‌ها در معرض MTT (Sigma- آلمان) و سپس دی متیل سولفوکساید (Sigma- آلمان) قرار داده شدند و در نهایت میزان جذب، در طول موج ۵۴۰nm با دستگاه الایزا ریدر(BioTek- آمریکا) اندازه گیری شد.

در این روش، تحت تأثیر فعالیت آنزیم‌های مربوط به تنفس سلولی میتوکندری (دهیدروژنازها و ردوکتازها)، تترازولیوم موجود در نشانگر MTT به فورمازان (Formazan) تبدیل شده و رنگ بنفش نمایان می‌شود و به موازات افزایش فعالیت سلول، رنگ تولید شده توسط فورمازان بیشتر خواهد شد (۳۶-۳۴).

بررسی بیان ژن‌ها با روش RT-PCR

سلول‌ها تریپسینه شده و محلول RNX-PLUS (سیناژن- آلمان) به آن‌ها اضافه گردید، سپس استخراج RNA طبق پروتکل شرکت سیناژن انجام شد. کیفیت و کمیت RNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و دستگاه اسپکتروفتومتر (Ependorf- آلمان) بررسی شد. همچنین سنتز cDNA مطابق با پروتکل کیت فرمنتاز (Fermentas- آلمان) انجام گردید. به این منظور یک میکروگرم RNA (معادل ۱۰ میکرولیتر) به همراه یک میکرولیتر الیگوپرایمر در میکروتیوب ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از افزودن بافر واکنش ×۵، dNTP و مهارکننده ریبونوکلئاز به محلول فوق به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. با اضافه کردن آنزیم رونوشت بردار معکوس (RT)، به مدت ۶۰ دقیقه، در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و در نهایت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. برای اطمینان از توزیع یکسان مواد، ابتدا مخلوط مستر آماده شد و سپس همراه با الیگوپرایمر و cDNA به میکروتیوب منتقل شد. برنامه دستگاه ترمال سایکلر (Eppendorf- آلمان) بدین شرح تنظیم شد: ۲ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، دماهای ۹۴ و ۵۸-۵۷ و ۷۲ درجه هر کدام ۳۰ ثانیه. پس از اتمام ۳۰ سیکل، ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در این پژوهش از ژن GAPDH به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد (۴۰-۳۷). توالی پرایمرها در جدول (۱) آورده شده است. اختصاصی بودن پرایمرهای استفاده

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

شده در این تحقیق که در جدول مشخص شده‌اند، با نوکلئوتید بلست تأیید شد. پرایمرها به صورت لیوفیلیزه از شرکت سیناکلون خریداری شد.

جدول ۱) مشخصات پرایمرهای مورداستفاده جهت انجام واکنش RT-PCR

نام پرایمر	توالی پرایمر	طول محصول PCR
Bax-f	GGTTGTCGCCCTTTTCTA(38)	108bp
Bax-r	CGGAGGAAGTCCAATGTC (38)	
Bcl-2-f	TTGTGGCCTTCTTTGAG-TTCGGTG (39)	113bp
Bcl-2-r	GGTGCCGGTTCAGGTACTCAGTCA (39)	
P53-f	CCCAAGCAATGGATGATTTGA (40)	90bp
P53-r	GGCATTCTGGGAGCTCATCT (40)	
AIF-f	GATTGCAACAG-GAGGTACTCCAAGA (40)	134bp
AIF-r	GATTT-GACTTCCCGTGAAATCTTCTC (40)	
GAPDH-f	GCTGGGGCTCATTTGCAGG	258bp
GAPDH-r	CGGAGGGGCCATCCACAGT	

الکتروفورز

مخلوط ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ۲ میکرولیتر بافر لودینگ بر روی ژل آگارز ۱/۵ در صد الکتروفورز شد (بافر TBE غلظت نهایی ۰/۵X، ولتاژ ۱۰۰V، زمان ۳۰ دقیقه). ژل با دستگاه نمایشگر ژل (Uvitech، آلمان) مشاهده شد. در این تحقیق از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. میزان نسبی تکثیر هر یک از ژن‌ها با نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان نسبی تکثیر ژن‌ها، شدت باند هر یک از ژن‌ها نسبت به شدت باند ژن GAPDH سنجیده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد. به منظور بررسی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون تکمیلی Tukey و LSD استفاده شد. همچنین اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تیمار با استفاده از Independent sample T -Test انجام شد. P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. نهایتاً نمودارها با Excel ترسیم گردید.

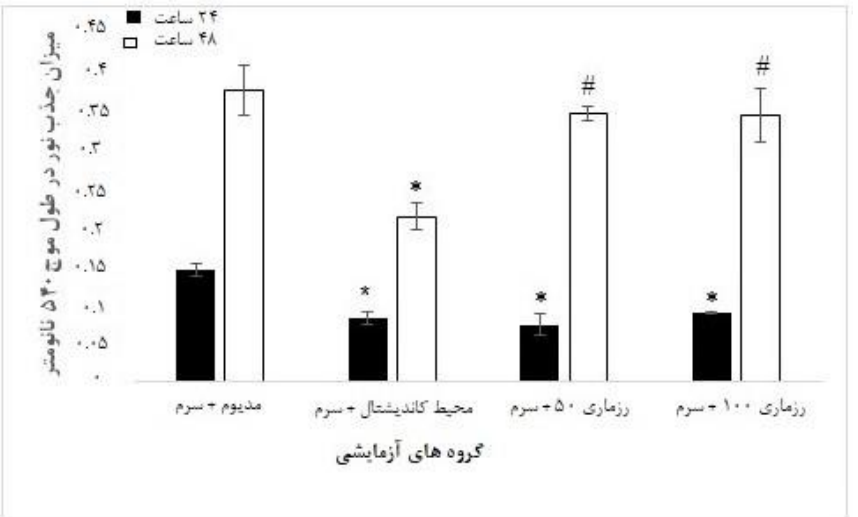
یافته‌ها

بررسی سرعت تکثیر سلول‌های MCF7 پس از تیمار با محیط کاندیشنال و غلظت‌های مختلف عصارهٔ رزماری

بررسی حیات و بقاء سلولی (نمودار ۱) با استفاده از آزمون MTT نشان داد که پس از ۲۴ ساعت میزان بقاء سلولی در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۰/۰۰۸±۰/۰۸) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۰/۰±۱۴۴/۰۰۷) نشان داد P<۰/۰۵. همچنین آنالیز داده‌ها حاکی از این است که پس از ۲۴ ساعت گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۰/۰۷±۰/۰۱) و رزماری ۱۰۰+ سرم (۰±۰.۰۸/۰۰۱) نسبت به گروه مدیوم+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان دادند. در حالی‌که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم و رزماری ۱۰۰+ سرم مشاهده نشد P>۰/۰۵. همچنین گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم و رزماری ۱۰۰ + سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند P>۰/۰۵. پس از ۴۸ ساعت میزان بقاء سلولی در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۰/۲۱۲±۰/۰۱) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۰/۳۷۵±۰/۰۳۲) کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. همچنین ارزیابی نتایج نشان داد که پس از ۴۸ ساعت میزان بقاء سلولی در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۰/۰±۳۴/۰۰۹) و رزماری ۱۰۰+ سرم (۰/۳۴±۰/۰۳) نسبت به گروه مدیوم+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵. در حالیکه نسبت به محیط کاندیشنال+ سرم افزایش معنی‌داری مشاهده را نشان دادند P<۰/۰۵. همچنین میزان بقاء سلولی در گروه رزماری ۱۰۰+ سرم نسبت به گروه رزماری ۵۰+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

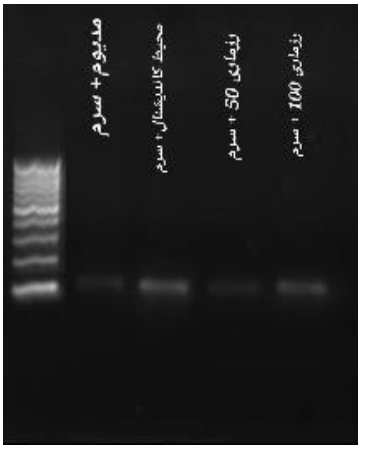


نمودار ۱) ارزیابی میزان بقاء سلولی در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت. * ($p<۰/۰۵$) در مقابل گروه مدیوم + سرم و # ($p<۰/۰۵$) در مقابل گروه محیط کاندیشنال + سرم

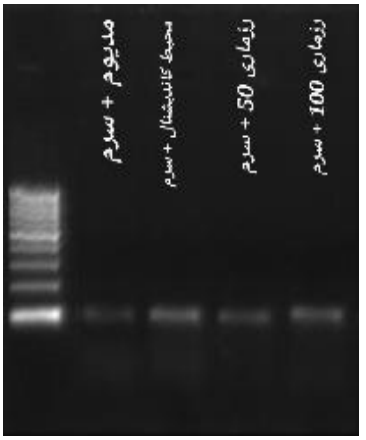
Fig 1) Evaluation of the cell survival rate in MCF-7 cells treated by conditioned medium and rosemary extract for 24 and 48 hours. *($p<0.05$) vs. the medium + serum group and #($p<0.05$) vs. the conditioned medium + serum group

بررسی بیان ژن Bax در سلول‌های MCF-7 پس از تیمار با محیط کاندیشنال و عصارهٔ رزماری به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت

پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت اندازه محصول PCR ژن Bax، ۱۰۸bp است. شکل ۱ (الف و ب).



شکل ۱) الف: باند ژن Bax بر روی ژل آگارز پس از ۲۴ ساعت



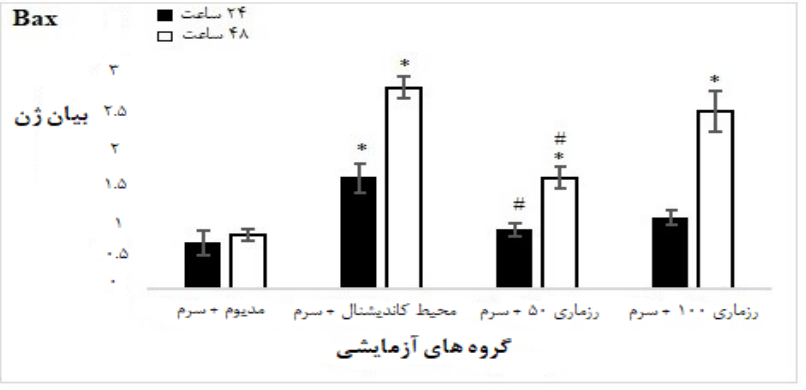
شکل ۱) ب: باند ژن Bax بر روی ژل آگارز پس از ۴۸ ساعت

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

مقایسه شدت بیان ژن Bax در گروه‌های مورد آزمایش پس از تیمار به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت

همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، پس از ۲۴ ساعت بیان ژن مذکور در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۱/۲۶±۰/۱۶) افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه مدیوم+ سرم (۰/۵۲±۰/۱۳) نشان داد P<۰/۰۵. همچنین آنالیز داده‌ها حاکی از این است که پس از ۲۴ ساعت بین گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۰/۶۷±۰/۰۷) و رزماری ۱۰۰+ سرم (۰/۸۰±۰/۰۸) نسبت به گروه مدیوم+ سرم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت P>۰/۰۵. در حالیکه گروه رزماری ۵۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم کاهش معنی‌داری در میزان بیان ژن Bax نشان داد P<۰/۰۵. همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه رزماری ۱۰۰+ سرم و محیط کاندیشنال+ سرم مشاهده نشد P>۰/۰۵. پس از ۴۸ ساعت میزان بیان ژن Bax در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۲/۲۸±۰/۱۲) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۰/۶۱±۰/۰۶) افزایش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۱/۲۶±۰/۱۲) و رزماری ۱۰۰+ سرم (۲/۰±۰۱/۲۳) نسبت به گروه مدیوم+ سرم افزایش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. همچنین میزان بیان این ژن در گروه رزماری ۵۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. در حالیکه میزان بیان این ژن در گروه رزماری ۱۰۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵.



نمودار ۲) مقایسه میزان بیان ژن Bax در سلول‌های MCF-7 تیمارشده با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت.
*(p<۰/۰۵) در مقابل گروه مدیوم + سرم و #(p<۰/۰۵) در مقابل گروه محیط کاندیشنال + سرم

Fig 2) Comparison of Bax gene expression in MCF-7 cells treated by conditioned medium and rosemary extract for 24 and 48 hours. *(p<0.05) vs. the medium + serum group and #(p<0.05) vs. the conditioned medium + serum group.

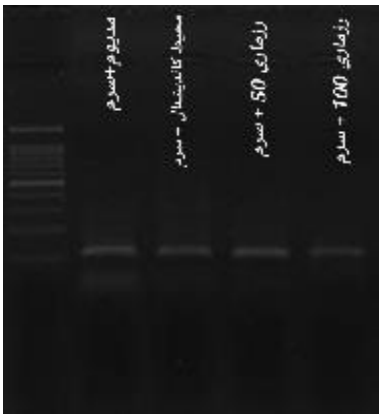
بررسی بیان ژن Bcl-2 در سلول‌های MCF-7 پس از تیمار با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ ساعت

پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت اندازه محصول PCR ژن Bcl-2، ۱۱۳bp است. شکل ۲ (الف و ب).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]
[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]



شکل ۲) الف: باند ژن Bcl-2 بر روی ژل آگارز پس از ۲۴ ساعت



شکل۲) ب: باند ژن Bcl-2 بر روی ژل آگارز پس از ۴۸ ساعت

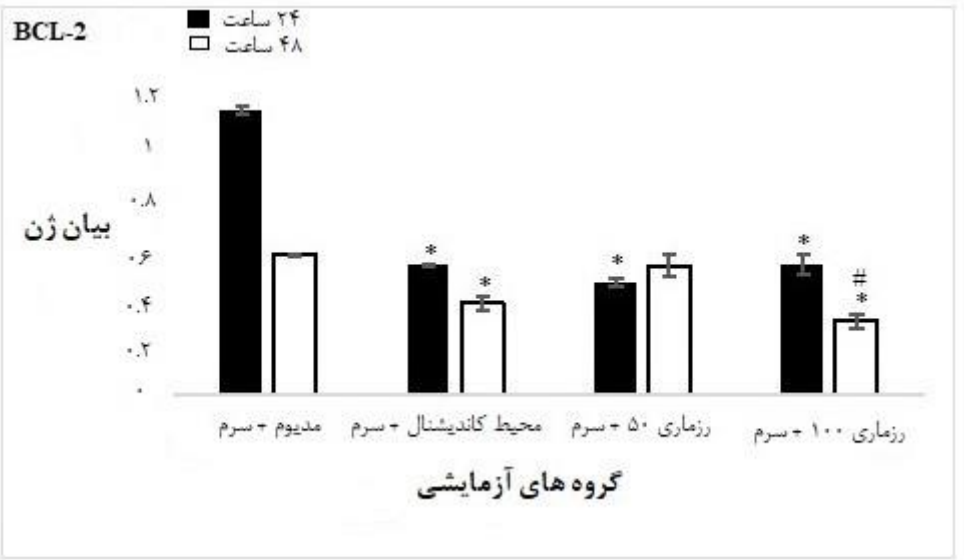
مقایسه شدت بیان ژن Bcl-2 در گروه‌های مورد آزمایش پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت

همان‌طور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود، پس از ۲۴ ساعت کاهش معنی‌داری در میزان بیان ژن Bcl-2 در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۰/۰۰۶±۰/۴۳) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۰/۰۱±۰/۹۵) مشاهده شد P<۰/۰۵. همچنین کاهش معنی‌داری در میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۰/۰۱±۰/۳۷) و رزماری ۱۰۰+ سرم (۰/۰۳±۰/۴۳) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد P<۰/۰۵. همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم و رزماری ۱۰۰+ سرم در مقایسه با گروه محیط کاندیشنال+ سرم مشاهده نشد P>۰/۰۵.

پس از ۴۸ ساعت کاهش معنی‌داری در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۰/۰۲±۰/۳۰) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۰/۰۰۵±۰/۴۶) مشاهده شد P<۰/۰۵. در حالیکه تفاوت معنی‌داری بین گروه رزماری ۵۰+ سرم (۰/۰۳±۴۳/۰) نسبت به گروه مدیوم+ سرم مشاهده نشد P>۰/۰۵. همچنین میزان بیان این ژن در گروه رزماری ۱۰۰+ سرم (۰/۰۲±۰/۲۴) نسبت به گروه مدیوم+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. میزان بیان این ژن در گروه رزماری ۵۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵. میزان بیان این ژن در گروه رزماری ۱۰۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

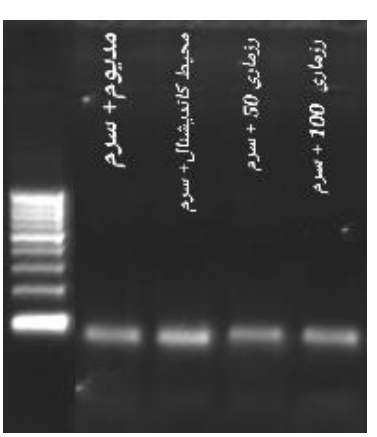


نمودار ۳) مقایسه میزان بیان ژن Bcl-2 در سلول‌های MCF-7 تیمارشده با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت.*($p<۰/۰۵$) در مقابل گروه مدیوم + سرم و #($p<۰/۰۵$) در مقابل گروه محیط کاندیشنال + سرم

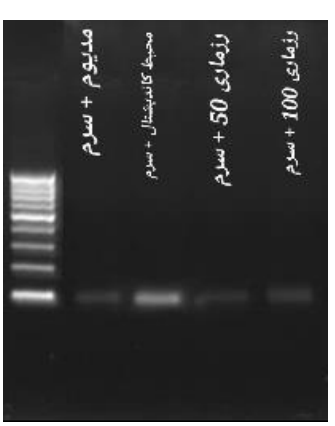
Fig 3) Comparison of Bcl-2 gene expression in MCF-7 cells treated by conditioned medium and rosemary extract for 24 and 48 hours.*($p<0.05$) vs. the medium + serum group and #($p<0.05$) vs. the conditioned medium + serum group.

بررسی بیان ژن P53 در سلول‌های MCF-7 پس از تیمار با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت

پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت اندازه محصول PCR ژن P53، ۹۰bp است، شکل ۳ (الف و ب).



شکل۳) الف: باند ژن P53 بر روی ژل آگارز پس از ۲۴ ساعت



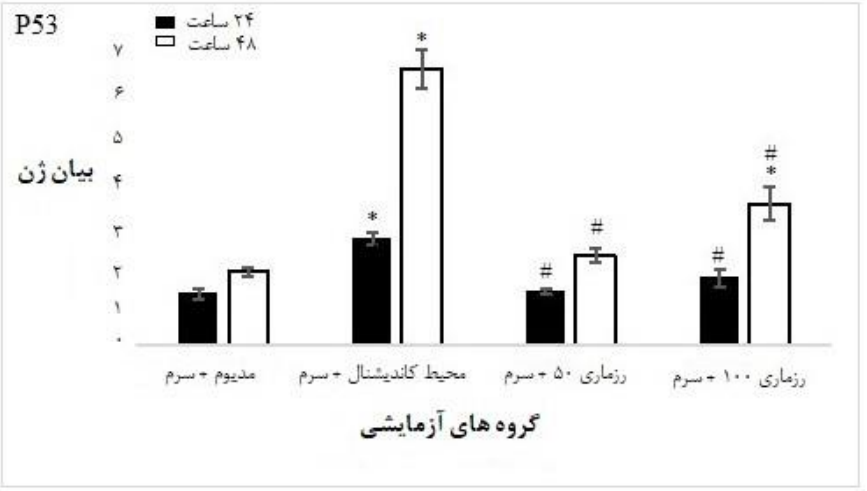
شکل ۳) ب: باند ژن P53 بر روی ژل آگارز پس از ۴۸ ساعت

مقایسه شدت بیان ژن P53 بین گروه‌های مورد آزمایش پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت

همان‌طور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، پس از ۲۴ ساعت میزان بیان ژن P53 در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۲/۰۱±۰/۱۰) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۱/۰±۰۱/۰۳) افزایش معنی‌داری را نشان داد $P<۰/۰۵$. میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۰/۹۶±۰/۰۸) و رزماری ۱۰۰+ سرم

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]
[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

(۱/۰±۲۶/۱۶) نسبت به گروه مدیوم+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵. در حالیکه میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم و رزماری ۱۰۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. پس از ۴۸ ساعت میزان بیان ژن p53 در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۵/۲۵±۰/۳۷) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۱/۰±۳۹/۰۸) افزایش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. میزان بیان این ژن در گروه رزماری ۵۰+ سرم (۱/۷۰±۰/۱۴) نسبت به گروه مدیوم+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵. در حالیکه میزان بیان این ژن در گروه رزماری ۱۰۰+ سرم (۲/۰±۶۹/۳۳) نسبت به گروه مدیوم+ سرم افزایش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. همچنین میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم و رزماری ۱۰۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵.



نمودار ۴) مقایسه میزان بیان ژن P53 در سلول‌های MCF-7 تیمارشده با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت. *(p<۰/۰۵) در مقابل گروه مدیوم + سرم و #(p<۰/۰۵) در مقابل گروه محیط کاندیشنال+ سرم

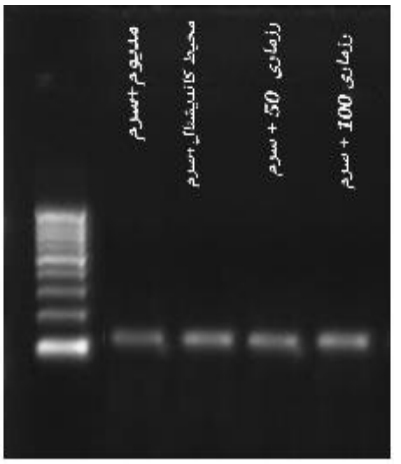
Fig 4) Comparison of P53 gene expression in MCF-7 cells treated by conditioned medium and rosemary extract for 24 and 48 hours. *(p<0.05) vs. the medium + serum group and #(p<0.05) vs. the conditioned medium + serum group.

بررسی بیان ژن AIF در سلول‌های MCF-7 پس از تیمار با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ ساعت

پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت اندازه محصول PCR ژن AIF، ۱۳۴bp است. شکل ۴ (الف و ب)

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]



شکل ۴) الف: باند ژن AIF بر روی ژل آگارز پس از ۲۴ ساعت



شکل ۴) ب: باند ژن AIF بر روی ژل آگارز پس از ۴۸ ساعت

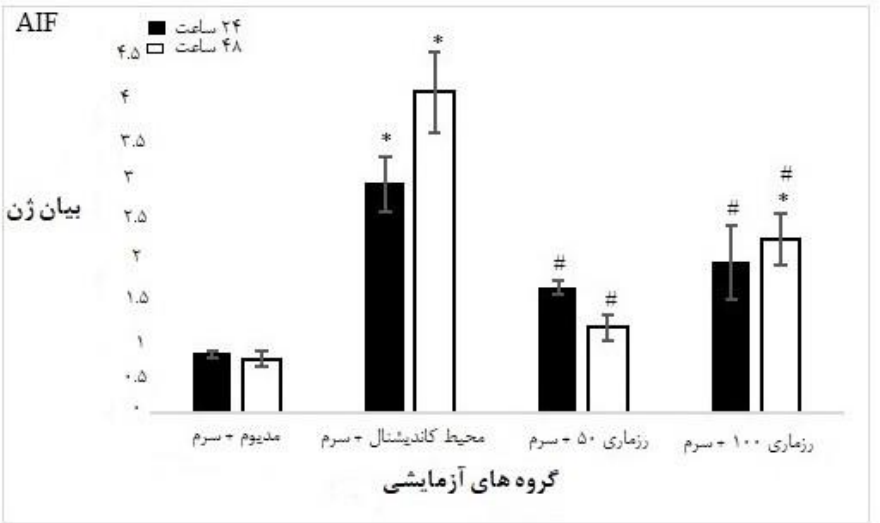
مقایسه شدت بیان ژن AIF بین گروه‌های مورد آزمایش پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت:

همان‌طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود، پس از ۲۴ ساعت میزان بیان این ژن در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۲/۷۰±۰/۳۱) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۰/۰±۶۹/۰۴) افزایش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. در حالیکه میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۱/۴۸±۰/۰۷) و رزماری ۱۰۰+ سرم (۱/۷۷±۰/۴۳) نسبت به گروه مدیوم+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵. همچنین میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم و رزماری ۱۰۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵.

پس از ۴۸ ساعت میزان بیان این ژن در گروه محیط کاندیشنال+ سرم (۳/۷۹±۰/۴) نسبت به گروه مدیوم+ سرم (۰/۶۳±۰/۰۹) افزایش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵. میزان بیان این ژن در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم (۱/۰۱±۰/۱۵) نسبت به گروه مدیوم+ سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد P>۰/۰۵. میزان بیان ژن AIF در گروه رزماری ۱۰۰+ سرم (۲/۰۵±۰/۲۹) نسبت به گروه مدیوم+ سرم افزایش معنی‌دای را نشان داد P<۰/۰۵. همچنین میزان بیان این ژن در در گروه‌های رزماری ۵۰+ سرم و رزماری ۱۰۰+ سرم نسبت به گروه محیط کاندیشنال+ سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد P<۰/۰۵.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]



نمودار ۵) مقایسه میزان بیان ژن AIF در سلول‌های MCF-7 تیمارشده با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت. *(p<۰/۰۵) در مقابل گروه مدیوم+ سرم و #(p<۰/۰۵) در مقابل گروه محیط کاندیشنال+ سرم

Fig 5) Comparison of AIF gene expression in MCF-7 cells treated by conditioned medium and rosemary extract for 24 and 48 hours. *(p<0.05) vs. the medium + serum group and #(p<0.05) vs. the conditioned medium + serum group.

بحث

تعامل بین تکثیر و آپوپتوز سلولی، نقش اساسی در هموستاز فیزیولوژیکی بافت‌ها دارد. هر عاملی که منجر به اختلال در این تعامل گردد، می‌تواند با تکثیر سلولی کنترل نشده و یا نقص در آپوپتوز منجر به پیشرفت سرطان گردد. مطالعات MTT نشان داد، میزان بقاء سلول‌های MCF7 تیمار شده با محیط کاندیشنال و رزماری با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ به مدت ۲۴ ساعت، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با سلول‌هایی که تیماری دریافت نکرده بودند، نشان داد. در حالیکه ۴۸ ساعت پس از تیمار فقط سلول‌هایی که در معرض محیط کاندیشنال قرار گرفته بودند، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. بنابراین محیط کاندیشنال در زمان ۴۸ ساعت در مقایسه با دوزهای مختلف رزماری به طور مؤثری باعث کاهش سرعت تکثیر سلول‌های MCF7 در شرایط in vitro شده بود. محققان معتقدند، محیط کاندیشنال، تکثیر سلول‌های سرطانی را سرکوب کرده و یا با مهار مسیر سیگنالینگ Stat 3 باعث حساسیت بالای سلول‌های سرطانی در معرض رادیوتراپی می‌گردد. همچنین سلول‌های سرطانی را در مرحله G1 سیکل سلولی نگه می‌دارد (۴۱). همچنین در محیط کاندیشنال مقادیر زیادی miRNAsها وجود دارد، که ژن‌های آنتی آپوپتوتیک را در سلول‌های سرطانی هدف قرار می‌دهند (۴۲ و ۴۳). یانگ (Yang) و همکاران، ثابت کردند، محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی مزانشیمی چربی انسانی و بندناف، با مهار تکثیر و القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی گلیومای انسانی منجر به بهبودی می‌گردد (۴۴).

گزارش شده، محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی چربی انسانی باعث کاهش تکثیر و مهاجرت سلول‌های ملانومای B16 به صورت وابسته به دوز و زمان شده (۳۱). همچنین مانع از مهاجرت سلول‌های سرطانی مثانه (رده T2)، و تحریک آپوپتوز می‌گردد (۴۵). امروزه پس از برداشتن کل پستان، به منظور بازگرداندن فرم طبیعی و حفظ آناتومی ارگان از بافت

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

چربی خود بیمار به محل جراحی پیوند زده می‌شود. از آنجا که بافت پیوند شده حاوی سلول‌های بنیادی است، مشاهده شده ریزمحیطی که این سلول‌ها در محل پیوند ایجاد می‌کنند، می‌تواند بر سلول‌های سرطانی تأثیر گذاشته و مانع از بدخیم شدن آن‌ها گردد (۴).

شواهد نشان می‌دهند که کارنوسیک اسید بقای سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهد و آپوپتوز را با تحریک بیان ژن‌های P53 و Bax و آزاد شدن سیتوکروم C و فعال کردن کاسپاز۹، ۷ و ۳ و مهار بیان Bcl-2 و Bcl-xL افزایش می‌دهد (۱۸ و ۴۶). کارنوسیک اسید تکثیر سلول‌های سرطانی لوکمیا پرومیلوسیتیک انسانی HL-60 و U-937 را مهار می‌کند و در سلول‌های سرطانی کلورکتال رده Caco-2 آپوپتوز را تحریک می‌کند و با کاهش بیان COX-2 و کاهش فعالیت پروتئازهایی مانند ماتریکس متالوپروتئینازها از مهاجرت سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند و همچنین اثر ضدسرطانی آن بر سلول‌های سرطانی کولون، پستان، پانکراس، پروستات، تخمدان، کبد، ریه، پوست، کلیه، سیستم عصبی، مغز و خون در شرایط آزمایشگاهی و در مورد سرطان‌های دهان، پروستات، کولون و خون در مدل‌های حیوانی موش و همستر مشخص شده است (۳۲).

یی (Yi) و همکاران، پس از بررسی اثرات ضد سرطانی گیاهان دارویی بر روی سلول‌های سرطانی کولون رده SW480 گزارش دادند که رزماری با غلظت ۳۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۴۸ ساعت به میزان قابل توجهی سرعت تکثیر سلول‌ها را کاهش می‌دهد (۴۶).

والدس (Valdes) و همکاران، گزارش دادند که غلظت‌های ۳۰ تا ۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره رزماری به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت از تکثیر سلولی سلول‌های کولون رده HT-29 جلوگیری نموده و همچنین عصاره رزماری باعث توقف چرخهٔ سلولی، نکروز، تجمع کلسترول و ROS می‌شود (۴۹-۴۷). همچنین موتانا (Mothana) و همکاران، نشان دادند، عصاره رزماری با غلظت ۴۸/۳ گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۴۸ ساعت از تکثیر سلول‌های سرطان مثانه جلوگیری می‌نماید (۵۰).

آپوپتوز یک فرآیند کنترل شده ژنتیکی است، که با بیان ژن‌های P53، Bax، Bcl-2 و AIF تنظیم می‌گردد. پروتئین Bcl-2 منجر به بقاء سلول می گردد، در حالیکه پروتئین‌های AIF، P53 و Bax بقاء سلول را کاهش می‌دهند. در این تحقیق افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های P53 AIF و Bax، همچنین کاهش معنی‌دار بیان ژن Bcl-2 در سلول‌های تیمار شده با محیط کاندیشنال به مدت ۲۴ و ۴۸ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. همچنین آنالیز داده‌ها حاکی از این است که رزماری ۱۰۰ حاوی سرم پس از ۴۸ ساعت منجر به افزایش بیان ژن‌های AIF،P53 و Bax و کاهش بیان ژن Bcl-2 شد. بنابراین تیمار سلول‌های MCF7 با رزماری ۵۰ و ۱۰۰ به مدت ۲۴ ساعت، اگر چه منجر به کاهش معنی دار بقاء سلول‌ها شده بود ولی تیمار با غلظت ۱۰۰ رزماری پس از ۴۸ ساعت توانسته بود مسیر آپوپتوتیک وابسته به AIF را فعال کند و مرگ سلول‌های سرطانی را باعث گردد. این نتایج در راستای نتایج شی هان (Sheehan) و همکاران می‌باشد، آن‌ها گزارش دادند سرطان روده بزرگ با اختلالاتی در تنظیم آپوپتوز همراه است و Bcl-2 ممکن است نقش مهمی در پیشرفت سرطان روده بزرگ داشته باشد (۵۱). همچنین هاوکینز (Hawkines) و همکاران، پیشنهاد دادند که افزایش

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

آپوپتوز همراه با کاهش بیان ژن Bcl-2 است (۵۲). لی هی (Leahy) و همکاران، بیان پروتئین Bcl-2 را در کارسینوم کولورکتال بررسی کردند و دریافتند که بیان پروتئین Bcl-2 با میزان بزرگی تومور مرتبط است (۵۳). همچنین گازانیگا (Gazzaniga) و همکاران، گزارش دادند که افزایش سطح ژن Bax کمک به تشکیل هترودایمر با پروتئین Bcl-2 یا همودایمر با پروتئین Bax می‌کند و به این ترتیب قادر به فعال سازی روند آپوپتوز شده و از رشد بدخیم و پیشرفت متاستاتیک سرطان مثانه جلوگیری می‌نماید (۵۴). همچنین مطالعات نشان دهنده سطوح پایین Bcl-2 در انواع سرطان‌ها از جمله سرطان پروستات (۵۵)، روده بزرگ (۵۶)، ریه (۵۷)، سینه (۵۸)، مثانه (۵۵)، و بدخیمی‌های نازوفارنکس (۵۹) است. از طرفی بر اساس مطالعات گذشته، محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی چربی انسانی آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی ملانومای انسانی رده A375SM و A375P و سلول‌های سرطانی مثانه رده T24 تحریک می‌نماید (۴۵ و ۶۰). همچنین شواهد حاکی از این است که عصارهٔ رزماری تکثیر و حیات سلول‌های سرطانی پستان و پانکراس را در غلظت‌های بین ۱۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مهار و آپوپتوز را تحریک می‌کند و همچنین اثر ضدسرطانی آن بر سلول‌های سرطانی کولون، پروستات، تخمدان، گردن رحم، کبد، ریه و خون در شرایط آزمایشگاهی تأیید شده است (۳۲). مطالعات وسیعی نشان داد آپوپتوز اهمیت ویژه‌ای در حذف سلول‌های توموری و درمان آن دارد و از پیشرفت سرطان جلوگیری می‌کند. همچنین از آنجا که محیط کاندیشنال و عصاره رزماری، آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی القاء می‌کنند. لذا در این پژوهش، مکانیسم مولکولی آپوپتوز در سلول‌های MCF7 تیمارشده با محیط کاندیشنال سلول‌های بنیادی بافت چربی انسانی و عصاره رزماری حاوی ۴۰ درصد کارنوسیک اسید از طریق بیان ژن‌های Bax، AIF، Bcl-2، P53 مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز بیان ژن‌ها در این پژوهش نشان داد، تیمار سلول‌های MCF7 با محیط کاندیشنال به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت و عصاره رزماری با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به مدت ۴۸ ساعت منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های Bax و P53 در مقایسه با گروه کنترل و کاهش معنی‌دار بیان ژن Bcl-2 نسبت به گروه کنترل شده است. می‌توان پیش‌بینی کرد که با افزایش بیان ژن Bax و کاهش بیان ژن Bcl-2 نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری افزایش یافته، که منجر به آزاد شدن AIF به درون سیتوپلاسم شده است. همچنین با افزایش بیان P53 و فعال شدن AIF، روند آپوپتوز در سلول‌های MCF7 تیمار شده با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری به صورت وابسته به دوز و زمان فعال شده است. همچنین آنالیز داده‌ها حاکی از این است که محیط کاندیشنال تأثیر بیشتری بر آپوپتوز سلول‌های MCF7 نسبت به عصاره رزماری داشته است. بررسی بیان ژن‌های Bax، AIF، Bcl-2، P53 در این تحقیق نشان داد، آپوپتوز در سلول‌های MCF7 تیمارشده از طریق مسیر غیروابسته به کاسپازها فعال شده است. از آنجایی که در سلول‌های MCF7 به دلیل وقوع جهش در ژن کاسپاز ۳ علیرغم رونویسی mRNA، کاسپاز۳ بیان نمی‌شود و بنابراین عملکردی ندارد، آپوپتوز از طریق مسیر وابسته به کاسپاز مختل می‌شود و به همین دلیل این رده از سلول‌های سرطانی در برابر آپوپتوز مقاوم‌اند. در این تحقیق با توجه به اینکه پس از القاء با محیط کاندیشنال و عصاره رزماری آپوپتوز از طریق مسیر

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

غیر وابسته به کاسپاز در سلول‌های سرطانی فعال شد، بنابراین روش تیمار مذکور به عنوان یک عامل مکمل به همراه شیمی‌درمانی کاربرد خواهد داشت.

نتیجه‌گیری

از آنجا که سرطان در اثر عوامل متعددی ایجاد می‌شود، بنابراین راه درمان آن نمی‌تواند محدود به استفاده از یک روش درمان باشد و می‌بایست ترکیبی از روش‌های درمانی که کمترین اثر سوء بر سلول‌های سالم داشته باشد را به کار گرفت. استفاده از محیط کاندیشنال و عصاره رزماری با القاء مسیر آپوپتوزی وابسته به AIF در سلول‌های MCF-7 می‌تواند یک روش مناسب و بی‌خطر در کنار دیگر درمان‌ها باشد.

سپاس و قدردانی

از تمامی شرکت کنندگان در این پژوهش و دانشگاه دامغان و پژوهشکده علوم زیستی (گروه سلولی-مولکولی، دانشکده زیست‌شناسی) به پاس تأمین هزینه این تحقیق تشکر می‌گردد.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان مقاله بیان نشده است.

References:

1.Holliday DL, Speirs V. Choosing the right cell line for breast cancer research. Breast Cancer Res 2011; 13(4): 215. doi: 10.1186/bcr2889.
2.Kousha A, Haji Ghasem Kashani M, Vaezi G H, et al. Expression of Neurotrophins in Adipose-derived Stem Cells during in vitro Culture and Posttransplantation in Parkinsonian Rat Model. Iran South Med J 2022; 25 (3): 227-239. doi: 10.52547/ismj.25.3.227
3.Pawitan J. Prospect of Stem Cell Conditioned Medium in Regenerative Medicine. Biomed Res Int 2014; 2014: 965849. doi: 10.1155/2014/965849.
4.Schweizer R, Tsuji W, Gorantla VS, et al. The role of adipose-derived stem cells in breast cancer progression and metastasis. Stem Cells Int 2015; 2015: 120949. doi: 10.1155/2015/120949.
5.Jayaraman P, Nathan P, Vasanthan P, et al. Stem cells conditioned medium: a new approach to skin wound healing management. Cell Biol Int 2013; 37(10): 1122-8 doi: 10.1002/cbin.10138.
6.Pashaei-Asl R, Pashaiasl M, Ebrahimie E, et al. Apoptotic effects of human amniotic fluid mesenchymal stem cells conditioned medium on human MCF-7 breast cancer cell line. BioImpacts 2022. doi: 10.34172/bi.2022.23813.
7.Jafari A, Rezaei-Tavirani M, Farhadihosseinabadi B, et al. Human amniotic mesenchymal stem cells to promote/suppress cancer: two sides of the same coin. Stem Cell Res Ther 2021; 12(1): 1-11. https://doi.org/10.1186/s13287-021-02196-x
8.Kim YS, Hwang KA, Go RE, et al. Gene therapy strategies using engineered stem cells for treating gynecologic and breast cancer patients. Oncol Rep 2015; 33(5): 2107-12. doi: 10.3892/or.2015.3846.
9.Seyhoun I, Hajighasemlou S, Ai J, et al. Novel combination of mesenchymal stem cell-conditioned medium with sorafenib have synergistic antitumor effect of hepatocellular carcinoma cells. Asian Pac J Cancer Prev 2019; 20(1): 263-267. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.1.263.
10.Spitzhorn LS, Rahman MS, Schwindt L, et al. Isolation and molecular characterization of amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells obtained from caesarean sections. Stem Cells Int 2017; 2017: 5932706. doi: 10.1155/2017/5932706.
11.Beretti F, Zavatti M, Casciaro F, et al. Amniotic fluid stem cell exosomes: therapeutic perspective. BioFactors 2018; 44(2): 158-67. doi: 10.1002/biof.1407.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

12.Xiang Q, Liu Q, Xu Li, et al. Carnosic acid protects biomolecules from free radical-mediated oxidative damage in vitro. Food Sci Biotechnol 2013; 22(5): 1381-1388. doi: 10.1007/s10068-013-0226-2.
13.Satoh T, Kosaka K, Itoh K, et al. Carnosic acid, a catechol-type electrophilic compound, protects neurons both in vitro and in vivo through activation of the Keap1/Nrf2 pathway via S-alkylation of targeted cysteines on Keap1. J Neurochem 2008; 104(4): 1116-31. doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.05039.x.
14.Al Dhaheri Y, Attoub S, Ramadan G, et al. Carnosol induces ROS-mediated beclin1-independent autophagy and apoptosis in triple negative breast cancer. PloS one 2014; 9(10): e109630. doi: 10.1371/journal.pone.0109630.
15.Su K, Wang Cf, Zhang Y, et al. The inhibitory effects of carnosic acid on cervical cancer cells growth by promoting apoptosis via ROS-regulated signaling pathway. Biomed Pharmacother 2016; 82: 180-91. doi: 10.1016/j.biopha.2016.04.056.
16.Zhao PW, Lee DY, Ma ZZ, et al. The antioxidant effect of carnosol in bovine aortic endothelial cells is mainly mediated via estrogen receptor α pathway. Biol Pharm Bull 2012; 35(11): 1947-55. doi: 10.1248/bpb.b12-00325.
17.Allegra A, Tonacci A, Pioggia G, et al. Anticancer activity of Rosmarinus officinalis L.: mechanisms of action and therapeutic potentials. Nutrients 2020; 12(6): 1739. doi: 10.3390/nu12061739.
18.Chae IG, Yu MH, Park KW, et al. Carnosic acid induces apoptosis through inhibition of STAT3 signaling and production of ROS in human colon cancer HCT116 cells. Cancer Res 2015; 75(15 Suppl): 5566. doi: 10.1158/1538-7445.AM2015-5566
19.Oltval ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programed cell death. Cell 1993; 74(4): 609-19. doi: 10.1016/0092-8674(93)90509-o.
20.Yu JH, Zheng GB, Liu CY, et al. Dracorhodin perchlorate induced human breast cancer MCF-7 apoptosis through mitochondrial pathways. Int J Med Sci 2013; 10(9): 1149-56. doi: 10.7150/ijms.6275.
21.Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. J Urol 2003; 170(6 Pt 1): 2163-72. doi: 10.1097/01.ju.0000096060.92397.ed.
22.Kelekar A, Thompson CB. Bcl-2-family proteins: the role of the BH3 domain in apoptosis. Trends Cell Biol 1998; 8(8): 324-30. doi: 10.1016/s0962-8924(98)01321-x.
23.Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. Physiol Rev 2007; 87(1): 99-163. doi: 10.1152/physrev.00013.2006.
24.Candé C, Cecconi F, Dessen P, et al. Apoptosis-inducing factor (AIF): key to the conserved caspase-independent pathways of cell death? J Cell Sci 2002; 115(24): 4727-34. doi: 10.1242/jcs.00210
25.Williams MM, Cook RS. Bcl-2 family proteins in breast development and cancer: could Mcl-1 targeting overcome therapeutic resistance? Oncotarget 2015; 6(6): 3519-30. doi: 10.18632/oncotarget.2792.
26.Constantinou C, Papas KA, Constantinou AI. Caspase-independent pathways of programmed cell death: the unraveling of new targets of cancer therapy? Curr Cancer Drug Targets 2009; 9(6): 717-28. doi:10.2174/156800909789271512
27.Toshiyuki M, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. Cell 1995; 80(2): 293-9. doi:10.1016/0092-8674(95)90412-3.
28.Matsumoto H, Wada T, Fukunaga K, et al. Bax to Bcl-2 ratio and Ki-67 index are useful predictors of neoadjuvant chemoradiation therapy in bladder cancer. Jpn J Clin Oncol 2004; 34(3): 124-30. doi: 10.1093/jjco/hyh026.
29.Gavathiotis E, Suzuki M, Davis ML, et al. BAX activation is initiated at a novel interaction site. Nature 2008; 455(7216): 1076-81. doi: 10.1038/nature07396.
30.Presti JC, Reuter VE, Galan T, et al. Molecular genetic alterations in superficial and locally advanced human bladder cancer. Cancer Res 1991; 51(19): 5405-9. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1680549/

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

31.Lee JH, Park CH, Chun KH, et al. Effect of adipose-derived stem cell-conditioned medium on the proliferation and migration of B16 melanoma cells. Oncol Lett 2015; 10(2): 730-6. doi: 10.3892/ol.2015.3360.
32.Moore J, Yousef M, Tsiani E. Anticancer effects of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract and rosemary extract polyphenols. Nutrients 2016; 8(11): 731. doi: 10.3390/nu8110731.
33.Jaglanian A, Tsiani E. Rosemary extract inhibits proliferation, survival, Akt, and mTOR signaling in triple-negative breast cancer cells. Int J Mol Sci 2020; 21(3): 810. doi: 10.3390/ijms21030810.
34.Ozdemir KG, Yılmaz H, Yılmaz S. In vitro evaluation of cytotoxicity of soft lining materials on L929 cells by MTT assay. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2009; 90(1): 82-6. doi: 10.1002/jbm.b.31256.
35.Collier AC, Pritsos CA. The mitochondrial uncoupler dicumarol disrupts the MTT assay. Biochem Pharmacol 2003; 66(2): 281-7. doi: 10.1016/s0006-2952(03)00240-5.
36.Mansourabadi AH, Hematti M, Moradi A, et al. Evaluation of Curcumin and Quercetin Toxicity Effects on 4T1 Murine Breast Cancer Cell Line by MTT Method. Iran South Med J 2017; 20 (1) :1-8. doi: 10.18869/acadpub.ismj.20.1.1
37.Jeong CW, Ahn KS, Rho NK, et al. Differential in vivo cytokine mRNA expression in lesional skin of intrinsic vs. extrinsic atopic dermatitis patients using semiquantitative RT-PCR. Clin Exp Allergy 2003; 33(12): 1717-24. doi: 10.1111/j.1365-2222.2003.01782.x.
38.Golestani Eimani B, Sanati MH, Houshmand M, et al. Expression and prognostic significance of bcl-2 and bax in the progression and clinical outcome of transitional bladder cell carcinoma. Cell J 2014; 15(4): 356. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24381861/
39.Paul-Samojedny M, Kokocińska D, Samojedny A, et al. Expression of cell survival/death genes: Bcl-2 and Bax at the rate of colon cancer prognosis. Biochim Biophys Acta 2005; 1741(1-2): 25-9. doi:10.1016/j.bbadis.2004.11.021
40.Stambolsky P, Weisz L, Shats I, et al. Regulation of AIF expression by p53. Cell Death Differ 2006; 13(12): 2140-9. doi: 10.1038/sj.cdd.4401965.
41.He N, Kong Y, Lei X, et al. MSCs inhibit tumor progression and enhance radiosensitivity of breast cancer cells by down-regulating Stat3 signaling pathway. Cell Death Dis 2018; 9(10): 1026. doi: 10.1038/s41419-018-0949-3.
42.Lazzarini R, Sorgentoni G, Caffarini M, et al. New miRNAs network in human mesenchymal stem cells derived from skin and amniotic fluid. Int J Immunopathol Pharmacol 2016; 29(3): 523-8. doi: 10.1177/0394632015610228.
43.Lazzarini R, Olivieri F, Ferretti C, et al. mRNAs and miRNAs profiling of mesenchymal stem cells derived from amniotic fluid and skin: the double face of the coin. Cell Tissue Res 2014; 355(1): 121-30. doi: 10.1007/s00441-013-1725-4.
44.Yang C, Lei D, Ouyang W, et al. Conditioned media from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells efficiently induced the apoptosis and differentiation in human glioma cell lines in vitro. Biomed Res Int 2014; 2014: 109389. doi: 10.1155/2014/109389.
45.Yu X, Su B, Ge P, et al. Human adipose derived stem cells induced cell apoptosis and S phase arrest in bladder tumor. Stem Cells Int 2015; 2015: 619290. doi: 10.1155/2015/619290.
46.Yi W, Wetzstein HY. Anti-tumorigenic activity of five culinary and medicinal herbs grown under greenhouse conditions and their combination effects. J Sci Food Agric 2011; 91(10): 1849-54. doi: 10.1002/jsfa.4394.
47.Valdes A, Sullini G, Ibanez E, et al. Rosemary polyphenols induce unfolded protein response and changes in cholesterol metabolism in colon cancer cells. J Funct Foods 2015; 15: 429-39. doi: 10.1016/j.jff.2015.03.043

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

48.Valdés A, García-Cañas V, Koçak E, et al. Foodomics study on the effects of extracellular production of hydrogen peroxide by rosemary polyphenols on the anti-proliferative activity of rosemary polyphenols against HT-29 cells.Electrophoresis 2016; 37(13): 1795-804. doi: 10.1002/elps.201600014.

49.Valdes A, Artemenko KA, Bergquist J, et al. Comprehensive proteomic study of the antiproliferative activity of a polyphenol-enriched rosemary extract on colon cancer cells using nanoliquid chromatography–orbitrap MS/MS. J Proteome Res 2016; 15(6): 1971-85. doi: 10.1021/acs.jproteome.6b00154.

50.Mothana RA, Kriegisch S, Harms M, et al. Assessment of selected Yemeni medicinal plants
for their in vitro antimicrobial, anticancer, and antioxidant activities. Pharm Biol 2011; 49(2): 200-10. doi: 10.3109/13880209.2010.512295.

51.Sheehan KM, O'Donovan DG, Fitzmaurice G, et al. Prognostic relevance of Fas (APO-1/CD95) ligand in human colorectal cancer. Eur J Gastroenterol Hepatol 2003; 15(4): 375-80. doi: 10.1097/00042737-200304000-00007.

52.Hawkins N, Lees J, Hargrove R, et al. Pathological and genetic correlates of apoptosis in the progression of colorectal neoplasia. Tumour Biol 1997; 18(3): 146-56. doi: 10.1159/000218025.

53.Leahy DT, Mulcahy HE, O'Donoghue DP, et al. bcl-2 protein expression is associated with better prognosis in colorectal cancer. Histopathology 1999; 35(4): 360-7. doi: 10.1046/j.1365-2559.1999.00743.x.

54.Gazzaniga P, Gradilone A, Vercillo R, et al. Bcl-2/bax mRNA expression ratio as prognostic factor in low-grade urinary bladder cancer. Int J Cancer 1996; 69(2): 100-4. doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(19960422)69:2<100::AID-IJC5>3.0.CO;2-4.

55.McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, et al. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. Cancer Res 1992; 52(24): 6940-4. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1458483/

56.Hague A, Moorghen M, Hicks D, et al. BCL-2 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. Oncogene 1994; 9(11): 3367-70. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7936663/

57.Ben-Ezra JM, Kornstein MJ, Grimes MM, et al. Small cell carcinomas of the lung express the Bcl-2 protein. Am J Pathol 1994; 145(5): 1036-40. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7977636/

58.Joensuu H, Pylkkänen L, Toikkanen S. Bcl-2 protein expression and long-term survival in breast cancer. Am J Pathol 1994; 145(5): 1191-8.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7977649/

59.Lu QL, Elia G, Lucas S, et al. Bcl-2 proto-oncogene expression in Epstein-Barr-virus-associated nasopharyngeal carcinoma. Int J Cancer 1993; 53(1): 29-35. doi: 10.1002/ijc.2910530107.

60.Ahn JO, Coh YR, Lee HW, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells inhibit melanoma growth in vitro and in vivo. Anticancer Res 2015; 35(1): 159-68. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25550547/

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]

Iran South Med J 2022; 25(5): 422-441

Original Article

Expression of Apoptotic Genes in MCF-7 Cancer Cells after Induction with Human Adipose Stem Cells Conditioned Medium and Rosemary Extract

F. Omidvar (MSc)[1*], M. Haji Ghasem Kashani (PhD)[1**], T.S. Tabatabai (MSc)[1]

[1] Department of Cellular and Molecular, School of Biology and Institute of Biological Sciences, Damghan University, Damghan, Iran

(Received 3 Nov, 2022 Accepted 31 Dec, 2022)

Background: The effect of conditioned medium on apoptosis and invasion of MCF-7 is still debated. Carnosic acid, a component of rosemary extract, is also reported to have anti-cancer property. Therefore, we studied the occurrence of apoptosis through AIF-dependent pathway in MCF-7 cells treated with conditioned medium and rosemary extract by evaluating the expression of AIF, P53, Bcl-2 and Bax genes.

Method and Materials: In this studty, the experimental groups were: cultured MCF7 cells in medium containing serum (control), cultured cells in conditioned medium containing serum (CM group), cultured cells in medium containing different concentrations of rosemary extract (50 and 100 µg / ml) for 24 and 48 hours (treatment groups). The cell proliferation rate was studied by MTT test. Gene expression was assessed by RT-PCR.

Results: The survival rate of cells treated by conditioned medium and serum for 24 and 48 h was significantly decreased as compared to control. Meanwhile, there was a significant increase in the survival rate of MCF-7 cells cultured with rosemary 50 and 100 µg / ml containing serum for 48 h, compared to group treated with conditioned medium and serum. A significant increase in P53, AIF and Bax gene expression, and also a significant decrease in Bcl-2 gene expression were observed in cells treated with conditioned medium and serum for 24 and 48h, as compared to the control. Rosemary at the concentration of 100 µg/ml and serum for 48 h significantly decreased P53, AIF and Bcl-2 genes and rosemary at concentration of 50 µg/ml containing serum for 24 and 48 h significantly decreased Bax gene expression compared to conditioned medium and serum group.

Conclusion: The AIF-dependent apoptotic pathway was activated in MCF-7 cells after treatment with conditioned medium 24 and 48 h and rosemary 100 containing serum after 48 h.

Keywords: MCF-7 cells, Apoptosis, Conditioned medium, Rosemary extract

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: Omidvar F, Haji Ghasem Kashani M, Tabatabai T.S. Expression of Apoptotic Genes in MCF-7 Cancer Cells after Induction with Human Adipose Stem Cells Conditioned Medium and Rosemary Extract. Iran South Med J 2022; 25(5): 422-441

[**]*Address for correspondence:* Department of Cellular and Molecular, School of Biology and Institute of Biological Sciences, Damghan University, Damghan, Iran. E.mail: kashani@du.ac.ir
*ORCID: 0000-0002-8436-4631
**ORCID: 0000-0001-8889-6427

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.61186/ismj.25.5.422]