JSST Journal of Space Sience and Technology

VOL.?? / ISSUE ?/ ?? ??/ (NO. ??)
Print ISSN: 2008-4560 / Online ISSN: 2423-4516
DOI:

OPEN ACCESS

Pages: ??-??/ Analytical Paper / Submit: ?? / Accepted: ??

E-cadherin Gene Expression Changes in MCF-7 Breast in Simulated Microgravity Condition›Cancer Cell Line

Zahra Hajebrahimi

A&S Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran

Corresponding Author's E-mail: hajebrahimi@ari.ac.ir

ABSTRACT: *Simulated microgravity can change tumor cell adhesion, proliferation, invasion, and metastasis. E-cadherin molecule is a cell-to-cell adhesion regulatory molecule whose expression is reduced in most types of cancer cells. In the present study, the expression of the E-cadherin gene in the MCF-7 breast cancer cell line was studied under simulated microgravity conditions using Clinostat for one and three days using real-time PCR technique and GAPDH as reference gene . Also, the effect of microgravity on cells was evaluated by the MTT test. MTT data showed that microgravity for one and three days has no significant effects on cell proliferation and metabolic activity. Also, microgravity for one day led to a doubling of E-cadherin gene expression. The continuation of microgravity for three days led to a further increase. As a result, microgravity can lead to the reduction of the cancerous phenotype in breast cancer. Therefore, studying cancer cells in a microgravity environment can help us understand the mechanisms that lead to cancer and its progression. Also, these studies can lead to the development of new treatment methods for cancer treatment.*

Keywords: Simulated microgravity, clinostat, breast cancer, MCF-7 cell line, E-cadherin gene

Article in Press

JSST
فصلنامهٔ علمی - پژوهشی علوم و فناوری فضایی
دوره ؟؟ / شماره ؟/ فصل ؟؟؟؟/ (پیاپی ؟؟)
شاپای چاپی: ۴۵۶۰- ۲۰۰۸ / شاپای الکترونیکی: ۴۵۱۶-۲۴۲۳
DOI:
ص. ص. ؟؟؟؟ / نوع مقاله ؟؟ / دریافت: ؟؟؟؟؟/ پذیرش مقاله: ؟؟؟؟

OPEN ACCESS

تغییرات بیانی ژن E-cadherin در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان در شرایط بی وزنی شبیه‌سازی شده

زهرا حاج ابراهیمی

پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

ایمیل نویسنده مخاطب: hajebrahimi@ari.ac.ir

چکیده: *بی‌وزنی شبیه سازی شده می تواند چسبندگی سلول‌های توموری، تکثیر، تهاجم و متاستاز آنها را تغییر دهد .مولکول E-cadherin یک مولکول تنظیم کننده چسبندگی سلول به سلول است که بیان آن در اکثر انواع سلول‌های سرطانی کاهش می یابد. درمطالعه حاضر بیان ژن E-cadherin در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان در شرایط بی وزنی شبیه سازی شده با دستگاه کلینواستت برای یک و سه روز توسط تکنیک real-time PCR و با ژن مرجع GAPDH مطالعه شد. همچنین تاثیر بی وزنی بر سلول با تست MTT/ارزیابی شد. داده های MTT نشان داد که بی وزنی برای یک و سه روز تاثیر معناداری بر تکثیر و فعالیت متابولیکی سلول ها ندارد. همچنین بی وزنی برای یک روز منجر به افزایش دوبرابری بیان ژن E-cadherin گردید. ادامه یافتن بی وزنی برای سه روز، منجر به افزایش بیشتر آن گردید. درنتیجه، بی وزنی می تواند منجر به کاهش فنوتیپ سرطانی در سرطان پستان گردد. بنابراین مطالعه سلول‌های سرطانی در محیط بی‌وزنی می‌تواند به ما در فهم مکانیسم‌های که منجر به ایجاد سرطان و پیشرفت آن می شود کمک کند. همچنین این مطالعات می تواند موجب توسعه روش‌های درمانی جدید برای درمان سرطان گردد.*

واژه‌های کلیدی: بی وزنی شبیه سازی شده، کلینواستت، سرطان پستان، رده سلولی MCF-7، ژن **E-cadherin**

مقدمه

سرطان پستان شایعترین نوع بدخیمی در زنان می باشد و شیوع آن در زنان رو به افزایش بوده و حدود ۲/۳ میلیون مورد جدید در سال ۲۰۲۰ در جهان زن مبتلا به سرطان پستان شناسایی شد که از این تعداد حدود ۶۸۵۰۰۰ نفر فوت شدند [۱]. کشورهای در حال توسعه از محدودیت های اقتصادی و زیرساختی رنج می برند که دستیابی به هدف افزایش بقای بیماران سرطان پستان از طریق تشخیص و درمان سریع را دشوار می کند[۲]. متاستاز و تهاجم سلول های تومور پستان مسئول بسیاری از مرگ های ناشی از سرطان پستان هستند متاستاز شامل مهاجرت سلول های سرطانی از بافت تومور اولیه به بافت دیگری از بدن است این فرآیند یک عامل اساسی در پیش آگهی بالینی ضعیف در بیماران مبتلا به سرطان پستان است [۳]. نرخ بقای پنج ساله برای سرطان پستان از نزدیک به ۱۰۰٪ زمانی که سرطان موضعی باشد به کمتر از ۲۵ درصد زمانی که سرطان به نقاط دوردست نفوذ کرده باشد کاهش می یابد. این امر اهمیت شناسایی و واسطه های هدف در فرآیند متاستاز را نشان می دهد. تقریبا یک سوم از بیماران با سرطان پستان به هنگام تشخیص اولیه ازنظر متاستاز مثبت هستند[۴].

تبدیل از فنوتیپ غیر بدخیم به فنوتیپ متاستاتیک یک فرآیند تکاملی است که در آن سلول‌های سرطانی به تدریج ویژگی هایی به دست میآورند که از یک زیرجمعیت سلولی ناشی می شوند و در نهایت قادر به تکمیل تمام مراحل آبشار متاستاتیک هستند [۴]. تخریب و بازسازی ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی در مهاجرت

Article in Press

و متاستاز سلول های تومور ایفا می کند.پروتئین E-cadherin یک مولکول چسبندگی سلولی است که وظیفه اصلی آن واسطه‌گری ماتریکس سلولی و تماس‌های سلولی است و منجر به نگهداری و یکپارچگی ماتریکس خارج سلولی می‌شود. از دست دادن E-cadherin یکی از اولین اتفاقات در شروع متاستاز و تهاجم تومور است [۵]. مولکول E-cadherin یک مولکول تنظیم کننده چسبندگی سلول به سلول با کمک کلسیم می باشد و در اکثر بافت‌های اپیتلیال طبیعی بیان می‌شود، اما بیان آن در اکثر انواع سلول‌های سرطانی کاهش می یابد. عدم وجود E-cadherin باعث تمایز زدایی و تهاجمی شدن سرطان های انسانی می شود که نشان می دهد E-cadherin یک مولکول سرکوب کننده تومور است [۶]. بنابراین، افزایش بیان E-cadherin عملکردی یک استراتژی جدید درمانی سرطان است.

روش های مختلفی برای درمان در افراد مبتلا به سرطان استفاده می شود که آز آن جمله می توان به شیمی درمانی، درمان هدفمند، جراحی، هورمون درمانی و پرتودرمانی اشاره کرد. بروز سرطان، مقاومت دارویی و اثرات سمی روی اندام‌های غیرهدف، همگی از معایب مهم شیمی‌درمانی و سایر تکنیک‌های درمانی هستند که ممکن است استفاده از داروهای ضد سرطان را محدود کرده و در نتیجه کیفیت زندگی بیمار را کاهش دهد[۷]. پیگیری داروهای ضد سرطان بالقوه جدید با عملکرد بهبود یافته و روش ها و استراتژی های جدید با عوارض جانبی کمتر برای حل مشکلات درمان های فعلی از اهمیت بالایی برخوردار است. در سال های اخیر مشخص شده است که محیط بی‌وزنی شبیه سازی شده موجب تغییرات سلولی از جمله تغییر در اسکلت سلولی و مولکول های ماتریکس خارج سلولی می‌شود[۸]. بی‌وزنی شبیه سازی شده می تواند چسبندگی سلول‌های توموری، تکثیر، تهاجم و متاستاز آنها را نیز تغییر دهد [۱۰-۸]. با این وجود، مکانیسم‌های مولکولی که منجر به این تغییرات می گردد هنوز به درستی شناسایی نشده‌اند. همچنین مطالعه ای در محیط بی‌وزنی شبیه سازی شده با دستگاه کلینواستت نشان داد که بی وزنی منجر به کاهش تکثیر و چسبندگی و تهاجم سلول‌های سرطانی ملانوما در محیط in vitro و کاهش متاستاز آنها به ریه در شرایط in vivo می‌گردد[۱۱].

بنابراین مطالعه سلول‌های سرطانی در محیط بی‌وزنی می‌تواند به ما در شناخت و درک مکانیسم‌هایی که منجر به ایجاد سرطان و پیشرفت آن می شود کمک کند. همچنین این مطالعات می تواند موجب توسعه روش‌های درمانی جدید برای درمان سرطان گردد. ازآنجا که قرارگیری در شرایط بی‌وزنی واقعی پرهزینه و مشکل است، در اکثر مطالعات از دستگاه‌های شبیه ساز بی‌وزنی استفاده می‌کنند. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات بیانی ژن E-cadherin در محیط بی‌وزنی شبیه سازی شده با دستگاه کلینواستت در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان می‌باشد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر در آزمایشگاه زیست-پزشکی فضایی در پژوهشگاه هوافضا در سال ۱۴۰۱ به انجام رسیده است. رده سلولی MCF-7 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، کرج، خریداری شد و در شرایط استاندارد به آزمایشگاه منتقل شد.

کشت و تکثیر سلول‌های MCF-7

سلول‌های MCF-7در فلاسک T25 (TPP, Switzerland) در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد و در حضور ۵٪ گاز دی اکسید کربن و محیط کشت DMEM با گلوکز بالا (Dulbecco's Modified Eagle Medium; Biowest, France) به همراه ۱۰٪ سرم گاوی (FBS; Biowest, France) و ۱٪ آنتی بیوتیک‌های پنی سیلن/ استرپتومایسن کشت و تکثیر شدند. پاساژ سلول ها با آنزیم تریپسین –EDTA (Biowest, France) ۰/۰۵درصد و به هنگام پوشیده شدن ۸۰ % کف فلاسک توسط سلول ها، انجام شد.

تیمار بی‌وزنی

تیمار بی‌وزنی در پاساژ چهارم انجام شد. برای این منظور، ۲×۱۰^{۶} سلول به لوله‌های کشت سلول (tissue culture tube=TPP) منتقل شدند. نمونه‌های مورد مطالعه شامل گروه سلول‌های کنترل (۱Gیا بدون بی‌وزنی) و گروه سلول های بی‌وزنی (۱ روز و ۳ روز بی‌وزنی) بودند. به منظور جلوگیری از ایجاد حباب و نیروهای برشی، لوله‌های کشت کاملا با محیط کشت پر شدند. جهت حفظ pH محیط کشت، از غلظت ۱۵ میلی مولار HEPES استفاده شد. بی‌وزنی (۰/۰۰۱G) توسط دستگاه کلینواستت تک محوره (اهدایی از سازمان ملل) فراهم گردید. بدین صورت که پس از استریل کردن دستگاه توسط نور ماوراءبنفش و الکل ۷۰ درصد و قرار دادن آن در داخل انکوباتور، نمونه‌ها در مرکز کلینواستت تثبیت و دور دستگاه کلینواستت بر روی ۳۰rpm قرار داده شد. در زمان‌های ۱ و ۳ روز، دستگاه خاموش و نمونه‌ها جهت استخراج RNA از روی

Article in Press

دستگاه برداشته شدند. لازم به ذکر است گروه های کنترل همزمان با نمونه های تست بی وزنی در داخل انکوباتور و خارج از دستگاه کلینواستت قرار گرفتند. کلیه تست ها ۳ بار انجام شد.

بررسی بیان ژن E-cadherin به روش Real- time PCR

میزان بیان ژن E-cadherin توسط تکنیک Real-time PCR مطالعه شد. RNA تام با استفاده از کیت استخراج RNA (RNX-Plus; Sinaclon, Iran) و مطابق با پروتکل شرکت استخراج گردید و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان استفاده ذخیره شد. صحت و تمامیت RNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز، اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و همچنین PCR برای ژن کنترل داخلی بررسی شد.
یک میکروگرم از RNA تام برای سنتز cDNA و با استفاده از کیت تجاری Prime ScriptTM RT reagent (Takara, Japan) در حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر و مطابق پروتکل شرکت سازنده استفاده شد. محصول cDNA سنتز شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره گردید شد. جهت تکثیر ژن‌های E-cadherin و ژن کنترل داخلی، ۲ میکرولیتر از cDNAی سنتز شده به همراه پرایمرهای مخصوص هر ژن در واکنش Real time PCR با استفاده از کیت SYBR Green Real Time Master Mix (Takara, Japan) و دستگاه StepOnePlus Real-Time PCR (Applied Biosystems, USA)، PCR شد. شرایط دمایی واکنش PCR به صورت یک مرحله دناتوراسیون اولیه (دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه) و در ادامه ۴۰ سیکل به صورت یک مرحله دناتوراسیون (دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه)، و یک مرحله گسترش هم زمان (دمای ۶۰ درجه سانتی گراد، ۳۴ ثانیه) بود. منحنی ذوب ژن‌ها بعد از اتمام واکنش Real time PCR رسم گردید و محصولات PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد. میزان بیان ژن با روش کمی نسبی و فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه گردید. نمودار بیان ژن با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism رسم شد. ژن کنترل داخلی GAPDH بود. شرایط دمایی واکنش PCR برای ژن مرجع مشابه با ژن E-cadherin و در دمای اتصال ۶۰ درجه سانتی گراد بود. پرایمرهای اختصاصی با نرم افزار OLIGO7 طراحی و شرکت Macrogen (South Korea) ساخته شد. توالی پرایمر برای ژن E-cadherin به صورت forward: 5'-GCACCGTCAAGG CTGAGAAC-3' و reverse: 5'-TGGTGAAGACGCCAGT GGA-3' و برای ژن GAPDH به صورت forward: 5'-ACGACCACTTTGTCAAGCTCAT -3' و reverse: 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA -3' بود.

بررسی میزان فعالیت متابولیکی و تکثیر سلولی با تست MTT

تست MTT برای بررسی میزان فعالیت متابولیکی سلول طراحی شده است که این میزان میتواند نشان دهنده تعداد سلول های زنده باشد. اساس این آزمایش به این ترتیب است که سیستم سوکسینات دهیدروژناز موجود در سلول باعث تبدیل رنگ MTT (۳،۴،۵ دی متیل تیازول – ۲ و ۵ دی فنیل تترازولیوم برمید)، به فرمازان بنفش رنگ می شود. سپس کریستال های فرمازان توسط DMSO حل شده و میزان رنگ ایجاد شده با دستگاه اسپکتروفتومتری (معمولا در طول موج ۵۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر) خوانده می شود. هرچه جذب در این طول موج بیشتر باشد نشان دهنده تعداد بیشتر سلول ها در محیط مورد آزمایش است. جهت انجام تست MTT از کیت MTT شرکت ATOCEL استفاده شد. برای این منظور پس از کشت سلول ها در پلیت ۹۶ خانه و قرار گرفتن در شرایط بی وزنی، ۲۰ میکرو لیتر محلول MTT به هرچاهک اضافه شد و نمونه ها برای مدت ۳ تا ۴ ساعت درانکوباتور و تا ظاهرشدن رسوب بنفش قرار داده شد. سپس محیط به آرامی خارج شد. سپس ۲۰۰ میکرو لیتر DMSO به هر چاهک اضافه و جهت حل شدن کریستال های فرمازان پیپتاژ شد. جذب نوری درطول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر خوانده شد.

آنالیز آماری

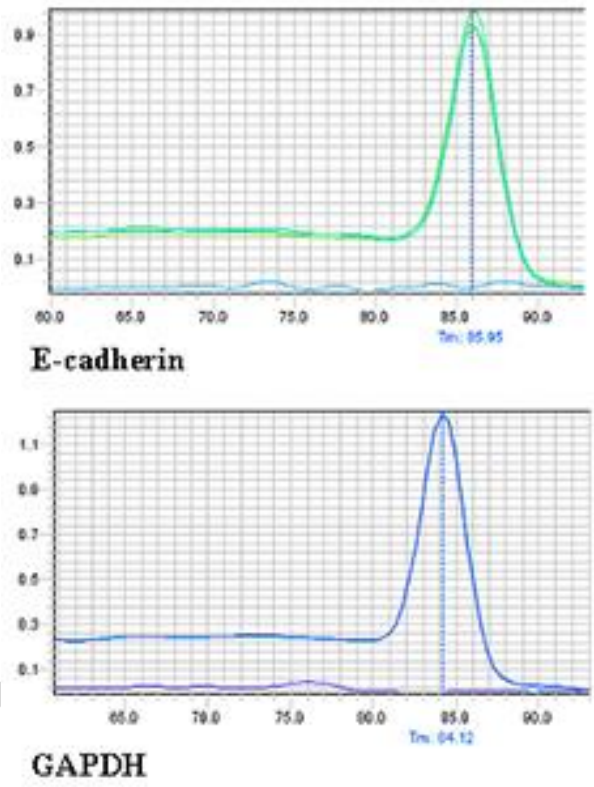
داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است و داده‌ها با تست Unpaired t test آنالیز شد. ازنظر آماری $P\leq ۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

منحنی ذوب (شکل۱) حاکی از اتصال صحیح پرایمرها و تکثیر قطعات اختصاصی و عدم وجود قطعات غیر اختصاصی برای ژن‌های موردنظر بود. در الکتروفورز ژل آگارز تنها یک باند مشاهده شد که تاییدی بر نتایج منحنی ذوب و عدم تکثیر محصول غیراختصاصی بود (داده ها نشان داده نشده است). نتایج واکنش real-time PCR (شکل۲) حاکی از این بود که بیان ژن E-cadherin در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان پس از یک روز قرارگیری در محیط بی‌وزنی شبیه سازی شده با دستگاه کلینواستت، به میزان تقریبا دو برابر در مقایسه با نمونه‌های کنترل (جاذبه نرمال؛ ۱ جی) افزایش می‌یابد($P<۰/۰۱$). ادامه یافتن

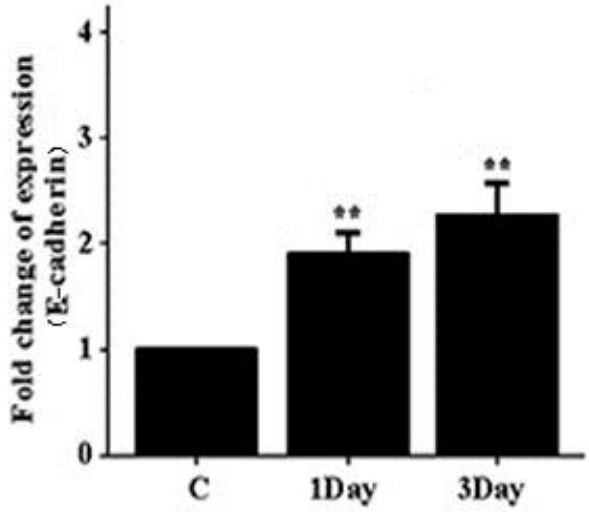
Article in Press

بی‌وزنی برای سه روز منجر به افزایش کمی بیشتر بیان ژن E-cadherin در این رده سلولی شد.



شکل۱: نمودار منحنی ذوب ژن‌های GAPDH و E-cadherin

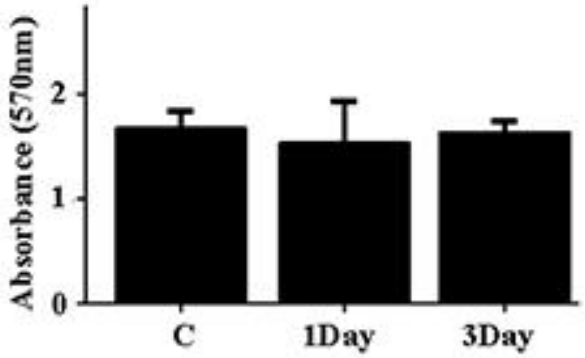
Figure 1: Melting curve diagram of GAPDH and E-cadherin gene



شکل۲: تغییرات بیانی ژن E-cadherin در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان پس از یک و سه روز قرارگیری در محیط بی‌وزنی شبیه سازی شده توسط دستگاه کلینواستت و گروه کنترل (C) در شرایط جاذبه نرمال یک جی

Figure 2: Expression changes of E-cadherin gene in MCF-7 breast cancer cell line after one and three days of being placed in a simulated microgravity environment using a Clinostat device and control group (C) under normal gravity conditions of 1G

نتایج آنالیز MTT در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشاهده می شود شرایط شبیه سازی بی وزنی برای یک و سه روز تاثیر معناداری بر تکثیر و فعالیت متابولیکی سلول ها نداشته است. درج شوند.



شکل ۳: نتایج تست MTT در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان پس از یک و سه روز قرارگیری در محیط بی‌وزنی شبیه سازی شده توسط دستگاه کلینواستت و گروه کنترل (C) در شرایط جاذبه نرمال یک جی

Figure 3: Data of MTT test in MCF-7 breast cancer cell line after one and three days of being placed in a simulated microgravity environment using a Clinostat device and control group (C) under normal gravity conditions of 1G

بحث

در بین سرطان ها، سرطان پستان بیشترین میزان شیوع را در بین زنان دارد و میزان ابتلا به این سرطان در اکثر کشورهای جهان و از جمله کشور ایران به دلا یل مختلفی چون افزایش آلودگی هوا به ویژه در شهرهای صنعتی، افزایش استرس، رژیم غذایی و افزایش استفاده از غذاهای فناوری شده و آماده در حال افزایش ا ست [۱، ۲]. همچنین با وجود توسعه روش های درمانی جدید و استفاده از روش های مختلف به طور همزمان مانند جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی، میزان مرگ بیماران مبتلا به سرطان همچنان زیاد می باشد و این امر بیانگر ناکارآمد بودن روش های درمانی سرطان و کافی نبودن دانش ما در مورد این بیماری می با شد. در مطالعه حا ضر به مطالعه رده سلولی آدنوکار سینوم پستان انسان MCF-7 در شرایط بی وزنی شبیه سازی شده تو سط دستگاه کلینواستت و بیان ژن E-cadherin در این شرایط پرداختیم. مطالعه ما نشان داد که بی وزنی شبیه سازی شده به مدت یک روز منجر به افزایش بیان این ژن در این رده سلولی به میزان دو برابر در مقایسه با سلول های کنترل که در شرایط جاذبه نرمال یک جی قرار داشتند

گردید. ادامه قرارگیری سلول ها در شرایط شبیه سازی بی وزنی برای مدت ۳ روز منجر به افزایش کمی بیشتر این ژن گردید.

سلول‌های آدنوکارسینوم پستان انسان MCF-7 یک رده سلولی کلاسیک است که از بیمار مبتلا به سرطان پستان به دست می‌آید و در انواع مختلف مطالعات سرطان پستان از این رده سلولی استفاده می شود. رده سلولیMCF-7 دارای ویژگی های سلول های اپیتلیال پستان تمایز یافته است که گیرنده های استروژن و پروژسترون را بیان می کند [۱۲] به همین دلیل مناسب برای مطالعه سرطان پستان به ویژه مطالعه اثر داروها در درمان سرطان پستان می باشد.

مولکول E-cadherin یک مولکول چسبنده سلولی است که در بافت طبیعی پستان بیان می شود و کاهش بیان E-cadherin با پیش آگهی بالینی ضعیف سرطان پستان مرتبط است. از دست دادن بیان E-cadherin منجر به افزایش تحرک سلولی، افزایش تهاجم سلولی و مقاومت در برابر آپوپتوز می شود و درنهایت منجر به تبدیل سلول های اپیتلیالی به مزانشیمی در سرطان می شود [۵، ۶، ۱۳]. بنابراین، بازگرداندن سطوح پروتئین عملکردی E-cadherin یک استراتژی جایگزین برای درمان سرطان است. مطالعه حاضر نشان داد که بی وزنی تاثیر مثبت بر بیان این ژن دارد و منجر به افزایش بیان آن در رده سلولی سرطان پستان MCF-7 پس از یک روز می شود. نتایج حاصل از این مطالعه در راستای داده های به دست آمده توسط ژانگ (Zhang) و همکاران در سال ۲۰۱۳ می باشد. آنها نشان دادند که داروی بتا-المن (β-elemene) با خواص ضد سرطانی منجر به کاهش ویژگی های مهاجرتی و تهاجمی رده سلولی MCF-7 می شود و این کار را ازطریق افزایش بیان پروتئین E-cadherin انجام می دهد [۱۴]. آنها نشان دادند که کاهش ویژگی های مهاجرتی و تهاجمی رده سلولی MCF-7 به دنبال تیمار با بتا-المن و افزایش بیان E-cadherin، به خاطر کنترل مسیر سیگنالینگ ERα/MTA3/Snail می باشد[۱۴]. بنابراین تنها افزایش بیان ژن E-cadherin برای کاهش تهاجم و متاستاز سلول های MCF-7 رده سرطانی پستان کافی نمی باشد و مسیرهای پیام رسان مختلفی در کنترل سلول های سرطانی و متاستاز و مهاجرت آنها دخیل می باشدکه ممکن است توسط افزایش بیان E-cadherin القا شود. همچنین زارع و همکاران نیز در سال ۲۰۲۰ نشان دادند که پیپرین (piperine) منجر به کاهش ویژگی های مهاجرتی و تهاجمی رده سلولی MCF-7 ازطریق افزایش بیان پروتئین E-cadherin می شود [۱۵]. پیپرین همچنین منجر به مهار بیان ژن MMP-9 و VEGF و رگزایی نیز در این رده سلولی گردید [۱۵] که باز بیانگر این است که علاوه بر E-cadherin تنظیم ژن های دیگری نیز در مهار متاستاز و تهاجم سلول های سرطانی لازم می باشد. بنابراین برای بررسی تاثیر بی وزنی بر متاستاز و مهار ویژگی های تهاجمی سلول های سرطانی باید مسیرهای سیگنالینگ مختلف و ژن های دیگر نیز مطالعه شود.

همچنین مطالعات دیگری نیز در شرایط بی وزنی بیانگر تاثیر مثبت بی وزنی در کاهش فنوتیپ سلول های سرطانی می باشد. تحقیقات نشان داده است که بی‌وزنی شبیه سازی شده می تواند چسبندگی سلول‌های توموری، تکثیر، تهاجم و متاستاز آنها را تغییر دهد [۱۰-۸]. همچنین مطالعه ای در محیط بی‌وزنی شبیه سازی شده با دستگاه کلینواستت نشان داده است که بی وزنی منجر به کاهش تکثیر و چسبندگی و تهاجم سلول‌های سرطانی ملانوما در محیط in vitro و کاهش متاستاز آنها به ریه در شرایط in vivo می‌گردد[۱۱]. در مطالعه ای که توسط ساهانا (Sahana) و همکاران در سال ۲۰۲۳ صورت گرفت مشاهده شد که بی وزنی طولانی مدت برای مدت ۱۳ روز و توسط دستگاه ماشین وضعیت اتفاقی (Random Positioning machine=RPM) منجر به تغییر بیان ژن های اسکلت سلولی، ماتریکس خارج سلولی و ژن های درگیر در مسیرهای سیگنالینگ شامل AKT1، MAPK14، VEGF، RAF1، VCL ، MTOR، ERK1 و ... در سلول های رده MCF-7 و MDA-MB-231 سرطان پستان می گردد [۱۶]. همچنین در سال ۲۰۱۹ در مطالعه ای که توسط Strube و همکاران بر روی رده سلولی سرطان پستان و توسط دستگاه شبیه ساز بی وزنی RPM صورت گرفت مشخص شد که بی وزنی برای مدت ۲۴ ساعت موجب افزایش بیان ژن های BRCA1 و VCAM1 و کاهش بیان ژن های KRAS و VIM می شود و تاثیری بر بیان ژن های MAPK1، MMP13، PTEN و TP53 ندارد [۱۷]. مطالعه سلول های سرطان ریه در شرایط بی وزنی شبیه سازی شده توسط Baghoum و همکاران در سال ۲۰۲۳ به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت حاکی از تغییر در بیان ژن ها و بیومارکرهای موثر در ایمنی زایی تومور همچون افزایش E-cadherin، FCGBP، BPIFB، F5 ، CST1 و CFB بود [۱۸]. آنها همچنین نشان دادند که بی وزنی منجر به کاهش رشد سلول های سرطانی و کاهش متاستاز و برگشت تغییر از حالت اپیتلیال به مزانشیم ازطریق افزایش بیان E-cadherin می گردد [۱۸]. درمطالعه حاضر ما تنها به بررسی بیان ژن E-cadherin پرداختیم. در مطالعه قبلی ما نشان دادیم که بی وزنی برای مدت یک روز منجر به کاهش بیان ژن CD44 در رده سلولی MCF-7 و افزایش آن پس از ۳ روز می گردد همچنین مطالعه ما نشان داد که میزان آپوپتوز در این رده سلولی پس از یک روز قرارگیری در شرایط بی وزنی شبیه سازی شده به میزان ۴۰ درصد افزایش می یابد [۱۹]. مولکول CD44 در چسبندگی سلول، هدایت رشد و مسیرهای سیگنالی سلول نقش دارد و بیان آن در تومورهای تهاجمی سرطان سینه افزایش می یابد. بنابراین کاهش آن توسط بی وزنی ممکن است در کاهش فنوتیپ سرطان سینه موثر باشد. همچنین افزایش بیان آن پس از ۳ روز می تواند بیانگر این نکته باشد که تغییرات بیانی رده سرطانی در شرایط بی وزنی ممکن است وابسته به زمان باشد.

نتیجه‌گیری

Article in Press

به طور کلی، مطالعه حا ضر نشان داد که شرایط بی وزنی شبیه سازی شـده برای کوتاه مدت (یک روز و سـه روز) می تواند منجر به افزایش بیان ژن E-cadherin در رده سـلولی سـرطانی پسـتان MCF-7 گردد و درنتیجه اسـتفاده از شـرایط بی وزنی ممکن اسـت ازاین طریق منجر به کاهش فنوتیپ سـرطانی پسـتان و کاهش تهاجم و متاسـتاز سرطان پستان گردد. بنابراین پیشنهاد می شود که در مطالعات بعدی، مسـیرهای سـیگنالینگ درگیر در سـرطان و ژن های بالادسـت و پایین دست E-cadherin در شرایط بی وزنی در رده سلولی MCF-7 و سـایر رده های سـلولی مطالعه گردد. به طور کلی, مطالعه سـلول‌های سـرطانی در محیط بی‌وزنی می‌توانند به ما در درک و شـناخت مکانیسم‌های که منجر به ایجاد سرطان و پیشرفت آن می شود کمک کند. همچنین این مطالعات می تواند موجب توسـعه روش‌های درمانی جدید برای درمان سرطان گردد.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

مراجع

[1] F. Bray, et al., "Erratum: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *Ca Cancer J. Clin.*, Vol. 70, no.4, pp. 313, 2020. https://doi.org/10.3322/caac.21660.

[2] M. Akram, M. Iqbal, M. Daniyal, A.U. Khan, "Awareness and current knowledge of breast cancer," *Biol. Res.*, Vol. 50, no. 1,, pp. 1-23, 2017. doi: 10.1186/s40659-017-0140-9.

[3] O. J. Scully, B. H. Bay, G. Yip, and Y. Yu, Breast cancer metastasis, " *Cancer Genomics Proteomics*, 2012;9(5):311-20.

[4] L. M. F. Merlo, J. W. Pepper, B. J. Reid, C. C. Maley. "Cancer as an evolutionary and ecological process," *Nat. Rev. Cancer.*, vol. 6, no. 12, pp. 924–35, 2006. doi: 10.1038/nrc2013.

[5] M. Canel, A. Serrels, M. C. Frame, and V. G. Brunton, "E-cadherin– integrin crosstalk in cancer invasion and metastasis". *J. Cell Sci.*, vol. 126, no. 2, pp. 393-401, 2013. https://doi.org/10.1242/jcs.100115.

[6] R. Yoshida, N. Kimura, Y. Harada, and Ohuchi N: "The loss of E-cadherin, α- and β-catenin expression is associated with metastasis and poor prognosis in invasive breast cancer," *Int. J. Oncol.*, vol. 18, no. 3, pp. 513-520, 2001. https://doi.org/10.3892/ijo.18.3.513.

[7] T. A. Moo, R. Sanford, C. Dang, and M. Morrow, "Overview of breast cancer therapy," *PET Clin.*, vol. 13, no. 3, pp. 339-54, 2018. doi: 10.1016/j.cpet.2018.02.006.

[8] M. Infanger, et al. "Simulated weightlessness changes the cytoskeleton and extracellular matrix proteins in papillary thyroid carcinoma cells," *Cell Tissue Res.*, vol. 324,no. 2, pp. 267 ,2006. doi: 10.1007/s00441-005-0142-8.

[9] J. Vassy, et al. "Weightlessness acts on human breast cancer cell line MCF-7," *Adv. Space Res.*, vol. 32, pp. 1595–1603, 2003. https://doi.org/10.1016/S0273-1177(03)90400-5.

[10] D. Chang, et al. "Simulated microgravity alters the metastatic potential of a human lung adenocarcinoma cell line," *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.*, Vol. 49, no. 3, pp. 170–177, 2013. doi: 10.1007/s11626-013-9581-9.

[11] X. Tan, et al., "Simulated microgravity inhibits cell focal adhesions leading to reduced melanoma cell proliferation and metastasis via FAK/RhoA-regulated mTORC1 and AMPK pathways," *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 3769, 2018. Doi: 10.1038/s41598-018-20459-1.

[12] J. Ye, et al., "Molecular characterization of breast cancer cell line MCF-7," *Prac. J. Cancer*, vol. 27, no. 2, pp. 116–119, 2012. https://doi.org/10.3892/ol.2017.6093.

[13] C. Foroni, M. Broggini, D. Generali, and G. Damia, "Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer: role, molecular mechanisms and clinical impact," *Cancer Treat. Rev.*, vol. 38, no. 6, pp. 689-697, 2012. https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2011.11.001.

[14] X. Zhang, Y. Zhang, and Y. Li, "β-elemene decreases cell invasion by upregulating E-cadherin expression in MCF-7 human breast cancer cells," *Oncol. Rep.*, vol. 30, no. 2, pp. 745-750, 2013. https://doi.org/10.3892/or.2013.2519.

[15] Z. Zare , et al., "The effect of piperine on MMP-9, VEGF, and E-cadherin expression in breast cancer MCF-7 cell line," *Basic Clin. Cancer Res.*, vol. 12, no. 3, pp. 112-119, 2020. https://doi.org/10.18502/bccr.v12i3.5767.

[16] J. Sahana, et al., "Long-term simulation of microgravity induces changes in gene expression in breast cancer cells,"*Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. *24, no.* 2, pp. 1181, 2023. https://doi.org/10.3390/ijms24021181

[17] F. Strube, M. Infanger, C. Dietz, A. Romswinkel, and A. Kraus, "Short-term effects of simulated microgravity on morphology and gene expression in human breast cancer cells," *Physiol. Int.*, Vol. 106, no. 4, pp. 311-322, 2019.

[18] H. Baghoum, H. Alahmed, M. Hachim, A. Senok, N. Jalaleddine, and S. Al Heialy, "Simulated Microgravity Influences Immunity-Related Biomarkers in Lung Cancer," *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 24, no. 1, pp. 155, 2023.

[19] Z. Hajebrahimi, and M. Salavatifar, "CD44 expression changes and increased apoptosis in MCF-7 cell line of breast cancer in simulated microgravity condition," Pars J. Med. Sci., Vol. 17, no. 3, pp. 26-34, 2019.

Article in Press