

بررسی *In silico* تأثیر لیکوپن بر بیان ژن‌های مهارگر BRCA1 و BRCA2 در سرطان پروستاتغلامرضا داداشی اورنج^۱، علیرضا پناهی*^۲، جعفر رازقی^۳

تاریخ دریافت ۱۴۰۰/۰۱/۲۶ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۲/۱۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان یک بیماری ژنتیکی است که به دنبال جهش در ژن‌های کنترل‌کننده‌ی فعالیت‌های سلول بروز می‌کند، سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین انواع سرطان‌هایی است که در مردان دیده می‌شود. برای درمان این بیماری از جراحی، پرتودرمانی، هورمون درمانی و شیمی‌درمانی استفاده می‌گردد. این روش‌های درمانی عوارض متعدد بعد از درمان، از جمله ناتوانی جنسی به همراه هزینه‌ی بالای درمان را به همراه دارند. لیکوپن یکی از آنتی‌اکسیدانت‌های مؤثر است که برای جلوگیری از رشد غده‌های سرطانی کاربرد دارد. پروتئین‌های BRCA1 و BRCA2 از مهارکننده‌های تومور هستند. این دو پروتئین با طیف وسیعی از فرآیندهای سلولی مانند ترمیم آسیب DNA، تنظیم رونویسی و بازسازی کروماتین مرتبط هستند. نقص در عملکرد BRCA1 و BRCA2 منجر به نقص در تعمیرات DNA می‌شود. این بی‌ثباتی در ژنوم، با انواع سرطان‌های سینه، تخمدان و پروستات در ارتباط است. در این تحقیق با استفاده از داده‌های میکروآرای حاصل از بیوپسی بیماران مستعد به سرطان پروستات، تأثیر ترکیب لیکوپن بر روی بیان ژن‌های BRCA1 و BRCA2 مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار: در این پروژه‌ی پژوهشی که به روش *In Silico* صورت گرفته، با استفاده از ابزارها و روش‌های بیوانفورماتیکی، تأثیر لیکوپن بر بیان ژن‌های BRCA1 و BRCA2 مؤثر در بروز سرطان پروستات مطالعه گردیده و تغییرات بیان این ژن‌های مهارگر موردسنجش قرار گرفته است. برای انجام این تحقیق داده‌های بیان ژن با حجم بالا از پایگاه NCBI بخش GEO دریافت شد، از آنجا که این داده‌های خام به کمک روش میکروآرای استخراج و در پایگاه NCBI منتشر شده است، لذا متناسب باهدف این پژوهش، از داده‌های خام موجود استفاده گردید. برای آنالیز بهینه این داده‌ها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Matlab، تغییرات بیان ژن‌های موردنظر تحت تیمار با ترکیب لیکوپن مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای بررسی ارتباطات این ژن‌ها با همدیگر و دیگر ژن‌های مؤثر، از نرم‌افزار سیتو اسکپ استفاده گردیده است.

یافته‌ها: مطالعه بیوانفورماتیکی تأثیر لیکوپن بر ژن‌های BRCA1 و BRCA2 نشان داده است که این ترکیب بر بیان این پروتئین‌های مهارگر، اثر افزایشی داشته و در اثر تیمار بیماران با این ترکیب مقدار بیان این دو ژن افزایش پیدا کرده است.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به آنالیز داده‌های میکروآرای به‌صورت تئوریک، نتیجه‌گیری شد که ترکیب لیکوپن از نظر تأثیر بر دو ژن مهارگر BRCA1 و BRCA2 به‌عنوان پیشگیری‌کننده و حتی درمان‌کننده سرطان پروستات می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: بیوانفورماتیک، بیان ژن، لیکوپن، سیتواسکپ، ارتباطات ژنی، سرطان، میکروآرای

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره دهم، ص ۷۶۴-۷۵۷، دی ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: استان اردبیل-شهرستان نمین روبروی دادگستری خ ده متری پشت آبیاری منزل داداشی-۰۹۱۴۴۵۳۶۲۶۸

Email: angoot63@yahoo.com

نامشخص است ولی احتمال دارد عوامل ژنتیکی یا مواردی که موجب اختلال در فعالیت سلول‌ها می‌شوند در هسته سلول اشکال وارد کنند، مانند مواد رادیواکتیو، مواد شیمیایی و سمی یا تابش بیش‌ازحد اشعه‌هایی مانند نور آفتاب. در یک جاندار سالم، همیشه بین میزان تقسیم سلول، مرگ طبیعی سلولی و تمایز، یک تعادل

مقدمه

سرطان به مجموعه‌ی بیماری‌هایی اطلاق می‌شود که از تکثیر مهارنشده یاخته‌ها پدید می‌آیند. سلول‌های سرطانی از سازوکارهای عادی تقسیم و رشد سلول‌ها جدا می‌افتند. علت دقیق این پدیده

^۱ کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی-مولکولی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۲ عضو هیات علمی رشته ژنتیک مولکولی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران (نویسنده مسئول)

^۳ عضو هیات علمی رشته بیوتکنولوژی مولکولی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

باهداف این پژوهش از این داده‌های خام استفاده شده است. برای آنالیز بهینه این داده‌ها از نرم‌افزار matlab استفاده شده که با بهره‌گیری از این ابزار، تغییرات بیان ژن‌های BRCA1 و BRCA2 تحت تیمار با ترکیب لیکوپن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

اولین مرحله در بخش بیوانفورماتیکی این پروژه جستجو و یافتن داده‌های بیان ژن است که برای دریافت داده‌های مورد نظر این پروژه، از سایت NCBI استفاده می‌کنیم. داده‌های بیان ژن‌ها که به روش میکروارایی سنجش و ارائه شده است در این پایگاه داده، ثبت و منتشر گردیده است. برای دریافت داده‌های بیان ژن در مورد تأثیر لیکوپن بر BRCA1 و BRCA2، به سایت NCBI مراجعه گردیده است. پروژه با Accession number Gse27140 در مورد تأثیر لیکوپن، بر سرطان پروستات در سال ۲۰۰۳ در کشور آمریکا بر روی ۲۹ مرد مبتلا به سرطان پروستات در معرض خطر به صورت مولکولی و بروی بیان ژن‌های COX2 و IGF-1 انجام یافته است. در این پروژه داده‌های خام میکروارایی، ژن‌های BRCA1 و BRCA2 در GEO منتشر یافته است. (۹) در پروژه ذکر شده ۲۹ مرد به مدت سه ماه کپسول لیکوپین^۱ ۱۵ میلی گرمی روزانه دو نوبت خورنده شده‌اند. برای بررسی بیان ژن‌های مذکور روز صفر و روز ۹۰ پروژه، از بیماران بیوسپی از بافت نرمال پروستات انجام گرفته و به وسیله آنالیز ریزآرایه (میکروارایی) cDNA مربوطه مورد بررسی قرار گرفته است. در این پروژه تعداد افراد، ۲۹ نفر بیمار و تعداد نمونه‌ها، در کل ۵۸ نمونه است که ۲۹ نمونه در روز صفر پروژه و ۲۹ نمونه در روز ۹۰ این پروژه مورد بررسی قرار گرفته است. گرچه در پروژه یاد شده، بیان ژن‌های IGF-1 و COX-2 مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است (۹)، اما در میکروارایی که به این منظور انجام گرفته، هزاران ژن متعددی هم، به طور هم‌زمان در این سنجش مورد آنالیز قرار گرفته‌اند و داده‌های بیان ژن آن‌ها در GEO data set ثبت شده است. در این پروژه و تحقیق از داده‌های خام حاصل از میکروارایی انجام یافته، در مورد ژن‌های BRCA1 و BRCA2 استفاده شده است. بعد از دریافت داده‌های خام بیان ژن‌های BRCA1 و BRCA2 از GEO sets برای پیش‌پردازش دیتاها و آنالیز تغییر بیان ژن‌ها در اثر تیمار با ترکیب لیکوپین، از توان نرم‌افزار Matlab استفاده شده است. با اجرای کدهای دستوری در نرم‌افزار Matlab R2018a کلاسترگرام و هیستوگرام بیان ژن‌های BRCA1 و BRCA2 استخراج و نمایش داده شده است.

وجود دارد که عدم توازن عملکرد برخی پروتئین‌ها، باعث رشد خارج از کنترل و تومور می‌شود (۱) سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین انواع سرطان‌هایی است که در مردان دیده می‌شود. (۲) برای درمان این بیماری از جراحی، پرتودرمانی، هورمون درمانی و شیمی‌درمانی استفاده می‌گردد که همه این درمان‌ها عوارض متعدد بعد از درمان، از جمله ناتوانی جنسی به همراه هزینه‌ی بالای درمان را به همراه دارند. (۳) سرطان پروستات در مردها دومین عامل مرگ ناشی از تشخیص زودهنگام سرطان پروستات سبب کاهش خطر مرگ می‌گردد. همچنین شروع زودتر زمان درمان، نیز سبب افزایش طول عمر و بهبود کیفیت زندگی می‌شود (۴) معمولاً برای درمان بزرگی خوش‌خیم پروستات (BPH) دارویی به نام فیناستراید^۱ تجویز می‌شود. این دارو احتمال بروز سرطان پروستات را تا ۲۵ درصد کاهش می‌دهد. با این حال در مردانی که از این دارو استفاده می‌کنند احتمال بروز عوارضی چون ناتوانی یا کاهش میل جنسی و رشد پستان وجود دارد که پس از قطع دارو برطرف می‌شود (۴) ژن‌های BRCA1 و BRCA2 جزو ژن‌های سرکوب‌کننده تومور هستند که در تصحیح و تعمیر شکست‌های DNA نقش دارند و همچنین در القا و پیشبرد آپوپتوز سلول‌های سرطانی مؤثر هستند. جهش در ژن‌های BRCA1 مخصوصاً ژن BRCA2 با سرطان پروستات همراه است (۵). لیکوپین به‌عنوان یک کارتنوئید از آنتی‌اکسیدانتهای مؤثر است که برای جلوگیری از رشد غده‌های سرطانی کاربرد دارند سبزیجات و میوه جاتی که دارای رنگ قرمز می‌باشند منابع مهمی برای لیکوپین محسوب می‌شوند که از آن جمله می‌توان به گوجه‌فرنگی، هندوانه، گریپ‌فروت و... اشاره کرد (۶) لیکوپین این توانایی را دارد که سرطان پروستات را پیشگیری و حتی آن را درمان کند (۷) میکروارایی یکی از پرسروصداترین و پرکاربردترین روش‌های تولید اطلاعات انبوه مربوط به میزان بیان ژن در پروژه‌های عملکرد ژنوم‌ها بوده است. فن‌آوری میکروارایی در اوایل دهه ۱۹۹۰ توانست انقلاب بزرگی را در ژنومیکس ایجاد نماید (۸). یکی از بهترین پایگاه‌های ذخیره مجموعه داده‌های بیان ژن GEO^۲ است که در مرکز اطلاعاتی NCBI^۳ قرار دارد. در این پایگاه اطلاعات بیان ژن‌ها با استفاده از روش میکروارایی و سایر روش‌های بررسی، حجم وسیع بیان ژن‌ها که توسط آزمایشگاه‌های مختلفی تولید شده است ذخیره شده و در دسترس عموم قرار می‌گیرد. داده‌های میکروارایی موجود، شامل داده‌های خام است. برای استفاده از این داده‌ها نرم‌افزارها و سخت‌افزارهای متعددی طراحی شده است. لذا متناسب

³ National Center for Biotechnology Information

⁴ Lyc-o-mato

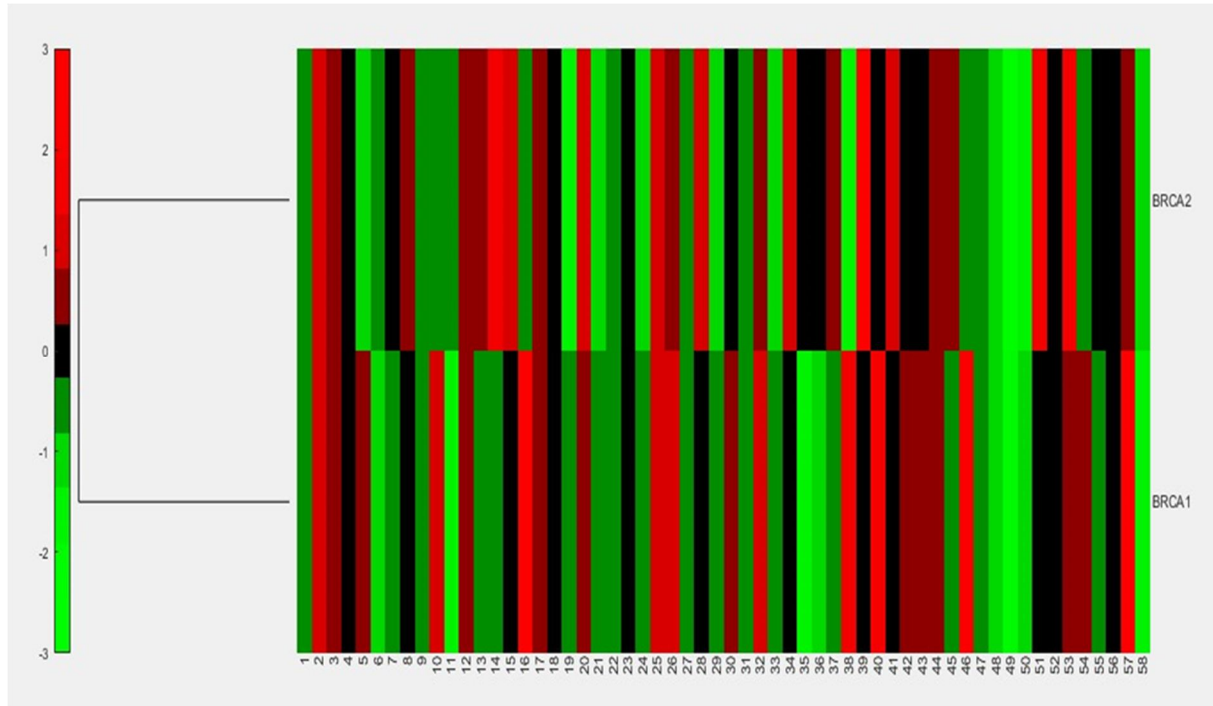
¹ Finasteride

² Gene Expression Omnibus

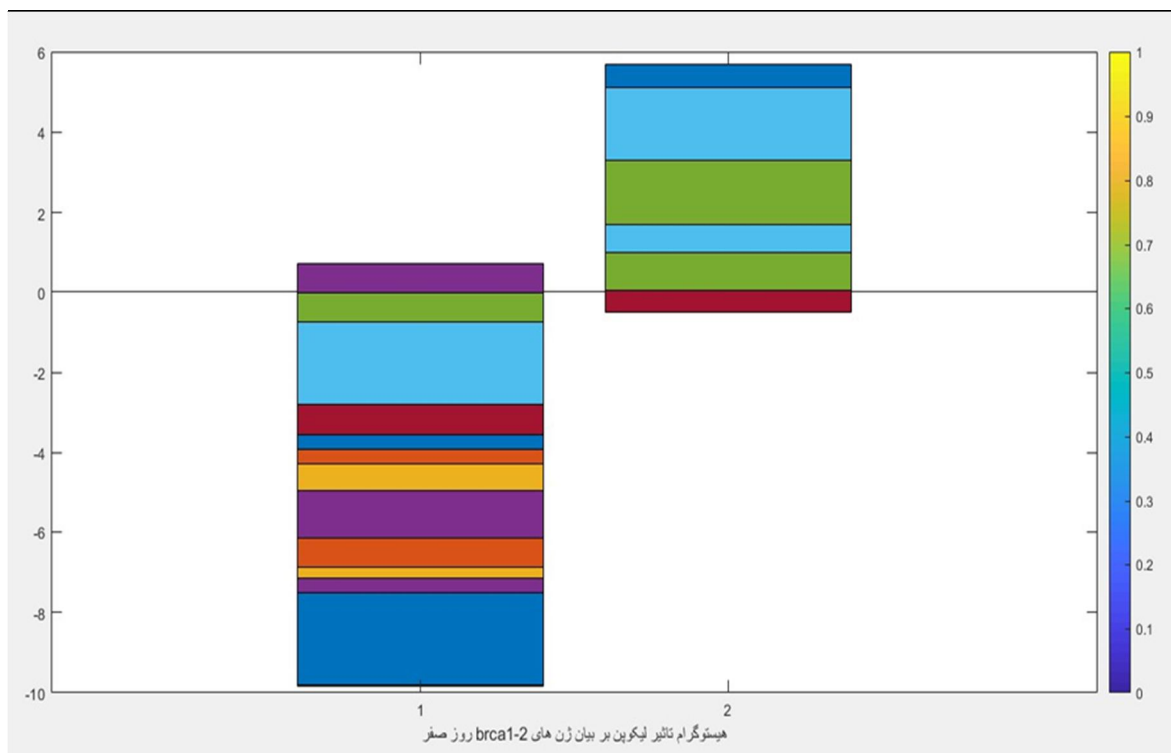
یافته‌ها

BRCA2. به صورت کلاسترگرام شکل (۱) و هیستوگرام‌های شکل‌های (۲) و (۳) استخراج شده است.

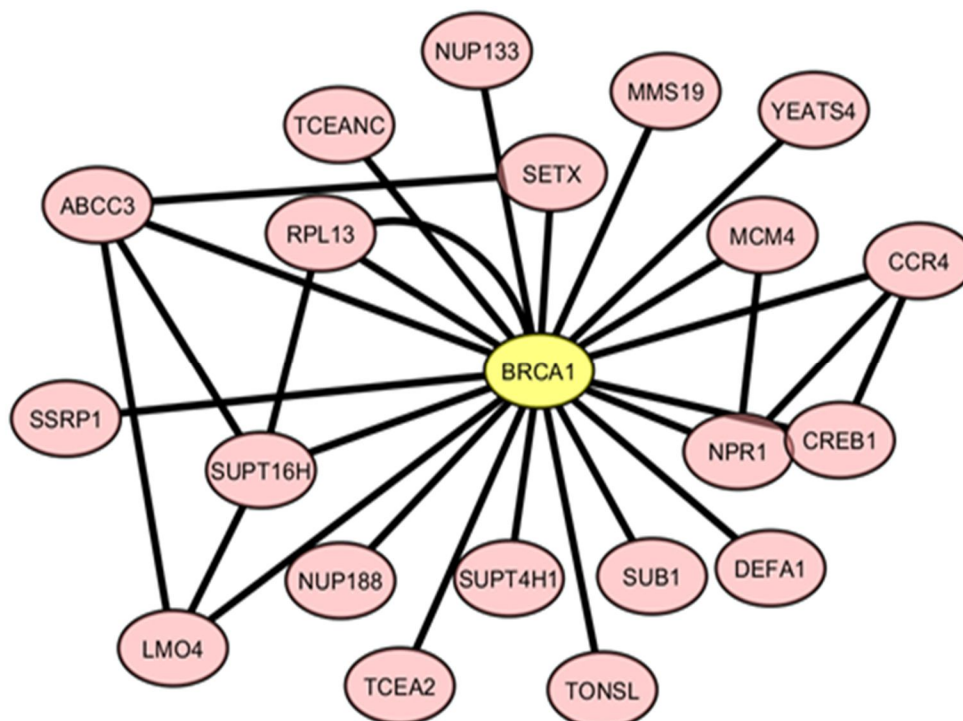
نتیجه‌ی تأثیر ترکیب لیکوپن بر بیان ژن‌های BRCA1 و



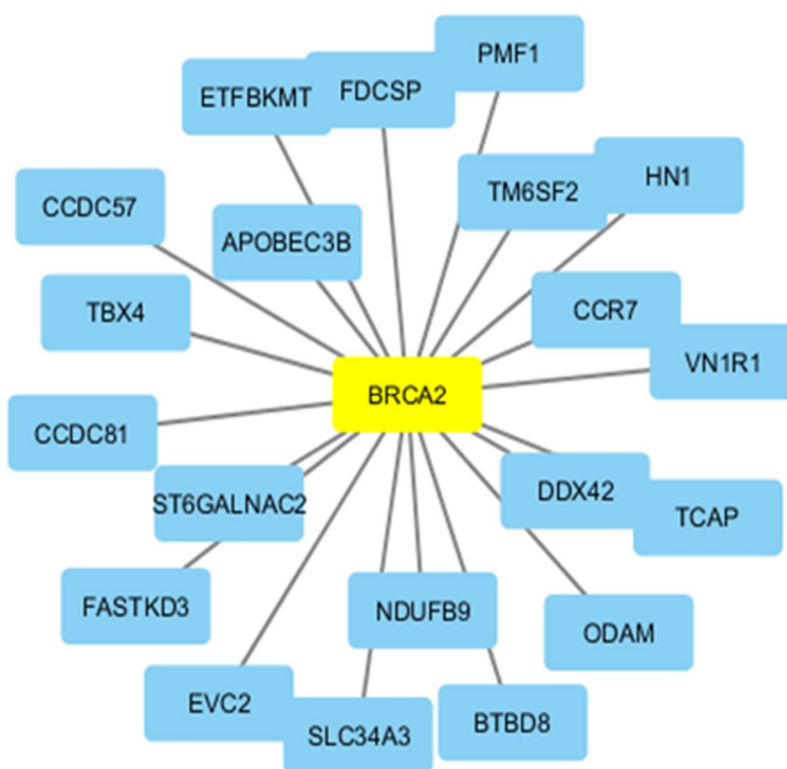
شکل (۱): کلاسترگرام بیان ژن‌های BRCA2 و BRCA1



شکل (۲): هیستوگرام بیان ژن‌های BRCA1 و BRCA2 روز شروع پروژه



شکل (۴): اینتر اکشن های ژنتیکی BRCA1 با سایر ژن ها



شکل (۵): اینتراکشن های ژنتیکی BRCA2 با سایر ژن ها

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین انواع سرطان‌هایی است که در مردان دیده می‌شود. برای درمان این بیماری از جراحی، پرتودرمانی، هورمون درمانی و شیمی‌درمانی استفاده می‌گردد که همه این درمان‌ها عوارض متعدد بعد از درمان، از جمله ناتوانی جنسی به همراه هزینه‌ی بالای درمان را به همراه دارند ترکیبی که در این تحقیق مطالعه شده است لیکوپین است که یکی از ترکیبات کارتنوئیدی و از پیگمان‌های طبیعی است. سبزیجات و میوه‌جاتی که دارای رنگ قرمز می‌باشند منابع مهمی برای لیکوپین محسوب می‌شوند لیکوپین به‌عنوان یک کارتنوئید از آنتی‌اکسیدانت‌های مؤثر است که برای جلوگیری از رشد غده‌های سرطانی کار برد دارد (۱۰) محصول ژن‌های BRCA1, BRCA2, به‌عنوان پروتئین سرکوب‌کننده سلول‌های سرطانی، نقش بسیار مهمی در سرکوب سرطان از طریق آپوپتوز و مرگ سلولی دارند (۱۱). در این تحقیق از داده‌های خام بیان ژن پروژه انجام شده در سال ۲۰۰۳ با کد GSE27140 که در پایگاه داده NCBI منتشر شده، بهره برده شده است (۹) تأثیر ترکیب لیکوپین بر بیان ژن‌های BRCA1 و BRCA2 موثر در سرطان پروستات، در ادامه، مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. ژن‌های BRCA1 و BRCA2 جزو ژن‌های سرکوب‌کننده تومور هستند که در تصحیح و تعمیر شکست‌های DNA نقش دارند و همچنین در القا و پیشبرد آپوپتوز سلول‌های سرطانی مؤثر هستند. جهش در ژن‌های BRCA مخصوصاً ژن BRCA-2 با سرطان پروستات همراه است (۱۲). در این تحقیق با استفاده از آنالیز داده‌های بیان ژن ریزآرایه (میکروآرایه) و نمایش نتیجه‌ی آنالیزها به‌صورت کلاسترگرام و هیستوگرام، مشخص گردیده است که لیکوپین بیان هر دو ژن مهارگر BRCA1 و BRCA2 را افزایش داده که این افزایش بیان، نشانگر نقش مثبت لیکوپین در جهت سرکوب و درمان سرطان پروستات می‌باشد. لیکوپین این توانایی را دارد که سرطان پروستات را پیشگیری و حتی آن را درمان کند. (۷) با توجه به نتایج این تحقیق، و همچنین نتایج تحقیقات متعددی که در متن به آن‌ها اشاره شده است، نتیجه‌گیری شد که ترکیب لیکوپین یک ماده ضد سرطان و مخصوصاً در سرطان پروستات است که شاید یکی از راه‌های مبارزه آن با سرطان پروستات از طریق افزایش بیان

ژن‌های BRCA1 و BRCA2 باشد. با مصرف و استفاده از مواد غذایی حاوی این ترکیب، و حتی کپسول‌ها و قرص‌های این ماده مفید، می‌توانیم نه تنها از انواع سرطان، از جمله سرطان پروستات، پیشگیری کنیم بلکه از این ترکیب در جهت درمان این بیماری نیز استفاده کنیم. با توجه به یافته‌های این پژوهش که نشان از تأثیر افزایشی لیکوپین بر بیان برخی از ژن‌های مهارگر سرطان دارد همچنین تأثیر بسیار مثبت این ترکیب در جهت سرکوب سلول‌های سرطانی از طریق ژن‌های پروتئین‌های مهارگر سرطان، می‌توان لیکوپین را ماده‌ای مؤثر برای پیشگیری و حتی درمان انواع سلول‌های سرطانی به شمار آورد که هزینه استفاده از آن بسیار پایین و با عوارض کمتر است. برای پیشگیری از ابتلا به انواع سرطان‌ها و مخصوصاً سرطان پروستات از ترکیب لیکوپین به‌صورت کپسول‌های دارویی و یا حتی به‌صورت برنامه‌های غذایی می‌توان استفاده نمود. بهتر است در افرادی که سابقه‌ی خانوادگی و فامیلی ابتلا به سرطان پروستات دارند و حتی مردان بالای ۴۰ سال، در جیره‌ی غذایی آن‌ها ترکیبات غذایی که حاوی مقدار بالایی از لیکوپین هستند گنجانده شود. استفاده از روش‌های تغذیه‌ای حاوی مواد مؤثر در بیان ژن‌های مؤثر در بروز انواع سرطان‌ها، ارزان‌تر، و بی‌خطرتر و راحت‌تر است. این تحقیق و پژوهش مشخص کرد که ترکیب لیکوپین به‌عنوان یک ماده مؤثر و مفید می‌تواند با کاهش و یا افزایش بیان ژن‌های خاصی، از جمله برخی ژن‌های مهارگر سرطان، و همچنین به علت ارتباط این ژن‌ها با ژن‌های مهم دیگر مؤثر در سرطان، از رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی مختلف از جمله سرطان پروستات جلوگیری کند و این سلول‌های سرطانی را در جهت آپوپتوز و مرگ سلولی سوق دهد.

تشکر و قدردانی

در پایان ضمن شکرگزاری به درگاه خداوند، از همکاری و راهنمایی‌های استادان گرامی‌ام جناب آقای دکتر رازقی و جناب آقای دکتر پناهی تقدیر و تشکر می‌نمایم. همچنین از عوامل محترم مجله علوم پزشکی دانشگاه ارومیه و خوانندگان محترم کمال سپاسگزاری را دارم.

References:

1. Van Drie J.H, Protein folding, protein homeostasis, and cancer. *Chin J Cancer* 2011. 30(2):124.
2. Rawla P. Epidemiology of prostate cancer. *World J Oncol* 2019 Apr;10(2):63.
3. Chen FZ, Zhao XK. Prostate cancer: current treatment and prevention strategies. *Iran Red Crescent Med J* 2013 Apr;15(4):279.
4. Thompson IM, Chi C, Ankerst DP, Goodman PJ, Tangen CM, Lippman SM, Lucia MS, Parnes HL, Coltman Jr

- CA. Effect of finasteride on the sensitivity of PSA for detecting prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 16;98(16):1128-33.
5. Castro E, Eeles R. The role of BRCA1 and BRCA2 in prostate cancer. *Asian J Androl* 2012 May;14(3):409.
6. Markowitz S. DNA repair defects inactivate tumor suppressor genes and induce hereditary and sporadic colon cancers. *J Clin Oncol* 2000 Nov 1;18(21 Suppl):75S-80S.
7. Kucuk O, Sarkar FH, Djuric Z, Sakr W, Pollak MN, Khachik F, Banerjee M, Bertram JS, Wood Jr DP. Effects of lycopene supplementation in patients with localized prostate cancer. *Exp Biol Med* 2002 Nov;227(10):881-5.
8. Bourlat SJ, Borja A, Gilbert J, Taylor MI, Davies N, Weisberg SB, Griffith JF, et al. Genomics in marine monitoring: new opportunities for assessing marine health status. *Mar Pollut Bull* 2013 Sep 15;74(1):19-31.
9. Pa J, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell* 2007;128(4):683-92.
10. Holzapfel NP, Holzapfel BM, Champ S, Feldthusen J, Clements J, Hutmacher DW. The potential role of lycopene for the prevention and therapy of prostate cancer: from molecular mechanisms to clinical evidence. *Int J Mol Sci* 2013 Jul;14(7):14620-46.
11. Gamudi D, Blundel R. Tumor suppressor genes. *Res J Med Sci* 2010;4(4): 280-284.
12. Castro E, Eeles R. The role of BRCA1 and BRCA2 in prostate cancer. *Asian J Androl* 2012 May;14(3):409.

IN SILICO INVESTIGATION OF THE EFFECT OF LYCOPENE ON THE EXPRESSION OF BRCA1 AND BRCA2 INHIBITOR GENES IN PROSTATE CANCER

Gholamreza Dadashi Oranj¹, Alireza Panahi^{2}, Jaefar Razegi³*

Received: 15 April, 2021; Accepted: 24 April, 2022

Abstract

Background & Aims: Cancer is a genetic disease that results from mutations in genes that control cell activities. Prostate cancer is one of the most common types of cancers in men. Surgery, radiation therapy, hormone therapy, and chemotherapy are used to treat this disease. These treatments have numerous side effects after treatment, including impotence along with the high cost of treatment. In this study, lycopene was studied as a carotenoid compound synthesized in plants. Lycopene is used by plants and microorganisms to Absorb of light is made during photosynthesis. Lycopene is one of the effective antioxidants used to prevent the growth of cancerous glands. BRCA1 and BRCA2 proteins are among tumor inhibitors. These two proteins are associated with various cellular processes such as DNA damage, repair, as well as with transcriptional regulation and chromatin regeneration. Defects in BRCA1 and BRCA2 function lead to defects in DNA repair. This instability in the genome is associated with a variety of breast, ovarian, and prostate cancers.

Materials & Methods: In this research project, In Silico method and bioinformatics tools were used to determine the effect of lycopene on the expression of BRCA1 and BRCA2 genes effective in prostate cancer, and the changes in the expression of these inhibitory genes have been measured. For this study, high volume gene expression data were obtained from the NCBI database, GEO section. As the raw data were extracted previously using microarray method and published in the NCBI database, so these raw data were used in accordance with the purpose of this study. For optimal analysis of these data, using Matlab software, the expression changes of the desired genes treated with lycopene were investigated. For determination of the communication of these genes with each other and with other effective genes, Cytoscape software has been used.

Results: Bioinformatics study of the effect of lycopene on BRCA1 and BRCA2 genes has shown that this combination has an increasing effect on the expression of these inhibitory proteins. therefore, treatment of patients with this combination, the expression of BRCA1 and BRCA2 genes has increased.

Conclusion: Based on theoretical analysis of microarray data, it was concluded that lycopene can be used as a preventive and even a treatment for prostate cancer in terms of its effect on BRCA1 and BRCA2 inhibitor genes.

Keywords: BRCA1, BRCA2, Insilico, Microarray, Lycopene, Prostate, Genetic Interaction, Cytoscape

Address: Ardabil province - Namin city - 10 meters from the water department - Dadashi's house

Tel: +989144536268

Email: Angoot63@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022: 32(10): 764 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

¹ M.Sc. of Cellular and Molecular Biology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

² Faculty member of Molecular Genetics, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (Corresponding Author)

³ Faculty member of Molecular Biotechnology, University of Tabriz, Tabriz, Iran