DOI: 10.22100/jkh.v19i4.3308

مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۹، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بر زنده‌مانی، آپوپتوز، ترشح نیتریک اکساید، میزان Poly (ADP-ribose) polymerase و بیان ژن Adenomatous polyposis coli در رده سلولی سرطان کولورکتال

محسن ژاله[۱]، ایرج رشیدی[۱]، علی قنبری[۱]، یزدان کاکایی[۱]، فوزیه خانی‌همت‌آبادی[۱*]

۱- دانشکده پزشکی- گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۷، **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۸/۲۰

چکیده

مقدمه: *زهر بعضی از عقرب‌ها دارای ترکیبات ضدسرطان می‌باشد. سرطان کولورکتال به‌ترتیب دومین و سومین سرطان شایع در زنان و مردان است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بر رده سلولی سرطان کولورکتال (رده سلولی HT-29) انجام شد.*

مواد و روش‌ها: *اثر زهر عقرب بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی و فیبروبلاست با روش MTT بررسی شد. سطح بیان ژن APC با روش Real-time PCR تعیین شد. میزان پروتئین PPAR با روش الایزا کمی شد. ترشح نیتریک اکساید توسط روش گریس بررسی شد.*

نتایج: *زنده‌مانی سلول‌های HT-29 و فیبروبلاست به‌صورت وابسته به غلظت زهر عقرب و زمان به‌صورت معنی‌دار بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار کاهش پیدا کرد ($P\leq ۰/۰۵$). میزان IC50 برای سلول‌های سرطانی بالاتر از سلول‌های فیبروبلاست بود. آزمون سنجش لاکتات دهیدروژناز نشان داد که این کاهش زنده‌مانی با از بین رفتن یکپارچگی غشا سلولی همراه است. تیمار با غلظت IC50 زهر عقرب افزایش معنی‌دار در آپوپتوز و بیان ژن APC را القا کرد ($P\leq ۰/۰۵$)، اما میزان پروتئین PARP و تولید نیتریک اکساید را به‌صورت معنی‌دار کاهش داد ($P\leq ۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، می‌توان توصیه کرد که زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس احتمالاً از طریق تحریک آپوپتوز دارای اثرات سیتوتوکسیک باشند. همچنین اثرات ضد سرطان کولورکتال را از طریق کاهش بیان ژن APC و میزان پروتئین PARP اعمال می‌کند.*

واژه‌های کلیدی: زهر عقرب، همیسکورپیوس لپتوروس، زنده‌مانی، آپوپتوز، نیتریک اکساید، سرطان کولورکتال.

***نویسنده مسئول:** دانشکده پزشکی- گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، **تلفن:** ۰۹۱۲۹۳۰۸۶۰۸، **نمابر:** ۰۸۳۳۴۲۷۹۹۲۰، **Email:** fuziekhani@yahoo.com

ارجاع: ژاله محسن، رشیدی ایرج، قنبری علی، کاکایی یزدان، خانی‌همت‌آبادی فوزیه. بررسی اثرات زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بر زنده‌مانی، آپوپتوز، ترشح نیتریک اکساید، میزان Poly (ADP-ribose) polymerase و بیان ژن Adenomatous polyposis coli در رده سلولی سرطان کولورکتال. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۳؛۱۹(۴):۱۲-۲.

CC BY NC

مقدمه

سرطان کولورکتال دومین سرطان شایع در زنان پس از سرطان سینه و سومین سرطان شایع در مردان پس از سرطان ریه و پروستات است. در سال ۲۰۱۸، بروز جهانی سرطان کولورکتال در هر دو جنس ۱/۸۵ میلیون نفر با ۸۸۰۷۹۲ مرگ در سراسر جهان بود (۱). اولین خط درمان برای بیماران بالقوه قابل درمان سرطان کولورکتال، جراحی است (۲) که در ۸۰٪ از بیماران انجام می‌شود، در حالی که نیمی از آنها عود بیماری را تجربه می‌کنند (۳). درمان کمکی، مانند شیمی درمانی، به‌منظور جلوگیری از عود موضعی یا متاستازهای دور انجام می‌شود. در بیماران مبتلا به متاستاز، شیمی درمانی با هدف افزایش طول عمر و حفظ کیفیت زندگی، پایه اصلی است (۲). اثربخشی شیمی درمانی به‌دلیل عوارض جانبی شدید و ایجاد مقاومت محدود شده است (۴ و ۵). بنابراین، شیمی درمانی معمولی هیچ مزیت ثابتی در بقای کلی ندارد. بنابراین، برای مبارزه با مشکل گزینش‌پذیری و مقاومت دارویی در بیماران سرطان کولورکتال، درمان‌های اضافی موردنیاز است. محصولات طبیعی دارای فعالیت ضد سرطانی با اثربخشی بالا و سمیت کمتر در نظر گرفته می‌شوند (۶). بیش از ۶۰ درصد داروهایی که در حال حاضر برای درمان سرطان استفاده می‌شوند، از محصولات طبیعی جدا شده‌اند (۷).

جهش در ژن APC (یک سرکوب‌کننده تومور در سیگنال‌دهی Wnt) می‌تواند باعث ایجاد سرطان شود و در سرطان کولورکتال، سطح آن به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (۸). مطالعات متعدد نشان داده اند که اختلال عملکرد آپوپتوز می‌تواند باعث پاتوژنز و مقاومت در برابر پرتودرمانی و شیمی درمانی سلول‌های سرطانی از جمله سرطان کولورکتال شود (۹). فلاونوئیدها ممکن است بتوانند از سرطان کولورکتال جلوگیری کرده و باعث تحریک آپوپتوز به دنبال آسیب DNA شوند که یک مکانیسم ضروری برای مهار سرطان است. PARP می‌تواند پروتئین‌های هسته‌ای مختلف را با پلی ADP-ribosylation اصلاح کند (۱۰). اثرات بازدارنده در شرایط in vitro و in vivo فلاون‌ها و فلاونول‌های مختلف به‌عنوان مهار کننده‌های RARP1 ثابت شده است (۱۱). از آنجایی که سلول‌های سرطانی به مهارکننده‌های PARP1 حساس هستند (۱۲ و ۱۳)، درمان با مهارکننده PARP می‌تواند یک گزینه درمانی جدید برای شرایط پاتولوژیک مانند سرطان باشد (۱۴).

در دهه‌های اخیر، اکسید نیتریک (NO) –یک گاز رادیکال آزاد – به‌علاوه NO سنتازهای تولیدکننده درون‌زا آن (NOS)، توجه قابل‌توجهی را به خود جلب کرده است. NO دارای اثرات دوگانه (پرو و ضد تومور) در سرطان است. سطوح درون‌زا NO باعث افزایش نئوپلاسم‌های روده بزرگ می‌شود، در حالی که دوزهای پایدار برون‌زا منجر به عملکرد سیتوتوکسیک می‌شود. نکته مهم این است که NO به‌عنوان یک واسطه ضروری در بسیاری از مسیرهای سیگنالینگ در سرطان کولورکتال، مانند مسیرهای Wnt/β-catenin و کینازهای تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی (ERK) که ارتباط نزدیکی با شروع سرطان، متاستاز، التهاب و مقاومت شیمیایی/رادیویی عمل می‌کند. بنابراین، NO/NOS به‌عنوان اهداف امیدوارکننده در تنظیم سرطان زایی سرطان کولورکتال پیشنهاد شده است. عوامل اهداکننده NO از نظر بالینی برای درمان سرطان کولورکتال ایجاد شده‌اند تا سطح بالایی از NO را به محل‌های تومور ارایه دهند. قابل ذکر است، NOS القایی (iNOS) در سرطان روده بزرگ مرتبط با التهاب در همه جا بیش از حد بیان می‌شود. توسعه مهارکننده‌های iNOS به درمان‌های هدفمند برای سرطان کولورکتال با مزایای بالینی کمک می‌کند (۱۵).

عقرب Hemiscorpius lepturus متعلق به خانواده Hemiscorpiidae است که به‌عنوان عقرب Gadim (نام محلی آن در استان خوزستان) شناخته می‌شود. این عقرب به‌عنوان خطرناکترین گونه عقرب‌های رایج در ایران است و مسئول ۶۷٪ مرگ و میرهای مربوط به عقرب گزیدگی می‌باشد. زهر عقرب حاوی پروتئین‌ها و پپتیدهای مختلفی می‌باشد که دارای فعالیت ایمونوساپرسیو، سیتوتوکسیک، آپوپتوتیک و مهاری علیه انواع مختلف سرطان‌ها می‌باشند (۱۶). اگرچه پیشرفت‌هایی در مطالعات برخی توکسین‌ها به‌وجود آمده است اما مراکز کمی به پژوهش در این زمینه پرداخته‌اند؛ بنابراین اطلاعات کمی در این زمینه به‌منظور شناسایی کامل اجزای زهر وجود دارد (۱۷).

استفاده روزافزون از شیوه‌های سنتی و ترکیبات طبیعی برای درمان بیماری‌ها به شواهد علمی قوی‌تری برای ایدئولوژی‌های پشت سر درمان‌ها و اثربخشی آنها نیاز دارد. بنابراین مطالعه‌های پایه در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی از روش‌های مرسوم در درمان اغلب سرطان‌ها می‌باشند. سرطان کولورکتال با وجود پیشرفت‌های فراوان در درمان سرطان هنوز با میزان مرگ و میر بالا همراه هستند. تلاش برای کشف درمان‌های جدید همواره ادامه دارد. لذا بررسی‌های بیشتر در این زمینه برای تولید داروهای با عوارض کمتر ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف تحقیق حاضر تعیین اثرات زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بر زنده‌مانی، آپوپتوز، ترشح نیتریک اکساید، میزان Poly (ADP-ribose) polymerase و بیان ژن Adenomatous polyposis coli در رده سلولی سرطان کولورکتال بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش فوق حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پز شکی کرمانشاه با کد ۴۰۳۰۰۱۲ ا ست که در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام گرفته است. کد اخلاق طرح IR.KUMS.MED.REC.1402.309 می‌باشد. این مطالعه از نوع تجربی–آزمایشگاهی بود که در آزمایشگاه کشت سلول گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به‌صورت زیر انجام شد.

رده سلولی HT-29 و فیبروبلاست در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت ۵٪ CO2 در یک DMEM با ۱۰٪ سرم جنین گاو، ۱٪ پنی‌سیلین و استرپتومایسین نگهداری شدند. کشت‌ها با تراکم ۸۰٪ به‌طور معمول ۱:۵ در ظروف کشت ۱۰ سانتی‌متری تقسیم شدند. سلول‌ها دو بار در PBS از قبل گرم شده شستشو شدند. Trypsin-EDTA 0.25% به ظروف اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ تا ۵ دقیقه انکوبه شدند. سلول‌ها از ظروف جدا شدند، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت از قبل گرم شده اضافه شد، سپس سلول‌ها با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و در ظروف جدید با محیط کشت تازه قرار گرفتند. رده‌های سلولی برای آزمایش‌های بیشتر در پلیت‌های ۹۶ چاهکی با تراکم ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک کاشته شد. سلول‌ها قبل و بعد از کاشت در پلیت‌های ۹۶ چاهک شمارش شدند. سلول‌ها با تریپان آبی رنگ‌آمیزی و با استفاده از نئوبار لام شمارش شدند.

تعداد ۱۵ هزار عدد سلول در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ چاهک کشت داده شد و بعد از گذشن یک شب و چسبیدن سلول‌ها به بستر محیط دارای غلظت‌های موردنظر از زهر عقرب (۸۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰ و ۵ میکروگرم/میلی‌لیتر) اضافه شد. سلول‌های کنترل محیط فاقد سرم دریافت کردند. پس از گذشت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به هر یک از چاهک‌ها حدود ۳۰ میکرولیتر محلول MTT اضافه و به مدت ۳ ساعت در تاریکی در ۳۷°C انکوبه شد. به هر یک از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه پلیت بر روی شیکر در دمای اتاق قرار گرفت. در نهایت جذب چاهک‌ها را در ۵۷۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه الایزا ریدر خواندیم. درصد زیست‌پذیری سلول‌ها را از رابطه زیر محاسبه شد:

(Abs test cells/Abs control cells) ×100) = (%)cell viability

به‌منظور بررسی سمیت عصاره از تست سنجش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در محیط کشت استفاده شد. سلول‌های به تعداد ۷۰ هزار عدد در هر یک از چاهک‌های یک پلیت ۲۴ چاهکی کشت داده شدند و بعد از تیمار محیط روی سلول‌ها جمع‌آوری شد. میزان فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در محیط کشت با استفاده از کیت abcam و بر طبق پروتوکل کیت سنجیده شد.

سلول‌های در فلاسک‌های ۲۵ cm^2 کشت داده و بعد از رسیدن به تراکم ۸۰ درصدی تیمار شدند. سپس رنگ‌آمیزی سلول‌ها توسط کیت Annexin V-FITC Apoptosis Staining (abcam) و طبق پروتوکل کیت انجام شد و در نهایت توسط فلوسایتومتر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

RNA کل سلول‌های کنترل و تیمار شده بر اساس پروتکل سازنده معرف TRIZOL استخراج شد. RNA در ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. برای تعیین غلظت RNA از اسپکتروفتومتر نانودراپ استفاده شد. RNA کل با استفاده از کیت به cDNA تبدیل شد. در نهایت Real-time PCR، توسط کیت مخصوص انجام شد. تفاوت در مقادیر چرخه آستانه (CT) ژن هدف با ژن β–اکتین (کنترل داخلی) مربوطه محاسبه شد. سطح بیان نسبی ژن هدف به β–اکتین با استفاده از معادله ΔCT–۲ توصیف شد.

غلظت PARP سلول‌های HT-29 کنترل و تیمار شده با استفاده از کیت الایزا مخصوص و مطابق دستورالعمل سازنده بررسی شد. سلول‌های HT-29 تحت تیمار قرار گرفتند و سپس برای جدا شدن سلول‌های چسبنده تثبیت شدند و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. شاهد مثبت و منفی به‌ترتیب محیط کشت سلولی و بلانک بود.

به‌منظور این سنجش از اندازه‌گیری سطح متابولیت‌های نیترات در محیط کشت با روش رنگ‌سنجی بر مبنای واکنش گریس استفاده شد. عامل گریس شامل سولفانامید و آمین آروماتیک N-(1-naphtyl)ethylenediamine است. این بررسی در دو مرحله انجام شد. مرحله اول دپروتئینه کردن می‌باشد که در ابتدا تداخل پروتئینی با مخلوط کردن ۴۰۰ میکرولیتر محیط رویی سلول‌های تیمارشده با ۶ میلی‌گرم پودر سولفات روی و سانتریفیوژ به مدت ۱۲ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ و دمای ۵oC حذف شد. مرحله بعدی سنجش نیتریت و نیترات تام بود. روش کار واکنش گریس براساس یک فرآیند دو مرحله‌ای است. مرحله اول تبدیل نیترات به نتریت با استفاده از یک نیترات ردوکتاز است. در این مرحله در میکروپلیت‌های الایزا ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه پروتئین‌زدایی شده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرید وانادیوم III (۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه شد تا نیترات‌ها به نیتریت تبدیل شوند. مرحله دوم اضافه کردن عامل گریس است که نیتریت را به ترکیب آزو با رنگ بنفش تبدیل می‌نماید. در این مرحله مخلوط سولفانامید و NEDD افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. پس از انجام واکنش و تشکیل رنگ جذب

CC BY NC

نمونه‌ها در ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر اندازه‌گیری شد. غلظت‌های مختلف سدیم نیترات به‌عنوان استاندارد استفاده شد.

به‌منظور آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. سطح معنی‌داری تست‌های آماری در مورد همه‌ی آزمون‌ها P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمام داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار نشان داده خواهند شد. از آزمون t-test و در صورت طبیعی‌نبودن از آزمون غیرپارامتریک من ویتنی استفاده شد. طبیعی‌بودن داده‌ها با استفاده از تست کولموگروف–اسمیرنوف سنجیده شد.

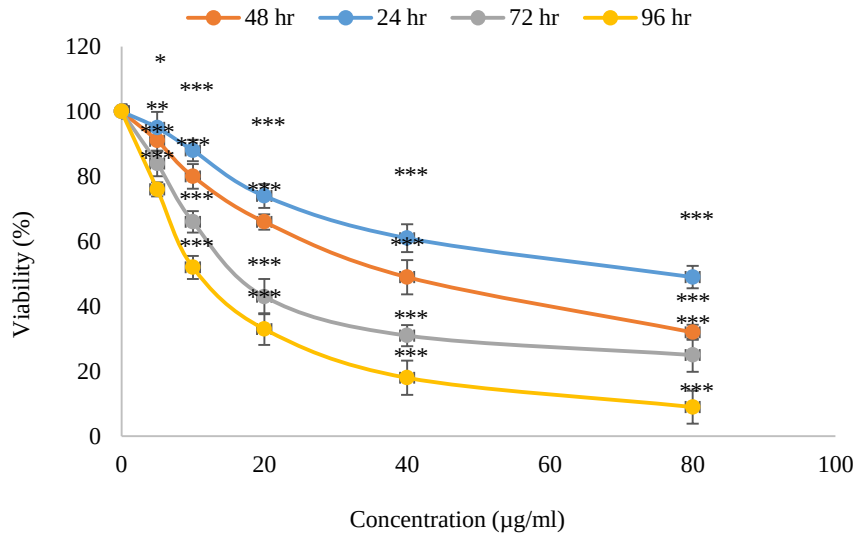
نتایج

اثر غلظت‌های مختلف زهر عقرب بر زنده‌مانی سلول‌های سرطان کولورکتال در شکل ۱ نشان داده شده است. زنده‌مانی سلول‌ها به‌صورت وابسته به غلظت زهر عقرب به‌صورت معنی‌دار بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار کاهش پیدا می‌کند (P≤۰/۰۵). همچنین اثر غلظت‌های مختلف زهر عقرب بر زنده‌مانی سلول‌های فیبروبلاست در شکل ۲ نشان داده شده است. زنده‌مانی سلول‌ها تنها در غلظت‌های بالا بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار کاهش پیدا می‌کند (P≤۰/۰۵).

میزان IC50 برای سلول‌های سرطانی ۸/۳۴ ± ۷۳/۶۷، ۰/۸۹ ± ۳۵/۷۲، ۰/۶۶ ± ۱۰/۱۱ و ۰/۹۰ ± ۸/۶۶ به‌ترتیب برای ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بود. همچنین، میزان IC50 برای سلول‌های فیبروبلاست ۳۳/۴۵ ±۳۵۵/۱۹، ۴۰/۶۳ ± ۲۲۹/۳۴، ۶۴/۶۶ ±۱۵۰/۱۷ و ۸/۱۳ ±۸۵/۹۷ به‌ترتیب برای ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بود.

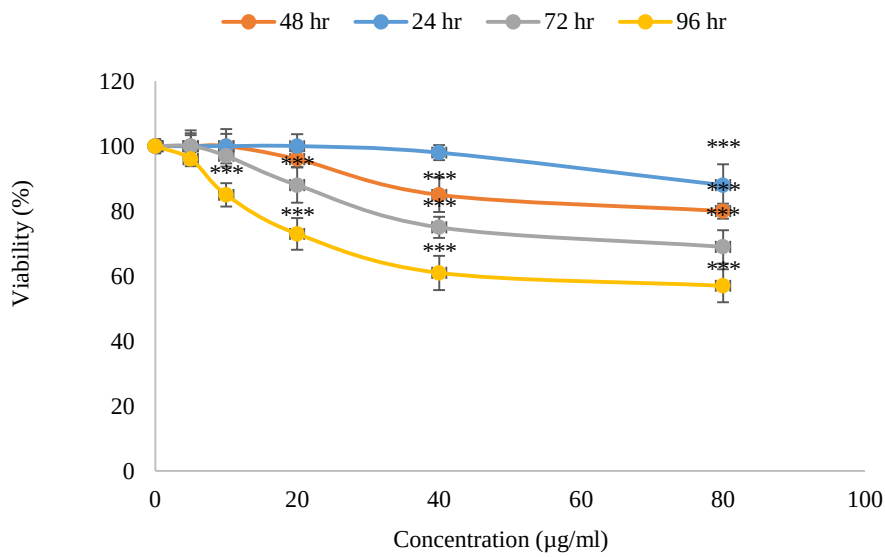
اثر سمیت غلظت‌های مختلف زهر عقرب بر سلول‌های سرطان کولورکتال در شکل ۳ نشان داده شده است. سمیت به‌صورت وابسته به غلظت زهر عقرب به‌صورت معنی‌دار بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار افزایش پیدا می‌کند (P≤۰/۰۵).

اثر غلظت IC50 زهر عقرب بر آپوپتوز سلول‌های سرطان کولورکتال در شکل ۴ نشان داده شده است. تیمار با زهر عقرب افزایش معنی‌دار در آپوپتوز را القا می‌کند (P≤۰/۰۵). در گروه کنترل ۹۴/۱ درصد سلول‌ها سالم (Live Cells)، ۱/۱۸ درصد از سلول‌ها در مرحله آپوپتوز زودهنگام (Early Apoptosis)، ۱/۷۶ درصد سلول‌های در مرحله آپوپتوز دیرهنگام (Late Apoptosis) و ۲/۹۴ درصد سلول‌ها نکروزه (Necrosis) بودند. در گروه تیمار ۱۹/۹ درصد سلول‌ها سالم، ۷۹/۹ درصد از سلول‌ها در مرحله آپوپتوز زودهنگام، ۰/۴۷ درصد سلول‌های در مرحله آپوپتوز دیرهنگام و ۰/۰۲ درصد سلول‌ها نکروزه بودند. در مجموع در گروه کنترل ۲/۹۴ درصد سلول‌ها آپوپتوتیک و در گروه تیمار ۸۰/۰۷ درصد سلول‌ها آپوپتوتیک بودند.



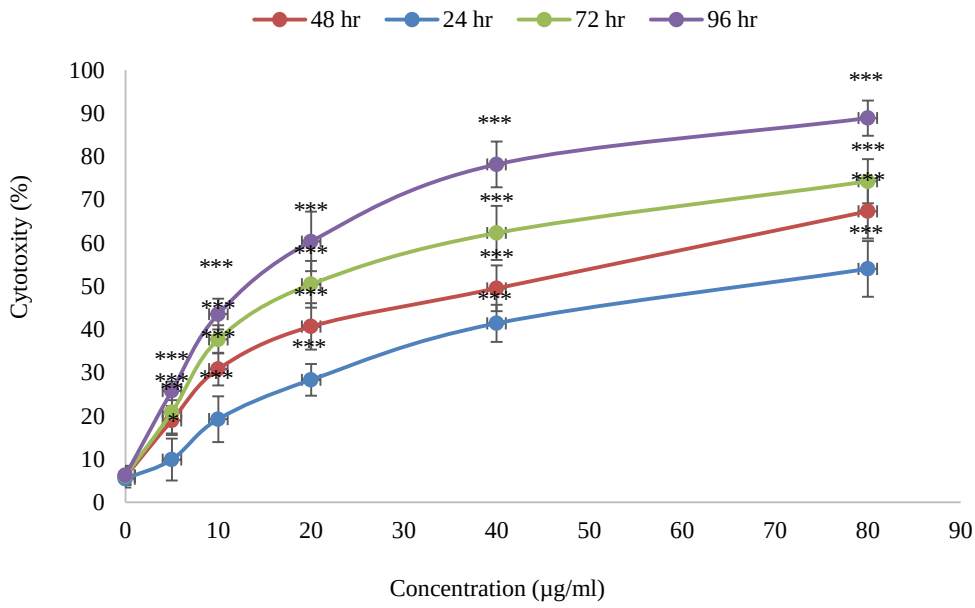
شکل ۱- اثر زهر عقرب زنده‌مانی سلول‌های سرطان کولورکتال

زنده‌مانی توسط روش MTT بررسی شده است. داده‌ها میانگین ±S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل بیان می‌شود. * نشان‌دهنده P<۰/۰۵، ** نشان‌دهنده P<۰/۰۰۵ و *** نشان‌دهنده P≤۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل می‌باشد.



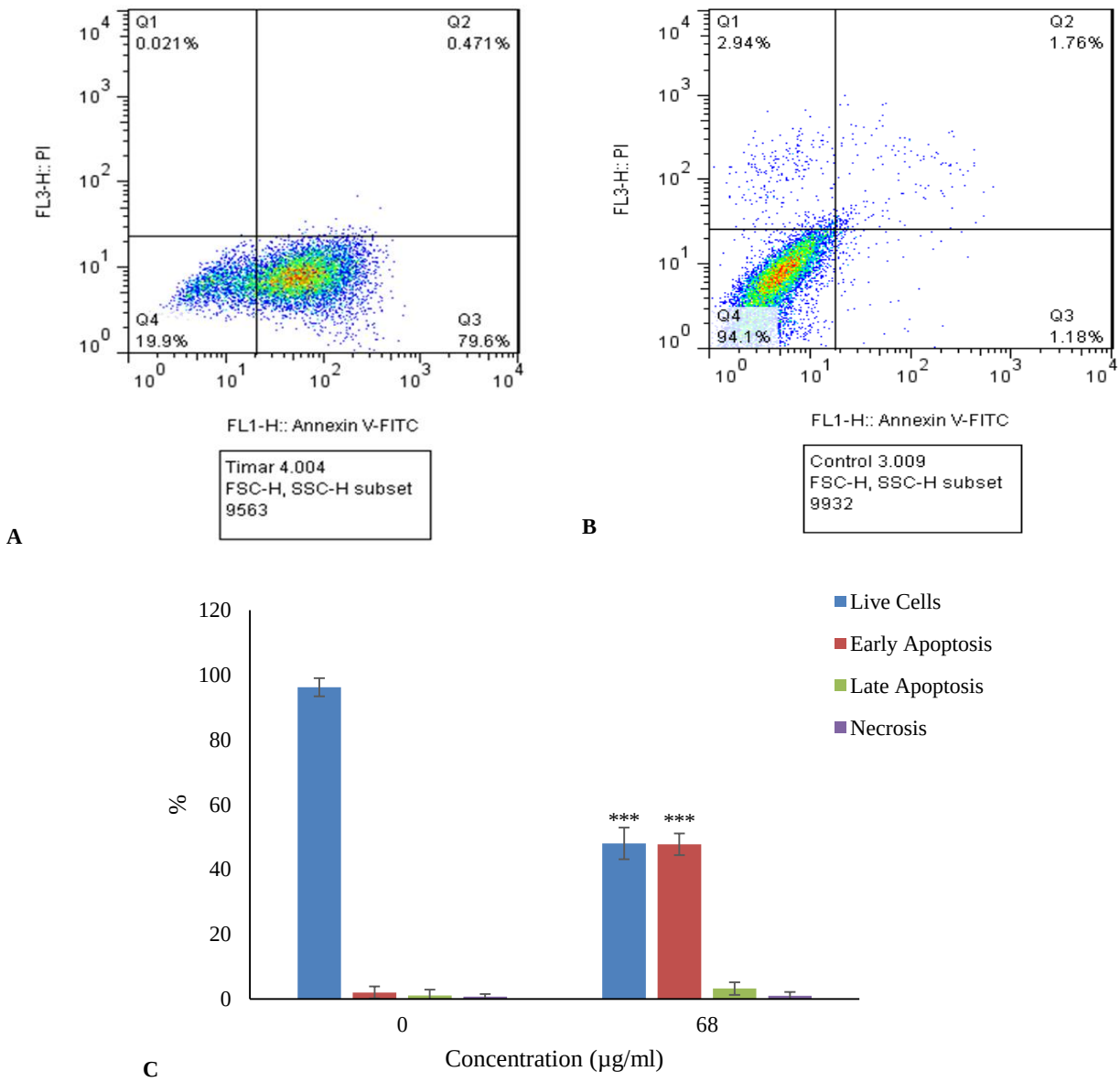
شکل ۲- اثر زهر عقرب زنده‌مانی سلول‌های فیبروبلاست

زنده‌مانی توسط روش MTT بررسی شده است. داده‌ها میانگین ±S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل بیان می‌شود. *** نشان‌دهنده P≤۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل می‌باشد.



شکل ۳- اثر سمیت زهر عقرب بر سلول‌های سرطان کولورکتال

سمیت توسط روش سنجش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در محیط کشت بررسی شده است. داده‌ها میانگین ±S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل بیان می‌شود. * نشان‌دهنده P<۰/۰۵ و *** نشان‌دهنده P≤۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل می‌باشد.



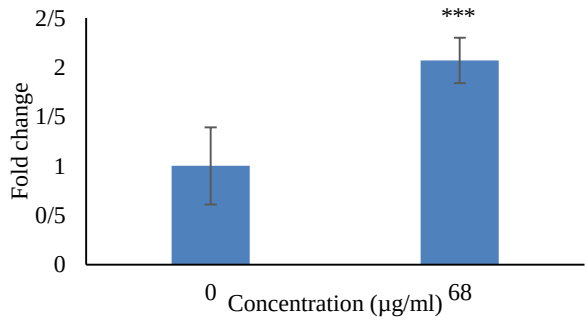
شکل ٤- اثر زهر عقرب آپوپتوز

آپوپتوز توسط رنگ‌آمیزی آنکسین PI/V در سلول‌های (A) کنترل و (B) سرطان کولورکتال بررسی شده است. داده‌ها میانگین ±S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل به‌صورت نمودار میله‌ای (C) نشان داده شد. *** نشان‌دهنده P≤۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل می‌باشد.

اثر غلظت IC50 زهر عقرب بر بیان ژن APC سلول‌های سرطان کولورکتال در شکل ۵ نشان داده شده است. بیان این ژن بعد از ۲۴ ساعت تیمار به‌صورت معنی‌دار افزایش پیدا می‌کند (P≤۰/۰۵).

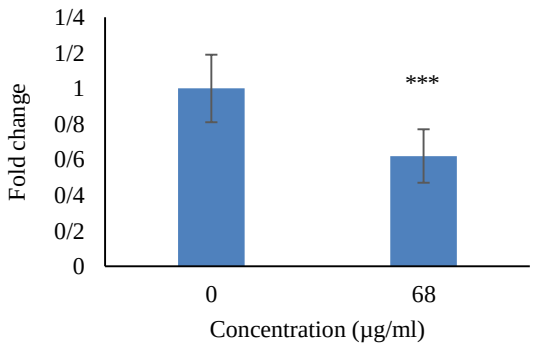
اثر غلظت IC50 زهر عقرب بر میزان پروتئین PARP سلول‌های سرطان کولورکتال در شکل ۶ نشان داده شده است. میزان این پروتئین بعد از ۲۴ ساعت تیمار به‌صورت معنی‌دار کاهش پیدا می‌کند (P≤۰/۰۵).

اثر غلظت IC50 زهر عقرب بر میزان تولید نیتریک اکساید سلول‌های سرطان کولورکتال در شکل ۷ نشان داده شده است. میزان این پروتئین بعد از ۲۴ ساعت تیمار به‌صورت معنی‌دار کاهش پیدا می‌کند (P≤۰/۰۵).



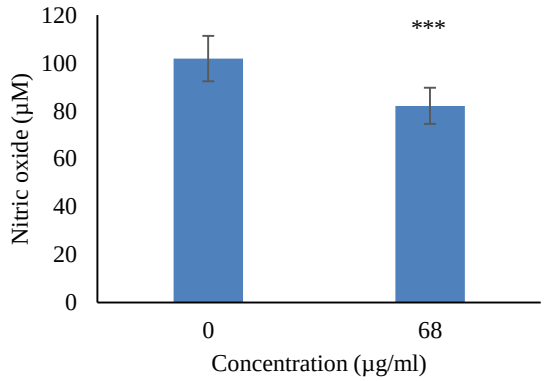
شکل ۵- اثر زهر عقرب بر بیان ژن APC سلول‌های سرطان کولورکتال

بیان ژن توسط تکنیک Real-time PCR بررسی شده است. داده‌ها میانگین ± S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل نشان داده شد. *** نشان‌دهنده P≤۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل می‌باشد.



شکل ٦- اثر زهر عقرب بر میزان پروتئین PARP سلول‌های سرطان کولورکتال

غلظت پروتئین توسط تکنیک الایزا بررسی شده است. داده‌ها میانگین ± S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل نشان داده شد. *** نشان‌دهنده P≤۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل می‌باشد.



شکل ۷- اثر زهر عقرب بر میزان تولید نیتریک اکساید در سلول‌های سرطان کولورکتال

غلظت نیتریک اکساید توسط روش گریس بررسی شده است. داده‌ها میانگین ± S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل نشان داده شد. *** نشان‌دهنده P≤۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل می‌باشد.

بحث

در طی هزاران سال طبیعت منبعی از محصولات دارویی بوده است که در میان آن‌ها زهر مار و عقرب، که دارای مولکول‌های بیولوژیکی مختلفی از قبیل پپتیدها، پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی با عملکردهای مهم فارماکولوژیکی هستند، از اهمیت زیادی برخوردارند و می‌توانند برای درمان بیماری‌های انسانی از قبیل انواع سرطان‌ها مورد استفاده قرار گیرند (۲۰-۱۸). درمان‌های رایج سرطان شامل جراحی، اشعه درمانی و شیمی درمانی می‌باشد که اغلب موارد سلول‌های سالم نیز از بین می‌روند که این می‌تواند باعث اثرات سمی و عوارض جانبی در بیمار شود. در سال‌های اخیر، به علت افزایش شیوع مرگ و میر ناشی از سرطان‌ها و نقص روش‌های شیمی درمانی و رادیوتراپی در فرم‌های پیشرفته سرطان، نیاز به یافتن شیوه‌های جدید برای کنترل سرطان احساس می‌شود (۲۱ و ۲۲). ایجاد تعادل بین اثرات درمانی و سمی یک ترکیب شاخص مهمی است که توانایی و کاربرد داروهای جدید را مشخص می‌کند. به عبارت دیگر در طراحی یک داروی مفید و کاربردی باید توجه شود که ویژگی‌های سمی (توکسولوژیکال) و دارویی (فارماکولوژیکال) با یکدیگر تداخل نداشته باشند.

نتایج ما نشان داد که زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس دارای اثر سیتوتوکسیک بر روی رده سلولی سرطان کولورکتال می‌باشد. زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بسیار قوی است و شامل اجزای هموتوکسین و سیتوتوکسین می‌باشد. برخی از اثرات توکسیک زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس در سال ۲۰۰۶ توسط پیپلزاده و همکاران انجام شده است (۲۳). در مطالعه پیپلزاده و همکاران نشان داده شد که زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس دارای اثرات همولیتیک، نفروتوکسیک و هپاتوتوکسیک می‌باشد. همی لیپین مولکول دیگری است (فسفولیپاز هترودایمر) که از زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس جداسازی گردیده است. همی لیپین دارای اثر مهاری بر روی رگ‌زایی سلول‌های اندوتلیال انسان می‌باشد و از مهاجرت و چسبندگی سلول‌ها در طول عروق جلوگیری می‌نماید. این در حالی است که این مولکول باعث آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال انسان نمی‌شود (۲۴). هر چند که زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس نیز مانند بسیاری از داروهای ضد سرطان بر روی سلول‌های طبیعی انسان هم اثر می‌گذارد اما یافتن دوزی که تنها بر روی سلول‌های سرطانی تأثیرگذار باشد از اهمیت بالایی برخوردار است. در واقع می‌توان با بهینه‌سازی دوز از اثرات احتمالی توکسیسیته بر روی سلول‌های طبیعی

کاست و در عین حال با اختصاصیت بالاتری باعث مهار و از بین رفتن سلول‌های سرطانی گردید. در این مطالعه برای اولین بار اثر سیتوتوکسیک زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بر روی رده سلولی سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفت. همچنین نتایج ما نشان داد مقادیر IC50 زهر عقرب برای سلول‌های غیرسرطانی فیبربلاست بسیار بالاتر از سلول‌های سرطانی بود و تنها در غلظت‌های بالا باعث مرگ سلول‌های فیبربلاست می‌شد.

در مطالعه‌ای اثرات غلظت‌های ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶ میکروگرم/میلی‌لیتر زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بر روی رده سلولی بر روی رده سلولی سرطان پستان (D47T) سنجیده شد. نتایج آن مطالعه نشان داد که که زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس دارای اثر سیتوتوکسیک بر روی رده سلولی D47T می‌باشد. در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر درصد کشندگی تقریباً صد در صد می‌باشد. تغییر در مورفولوژی سلول‌های D47T حاکی از توکسیک بودن زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بود. مقدار عددی IC50 برابر با ۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون و IC50 6 میکروگرم در میلی‌لیتر در زمان ۴۸ ساعت انکوباسیون محاسبه گردید. این درحالی است که بر روی رده سلولی HEK293 در غلظت‌های بالاتر از ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر اثر مهاری مشاهده گردید. در واقع نتایج حاکی از آن است که اثر مهاری و توکسیک زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس بر روی رده سلولی سرطان بیشتر از اثر مهاری بر روی رده سلولی طبیعی می‌باشد (۲۴). مقادیر IC50 محاسبه شده در مطالعه ما بالاتر می‌باشد که احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع سلول‌ها می‌باشد.

همچنین یافته‌ها نشان داد که غلظت PARP رده سلولی HT-29 سرطانی پس از تیمار کاهش یافت. اخیراً نشان داده شده است که PARP1 بر ترمیم DNA تأثیر می‌گذارد و بنابراین به عنوان درمان هدفمند در نظر گرفته می‌شود (۲۵). بیان PARP1 با تشخیص سرطان در ارتباط است (۲۶). PARP1 و محصول آن، PAR، با انواع تنش‌های درون‌زا و برون‌زا مطابقت دارد که توسط تنش‌های اکسیداتیو، متابولیک و التهابی تولید می‌شوند (۲۵). این پاسخ‌ها می‌توانند شرایط پاتولوژیک مانند سرطان و بیماری‌های خود ایمنی را تحریک کنند. بنابراین، مهارکننده‌های PARP را می‌توان به‌عنوان یک گزینه درمانی جدید برای چنین شرایط پاتولوژیکی دنبال کرد (۲۵). ABT-888 (Veliparib)، یک PARP-1/2 خوراکی، یک مهارکننده RARP است که برای درمان سرطان‌های مختلف مورد بررسی قرار می‌گیرد (۲۷ و ۲۸).

تشعشعات یونیزان با ایجاد شکستگی بر ساختار DNA تأثیر می‌گذارد و بنابراین باعث آسیب شدید DNA می‌شود که منجر به مرگ سلول می‌شود. برای جلوگیری از چنین عوارض جانبی، دوز مؤثر پرتو باید تجویز شود (۲۹). استفاده ترکیبی از پرتودرمانی و مهارکننده‌های PARP تأثیر بیشتری بر سلول‌های تومور دارد زیرا مهارکننده‌ها مکانیزمی را تحریک می‌کنند که شکستگی‌های دو رشته‌ای در DNA از شکستگی‌های تک‌رشته‌ای ایجاد شده توسط پرتودرمانی در بافت تومور با جهش BRCA ایجاد می‌کند. این ترکیب می‌تواند همزمان با استفاده از دوز تشعشع مشابه، درمان قوی‌تری را برای هدف قرار دادن بافت‌ها ایجاد کند (۳۰). مهارکننده‌های PARP عملکردهای مختلفی دارند و کاربرد آنها به کارآیی آنها در درمان بدخیمی‌ها محدود نمی‌شود. در طول دهه گذشته، مجموعه‌ای از عملکردها برای مهارکننده‌های PARP شناسایی شده‌اند که درمان سایر مشکلات سلامتی مانند بیماری‌های قلبی عروقی، سکته مغزی، اختلالات متابولیک، دیابت و ایمنی خودکار را یکپارچه می‌کنند (۳۱). ما فرض کردیم که کاهش غلظت PARP و افزایش بیان APC باعث اثرات بازدارنده بر رشد سلول‌های سرطانی HT-29 می‌شود. بنابراین، ما در نظر داریم تا اثر این ترکیبات را بر بیان APC و سطح PARP سلول‌های سرطانی HT29 بررسی کنیم. در سلول‌های HT-29 تیمار شده بیان سطح APC را در مقایسه با گروه شاهد افزایش‌یافته بود.

افزایش بیان APC در سلول‌های HT-29 تیمار شده را می‌توان به فعالیت ضد تکثیری احتمالی زهر نسبت داد.

همچنین نتایج ما نشان داد که تیمار با زهر عقرب باعث کاهش معنی‌داری را در تولید نیتریک اکساید سلول‌های سرطان کولورکتال می‌شود. NO دارای اثرات دوگانه (پرو و ضدتومور) در سرطان است. سطوح درون‌زا NO باعث افزایش نئوپلاسم‌های روده بزرگ می‌شود، در حالی که دوزهای پایدار برون‌زا منجر به عملکرد سیتوتوکسیک می‌شود. نکته مهم این است که NO به‌عنوان یک واسطه ضروری در بسیاری از مسیرهای سیگنالینگ در سرطان کولورکتال، مانند مسیرهای Wnt/β-catenin و کینازهای تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی (ERK) که ارتباط نزدیکی با شروع سرطان، متاستاز، التهاب و مقاومت شیمیایی/رادیویی دارند. بنابراین، NO به‌عنوان اهداف امیدوارکننده در تنظیم سرطان‌زایی سرطان کولورکتال پیشنهاد شده است (۳۲).

آپوپتوز، یکی دیگر از مشخصه‌های تعدیل سرطان، یک پدیده به خوبی تثبیت شده است. برای بررسی اثر زهر عقرب بر افزایش آپوپتوز رنگ‌آمیزی آنکسین v/PI را انجام دادیم. بعد از تیمار افزایش محسوسی در سلول‌های آپوپتوزی مشاهده شد.

CC BY NC

متون متعددی نقش زهر عقرب را در القای آپوپتوز در انواع مختلف سرطان نشان می‌دهد (۳۷-۳۳). جالب توجه است، گونه‌ای از زهر عقرب که برای این مطالعه انتخاب کرده‌ایم، قبلاً در سطوح سلولی و مولکولی آزمایش نشده است. بنابراین، مطالعه ما در مورد این زهر علیه سرطان کولورکتال تا به امروز منحصر به فرد است.

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، می‌توان توصیه کرد که زهر عقرب همیسکورپیوس لپتوروس احتمالاً از طریق تحریک آپوپتوز دارای اثرات سیتوتوکسیک باشند. این یافته برای شناسایی سایر عوامل شیمی درمانی ارزشمند است. با این حال، مطالعات پیش بالینی بیشتر با مدل‌های حیوانی مناسب موردنیاز است. علاوه بر این، قبل از آزمایش بالینی این زهر به‌عنوان یک عامل پیشگیری‌کننده از سرطان یا یک عامل درمانی، هنگام طراحی مطالعات فارماکوکینتیک باید احتیاط خاصی صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله نهایت تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه اعلام می‌دارند.

ملاحظات اخلاقی

پژوهش فوق حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پز شکی کرمانشاه با کد ۴۰۳۰۰۱۲ ا ست که در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام گرفته است. کد اخلاق طرح IR.KUMS.MED.REC.1402.309 می‌باشد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

فوزیه خانی‌همت‌آبادی: طراحی آزمایش‌ها و نظارت بر تحقیق.

ایرج رشیدی: تجزیه و تحلیل داده‌ها.

یزدان کاکایی: انجام آزمایشات کشت سلولی.

علی قنبری: نوشتن مقاله.

محسن ژاله: ویرایش مقاله و انجام بیان ژن و فلوسیتومتری.

همه نویسندگان نسخه نهایی را خوانده و تأیید کردند.

حمایت مالی

دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه حامی مالی این مقاله می‌باشد.

کد اخلاق

این پژوهش دارای کد اخلاق IR.KUMS.MED.REC.1402.309 است.

References

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. Int J Cancer 2019;144:1941-53. doi: 10.1002/ijc.31937
2. Labianca R, Beretta GD, Kildani B, Milesi L, Merlin F, Mosconi S, et al. Colon cancer. Crit Rev Oncol Hematol 2010;74:106-133. doi: 10.1016/j.critrevonc.2010.01.010
3. Qureshi A, Verma A, Ross P, Landau D. Colorectal cancer treatment. BMJ Clin Evid 2010;2010:0401
4. McWhirter D, Kitteringham N, Jones RP, Malik H, Park K, Palmer D. Chemotherapy induced hepatotoxicity in metastatic colorectal cancer: a review of mechanisms and outcomes. Crit Rev Oncol Hematol 2013;88:404-15. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.05.011
5. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. Cancer Treat Rev 2007; 33:9-23. doi: 10.1016/j.ctrv.2006.09.006
6. Ma X, Wang Z. Anticancer drug discovery in the future: an evolutionary perspective. Drug Discov Today 2009;14:1136-42. doi: 10.1016/j.drudis.2009.09.006
7. Gordaliza M. Natural products as leads to anticancer drugs. Clin Transl Oncol 2007;9:767-76. doi: 10.1007/s12094-007-0138-9
8. Aoki K, Taketo MM. Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene. J Cell Sci 2007;120:3327-35. doi: 10.1242/jcs.03485
9. Abraha AM, Ketema EB. Apoptotic pathways as a therapeutic target for colorectal cancer treatment. World J Gastrointest Oncol 2016;8:583-91. doi: 10.4251/wjgo.v8.i8.583
10. Rouleau M, Patel A, Hendzel MJ, Kaufmann SH, Poirier GG. PARP inhibition: PARP1 and beyond. Nat Rev Cancer 2010;10:293-301. doi: 10.1038/nrc2812
11. Maeda J, Roybal EJ, Brents CA, Uesaka M, Aizawa Y, Kato TA. Natural and glucosyl flavonoids inhibit poly(ADP-ribose) polymerase activity and induce synthetic lethality in BRCA mutant cells. Oncol Rep 2014;31:551-6. doi: 10.3892/or.2013.2902
12. Huehls AM, Wagner JM, Huntoon CJ, Karnitz LM. Identification of DNA repair pathways that affect the survival of ovarian cancer cells treated with a poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor in a novel drug combination. Mol Pharmacol 2012;82:767-76. doi: 10.1124/mol.112.080614
13. Abu-Sanad A, Wang Y, Hasheminasab F, Panasci J, Noë A, Rosca L, et al. Simultaneous inhibition of ATR and PARP sensitizes colon cancer cell lines to irinotecan. Front Pharmacol 2015;6:147. doi: 10.3389/fphar.2015.00147
14. Luo X, Kraus WL. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. Genes Dev 2012;26:417-32. doi: 10.1101/gad.183509.111
15. Wang H, Wang L, Xie Z, Zhou S, Li Y, Zhou Y, et al. Nitric oxide (NO) and no synthases (NOS)-based targeted therapy for colon cancer. Cancers (Basel) 2020;12:1881. doi: 10.3390/cancers12071881
16. Morsy MA, Gupta S, Dora CP, Jhawat V, Dhanawat M, Mehta D, et al. Venoms classification and therapeutic uses: a narrative review. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2023;27:1633-53. doi: 10.26355/eurrev_202302_31408
17. Gazarian KG, Gazarian T, Hernández R, Possani LD. Immunology of scorpion toxins and perspectives for generation of anti-venom vaccines. Vaccine 2005;23:3357-68. doi: 10.1016/j.vaccine.2004.12.027
18. Mohamed Abd El-Aziz T, Garcia Soares A, Stockand JD. Snake venoms in drug discovery: valuable therapeutic tools for life saving. Toxins (Basel) 2019;11:564. doi: 10.3390/toxins11100564
19. Koh CY, Kini RM. From snake venom toxins to therapeutics--cardiovascular examples. Toxicon 2012;59:497-506. doi: 10.1016/j.toxicon.2011.03.017
20. King GF. Venoms as a platform for human drugs: translating toxins into therapeutics. Expert Opin Biol Ther 2011;11:1469-84. doi: 10.1517/14712598.2011.621940

21. Al-Amri AM. The current medical diagnosis and treatment 2009. Sultan Qaboos Univ Med J 2009;9:101-2.

22. Dancey J, Eisenhauer EA. Current perspectives on camptothecins in cancer treatment. Br J Cancer 1996;74:327-38. doi: 10.1038/bjc.1996.362

23. Pipelzadeh MH, Dezfulian AR, Jalali MT, Mansouri AK. In vitro and in vivo studies on some toxic effects of the venom from Hemiscorpious lepturus scorpion. Toxicon 2006;48:93-103. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.04.017

24. Jridi I, Catacchio I, Majdoub H, Shahbazeddah D, El Ayeb M, Frassanito MA, et al. Hemilipin, a novel Hemiscorpius lepturus venom heterodimeric phospholipase A2, which inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. Toxicon 2015;105:34-44. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.08.022

25. Kazemi-Lomedasht F, Behdani M, Shahbazzadeh D. Cytotoxic effect hemiscorpius lepturus scorpion venom on T47D breast cancer cell line. RJMS 2019;26:1-7.[Persian].

25. Luo X, Kraus WL. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. Genes Dev 2012;26:417-32. doi: 10.1101/gad.183509.111

26. Rojo F, García-Parra J, Zazo S, Tusquets I, Ferrer-Lozano J, Menendez S, et al. Nuclear PARP-1 protein overexpression is associated with poor overall survival in early breast cancer. Ann Oncol 2012;23:1156-64. doi: 10.1093/annonc/mdr361

27. Wagner LM. Profile of veliparib and its potential in the treatment of solid tumors. Onco Targets Ther 2015;8:1931-9. doi: 10.2147/OTT.S69935

28. Wahner Hendrickson AE, Menefee ME, Hartmann LC, Long HJ, Northfelt DW, Reid JM, et al. A phase i clinical trial of the poly(adp-ribose) polymerase inhibitor veliparib and weekly topotecan in patients with solid tumors. Clin Cancer Res 2018;24:744-752. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1590

29. Newhauser WD, Berrington de Gonzalez A, Schulte R, Lee C. A review of radiotherapy-induced late effects research after advanced technology treatments. Front Oncol 2016;6:13. doi: 10.3389/fonc.2016.00013

30. Verhagen CV, de Haan R, Hageman F, Oostendorp TP, Carli AL, O'Connor MJ, et al. Extent of radiosensitization by the PARP inhibitor olaparib depends on its dose, the radiation dose and the integrity of the homologous recombination pathway of tumor cells. Radiother Oncol 2015;116:358-65. doi: 10.1016/j.radonc.2015.03.028

31. Lester A, Rapkins R, Nixdorf S, Khasraw M, McDonald K. Combining PARP inhibitors with radiation therapy for the treatment of glioblastoma: Is PTEN predictive of response? Clin Transl Oncol 2017;19:273-8. doi: 10.1007/s12094-016-1547-4

32. Wang H, Wang L, Xie Z, Zhou S, Li Y, Zhou Y, Sun M. Nitric Oxide (NO) and NO Synthases (NOS)-based targeted therapy for colon cancer. Cancers (Basel) 2020;12:1881. doi: 10.3390/cancers12071881

33. Al-Asmari AK, Riyasdeen A, Abbasmanthiri R, Arshaduddin M, Al-Harthi FA. Scorpion (Androctonus bicolor) venom exhibits cytotoxicity and induces cell cycle arrest and apoptosis in breast and colorectal cancer cell lines. Indian J Pharmacol 2016;48:537-543. doi: 10.4103/0253-7613.190742

34. Zargan J, Sajad M, Umar S, Naime M, Ali S, Khan HA. Scorpion (Androctonus crassicauda) venom limits growth of transformed cells (SH-SY5Y and MCF-7) by cytotoxicity and cell cycle arrest. Exp Mol Pathol 2011;91:447-54. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.04.008

35. Díaz-García A, Morier-Díaz L, Frión-Herrera Y, Rodríguez-Sánchez H, Caballero-Lorenzo Y, Mendoza-Llanes D, et al. In vitro anticancer effect of venom from cuban scorpion rhopalurus junceus against a panel of human cancer cell lines. J Venom Res 2013;4:5-12.

36. Das Gupta S, Debnath A, Saha A, Giri B, Tripathi G, Vedasiromoni JR, et al. Indian black scorpion (Heterometrus bengalensis Koch) venom induced antiproliferative and apoptogenic activity against human leukemic cell lines U937 and K562. Leuk Res 2007; 31:817-25. doi: 10.1016/j.leukres.2006.06.004

37. Abdel-Rahman MA, Omran MA, Abdel-Nabi IM, Nassier OA, Schemerhorn BJ. Neurotoxic and cytotoxic effects of venom from different populations of the Egyptian Scorpio maurus palmatus. Toxicon 2010;55:298-306. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.08.003

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2025; Vol 19, No 4

DOI: 10.22100/jkh.v19i4.3308

Original Article

Investigating the Effects of Hemiscorpius Lepturus Scorpion Venom on Survival, Apoptosis, Nitric Oxide Release, Poly (ADP-ribose) Polymerase Level and Adenomatous Polyposis Coli Gene Expression in Colorectal Cancer Cell Line

Mohsen Zhaleh (Ph.D.)[1], Iraj Rashidi (Ph.D.)[1], Ali Ghanbari (Ph.D.)[1], Yazdan Kakaei (M.D.)[1], Fuzieh Khani Hemmatabadi (Ph.D.)[*1]

1- Faculty of Medicine, Dept. of Anatomical Sciences, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Received: 27 June 2024, **Accepted:** 10 November 2024

Abstract:

Introduction*: Some scorpion venoms contain compounds with potential anti-cancer properties. Colorectal cancer is the second most common cancer in women and the third most common in men. This study aimed to investigate the effects of Hemiscorpius lepturus scorpion venom on the HT-29 colorectal cancer cell line.*

Methods: *The effect of scorpion venom on the survival of cancer cells and fibroblasts was investigated using the MTT method. APC gene expression level were determined by Real-time PCR. PPAR protein levels were measured by ELISA, and nitric oxide secretion was assessed using the Griess reaction.*

Results*: The viability of HT-29 cells and fibroblasts decreased significantly after 24, 48, 72, and 96 hours of treatment, depending on the concentration of scorpion venom and the duration of exposure (P≤0.05). The IC50 value for cancer cells was higher than that for fibroblast cells. The lactate dehydrogenase assay indicated that this decrease in viability was associated with the loss of cell membrane integrity. Treatment with the IC50 concentration of scorpion venom induced a significant increase in apoptosis and APC gene expression (P≤0.05) while significantly decreasing PARP protein levels and nitric oxide production (P≤0.05).*

Conclusion*: Based on the findings of the present study, it can be recommended that Hemiscorpius lepturus scorpion venom has cytotoxic effects through the stimulation of apoptosis. Additionally, it exerts anti-colorectal cancer effects by reducing APC gene expression and PARP protein levels.*

Keyword: Scorpion venom, Hemiscorpius lepturus, Colorectal cancer.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** F. Khani Hemmatabadi, **Email**: fuziekhani@yahoo.com*

Citation: Zhaleh M, Rashidi I, Ghanbari A, Kakaei Y, Khani Hemmatabadi F. Investigating the effects of Hemiscorpius lepturus scorpion venom on survival, apoptosis, nitric oxide release, Poly (ADP-ribose) polymerase level and Adenomatous polyposis coli gene expression in colorectal cancer cell line. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2025;19(4):2-12.