



بررسی بیوانفورماتیکی تأثیر لیکوپن روی بیان پروتئین‌های شوک حرارتی (hsp27) در سرطان پروستات

علیرضا پناهی*

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

نویسنده مسئول: arpanahi@uma.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۱۴

چکیده:

در بیشتر سرطان‌ها سطح بیان پروتئین‌های شوک حرارتی بالا می‌رود که سلول‌های سرطانی را نسبت به دارو درمانی مقاوم و موجب پیش آگهی ضعیف می‌شود. همچنین ارتباط آنها با تکثیر سلولی، تهاجم و متاستاز مشخص شده است. لیکوپن به عنوان یک کارتنوئید از آنتی اکسیدانت‌های مؤثر است که برای جلوگیری از رشد غده‌های سرطانی کاربرد دارد. پروستات یکی از شایع ترین سرطان‌هایی است که در مردان دیده می‌شود. برای درمان این بیماری بیشتر از جراحی و شیمی درمانی استفاده می‌شود که عوارض متعدد بعد از درمان و هزینه بر است. برای این مطالعه داده‌های خام ریز آرایه سرطان پروستات تحت تیمار لیکوپن و غیرتیمار با حجم بالا از پایگاه NCBI بخش GEO دریافت شد. سپس تغییرات بیان پروتئین‌های شوک حرارتی (hsp27) با استفاده از ابزارها و روش‌های بیوانفورماتیکی، تعیین شد و مقایسه نتایج سطح بیان ژن‌های تیمار با لیکوپن نسبت به غیرتیمار مشخص کرد که سطح بیان نسبی ژن HSPB8 به شدت کاهش یافته و همچنین تغییرات قابل ملاحظه‌ای در سطح بیان سایر واریانت‌های این ژن مشاهده نشد. این نتایج نشان می‌دهد که لیکوپن می‌تواند در سلول‌های سرطانی پروستات تنش ایجاد کند و با این عمل سلول‌های سرطانی را به طرف آپوپتوز هدایت کند.

کلیدواژگان: بیوانفورماتیک، پروتئین‌های شوک حرارتی، لیکوپن و سرطان پروستات

۱- مقدمه:

پیدا می‌کند (۲۱). پروتئین‌های شوک حرارتی با عملکرد چاپرونی خود تاخوردگی دیگر پروتئین‌ها را تسهیل می‌کنند و در ایجاد ساختار سوم پروتئین دخیل می‌باشند (۳و۴). در بسیاری از سرطان‌ها سطح بیان پروتئین‌های شوک حرارتی بالا می‌باشد که نشانگر

پروتئین‌های شوک حرارتی، پروتئین‌های به شدت حفاظت شده هستند که در موجودات یوکاریوتی و پروکاریوت دیده می‌شوند و در تنش‌های گوناگون از جمله گرما و در پاسخ به التهاب و عفونت‌ها افزایش

بیماری در سال‌های اخیر و تلاش برای یافتن راهکار های پیشگیری و درمان کم هزینه توام با عوارض کمتر این بیماری، اهمیت این پژوهش و تحقیق را نشان می دهد (۱۰ و ۱۱). در این مطالعه اطلاعات لازم از 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 بیان ژن‌های-Igf 1 و cox به روش ریزآرایه (میکروآرای) انجام گرفته است و داده‌های خام بیان برخی ژن‌ها از جمله Hsp27 در این پروژه به روش ریزآرایه و در پایگاه اطلاعاتی NCBI و بخش GEO انتشار شده است، استخراج و با ابزارهای قدرتمند بیوانفورماتیکی، سطح بیان پروتین های شوک حرارتی (hsp27) سنجیده شد و مشخص شد که ترکیب لیکوپن می تواند سطح بیان HSPB8 را کاهش دهد.

برنامه‌ها و روش آنالیز

در این مطالعه از پنج واریانت پروتئین های شوک حرارتی (hsp27) طبق جدول (۱) استفاده شد.

تهاجمی و بدخیمی است و افزایش بیان این پروتئین‌ها مانع آپوپتوز خودبه‌خود سلول در افراد سرطانی می‌شود و همچنین ایجاد مقاومت در برابر دارو و درمان می‌شود (۵ و ۶). افزایش بیان ژن HSPB11 از آپوپتوز سلول‌های سرطانی جلوگیری کرده و بدخیمی سلول سرطانی را افزایش می‌دهد و در تحقیقی نشان داده شده است که محصول این ژن، از آپوپتوز به هنگام مصرف داروی باکلی تاکسول جلوگیری می‌کند (۷). HSPB2 فعالیت ضد آپوپتوزی دارد (۸). بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌های رنگی حاوی لیکوپن می باشند اما گریپ فروت، گوجه فرنگی، هندوانه، کدو تنبل و هویج دارای لیکوپن بیشتری هستند. مصرف زیاد و در دسترس فراوان گوجه فرنگی و فراورده‌ها آن را به عنوان مهمترین منبع غذایی لیکوپن معرفی کرده است، به طوری که بیش از ۸۵ درصد لیکوپن مصرفی از گوجه فرنگی و فراورده های آن تأمین می‌شود و علت نام لیکوپن هم برگرفته از نام علمی گوجه فرنگی می باشد (۹). پروستات به شکل غده‌ای کوچک در زیر مثانه قرار داشته و بخش بالایی مجرای ادراری را در برمی گیرد و سرطان پروستات یکی از رایج ترین سرطان در مردها و دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در دنیای امروز به شمار می رود. مطالعات نشان داده است که تشخیص زودهنگام سرطان پروستات سبب کاهش خطر مرگ و شروع به موقع درمان، سبب افزایش طول عمر ۶۷٪ به ۸۹٪ رسیده که دلیل برافزایش آگاهی نسبت به این بیماری می باشد. برای درمان سرطان پروستات از جراحی، پرتو درمانی، هورمون درمانی و شیمی درمانی استفاده می شود که کلیه این درمان‌ها عوارض متعدد از جمله ناتوانی جنسی و هزینه ی بالا را به همراه دارند. روند رو به رشد میزان ابتلای به این

جدول ۱- واریانت های پروتئین های شوک حرارتی (hsp27)

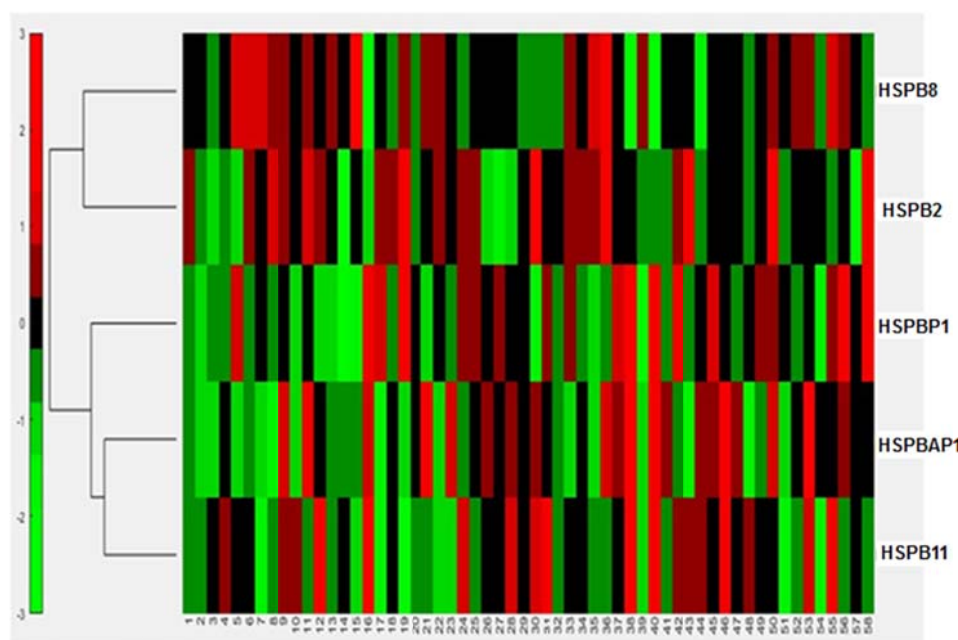
ردیف	ژن	واریانت
۱	HSPB	HSPBAP1
۲	HSPB	HSPBP1
۳	HSPB	HSPB11
۴	HSPB	HSPB2
۵	HSPB	HSPB8

شد و برای استفاده از کد دستوری وارد نرم افزار شد و بعد نتایج مقدماتی به صورت کلاسترگرام در شکل ۱ ترسیم شد که در سمت راست و خط قایم (Y) این کلاسترگرام اسم واریانت ها و در خط افقی (X) و تعداد سمپل ها که ۵۸ تا است و از ۲۹ نفر نمونه گرفته شده است را نشان می دهد و اعداد زوج افراد تیمار با لیکوپن و اعداد فرد افراد غیر تیمار (گروه کنترل) در نظر گرفته شد، دیده می شود و در سمت چپ رنگ های موجود در خط عمود (Y) نشان دهنده میزان بیان نسبی ژن ها است که در آن رنگ سبز روشن کاهش و رنگ قرمز روشن افزایش بیان نسبی ژن را نشان می دهد. بر این اساس نتایج بررسی کلاسترگرام نشان داد که بیشترین اختلاف بیان نسبی بین نمونه تیمار با لیکوپن و گروه کنترل به ژن HSPB8 مربوط می شود.

داده های خام پروتئین های شوک حرارتی (hsp27) را از بین حجم زیاد ی از داده های ژنوم انسانی که در ۲۹ نفر و از جنس مذکر و تحت تیمار با لیکوپن در طی ۹۰ روز و ۲۹ نفر به عنوان غیر تیمار به روش ریز آرایه (میکرواری) انجام گرفته و در پایگاه ذخیره مجموعه داده های (GEO) NCBI Gene Expression Omnibus و در مرکز اطلاعاتی قرار دارد را استخراج و سپس به نرم افزار قدرتمند متلب (MATLAB) انتقال داده شد و جهت آنالیز و روشن تر کردن سطح بیان ژن های تیمار شده از غیر تیمار در بخش بیوانفورماتیکی نرم افزار از کد های دستوری موجود در نرم افزار استفاده شد و در آخر کلاسترگرام و هیستوگرام بیان ژن ها رسم شد.

۲- نتایج

بررسی ها بر روی ژن های موجود در جدول ۱ صورت گرفت و توالی های خام به صورت فرمت اکسل استخراج

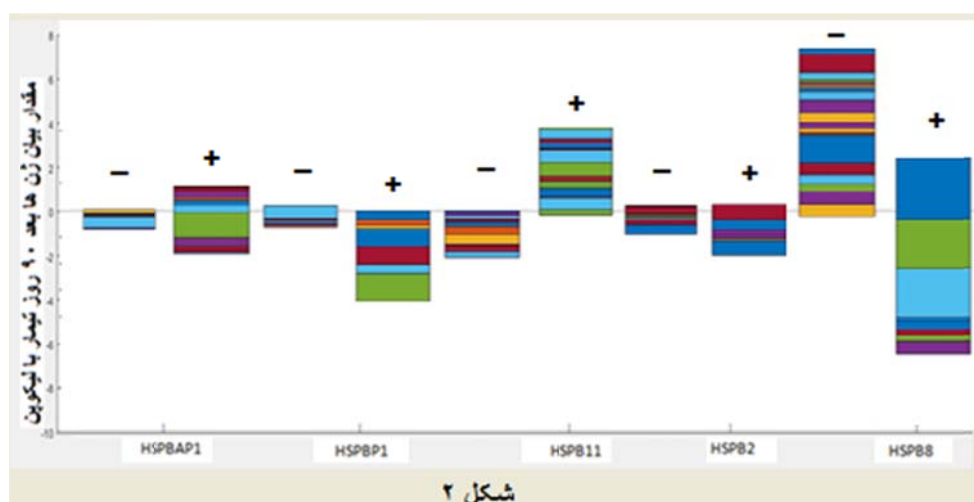


شکل ۱

شکل ۱- نتایج کلاسترگرام: کاهش بیان نسبی ژن HSPB8 را نشان داد

HSPB8 را نشان داد و درضمن تغییرات قابل ملاحظه‌ای در سطح بیان سایر واریانت‌های این ژن مشاهده نشد.

و در ادامه جهت تشخیص دقیق‌تر تغییرات سطح بیان، نتایج به‌صورت هیستوگرام (شکل ۲) مشخص شد. و نتیجه این هیستوگرام کاهش شدید سطح بیان ژن



شکل ۲

شکل ۲- نتیجه هیستوگرام: کاهش شدید بیان ژن HSPB8، علامت + و - به ترتیب بیمار و غیر بیمار در نظر گرفته شد.

۳- بحث و نتیجه‌گیری:

لیکوپن یکی از ترکیبات کارتنوئیدی و از پیگمان های طبیعی است که بیشتر در سبزی‌ها و میوه‌ها که دارای رنگ قرمز می‌باشند، مانند: گوجه فرنگی دیده می‌شود و به‌عنوان کارتنوئیدی از آنتی‌اکسیدانت های مؤثر است که برای جلوگیری از رشد غده‌های سرطانی کار برد دارند (۱۲). در جریان استرس و تنش سلولی، بیان ژن‌های HSP70، HSP40، HSP27 و HSP110 افزایش پیدا می‌کند (۱۳) و این تغییرات بیشتر در سلول‌های سرطانی دیده می‌شود، از این رو میزان بیان ژن‌های HSP، بیومارکر خوبی برای تشخیص تهاجمی شدن سرطان‌هاست (۶). افزایش سطح بیان HSPها در بعضی از سرطان‌های خاص پیش آگهی ضعیف و مقاومت بالایی در درمان نشان می‌دهد (۵ و ۱۴). همچنین بیان پروتئین HSP27 با افزایش آنتی ژن اختصاصی پروستات (PCA) بیشتر می‌شود و این پروتئین اندازه تومور را افزایش می‌دهد (۱۵). در مطالعه حاضر نشان داده شد که سلول‌های سرطان پروستات در پاسخ به تیمار لیکوپن، سطح بیان ژن HSPB8 را به شدت نسبت به غیرتیمار کاهش می‌دهد و از طرفی مطالعات نشان داده است که بیان پروتئین HSPB8 باعث تکثیر و مهاجرت سلولی در انواع سرطان‌ها از جمله سلول‌های MCF-7 می‌شود (۱۶). پس به نظر می‌رسد که ترکیب لیکوپن می‌تواند سلول‌های سرطانی را وادار به کاهش بیان HSPB8 کند و از این طریق باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطانی و متاستاز شود و از طرفی مشخص شده است که پروتئین‌های شوک حرارتی از جمله HSP27 به‌عنوان چاپرون مولکولی عمل می‌کند و کاهش بیان HSPB8 سبب تجمع پروتئین‌های بد تا خورده شده، می‌شود و این کاهش بیان، سلول‌های سرطانی را دچار تنش و در نهایت مستعد آپوپتوز کند.

منابع

- 1-Zügel U, Kaufmann SHE. Role of heat shock proteins in protection from and pathogenesis of infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999.
- 2-A. Panahi, R. Nakhaei Sistanib. Sadeghizadeha Dendrosomal Nanocurcumin Induces Changes in the Expression Levels of Heat Shock Proteins in the AGS Cell Line: Cellular Tolerance or Smart Apoptosis December. 2016.
- 3-Telser A. *Molecular Biology of the Cell*, 4th Edition. Shock. 2002.
- 4-Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: Diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress and Chaperones*. 2005.
- 5-Beere HM. "The stress of dying": The role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *Journal of Cell Science*. 2004.
- 6-Tang D, Khaleque MA, Jones EL, Theriault JR, Li C, Wong WH, et al. Expression of heat shock proteins and heat shock protein messenger ribonucleic acid in human prostate carcinoma in vitro and in tumors in vivo. *Cell Stress Chaperones*. 2005.
- 7-Turi Z, Hocsak E, Racz B, Szabo A, Balogh A, Sumegi B, et al. Role of mitochondrial network stabilisation by a human small heat shock protein in tumour malignancy. *J Cancer*. 2015.
- 8-Oshita SE, Chen F, Kwan T, Yehiely F, Cryns VL. The small heat shock protein HspB2 is a novel anti-apoptotic protein that inhibits apical caspase activation in the extrinsic apoptotic pathway. *Breast Cancer Res Treat*. 2010.
- 9- Rao AV, and Ali A. Biologically active phytochemicals in human health: lycopene. 2007.
- 10-Roberts MJ, Teloken P, Chambers SK, Williams SG, Yaxley J, Samarasinghe H, et al. Prostate Cancer Detection. *Endotext*. 2000.
- 11-Aslam HM, Shahid N, Shaikh NA, Shaikh HA, Saleem S, Mughal A. Spectrum of prostatic lesions. *Int Arch Med*. 2013.
- 12-Holzappel NP, Holzappel BM, Champ S, Feldthausen J, Clements J, Huttmacher DW. The potential role of lycopene for the prevention and

15-Scieglinska D, Gogler-Pigłowska A, Butkiewicz D, Chekan M, Malusecka E, Harasim J, et al. HSPA2 is expressed in human tumors and correlates with clinical features in non-small cell lung carcinoma patients. *Anticancer Res.* 2014.

16-Piccolella M, Crippa V, Cristofani R, Rusmini P, Galbiati M, Cicardi ME, et al. The small heat shock protein B8 (HSPB8) modulates proliferation and migration of breast cancer cells. *Oncotarget.* 2017.

therapy of prostate cancer: From molecular mechanisms to clinical evidence. *International Journal of Molecular Sciences.* 2013.

13-Tang D, Khaleque MA, Jones EL, Theriault JR, Li C, Wong WH, et al. Expression of heat shock proteins and heat shock protein messenger ribonucleic acid in human prostate carcinoma in vitro and in tumors in vivo. *Cell Stress Chaperones.* 2005.

14-Blagosklonny. M.V, Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J Natl Can-cer Inst* 93.2001.

Bioinformatics investigation of the effect of lycopene on the expression of heat shock proteins (hsp27) in prostate cancer

Alireza panahi^{1*}

1- Assistant professor, Biology Department, Science Faculty, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 2020/10/5

Accepted: 2021/3/2

Abstract:

In most cancers, the expression level of heat shock proteins is increased, which makes cancer cells resistant to drug therapy and has a poor prognosis. They have also been linked to cell proliferation, invasion and metastasis. Lycopene, as a carotenoid, is an effective antioxidant used to prevent the growth of cancerous glands. Prostate cancer is one of the most common cancers seen in men. To treat this disease, surgery and chemotherapy are mostly used, which have many complications after treatment and are costly. In this study, prostate cancer was treated with lycopene and raw microarray big data were received from GEO section of NCBI database. Then, the expression changes of heat shock proteins (hsp27) were determined using bioinformatics tools and methods, and comparing the expression levels of lycopene-treated genes with non-treated ones showed that the expression level of HSPB8 gene was drastically reduced and also, no significant changes were observed in the expression level of other gene families in this group. Results show that lycopene can cause stress in cancer cells and this stress predisposes the cell to apoptosis.

Keywords: Bioinformatics, gene expression, lycopene, hsp27