

Evaluation of PTEN and TERT Gene Expression in HepG2 Hepatocellular Carcinoma Cells Treated with *Nasturtium officinale* R.Br. Extract

Abdolmehdi Noorian 

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.
Email: Mehdi.noorian@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type Research Article	Objective: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the third leading cause of cancer-related mortality worldwide, with its incidence increasing by 2–3% annually. In recent years, plant-derived compounds have attracted considerable attention because of their potentially fewer adverse effects. Watercress (<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.) is rich in glucosinolates and has been reported to possess anticancer properties. This study aimed to investigate the effects of watercress extract on the expression of the PTEN and TERT genes in HepG2 cells. Methods: The extract was prepared using a Soxhlet apparatus. HepG2 cells were treated with 25, 50, 100, 200, and 400 µg/mL of the extract for 24, 48, and 72 h. Cell viability was assessed using the MTT assay, and gene expression was evaluated by real-time PCR. The data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test. Results: The highest cytotoxicity was observed after 72 h of treatment. The IC ₅₀ value at 24 h was 43.99 µg/mL. The MTT assay showed a significant reduction in cell viability in the treated groups compared with the control group. Treatment with the extract also increased <i>PTEN</i> expression and decreased <i>TERT</i> expression compared with the control group. Conclusion: Watercress extract may exert potential antitumor effects by modulating the expression of PTEN and TERT, possibly due to its bioactive compounds. Based on these findings, <i>Nasturtium officinale</i> may be considered a potential candidate for further studies on cancer prevention and treatment.
Article history Received: 5 January 2026 Revised: 19 February 2026 Accepted: 14 March 2026 Published: 4 April 2026	
Keywords Cell culture Gene expression Glucosinolates Liver cancer Watercress	

Cite this article: Noorian, A. (2026). Evaluation of PTEN and TERT gene expression in HepG2 Hepatocellular Carcinoma Cells treated with *Nasturtium officinale* R.Br. extract. *Ethnobiology and Biodiversity Conservation*, 3(1), 51-64. <https://doi.org/10.22091/ethc.2026.15108.1074>



©The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22091/ethc.2026.15108.1074>

Publisher: University of Qom

بررسی بیان ژن‌های PTEN و TERT در رده سلولی HepG2 سرطان کبد (HCC) تحت تیمار با عصاره گیاه (*Nasturtium officinale* R.Br.)

عبدالمهدی نوریان ✉

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران. رایانامه: Mehdi.nooriian@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله پژوهشی	هدف: کارسینوم هیپاتوسلولار (HCC) سومین علت مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در جهان است و میزان بروز آن سالانه ۲-۳ درصد افزایش می‌یابد. در سال‌های اخیر، ترکیبات گیاهی به دلیل برخورداری از عوارض جانبی کمتر، مورد توجه قرار گرفته‌اند. شاهی آبی (<i>Nasturtium officinale</i>) سرشار از گلوکوزینولات‌ها است و دارای خواص ضدسرطان‌گزارش شده است. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر عصاره شاهی آبی بر بیان ژن‌های PTEN و TERT در رده سلولی HepG2 بود.
تاریخچه دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۱۵ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۱/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۲۳ انتشار: ۱۴۰۵/۰۱/۱۵	مواد و روش‌ها: عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه سوکسله انجام شد. سلول‌های HepG2 با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره، به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. میزان زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از آزمون MTT و میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش Real-Time PCR بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون توکی تحلیل شدند.
کلیدواژه‌ها بیان ژن سرطان کبد شاهی آبی کشت سلولی گلوکوزینولات‌ها	نتایج: بیشترین سمیت سلولی پس از ۷۲ ساعت تیمار مشاهده شد. مقدار IC ₅₀ در ۲۴ ساعت، ۴۳/۹۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج آزمون MTT نشان داد که عصاره موجب کاهش معنی‌دار زنده‌مانی سلول‌ها در گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین، تیمار با عصاره موجب افزایش بیان ژن PTEN و کاهش بیان ژن TERT در مقایسه با گروه کنترل شد.
	نتیجه‌گیری: عصاره شاهی آبی با تعدیل بیان ژن‌های PTEN و TERT می‌تواند دارای اثرات بالقوه ضدتوموری باشد که احتمالاً به ترکیبات زیست‌فعال موجود در این گیاه مرتبط است. بر اساس یافته‌های این مطالعه، <i>Nasturtium officinale</i> می‌تواند به‌عنوان گزینه‌ای بالقوه برای مطالعات آینده در زمینه درمان و پیشگیری از سرطان مورد بررسی قرار گیرد.

استناد: نوریان، عبدالمهدی (۱۴۰۵). بررسی بیان ژن‌های PTEN و TERT در رده سلولی HepG2 سرطان کبد (HCC) تحت تیمار با عصاره گیاه (*Nasturtium officinale* R.Br.). *زیست‌قوم‌شناسی و حفاظت تنوع زیستی*، ۳ (۱)، ۶۴-۵۱. <https://doi.org/10.22091/ethc.2026.15108.1074>



مقدمه

کارسینوم هپاتوسلولار (Hepatocellular Carcinoma; HCC) یکی از علل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در جهان به شمار می‌رود. این سرطان، سومین علت مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در سطح جهان است و میزان بروز آن سالانه حدود ۲ تا ۳ درصد افزایش می‌یابد. با این حال، پیشرفت در حوزه‌های پزشکی و فناوری این امکان را فراهم کرده است که میزان مرگ‌ومیر ناشی از این سرطان کاهش یابد (Sharma et al., 2024).

رده سلولی HepG2 در مطالعات متعدد به عنوان یک مدل آزمایشگاهی برای بررسی سازوکارهای بیماری، ارزیابی اثرات درمانی و شناسایی زیست‌نشانه‌های جدید در کارسینوم هپاتوسلولار (HCC) مورد استفاده قرار گرفته است (Olatunji et al., 2025; Badiger et al., 2024). با این حال، اگرچه HepG2 به طور گسترده برای مطالعه کارسینوم هپاتوسلولار استفاده می‌شود، همه فرایندهای زیستی و الگوهای بیان ژن در این رده سلولی با وضعیت بیماری واقعی یکسان نیستند. پژوهش‌های انجام‌شده نیز نشان داده‌اند که ویژگی‌های مولکولی همه موارد کارسینوم هپاتوسلولار را نمی‌توان به طور کامل به رده سلولی HepG2 تعمیم داد (Štancl et al., 2024).

ژن سرکوبگر تومور PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) بر روی کروموزوم ۱۰ قرار دارد. این ژن با کدگذاری پروتئینی، در تنظیم رشد، بقا، تکثیر و تقسیم سلولی نقش دارد (Chwin and Kiryk, 2024). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های عملکرد PTEN، مهار مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT/mTOR است (Derkyi-Kwarteng et al., 2024). پروتئین PTEN با دفسفریلاسیون فسفاتیدیل‌اینوزیتول ۳،۴،۵-تری‌فسفات (PIP3) و تبدیل آن به PIP2، مسیرهای مختلف سلولی را تنظیم می‌کند (Chwin and Kiryk, 2024).

ژن TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) به عنوان زیر واحد کاتالیزوری اصلی آنزیم تلومراز شناخته می‌شود و نقش محوری در حفظ طول تلومرها و پایداری ژنومی ایفا می‌کند. علاوه بر نقش کانونی آن در تولید سازی تلومرها، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که TERT دارای عملکردهای غیر کانونی (non-canonical) مهمی در بقای سلولی، تکثیر سلولی، پاسخ به آسیب DNA و تنظیم مسیرهای سیگنال دهی است (Dong et al., 2025).

گیاه بول‌اغ‌اوتی یا علف چشمه (*Nasturtium officinale R.Br.*) از خانواده شب‌بو (Brassicaceae) است و معمولاً در اطراف تالاب‌ها، رودخانه‌ها و چشمه‌ها رشد می‌کند (Buitrago-Villanueva et al., 2025; Bulut and Yılmaz, 2025). این گیاه حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات زیست‌فعال، از جمله گلوکوزینولات‌ها، ایزوتیوسیانات‌ها، به ویژه فنیل‌اتیل ایزوتیوسیانات (PEITC)، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی است (Maluwa et al., 2025). وجود PEITC در این گیاه با خواص ضدسرطانی آن مرتبط دانسته شده است (Voutsina et al., 2024). همچنین، به دلیل دارا بودن ویتامین‌ها، ترکیبات فیتوشیمیایی، درشت‌مغذی‌ها و ریزمغذی‌های متعدد، *N. officinale* به عنوان یک ماده غذایی با ارزش تغذیه‌ای بالا مورد توجه قرار گرفته است (Zonuzi et al., 2025).

با توجه به اهمیت سرطان کبد و نیاز به شناسایی و توسعه روش‌های درمانی جدید، بررسی ترکیبات طبیعی با پتانسیل ضدسرطانی می‌تواند در جهت بهبود راهکارهای درمانی و ارتقای کیفیت زندگی بیماران حائز اهمیت باشد. از آنجاکه شیمی‌درمانی و برخی داروهای هدفمند ممکن است با عوارض جانبی همراه باشند، استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان گزینه‌های بالقوه کم‌هزینه و زیست‌فعال، مورد توجه قرار گرفته است. پژوهش حاضر از این حیث نیز حائز اهمیت است که، بر اساس بررسی منابع انجام‌شده، اثر عصاره *N. officinale* بر بیان هم‌زمان ژن‌های TERT و PTEN در رده سلولی HepG2 به طور مشخص بررسی نشده است. بنابراین، انجام این پژوهش می‌تواند گامی در جهت شناخت مکانیسم‌های مولکولی احتمالی اثرات ضدسرطانی این گیاه باشد. این مطالعه با هدف بررسی میزان بیان ژن‌های PTEN و TERT در رده سلولی سرطان کبد HepG2 تحت تیمار با عصاره گیاه *Nasturtium officinale R.Br.* انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی و در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) طراحی و اجرا گردید.

تهیه نمونه گیاهی *Nasturtium officinale*

ابتدا برگ‌های گیاه علف چشمه (*Nasturtium officinale*) از جویبارهای منطقه کبیرکوه در استان ایلام جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه، در هوای آزاد خشک و سپس با استفاده از آسیاب برقی به صورت پودر ریز درآمدند. مقدار ۱۵۰ گرم از پودر گیاه با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. پودر گیاه در پنج کارتوش قرار داده شد و به منظور عصاره‌گیری با دستگاه سوکسله، به مدت ۸ ساعت و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تحت استخراج قرار گرفت. در این فرایند از اتانول ۷۰ درصد به عنوان حلال استفاده شد.

پس از اتمام عصاره‌گیری، محلول حاصل برای حذف حلال و تغلیظ عصاره به دستگاه روتاری منتقل شد. در ادامه، محلول حاصل از عصاره‌گیری پس از ۸ ساعت در پلیت‌های شیشه‌ای تقسیم و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حلال تبخیر شود. در نهایت، عصاره باقی‌مانده از کف پلیت‌ها جدا و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این روش، از ۱۵۰ گرم پودر گیاه علف چشمه، ۱۲/۲۵ گرم عصاره خالص به دست آمد. اثر عصاره تام علف چشمه بر زنده‌مانی سلول‌ها در شرایط کشت با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد. پس از اندازه‌گیری جذب نوری، درصد زنده‌مانی سلولی محاسبه و مقدار IC_{50} با استفاده از رگرسیون غیرخطی تعیین شد.

نرمال‌سازی داده‌های آزمون MTT

نرمال‌سازی داده‌های حاصل از آزمون MTT به شرح زیر انجام شد:

۱. جذب نوری (OD) هر چاهک در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد.
۲. میانگین جذب نوری چاهک‌های کنترل منفی فاقد سلول، به عنوان بلانک در نظر گرفته شد و از مقادیر جذب نوری نمونه‌ها کسر شد.
۳. درصد زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$100 \times (\text{کنترل OD} / \text{نمونه آزمایش شده OD}) = \text{درصد زنده‌مانی سلول}$$

در ادامه، داده‌ها نسبت به گروه کنترل نرمال‌سازی شدند و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) حاصل از سه تکرار مستقل گزارش شدند.

کشت سلولی

فلاسک T-25 حاوی رده سلولی HepG2 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران با کد C158 تهیه شد. ابتدا محیط کشت رویی سلول‌ها با استفاده از پیپت پاستور خارج و محیط کشت تازه شامل DMEM، سرم جنین گاوی (FBS) به میزان ۱۰ درصد و پنی‌سیلین/استرپتومایسین (Pen/Strep) به میزان ۱ درصد به فلاسک اضافه شد. سپس فلاسک‌ها در انکوباتور CO_2 دار با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۵ درصد CO_2 قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت، سلول‌ها پاساژ داده شدند.

غلظت‌های مورد استفاده شامل ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که بر اساس نتایج یک مطالعه مقدماتی (Pilot study) و با روش آزمون و خطا تعیین شدند. در این پیش‌آزمایش، سلول‌های HepG2 به مدت ۲۴ ساعت در معرض دامنه وسیعی از غلظت‌های عصاره (صفر تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قرار گرفتند و زنده‌مانی سلولی با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد. نتایج پیش‌آزمایش نشان داد که غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سمیت معنی‌داری ایجاد نکردند؛ غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب کاهش جزئی اما قابل‌اندازه‌گیری زنده‌مانی سلول‌ها شد؛ و غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب موجب کاهش متوسط و شدید زنده‌مانی سلول‌ها شدند. بر این اساس، دامنه غلظتی ۲۵ تا ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای بررسی اثرات وابسته به دوز عصاره در آزمایش‌های اصلی انتخاب شد.

سپس سلول‌های رده HepG2 در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه مخصوص آزمون MTT به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. پس از آن، غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره به چاهک‌ها اضافه شد. برای هر غلظت، سه تکرار

در آزمون MTT در نظر گرفته شد و پنج چاهک نیز به عنوان گروه کنترل اختصاص یافت. در نهایت، پلیت‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند.

تعیین چگالی سلولی

چگالی سلولی (Cell density) در دو مرحله ارزیابی شد:

۱. پیش از تیمار (تنظیم تعداد سلول‌ها)

پس از تریپسینه کردن سلول‌های HepG2، تعداد سلول‌ها با استفاده از لام نتوبار و میکروسکوپ نوری شمارش شد. سپس تعداد 1×10^4 سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد.

۲. پس از تیمار (سنجش زنده‌مانی)

زنده‌مانی سلول‌ها به صورت غیرمستقیم و با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد. در این روش، میزان جذب نوری (OD) در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد. مقدار جذب نوری متناسب با تعداد سلول‌های زنده در نظر گرفته شد و در نهایت، درصد زنده‌مانی سلول‌ها نسبت به گروه کنترل محاسبه شد.

سنجش بیان ژن‌های PTEN و TERT

برای اندازه‌گیری جذب نوری در آزمون MTT، از دستگاه ELISA reader در طول موج ۵۷۰ نانومتر استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش بر اساس توالی ژن‌های PTEN و TERT با استفاده از پایگاه Primer-BLAST طراحی و انتخاب شدند (جدول ۱). سپس پرایمرهای طراحی شده توسط شرکت سیناژن سنتز شدند. به منظور تأیید تجربی اختصاصیت پرایمرها، پس از اتمام چرخه‌های Real-Time PCR، آنالیز منحنی ذوب (Melt Curve Analysis) در محدوده دمایی ۶۰ تا ۹۵ درجه سلسیوس انجام شد. مشاهده یک پیک منفرد و مشخص در دمای ذوب مورد انتظار برای هر ژن، به عنوان نشانه‌ای از تکثیر اختصاصی و نبود محصولات غیراختصاصی یا دایمرهای پرایمری در نظر گرفته شد. همچنین، کارایی پرایمرها با استفاده از رقت‌های سریالی cDNA و رسم منحنی استاندارد ارزیابی شد. پس از آماده‌سازی پرایمرها، واکنش Real-Time PCR مطابق برنامه حرارتی ارائه شده در جدول ۲ انجام شد.

تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزارهای Microsoft Excel 2016 و GraphPad Prism 10.6 تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. اختلاف بین گروه‌ها در سطح $P < 0.05$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای ژن‌های مورد مطالعه

Gene	F primer Sequence 5'→3'	R primer Sequence 5'→3'	F-TM	R-TM
TERT	TGTCAAGGTGGATGTGACGG	GAGGAGCTCTGCTCGATGAC	۵۹/۹۷	۵۹/۹۷
PTEN	TCTCCCCTTCTACTGCCTCC	ACACACAGGTAACGGCTGAG	۶۰/۰۳	۵۹/۹۷
GAPDH	CCAGCAAGAGCACAAGAGGA	ACATGGCAACTGTGAGGAGG	۵۹/۹۶	۵۹/۹۶

جدول ۲. شرایط دمایی واکنش RT-Rael Time PCR

PCR initial denaturation step	۱۵ دقیقه	۹۵ درجه سانتی گراد	۱ سیکل
Denaturation	۱۵ ثانیه	۹۵ درجه سانتی گراد	۳۵ سیکل
Annealing PTEN gene	۳۰ ثانیه	۶۰ درجه سانتی گراد	
Annealing TERT gene	۳۰ ثانیه	۶۰ درجه سانتی گراد	
Annealing GAPDH gene	۳۰ ثانیه	۶۰ درجه سانتی گراد	
Extention	۳۰ ثانیه	۷۲ درجه سانتی گراد	۱ سیکل
Melt temperatuer	۳۰۰ ثانیه	۷۲ درجه سانتی گراد	

نتایج

به منظور بررسی اثرات ضدسرطانی عصاره اتانولی علف چشمه (*Nasturtium officinale*)، میزان زنده‌مانی سلول‌های رده HepG2 تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره، با استفاده از آزمون MTT در سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی شد. مطابق نتایج ارائه شده در شکل ۱، پس از ۲۴ ساعت تیمار، میزان زنده‌مانی سلول‌های HepG2 در تمامی غلظت‌های مورد بررسی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. این کاهش در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر معناداری در سطح $P<0.05$ و در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر معناداری در سطح $P<0.01$ مشاهده شد. کمترین میزان زنده‌مانی سلولی پس از ۲۴ ساعت مربوط به غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برابر با ۴۱/۴۶ درصد بود، درحالی‌که بیشترین میزان زنده‌مانی در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برابر با ۶۸/۲۹ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

نتایج آزمون MTT پس از ۴۸ ساعت

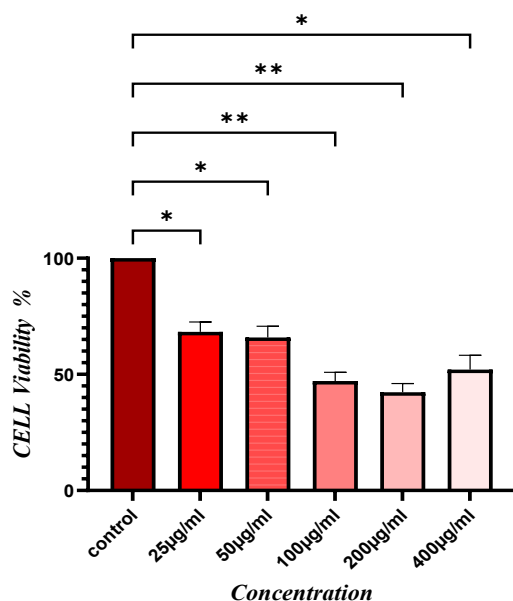
با توجه به تیمار سلول‌های سرطانی HepG2 با عصاره اتانولی علف چشمه (*Nasturtium officinale*)، پس از ۴۸ ساعت، میزان زنده‌مانی سلول‌ها در تمامی غلظت‌های مورد بررسی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت و این کاهش از نظر آماری معنادار بود ($P<0.0001$) (شکل ۲). کمترین میزان زنده‌مانی سلولی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برابر با ۱۹/۶۰ درصد، و بیشترین میزان زنده‌مانی در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برابر با ۳۵/۲۹ درصد، مشاهده شد (جدول ۳).

نتایج آزمون MTT پس از ۷۲ ساعت

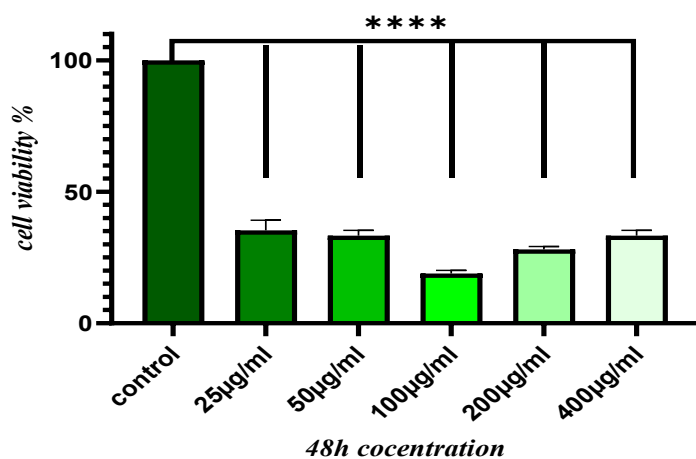
پس از ۷۲ ساعت تیمار سلول‌های HepG2 با عصاره علف چشمه، میزان زنده‌مانی سلول‌ها در تمامی غلظت‌های مورد بررسی در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت و این کاهش از نظر آماری معنادار بود ($P<0.0001$) (شکل ۳). بیشترین میزان زنده‌مانی سلولی در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برابر با ۲۰/۲۱ درصد، و کمترین میزان زنده‌مانی در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برابر با ۱۱/۰۸ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳. تأثیر عصاره علف چشمه بر زنده‌مانی رده سلولی HepG2 در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف

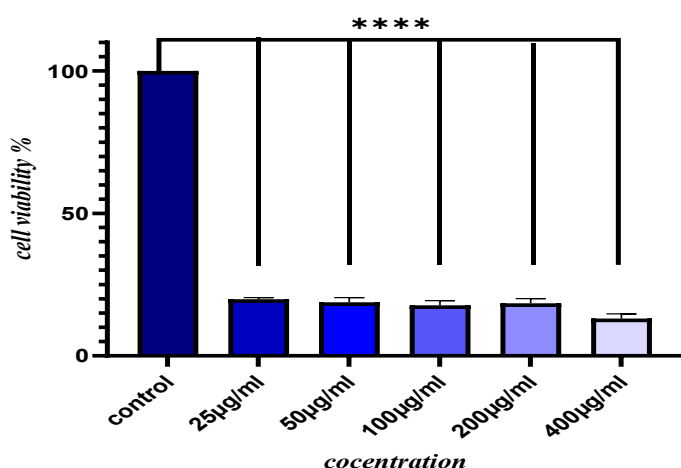
غلظت میکروگرم بر میلی‌لیتر	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
۲۵	۶۸/۲۹	۳۵/۲۹	۲۰/۲۱
۵۰	۶۵/۰۹	۳۳/۳۳	۱۱/۷۰
۱۰۰	۴۶/۲۱	۱۹/۶۰	۱۱/۸۳
۲۰۰	۴۱/۴۶	۲۷/۸۴	۱۰/۶۳
۴۰۰	۵۱/۲۲	۳۳/۵۲	۱۱/۰۸
CONTROL	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰



شکل ۱. تأثیر عصاره گیاه علف چشمه بر زنده‌مانی رده سلولی سرطانی HepG2 در غلظت‌های مختلف در بازه زمانی ۲۴ ساعت



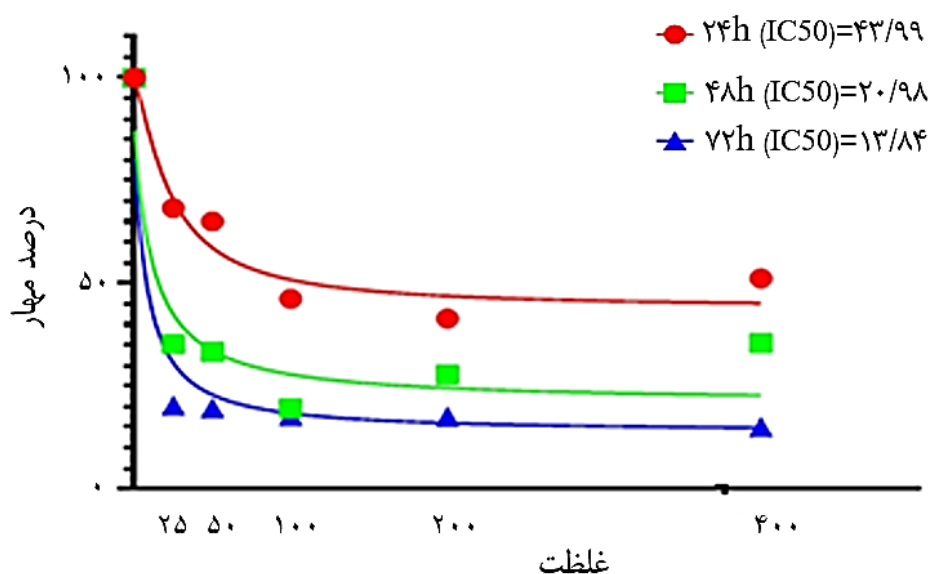
شکل ۲. تأثیر عصاره گیاه علف چشمه بر زنده‌مانی رده سلولی سرطانی HepG2 در غلظت‌های مختلف در بازه زمانی ۴۸ ساعت



شکل ۳. تأثیر عصاره گیاه علف چشمه بر زنده‌مانی رده سلولی سرطانی HepG2 در غلظت‌های مختلف طی ۷۲ ساعت

نتایج IC50 و بیان ژن

بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۴، بیشترین مقدار IC50 عصاره علف چشمه پس از ۲۴ ساعت تیمار، ۴۳/۹۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، حدود ۷۰ درصد سلول‌ها زنده ماندند، درحالی‌که با افزایش غلظت عصاره به ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان زنده‌مانی سلول‌ها به حدود ۴۰ درصد کاهش یافت.



شکل ۴. منحنی دوز-پاسخ عصاره گیاه علف چشمه در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

بیان نسبی ژن‌های PTEN و TERT

در این پژوهش، میزان بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و بر اساس روش Livak محاسبه شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های Real-Time PCR، بیان نسبی ژن‌های PTEN و TERT پس از نرمال‌سازی نسبت به ژن مرجع GAPDH تعیین شد. تغییرات بیان ژن‌ها با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید:

$$\Delta Ct = Ct (\text{ژن هدف}) - Ct (\text{ژن مرجع})$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{نمونه کنترل}) - \Delta Ct (\text{نمونه تیمار شده})$$

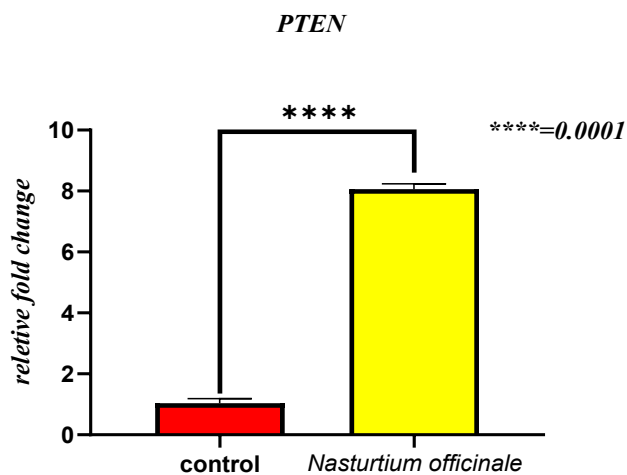
$$\text{Relative fold change} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

در این روش، مقدار Ct کمتر نشان‌دهنده مقدار بیشتر الگوی تکثیرشونده و در شرایط قابل مقایسه، بیان نسبی بالاتر ژن است؛ در مقابل، افزایش مقدار Ct نشان‌دهنده کاهش بیان نسبی ژن است.

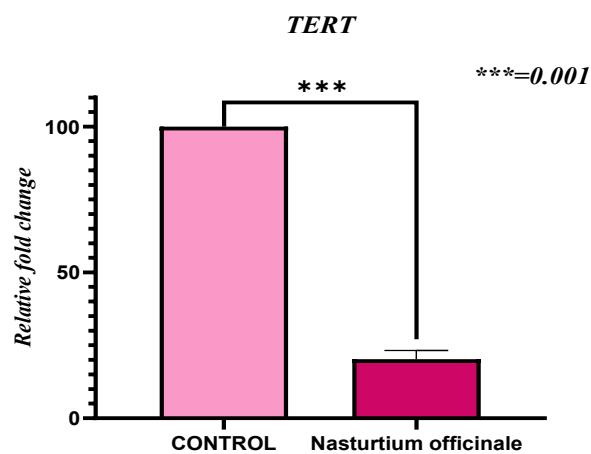
نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل کمی بیان ژن‌های PTEN و TERT، پس از نرمال‌سازی نسبت به ژن مرجع GAPDH، در شکل‌های ۵ و ۶ ارائه شده است. بر اساس نتایج، تیمار سلول‌های HepG2 با عصاره علف چشمه موجب تغییر معنادار در بیان ژن‌های مورد مطالعه شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA در نرم‌افزار GraphPad Prism انجام گرفت و تفاوت معناداری بین گروه تیمار شده با عصاره و گروه کنترل مشاهده شد.

این نتایج نشان داد که تیمار سلول‌های HepG2 با عصاره علف چشمه با افزایش بیان ژن PTEN و کاهش بیان ژن TERT همراه بود (شکل‌های ۵ و ۶).

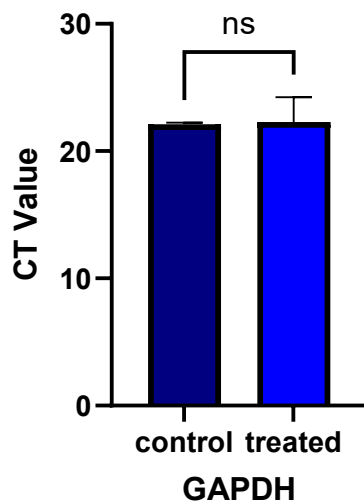
بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۷، مقادیر Ct ژن مرجع GAPDH در میان گروه‌های مورد بررسی تفاوت آماری معناداری نداشت. این یافته نشان‌دهنده ثبات نسبی بیان ژن مرجع GAPDH در شرایط آزمایش و مناسب بودن آن برای نرمال‌سازی داده‌های بیان ژن است.



شکل ۵. بیان ژن PTEN در سلول سرطانی HepG2 تحت تیمار با عصاره گیاه علف چشمه



شکل ۶. بیان ژن TERT در سلول سرطانی HepG2 تحت تیمار با عصاره گیاه علف چشمه



شکل ۷. بررسی پایداری بیان ژن مرجع GAPDH در گروه‌های مورد مطالعه

بحث

مکانیسم‌های مولکولی دخیل در ایجاد و پیشرفت کارسینوم هپاتوسلولار (Hepatocellular Carcinoma; HCC) نشان‌دهنده برهم‌کنش پیچیده میان سلول‌های کبدی، محور کبد-روده و میکروبیوتای روده هستند. این تعاملات در ایجاد التهاب مزمن، اختلال در عملکرد سیستم ایمنی و فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با تومورزایی نقش مهمی دارند (Alsudaney et al., 2025). اگرچه رده سلولی HepG2 به‌طور گسترده به‌عنوان یک مدل آزمایشگاهی در مطالعات مربوط به HCC مورد استفاده قرار می‌گیرد، باید توجه داشت که این رده سلولی نماینده تمامی زیرگروه‌های مولکولی و بالینی HCC نیست و نمی‌تواند تمام جنبه‌های زیست‌شناختی تومورهای کبدی را بازتاب دهد (Liu et al., 2022). با وجود این محدودیت، استفاده از سلول‌های HepG2 امکان بررسی اثرات سلولی و مولکولی ترکیبات طبیعی بر سلول‌های سرطانی کبد را در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی فراهم می‌کند. در برخی مطالعات، از رده HepG2 برای بررسی عملکرد کینازهای پروتئینی غیرمعمول (aPKC) نیز استفاده شده است. نتایج مطالعات پیشین نشان داده‌اند که ایزوفرم‌های PKC- α و PKC- β در مقایسه با سلول‌های طبیعی کبد، الگوهای عملکردی متفاوتی دارند. استفاده از این مدل سلولی می‌تواند بستری برای ارزیابی اثرات ضدتوموری بالقوه و مسیرهای مرتبط با القای آپوپتوز فراهم کند (Olatunji et al., 2025).

در پژوهش حاضر، اثر عصاره اتانولی گیاه علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بر زنده‌مانی سلول‌های HepG2 با استفاده از آزمون MTT در غلظت‌های مختلف و بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمار سلول‌ها با عصاره موجب کاهش زنده‌مانی سلولی شد و این اثر در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنادار بود. کاهش زنده‌مانی در طول زمان و با افزایش غلظت عصاره، بیانگر اثر سیتوتوکسیک بالقوه عصاره بر سلول‌های HepG2 است؛ با این حال، با توجه به برخی نوسانات مشاهده‌شده در پاسخ سلولی در غلظت‌های مختلف، نمی‌توان این رابطه را در تمامی زمان‌های آزمایش کاملاً خطی و وابسته به دوز تلقی کرد.

تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاه علف چشمه می‌توانند اثرات زیستی متفاوتی بر سلول‌ها داشته باشند؛ به‌گونه‌ای که از یک سو موجب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی از طریق فعال‌سازی مسیرهای درون‌زاد می‌شوند و از سوی دیگر، در برخی شرایط اثرات محافظتی بر سلول‌های سالم نشان می‌دهند (Tragkola et al., 2024). از این رو، کاهش زنده‌مانی سلول‌های HepG2 مشاهده‌شده در مطالعه حاضر می‌تواند، دست‌کم بخشی، ناشی از اثر ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصاره علف چشمه بر مسیرهای تنظیم‌کننده بقا و مرگ سلولی باشد.

همچنین، افزایش سن برداشت گیاه و متعاقب آن افزایش غلظت ترکیبات گلوکوزینولاتی می‌تواند با تقویت برخی از خواص زیستی و ضدتوموری آن همراه باشد (Voutsina et al., 2024). بنابراین، تفاوت در مرحله برداشت، شرایط رشد، روش استخراج و ترکیب شیمیایی عصاره می‌تواند یکی از عوامل مؤثر بر تفاوت نتایج مطالعات مختلف باشد.

مطالعات نشان داده‌اند که افزایش فعالیت و بیان TERT یکی از ویژگی‌های مهم بسیاری از سلول‌های سرطانی است و می‌تواند از طریق تخریب پروتئین P21، زمینه را برای پیشرفت سلول‌ها به سمت فنوتیپ تومورزایی فراهم کند. این فرایند با فعال‌سازی NF- κ B p65 و تقویت فعالیت پروموتور NF- κ B همراه است. در این مسیر، کمپلکس‌های پروتئینی متشکل از P21، سیکلین A2 و سیکلین E تشکیل شده و متعاقباً یوبیکویتیناسیون و تخریب P21 رخ می‌دهد (Mishima et al., 2024).

در مطالعه حاضر، تیمار سلول‌های HepG2 با عصاره علف چشمه با کاهش بیان TERT همراه بود. با توجه به نقش TERT در حفظ ظرفیت تکثیر سلول‌های سرطانی، کاهش بیان این ژن می‌تواند یکی از سازوکارهای احتمالی دخیل در کاهش زنده‌مانی سلول‌های HepG2 پس از تیمار با عصاره باشد. به بیان دیگر، مهار بیان TERT ممکن است ظرفیت تکثیر و بقای سلول‌های سرطانی را کاهش داده و سلول‌ها را به سمت توقف تکثیر یا مرگ سلولی سوق دهد. با این حال، برای اثبات این سازوکار، بررسی مستقیم فعالیت تلومراز، طول تلومر و سایر نشانگرهای آپوپتوز و چرخه سلولی ضروری است.

مکانیسم اثر علف چشمه در بافت کبد، دست‌کم در برخی مطالعات، از طریق مهار فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α) و اینترلوکین ۱ بتا (IL-1 β) گزارش شده است. این اثر با کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT همراه بوده و می‌تواند بیانگر نقش ضدالتهابی این گیاه در بافت کبد باشد (Soudkhah et al., 2025).

علف چشمه به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال متنوع، از جمله پلی‌فنول‌ها، گلوکوزینولات‌ها، ایزوتیوسیانات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی، از نظر تغذیه‌ای و زیستی مورد توجه قرار گرفته است. این ترکیبات از طریق مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌توانند در تنظیم برخی فرایندهای متابولیکی نقش داشته باشند (Maluwa et al., 2025).

بررسی‌های بالینی نشان داده‌اند که مصرف مکمل عصاره علف چشمه در افراد دارای اضافه‌وزن با عارضه جانبی قابل‌توجهی همراه نبوده و می‌تواند موجب بهبود برخی شاخص‌های پروفایل لیپیدی و کاهش سطح کراتینین سرم شود (Clemente et al., 2021). این یافته‌ها نشان‌دهنده ظرفیت بالقوه این گیاه برای استفاده به‌عنوان یک ترکیب فراسودمند در مداخلات تغذیه‌ای است؛ بااین‌حال، تعمیم این نتایج به کاربردهای درمانی نیازمند مطالعات بالینی بیشتر است.

با وجود این، مطالعات مستقلى نگرانی‌هایی را درباره احتمال تجمع فلزات سنگین در علف چشمه مطرح کرده‌اند. در یک مطالعه، علف چشمه پرورش‌یافته در سیستم‌های آکوپونیک قادر به تجمع جیوه (Hg) و سرب (Pb) در غلظت‌هایی بالاتر از حدود مجاز استانداردهای ایمنی مواد غذایی بود. این یافته بر اهمیت کنترل کیفیت آب و بستر کشت در سیستم‌های تولید این گیاه تأکید دارد. در همان مطالعه، استفاده از اسید هیومیک توانست میزان تجمع این فلزات را کاهش دهد (Lelesz et al., 2024).

در مقابل، پژوهش‌های انجام‌شده در مناطق جغرافیایی دیگر نتایج متفاوتی را نشان داده‌اند. مطالعه‌ای روی نمونه‌های علف چشمه کشت‌شده در جزایر قناری اسپانیا نشان داد که باوجود غلظت نسبتاً بالای عناصر ضروری مانند روی و منگنز، غلظت فلزات سمی در این گیاه، با توجه به الگوی معمول مصرف در بزرگسالان، در محدوده ایمن قرار داشته است (Martín-León et al., 2023). همچنین، پژوهشی در ترکیه نشان داد که در نمونه‌های بومی بررسی‌شده، تجمع قابل‌توجهی از فلزات سنگین سمی در بافت گیاه مشاهده نشده است و مصرف آن، در شرایط مطالعه‌شده، از نظر آلودگی فلزی با خطر قابل‌توجهی همراه نبوده است (Uyumlu and Yılmaz, 2022).

در مجموع، شواهد موجود نشان می‌دهند که علف چشمه از نظر دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال، دارای ظرفیت بالقوه‌ای در مطالعات تغذیه‌ای و دارویی است؛ بااین‌حال، ایمنی آن به شرایط رشد، کیفیت آب و محیط کشت وابسته است. بنابراین، احتمال تجمع فلزات سنگین، به‌ویژه در شرایط کشت خاص مانند سیستم‌های آکوپونیک با آب آلوده، باید مورد توجه قرار گیرد. ازاین‌رو، کنترل کیفیت مواد اولیه و پایش عناصر سمی در نمونه‌های مورد استفاده برای مصارف غذایی و دارویی ضروری است.

نتایج مطالعه حاضر، فرضیه پژوهش مبنی بر اثر عصاره علف چشمه بر زنده‌مانی سلول‌های HepG2 و بیان ژن‌های PTEN و TERT را تأیید می‌کند. به‌منظور مقایسه یافته‌های حاضر با مطالعات پیشین، می‌توان به پژوهش Mousae و همکاران (2017) اشاره کرد. آنان اثر عصاره رازیانه را بر سرطان در سطح سلولی و در مدل حیوانی بررسی کردند. نتایج نشان داد که بیان ژن TERT در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۸ در گروه تحت تیمار با عصاره رازیانه، در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معناداری کاهش یافت. همچنین، اثر عصاره رازیانه وابسته به غلظت گزارش شد؛ به‌گونه‌ای که افزایش غلظت عصاره با افزایش رشد سلولی و کاهش رشد همراه بود.

یافته‌های پژوهش حاضر، از نظر کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی و تغییر در بیان ژن مرتبط با تومورزایی، با نتایج مطالعه Mousae و همکاران (2017) هم‌راستا است. این هم‌سویی می‌تواند بیانگر ظرفیت برخی ترکیبات گیاهی در تعدیل مسیرهای مولکولی مرتبط با بقا و تکثیر سلولی باشد؛ هرچند برای اثبات یک مکانیسم مشترک، مطالعات مولکولی تکمیلی ضروری است. در پژوهشی که توسط Ahmadzadeh و همکاران (2021) انجام شد، تأثیر عصاره علف چشمه بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی *Shigella sonnei* جداشده از کودکان بررسی شد. نتایج نشان داد که این سویه‌ها، به دلیل دارا بودن ژن‌های مقاومت *tetA* و *tetB*، مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین داشتند. در ادامه، تأثیر عصاره بر بیان این ژن‌ها بررسی شد و مشخص گردید که عصاره علف چشمه موجب کاهش بیان ژن *tetA* در باکتری‌های تیمار شده شده است. مقایسه این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که عصاره علف چشمه در دو مدل زیستی متفاوت، یعنی سلول انسانی و باکتری، می‌تواند بر بیان ژن‌های هدف اثرگذار باشد. بااین‌حال، از آنجا که ژن‌های مورد مطالعه و مسیرهای مولکولی در این دو پژوهش متفاوت هستند، نمی‌توان بدون انجام مطالعات تکمیلی، وجود یک مسیر پیام‌رسانی مشترک را نتیجه‌گیری کرد.

Nikfetrat و Ghorbian (2020) در مطالعه‌ای اثر کروسین، ترکیب مؤثره زعفران، را در ترکیب با دوکسوروبیسین بر رده سلولی سرطان دهان KB بررسی کردند. نتایج نشان داد که تیمار هم‌زمان با کروسین و دوکسوروبیسین موجب افزایش بیان ژن سرکوبگر تومور PTEN و کاهش بیان ژن AKT1 شد. این یافته با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد؛ زیرا در هر دو مطالعه، ترکیبات طبیعی با تعدیل بیان ژن‌های مرتبط با سرطان، اثرات ضدتکثیری بالقوه نشان داده‌اند. این هم‌گرایی بر اهمیت بررسی ترکیبات طبیعی، چه به‌تنهایی و چه در ترکیب با داروهای شیمیایی، برای شناسایی راهکارهای درمانی جدید تأکید می‌کند. در پژوهشی که توسط Keshvary و همکاران (2025) انجام شد، اثر القای آپوپتوز عصاره گیاه شیرینیر بر رده سلولی سرطان تخمدان بررسی گردید. نتایج نشان داد که غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره موجب کاهش حدود ۵۰ درصدی تعداد سلول‌های سرطانی شد، درحالی‌که زنده‌مانی سلول‌های فیبروبلاست تغییر معناداری نداشت. همچنین، بیان ژن‌های BIM و انکوژن SORT1 در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. این یافته‌ها از نظر مشاهده اثرات ضدتکثیری عصاره‌های گیاهی بر سلول‌های سرطانی، با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا هستند و بر ظرفیت بالقوه ترکیبات گیاهی در تعدیل مسیرهای مولکولی مرتبط با سرطان تأکید می‌کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره خالص علف چشمه پس از ۷۲ ساعت، بیشترین اثر مهاری را بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی HepG2 دارد. همچنین، تیمار سلول‌ها با این عصاره با افزایش بیان ژن سرکوبگر تومور PTEN و کاهش بیان ژن TERT همراه بود. بر اساس این یافته‌ها، عصاره علف چشمه می‌تواند به‌عنوان یک گزینه بالقوه و امیدوارکننده برای بررسی‌های بیشتر در زمینه مطالعات آزمایشگاهی سرطان کبد مطرح شود. با این حال، برای تعیین مکانیسم دقیق اثر و ارزیابی ظرفیت درمانی آن، انجام مطالعات تکمیلی در سطح سلولی، مولکولی و در مدل‌های حیوانی ضروری است.

ملاحظات اخلاقی

رده سلولی HepG2 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران (تهران، ایران) تهیه شد. با توجه به استفاده از یک رده سلولی استاندارد و تجاری، این مطالعه نیازمند اخذ تأییدیه جداگانه از کمیته اخلاق پژوهشی نبود.

محدودیت‌های پژوهش

با وجود نتایج امیدوارکننده اولیه، این مطالعه با محدودیت‌هایی از جمله عدم دسترسی به داروهای استاندارد شیمی‌درمانی و محدودیت زمانی در اجرای فرایند پژوهش و جمع‌آوری داده‌ها مواجه بود. همچنین، مطالعه حاضر صرفاً بر یک رده سلولی و عصاره خام گیاه متمرکز بود؛ بنابراین، تعمیم نتایج به شرایط بالینی با احتیاط باید انجام شود. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، اثرات سایتوتوکسیک عصاره علف چشمه به‌صورت تطبیقی با داروهای استاندارد مورد استفاده در درمان سرطان، از جمله دوکسوروبیسین و سیس‌پلاتین، بررسی شود. همچنین، بررسی اثر عصاره بر سلول‌های غیرسرطانی، شناسایی ترکیبات فعال، تعیین مسیرهای مولکولی درگیر و ارزیابی اثرات آن در مدل‌های حیوانی می‌تواند به تعیین دقیق‌تر ظرفیت درمانی این گیاه کمک کند.

منابع

- احمدزاده، شکوفه؛ بیات، منصور؛ و امینی، کیومرث (۱۴۰۰). بررسی مولکولی ژن‌های مقاومت تتراسایکلین در باکتری *Shigella sonnei* جداشده از نمونه بالینی و اثر عصاره علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بر بیان ژن مقاومت به روش Real-time PCR. *مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد*، ۶۴ (۱)، ۲۳۴۰-۲۳۵۲. <https://doi.org/10.22038/mjms.2021.19251>
- کشوری، فاطمه؛ عرب‌زاده، سمیه؛ حسن‌بارانی، معصومه؛ اکبریان، فاطمه؛ و حاج‌رسولی‌ها، شادی (۱۴۰۴). القای آپوپتوز در دودمان سلولی سرطان تخمدان توسط عصاره گیاه شیرینیر (*Galium verum*). *زیست‌شناسی جانوری*، ۴ (۴)، ۱۲۹. <https://doi.org/10.60833/ascij.2025.1195633>

موسایی، زینب؛ شاهرخ‌آبادی، خدیجه؛ و انتظاری، ملیحه (۱۳۹۶). بررسی تأثیر عصاره رازیانه بر تغییرات بیان ژن TERT در تومور القاشده کبد موش. *مجله علوم پزشکی فیض*. ۲۱ (۶)، ۵۴۳-۵۵۲. <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3381-fa.html>

نیک‌فطرت، فرشته؛ و قربیان، سعید (۱۳۹۹). تأثیر کروسین زعفران و دوکسوروبیسین بر ژن‌های مسیر سیگنالینگ آپوپتوز سلولی (PTEN/AKT1) در رده سلولی سرطان اپیدرموئید انسان. *علوم پزشکی رازی (مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران)*، ۲۷ (۵)، ۱۹۷-۲۰۹. <https://rjms.iums.ac.ir/article-1-6139-fa.html>

References

- Ahmadzadeh, S., Bayat, M., and Amini, K. (2021). Molecular study of tetracycline resistance genes in *Shigella sonnei* isolated from clinical samples and the effect of spring grass extract on the expression of resistance gene by Real time-PCR method. *Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences*, 64(1), 2340-2352. <https://doi.org/10.22038/mjms.2021.19251>
- Alsudaney, M., Ayoub, W., Kosari, K., Koltsova, E., Abdulhaleem, M. N., Adetyan, H., ... Yang, J. D. (2025). Pathophysiology of liver cirrhosis and risk correlation between immune status and the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Hepatoma Research*, 11, Article 141. <https://doi.org/10.20517/2394-5079.2024.141>
- Badiger, P., Mannur, V. S., & Koli, R. (2024). Dual drug-loaded cubosome nanoparticles for hepatocellular carcinoma: A design of experiment approach for optimization and in vitro evaluation. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), Article 38. <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00607-3>
- Buitrago-Villanueva, I., Barbosa-Cornelio, R., & Coy-Barrera, E. (2025). Specialized metabolite profiling-based variations of watercress leaves (*Nasturtium officinale* R. Br.) from hydroponic and aquaponic systems. *Molecules*, 30(2), Article 406. <https://doi.org/10.3390/molecules30020406>
- Bulut, H., & Yilmaz, S. M. (2025). An alternative plant for sustainable future: Some biochemical properties of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 54(1), 1-9. <https://doi.org/10.26881/oahs-2025.1.01>
- Chwin, N., & Kiryk, A. (2024). The integral role of PTEN in brain function: From neurogenesis to synaptic plasticity and social behavior. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 84(4), 309-318. <https://doi.org/10.55782/ane-2024-2657>
- Clemente, M., Miguel, M. D., Felipe, K. B., Gribner, C., Moura, P. F., Rigoni, A. A., ... Miguel, O. G. (2021). Effect of watercress extract supplementation on lipid profile and oxidative stress markers in overweight people with physical disability: A randomized, double-blind, and placebo-controlled trial. *Phytotherapy Research*, 35(4), 2211-2219. <https://doi.org/10.1002/ptr.6979>
- Derkyi-Kwarteng, L., Ghartey, F. N., Aidoo, E., Addae, E., Imbeah, E. G., Brown, A. A., & Acquah, S. (2024). A retrospective analysis suggests PTEN expression is associated with favorable clinicopathological features of breast cancer. *Scientific Reports*, 14(1), Article 21645. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-69252-3>
- Dong, R., Najjar, G., Günes, C., & Lechel, A. (2025). Aberrant TERT expression: linking chronic inflammation to hepatocellular carcinoma. *The Journal of Pathology*, 266(2), 130-133. <https://doi.org/10.1002/path.6421>
- Keshvary, F., Arabzadeh, S., Hasanbarani, M., Akbarian, F., & Hajrasouliha, S. (2025). Induction of apoptosis in ovarian cancer cell lines by plant extract *Galium verum*. *Journal of Animal Biology*, 4(4), 129. <https://doi.org/10.60833/ascij.2025.1195633> (in Persian)
- Lelesz, J. É., Csajbók, J., Molnár, P. I., Virág, I. C., & Kutasy, E. T. (2024). Mitigating the accumulation of mercury (Hg) and lead (Pb) through humic acid application under aquaponic conditions using watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) as a model plant. *Plants*, 13(17), Article 2386. <https://doi.org/10.3390/plants13172386>
- Liu, Y., Chang, Q., Wu, X., Yu, Y., & Zhang, H. (2022). Effect of chemokine CXCL14 on in vitro angiogenesis of human hepatocellular carcinoma cells. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 128(5), 1316-1322. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1769677>

- Maluwa, C., Zinan'dala, B., Chuljerm, H., Parklak, W., & Kulprachakarn, K. (2025). Watercress (*Nasturtium officinale*) as a functional food for non-communicable diseases prevention and management: A narrative review. *Life*, 15(7), Article 1104. <https://doi.org/10.3390/life15071104>
- Martín-León, V., Rubio, C., Rodríguez-Hernández, Á., Zumbado, M., Acosta-Dacal, A., Henríquez-Hernández, L. A., ... Luzardo, O. P. (2023). Evaluation of essential, toxic and potentially toxic elements in leafy vegetables grown in the Canary Islands. *Toxics*, 11(5), Article 442. <https://doi.org/10.3390/toxics11050442>
- Mishima, M., Takai, A., Takeda, H., Iguchi, E., Nakano, S., Fujii, Y., ... Seno, H. (2024). TERT upregulation promotes cell proliferation via degradation of p21 and increases carcinogenic potential. *The Journal of Pathology*, 264(3), 318–331. <https://doi.org/10.1002/path.6351>
- Mousae, Z., Shahrokhbadi, K., & Entezary, M. (2017). Evaluation of the effect of fennel extract on TERT gene expression changes in mouse liver tumors induced with cancer [in Persian]. *Feyz Medical Sciences Journal*, 21(6), 543–552. <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3381-en.html> (in Persian)
- Nikfetrat, F., & Ghorbian, S. (2020). Saffron crocin and doxorubicin apoptotic effect on the cellular signaling pathway genes (pten/akt1) on human epidermoid cancer cells (KB). *Razi Journal of Medical Sciences (Journal of Iran University of Medical Sciences)*, 27(5), 197–209. SID. <https://sid.ir/paper/389219/en> (in Persian)
- Olatunji, A. O., Marzan, M., Oishee, N. N., & Acevedo-Duncan, M. (2025). Involvement of atypical PKCs in liver cancer. *Cancer Research*, 85(8_Supplement_1), Article 1598. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2025-1598>
- Sharma, K. K., Mohsin, M., Mittal, P., Ali, Z., Fatma, N., Upadhyay, P., ... Kumar, G. (2024). Diagnosis of the initial stage of hepatocellular carcinoma: A review. *Current Pharmaceutical Design*, 30(22), 1708–1724. <https://doi.org/10.2174/0113816128298875240321073907>
- Soudkhah, S., Keyghobadi, S., Shadboorestan, A., Gholami, M., Sarajar, B. O., Maghsoudi, A. S., ... Hassani, S. (2025). The hydroalcoholic extract of *Nasturtium officinale* protectively inhibits apoptotic and inflammatory pathways in hepato- and nephrotoxicity: An in vivo study. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 15(3), 1177. <https://doi.org/10.22038/ajp.2024.25213>
- Štancl, P., Gršković, P., Držaić, S., Vičić, A., Karlić, R., & Korać, P. (2024). RNA-sequencing identification of genes supporting HepG2 as a model cell line for hepatocellular carcinoma or hepatocytes. *Genes*, 15(11), Article 1460. <https://doi.org/10.3390/genes15111460>
- Tragkola, V., Anastopoulos, I., Kyriakou, S., Amery, T., Franco, R., Pappa, A., & Panayiotidis, M. I. (2024). Naturally-derived phenethyl isothiocyanate modulates apoptotic induction through regulation of the intrinsic cascade and resulting apoptosome formation in human malignant melanoma cells. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 34(9), 985–999. <https://doi.org/10.1080/15376516.2024.2369666>
- Uyumlu, A. B., & Yilmaz, H. Ç. (2022). Determination of some trace and heavy elements, in vitro antioxidant activity, total phenolic and phenethyl isothiocyanate content in watercress from Turkey. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 34(6), 537–543. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2022.v34.i6.2898>
- Voutsina, N., Hancock, R. D., Becerra-Sanchez, F., Qian, Y., & Taylor, G. (2024). Characterization of a new dwarf watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) 'Boldrewood' in commercial trials reveals a consistent increase in chemopreventive properties in a longer-grown crop. *Euphytica*, 220(7), Article 106. <https://doi.org/10.1007/s10681-024-03360-z>