

## تأثیر کروسین بر بیان ژن‌های MMP-2 و MMP-9 در بافت کبد موش‌های صحرایی تیمار شده با کادمیوم: یک گزارش کوتاه

فاطمه کسای زاده<sup>۱</sup>، نسترن اصغری مقدم<sup>۲</sup>، سولماز شهلا<sup>۳</sup>

دریافت مقاله: ۹۹/۰۶/۲۹ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۹/۰۷/۱۳ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۹/۰۸/۰۳ پذیرش مقاله: ۹۹/۰۸/۱۴

### چکیده

زمینه و هدف: یکی از عوامل ایجاد سرطان کبد، فلز سنگین کادمیوم است. کروسین ترکیبی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. هدف این مطالعه تعیین اثر کروسین بر بیان ژن‌های ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ و ۹ (MMP2 و MMP9) در سرطان کبد القاء شده توسط کادمیوم در موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۴۰ موش صحرایی ماده به ۴ گروه کنترل، کروسین (۱۵ mg/kg)، کادمیوم (۲۰ mg/kg)، کروسین±کادمیوم تقسیم شدند. پس از ۸ هفته تیمار از طریق گاواژ روزانه، بافت کبد به‌منظور بررسی بیان ژن‌ها با روش Real-Time PCR جدا شد. داده‌ها با روش one-way ANOVA آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد مصرف کادمیوم بیان دو ژن MMP2 و MMP9 را در بافت کبد افزایش می‌دهد ( $p < 0.001$ ). مصرف کروسین باعث کاهش قابل توجه بیان هر دو ژن در بافت کبد شد ( $p < 0.001$ ).

نتیجه‌گیری: کروسین می‌تواند تأثیر افزایش‌دهنده کادمیوم بر بیان ژن‌های MMP2 و MMP9 را در بافت کبدی کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: کبد، کادمیوم، کروسین، MMP2، MMP9

۱- کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- (نویسنده مسئول) استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تلفن: ۰۲۱-۴۴۶۰۰۱۸۴، دورنگار: ۰۲۱-۴۴۶۰۰۱۸۴، پست الکترونیکی: nas.asgharimoghaddam@iauctb.ac.ir

۳- استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

## مقدمه

فرآیند ایجاد بدخیمی تحت تأثیر ژن‌ها و نیز عوامل محیطی است. ایجاد و پیشرفت سرطان رویدادی چند مرحله‌ای است که معمولاً ۲۰ تا ۳۰ سال از زمان مواجهه با عامل کارسینوژن تا ایجاد بیماری به طول می‌انجامد [۱]. تنوع ژنتیکی و عوامل محیطی مختلف در ایجاد آسیب دیدگی کبد نقش دارند [۲]. عوامل خطرزای محیطی شامل عفونت با ویروس هپاتیت B (HBV) و C (HCV)، مصرف الکل و سیگار، رژیم غذایی و آلاینده‌های محیطی مانند آفلاتوکسین، عناصری مانند آرسنیک و کادمیوم می‌باشند [۱]. کادمیوم یک عنصر کمیاب سنگین است و به عنوان یک سرطان‌زای انسانی طبقه‌بندی شده‌است که ریه‌ها، کبد و کلیه‌ها را هدف قرار می‌دهد و قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض کادمیوم می‌تواند به عملکرد این اندام‌ها آسیب برساند و در طولانی مدت باعث رشد تومور شود [۳]. اصلی‌ترین راه آلودگی با کادمیوم از طریق خوردن سبزی‌جات کشت شده در خاک‌های آلوده به کادمیوم است [۲]. فلزات سنگین در عمل سوخت و ساز بدن وارد شده و عمل متابولیسم را مختل می‌نمایند و اثرات جدی بر سیستم عصبی، کلیه‌ها، کبد و خون می‌گذارند [۳]. کروکوس ساتیوس (*Crocus sativus*)، که به عنوان زعفران شناخته می‌شود گیاهی از راسته مارچوبه‌سانان (*Asparagales*) و تیره زنبقیان (*Iridaceae*) است. آنالیز شیمیایی زعفران نشان داده است که ترکیبات مؤثر اصلی آن شامل کروسین (ترکیبات کارتنوئیدی عامل رنگ زعفران) پیروکسین (عامل طعم) سافرانال (عامل معطر) می‌باشد که کروسین اثر مهاری بر سنتز اسید نوکلئیک داخل سلولی نشان داده است، فرمول شیمیایی کروسین C<sub>44</sub>H<sub>64</sub>O<sub>24</sub> می‌باشد [۴]. خواص درمانی کروسین بر روی

انواعی از بیماری‌ها را به خاطر فعالیت ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی آن می‌دانند. از آنجایی که استرس اکسیداتیو و التهاب و در نتیجه آن افزایش بیان انواعی از ماتریکس متالوپروتئیناز ((Metalloproteinases (MMPs)) به عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار بر آسیب سلولی ناشی از اثر کادمیوم محسوب می‌شوند، بنابراین مهار استرس اکسیداتیو توسط مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کروسین می‌تواند نقش مهمی در مهار یا کاهش بیان MMPs و کاهش آسیب سلولی داشته باشد. ماتریکس متالوپروتئینازها اندوپپتیدازهایی هستند که در بازسازی ماتریکس خارج سلولی نقش اساسی دارند. بیان و فعالیت MMPs در سرطان‌های انسانی افزایش می‌یابند. دلایل انتخاب ژن MMP-2 و ژن MMP-9 با یکدیگر این است که به لحاظ ساختاری با هم مرتبط هستند. MMP-2 و MMP-9 ویژگی مشترک در دامنه اتصال را دارند، در حالت طبیعی خود کلاژن‌های IV و V را کاهش می‌دهند و نیز سیتوکاین‌ها را فعال می‌کنند [۵].

بر اساس نتایج علمی به دست آمده از اثر مهاری کروسین بر آسیب بافت کبدی، هدف از تحقیق حاضر، تعیین تأثیر کروسین بر بیان ژن‌های MMP-2 و MMP-9 به عنوان ژن‌های مؤثر در پیشرفت آسیب و متاستاز در بافت کبد موش‌های صحرایی آسیب دیده ناشی از مصرف کادمیوم بود.

## مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر، ۴۰ سر موش صحرایی ماده بالغ (۲۰۰-۲۵۰ گرم) از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. آن‌ها تحت شرایط استاندارد (دما ۲۳-۲۰ درجه سانتی گراد، ۵±۵ درصد رطوبت و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته) برای سازگاری با محیط نگهداری شدند. بعد از ۷ روز

بیش تر تعیین اعتبار شدند. واکنش رونویسی معکوس با کیت PrimScript RT Reagent Kit (Japan Takara ) انجام شد. پرایمرها با کمک نرم افزار 7 Oligo طراحی و برای تأیید در سایت NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) ارزیابی شدند و برای ساخت به شرکت پیشگام ارسال شدند. از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده برای ژن های MMP2-F, 5'(-) MMP2 CAAGTTCAACGGCACAGTCA-3' و MMP2-R, 5'(-) MMP9 (CCCCATTTGATGTTAGCGGG-3' MMP9-F, 5'-GAACACCATCGAGACCATGC-3') و MMP9-R, 5'-GGTCCAGGTCAGGTGTGTAA-3' و ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی 5'(-) GAPDH-F, 5'(-) و AGGATGGTCTACTGGCACAC-3' GAPDH-R, 5'(-) و GTGCAGGACAAATAGGAGCG-3' انجام شد. cDNA به دست آمده به عنوان الگو برای واکنش Real-Time PCR با دستگاه Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Australia) و مسترمیکس شرکت AMPLIQON به شرح زیر استفاده شد: دنا تورا سیون ابتدایی ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی گراد که با ۴۰ سیکل تکثیر ادامه یافت: ۱۵ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی گراد برای MMP-2 و MMP-9 و ۵۴ درجه سانتی گراد برای GAPDH و ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد. منحنی های تکثیر و ذوب رسم شدند. به منظور تأیید صحت محصول واکنش Real-time PCR، از آگارز ژل ۲ درصد استفاده شد، تا اندازه قطعات تولید شده بر روی ژل آگارز اندازه گیری شود.

موش های صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه یک: گروه کنترل که تیماری دریافت نکردند. گروه دوم: تیمار شده با کروسین (Sigma- Aldrich, USA) (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۸ هفته. گروه سوم: تیمار شده با کادمیوم (Germany, Alfa Aesar) (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۸ هفته. گروه چهارم (گروه کمپلکس): تیمار شده با کادمیوم (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و کروسین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۸ هفته. کادمیوم و کروسین به صورت حل شده در آب با روش گاوژ به حیوانات داده شد. دوزهای مصرفی از کادمیوم و کروسین براساس مطالعات پیشین انتخاب شدند [۶]. پس از ۸ هفته تیمار مدل های حیوانی، موش های صحرایی به روش اخلاقی یوتانایز شدند و پس از باز شدن بدن، بافت کبد خارج گردید و سپس به RNA Later منتقل شد و تا زمان شروع آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. آزمایش های انجام شده روی تمامی حیوانات در شرایط کاملاً یکسان و مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است (NIH publication n. 86-23, revised 1985). مطالعه دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.SRB.REC.1397.029 از دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران بود.

RNA تام از بافت کبد با استفاده از کیت RiboEx (GENE ALL, South Korea) بر طبق پروتکل تولیدکننده جدا شد. کمیت و کیفیت RNA با اسپکتروفتومتری (NanoDrop ND-1000 spectrophotometer; Thermo Scientific, Waltham, MA Fisher) و الکتروفورز آگارز ژل ۱/۵ درصد ارزیابی شد. به منظور سنتز cDNA، نمونه هایی با نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر ۲-۱/۸ برای بررسی های

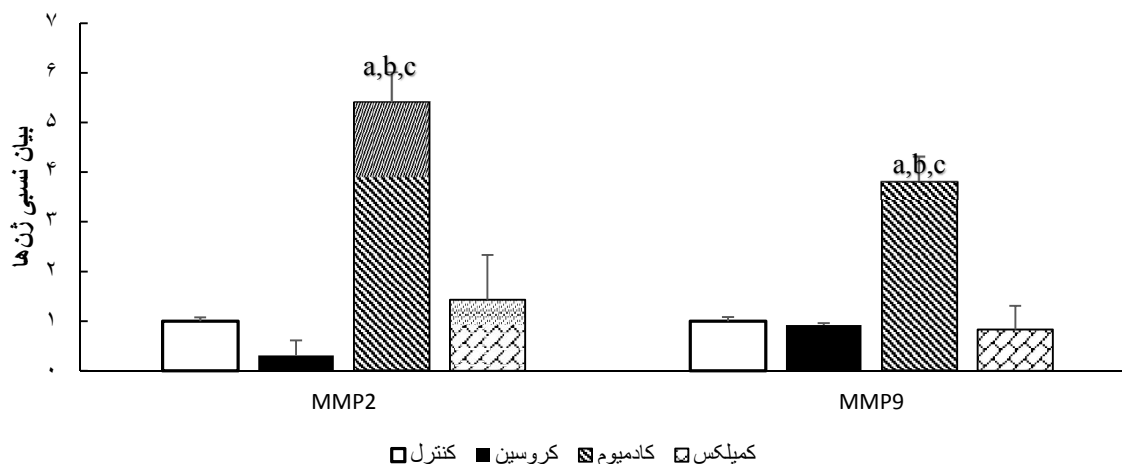
تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شدند. پس از تکثیر، CT (cyclic threshold) نمونه‌ها تعیین شد و کارایی پرایمرها با استفاده از نرم افزار LinRegPCR(11.0) ارزیابی شد. میزان بیان ژن‌های MMP2 و MMP9 در مقایسه با ژن کنترل داخلی GAPDH بر اساس فرمول  $E^{-\Delta\Delta CT}$  ((کارایی پرایمر)+1(E=) به دست آمد (نرم‌افزار LinRegPCR v.10.2). آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey مورد سنجش قرار گرفت.  $P \leq 0.05$  به لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. محاسبه آماری این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت.

## نتایج

مقایسه بیان ژن‌های MMP2 و MMP9 در میان گروه‌های شرکت کننده در این پژوهش در شکل ۱ آمده است. بیان ژن

MMP2 در گروه کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل و گروه مصرف کننده هم‌زمان کادمیوم و کروسین، به ترتیب، به میزان ۴/۹۸۹ و ۵/۴۲۲ برابر افزایش داشت ( $p \leq 0.001$ ). اختلاف میزان بیان ژن میان گروه مصرف کننده کروسین، گروه تیمار شده با کادمیوم و کروسین نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود.

محاسبات آماری برای بررسی تغییرات میزان بیان ژن MMP9 نشان داد که بیان این ژن در گروه کادمیوم نسبت به گروه کنترل افزایش ۳/۸۳ برابر داشته است که به لحاظ آماری معنی‌دار بوده است ( $p \leq 0.001$ ). بیان ژن MMP9 در گروه تیمار شده با کروسین و کادمیوم کاهش معنی‌دار ۴/۷۵ برابری را نشان داد ( $p \leq 0.001$ ). اختلاف میزان بیان ژن MMP9 در گروه مصرف کننده کروسین، گروه تیمار شده با کادمیوم و کروسین نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود.



شکل ۱- بررسی میزان بیان ژن‌های MMP2 و MMP9 در گروه‌های کنترل، کروسین، کادمیوم و کمپلکس (مصرف هم‌زمان کادمیوم و کروسین). هر گروه شامل ۱۰ سر موش صحرایی بود که از هر کدام از نمونه‌ها با ۳ بار تکرار تجربی آزمایش انجام شد و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده است. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه داده‌ها استفاده شد.  $a$  نشان دهنده تفاوت معنی‌داری با

گروه کنترل ( $P \leq 0.001$ )،  $b$  نشان دهنده تفاوت معنی داری با گروه کروسین ( $P \leq 0.001$ ) و  $c$  نشان دهنده تفاوت معنی داری با گروه کمپلکس ( $P \leq 0.001$ ) است.

## بحث

کروسین ترکیب کارتنوئیدی با خاصیت دارویی است که از گیاه *Crocus sativus* استخراج می گردد. به نظر می رسد که ویژگی های دارویی کروسین به فعالیت آنتی اکسیدانی آن مربوط می شود [۲]. مطالعات صورت گرفته نشان داده اند که کروسین در تنظیم تکثیر و تمایز سلولی، حفاظت از عملکرد طبیعی سلول از طریق فعالیت های ضد التهابی و آپوپتوزی نقش دارد. علاوه بر این، اثرات بهبود دهنده کروسین در برابر آسیب کبدی نشان داده شده است [۴] از سویی دیگر، مشخص شده است که جلوگیری از ایجاد تومور اولیه، به دلیل بازه بالای تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی در ژن های سرکوب کننده تومور و حضور عوامل بیرونی و کارسینوژن ها تقریباً غیرممکن است. پس اگر چه نمی توان از ایجاد تومور اولیه جلوگیری کرد، تلاش ها برای یافتن روش ها و درمان های پیشگیرانه در دستور کار محققان زیادی قرار دارد [۷].

از جمله مواد کارسینوژن می توان به فلزات سنگین اشاره کرد. کادمیوم به عنوان یک فلز سنگین به عنوان یک آلاینده محیطی شناخته می شود که در رتبه هشتم لیست مواد خطرناک قرار گرفته است و نیز توسط IARC به عنوان یک کارسینوژن انسانی ایجادکننده تومور شناخته شده است [۹-۸]. کادمیوم بعد از ورود به بدن به پروتئین کوچک غنی از سیستئین به نام متالوتیونین اتصال می یابد و در بافت های مسئول در عمل سم زدایی، نظیر کبد و کلیه انباشته

می گردد [۱۰]. در این حالت می تواند عوارض پاتولوژیک خود را در سطح بافت و مولکولی ایجاد نماید. برخی از مطالعات نقش کادمیوم در القاء سرطان را ناشی از افزایش استرس اکسیداتیو در نتیجه تولید رادیکال آزاد و یا ایجاد التهاب به عنوان دلیل احتمالی آسیب سلولی می دانند [۲]. تحقیقات نشان داده اند که متالوپروتئینازهای ماتریکس خارج سلولی در تخریب ساختار ماتریکس، رگزایی جدید تومور و متاستاز متعاقب آن نقش ایفاء می کنند [۵]. هم چنین دو عضو متالوپروتئینازها یعنی MMP2 و MMP9 از فاکتورهای مهم در تهاجمی شدن سلول های سرطانی محسوب می شوند و احتمالاً بیان آن ها در ارتباط با افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از رادیکال های آزاد می باشد، لذا مهار پروسه استرس اکسیداتیو و کاهش سطح آنتی اکسیدان ها می تواند احتمالاً با کاهش بیان این MMPs سبب مهار پیشرفت سلول های سرطانی و در نتیجه بهبود آن گردد [۱۰].

با در نظر گرفتن نقش آسیب زای کادمیوم بر بافت کبد [۱۱] و نقش ژن های MMP2 و MMP9 در پیشرفت سرطان کبد [۱۲] در مطالعه حاضر برای نخستین بار تأثیر کروسین بر بیان ژن های ذکر شده در بافت کبدی موش های صحرایی تیمار شده با کادمیوم بررسی شد.

نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان دادند که کروسین می تواند بر بیان هر دو ژن MMP2 و MMP9 مؤثر باشد و میزان آن ها را در نمونه های تیمار شده با کادمیوم و

کروسین نسبت به نمونه‌های تحت تأثیر کادمیوم به میزان قابل توجهی کاهش دهد (به ترتیب ۴/۹۹ و ۴/۷۵ برابر). تاکنون مطالعات مختلفی درباره اثربخشی کروسین بر انواع مختلفی از سرطان‌ها انجام شده است که نتایج مشابهی با یافته‌های مطالعه حاضر داشته‌اند. از جمله در مطالعه Ashfari و همکارانش اثر ضد سرطان کروسین بر سرطان پستان بررسی شد و نشان داده شد که بیان سیکلین D1 و P21<sup>Cip1</sup> در تومورهای پستانی در اثر مداخله با کروسین سرکوب می‌شوند. این مطالعه، نشان داد که سرکوب رشد تومور نتیجه مهار چرخه سلولی بوده است [۱۳]. مطالعه دیگر که توسط Vazifedan و همکارانش انجام شد، اثربخشی کروسین را در سرطان سر و گردن (HN-5) مورد بررسی قرار داد. آن‌ها سلول‌های HN-5 را کشت داده و بعضی از سلول‌ها را با کروسین انکوبه کردند و بعد آن‌ها را در معرض پرتوهای گاما قرار دادند. سپس زنده ماندن سلول‌ها را با استفاده از روش MTT اندازه‌گیری کردند. آن‌ها دریافتند که زنده ماندن در سلول‌های تیمار شده با کروسین به طور معنی‌داری بیش‌تر شده بود [۱۴]. در یک مطالعه دیگر توسط بخشی و همکارانش بیان شد که تجویز کروسین به موش‌های توموری C57BL / 6 ۸۵ درصد متاستاز به ریه را کاهش داده است.

کروسین همچنین بیان MMP-2، MMP-9، ERK-2 را مهار کرده بود [۱۲]. همچنین مطالعه Algandaby نشان داده است که کروسین اثر بهبود دهنده‌ای بر فیروز کبدی دارد و یکی از ژن‌هایی که بیان آن در اثر کروسین کاهش می‌یابد، MMP2 بوده است [۱۵]. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که کروسین می‌تواند با مهار MMP2 و MMP9 به عنوان دو جزء اصلی از مجموعه متالوپروتئینازها از پیشرفت سریع تومور و دست اندازی آن به بافت‌های دیگر جلوگیری نماید.

### نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت که استفاده از کروسین به عنوان یکی از مواد مؤثره زعفران می‌تواند عوارض کبدی ناشی از کادمیوم را جبران نماید و نیز باعث کاهش حدوداً ۵ برابری میزان بیان دو ژن MMP2 و MMP9 و باز گرداندن میزان بیان آن‌ها به نمونه کنترل گردد. با توجه به این‌که دارویی برای کاهش بیان MMP2 وجود ندارد می‌توان کروسین را به عنوان گزینه مناسبی در نظر گرفت. همچنین به نظر می‌رسد مصرف کروسین می‌تواند به عنوان عاملی برای طب پیش‌گیری در نظر گرفته شود.

## References

- [1] Mohammadian MS. Liver cancer in the world: epidemiology, incidence, mortality and risk factors. *WCRJ* 2018; 5(2):e1082.

- [2] Zhang L, Huang Y, Zhu Y, Yu Z, Shao M, Yunbo L. Identification and Characterization of Cadmium-

- Related Genes in Liver Carcinoma. *Biol* 2018; 182: 238-47.
- [3] Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis. *MUREAV* 2003; 533(1-2): 107-20.
- [4] Yaribeygi H, Mohammadi MT, Sahebkar A. Crocin potentiates antioxidant defense system and improves oxidative damage in liver tissue in diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 2018; 98: 333-7.
- [5] Quintero-Fabián S, Arreola R, Becerril-Villanueva E, Torres-Romero JC, Arana-Argáez V, Lara-Riegos M, et al. Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. *Front Oncol* 2019; 9: 1370.
- [6] Ghotbeddin Z, Fatemi-Tabatabaei S, Tabandeh M, Mirzabeigi M, Badripour N, Amiri R. Effect of crocin on inhibitory avoidance memory, balance and explorative behaviours following cisplatin administration in rat. *Feyz* 2017; 21(2): 118-25. [Farsi]
- [7] Jiao L, Bi L, Lu Y, Wang Q, Gong Y, Shi J and Xu L. Cancer chemoprevention and therapy using Chinese herbal medicine. *Biol Proced Online* 2018; 20(1).
- [8] ASTDR. "Agency for Toxic Substances and Disease Registry". 12, 8, 2020. [Online]. Available: <http://www.atsdr.cdc.gov/>.
- [9] Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis. *MUREAV* 2003; 533(1-2): 107-20.
- [10] Gong W, Ma Y, Li A, Shi H, Nie S. Trimetazidine suppresses oxidative stress, inhibits MMP-2 and MMP-9 expression, and prevents cardiac rupture in mice with myocardial infarction. *CARDIOVASC THER* 2018; 36(5): e12460.
- [11] Ju H, Arumugam P, Lee J, Song JM. Impact of Environmental Pollutant Cadmium on the Establishment of a Cancer Stem Cell Population in Breast and Hepatic Cancer. *ACSOmega* 2017; 2(2): 563-72.
- [12] Ashrafi M, Bathaie Z, Abroun S, Azizian M. Effect of Crocin on Cell Cycle Regulators in N-Nitroso-N-Methylurea-Induced Breast Cancer in Rats. *DNA Cell Biol* 2015; 34(11): 684-91.
- [13] Vazifedan V, Mousavi SH, Sargolzaei J, Soleymanifard S, Fani Pakdel A. Study of Crocin & Radiotherapy-induced Cytotoxicity and Apoptosis in the Head and Neck Cancer (HN-5) Cell Line. *IJPR* 2017; 16 (1): 230-7.
- [14] Bakshi HA, Hakkim FL, Sam S, Javid F, Rashan L. Dietary crocin reverses melanoma metastasis. *J Biomed Res* 2018; 32 (1): 39-50.

[15] Algandaby MM. Antifibrotic effects of crocin on thioacetamide-induced liver fibrosis in mice. *Saudi J*

*Biol Sci* 2018; 25 (4): 747-54.

## The Effect of Crocin on the Expression of MMP-2 and MMP-9 Genes in the Liver Tissue of Cadmium-Treated Rats: A Short Report

F. Kasaezadeh<sup>1</sup>, N. Asghari-Moghaddam<sup>2</sup>, S. Shahla<sup>3</sup>

Received:19/09/2020 Sent for Revision: 04/10/2020 Received Revised Manuscript:24/10/2020 Accepted:04/11/2020

**Background and Objectives:** One of the causes of liver cancer is the heavy metal cadmium. Crocin is a compound with antioxidant properties. This study aimed to investigate the effect of crocin on the expression of matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP2 and MMP9) genes in cadmium-induced liver cancer in rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 40 female rats were randomly divided into four groups: Control; Crocin (15 mg/kg); Cadmium (20 mg/kg); Crocin±cadmium. After 8 weeks of daily treating by gavage, the liver tissue was removed to evaluate gene expression by Real-Time PCR. Data were analyzed by One-way ANOVA.

**Results:** The results revealed that cadmium consumption increases the expression of MMP2 and MMP9 genes in the liver tissue ( $p<0.001$ ). Crocin significantly reduced the expression of both genes in the liver tissue ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** Crocin can reduce the raising effect of cadmium on the expression of MMP2 and MMP9 in the liver tissue.

**Key words:** Liver, Cadmium, Crocin, MMP2, MMP9

**Funding:** This manuscript did not have any funds

**Conflict of interest:** None declared

**Ethical approval:** The Ethics Committee of Tehran Science and Research branch of Islamic Azad University approved the study (IR.IAU.SRB.REC.1397.029)

**How to cite this article:** Kasaezadeh F, Asghari-Moghaddam N, Shahla S. The Effect of Crocin on the Expression of MMP-2 and MMP-9 Genes in the Liver Tissue of Cadmium-Treated Rats: A Short Report. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2021; 19 (10): 1123-30. [Farsi]

1- MSc in Genetics, Dept. of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0001-6332-5038

2- Assistant Prof., Dept. of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-6553-7875 (Corresponding Author) Tel: (021) 44600184, Fax: (021) 44600184, E-mail: nas.asgharimoghaddam@iauctb.ac.ir

3- Assistant Prof., Dept. of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran ORCID: 0000-0001-9884-214X