

Heat-induced cell death enhanced by auraptene in colon carcinoma cells

Seyed Mahdi Moussavi¹, Farhang Haddad¹, Fatemeh B. Rassouli^{1,2*}, Mehrdad Iranshahi³,
Shokouhoman Soleymani⁴

¹Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

²Cell and Molecular Biotechnology Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

³Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Biotechnology Research Center, Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁴Department of Medical Physics, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
Corresponding author's e-mail: behnam3260@um.ac.ir

Abstract

Introduction: Heat stress causes dramatic changes in the cell cycle, plasma membrane, signal transduction pathways, and can be used to induce damage in malignant cells. The application of hyperthermia, alone or in combined therapeutic modalities, is considered as an effective therapeutic strategy. Although multidisciplinary strategies have improved the outcome of systemic therapies in colorectal carcinoma (CRC) patients, the survival rate of this disease is still low. Methods and materials: To design a novel anticancer approach for CRC, the aim of present work was to evaluate effects of heat stress in combination with auraptene (AUR), the most abundant natural coumarin, in HT-29 cells. To do so, cells were treated with non-toxic concentrations of AUR (10 and 20 µg/ml) for 24, 48 and 72 h. Afterwards, heat shock at 51°C was applied followed by 24 h recovery. Viability of cells was assessed by MTT test and cell cycle analysis was performed upon PI staining. Results of our study revealed that AUR (20 µg/ml) increased sensitivity of HT-29 cells to heat stress up to 41%. Flow cytometry analysis also confirmed results of MTT assay, and indicated changes in the cell cycle in comparison with corresponding control treatment. To determine effects of this combinatorial treatment in molecular level and explain obtained results, changes in the expression of genes involved in heat shock response will be examined by RT-PCR. In conclusion, present results indicated great pharmaceutical value of AUR, and this coumarin could be used *in vivo* to evaluate responsiveness of CRC cells to thermal therapy.

Key words: Heat stress, Colon carcinoma, Auraptene.

افزایش مرگ سلولی ناشی از القای حرارتی به کمک آئوراپتن در سلول های کارسینومای کولون

سیدمهدی موسوی ۱، فرهنگ حداد ۱، فاطمه بهنام رسولی ۱ و ۲، مهرداد ایرانشاهی ۳، شکوه الزمان سلیمانی فرد ۴

۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۲ گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳ گروه فارماکونوزی و بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۴ گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

آدرس پست الکترونیک نویسنده مسول: behnam3260@um.ac.ir

چکیده

شوک حرارتی باعث ایجاد تغییراتی در چرخه سلولی، غشای پلاسمایی، اسکلت سلولی، مسیرهای پیام رسانی و بیان پروتئین های اختصاصی می گردد. استفاده از شوک حرارتی به تنهایی و یا در ترکیب با روش های درمانی، بعنوان یک رویکرد موثر بر علیه سلول های سرطانی محسوب می گردد. اگرچه روش های درمانی کنونی کیفیت زندگی بیماران کارسینومای کولون بهبود بخشیده اند، اما میزان بقای این بیماری همچنان پایین است. به منظور طراحی یک رویکرد درمانی جدید برای کارسینومای کولون، هدف مطالعه حاضر تعیین تاثیر شوک حرارتی همراه با آئوراپتن، که فراوان ترین کومارین طبیعی است، بر روی سلول های HT-29 بود. به این منظور سلول ها با غلظت های غیرسمی از آئوراپتن (۱۰ و ۲۰ $\mu\text{g/ml}$) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند و پس از آن شوک حرارتی ۵۱ درجه سانتیگراد بکار گرفته شد. سپس میزان بقای سلولی به کمک روش MTT سنجیده شد و چرخه سلولی نیز پس از رنگ آمیزی با PI مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که آئوراپتن با غلظت ۲۰ $\mu\text{g/ml}$ حساسیت سلول های HT-29 را به شوک حرارتی تا ۴۱٪ افزایش داد. بررسی فلوسایتومتری نیز نتایج MTT را تایید نمود و تغییرات چرخه سلولی را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. برای تعیین تاثیر این تیمار ترکیبی دز سطح مولکولی و توضیح نتایج بدست آمده، تغییر میزان بیان ژن های درگیر در پاسخ های شوک حرارتی توسط تکنیک RT-PCR بررسی خواهد شد. بطور کلی نتایج حاضر نشان دهنده ارزش دارویی بالای آئوراپتن است که می تواند در شرایط *in vivo* جهت ارزیابی پاسخ سلول های کارسینومای کولون به درمان حرارتی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: شوک حرارتی، کارسینومای کولون، آئوراپتن