بررسی ترشح Transforming Growth Factor-beta2 از سلول‌های سرطانی تخمدان تیمارشده با عصاره‌های آبی و الکلی و اسانس گیاه دارویی زنیان

مقاله برگزیده جشنواره حکمت سینوی
فروزان کریمی
مریم مبینی کشه
محمد کمالی‌نژاد
حسین حاتمی
فرزانه لبیبی
حسن دربندی تمیجانی
بابک فرخی
حمید سوری

چکیده

سابقه و هدف: طبق نتیجه یکی از مطالعات انجام‌شده در کشور، عصاره‌های آبی و الکلی بذر گیاه *Trachyspermum copticum* (L.) Link (زنیان) که بومی ایران، مصر، افغانستان و هندوستان می‌باشد، بر سلول‌های سرطان تخمدان انسانی، اثرات سایتوتوکسیک دارند. هدف این مطالعه، بررسی اثرات غلظتهای غیرکشنده عصاره‌های آبی و الکلی، و اسانس بذر گیاه فوق بر ترشح فاکتور دگرگونی رشد- بتا- دو (transforming growth factor-beta2) از سلول‌های سرطان تخمدان انسانی A2780 نوع حساس و مقاوم به درمان با داروی سیس‌پلاتین بود.

روش بررسی: دو نوع سلول سرطان تخمدان انسانی (A2780) حساس و مقاوم به درمان با داروی سیس‌پلاتین، تحت تأثیر غلظتهای مختلف از عصاره‌های آبی و الکلی بذر گیاه زنیان (از ۵۰ الی ۷۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، قرار داده شدند؛ سپس با استفاده از روش MTT و محاسبه درصد کشندگی عصاره‌ها، تنها غلظتهایی از عصاره‌ها

انتخاب شدند که طی ۲۴ ساعت انکوباسیون، فاقد اثر سایتوتوکسیک بر سلول‌ها بودند. برای مجاورت عصاره آبی با سلول‌های حساس، غلظتهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰۰ و برای مجاورت با سلول‌های مقاوم، غلظتهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر انتخاب شدند. برای مجاورت عصاره الکلی با سلول‌های حساس و مقاوم، غلظتهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر انتخاب شدند. به علت سایتوتوکسیک بودن اسانس حتی با غلظتهای بسیار اندک، این ماده از مطالعه حذف شد. سوپرناتانت محیطهای کشت با تکنیک الایزا از نظر غلظت TGF-beta2 مورد سنجش قرار گرفت. نتایج، با تست آزمون مقایسه میانگین‌ها آنالیز شدند. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها: تیمار سلول‌های حساس، با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و همچنین تیمار سلول‌های مقاوم با غلظتهای ۵۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبی با غلظتهای TGF-beta2 بسیار کمتری در سوپرناتانت نسبت به سایر غلظتها همراه بود ($p<۰/۰۰۱$). ولی در اثر تیمار سلول‌ها با غلظتهای مختلفی از عصاره الکلی، اختلاف معنی‌داری در غلظت TGF-beta2 در بین سوپرناتانت‌ها ملاحظه نشد.

نتیجه‌گیری: تیمار سلول‌های سرطان تخمدان انسانی (A2780، از نوع حساس و مقاوم به سیس‌پلاتین) با غلظتهای خاصی از عصاره آبی، با غلظت‌های بمراتب کمتری از TGF-beta2 در سوپرناتانت محیط کشت همراه بود. با توجه به نقش مهم TGF-beta2 در رشد و متاستاز سلول‌های سرطانی، مطالعات تکمیلی بررسی‌کننده ترکیب شیمیایی عصاره آبی و سازوکار کمتربودن سطح TGF-beta2 در سوپرناتانت، به روشن‌شدن نوع ارتباط عصاره آبی بذر گیاه زنیان با TGF-beta2 و اثرات احتمالی آن در کنترل رشد و متاستاز سلول‌های سرطانی تخمدان کمک خواهند کرد.

واژگان کلیدی:

سرطان تخمدان؛ انسان؛ سیس‌پلاتین؛ عصاره؛ اسانس؛ زنیان *Trachyspermum copticum* (L.) Link.

بررسی ترشح Transforming Growth Factor-beta2 از سلول‌های سرطانی تخمدان تیمارشده با عصاره‌های آبی و الکلی و اسانس گیاه دارویی زنیان

فروزان کریمی،مریم مبینی کشه،محمد کمالی‌نژاد، حسین حاتمی، فرزانه لبیبی، حسن دربندی تمیجانی، بابک فرخی،حمید سوری

فاکتور دگرگونی رشد بتا[1] (TGF-beta)، از سایتوکاین هایی است که در پژوهشهای مرتبط با سرطان، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. TGF-beta یک سایتوکاین پلیوتروپیک[2] است که سه ایزوفرم از آن به نام‌های TGF-beta1، TGF-beta2 و TGF-beta3 در پستانداران وجود دارد (۱). این سایتوکاین از عوامل مهم در تنظیم رشد سلول و جلوگیری از بروز سرطان محسوب می‌شود. از فعالیت‌های بیولوژیک آن می‌توان به رشد جنین، اثرات ضد التهابی، التیام زخم و رگ‌زایی اشاره کرد. اکثر سلول‌های بدن، TGF-beta را تولید و ترشح می‌کنند. برخی از سلول‌ها علاوه بر ترشح، برای آن گیرنده نیز دارند. اثر این سایتوکاین بر روی گیرنده خود، منجر به بروز اثرات اتوکراین سایتوکاین می‌شود. نقش اصلی TGF-beta در تنظیم سیکل سلولی است؛ به طوری که در سلول سالم، با ارسال پیام به هسته باعث توقف این سیکل در فاز G1 شده و موجب مهار تکثیر، افزایش تمایز یا القای آپوپتوز می‌گردد (۲).

در سلول سرطانی، که به دلایل مختلف از مسیر رشد طبیعی خود خارج شده است، مسیر پیام‌رسانی سایتوکاین TGF-beta نیز دستخوش تغییر گردیده و همین امر موجب می‌شود که این سایتوکاین دیگر نتواند عملکرد کنترلی خود را روی سلول سرطانی اعمال کند و این سلول، خود شروع به ترشح میزان بالایی از TGF-beta کرده که اثرات آن در محیط سلول بر روی سلول‌های ایمنی،

اندوتلیال و ماهیچه صاف به صورت سرکوب ایمنی، رگ‌زایی گسترده و احتمالاً فراهم‌شدن زمینه برای متاستاز و گسترش آن می‌باشد (۳). در اکثر مطالعاتی که روی انواع سرطان و فرم‌های متاساتیک آن صورت گرفته، مشاهده شده هنگامی که سلول سرطانی شروع به ترشح میزان بالای TGF-beta می‌کند، سرطان رو به توسعه و پیشرفت می‌گذارد. در واقع، ترشح زیاد این سایتوکاین از سلول‌های سرطانی، به منزله پیش‌آگهی بد برای بیماری محسوب می‌شود (۴).

از جمله مواردی که امروزه در جهت کنترل و درمان سرطان مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است، خواص و اثرات ممانعت‌کنندگی از رشد سلول است که برخی از گیاهان دارویی برجای می‌گذارند. یکی از این گیاهان دارویی، گیاه *Trachyspermum copticum* (L.) Link است که در فارسی با نام زنیان شناخته می‌شود. این گیاه، متعلق به خانواده چتریان بوده و از گیاهان بومی کشورهای ایران، مصر، افغانستان و هندوستان می‌باشد.

زنیان، در طب سنتی ایران، از نظر طبیعت، مانند زیره، گرم و خشک است. از نظر ترکیبات شیمیایی حاوی منوترپن‌های خطی و حلقوی شامل موادی چون تیمول با درصد بالا، ترپینن، و منتول می‌باشد. منوترپن‌ها ترکیباتی هستند که به صورت خوراکی برای بدن سمی نبوده و دارای عملکرد ضد سرطان هستند و می‌توان آنها را به عنوان خانواده جدیدی از ضد سرطان‌ها معرفی نمود (۵).

در گزارشهای منتشرشده، اثرات عصاره و اسانس بذر این گیاه روی سلول‌های مختلفی از جمله قارچ‌ها، انگل‌ها، باکتری‌ها و همچنین سلول‌های سرطانی بررسی شده است و نتایجی حاکی از اثرات بازدارندگی این گیاه بر روی رشد این سلول‌ها گزارش شده است. با مشاهده اثر سایتوتوکسیستی عصاره‌های آبی و اتانولی بذر گیاه زنیان بر سلول‌های سرطانی در محیط کشت سلولی (۶) و تأثیر کشندگی

اسانس این گیاه در محیط کشت‌های حاوی قارچ (۷) و باکتری (۸) اهداف این مطالعه به شرح زیر تعیین شدند:

- بررسی اثر کشندگی عصاره‌های آبی و الکلی و اسانس بذر گیاه زنیان در غلظتها و زمان‌های مختلف بر سلول‌های سرطانی تخمدان و به دست آوردن غلظت غیر کشنده عصاره‌ها و اسانس این گیاه، برای اندازه‌گیری TGF-beta2 در محیط کشت حاوی سلول‌های سرطانی زنده سرطانی تخمدان (A2780 در دو نوع حساس و مقاوم به سیس‌پلاتین) مجاورشده با عصاره‌ها و اسانس بذر گیاه؛

- تیمار غلظتهای غیر کشنده عصاره های آبی و الکلی و اسانس گیاه زنیان با سلول‌های سرطان تخمدان (A2780 در دو نوع حساس و مقاوم به سیس‌پلاتین)، و برداشت مایع رویی محیط کشت برای اندازه گیری TGF-beta2 و مقایسه با سلول‌های تیمارنشده با عصاره و اسانس؛

سؤالات این مطالعه عبارت بودند از:

- غلظتهای غیر کشنده عصاره های آبی و الکلی، و اسانس بذر گیاه زنیان، بر رشد سلول سرطانی چه اثری دارند؟

- آیا غلظتهای غیر کشنده عصاره های آبی و الکلی، و اسانس بذر گیاه زنیان، بر ترشح TGF-beta2 از سلول سرطانی اثر دارند یا خیر؟

روش بررسی

بذر خشک‌شده گیاه زنیان، از شهرستان دامغان برداشت شده بود. برای تهیه عصاره آبی از روش دم‌کردن، برای تهیه عصاره الکلی از روش خیساندن و برای تهیه اسانس، از تقطیر با آب و بخار استفاده شد.

بمنظور ساخت محلول گیاهی از عصاره‌ها برای تیمار سلول‌های سرطانی، در ابتدا یک استوک گیاهی بسته به غلظت و حجم مورد نیاز که مشخص‌کننده وزن آن (بر حسب میلی‌گرم) در حجم (بر حسب میلی‌لیتر) محیط کشت است، یک روز قبل از به کارگیری عصاره تهیه شد. به این منظور، بعد از وزن‌کردن مقدار مورد نیاز از عصاره، با استفاده از محیط کشت، به حجم مورد نظر رسانیده شد. محلول بدست‌آمده، با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون، فیلتر گردید. بعد از تهیه استوک، غلظتهای مورد نیاز برای مجاورت با سلول‌ها، بعد از محاسبه میزان حجم مورد نیاز از استوک و محیط کشت برای هر غلظت آماده شد.

برای انجام این مطالعه، دو رده از سلول‌های سرطان تخمدان انسانی (A2780) از نوع حساس و مقاوم به سیس‌پلاتین از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد.

تیمار سلول‌ها با غلظتهای مختلف عصاره‌های آبی و الکلی، و اسانس: در هر حفره از پلیت ۹۶ حفره‌ای، تعداد ده هزار عدد از سلول مورد نظر، ریخته شد و به مدت یک شب در انکوباتور CO_2 در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، انکوبه گردید تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند. در روز آزمون، محلول استوک با غلظت مناسب از عصاره‌های آبی، تهیه و از آن، ۱۱ غلظت مختلف از عصاره به شرح زیر تهیه شد:

۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰ و ۷۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

از محلول استوک عصاره الکلی، غلظتهای زیر تهیه شد:

۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

با استفاده از حلال مناسب (اتانول ۱۰٪)، از اسانس، استوک مورد نیاز تهیه شد و سپس، غلظتهای زیر تهیه گردید:

۷۴/۷، ۵۶، ۷/۴۷، ۳/۷۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر؛ و ۷۵۰ و ۵۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر

در هنگام کار، در هر سه حفره از پلیت ۹۶ حفره‌ای هر یک با حجم کلی ۲۰۰ میکرولیتر، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از یکی از غلظتهای فوق از عصاره آبی یا الکلی، یا اسانس و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت کامل سلولی ریخته شد (برای هر غلظت، تست به صورت سه‌تایی[۳] انجام شد). برای عصاره‌های آبی و الکلی، زمان انکوباسیون، ۲۴ ساعت، و برای اسانس، زمان انکوباسیون، یک ساعت بود. بعد از گذشت این زمان، تست MTT انجام شد و با استفاده از اسپکتروفوتومتر نتیجه تست به صورت دانسیته نوری (OD) قرائت و ثبت شد. در پلیت مورد نظر، حفرات کنترل (کنترل عصاره، کنترل محیط کشت، کنترل آب مقطر، و کنترل سلول تیمارنشده) نیز در نظر گرفته شدند. به دلیل تبخیر اسانس در فضای پلیت، بررسی هر یک از غلظتها و همچنین سلول تیمارنشده با اسانس و حلال، به صورت جداگانه و هر کدام در چند حفره انجام شد.

محاسبه درصد کشندگی: با در دست داشتن مقادیر OD به دست آمده، OD کنترل (C) وOD هر یک از غلظتها (T) به شرح زیر محاسبه شدند:

OD کنترل (C) = میانگین OD سلول تیمارنشده - (میانگین OD محیط کشت - میانگین OD آب مقطر)

OD حاصل از هر غلظت از عصاره (T) = میانگین OD سلول تیمارشده با آن غلظت - میانگین عصاره تنها از همان غلظت

در مرحله بعد، با قراردادن OD هریک از غلظتها (T) و OD کنترل (C) در فرمول درصد کشندگی که در ذیل آمده است، میزان (درصد) کشندگی هر غلظت محاسبه گردید:%Cytotoxicity=1-T/C×100

اندازه‌گیری غلظت TGF-beta2 در سوپرناتانت کشت سلول‌های تیمارشده با عصاره‌های آبی و الکلی: برای اندازه‌گیری غلظت TGF-beta2 در سوپرناتانت کشت سلول‌های A2780 حساس (S) و مقاوم (CP) به داروی سیس‌پلاتین، قبل و بعد از تیمار با غلظتهای مختلف عصاره‌های آبی یا الکلی گیاه زنیان، پس از ۲۴ ساعت مجاورت با عصاره، به روش زیر عمل شد:

ابتدا با توجه به درصد کشندگی هر یک از غلظتهای مورد استفاده از عصاره‌ها، غلظتهایی از عصاره‌ها که فاقد اثر کشندگی بر سلول‌های A2780 بودند، برای ادامه کار انتخاب شدند. در نتیجه، سلول‌های کشت‌داده‌شده، در مجاورت عصاره‌ها، به حیات خود ادامه داده و تغییر در غلظت TGF-beta2 موجود در محیط کشت، با مرگ سلول‌ها ارتباطی نداشت. سپس، نسبت به کشت سلول و مجاورت غلظتهای غیرکشنده انتخاب‌شده از عصاره‌های آبی و الکلی اقدام شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت زمان انکوباسیون سلول‌ها با عصاره‌ها، سوپرناتانت‌های بدست‌آمده، از محیط برداشته شده و در میکروتیوب‌های جداگانه ریخته شد. میکروتیوب‌ها تا زمان انجام تست الایزا، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تست MTT[f]: ابتدا از سلول‌های سرطانی مورد استفاده، سوسپانسیون سلولی حاوی 5×10^4 cells/ml تهیه شد و به هر کدام از چاهکهای پلیت کشت سلولی ۹۶ حفره‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی اضافه شد. به منظور چسبیدن سلول‌ها به کف پلیت، پلیت به مدت یک شب در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه

سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵٪ و دی‌اکسیدکربن ۵٪ قرار گرفت. روز بعد ابتدا هر کدام از غلظتهای مورد نظر از استوک عصاره و اسانس، در یک ویال جداگانه تهیه شدند. پلیت جهت مجاورت با غلظت ها به صورت سه‌تایی (triplicate) طراحی گردید. ضمناً حفراتی نیز به عنوان کنترل، شامل موارد زیر در نظر گرفته شد:

سلول تیمارنشده با عصاره یا اسانس، سلول تیمارشده با حلال مورد استفاده برای عصاره یا اسانس، محیط کشت به تنهایی به عنوان نمونه کنترل، آب مقطر به عنوان نمونه کنترل، غلظت مورد نظر از عصاره یا اسانس به همراه محیط کشت بدون سلول (همان رقتی از غلظت مورد نظر که روی سلول ریخته شد.)

بعد از تهیه غلظت ها محیط کشت رویی حفرات، تخلیه شد و حفرات با غلظتهای مورد نظر از عصاره‌ها و اسانس پر شدند. سپس پلیت برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت.

پس از انکوباسیون سلول‌ها با عصاره‌ها یا اسانس، با استفاده از سمپلر، حفرات سلول‌دار به طور کامل تخلیه شدند و به هر یک از آنها، ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت اضافه شد. سپس به هر یک از حفرات، ۵۰ میکرولیتر از محلول آماده‌شده MTT اضافه شد و پلیت، به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از انجام مراحل تست MTT، مقدار جذب[5] نوری محتویات حفرات پلیت با استفاده از microtiter plate reader در طول موج ۵۵۰ الی ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و مقدار جذب نوری چاهکهای حاوی عصاره یا اسانس، با چاهکهای حاوی سلول‌های تیمارنشده، مقایسه گردید (۹). بعد از بدست‌آوردن غلظتها و زمان مناسبی که در آنها، عصاره‌ها، فاقد اثر کشندگی بر سلول‌های سرطانی مورد استفاده بودند، بار دیگر سلول‌ها در مجاورت غلظتهای مزبور قرار گرفتند. این غلظتها و زمان عبارت بودند از: از عصاره آبی، غلظتهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر،

و از عصاره الکلی، غلظتهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از گذشت زمان ۲۴ ساعت

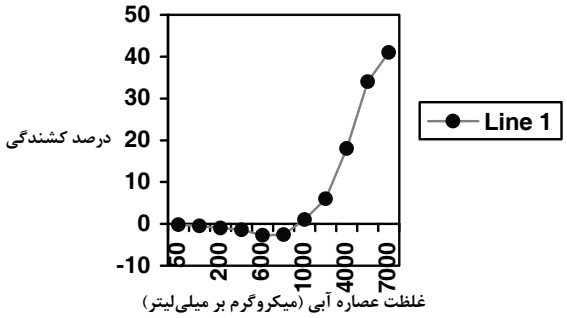
سپس، مایع رویی هر یک از کشتهای سلول‌های تیمارشده و تیمارنشده با عصاره‌ها جمع‌آوری شد و تا زمان انجام تست الایزا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از اطمینان از کافی‌بودن مقدار سوپرناتانت‌های برداشتی، نسبت به انجام تست الایزا (کیت TGF-beta2 شرکت Bendermed System، اتریش) در دو مرحله به شرح زیر اقدام شد:

- بدست‌آوردن حدود غلظت سایتوکاین TGF-beta2 در چند نمونه سوپرناتانت

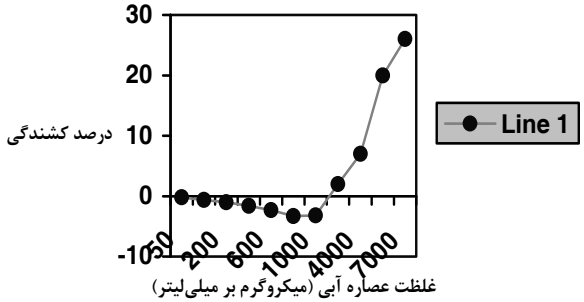
- بدست‌آوردن غلظت سایتوکاین TGF-beta2 در سوپرناتانت سلولی در ۱۶ نمونه سوپرناتانت حاصل از اثر عصاره‌های آبی و الکلی بر سلول‌های A2780 حساس و مقاوم به داروی سیس پلاتین، و همچنین سلول‌های تیمارنشده با عصاره‌ها

یافته‌ها

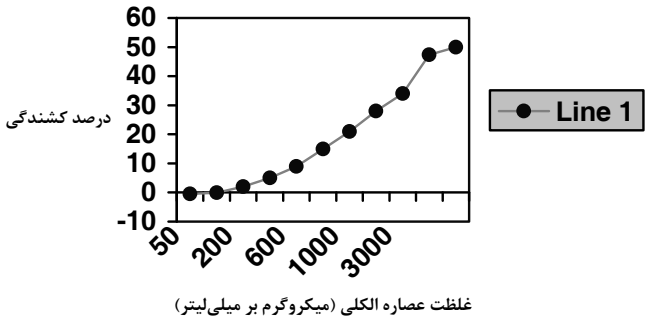
نتایج تیمار سلول‌ها با غلظتهای مختلف عصاره‌های آبی و الکلی و اسانس در نمودارهای زیر نشان داده شده‌اند.



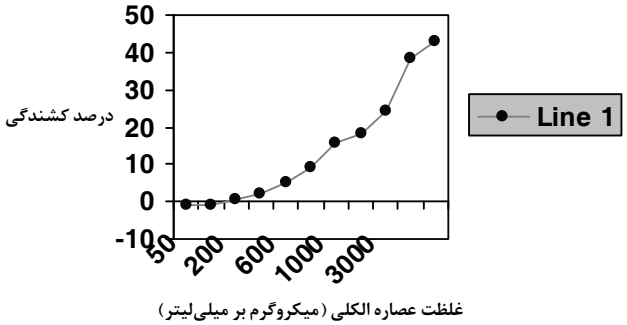
نمودار ۱) تأثیر غلظتهای مختلف عصاره آبی گیاه زنیان پس از ۲۴ ساعت مجاورت با سلول‌های A2780 حساس به داروی سیس‌پلاتین (S)



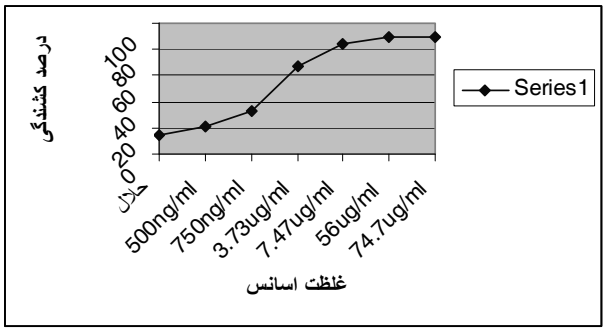
نمودار ۲) تأثیر غلظتهای مختلف عصاره آبی گیاه زنیان پس از ۲۴ ساعت مجاورت با سلول‌های A2780 مقاوم به داروی سیس پلاتین (CP)



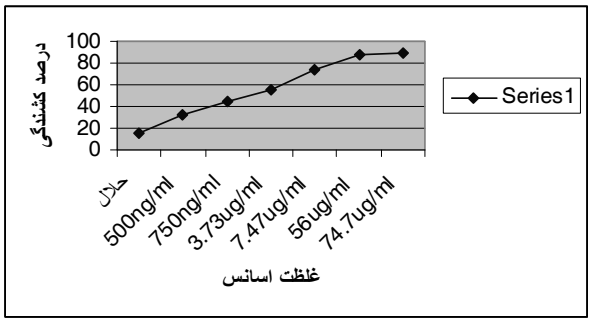
نمودار ۳) تأثیر غلظتهای مختلف عصاره الکلی گیاه زنیان پس از ۲۴ ساعت مجاورت با سلول‌های A2780 حساس به داروی سیس‌پلاتین (S)



نمودار ۴) تأثیر غلظتهای مختلف عصاره الکلی گیاه زنیان پس از ۲۴ ساعت مجاورت با سلول‌های A2780 مقاوم به داروی سیس پلاتین (CP)



نمودار ۵) تأثیر غلظتهای مختلف اسانس گیاه زنیان پس از یک ساعت مجاورت با سلول‌های A2780 حساس به داروی سیس پلاتین (S)



نمودار ۶) تأثیر غلظتهای مختلف اسانس گیاه زنیان پس از یک ساعت مجاورت با سلول‌های A2780 مقاوم به داروی سیس پلاتین (CP)

نتیجه تیمار سلول‌های سرطانی A2780 با اسانس گیاه زنیان

در هنگام کار با غلظتهای مختلف اسانس گیاه زنیان مشاهده شد که حتی غلظتهای خیلی کم این اسانس، در طی مدت زمانی بسیار کوتاه، بر روی سلول‌ها دارای اثر کشندگی می‌باشد. این اثر، با حلال اسانس (اتانول ۱۰٪) نیز مشاهده شد. لذا استفاده از اسانس برای بررسی اثرات آن بر ترشح سایتوکاین TGF-beta از سلول‌های سرطانی مورد نظر، از برنامه کاری این مطالعه خارج شد.

نتایج اندازه‌گیری غلظت TGF-beta2 در سوپرناتانت کشت سلول‌های A2780 حساس و مقاوم به داروی سیس پلاتین، قبل و بعد از تیمار با غلظتهای مختلف عصاره‌های آبی یا الکلی گیاه زنیان، پس از ۲۴ ساعت مجاورت با عصاره

غلظت سایتوکاین TGF-beta2 در سوپرناتانت‌ها، با استفاده از دستگاه ELISA Reader (Anthos 2020، اتریش) قرائت شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار CIA (Confidence Interval Analysis) و آزمون مقایسه میانگینها استفاده شد. با استفاده از این آزمون و مقایسه نتایج بدست‌آمده مربوط به غلظت سایتوکاین TGF-beta2 در سوپرناتانت برداشتی از هر یک از سلول‌های تیمارشده با غلظتهای مختلف عصاره‌ها به تفکیک نوع سلول و عصاره، نتایج زیر بدست آمد:

مقایسه میانگین غلظت TGF-beta2 در نمونه‌های سوپرناتانت بدست‌آمده از مجاورت سلول A2780 نوع S با غلظتهای انتخابی عصاره آبی در طی ۲۴ ساعت در برابر میانگین غلظت سایتوکاین در سوپرناتانت بدست‌آمده از محیط کشت سلول تیمارنشده با عصاره (نمونه کنترل): اختلاف میانگین، فقط در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی در مجاورت با سلول A2780 نوع S معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$).

مقایسه میانگین غلظت TGF-beta2 در نمونه‌های سوپرناتانت بدست‌آمده از مجاورت سلول A2780 نوع S با غلظتهای انتخابی عصاره الکلی در طی ۲۴ ساعت در برابر میانگین غلظت سایتوکاین در سوپرناتانت بدست‌آمده از محیط کشت سلول تیمارنشده با عصاره (نمونه کنترل): اختلاف میانگین در هیچیک از غلظتهای عصاره الکلی در مجاورت با سلول A2780 نوع S معنی‌دار نبود.

مقایسه میانگین غلظت TGF-beta2 در نمونه‌های سوپرناتانت بدست‌آمده از مجاورت سلول A2780 نوع CP با غلظتهای انتخابی عصاره آبی در طی ۲۴ ساعت در برابر میانگین غلظت این سایتوکاین در سوپرناتانت بدست‌آمده از محیط کشت سلول تیمارنشده با عصاره (نمونه کنترل): اختلاف میانگین در غلظت های ۲۰۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی در مجاورت با سلول A2780 نوع CP معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$).

مقایسه میانگین غلظت TGF-beta2 در نمونه‌های سوپرناتانت بدست‌آمده از مجاورت سلول A2780 نوع CP با غلظتهای انتخابی عصاره الکلی در طی ۲۴ ساعت در برابر میانگین غلظت این سایتوکاین در سوپرناتانت بدست‌آمده از محیط کشت سلول تیمارنشده با عصاره (نمونه کنترل): اختلاف میانگین در هیچیک از غلظتهای عصاره الکلی در مجاورت با سلول A2780 نوع CP معنی‌دار نبود.

بحث

سایتوکاین TGF-beta، در تنظیم و سرکوب فعالیتهای سیستم ایمنی و همچنین در تنظیم رشد سلول‌های بدن نقش اساسی دارد. سلول‌های نرمال بدن، برای این سایتوکاین دارای گیرنده هستند و در نتیجه اتصال این سایتوکاین به گیرنده آن، پیامهایی در راستای تنظیم رشد سلول یا تنظیم و سرکوب فعالیتهای سلول‌های دفاعی به داخل سلول مخابره می‌شود.

در سلول‌های سرطانی، مکانیزم‌های پیام‌رسانی TGF-beta تغییر کرده و در نتیجه تماس این سایتوکاین با گیرنده آن که بر سطح سلول سرطانی حضور دارد، اثرات معکوسی بر فعالیت سلول سرطانی اعمال می‌شود؛ به این معنی که سلول سرطانی با استفاده از این سایتوکاین، به رشد و تکثیر خود افزوده و از آن برای متاستاز استفاده می‌کند. سرطانهای تخمدان، پستان و پروستات، از جمله سرطانهایی هستند که به طور معمول، TGF-beta را به مقدار زیاد تولید می‌کنند.

در محیطی مرکب از سلول‌های سرطانی، سلول‌های دفاعی میزبان و TGF-beta، سلول‌های دفاعی، تحت تأثیر این TGF-beta سرکوب می‌شوند. سپس، سلول‌های سرطانی، در غیاب یک سیستم ایمنی فعال، فعالیت خود را آغاز کرده و با استفاده از سایتوکاین‌هایی چون TGF-beta2، به رشد، تکثیر و متاستاز خود ادامه می‌دهند. TGF-beta2 که به مقدار زیاد از سلول سرطانی ترشح می‌شود، ضمن دامن‌زدن به مهار سیستم ایمنی میزبان، برای تولید ماتریکس خارج سلولی و کمک به تهیه بستری مناسب برای متاستاز و همچنین تقویت رگزایی، بر سلول‌های استرومایی اطراف توده سرطانی اثر می‌گذارد (۱۰). به این ترتیب، می‌توان گفت که یکی از راههای مؤثر بر کنترل رشد، تکثیر و متاستاز سلول‌های

سرطانی، استفاده از موادی است که بتوانند به نحوی تولید و یا ترشح TGF-beta را محدود نمایند.

در این مطالعه، از عصاره‌های آبی و الکلی و اسانس بذر گیاه زنیان برای بررسی اثرات آنها بر تولید TGF-beta2 استفاده شد. پیش از این، اثرات سایتوتوکسیک این مواد به تأیید رسیده بود (۶). اسانس بذر این گیاه، اثرات سایتوتوکسیک بسیار قدرتمندی داشته و در غلظتهای خیلی کم نیز اثرات سایتوتوکسیک برجای گذاشت؛ به طوری که عملاً امکان بررسی اثرات آن در غلظتهای غیرکشنده فراهم نشد. عصاره الکلی نیز در غلظتهای غیرسایتوتوکسیک مورد استفاده، تأثیر معنی‌داری بر غلظت TGF-beta ترشح‌شده در سوپرناتانت محیط کشت سلول‌های سرطانی برجای نگذارد.

ولی عصاره آبی بذر گیاه زنیان، در غلظت/غلظتهایی مشخص، در طول مدت ۲۴ ساعت، موجب کاهش قابل ملاحظه و معنی‌دار در غلظت TGF-beta2 ترشح شده از سلول‌های سرطان تخمدان انسانی A2780 از نوع "مقاوم" و "حساس" به داروی سیس‌پلاتین شد. اما این اثر، در غلظتهای مورد بررسی از عصاره الکلی بذر گیاه زنیان مشاهده نگردید. این اثر عصاره آبی بذر گیاه زنیان، قبلاً در هیچیک از منابع موجود، مورد بررسی قرار نگرفته و برای اولین بار است که گزارش می شود.

اثر قابل ملاحظه عصاره آبی بر روی ترشح این سایتوکاین بسیار مهم و اساسی در رشد و متاستاز تومور، بیانگر این نکته است که ترکیب یا ترکیباتی از بذر گیاه زنیان در عصاره آبی آن حضور دارند و با غلظتهای مشخصی می‌توانند بر تولید و یا ترشح این سایتوکاین، اثر بازدارنده برجای بگذارند.

سؤالی که در اینجا مطرح می‌شود این است که عصاره آبی بذر گیاه زنیان با چه مکانیزم یا مکانیزم‌هایی موجب شد تا TGF-beta2 کمتری در سوپرناتانت محیط کشت وجود داشته باشد؟

به نظر می‌رسد یک یا ترکیبی از مکانیزم‌های زیر در بروز چنین اثری نقش داشته باشند:

۱. ترکیب یا ترکیباتی از عصاره، تأثیر بازدارنده در تولید TGF-beta2 داشته است و این تأثیر را در مسیرهای منجر به تولید آن، در سطح بیان پروتئین و یا رونوشت‌برداری از ژن اعمال نموده‌اند.

۲. عصاره، موجب تثبیت غشای سلول سرطانی و ممانعت از ترشح سایتوکاین از غشای سلول شده است.

۳. عصاره، با افزایش بیان گیرنده TGF-beta2، موجب افزایش مصرف سایتوکاین تولیدشده از سلول توسط همان سلول شده است.

۴. عصاره، به سایتوکاین ترشح‌شده متصل شده و از مقدار TGF-beta2 آزاد و قابل اندازه‌گیری با کیت مورد استفاده، کاسته است.

۵. عصاره، به گیرنده سلول متصل شده است و اثرات مهاری یا تحریکی TGF-beta2 را تقلید کرده است. در نتیجه، از تولید این سایتوکاین کاسته شده است.

بررسی مکانیزم‌های احتمالی:

۱. عصاره، تأثیر بازدارنده در تولید TGF-beta2 داشته است و این تأثیر را در سطح بیان پروتئین و یا رونوشت‌برداری از ژن اعمال نموده است.

برای بررسی این مکانیزم احتمالی، لازم است مروری بر مواد و داروهایی داشته باشیم که بر تولید و یا ترشح TGF-beta از سلول‌ها اثر می‌گذارند:

در سالهای اخیر، خنثی‌سازی TGF-beta به عنوان یک استراتژی در درمان بدخیمی‌ها در نظر گرفته شده است. داده‌های پری‌کلینیکال و توانایی اکثر تومورهای بدخیم انسانی در ترشح TGF-beta بیانگر آن هستند که مهارکننده‌های این سایتوکاین ممکن است در درمان انواع وسیعی از بدخیمی‌های انسانی مفید باشند. هم‌اکنون، مواد جدیدی معرفی شده‌اند که تولید یا کارکرد TGF-beta را هدف قرار می‌دهند. در حال حاضر، گیرنده‌های این مواد و مسیرهای داخل سلولی آنها در دست بررسی است.

Burghardt و همکارانش در گزارشی که در سال ۲۰۰۷ به چاپ رسید، اعلام کردند داروی آنتی‌فیبروتیک پیرفنیدون[۶]، بیان TGF-beta2 را در سلول‌های گلیومایی بدخیم، مهار می‌کند. این محققین نشان دادند که این دارو، بر رشد سلول‌های سرطانی، اثر مهاری برجای گذارده و موجب کاهش سطح پروتئین TGF-beta2 در رده‌های سلول‌های گلیومای انسانی می‌شود. این کاهش در سطح TGF-beta2، مکانیزمی بیولوژیک دارد؛ چرا که تیمار سلول‌های CCL-64 حساس به TGF-beta با پیرفنیدون، موجب کاهش اثرات مهاری محیط کشت به دست‌آمده از کشت سلول‌های گلیومایی می‌شود. این کاهش تولید TGF-beta، در سطوح مختلفی تنظیم می‌شود:

- پیرفنیدون، منجر به کاهش سطح mRNA مربوط به TGF-beta2 می‌شود. همچنین، موجب کاهش سطح پروتئین TGF-beta2 بالغ می‌گردد. این اثرات پیرفنیدون، ناشی از کاهش بیان و مهار مستقیم TGF-beta pro-protein furin convertase می‌باشند.
- پیرفنیدون، سطح پروتئین ماتریکس متالوپروتئیناز-۱۱ را نیز کاهش می دهد. ژن ماتریکس متالوپروتئیناز-۱۱، ژن مورد هدف TGF-beta و پروتئین

ماتریکس متالوپروتئیناز-۱۱، سوبسترای فورین است و در کارسینوژنز دخالت دارد.

این داده‌ها حاکی از آن هستند که پیرفنیدون یا مواد مرتبط با آن، جزو عوامل امیدبخش در درمان آن دسته از کانسرهای انسانی می‌باشند که با افزایش فعالیت TGF-beta در ارتباطند (۱۱).

ماده sc58236 که یک مهارکننده بسیار انتخابی سیکلواکسیژناز-۲ است، ممکن است در بهترشدن دوره فیبروز پیشرونده صفاقی در موارد دیالیزهای طولانی مدت صفاقی، نقشی اختصاصی داشته باشد. این ماده، باعث کاهش سنتز TGF-beta1 و تولید ماتریکس در سلول‌های مزوتلیال پریتونئال انسانی می‌شود. تولید و تجمع ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی در روندهای پاتولوژیک فیبروز پریتونئال دارد. این دارو باعث کاهش بیان mRNA این سایتوکاین نیز می گردد (۱۲).

Troglitazone نیز ماده‌ای است که با کاهش بیان سایتوکاین TGF-beta1 و کاهش تولید ماتریکس در سلول‌های مزوتلیال پریتونئال در بهبودی بیماریهای فیبروتیک پریتونئال نقش دارد. این ماده به عنوان لیگاندی برای PPAR-γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor-γ) که یک فاکتور نسخه‌برداری دارای اثرات پلیوتروپیک شامل تنظیم آدیپوژنز، حساسیت به انسولین، رگزایی و التهاب می‌باشد، عمل می کند (۱۳).

شرکت Kissei Pharma، دارویی به نام ترنی‌لست[۷] را در ژاپن و کره جنوبی عرضه کرده است که از آن برای درمان رینیت آلرژیک، آسم و درماتیت آتوپیک استفاده می‌شود. Kissei، در همکاری با GlaxoSmithKline، ترنی‌لست را (با نام تجاری Rizaben) برای ممانعت از رستنوز[۸] متعاقب percutaneous

transluminal coronary angioplasty (PTCA) تهیه کرده است. ترنی‌لست، هنگامی که بصورت خوراکی در دوزهای حداکثر ۶۰۰ میلی گرم در روز برای حداکثر ۳ ماه تجویز شود، دارویی ایمن و بی‌خطر بوده است. این دارو روی بیش از ۱۱۵۰۰ بیمار در دنیا برای اندیکاسیون های مختلفی تجویز شده است.

ترنی‌لست، مکانیزم‌های نسخه‌برداری مرتبط با افزایش‌دادن تولید TGF-beta و گیرنده‌های آن را مهار می‌کند و به این ترتیب، در تنظیم بیان TGF-beta نقش دارد (۱۴). در کشت سلول، مانع ترشح TGF-beta1 و TGF-beta2 می‌شود و اثرات TGF-beta را بر روی مهاجرت و تکثیر سلولی، آنتاگونیزه می‌کند. این کار را از طریق بلوک پاسخهای کموتاکتیک و خاصیت تهاجمی سلول توموری انجام می دهد (۱۵).

این ویژگی ها در غلظتهایی از ترنی‌لست مشاهده شده که فاقد اثرات مستقیم سایتوتوکسیسیتی بودند. جالب اینجاست که، ترنی‌لست بر روی بیان اینتگرین $\alpha_v\beta_3$ در سطح سلول اثری نداشته، ولی بیان و فعالیت ماتریکس متالوپروتئیناز- ۲ را مهار کرده است. ترنی‌لست، واکنش‌های ازدیاد حساسیت با واسطه آنتی‌بادی و همچنین تولید اینترفرون- گاما و اینترلوکین- دو را نیز مهار می‌کند (۱۶). همچنین آنژیوژنز القاشده توسط VEGF و نفوذپذیری عروقی را بصورت وابسته به دوز مهار نموده است (۱۷-۱۹).

ترنی‌لست در تعدادی از مدل های *in vitro* و *in vivo*، فعالیت ضد توموری نشان داده است. تجویز خوراکی ترنی‌لست، رشد گلیومای تجربی 9L را در رت مهار ساخته است. و بیان TGF-beta2 را در *vivo* کاهش داده است (۲۰).

تکثیر رده سلول کانسر scirrhous gastric انسانی (OCUM-2M)، بوسیله ترنی‌لست در vitro (در کشت همراه با فیبروسایت) مهار شده است. همچنین در

مدل حیوانی کارسینومای معده وقتی که به تنهایی تجویز شده است (۲۱) یا در ترکیب با سیس پلاتین (۲۲).

ترنی‌لست همچنین رشد رده MCF-7 سلول سرطان سینه را در vitro مهار کرده است (۲۳) و اثرات آنتی‌آنژیوژنیک و ضد توموری در مدل موشی (لوئیس) سرطان ریه داشته است (۲۴). در مطالعه اخیر، روند مهار رشد تومور القاشده توسط سایکلوفسفامایید، cis-diamminedichloroplatinum (II)، آدریامایسین و vindesine را تقویت کرده است.

علاوه بر اینکه احتمال دارد عصاره آبی بذر گیاه زنیان در مهار تولید TGF-beta، از مکانیزم‌های فوق تبعیت نماید، در عین حال نباید این نکته را از نظر دور داشت که اثرات بازدارندگی این عصاره ممکن است موقتی بوده و پس از گذشت مدتی، سلول به اثرات بازدارندگی عصاره، مقاوم شود.

۲. عصاره، موجب تثبیت غشای سلول سرطانی و ممانعت از ترشح سایتوکاین از غشای سلول شده است.

این مکانیزم را می‌توان به عنوان یکی از مکانیزم‌های احتمالی اثر عصاره آبی بذر گیاه زنیان در ترشح TGF-beta از سلول‌های سرطانی مورد بررسی در نظر گرفت. در این رابطه، می‌توان به اثرات دارویی به نام کرومولین سدیم گلیکات اشاره نمود که با تثبیت غشای مست‌سل‌ها، از ترشح محتویات گرانول‌های داخل سیتوپلاسمی سلول به خارج از سلول جلوگیری به عمل می‌آورد.

۳. عصاره، با افزایش بیان گیرنده TGF-beta2، موجب افزایش مصرف سایتوکاین تولیدشده از سلول توسط همان سلول شده است.

یکی از مکانیزم‌های احتمالی تأثیر عصاره مورد بررسی بر میزان TGF-beta2 موجود در سوپرناتانت محیط کشت سلول‌های سرطانی، تأثیر تحریکی این عصاره

بر افزایش تعداد گیرنده‌های این سایتوکاین می‌باشد. در اینصورت، می‌توان گفت که این عصاره، نه تنها اثرات ضد توموری ندارد، بلکه ممکن است اثرات تحریکی بر رشد تومور نیز برجای بگذارد. بررسی دقیق این مکانیزم در محیط آزمایشگاه و شمارش دقیق سلول‌های موجود در محیط کشت پس از تیمار با عصاره، می‌تواند به روشن‌شدن این موضوع کمک نماید.

۴. عصاره، به سایتوکاین TGF-beta2ترشح‌شده، متصل شده و از مقدار TGF-beta2 آزاد و قابل اندازه‌گیری با کیت مورد استفاده، کاسته است.

پروتئین‌های متصل‌شونده به TGF-beta: انواعی از پروتئین‌هایی که به طور طبیعی تولید می‌شوند، بطور مؤثری به TGF-beta متصل شده و کارکرد آن را مهار می‌کنند. فتویین‌ها[۹]، گلیکوپروتئین‌های گلوبولاری هستند که در بافت های مختلفی در طی امبریوژنز پستانداران بیان می‌شوند (۲۵). هومولوگ انسانی فتویین، alpha2-HS glycoprotein است که توسط کبد ترشح شده و در استخوانها انباشته می‌شود (۲۶). فتویین به TGF-beta1 و TGF-beta2 متصل می‌شود ولی افینیتی به مراتب بالاتری برای پروتئین‌های مورفوژنیک استخوان (BMP-2، BMP-4 و BMP-6) دارد (۲۷). با اینکه اتصال فتویین به TGF-beta منجر به غیرفعال شدن این سایتوکاین می‌شود، اما اختصاصی‌نبودن و بزرگ‌بودن نسبی اندازه ملکول آن، مانع استفاده از آن در سازوکارهای بالینی می‌شود.

پروتئین‌های دیگری نیز وجود دارند که به TGF-beta متصل شده و آن را مهار می سازند. یکی از این پروتئین‌ها، دکورین[۱۰] است. دکورین، یک chondroitin-dermatan sulfate proteoglycan کوچک است که به طور انتخابی به TGF-beta متصل شده و سنتز آن را مهار می‌کند (۲۸). دو پروتئوگلیکان دیگر عضو خانواده دکورین، یعنی بی‌گلیکان و فیبرمودولین، نیز به

طور انتخابی به TGF-beta متصل می‌شود (۲۹). دکورین، رشد گلیومای بدخیم را در مدل حیوانی، مهار کرده است. این نتیجه، مبین آن است که اثر غالب این ماده در vivo، مهار TGF-beta می‌باشد (۳۰).

پپتیدهای متصل شونده به TGF-beta: پپتید مربوط به نهفتگی (LAP)[11]، هر سه ایزوفرم TGF-beta را در *vitro* مهار می‌کند. این پپتید، همین کار را پس از تجویز داخل صفاقی به موش نیز انجام می دهد (۳۱). LAP به راحتی از محوطه صفاقی جذب می‌شود و با غلظت های کافی، برای مهار TGF-beta به بافتها می‌رسد. این ترکیب، موجب افزایش تکثیر سلول‌های T مختص به آنتی ژن و بیان mRNA اینترفرون گاما در یک مدل حیوانی دیگر شده است (۳۲).

۵. عصاره، به گیرنده سلول متصل شده است و اثرات مهاری یا تحریکی TGF-beta2 را تقلید کرده است. در نتیجه، از تولید این سایتوکاین کاسته شده است.

در این رابطه، مواد مختلفی معرفی شده‌اند که هر یک با اتصال به گیرنده سلول و ممانعت از اتصال TGF-beta بر گیرنده اختصاصی خود، اثرات این سایتوکاین را تقلید کرده‌اند.

یکی از مکانیزم‌های اثر عوامل مؤثر در مهار پیام‌رسانی TGF-beta عبارت است از ایجاد اختلال در پیام‌رسانی داخل سلولی (۱۰). جلوگیری از ارسال پیام توسط این سایتوکاین، مانع از رشد و تکثیر سلول‌های توموری شده و باعث کاهش تولید ماتریکس خارج سلولی و رگزایی توسط سلول‌های اطراف می شود؛ ولی پاسخ ایمنی را افزایش می‌دهد.

در سال ۲۰۰۴، Uhl و همکارانش برخی اثرات ماده جدیدی به نام SD-208 (مهارکننده کیناز گیرنده نوع I سایتوکاین TGF-beta) را گزارش کردند و نشان دادند که این ماده، موجب جلوگیری از رشد و تهاجم سلول‌های گلیومای موشی و

انسانی، و افزایش ایمونوژنیسیتی این سلول‌ها در داخل و خارج از بدن می‌شود. این دارو باعث مهار فسفریلاسیون smad2 وابسته به TGF-beta شده و به این دلیل، بیان پروتئین‌های القایی این سایتوکاین را در کشت سلول متوقف می‌کند و در نتیجه، باعث سرکوب‌شدن پاسخهای ژنی درگیر در متاستاز، رگ‌زایی و تکثیر سلولی می‌گردد (۳۳).

در ترکیب عصاره آبی بذر گیاه زنیان نیز ممکن است ماده یا موادی وجود داشته باشند که با تبعیت از مکانیزم فوق، بر فعالیت‌های سلول تأثیر گذاشته باشند.

در طی جستجو در منابع موجود، گزارشی از مواد تشکیل‌دهنده ترکیب عصاره‌های آبی و الکلی بذر گیاه زنیان به دست نیامد. ولی با توجه به گزارشات موجود در مورد ترکیبات موجود در اسانس این گیاه، می‌توان گفت که در بین این ترکیبات، بعضی از آنها، تا حدی در آب قابلیت انحلال دارند و لذا در عصاره آبی این گیاه نیز ولو به مقادیر جزئی یافت خواهند شد. این مواد عبارتند از:

نام ترکیب	حلالیت در آب
Alpha-pinene	اندک
Gamma-terpinene	۰/۵۳ mg/mL
Linalool	۱/۶ g/L
Menthol	اندک
p-cymene	بسیار اندک
Thymol	اندک

همچنین در منابع موجود، گزارشی حاکی از بررسی اثرات مواد فوق‌الذکر بر فعالیت سلول‌های سرطانی و ترشح TGF-beta به دست نیامد. لازم است مطالعه جامعی در مورد ترکیبات موجود در عصاره‌های آبی و الکلی این گیاه به عمل آید. چنین مطالعه‌ای، مبنایی برای مطالعات بعدی به منظور بررسی اثرات این ترکیبات بر تولید TGF-beta از سلول‌های سرطانی خواهد بود.

نتیجه

معکوس‌شدن اثرات سرکوبگرانه TGF-beta بر سیستم ایمنی، یک رویکرد جدید و امیدبخش برای درمان کانسر است. این رویه، کاربردهای بالقوه‌ای در انواعی از سایر بیماریها همچون AIDS نیز خواهد داشت (۳۴).

از آنجا که اکثر تومورهای بدخیم (ولی نه همه آنها)، فاکتورهای سرکوب کننده ایمنی تولید می‌کنند، خنثی‌کردن این ملکول‌ها می‌تواند یکی از اهداف کلیدی درمان ضد کانسر باشد.

مطالعات انجام شده روی حیوانات، TGF-beta را به عنوان سایتوکاینی معرفی کرده‌اند که به احتمال زیاد، مسئول سرکوب ایمنی مرتبط با تومور است و در نتیجه، عاملی است برای بقای تومور در وضعیت بدخیم، رشد تومور و متاستاز آن. این مطالعات، این فرضیه را تأیید می‌کنند که معکوس نمودن روند سرکوب ایمنی ناشی از عملکرد تومور، بر رشد تومور و متاستاز آن اثر می‌گذارد و هدف‌گیری TGF-beta ممکن است منجر به ریشه‌کنی کامل تومور بشود. با توجه به تأثیر عصاره آبی بذر گیاه زنیان در کاهش غلظت TGF-beta2 در سوپرناتانت محیط کشت سلول‌های سرطان تخمدانی انسانی A2780 نوع حساس و مقاوم به داروی سیس‌پلاتین، بررسی مکانیزم یا مکانیزم‌های احتمالی اثر این سایتوکاین بر

سلول‌های فوق، ضروری به نظر می‌رسد. همچنین از آنجا که بسیاری از سلول‌های سرطانی، TGF-beta1 و TGF-beta3 را نیز تولید می‌کنند، لازم است اثرات این عصاره بر روی این سایتوکاین‌ها نیز بررسی شود. در هنگام بررسی اثرات این عصاره در حیوانات آزمایشگاهی باید به این نکته نیز توجه شود که تومورها ممکن است TGF-beta ترشح‌شده از سایر منابع همچون پلاکت‌ها یا سلول‌های اینترستیسیل را نیز مورد استفاده قرار دهند. لذا عوامل ضد پلاکت و یا ضد انعقادی نیز ممکن است در درمان کانسرهای وابسته به TGF-beta نقش کمک‌کننده داشته باشند (۱۰).

توضیح:

این مقاله، حاصل اجرای طرح پژوهشی مصوب با شماره ثبت ۱۳/۱۲۳۳۹ بوده و بودجه آن از سوی معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تأمین شده است.

پی نوشت‌ها

[1]- Transforming Growth Factor-beta
[2] -Pleiotropic
[3] -Triplicate
[4] -3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide
[5] -Absorbance
[6] -Pirfenidone [5-methyl-1-phenyl-2-(1H)-pyridone]
[7]- tranilast (N-3,4-dimethoxycinnamoyl]-anthranilic acid)
[8]- Restenosis
[9]- Fetuins
[10] -Decorin
[11] -Latency Associated Peptide

فهرست منابع

1- Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. Annu Rev Immunol 2006;24:99-146.
2- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. 6th ed. China: Saunders, Elsevier; 2007.
3- Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. N Engl J Med 2000 May 4;342(18):1350-8.
4- Friess H, Yamanaka Y, Buchler M, Ebert M, Beger HG, Gold LI, et al. Enhanced expression of transforming growth factor beta isoforms in pancreatic cancer correlates with decreased survival. Gastroenterology 1993 Dec;105(6):1846-56.
5- Loza-Tavera H. Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and properties. Adv Exp Med Biol 1999;464:49-62.
6- Naghash R. Survey of Ceytotoxic Effects of Aques and Alcoholic Extracts of Trachyspermum copticum on 14 Human Tumor Cell Line [Research] Faculty of Pharmacy, Shahid Beheshti Medical University, Tehran, Iran.; 2007.
7- Rasooli I, Fakoor MH, Yadegarinia D, Gachkar L, Allameh A, Rezaei MB. Antimycotoxigenic characteristics of Rosmarinus

officinalis and Trachyspermum copticum L. essential oils. Int J Food Microbiol 2008 Feb 29;122(1-2):135-9.
8- Saghebdoust M, Azadbakht M, Fazli Bazaz BS. In vitro antibacterial activity of 45 essential oils of Iran native plants. European Journal of Medical Researsh 2007;12:69.
9- Assessment of Cell Toxicity. Current Protocols in Toxicology, Basic Protocols 8,2.6.11. Supplement 3. 2005 .
Ref Type: Generic
10- Wojtowicz-Praga S. Reversal of tumor-induced immunosuppression by TGF-beta inhibitors. Invest New Drugs 2003 Feb;21(1):21-32.
11- Burghardt I, Tritschler F, Opitz CA, Frank B, Weller M, Wick W. Pirfenidone inhibits TGF-beta expression in malignant glioma cells. Biochem Biophys Res Commun 2007 Mar 9;354(2):542-7.
12- Liu H, Peng Y, Liu F, Li J, Chen X, Liu Y, et al. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor decreases transforming growth factor-beta1 synthesis and matrix production in human peritoneal mesothelial cells. Cell Biol Int 2007 May;31(5):508-15.
13- Peng Y, Liu H, Liu F, Liu Y, Li J, Chen X. Troglitazone inhibits synthesis of transforming growth factor-beta1 and reduces matrix production in human peritoneal mesothelial cells. Nephrology (Carlton) 2006 Dec;11(6):516-23.
14- Ikeda H, Inao M, Fujiwara K. Inhibitory effect of tranilast on activation and transforming growth factor beta 1 expression in cultured rat stellate cells. Biochem Biophys Res Commun 1996 Oct 14;227(2):322-7.
15- Ward MR, Sasahara T, Agrotis A, Dilley RJ, Jennings GL, Bobik A. Inhibitory effects of tranilast on expression of transforming growth factor-beta isoforms and receptors in injured arteries. Atherosclerosis 1998 Apr;137(2):267-75.
16- Kondo N, Fukutomi O ,Shinbara M, Orii T. Inhibition of interferon-gamma and interleukin-2 production from lymphocytes stimulated with food antigens by an anti-allergic drug, Tranilast, in patients with food-sensitive atopic dermatitis. Biotherapy 1994;8(1):19-22.
17- Isaji M, Miyata H, Ajisawa Y, Yoshimura N. Inhibition by tranilast of vascular endothelial growth factor (VEGF)/vascular

permeability factor (VPF)-induced increase in vascular permeability in rats. Life Science 1998;63(4):PL71-PL74.
18- Isaji M, Miyata H, Ajisawa Y, Takehana Y, Yoshimura N. Tranilast inhibits the proliferation, chemotaxis and tube formation of human microvascular endothelial cells in vitro and angiogenesis in vivo. Br J Pharmacol 1997 Nov;122(6):1061-6.
19- Koyama S, Takagi H, Otani A, Suzuma K, Nishimura K, Honda Y. Tranilast inhibits protein kinase C-dependent signalling pathway linked to angiogenic activities and gene expression of retinal microcapillary endothelial cells. Br J Pharmacol 1999 May;127(2):537-45.
20- Platten M, Wild-Bode C, Wick W, Leitlein J, Dichgans J, Weller M. N-[3,4-dimethoxycinnamoyl]-anthranilic acid (tranilast) inhibits transforming growth factor-beta relesase and reduces migration and invasiveness of human malignant glioma cells. Int J Cancer 2001 Jul 1;93٦١.-٥٣:(١)
21- Yashiro M, Chung YS, Sowa M. Tranilast (N-(3,4-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid) down-regulates the growth of scirrhous gastric cancer. Anticancer Res 1997 Mar;17(2A):895-900.
22- Murahashi K, Yashiro M, Inoue T, Nishimura S, Matsuoka T, Sawada T, et al. Tranilast and cisplatin as an experimental combination therapy for scirrhous gastric cancer. Int J Oncol 1998 Dec;13(6):1235-40.
23- Nie L, Oishi Y, Doi I, Shibata H, Kojima I. Inhibition of proliferation of MCF-7 breast cancer cells by a blocker of Ca(2+)-permeable channel. Cell Calcium 1997 Aug;22(2):75-82.
24- Yatsunami J, Aoki S, Fukuno Y, Kikuchi Y, Kawashima M, Hayashi SI. Antiangiogenic and antitumor effects of tranilast on mouse lung carcinoma cells. Int J Oncol 2000 Dec;17(6):1151-6.
25- Dziegielewska KM, Brown WM, Casey SJ, Christie DL, Foreman RC, Hill RM, et al. The complete cDNA and amino acid sequence of bovine fetuin. Its homology with alpha 2HS glycoprotein and relation to other members of the cystatin superfamily. J Biol Chem 1990 Mar 15;265(8):4354-7.
26- Triffitt JT, Gebauer U, Ashton BA, Owen ME, Reynolds JJ. Origin of plasma alpha2HS-glycoprotein and its accumulation in bone. Nature 1976 Jul 15;262(5565):226-7.

27- Demetriou M, Binkert C, Sukhu B ,Tenenbaum HC, Dennis JW. Fetuin/alpha2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist. J Biol Chem 1996 May 31;271(22):12755-61.
28- Yamaguchi Y, Mann DM, Ruoslahti E. Negative regulation of transforming growth factor-beta by the proteoglycan decorin. Nature 1990 Jul 19;346(6281):281-4.
29- Hildebrand A, Romaris M, Rasmussen LM, Heinegard D, Twardzik DR, Border WA, et al. Interaction of the small interstitial proteoglycans biglycan, decorin and fibromodulin with transforming growth factor beta. Biochem J 1994 Sep 1;302 (Pt 2):527-34.
30- Stander M, Naumann U, Dumitrescu L, Heneka M, Loschmann P, Gulbins E, et al. Decorin gene transfer-mediated suppression of TGF-beta synthesis abrogates experimental malignant glioma growth in vivo. Gene Ther 1998 Sep;5(9):1187-94.
31- Bottinger EP, Factor VM, Tsang ML, Weatherbee JA, Kopp JB, Qian SW, et al. The recombinant proregion of transforming growth factor beta1 (latency-associated peptide) inhibits active transforming growth factor beta1 in transgenic mice. Proc Natl Acad Sci U S A 1996 Jun 11;93(12):5877-82.
32- Wilkinson KA, Martin TD, Reba SM, Aung H, Redline RW, Boom WH, et al. Latency-associated peptide of transforming growth factor beta enhances mycobacteriocidal immunity in the lung during Mycobacterium bovis BCG infection in C57BL/6 mice. Infect Immun 2000 Nov;68(11):6505-8.
33- Uhl M, Aulwurm S, Wischhusen J, Weiler M, Ma JY, Almirez R, et al. SD-208, a novel transforming growth factor beta receptor I kinase inhibitor, inhibits growth and invasiveness and enhances immunogenicity of murine and human glioma cells in vitro and in vivo. Cancer Res 2004 Nov 1;64(21):7954-61.
34- Brooks SP, Bernstein ZP, Schneider SL, Gollnick SO, Tomasi TB. Role of transforming growth factor-beta1 in the suppressed allostimulatory function of AIDS patients. AIDS 1998 Mar 26;12(5):481-7.

یادداشت شناسه مؤلف

مقاله برگزیده جشنواره سینوی (۱۳۸۸)، بنیاد علمی و فرهنگی بوعلی سینا

دکتر فروزان کریمی؛ گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

پست الکترونیک: fkarimi@sbmu.ac.ir

مریم مبینی کشه؛ گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مهندس محمد کمالی‌نژاد؛گروه فارماکوگنوزی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دکتر حسین حاتمی؛ گروه بهداشت عمومی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

فرزانه لبیبی؛ گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

حسن دربندی تمیجانی؛ گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

بابک فرخی؛ گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دکتر حمید سوری؛گروه اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۰/۲/۲۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۳/۲۹