Research on Medicine *Original Article*

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2021 ;Vol.45; No.2

Evaluation of smoke burning AnbarNesara on changes of the gene expression of P53 and CYP2E1 in human liver cancer cells

Maryam Keikha-Akher[1], Khadije Shahrokhabadi[1]*, Javad Baharara[2]

1.Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

2.Research Center for Animal Development Applied Biology & Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

(Received: 2020/01/15 Accept: 2020/08/25)

Abstract

Background and Aims: *Cancer is the leading cause of death after cardiovascular diseases, and accidents. Nowadays, researchers are increasing their efforts to use treatments with minimal side effects and make an attempt to use traditional medicine and herbal remedies. AnbarNesara is a seemingly worthless substance found in traditional medicine used in the treatment of many diseases. The aim of the present study was to evaluate the cytotoxic effects of the smoke from the burning of AnbarNesara on liver cancer cells and to investigate the genes expression changes of P53 and CYP2E1.*

Materials and Methods: *In the current experimental study, first Anbarnsara was collected from Dargaz region in spring and then the smoke from its fuel was collected in cold propyleneglycol. The amount of smoke in the solvent was calculated. Then, liver cancer cell line (HEPG2) and normal cell line were cultured. Cytotoxicity tests and morphological studies were performed and IC50 value was calculated. RNA extraction, cDNA synthesis, and Real Time PCR were performed to evaluate the expression of P53 and CYP2E1 genes. The results were analyzed using t-test and ANOVA at a significance level of P <0.05.*

Results*: The results of morphological studies and toxicity test indicated that smoke from AnbarNesara fuel at a concentration of 58.5 mg/ml increases cancer cell mortality (IC50=48.79) compared to that in the control group (P <0.05). In the study of gene expression, while the concentration of 117 mg increased the expression of CYP2E1 gene, the P53 gene increased at the concentration of 58.5 (P <0.05).*

Conclusion*: The smoke from burning Anbarnsara seems to have a lethal effect on liver cancer cells. Duration and concentration are significant in this effectiveness.*

Keywords: *HepG2 Cell Line; AnbarNesara; P53 gene; CYP2E1 gene*

**Corresponding author: Khadije Shahrokhabadi*

Email: shahrokhabady@yahoo.com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-10]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور ۴۵، شماره ۲، ۱۴۰۰، صفحات ۶۲ تا ۶۶

بررسی تاثیر دود سوخت عنبرنسارا بر تغییرات بیان ژن های P۵۳ و CYP۲E۱ در سلول های سرطان کبد انسان

مریم کیخاآخر[۱]، خدیجه شاهرخ‌آبادی[۱*]، جواد بهارآرا[۲]

۱.گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران
۲.مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۴

چکیده:

سابقه و هدف: سرطان همچنان مهم‌ترین علت مرگ بعد از بیماری‌های قلب و عروق و سوانح است. امروزه تلاش محققین برای بهره‌گیری از درمان‌هایی با حداقل عوارض جانبی و استفاده از طب سنتی و داروهای گیاهی بیشتر شده است. عنبرنسارا ماده‌ای به ظاهر بی‌ارزش جای خود را در طب سنتی پیدا کرده و در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد. این مطالعه باهدف ارزیابی اثرات ضد سرطانی دود حاصل از سوختن عنبرنسارا، روی سلول‌های سرطانی کبد و بررسی تغییرات بیان ژن‌های P53 و CYP2E1 انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ابتدا عنبرنسارا از منطقه درگز، در فصل بهار، جمع‌آوری و سپس دود حاصل از سوخت آن در پروپیلن‌گلیکول سرد جمع‌آوری گردید. مقدار دود در حلال محاسبه گردید. رده سلولی سرطان کبد (HEPG2) و رده سلولی نرمال کشت گردید. تست سمیت سلولی و مطالعات مرفولوژی انجام و مقدار IC50 محاسبه شد. جهت بررسی میزان بیان ژن‌های P53 و CYP2E1، استخراج RNA، سنتز cDNA و Real Time PCR انجام شد. نتایج توسط آزمون‌های آماری t-test و ANOVA در سطح معناداری ($P<0.05$) آنالیز گردید.

یافته‌ها: نتایج بررسی‌های مرفولوژیکی و تست سمیت بیانگر آن است که دود حاصل از سوخت عنبرنسارا در غلظت 5/58 میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب افزایش مرگ و میر سلول‌های سرطانی (IC50=48.79) در مقایسه با گروه شاهد می‌گردد ($P<0.05$). در بررسی بیان ژن درحالیکه غلظت 117 میلی‌گرم باعث افزایش بیان ژن CYP2E1 شد، ژن P53 در غلظت 5/58 افزایش نشان داد($P<0.05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد دود حاصل از سوختن عنبرنسارا دارای اثر کشندگی بر سلول‌های سرطانی کبد می‌باشد. مدت زمان و غلظت در این اثربخشی موثر است.

واژگان کلیدی: رده سلولی HepG۲، عنبرنسارا، ژن P۵۳، ژن CYP۲E۱ .

مقدمه

سرطان بعد از بیماری‌های قلب و عروق و سوانح، با میزان ۱۴ درصد سومین علت مرگ و میر در کشور ما بشمار می‌رود. اگر چه سرطان‌ها تا حدود ۷۵ درصد قابل پیشگیری هستند اما روز به روز در حال گسترش می‌باشند. مطالعات نشان داده‌اند که در طول ۱۰ سال - از ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۰- سرطان‌ها فقط به دلیل تغییرات سنی جامعه در کشورهای در حال توسعه، به میزان ۷۱ درصد رشد داشته اند. سهم ایران نیز در بین کشورها بسیار زیاد است، زیرا به سرعت در حال مسن شدن است. درحالیکه در سال ۱۳۸۵ تعداد ۷۰ هزار مورد جدید سرطان در کشور ثبت شده است، این رقم در سال ۱۳۹۵ به ۱۲۰ هزار نفر رسیده است. با در نظر گرفتن دوره‌های بقاء نسبت به سرطان‌های مختلف در حال حاضر حداقل سیصدهزار بیمار سرطانی در کشور زندگی می‌کنند که در ده سال آینده به رقم ۶۰۰ هزار نفر خواهند رسید (۲-۱). امروزه اثرات داروها را بر روی بیماری‌های سرطان می توان مدیریت و حتی عوارض جوانبی آنها را پیش‌بینی کرد. در سال‌های اخیر مطالعات مولکولی اساس مکانیسم تولید سرطان‌ها را توجیح کرده است و همچنین پیشرفت‌های تکنولوژی در بیوانفورماتیک و غربالگری مولکولی در شناخت زودرس سرطان به کمک بشر آمده است. در دهه اخیر نیز درمان شخصی انقلابی در درمان سرطان ایجاد کرده است. درمان شخصی به معنای به کارگیری دانش ژنومیک و دیگر مطالعات آزمایشگاهی برای انتخاب درمان مناسب برای یک فرد بیمار است. توسعه روش‌های نوین توالی‌یابی با بازده بالا امکان طبقه بندی زیرمجموعه‌های مولکولی تومور، شناسایی بیومارکرهای جدید و تولید داروهای هدفمند به منظور افزایش اثربخشی درمان و کاهش عوارض جانبی آنرا فراهم آورده است (۴-۳). سرطان کبد پنجمین بدخیمی شایع و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان است. ویژگی‌هایی با میزان بالای عود و

نویسنده مسئول: خدیجه شاهرخ آبادی
پست الکترونیک: Shahrokhabady@yahoo.com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-10]

متاستاز، تشخیص پایین در مراحل اولیه درمان و گزینه‌های درمانی کم اثر در سرطان کبد بویژه در نوع هپاتوسلولار کارسینوما، این سرطان را بیماری با پیش اگهی ضعیف نشان می‌دهد (۵). گرچه عوامل خارجی موثر بر سرطان متعدد و گوناکون است اما در بسیاری از موارد ممکن است علل ژنتیکی باعث ایجاد سرطان شود (۶). از جمله ژن‌های مهم درگیر در سرطان کبد ژن‌های CYP۲E۱ و P۵۳ است.

سیتوکروم P۴۵۰E۱ آنزیمی اصلی است که نقش عمده‌ای در فعال‌سازی و سمیت‌زدایی بسیاری از ژنوبیوتیک‌ها، سرطان‌زاها یا کارسینوژن‌ها و داروها ایفا می‌کند. بیشترین توزیع آن در بافت کبد و به میزان کمتر در بافت‌های شش، کلیه، موکوس بینی، مغز استخوان، قلب و مغز بیان می‌شود (۷). بررسی انواع پلی‌مورفیسم در CYP۲E۱ به عنوان یک ضرورت اولیه خطر ابتلا به انواع سرطان در صورت تماس با ترکیبات کارسینوژن را نشان داده است. این پلیمورفیسم در افزایش خطر ابتلال به بیماری‌های حاصل از تماس با مواد شیمیایی و ایجاد انواع سرطان شامل سرطان دستگاه گوارش، سر و گردن، ریه، کلورکتال، دهان، مری و پستان نقش دارد (۸). این آنزیم همچنین مسئول فعالیت متابولیکی ترکیبات پیش سرطانزا (پروکارسینوژن) به ترکیبات سرطانزا (کارسینوژن) می‌باشد. بر همین اساس وجود پلیمورفیسم‌های ژنتیکی این آنزیم می‌تواند منجر به تغییر فعالیت آن در برابر ترکیبات سرطانزای شیمیائی و یا طبیعی شود. برای روشن شدن اهمیت پلیمورفیسم آن بررسی‌های گوناگونی در مورد فارماکوژنتیک آنزیم‌های فاز اول متابولیسم کننده مواد سمی و داروئی انجام شده است. ژن CYP۲E۱ نقش عمده در متابولیسم، فعالسازی، سمیت‌زائی و سم‌زدایی برخی از ترکیبات با وزن مولکولی کم مانند اتانول، استن، داروهایی مانند استامینوفن، ایزونیازید، بیهوش کننده‌های فلورینه و شماری از ترکیبات پروکارسینوژن مانند بنزن، استیرن، اورتان و اکریلونیتریل دارد و به همین علت در سم شناسی مورد توجه قرار گرفته است(۹).

تغییرات در ژن سرکوب کننده تومور P۵۳، درغالب انواع مختلف سرطان یافت شده و به عنوان نشانگرهای مولکولی سرطان منجر به شایع‌ترین آنومالی‌ها در تومورهای انسانی شده و یکی از بیشترین بیومارکرهایی است که در سرطان‌های انسان مطالعه شده است. در واقع فعال شدن این بیومارکر از طریق ایجاد نقایصی در ترمیم DNA و فرآیند آپوپتوزیس همراه با افزایش در بی ثباتی ژنی منجر به تجمع موتاسیون‌ها می‌شود. بر اساس مطالعات، می توان با تشخیص پروتئین P۵۳ به روش ایمونوهیستوشیمیایی از آن به عنوان یک ابزار قابل اعتماد جهت نشان دادن تغییرات سطح ژن P۵۳ استفاده کرد (۱۰).

این مطالعه با هدف بررسی تاثیرات دود حاصل از سوخت عنبرنسارا بر روی تکثیر و زیستایی سلول‌های سرطانی کبد نسبت به سلول‌های نرمال و همچنین بیان ژن‌های CYP۲E۱ و P۵۳ انجام گردید. جهت جمع‌آوری دود حاصل از سوختن عنبرنسارا از پروپیلن گلیکول به عنوان حلال استفاده گردید.

مواد و روش ها

عنبرنسارای مورد استفاده در این مطالعه تجربی از الاغ ماده‌ای که به تازگی زایمان کرده بود، در فصل بهار از منطقه قلعه میانای درگز جمع‌آوری گردید. سپس ۱۰۰ گرم از عنبرنسارای جمع آوری شده با استفاده از دستگاه طراحی شده در آزمایشگاه سوزانده و دود حاصل در ۲-۱ سی‌سی پروپیلن سرد به صورت محلول جمع‌آوری گردید(۱۱). دودگیری تا آنجا ادامه پیدا کرد که رنگ شفاف پروپیلن به رنگ قهوه‌ای تیره تبدیل شد. سپس مقدار وزن دود حل شده در یک میلی‌لیتر محلول (بر حسب میلی‌گرم) از تفاضل وزن یک میلی‌لیتر محلول حاوی دود با یک میلی‌لیتر پروپیلن‌گلیکول بدست آمد. در این تحقیق از سلول‌های سرطانی کبد انسان (HepG۲) استفاده گردید. این سلول‌ها در ظاهر شبیه سلول‌های سنگفرشی با ۵۵ کروموزوم بوده که بسیاری از پروتئین‌های پلاسمایی مانند آلبومین و ترانسفرین را ترشح می‌کنند و به عنوان مدل مناسبی جهت مطالعه سمیت سلولی و پیدا کردن مواد سرطانزای کبدی و مطالعات دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۲). رده سلولی HepG۲ و L۹۲۹ به صورت فریز شده از انستیتو پاستور تهیه و سپس در محیط کشت DMEM حاوی FBS و آنتی بیوتیک داخل انکوباتور CO۲ دار با دمای C۳۷°، رطوبت ۹۰٪ و CO۲ ۵٪ قرار گرفت و ۲۴ ساعت بعد محیط کشت تعویض شد. سپس سلول‌ها از نظر تعداد و تراکم زیر میکروسکوپ معکوس بررسی گردیدند. جهت انجام تست MTT به منظور به دست آوردن IC۵۰ در پلیت ۹۶ خانه‌ای، پس از شمارش سلولی به هر چاهک پلیت، تعداد ۵۰۰۰ سلول اضافه گردید. جهت کاهش امکان خطا و افزایش ارزش نتایج، برای هر نمونه ۴ تکرار در نظر گرفته شد. سپس پلیت به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور قرار داده شد. تمامی این مراحل برای پلیت‌های ۴۸ ساعته و ۷۲ ساعته نیز انجام گرفت. هر سه پلیت ۲۴ ساعت پس از کشت سلولی توسط غلظت‌های مختلف محلول دود حاصل از عنبرنسارا تیمار شدند. غلظت‌های مختلف بر حسب مقدار دود حل شده در پروپیلن و بصورت سریال دایلوشن تهیه گردید. مطالعه میزان تکثیر و مرفولوژی سلول‌ها و همچنین تست سمیت سلولی برای سه پلیت آماده شده پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از زمان تیمار انجام گردید. برای این کار محیط روئی پلیت تخلیه و مقدار ۱۸ میکرولیتر MTT جهت سنجش سمیت سلولی به هر چاهک اضافه شد. سپس پلیت با فویل آلومینیومی پوشانده و به مدت سه تا چهار ساعت انکوبه گردید. پس از آن MTT تخلیه و به هر ول ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد. آنگاه پلیت در دستگاه الایزاریدر قرار گرفت و میزان جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید. این عمل در مورد دو پلیت دیگر پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت از تیمار، انجام شد.

برای استخراج RNA، سلول‌ها در شش فلاسک مناسب کشت داده شده و سپس تیمار شدند. یک فلاسک به عنوان کنترل و فلاسک‌های تیمار شده با غلظت IC۵۰، دو غلظت بالاتر از IC۵۰ و دو غلظت پایین‌تر از IC۵۰ در نظر گرفته شد. استخراج RNA طبق دستورالعمل کیت (شرکت دنازیست) انجام شد. پس از استخراج RNA، نمونه‌ها از نظر کمیت و کیفیت با روش نانودراپ و ژل الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت ارزیابی بیان ژن‌های P۵۳ و CYP۲E۱، سنتز cDNA با کیت شرکت پارس توس انجام گردید. بر اساس پروتکل کیت مراحل به صورت ۱۵ دقیقه نسخه برداری معکوس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، سپس در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت پنج ثانیه و در نهایت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد قرار گرفت. پرایمرهای مورد نیاز با استفاده از نرم افزار الیگو ۷ طراحی و از نظر کیفیت و صحت در NCBI، BLAST گردید. پرایمرها به شرکت ژن فن‌آوران سفارش داده شد و تهیه محلول کاری نیز پس از دریافت آن صورت گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش در جدول زیر آمده است.

جدول ۱ : توالی پرایمرهای مورد استفاده

GENE Name	FORWARD 5'- 3'	REVERSE 5'- 3'
P53	CATCTGGCCTTGAAACCAC	AAACTACCAACCCACCGAC
CYP2E1	GCTCCATGAAGAAATTGACA	CATCTCTTGCCTATCCTTG
GAPDH	TGACTTCAACAGCGACACC	TTGCTGTAGCCAAATTCGTT

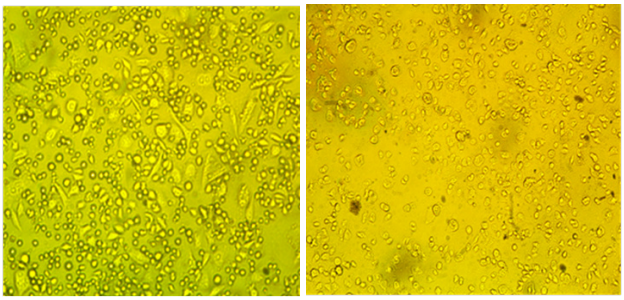
همچنین جهت انجام ریل تایم، پروفایل دمایی PCR در مخلوط نهایی به حجم ۱۲ میکرولیتر به صورت یک چرخه با ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس، ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه سانتی گراد برای پنج ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد بمدت ۳۰ ثانیه صورت گرفت. رونوشت‌های اختصاصی تکثیر یافته نیز توسط پروفایل منحنی تکثیر که در انتهای هر PCR انجام می گرفت، تصدیق گشت. میزان بیان نسبی ژنهای مورد نظر نیز به وسیله تفاضل میانگین Ct ژنهای GAPDH به عنوان ژن کنترل و CYP۲E۱ و P۵۳، به دست آمد. میزان تغییرات بیان ژنها نیز با استفاده از فرمول $\Delta\Delta$ CT-۲ محاسبه شد. آنالیز آماری تمامی داده های کمی حاصل در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه شاهد، با آزمون One Way Anova، t-test و آزمون تعقیبی دانت در سطح معناداری p<۰،۰۵ تجزیه و تحلیل گردید و میزان IC۵۰ محاسبه گردید. جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS-۲۲ و جهت رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد.

یافته ها

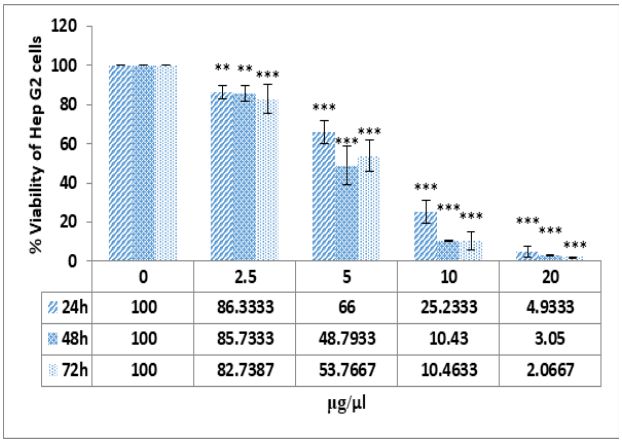
تغییرات مرفولوژیکی سلول‌های سرطانی و نرمال تیمار شده با غلظت‌های مختلف دود عنبرنسارا توسط میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-10]

سرطانی تیمار نشده دوکی شکل هستند که در اثر مواجه با دود و بسته به غلظت آن، سلول‌ها دچار مرگ و میر سلولی شدند. همچنین دود عنبرنسارا در غلظت ۵۸/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بیشترین میزان مرگ و میر نسبت به گروه شاهد را ایجاد کرده است. علاوه بر آن در غلظت ۰/۳۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیمی از سلول‌های سرطانی تیمار شده دچار مرگ و میر سلولی شدند. شکل ۱ میزان مرگ و میر سلول های HepG۲ تیمار شده با دود را در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهد. همچنین نمودار ۱ میزان تاثیر غلظت‌های مختلف دود عنبرنسارا بر زیستایی سلول‌های سرطانی پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در تست سمیت سلولی را نشان می‌دهد.



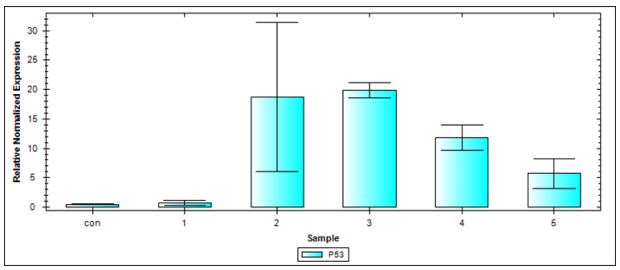
شکل ۱: مرفولوژی سلول‌های سرطانی تحت تاثیر دود عنبرنسارا. سمت راست سلول‌های شاهد با مرفولوژی دوکی شکل و سمت چپ سلول‌ها تحت تاثیر دود عنبرنسارا با مرفولوژی تغییر یافته را نشان می‌دهد.



	0	2.5	5	10	20
24h	100	86.3333	66	25.2333	4.9333
48h	100	85.7333	48.7933	10.43	3.05
72h	100	82.7387	53.7667	10.4633	2.0667

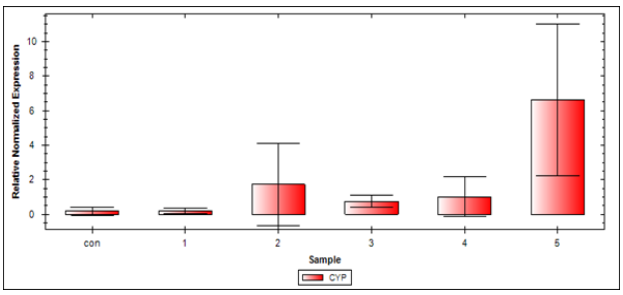
نمودار ۱: میزان زیستایی سلول‌های سرطانی برحسب زمان‌های مواجه با دود عنبرنسارا. (دو ستاره نشان دهنده سطح معناداری ۰/۰۱ و سه ستاره نشان دهنده سطح معناداری ۰/۰۰۱ می‌باشد.)

نمودار ۲ نتایج ریل‌تایم ژن P۵۳ را نشان می‌دهد. در غلظت‌های مختلف افزایش میزان بیان ژن نسبت به کنترل دیده می‌شود. اما بیشترین میزان بیان ژن مربوط به ستون ۳، یعنی غلظت ۵۸/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می باشد. سطح معناداری p<۰،۰۵ در نظر گرفته شده است.



نمودار ۲ : میزان بیان ژن P۵۳ برحسب غلظت‌های مختلف دود عنبرنسارا. ستون ۱: غلظت ۷/۱۱ mg/ml، ستون ۲: غلظت۲۵/۲۹ mg/ml، ستون ۳: غلظت ۵/۵۸ mg/ml، ستون ۴: غلظت ۷۵mg/ml/۸۷، ستون ۵: غلظت ۱۱۷ mg/ml. سطح معناداری p<۰،۰۵ در نظر گرفته شده است.

نمودار ۳- نتایج ریل‌تایم را در بررسی بیان ژن CYP۲E۱ نشان می دهد. در غلظت‌های مختلف افزایش میزان بیان ژن نسبت به کنترل دیده می‌شود. بیشترین میزان بیان ژن مربوط به ستون ۵، یعنی غلظت ۱۱۷ میلی‌گرم می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که دود در بالاترین میزان غلظت موجب تحریک بیان ژن شده است. سطح معناداری p<۰،۰۵ در نظر گرفته شده است.



نمودار ۳ : میزان بیان ژن CYP۲E۱ بر حسب غلظت‌های مختلف دود عنبر نسارا. ستون ۱: غلظت ۷/۱۱ mg/ml، ستون ۲: غلظت ۲۵/۲۹ mg/ml، ستون ۳: غلظت ۵/۵۸ mg/ml، ستون ۴: غلظت ۷۵mg/ml/۸۷، ستون ۵: غلظت ۱۱۷ mg/ml. سطح معناداری p<۰،۰۵ در نظر گرفته شده است.

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش اثر مهارکنندگی دود جمع آوری شده از عنبرنسارا بر روی رشد سلول‌های سرطانی را نشان داد. از آنجایی که از دیدگاه پژوهشی و علمی، سودمندی روش‌های سنتی و داروئی باید از نظر آزمایشگاهی و بالینی مورد تایید قرار گیرند، و با توجه به استفاده وسیع از عنبرنسارا توسط عموم جامعه در درمان بعضی از بیماری‌ها، و با توجه به اینکه تاکنون در زمینه اثربخشی دود عنبرنسارا بر سلول‌های سرطانی کبد مطالعه‌ای صورت نگرفته است، لذا در این پژوهش تلاش شده است که اثربخش بودن یا نبودن این ماده مورد بررسی قرار گیرد (۱۳). نتایج مرفولوژی و تست سمیت سلولی نشان داد در غلظت ۵۸/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حدود نیمی از سلول‌ها از بین رفته اند(IC۵۰). همچنین در همین غلظت بیشترین میزان بیان ژن P۵۳ و در غلظت ۱۱۷ بیشترین میزان بیان ژن CYP۲E۱ مشاهده شد. در تحقیقی در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی اجزاء عنبرنسارا با استفاده از دستگاه GC-MS از یکدیگر جدا شدند. این اجزاء شامل هگزان، اسید اسیتیک، آکونیتین، بتاکاروتن و دی متیل آمین بوده است که همگی خواص آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریال، ضد قارچ و ضد التهابی هستند (۱۴). همچنین در مطالعه عزیزی و همکاران اثر آناس (دود عنبرنسارا حل شده در پروپیلن‌گلیکول) بر سطح بیان سایتوکاین التهابی IL-۸ در رده سلولی HT-۲۹ القا شده توسط لیپوپلی ساکارید(LPS) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه بیانگر افزایش بیان IL-۸ در سلول های تحت تیمار با LPS و کاهش معنادار آن در سلول های تیمار شده با LPS به همراه آناس بود که می تواند دلیلی بر خاصیت ضد التهابی آناس باشد (۱۱). مطالعه عزیزی و همکاران نزدیک ترین مطالعه با توجه به ترکیب آناس و بررسی بیان ژن‌ها، با مطالعه ما می‌باشد. در مطالعه ما تغییرات بیان ژن در سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که دود دارویی بیان ژن‌ها را افزایش می‌دهد. در آزمایش دیگری از دود عنبرنسارا بعنوان دهان شویه استفاده شد، نتایج نشان دهنده مهار رشد میکروب‌ها، باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سالیواریوس بود، یعنی دود عنبرنسارا همانند دهانشویه کلرهگزیدین عمل کرده بود (۱۵). پروین و همکاران در مطالعه‌ای با هدف مقایسه خواص ضد میکروبی دود حاصل از دانه‌های اسپند و سرگین بر روی سودوموناس آئروژینوزا و *استافیلوکوکوس اورئوس* دریافتند که *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به دود سرگین و اسپند و سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سرگین حساس بودند، با افزایش زمان دود دهی، قطر هاله عدم رشد در موارد حساس بزرگتر شده و به عبارت دیگر اثرات ضد میکروبی دود افزایش می یافت (۱۶). محقق زاده و همکاران، در مطالعه دیگری با عنوان ارزیابی سیتوتوکسیک دود ناشی از عنبرنسارا روی دو رده سلول سرطان دهانه رحم و حنجره و یک

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-10]

رده نرمال دریافتند که دود ناشی از سوختن عنبرنسارا روی رده‌های سلولی فوق الذکر در غلظت معادل ۲ میلی‌گرم یا کمتر اثر کشنده دارد (۱۷). طالبی و همکاران در سال ۱۳۹۶ در مطالعه‌ای با مقایسه خواص ضد میکروبی دود حاصل از عصاره مستقیم عنبرنسارا با آنتی بیوتیک‌های رایج برروی باکتری آسینوباکتر بومانی دریافتند که میانگین هاله عدم رشد باکتری تحت اثر با عنبرنسارا به طور معناداری بیشتر از هاله عدم رشد آنتی بیوتیک انتخابی بود (۱۸). عنبرنسارا سرگین ماده الاغ است که در فصل بهار جمع‌آوری می‌شود، برخی معتقدند اولین پشگل کره الاغ بعد از تولد است. این ماده را مانند اسپند دود کرده و دود ناشی از آن را استنشاق می‌نمایند. این ماده در ظاهر بی ارزش، که به نظر می‌رسد تنها می‌تواند به عنوان کود حیوانی کاربرد داشته باشد، مدت هاست که جای خود را در طب سنتی پیدا کرده و در درمان بسیاری از بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های عفونی کاربرد دارد (۱۷). بهترین زمان جمع‌آوری عنبرنسارا در فصل بهار است، الاغ ماده در فصل بهار از بهترین گیاهان داروئی تغذیه می‌کند و دود کردن آن در واقع یعنی دود کردن ده‌ها گیاه داروئی به صورت همزمان، این دود هیچگونه اثر سوئی ندارد و البته بوی آن بسیار ناخوشایند است. در طب سنتی این ماده را مانند اسپند دود کرده و دود ناشی از آن را در اتاق پراکنده می‌ساختند و معتقد بودند این دود خاصیت میکروب‌کشی و ضدعفونی کنندگی دارد. برخی از خواص ذکر شده برای عنبرنسارا شامل درمان سرماخوردگی یا برونشیت، خارش پوست، عفونت‌های واژینال، بواسیر، درد دندان، تسهیل زایمان طبیعی، کاهش حجم و زمان خونریزی سیکل ماهیانه، تقویت کننده تارهای صوتی، بندآوردن خون دماغ، درمان آسم، برطرف کننده زخم‌های چرکین، درمان صرع و درمان آفت دهان می‌باشد (۱۹). با توجه به همه این مطالب و نیز تلاش محققین برای بهره‌گیری از درمان‌هایی با حداقل عوارض جانبی و اثرات سوء داروهای شیمیایی، استفاده از طب سنتی و داروهای گیاهی بخصوص در سال‌های اخیر شیوع بیشتری در بین محققین یافته است. این مطالعه تجربی نیز با همین رویکرد انجام گردید و از نتایج حاصل از آن نیز اطلاعات ارزشمندی به دست آمده است. در این مطالعه بیان ژن CYP بررسی گردید که طبق نمودار ۲ در غلظت ۱۱۷ میلی گرم افزایش بیان دیده شد. بر طبق مطالعات قبلی این ژن نقش عمده‌ای در متابولیسم ترکیبات با وزن مولکولی کم مثل اتانل دارد (۹). شاید عدم بیان ژن در غلظت‌های کمتر دود در این پژوهش مربوط به چگالی و وزن مولکولی ماده موثره باشد، لذا به نظر می‌رسد باید مطالعات بیشتری با غلظت‌های متنوع‌تری در این خصوص صورت گیرد. بر خلاف ژن CYP ، ژن P۵۳ در غلظت IC۵۰ دارای بیشترین بیان است و با افزایش غلظت میزان بیان آن کاهش می‌یابد. ژن P۵۳ روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۷ قرار دارد و یک سرکوب کننده تومور را کد می‌کند که در بیشتر سرطان‌های انسانی دچار جهش می‌شود. ویژگی بارز این جهش‌ها این است که با پراکندگی زیاد بر روی بیش از ۲۰۰ کدون مختلف روی می‌دهند(۲۰). با توجه به نقش این ژن به عنوان یک تومورساپرسور، بنابراین همسویی میزان بیان ژن با مرگ سلولی در این پژوهش دیده می‌شود. این به معنای اثربخشی دود حاصل از عنبرنسارا بر بیان ژن و محدودیت تکثیر سلول سرطانی است.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد دود حاصل از سوخت عنبرنسارا سبب عدم تکثیر و افزایش مرگ سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های نرمال شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دود عنبرنسارا احتمالا می‌تواند بر اساس غلظت و زمان دارای اثر کشندگی بر روی سلول‌های سرطانی کبد انسان باشد.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از همراهی گروه زیست شناسی و همچنین همکاران در پژوهشکده خوارزمی دانشگاه آزاد اسلامی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع:

1.Noori-Daloii M, Zakidizji M, Khavandi S, Rostami SH, Yaseri M, Alimoghaddam K, Ghavamzade A, Ghafari H. Metastas: review article. Tehran Univ Med. Iranian J Pharm Res 2011; 10: 741-748.
2.Noori-Daloii M. Targeted cancer therapy: review article. Tehran Univ Med. Iranian J Pharm Res 2011; 12:780-788.
3.Noori-Daloii M, Kashani B. Targeted cancer therapy: review article. Tehran Univ Med J 2018; 76 (4):231-240
4.Abuthnot P, Kew M, Fitschen W. C-fos, c-myc oncoprotein expression in human hepatocellular carcinomas. Anti Cancer Res 1991; 11: 921-4.
5.Ramadori G, Moriconi F, Malik L, Dudas j. Physiology and pathophysiology of liver inflammation, damage and repair. Physiol Pharma J 2008; Suppl 1:107-117.
6.Blum HE. Hepatocellular carcinoma: therapy and prevention. World J Gastroenterol 2005; 11:7391–7400.
7.Garcia-Suastegui WA, Ramos-Chavez LA, Rubio-Osornio M, Calvillo-Velascon M, Atzin-Mendez JA, Guevara J, and Silva-Adaya D. The Role of CYP2E1 in the Drug Metabolism or Bioactivation in the Brain. Oxid Med and Cellular Longevity; 2017, Article ID 4680732, 14 pages, https://doi.org/10.1155/2017/4680732
8.Kitam VO, Maksymchuk OV and Chashchyn M. The possible mechanisms of CYP2E1 interactions with HSP90 and the influence of ethanol on them. BMC Structural Biology 2012; 12(33), http://www.biomedcentral.com/1472-6807/12/33
9.Kamalipour S, Barzega A, Nikbakhsh N, Shokrzadeh M. Study of CYP2E1 Gene RsaI/PstI Polymorphisms in Patients with Gastric Cancer in North of Iran. Res in Mol Med 2016; 4(3), 22-27.
10.Noori-Daloii M.R, Abdollahzade R. Role of P53 in apoptosis and cancer therapy. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences 2014; 20(3), 191-201
11.(11) Azizi F, Al-Bouyeh M, Jooharchi Kh, Azmirad M, Javadi Gh. Evaluation of IL-8 gene expression by annas solution in intestinal epithelial HT-29 cell line, (Dissertation for the degree of MSc of Education). Graduate of Islamic Azad University of Tehran, 2016-2017. [Persian]
12.Buendia MA. Genetics of hepatocellular carcinoma. Cancer Biol 2000; 10(3):185-200.
13.Mudway IS, Duggan ST, Venkataraman C, Habib G, Kelly FJ, Grigg J. Combustion of dried animal dung as biofuel results in the generation of highly redox active fine particulates. Part Fibre Toxicol 2005; 2: 6-16.
14.Noori-Daloii M, Eshaghkhani Y. Targeted cancer therapy: review article. Tehran Univ Med. Iranian J Pharm Res 2011; 10:705-707.
15.Mirian M, Zarghi A, Sadeghi S, Tabaraki P, Tavallaee M, Dadrass O, et al. Synthesis and cytotoxic evaluation of some novel sulfonamide derivatives against a few human cancer cells. Iranian J Pharm Res 2011; 10(4): 741-748.
16.Parvin N, Validi M, Banitalebi M, Mobini G, Ashrafi K, Farrokhi E, et al . Effect of medicinal smokes on some nosocomial infection factors. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010; 12 (2): 76-83. [Persian]
17.MohagheghZadeh A, Faridi P, Shams Ardakani M, Ghasemi Y. Medicinal smokes. Journal of Ethnopharmacol 2006; 108: 161-184. [Persian]
18.Talebi A. Esfahan Univercity of Medical Sciences, Zootherapy. 196.
19.Walsh T, King MC. Ten genes for inherited breast cancer Cancer Cell 2007; 11, 103-110.
20.Lun-Xio Qin, Zhao-You Tang, Zeng-Chen Ma, Zhi-Quan Wu, Xin-Da Zhou, Qing-Hai Ye, et al. P53 immunohistochemical scoring: an independent prognostic marker for patients after hepatocellular carcinoma resection. World J Gastroenterol 2002; 8(3): 459-63.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-10]