Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:11 +0430 on Friday June 22nd 2018

پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۲۹، شماره ۴، زمستان ۸۴، صفحات ۳۳۷ تا ۳۴۲

Original Article

اثر عصاره گیاه Dendrostellera lessertii بر ترشح TNF-α و تنظیم کاهشی گیرنده های آن بر سطح مونوسیتهای انسانی در محیط کشت

دکتر مهدی هدایتی، دکتر راضیه یزدانپرست، دکتر بهار جعفری بروجردی، دکتر فریدون عزیزی×

× مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *با توجه به تاثیر عصاره آب الکلی (۵۰:۵۰) برگ گیاه Dendrostellera lessertii (سیاه گینه) در کاهش اندازه و تعداد تومورهای آدنوکارسینوم روده بزرگ و پستان در رت، جهت بررسی مکانیزم عمل این عصاره، در این مطالعه بررسی تاثیر عصاره مذکور بر رهایی فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا و تعداد گیرنده‌های این فاکتور بروی مونوسیت‌های انسانی در محیط کشت انجام شد.*

روش بررسی: *توسط دی‌متیل‌هیدرازین تومور روده بزرگ و توسط دی‌متیل‌بنزآنتراسن تومور پستان در رت‌های ماده ایجاد شد. تاثیر خوراکی عصاره آب الکلی (۵۰:۵۰) برگ گیاه سیاه گینه بر کاهش حجم و حذف تومورهای مذکور بررسی شد. جهت جداسازی و خالص نمودن مونوسیت‌های انسانی از روش گرادیان دانسیته بهره گرفته شد. اندازه‌گیری فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا توسط روش حساس الایزای بیوتین استرپتواویدین صورت پذیرفت. بررسی تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا توسط نشاندارسازی رادیواکتیوی به کمک ید ۱۲۵ و دستگاه گاماکانتر انجام گرفت.*

یافته‌ها: *تجویز روزانه خوراکی عصاره آب الکلی (۵۰:۵۰) برگهای گیاه سیاه گینه به مدت ۲۰ هفته متوالی سبب حذف و یا کاهش اندازه تومورهای پستان و همچنین تحلیل تومورهای روده بزرگ در رت‌های آزمایشگاهی شد. این عصاره در مسیری وابسته به دوز بتدریج سبب افزایش ترشح فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا می‌گردد. در مسیری وابسته به زمان در کمتر از ۹۰ دقیقه عصاره مذکور باعث تنظیم کاهشی شدید تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا بروی مونوسیت‌ها در محیط کشت می‌شود.*

نتیجه‌گیری: *عصاره آب الکلی (۵۰:۵۰) برگهای گیاه سیاه گینه سبب کاهش تومورهای آدنوکارسینومای روده بزرگ و آدنوکارسینومای پستان رت می‌گردد. در بررسی مکانیزم عمل این عصاره معلوم شد که عصاره مذکور مشابه داروی گیاهی آنتی‌نئوپلاستیک تاکسول، سبب تحریک رهایی فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا توسط مونوسیت‌ها در محیط کشت می‌گردد و در ضمن این عصاره سبب تنظیم کاهشی تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا در سطح مونوسیت‌های انسانی می‌گردد.*

واژگان کلیدی: *فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا، تاکسول، تومور پستان، سیاه گینه.*

مقدمه

سابقه استفاده از گونه‌های مختلف گیاه دافنه (تیمه لاسه) در درمان سرطان به ۲۰۰ سال پس از میلاد بر می‌گردد (۴-۱). علیرغم گزارشات مربوط به اثرات دارویی این رده و گونه گیاهی در کشورهای مختلف، گزارشی در مورد کاربرد دارویی گونه و جنس ایرانی این گیاه یعنی سیاه گینه (Dendrostellera lessertii) وجود ندارد. لذا بدنبال جستجوی داروهای گیاهی با خاصیت ضد سرطانی، از گیاهان خانواده Thymelaceae در ایران، در این تحقیق اثر ضد توموری و سیتوتوکسیسیتی عصاره آب/ الکلی (۵۰:۵۰) برگهای این گیاه بروی تومورهای القاء شده روده بزرگ و همچنین پستان در رت مورد مطالعه قرار گرفت. پس از مشخص شدن اثرات

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دکتر مهدی هدایتی (**email:** hedayati@erc.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۳/۱۱/۱۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸٤/٦/۱۳

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:11 +0430 on Friday June 22nd 2018

ضدتوموری این عصاره، به منظور بررسی مکانیزم عمل آن، تاثیر عصاره این گیاه بر رهایی فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا (TNF-α) و نیز تعداد گیرنده‌های این فاکتور بر سطح مونوسیت‌های انسانی در محیط کشت در حضور و غیاب لیپوپلی‌ساکارید مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین در تمام مراحل از داروی تاکسول (داروی آنتی‌نئوپلاستیک طبیعی از پوست درخت سرخدار) جهت مقایسه استفاده شد. بر اساس گزارشات متعدد، تاکسول مانند لیپوپلی‌ساکارید، سبب افزایش رهایی فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا از مونوسیت‌ها می‌گردد (۹-۵). داده‌های حاصل از این تحقیق نیز اثرات مشابهی را برای عصاره سیاه گینه مطرح می‌سازد، با این تفاوت که این اثرات درحضور لیپوپلی ساکارید افزوده و یا تقویت نمی‌گردد.

مواد و روشها

فاکتورنکروزدهنده بافتی آلفا، لیپوپلی‌ساکارید سالمونلا تیفوموریم، آرپی‌ام‌آی ۱۶۴۰، نئومایسین، پنی‌سیلین و سایر مواد شیمیایی از کمپانی سیگما خریداری شد. یدید سدیم رادیواکتیو (۱۲۵) از آژانس انرژی اتمی ایران و لوکوسیت‌های افراد سالم اهداکننده خون از سازمان انتقال خون ایران تهیه گردید. داروی تاکسول نیز به عنوان ترکیبی شاهد در تحریک رهایی فاکتور نکروز دهنده توموری از شرکت سیگما خریداری گردید.

مواد گیاهی: گیاه سیاه گینه در انتهای فصل بهار از اطراف شهر اصفهان جمع‌آوری و در اتاق مخصوص خشک کردن گیاهان در دانشکده علوم دانشگاه تهران، بدور از تابش مستقیم نور خشک و نگهداری شد. سپس برگها از ساقه جدا و به صورت پودر در اتاق سرد نگهداری شد.

استخراج عصاره: پودر مذکور سه مرتبه با مخلوط حجمی یک به یک آب/ اتانل (۵۰:۵۰) استخراج و سپس تحت خلاء تغلیظ و در دمای ۲۰- نگهداری شد. در نهایت هر میلی‌لیتر از عصاره نهایی معادل ۱ گرم پودر گیاه بود.

تخمین دوز نیمه‌کشنده(LC50): توان بیولوژیک عصاره مذکور بر اساس آزمایش مک مولین و همکاران (۱۰) بروی میگوی آب‌شور (Artemia Solina) انجام شد. در ویال‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره مذکور، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون درمقابل نور و دمای اتاق، درصد مرگ و میر در غلظتهای مختلف عصاره گیاهی تعیین و طبق رابطه ذیل اصلاح گردید.

$$\%death = ([test-control]/control)\times 100$$

دوز نیمه کشنده عصاره بر اساس روش فینی معین شد (۱۱).

حیوانات: به منظور القاء تومور روده، رت‌های نر خریداری شده از حصارک رازی تهران (Sprague Dawley)، یک ماه قبل از دریافت ماده کارسینوژن دی‌متیل‌هیدرازین (dimethyl hydrazine) تحت رژیم پر چرب قرار گرفتند و سپس به دو گروه کنترل و آزمون تقسیم شدند. گروه آزمون از پنجاه روزگی، به مدت ۱۲ هفته، هر هفته یک بار تزریق صفاقی دی‌متیل‌هیدرازین (۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان در قالب محلول ۱ میلی مولار، در بافر حاوی EDTA و اسیدیته ۶/۵) دریافت و گروه کنترل نیز به همین میزان از بافر فاقد کارسینوژن دریافت می‌کردند. ۱۸ هفته پس از آخرین تزریق دو رت از گروه آزمون بطور انتخابی جدا و روده‌های کوچک و بزرگ آنها از لحاظ تومور مورد بررسی قرار گرفتند. پس از تایید پاتولوژیست مبنی بر وجود تومورهای آدنوکارسینومای روده، رت‌های آزمون به دو گروه دریافت‌کننده عصاره گیاهی و کنترل تقسیم شدند. گروه اول به مدت ۱۰ هفته روزانه نیم میلی‌لیتر عصاره خوراکی (معادل نیم‌گرم پودر گیاه) دریافت می‌کردند. به گروه کنترل نیز در زمان مذکور معادل همین میزان آب مقطر تجویز می‌شد. پس از ۱۰ هفته رت‌های دو گروه جهت بررسی تومورهای روده به پاتولوژیست ارجاع داده شدند. جهت القاء تومور پستانی، رت‌های ماده (Sprague Dawley) خریداری شده از ۲۱ روزگی با آغشته کردن غذای آنها با ۲۰٪ روغن ذرت و خشک کردن در دمای ۳۷ درجه، تحت رژیم پرچرب قرار داشتند. از ۵۰ روزگی با تجویز دی‌متیل‌بنزآنتراسن (demethyl benzantracene) (۵ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر روغن ذرت) تومور پستان در رت‌ها القاء شد. این عمل به مدت چهار هفته متوالی و دوبار در هفته انجام می‌گرفت. جهت کاهش اثر مواد غذایی چرب بر جذب روده‌ای کارسینوژن ۱۲ ساعت قبل از تجویز کارسینوژن رژیم عادی غذایی اعمال شد. پس از ۱۲ ساعت از تجویز کارسینوژن، مجدد از رژیم پرچرب استفاده می‌شد. شرایط مشابهی برای گروه کنترل اعمال می‌شد. ابعاد تومورهای بوجود آمده هر هفته در دو قطر عمود بر هم توسط ورنیه اندازه‌گیری می‌شد. رت‌های تومردار از بقیه جدا و به دو گروه کنترل و آزمون تقسیم شدند. گروه آزمون ده هفته متوالی روزانه نیم میلی‌لیتر عصاره خوراکی (معادل نیم گرم پودر گیاه) و گروه کنترل به همان میزان آب مقطر دریافت می‌کردند. پس از اندازه‌گیری ابعاد تومور در رت‌ها، حجم تومور از رابطه ذیل محاسبه می‌گردید: $V=L\times W^2/2$ که در آن V=حجم، L=طول و W=قطر می باشد.

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:11 +0430 on Friday June 22nd 2018

یـدداركردن فـاكتور نكروزدهنـده بـافتی آلفـا: نشاندارسـازی رادیواکتیو فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا توسـط یـد ۱۲۵ بـه کمـک روش گـرین وود و همکـاران انجـام پـذیرفت (۱۴). در روش مذکور فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفـا (۵۰۰ میکروگـرم در میلی‌لیتر) با یدید سدیم (۱۸/۵×۱۰۶ بکرل) و کلرآمین‌تی (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به مـدت ۵ دقیقـه در دمـای اتـاق انکوبه شـدند و سـپس ۱۰ میکرولیتـر محلـول سـدیم متـابی سولفیت (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به آن افـزوده و پـس از ۲ دقیقه ۱۰ میکرولیتر محلول یدید پتاسیم (۵۰ میکرو مولار در بافر تریس) به آن افزوده گردید. جداسـازی مولکـول نشـاندار شده از سایر مولکـول‌هـا توسـط سـفادکس جـی ۲۵ در بـافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار و اسـیدیته ۶/۸، حـاوی ۰/۲۵ درصـد ژلاتین انجام پذیرفت.

جداسازی مونوسیت‌هـا: جداسـازی مونوسـیت‌هـای انسـانی از بسته‌های لوکوپک به دو روش چسبندگی سلولی (۱۵) انجـام گرفت. در روش مذکور سلول‌های چسبیده بـه ظـروف پتـری کمپانی نانک دو مرتبه بـا بـافر فسـفات سـالین شستشـو داده شدند و به صورت سوسپانسـیون حـاوی ۵ میلیـون سـلول در میلی‌لیتر بـه محـیط کشـت افـزوده شـدند. پـس از ۲ سـاعت انکوباسیون در محیط کشت حاوی ۵٪ دی‌اکسیدکربن و دمای ۳۷ درجه، سلولهای نچسبیده با ۳ تا ۴ بار شستشو با بافر سرد فسفات سالین از محیط خـارج شـدند. در نهایـت سـلول‌هـای مونوسیت چسبیده با کمک میله تفلونی و بافر فسفات سـالین حاوی EDTA جدا و در محـیط کشـت بـا غلظـت ۵۰۰ هـزار سلول در میلی‌لیتر سوسپانسیون گردیدند (۱۱،۱۲).

محیط کشت: در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای به صـورت دوبـل یـک میلیون سلول در میلی‌لیتر در محیط کشت (آرپی‌ام‌آی ۱۶۴۰، حاوی ۱۰۰ واحد بین‌المللی پنـی‌سـیلین، ۱۰۰ میکروگـرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین و ۱۰٪ سرم جنین گوساله) افـزوده شد. پس از ۲۰ ساعت مقادیر متفاوت عصاره گیاه سیاه گینه تا حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر به خانه‌های مختلـف اضـافه گردیـد و ۲۴ ساعت در دمـای ۳۷ درجـه و ۵٪ دی‌اکسـیدکربن انکوبـه شدند. البته برای سنجش گیرنده‌های فاکتور نکروزدهنده آلفـا حداکثر ۲ ساعت انکوبه شدند. به منظور تحریک مونوسیت‌هـا از رقت۱:۱۰۰ عصاره غلیظ گیاه مذکور (معـادل ۱ گـرم پـودر گیاه در میلی‌لیتر) بـه حجمهـای ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرولیتـر یـک بـار در حضـور ۱۰۰ نـانوگرم در میلـی‌لیتـر لیپوپلی‌سـاکارید و یـک بـار در غیـاب آن اسـتفاده شـد. ایـن تحریک با اثر تحریک تاکسول، با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار مقایسه شد.

تعیین غلظت فاکتور نکروز دهنده آلفـا: میـزان فـاکتور نکـروز دهنده آلفا در محلول فوقانی محیط کشتهای مـذکور بـا روش الایزای بیوتین– اسـترپتواویدین طراحـی شـده در آزمایشـگاه پژوهشی مرکز تحقیقات غدد درون ریز دانشگاه شهید بهشـتی (۱۷) اندازه‌گیری شد. بطور خلاصه ۱۰۰ میکرولیتر از محلـول فوقانی محیط کشتها به هر چاهک کیت الایـزا افـزوده و یـک ساعت در دمای اتاق بر روی شـیکر انکوبـه شـد. سـپس ۱۰۰ میکرولیتـر محلـول آنتـی‌بـادی بیوتینیلـه بعـد از شستشـوی چاهکها (بافر فسفات سالین حاوی ۰/۰۵ درصد توین ۲۰) به آنها افزوده و مجددا یک ساعت در دمای اتـاق بـر روی شـیکر انکوبه شد. بعد از این زمان و شستشوی مجدد ۱۰۰ میکرولیتر کنژوگه پراکسیداز– استرپتوآویدین به چاهکهـا افـزوده و نـیم ساعت در شرایط فوق انکوبه شدند. در نهایت پس از شستشو و افزودن ۱۰۰ میکرولیتر تترامتیل‌بنزیدین و آب اکسیژنه و نـیم ساعت انکوباسیون توسـط ۱۰۰ میکرولیتـر اسـید سـولفوریک واکنش متوقف و نتیجه آن در طول موج ۴۵۰ نـانومتر قرائـت گردید. میزان فـاکتور نکـروز دهنـده آلفـا بـر اسـاس منحنـی استاندارد محاسبه گردید.

اندازه‌گیری گیرنده‌های فاکتور نکروز دهنده آلفا: به خانه‌هـای مربوط به کنترل و آزمون (تحت تاثیر مقـادیر مختلـف عصـاره گیاه)، حـاوی مونوسـیت‌هـا، در فواصـل زمـانی مختلـف ۱۰۰ میکرولیتر از فاکتور نکروز دهنده آلفـای نشـاندار شـده بـا یـد رادیواکتیو افزوده و پس از چهار مرتبه شستشو با محیط کشت و جداسازی سلول‌ها با سانتریفیوژ (با نیروی ۳۰۰جی، برای ۵ دقیقه) رادیواکتیویته سلول‌ها که متناسب با تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروز دهنده آلفا می‌باشد با دستگاه گامـا کـانتر مـورد شمارش قرار گرفت.

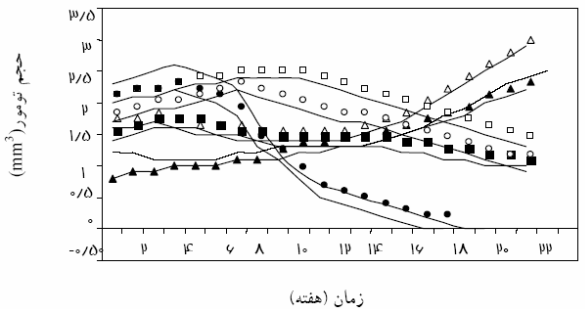
یافته‌ها

سنجش زیستی (Bioassay): توان بیولوژیکی عصاره آب/الکلی سیاه گینه بر اساس تست میگو، دوز نیمه کشـنده آن معـادل ۰/۰۵۰ میلی‌گرم پودر برگ گیاه در میلی‌لیتر محاسبه گردید.

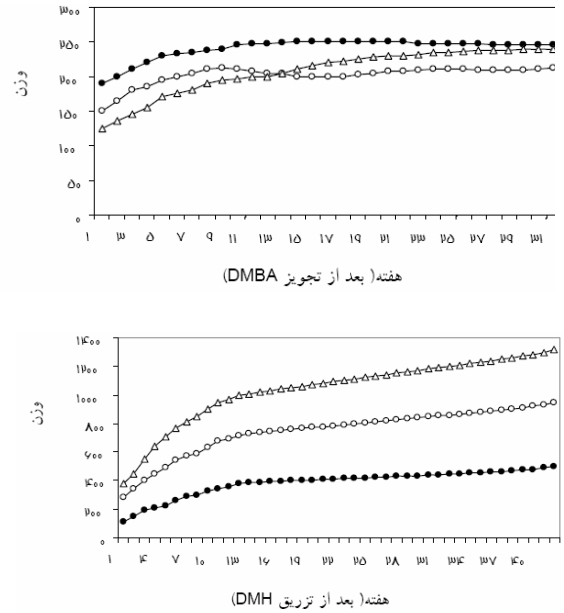
فعالیت ضد توموری: تومور پستان در ۶۲٪ رت‌های تحت تاثیر دی‌متیل‌بنزآنتراسن بوجود آمد. بطور متوسط در هر رت ۲ تـا ۳ تومور تشکیل شد. نوع تومور توسط پاتولوژیست کارسـینوما و آدنوکارسینوما گزارش گردید. طبق تصویر شماره یک اندازه سه تومور انتخاب شده در رت‌های کنترل در مدت ۲۰ هفته به بیش از ۲/۸ میلی‌متر مکعب رسید در حالی که اندازه تومورهـا در رت‌هـای دریافـت‌کننـده عصـاره ایـن گیـاه (روزانـه ۰/۵

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:11 +0430 on Friday June 22nd 2018

میلی‌لیتر عصاره، معادل ۰/۵ گرم پودر برگ گیاه) در زمان فوق به شدت کاهش و در مواردی پس از ۱۶ هفته کاملا از بین رفت. نتایج گزارش شده در تصویر شماره ۲ نشان می‌دهد که مصرف آب و وزن رت‌ها در کلیه گروهها مشابه بوده و تحت تاثیر عصاره گیاه تغییر نکرده است. از آنجایی که اثرات سمی خاصی با مصرف بلند مدت این عصاره مشاهده نشد و تاثیر قابل ملاحظه‌ای در کاهش و حتی از بین رفتن تومور پستان داشت، بررسی مکانیزم عمل این عصاره حایز اهمیت به نظر می‌رسید.



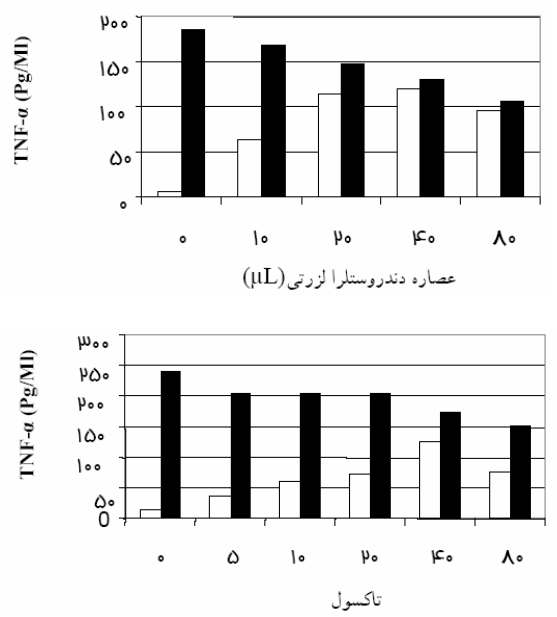
شکل ۱- تاثیر تجویز خوراکی عصاره گیاه بر تومور پستان رت. رت‌های دریافت‌کننده روزانه نیم میلی‌لیتر عصاره (●–●، ○–○، □–□، ___، ■–■) و رت‌های دریافت‌کننده روزانه نیم میلی‌لیتر آب مقطر (Δ–Δ، ▲-▲، --)



شکل ۲- تاثیر عصاره آب الکلی گیاه بر وزن رت‌ها با تجویز (الف) دی‌متیل‌بنزآنتراسن DMBA و(ب) تزریق دی‌متیل هیدرازین DMH. (■–■)گروه کنترل، (Δ–Δ)گروه کارسینوژن و (●–●)گروه دریافت‌کننده کارسینوژن و عصاره

طبق گزارشات قبلی یکی از مسیرهای عملکرد داروی آنتی‌نئوپلاستیک تاکسول با منشاء گیاهی افزایش رهایی فاکتور نکروزدهنده آلفا توسط مونوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشد (۱۸). لذا تاثیر عصاره گیاه سیاه گینه با غلظتهای مختلف و وابسته به زمان مورد مطالعه قرار گرفت.

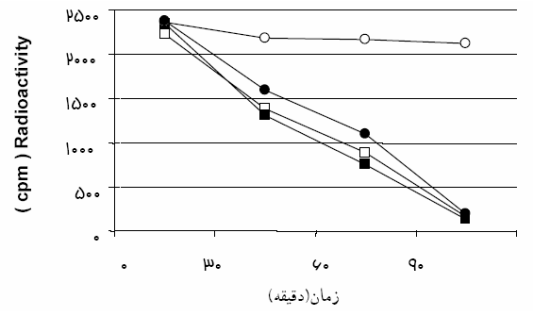
اثر عصاره در ترشح فاکتورنکروزدهنده آلفا: تصویر شماره ۳ نشان می‌دهد که عصاره برگ گیاه سیاه گینه به طریق وابسته به دوز، مانند تاکسول سبب افزایش ترشح فاکتورنکروزدهنده آلفا می‌گردد. البته افزودن لیپوپلی‌ساکارید (۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) به عنوان محرک مونوسیت‌ها، این تحریک ترشح فاکتور نکروزدهنده آلفا را افزایش و یا کاهش نمی‌داد. افزایش ۸۰ میکرولیتر عصاره (معادل ۱۰ میلی‌گرم پودر گیاه در میلی‌لیتر) به ۱ میلی‌لیتر محیط کشت تاثیری معادل ۱۰۰ نانوگرم لیپوپلی‌ساکارید در رهایی فاکتور نکروز دهنده آلفا از مونوسیت‌ها داشت. تاکسول به تنهایی، حتی تا دوز ۸۰ میکرومولار تاثیری معادل ۱۰۰ نانوگرم لیپوپلی‌ساکارید را در رهایی فاکتور نکروزدهنده آلفا نداشت. داده‌های این تحقیق نشان می‌دهد، تاکسول و عصاره آب الکلی گیاه سیاه گینه هردو قادر به افزایش ترشح فاکتور نکروز دهنده آلفا از مونوسیت‌های انسانی در محیط کشت می‌شوند. این اثر مشابه تاثیر تاکسول بر ماکروفاژها می‌باشد (۸).



شکل ۳- تاثیر غلظتهای مختلف عصاره دندرو ستلرا لزرتی (سیاه گینه) (الف) و غلظتهای مختلف تاکسول (ب) در رهایی TNF-α در حضور (■) و غیاب (□) ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر از لیپوپلی‌ساکارید بر روی مونوسیت‌های انسانی

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:11 +0430 on Friday June 22nd 2018

اثر عصاره بر تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروزدهنده آلفا: تاثیر عصاره سیاه گینه بر تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروزدهنده آلفا بر روی مونوسیت‌ها در مقایسه با تاکسول بررسی شد. طبق تصویر شماره ۴ اتصال فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا به گیرنده‌هایش یا به عبارتی تعداد این گیرنده‌ها در مسیری وابسته به زمان در طی ۹۰ دقیقه به شدت کاهش می‌یابد. لذا این عصاره مانند تاکسول قادر به تنظیم کاهشی تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا می‌باشد. ماده موثر موجود در عصاره سیاه گینه که سبب افزایش رهایی فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا و تنظیم کاهشی گیرنده‌های آن بر سطح مونوسیت‌ها می‌گردد، جدا و تخلیص شد و بررسی ساختمان شیمیایی آن در دست انجام است.



شکل ۴- اثرات وابسته به زمان عصاره سیاه گینه بر تعداد گیرنده‌های فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا بر مونوسیت‌های انسانی در محیط کشت. آب مقطر(o–o)، عصاره ۲۰µL (●–●)،عصاره ۴۰µL (□–□)،عصاره ۸۰µL(■–■)

بحث

استفاده از گیاهان خانواده تیمه لاسه در درمان سرطانها سابقه طولانی دارد. ازگونه منحصر به اقلیم ایران در این خانواده، می‌توان از دافنه ماکروناتا و دندروستلرا لزرتی (سیاه گینه) نام برد. با توجه به شیوع و اهمیت سرطانهای لوله گوارش و نیز پستان، در مطالعه پیشین پس از مشخص شدن تاثیر عصاره برگ گیاه دافنه ماکروناتا بر تومور پستان در رت، تاثیر این عصاره در افزایش ترشح فاکتور نکروز دهنده بافتی آلفا و تنظیم کاهشی گیرنده‌های این فاکتور برسطح مونوسیت‌ها مشخص شد (۱۹). لذا عضو دیگر این خانواده گیاهی یعنی دندورستلرا لزرتی برای مطالعه مشابه انتخاب گردید. مطالعات اولیه تاثیر مثبت عصاره آب الکلی برگ این گیاه بر کاهش اندازه تومورهای آدنوکارسینومای پستان و روده در رت را نشان داد. یکی از داروهای موثر در درمان برخی سرطانها، تاکسول می‌باشد. این ترکیب اولین بار از پوست درخت سرخدار استخراج شد. در بررسی مکانیزم مولکولی عملکرد این ترکیب دو مسیر اصلی گزارش شده است. در مسیر اول که به مسیر وابسته به چرخه سلولی معروف است، عملکرد این دارو به چرخه سلولی وابسته بوده و با تثبیت میکروتوبول‌ها مانع جدا شدن دوک تقسیم می‌شود. اما در مسیر دوم که مسیر مستقل از چرخه سلولی می‌باشد، عمدتا از طریق سایتوکاین‌ها عمل می‌کند. مهمترین سیتوکاین در این خصوص فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا می‌باشد. این فاکتور عمدتا از ماکروفاژها و مونوسیت‌های ترشح می‌گردد. البته این ترشح با محرکهای ماکروفاژی مانند لیپوپلی‌ساکاریدها افزایش نیز می‌یابد. در بررسی عملکرد عصاره دندروستلرا لزرتی، داده‌های این تحقیق نیز حاکی از افزایش رهایی فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا توسط مونوسیت‌های جداشده انسانی در محیط کشت بود. با این تفاوت که لیپوپلی‌ساکارید تاثیر عمده‌ای در این افزایش رهایی نداشت. شاید پودر گیاه در طی مراحل آماده‌سازی و عصاره‌گیری به عوامل مشابهی آلوده شده و یا اصلا خود حاوی موادی با اثر مشابه بوده است. از آنجایی که تعداد قابل ملاحظه‌ای از گیرنده‌های این فاکتور نکروزدهنده بر روی خود مونوسیت‌ها وجود دارد چرا افزایش رهایی آن توسط مونوسیت‌ها به خود مونوسیت‌ها آسیب نمی‌رساند؟ بررسی تعداد گیرنده‌های این فاکتور نکروزدهنده بر روی مونوسیت‌ها به کمک ردیابی لیگاند مربوطه با نشاندارسازی رادیواکتیویته حاکی از تنظیم کاهشی شدید این گیرنده‌ها بود. به عبارتی با افزایش رهایی فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا، سلولهای مولد یعنی مونوسیت‌ها، برای مکانیزم دفاعی، تعداد گیرنده‌های این فاکتور در سطح خود را به سرعت (کمتر از ۹۰ دقیقه) و به شدت در محیط کشت کاهش می‌دهند. لازم به ذکر است که ماده موثره در عصاره سیاه گینه که سبب افزایش ترشح فاکتور نکروزدهنده بافتی آلفا و کاهش تعداد گیرنده‌های آن بر سطح مونوسیت‌های انسانی در محیط کشت می‌گردد، جدا و خالص شده است و تعیین ساختمان شیمیایی آن در دست بررسی است. امید است با تعیین ساختمان مولکولی و بررسی عوارض جانبی آن بتوان بر مبنای گیاهان بومی کشور خودمان به داروهای موثری در درمان برخی سرطانها دست یابیم.

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 2:11 +0430 on Friday June 22nd 2018

REFERENCES

1. Abe F, Iwase Y, Yamauchi T, Kinjok K, Yaga S. Daphnane diterpenoids from the bark of Winstromia etusa. Phytochem 1977;44:643-6.
2. Baba K, Takeuchi K, Hamaski F, Kozawa M. Chemical studies on the constituents of the Thimelaeceous plants. Thunb Chem Pharm Bull 1986;34:595-8.
3. Kasai R, Lee K, Huang H. Antitumor agent 40.Genkawaphnin a potent anti-leukemic diterpene from Daphne genkawa. Phytochem 1981;20:2592-5.
4. Kupchan SM, Baxter RL. Mezerin: antileukemic principle isolated from Daphne mezerum. Science 1975;187:652-4.
5. Beatler B, Krochin N, Milsark IW, Luedke C, Cerami A. Control of cachepsin (tumor necrosis factor) synthesis, mechanism of endotoxine reistance. Science 1986;232:977-80.
6. Ding AH, Porteu F, Sanchez E, Nathan CE. Shared action of endotoxin and taxol on TNF-receptor and TNF release. Science 1990;248:370-3.
7. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin induced serum factor that cause necrosis tumors. Proc Natl Acad Sci USA 1975;72:3665-8.
8. Allen JN, Moore SA, Wewers NW. Taxol enhance but not induced IL-1 beta and TNF-α production. Clin Res 1992;40:744(Abstract).
9. Nagahira A, Nagahira K, Murafuji H, Abe K, Magata K, Matsui M et al. Identification of a novel inhibitor of LPS-induced TNF-α production with antiproliferative activity in monocytes/macrophages. Biochem Biophys Res Comm 2001;281:1030-6.
10. Meyer BN, Ferringne NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nicholas DE, Mclaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Plant Medica 1982;45:31-4.
11. Finney DJ. Probit analysis. 3rd edition. Cambridge, Cambridge University Press. 1971.
12. Clement IP. Ability of dietary fat to overcome the resistance of mature female rats to 7.12-dimethylbenzanethracene induced mammary tumornecrosis. Cancer Res 1980;40:2785-8.
13. Hussey HJ, Tisdule MJ. Metabolism and pharmacokinetic of the anti tumor agent 2, 3, 5 trimethyl-6-(3-pyridylmethyl) 1.4 benzoquinone. Brit J Cancer 1996;74:1379-82.
14. Greenwood FC, Hunter WM, Glover JS. The preparation of 131-I labeled human growth hormone of high specific radioactivity. Biochem 1963;39:114-8.
15. Bennett S, Berit SN. Variables in the isolation and culture of human monocytes that are of particular relevance to studies of HIV. J Leukoc Biol 1994;56:236-40.
16. Almeida MC, Silva AC, Barral A, Netto MB. A method for human peripheral blood monocytes isolation. Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 2000;95(2):221-3.
17. Hedayati M, Yazdanparast R, Azizi F. Determination of human tumor necrosis factor alpha by a highly sensitive enzyme immunoassay. Biochem Biophys Res Comm 2001;289:295-8.
18. Losi E, Rossano F, Cusumano V, Mancuso G, Tomasello F, Chillemi S, et al. Effects of Taxol on TNF-α and IL-6 production by human peripheral blood cells. Ann N Y Acad Sci 1996;30(784):525-8.
19. Hedayati M, Yazdanparast R, Azizi F. Anti-tumor activity of Daphne mucronata extract and its effects on TNF-α receptors and TNF-α release in cultured human monocytes. Pharmaceut Biol 2003:41(3):194-8.