ORIGINAL ARTICLE

The Protective Effects of Cichorium intybus L. seed Extract against Cell Toxicity Induced by Bleomycin on Human Non-malignant Fibroblast and Ovarian Cancer Cells

Somayeh Shahani[1],
Neda Zakeri[2],
Negar Hamzkanlu[2],
Seyed Jalal Hosseinimehr[3]

[1] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
[2] Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Pardis Unit, Ramsar, Iran
[3] Professor, Department of Radiopharmacy, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

(Received December 28, 2014 ; Accepted February 4, 2015)

Abstract

Background and purpose: Bleomycin as an anticancer drug causes side effects on normal tissues. The aim of this study was to investigate the effect of methanolic extract of *Cichorium intybus* seed (CI) on antiproliferative activity of bleomycin on human non-malignant skin and ovarian cancer cells.

Materials and methods: Human non-malignant fibroblast cells (HFFF2) and ovarian cancer cells (SKOV-3) were treated with bleomycin and methanolic extract of CI at various concentrations (20, 100, 500, 1000 and 2000 µg/ml). Their effects on cell viability were evaluated after 72 hrs. The antioxidant properties of the extract was investigated using DPPH (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging.

Results: Bleomycin killed normal skin and ovarian cancer cells. The cell survival rate increased significantly in groups receiving 100 and 1000 µg/ml of methanolic extract of CI (101% and 103% in HFFF2, respectively), while it was 82% in bleomycin-treated cells. CI did not show any protective effect on SKOV-3 cells treated with bleomycin. The extract exhibited considerable free radical scavenging activity.

Conclusion: Our study suggests that methanolic extract of *Cichorium intybus* seed with antioxidant activity probably protects non-malignant skin cell against toxicity induced by bleomycin without any significant protection on cancerous cell.

Keywords: *Cichorium intybus*, bleomycin, cell toxicity, cancer

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(121): 39-47 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۲۱ بهمن سال ۱۳۹۳ (۴۷-۳۹)

بررسی اثر عصاره دانه گیاه کاسنی [*Cichorium intybus* L.] روی سمیت سلولی ناشی از بلئومایسین در سلول های نرمال و سرطانی

سمیه شاهانی[۱]
ندا ذاکری[۲]
نگار حمزه کانلو[۲]
سید جلال حسینی مهر[۳]

چکیده

سابقه و هدف: داروی ضد سرطان بلئومایسین، منجر به بروز عوارض جانبی روی بافت‌های نرمال می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثر محافظتی عصاره متانولی دانه گیاه کاسنی روی سمیت سلولی ناشی از بلئومایسین روی سلول نرمال پوست می‌باشد بدون آن که این اثر را بر روی سلول سرطانی تخمدان ایجاد نماید.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر سلول‌های غیربدخیم پوست (HFFF2) و سرطانی تخمدان (SKOV-3) انسانی با بلئومایسین و عصاره متانولی دانه کاسنی در غلظت‌های مختلف ۲۰ تا ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیمار شدند و پس از ۷۲ ساعت درصد زنده ماندن سلول ها تعیین گردید. هم چنین خاصیت آنتی اکسیدانتی عصاره گیاه با روش به دام اندازی رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بلئومایسین موجب مرگ سلول‌های غیربدخیم پوست و سرطانی تخمدان گردید. تیمار سلول‌ها با دوزهای ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره کاسنی قبل از تیمار با بلئومایسین، موجب افزایش بقاء سلول‌های نرمال به میزان ۱۰۱ و ۱۰۳درصد شده است و درصورتی که درصد بقاء در بلئومایسین تنها ۸۲ درصد بود. عصاره کاسنی اثر معنی داری در افزایش بقاء سلول سرطانی تیمار شده با بلئومایسین نشان نداد. هم چنین عصاره گیاه اثر به دام اندازی رادیکال آزاد قابل توجه‌ای نشان داده است.

استنتاج: عصاره متانولی دانه گیاه کاسنی احتمالاً با اثر آنتی اکسیدانتی موجب کاهش سمیت سلولی ناشی از بلئومایسین روی سلول‌های غیربدخیم پوست شده است درصورتی که چنین اثر محافظتی را بر روی سلول های سرطانی تخمدان ایجاد نکرد.

واژه های کلیدی: کاسنی، بلئومایسین، سمیت سلولی، سرطان

مقدمه

بلئومایسین یکی از داروهای موثر در درمان سرطان می باشد که در بیماران با سرطان هوچکین، سروگردن و مغز استفاده می‌شود. بلئومایسین موجب شکست DNA در سلول می‌شود که دلیل عمده سمیت سلولی آن می‌باشد(۱). این دارو از طریق کوفاکتور آهن به DNA متصل می‌شود و در حضور اکسیژن، رادیکال‌های آزاد

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۵۳۶- ۹۲ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مولف مسئول: سیدجلال حسینی مهر– ساری: کیلومتر ۱۷ جاده دریا، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم(ص)، دانشکده داروسازی E-mail:sjhosseinim@yahoo.com
۱. گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشکده داروسازی، واحد پردیس خودگردان، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران
۳. گروه رادیوفارماسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۱۱/۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۱/۱۵

تولید می‌کند که موجب اکسیداسیون داکسی ریبوز و شکست DNA می‌شود و در نهایت منجر به آپوپتوز و مرگ سلولی می‌گردد(۲). هرچند بلئومایسین، داروی موثر در درمان سرطان است اما موجب بروز عوارض جانبی مانند سمیت ریوی می‌شود که حاصل از تشکیل رادیکال‌های آزاد و هم‌چنین پروسه‌های التهابی در بافت‌های نرمال می‌باشد(۴،۳). مقاومت سلول‌های سرطانی به بلئومایسین موجب کاهش اثر بخشی آن روی بافت توموری می شود به طوری که برای افزایش اثر بخشی نیاز به استفاده از دوزهای بالاتری از این دارو می‌باشد که این امر موجب افزایش عوارض جانبی آن نیز می گردد. بنابراین یافتن داروها و ترکیباتی که بتوانند همزمان با تجویز بلئومایسین، اثر آن را روی سلول‌های سرطانی افزایش دهند و از سوی دیگر از اثرات سمی این دارو بر روی سلول‌های نرمال بکاهند، امری ضروری و ارزشمند به نظر می رسد. گیاه کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus* L. از خانواده Compositae، گیاهی علفی به ارتفاع ۱/۵ متر با گل‌های آبی رنگ می‌باشد که در بسیاری از نقاط جهان، از جمله در مناطق زیادی از ایران به شکل خودرو رویش دارد. اندام مورد استفاده کاسنی، ریشه و تمام قسمت هوایی آن است(۶،۵). کاسنی از زمان‌های قدیم تا به امروز در بسیاری از نقاط دنیا به عنوان گیاهی مفید برای رفع مشکلات کبدی به کار می‌رود(۵). از این گیاه اثرات متعددی گزارش شده است که می‌توان به اثرات مقوی قلب، دیورتیک، رفع سوء هاضمه و بی اشتهایی، تسکین سیستم عصبی مرکزی، ضد التهاب، کاهش کلسترول و قند خون و غیره اشاره کرد(۸،۷). ترکیبات موثر موجود در این گیاه شامل سزکوئی‌ترپن لاکتون‌ها، مشتقات سینامیک اسید و فلاوونوئیدها هستند. در مقالات متعددی از ریشه، برگ و اندام هوایی گیاه کاسنی اثر آنتی‌اکسیدانتی با مکانیسم‌هایی هم‌چون به دام اندازی رادیکال آزاد، مهار پراکسید هیدروژن و شلاته کنندگی آهن گزارش گردیده است(۱۰،۹). در یک مطالعه، عصاره هیدروالکلی اندام هوایی کاسنی اثر مهارکنندگی بر روی آنزیم گزانتین اکسیداز نشان داده است(۱۱). از ریشه و برگ گیاه کاسنی اثر ضد سرطانی گزارش شده است. یک ترکیب سزکوئی‌ترپن لاکتون به نام Magnolialide جدا شده از ریشه گیاه کاسنی بر روی رده‌های مختلف از سلول‌های سرطانی اثر مهاری داشته است در حالی که سایر ترکیبات جدا شده در این مطالعه مانند Artesin، فاقد اثر بودند(۱۲). عصاره هیدروالکلی برگ گیاه کاسنی، اثر مهاری بر روی رده سلولی C32 ملانوما نشان داده است(۱۳).

دانه کاسنی به عنوان یکی از بخش‌های مورد استفاده گیاه در طب هند، برای درمان بیماری های کبدی و اسهال کاربرد دارد(۸). از عصاره متانولی دانه کاسنی ترکیبات تری ترپنی، استرول ها، وانیلیک اسید و syringic acid جداسازی شده است(۱۴). در بررسی انجام شده بر روی اثر محافظتی عصاره دانه کاسنی در برابر سمیت کبدی القاء شده توسط تتراکلرید کربن، فرکشن متانولی دارای بیش ترین اثر بوده است(۷). در بررسی انجام شده روی اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی دانه کاسنی، عصاره متانولی و فرکشن اتیل استاتی حاصل از آن دارای بیش‌ترین اثر آنتی‌اکسیدانی بودند(۱۵). مطالعات انجام شده بر روی دانه گیاه نشان‌دهنده وجود درصد بالایی از ترکیبات پلی فنولی به خصوص مشتقات کافئوییل کینیک اسید در دانه می‌باشد(۱۶). هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر عصاره متانولی دانه گیاه کاسنی روی سمیت سلولی ناشی از بلئومایسین روی سلول‌های غیربدخیم پوست (HFFF2) و سرطانی تخمدان (SKOV-3) انسانی می‌باشد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده است پودر لئوفیلیزه بلئومایسین (Lyoble, India) در آب مقطر استریل حل و با محیط کشت سلولی رقیق شد. پودر زرد رنگ 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl

tetrazoliumbromide (MTT) از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شد. ظروف و فلاسک کشت سلولی از شرکت بیوفیل (چین) تهیه گردید.

جمع آوری گیاه و عصاره گیری

دانه گیاه کاسنی از بازار بزرگ تهران خریداری شد و پس از تایید توسط کارشناس، در هرباریوم دانشکده داروسازی ساری با شماره ۱۰۲ ثبت گردید. دانه‌های گیاه پس از خرد شدن، با حلال متانول و با استفاده از روش خیساندن یا ماسراسیون در درجه حرارت اتاق عصاره‌گیری شد. سپس عصاره حاصله به کمک دستگاه تقطیر در خلاء دوار (روتاری) تغلیظ و در نهایت با دستگاه فریز درایر (Zirbus, Germany) کاملا" خشک شد.

کشت سلولی

سلول‌های غیربدخیم پوست انسانی (HFFF2) و سرطانی تخمدان انسانی (SKOV-3) از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سلول‌ها در دمای $37^{O}C$ و CO_2 5 درصد در محیط کشت Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 medium (Gibco, Paisley, UK) حاوی سرم جنین گوساله ۱۰درصد رشد کردند. عصاره کاسنی در حلال اتانول حل و سپس در محیط کشت رقیق شد.

بررسی مهار رشد سلولی

برای بررسی بقاء سلول‌های تیمار شده، از آزمون MTT استفاده شد. در این آزمون، سلول‌های زنده از طریق فعالیت‌های متابولیکی داخل سلولی (توسط آنزیم دهیدروژناز) نمک‌های تترازولیوم را احیاء و آن را تبدیل به رنگ بنفش می‌کنند درصورتی که سلول‌های مرده توانایی تولید رنگ بنفش را ندارند(۱۸،۱۷). به تعداد ۱۰۰۰۰ سلول نرمال پوست و سرطانی تخمدان در پلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، عصاره گیاه در غلظت‌های ۲۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به پلیت سلولی اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۲ ساعت انکوبه شدند. سلول‌ها در گروه کنترل نیز با حلال اتانول با شرایط یکسان تیمار شدند. سپس بلئومایسین با غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به چاهک‌ها اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. گروه کنترل منفی سلول‌ها فقط محیط کشت دریافت کردند و گروه کنترل حلال، محیط کشت با حلال دریافت کردند. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی لیتردر بافر فسفات سالین) به تمام چاهک‌ها اضافه شد و انکوباسیون به مدت ۴ ساعت دیگر ادامه یافت تا نمک‌های تترازولیوم توسط سلول‌های زنده احیاء شوند. پس از خارج نمودن محیط مائی روی سلول‌ها، به تمام چاهک‌های سلولی ۱۵۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اسیدی اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه جذب نوری هر چاهک سلولی در دستگاه الایزا (Bioteck, USA) در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. درصد بقاء سلول بدین صورت محاسبه می‌شود که میانگین جذب نوری چاهک سلول‌های کنترل بدون دارو ۱۰۰درصد درنظر گرفته می‌شود و جذب نوری چاهک سلول‌های تیمار شده با دارو و یا عصاره با آن مقایسه و محاسبه می‌شود. هرچه جذب نوری نسبت به گروه کنترل کم‌تر باشد بیانگر مهار رشد سلولی بیش‌تر می‌باشد.

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانتی

بررسی اثر به دام اندازی رادیکال آزاد عصاره متانولی دانه کاسنی با استفاده از روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) انجام شد(۱۹). به ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۰/۰۵ تا ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در اتانول-آب ۵۰ درصد)، ۲ میلی‌لیتر از محلول DPPH اضافه شد و در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس جذب محلول‌ها، در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (GENWAY, UK) خوانده شد. آزمایش سه بار تکرار و ازترکیب آنتی اکسیدانتی بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) به عنوان استاندارد استفاده گردید.

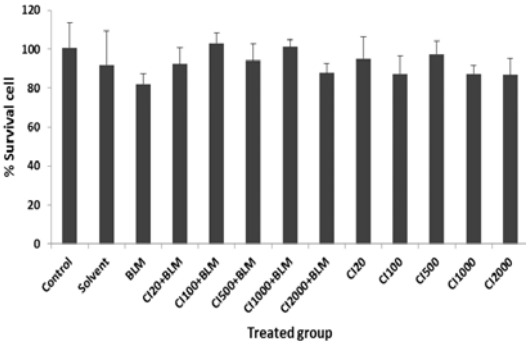
آنالیز آماری

در این مطالعه ابتدا اطلاعات به دست آمده از نمونه‌ها، دسته‌بندی گردید و با استفاده از نرم‌افزار Excel میانگین نمونه‌ها تعیین گردیدو نتایج با هم با آزمون student t-test مقایسه شد و نمودارهای مربوطه رسم گردید.

یافته ها

بررسی بقاء سلولی

زنده ماندن سلول‌های توموری تخمدان و غیربدخیم پوست درغلظت‌های مختلف عصاره گیاه کاسنی و یا بلئومایسین با روش MTT بررسی شد. جذب نوری ثبت شده از خانه‌های حاوی سلول‌هایی که در مجاورت عصاره و یا بلئومایسین بودند، با جذب نوری خانه‌هایی که تحت تاثیر عصاره نبودند (خانه‌های کنترل) مقایسه گردید و درصد سلول‌های زنده محاسبه گردید. سلول‌های فیبروبلاست پوست (HFFF2) به عنوان سلول غیربدخیم برای ارزیابی اثر عصاره کاسنی روی سمیت سلولی ناشی از بلئومایسین انتخاب شد. بلئومایسین موجب کاهش بقاء سلول روی سلول‌های HFFF2 شده است به‌طوری‌که بقاء سلول‌ها ۵±۸۲ درصد می‌باشد که از لحاظ آماری با گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد. مهار رشد سلول‌های پوست تیمار شده با غلظت‌های مختلف کاسنی به تنهایی (۲۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مشاهده نشد اما در غلظت خیلی بالا(۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مرگ سلولی ناشی از عصاره مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). تیمار سلول‌های پوست با غلظت‌های مختلف کاسنی موجب محافظت سلول‌های غیربدخیم در برابر مرگ سلولی ناشی از بلئومایسین بود به طوری که درصد بقاء در سلول های تیمار شده با عصاره کاسنی و بلئومایسین به ترتیب ۹۲درصد، ۱۰۳ درصد، ۹۴ درصد، ۱۰۱درصد و ۸۷ درصد برای غلظت‌های ۲۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد که در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از لحاظ آماری افزایش بقاء سلولی را در مقایسه با سلول‌های تیمار شده با بلئومایسین نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره کاسنی در غلظت‌های متوسط در این تحقیق موجب کاهش سمیت سلولی ناشی از بلئومایسین روی سلول های نرمال شده است (نمودار شماره ۱).



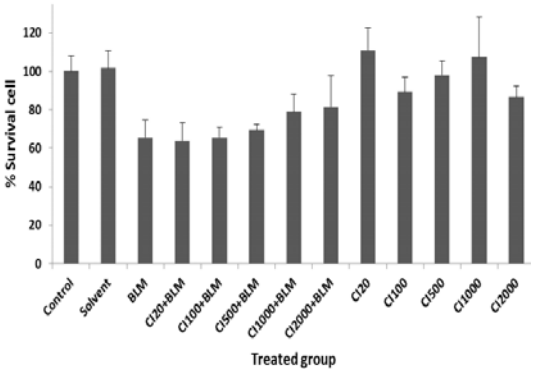
نمودار شماره ۱: تاثیر عصاره متانولی *Cichorium intybus* (CI) (۲۰۰۰-۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و بلئومایسین (BLM) روی بقاء سلول نرمال پوست (HFFF2). ستون های منحنی بیانگر درصد بقاء سلول ها می باشد که با آزمون MTT از روی تعیین جذب نوری چاهک های سلول های تیمار شده محاسبه شدند. عصاره کاسنی در دوز ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم همراه با بلئومایسین موجب افزایش معنی دار بقاء سلول در مقایسه با سلول های تیمار شده با بلئومایسین به تنهایی شده است ($p<0.05$)

مهار رشد سلول‌های سرطانی تیمار شده با غلظت‌های مختلف کاسنی به تنهایی (۲۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مشاهده نشد اما در غلظت خیلی بالا (۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مرگ سلولی ناشی از عصاره مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). بلئومایسین به تنهایی موجب مرگ سلولی شده است و بقاء سلول‌ها ۹±۶۵ درصد می‌باشد که از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد. تیمار سلول‌های سرطان تخمدان با بلئومایسین همراه با عصاره کاسنی در غلظت‌های ۲۰ تا ۲۰۰۰ اثر افزایش دهنده یا کاهش قابل توجه آماری روی مرگ سلولی در مقایسه با بلئومایسین به تنهایی نشان نداد (نمودار شماره ۲).

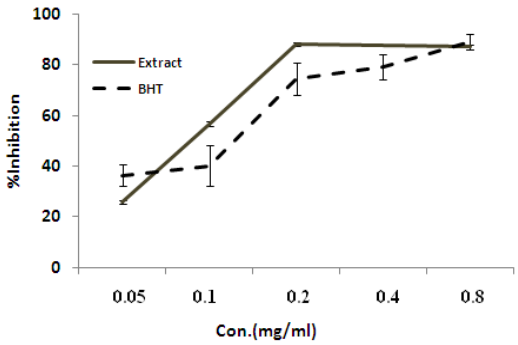
اثر آنتی اکسیدانتی

عصاره متانولی کاسنی با بدام اندازی رادیکال آزاد

دی فنیل پیکریل هیدرازیل خاصیت آنتی‌اکسیدانتی نشان داد که این اثر آنتی‌اکسیدانتی در مقایسه با ماده آنتی‌اکسیدانت استاندارد BHT قابل قیاس می‌باشد. عصاره گیاه کاسنی در غلظت‌های ۰/۲تا ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر آنتی اکسیدانتی حدود ۸۸ درصد نشان داد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۲ : تاثیر عصاره متانولی *Cichorium intybus* (CI) (۲۰۰۰-۲۰میکروگرم بر میلی لیتر) و بلئومایسین (BLM) روی بقاء سلول سرطانی تخمدان (SKOV-3). ستون‌های منحنی بیانگر درصد بقاء سلول‌ها می‌باشد که با آزمون MTT از روی تعیین جذب نوری چاهک های سلول های تیمار شده محاسبه شدند. از لحاظ آماری اختلافی بین گروه بلئومایسین و گروه های عصاره کاسنی همراه با بلئومایسین وجود ندارد.



نمودار شماره ۳ : اثر آنتی اکسیدانتی غلظت های مختلف عصاره متانولی (extract) *Cichorium intybus* و بوتیله هیدروکسی تولوئن (BHT) روی رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدارازیل (DPPH)

بحث

در مطالعه حاضر تاثیر عصاره متانولی دانه گیاه کاسنی روی سلول‌های غیربدخیم فیبروبلاست پوست و سرطانی تخمدان تیمار شده با بلئومایسین بررسی شد. عصاره گیاه به طور اختصاصی سلول‌های نرمال پوست را در برابر سمیت و مرگ سلولی ناشی از بلئومایسین محافظت نموده است درصورتی که چنین اثر محافظتی روی سلول‌های سرطانی تخمدان مشاهده نشد. البته بیش‌ترین اثر محافظتی عصاره کاسنی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد.

بلئومایسین دارویی است که برای درمان سرطان‌هایی مانند لنفوما، سر و گردن و سلول‌های بیضه و تخمدان استفاده می‌شود. مکانیسم تاثیر این دارو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد سمی و شکست DNA و القاء آپوپتوز و مرگ می‌باشد(۲،۲۰،۲۱). هرچند این دارو در درمان برخی از تومورها موثر است اما عوارض جانبی روی بیماران ایجاد می‌کند به طوری که عوارض پوستی و ریوی در بیماران تحت درمان با بلئومایسین شایع است و ممکن است منجر به قطع دارو درمانی شود(۲۴-۲۲) رادیکال‌های آزاد و پروسه‌های التهابی ایجاد شده توسط بلئومایسین نقش موثری در ایجاد این عوارض جانبی در بیماران دارند(۲) لذا ترکیباتی با خاصیت آنتی اکسیدانتی با حذف این رادیکال‌های آزاد می توانند در کاهش این عوارض جانبی موثر باشند. مطالعات قبلی نشان داد که آمیفوستین، داروی شیمیایی حاوی گوگرد و با اثر آنتی‌اکسیدانتی موجب کاهش سمیت ریوی می‌شود(۲۶،۲۵) و چنین اثر محافظتی با ترکیب Thymosin β4 (مهارکننده پروسه‌های التهابی) نیز مشاهده شد(۲۷). ترکیبات دیگر با خاصیت آنتی اکسیدانتی نشان دادند که می‌توانند مرگ سلولی و شکست‌های DNA ناشی از بلئومایسین را روی سلول‌های نرمال در محیط آزمایشگاه کاهش دهند که از آن جمله می‌توان به گلوتاتیون، سیستئین، مرکاپتواتانول، ویتامین C، اپی گالو کاتشین گالات و اسانس گیاه *Lippia origanoides* اشاره نمود که مهم‌ترین مکانیسم این ترکیبات اثر آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد(۳۱-۲۸). اپی کاتشین که ترکیب طبیعی موجود در چای می‌باشد موجب کاهش اثرات کشندگی

بلئومایسین روی سلول‌های نرمال پوست می‌شود(۳۲). تاکنون در چندین مطالعه، اثر آنتی‌اکسیدانتی از عصاره دانه کاسنی گزارش شده است(۳۴،۳۳،۱۵). در مطالعه‌ای که توسط Milala و همکاران بر روی اثر آنتی‌اکسیدانتی اندام‌های مختلف گیاه کاسنی صورت گرفت، عصاره دانه بیش از سایر اندام‌ها مانند ریشه و برگ دارای اثر آنتی‌اکسیدانتی بوده و هم‌چنین بیش‌ترین میزان ترکیبات پلی فنول از جمله دی کافئوییل کینیک اسید را دارا بوده است(۳۳). در مطالعهحاضر نیز عصاره متانولی دانه گیاه کاسنی اثر آنتی اکسیدانتی و خاصیت به دام اندازی رادیکال آزاد قابل توجهی را نشان داد و احتمالاً خاصیت آنتی اکسیدانتی عصاره گیاه در اثر محافظت شیمیایی آن روی سلول‌های نرمال پوست نقش دارد. هرچند اثر محافظت شیمیایی عصاره گیاه روی سلول‌های نرمال ارزشمند است اما این اثر نباید روی سلول‌های سرطانی مشاهده شود چون موجب کاهش اثر بخشی بلئومایسین روی سلول سرطانی می‌شود و در نتیجه منجر به مقاومت سلول سرطانی به درمان می‌گردد. در مطالعه‌ای که توسط Lee و همکاران روی اثر محافظت شیمیایی ژنیستئین روی سلول نرمال لنفوسیت و سرطانی HL60 تیمار شده با بلئومایسین صورت گرفت، نشان داد که این ترکیب طبیعی اثر محافظت اختصاصی روی سلول‌های نرمال دارد که احتمالاً به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانتی ژنیستئین می‌باشد(۳۵). در تحقیق حاضر نیز، عصاره متانولی دانه کاسنی اثر محافظت سلولی روی سلول‌های نرمال در برابر سمیت ناشی از بلئومایسین نشان داد ولی اثر محافظتی معنی داری روی سلول‌های سرطانی تخمدان ایجاد نکرد و موجب کاهش اثر بخشی بلئومایسین نشد که این نتایج می‌تواند ارزشمند باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره متانولی دانه گیاه کاسنی احتمالاً با اثر آنتی اکسیدانتی موجب کاهش مرگ سلولی ناشی از بلئومایسین روی سلول‌های غیربدخیم پوست شده است درصورتی که چنین اثر محافظتی روی سلول‌های سرطانی تخمدان مشاهده نشد. انجام تحقیقات بیش‌تر جهت شناختن مکانیسم محافظتی عصاره گیاه کاسنی و هم‌چنین مطالعات حیوانی لازم به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

بخشی از هزینه اجرای این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین گردید (کد طرح ۵۳۶). نتایج این طرح پایان نامه خانم ندا ذاکری دانشجوی دکتری داروسازی واحد پردیس خودگردان دانشگاه علوم پزشکی مازندران-رامسر می باشد.

References

1. Chen J, Ghorai MK, Kenney G, Stubbe J. Mechanistic studies on bleomycin-mediated DNA damage: multiple binding modes can result in double-stranded DNA cleavage. Nucleic Acids Res 2008; 36(11): 3781-3790.
2. Froudarakis M, Hatzimichael E, Kyriazopoulou L, Lagos K, Pappas P, Tzakos AG, et al. Revisiting bleomycin from pathophysiology to safe clinical use. Crit Rev Oncol Hematol 2013; 87(1): 90-100.
3. Sleijfer S. Bleomycin-induced pneumonitis. Chest 2001; 120(2): 617-624.
4. Sikic BI. Biochemical and cellular determinants of bleomycin cytotoxicity. Cancer Surv 1986; 5(1): 81-91.
5. Salehi Sormaghi M. Medicinal plants and herbal therapy. Donyaye Taghzieh Press; 2008 (Persian).
6. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser; 2007(Persian).
7. Ahmed B, Al-Howiriny TA, Siddiqui AB. Antihepatotoxic activity of seeds of Cichorium intybus. J Ethnopharmacol 2003; 87(2-3): 237-240.

8. Suntar I, Kupeli Akkol E, Keles H, Yesilada E, Sarker SD, Baykal T. Comparative evaluation of traditional prescriptions from Cichorium intybus L. for wound healing: stepwise isolation of an active component by in vivo bioassay and its mode of activity. J Ethnopharmacol 2012; 143(1): 299-309.
9. Malarz J, Stojakowska A, Kisiel W. Long-term cultured hairy roots of chicory-a rich source of hydroxycinnamates and 8-deoxylactucin glucoside. Appl Biochem Biotechnol 2013; 171(7): 1589-1601.
10. El SN, Karakaya S. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. Int J Food Sci Nutr 2004; 55(1): 67-74.
11. Pieroni A, Janiak V, Durr CM, Ludeke S, Trachsel E, Heinrich M. In vitro antioxidant activity of non-cultivated vegetables of ethnic Albanians in southern Italy. Phytother Res 2002; 16(5): 467-473.
12. Lee KT, Kim JI, Park HJ, Yoo KO, Han YN, Miyamoto K. Differentiation-inducing effect of magnolialide, a 1 beta-hydroxyeudesmanolide isolated from Cichorium intybus, on human leukemia cells. Biol Pharm Bull 2000; 23(8): 1005-1007.
13. Conforti F, Ioele G, Statti GA, Marrelli M, Ragno G, Menichini F. Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants. Food Chem Toxicol 2008; 46(10): 3325-3332.
14. Atta ur Rahman, Zareen S, Choudhary MI, Akhtar MN, Khan SN. Alpha-Glucosidase inhibitory activity of triterpenoids from Cichorium intybus. J Nat Prod 2008; 71(5): 910-913.
15. Mehmood N, Zubair M, Rizwan K, Rasool N, Shahid M, Uddin Ahmad V. Antioxidant, antimicrobial and phytochemical analysis of cichoriumintybus seeds extract and various organic fractions. Iran J Pharm Res 2012; 11(4): 1145-1151.
16. Juskiewicz J, Zdunczyk Z, Zary-Sikorska E, Krol B, Milala J, Jurgonski A. Effect of the dietary polyphenolic fraction of chicory root, peel, seed and leaf extracts on caecal fermentation and blood parameters in rats fed diets containing prebiotic fructans. Br J Nutr 2011; 105(5): 710-720.
17. Singh M, Bhui K, Singh R, Shukla Y. Tea polyphenols enhance cisplatin chemosensitivity in cervical cancer cells via induction of apoptosis. Life Sci 2013; 93(1): 7-16.
18. Ashrafi SA, Hosseinimehr SJ, Varmira K, Abedi SM. Radioimmunotherapy with (131) i-bevacizumab as a specific molecule for cells with overexpression of the vascular endothelial growth factor. Cancer Biother Radiopharm 2012; 27(7): 420-425.
19. Hosseinimehr SJ, Mahmoudzadeh A, Ahmadi A, Ashrafi SA, Shafaghati N, Hedayati N. The radioprotective effect of Zataria multiflora against genotoxicity induced by gamma irradiation in human blood lymphocytes. Cancer Biother Radiopharm 2011; 26(3): 325-329.
20. Chen CA, Lin H, Weng CS, Wen KC, Lu CH, Chou HH, et al. Outcome of 3-day bleomycin, etoposide and cisplatin chemotherapeutic regimen for patients with malignant ovarian germ cell tumours: A Taiwanese Gynecologic Oncology Group study. Eur J Cancer 2014; 50(18): 3161-3167.
21. Low JJ, Ilancheran A, Ng JS. Malignant ovarian germ-cell tumours. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2012; 26(3): 347-355.
22. Appaji L, Reddy CV, Aruna Kumari BS, Padma M. Flagellate erythema induced by bleomycin toxicity. Indian J Med Paediatr

Oncol 2013; 34(4): 334.
23. Fyfe AJ, McKay P. Toxicities associated with bleomycin. J R Coll Physicians Edinb 2010; 40(3): 213-215.
24. Gupta LK, Tanwar RK, Khare AK, Jain SK. Bleomycin induced flagellate pigmentation. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2002; 68(3): 158-159.
25. Santini V, Giles FJ. The potential of amifostine: from cytoprotectant to therapeutic agent. Haematologica 1999; 84(11): 1035-1042.
26. Santini V. Amifostine: chemotherapeutic and radiotherapeutic protective effects. Expert Opin Pharmacother 2001; 2(3): 479-489.
27. Conte E, Genovese T, Gili E, Esposito E, Iemmolo M, Fruciano M, et al. Protective effects of thymosin beta4 in a mouse model of lung fibrosis. Ann N Y Acad Sci 2012; 1269: 69-73.
28. Mira A, Gimenez EM, Bolzan AD, Bianchi MS, Lopez-Larraza DM. Effect of thiol compounds on bleomycin-induced DNA and chromosome damage in human cells. Arch Environ Occup Health 2013; 68(2): 107-116.
29. Sram RJ, Binkova B, Rossner P, Jr. Vitamin C for DNA damage prevention. Mutat Res 2012; 733(1-2): 39-49.
30. Vicuna GC, Stashenko EE, Fuentes JL. Chemical composition of the Lippia origanoides essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. Fitoterapia 2010; 81(5): 343-349.
31. Glei M, Pool-Zobel BL. The main catechin of green tea, (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), reduces bleomycin-induced DNA damage in human leucocytes. Toxicol In Vitro 2006; 20(3): 295-300.
32. Hosseinimehr SJ, Rostamnejad M, Ghaffari-rad V. Epicatechin enhances anti-proliferative effect of bleomycin in ovarian cancer cell. Res Mol Med 2013; 1(3): 24-27.
33. Milala J, Grzelak K, Król B, Juśkiewicz J, Zdun´czyk Z. Composition and properties of chicory extracts rich in fructans and polyphenols. Pol J Food Nutr Sci 2009; 59(1): 35-43.
34. Ghamarian A, Abdollahi M, Su X, Amiri A, Ahadi A, Nowrouzi A. Effect of chicory seed extract on glucose tolerance test (GTT) and metabolic profile in early and late stage diabetic rats. Daru 2012; 20(1): 56.
35. Lee R, Kim YJ, Lee YJ, Chung HW. The selective effect of genistein on the toxicity of bleomycin in normal lymphocytes and HL-60 cells. Toxicology 2004; 195(2-3): 87-95.