ORIGINAL ARTICLE

Effect of Berberine on Bcl-2 Expression in Chronic Lymphocytic Leukemia Compared with Healthy Controls

Mehrnoosh Pashaei[1,2],
Mehdi Barati[3,4],
Farahnaz Ghahremanfard[1],
Fatemeh Pak[1],
Abolghasem Ajami[5],
Parviz Kokhaei[1,6]

[1] Cancer Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
[2] PhD Student in Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] PhD Student in Immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[4] Student Research Committee, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[5] Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[6] Immune and Gene Therapy Lab, Cancer Centre Karolinska, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

(Received August 19, 2018 ; Accepted November 12, 2018)

Abstract

Background and purpose: Anti-apoptotic protein Bcl-2 prevents apoptosis through the mitochondrial pathway and high-level expression of Bcl-2 is required for survival of chronic lymphocytic leukemia (CLL). Berberine (BBR) is an alkaloid that induces apoptosis of cancer cells via mitochondrial pathways. The aim of this study was to investigate the effect of Berberine on Bcl-2 gene expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of CLL patients compared to healthy subjects in vitro.

Materials and methods: In this experimental study, peripheral blood was obtained from 12 CLL patients and six age-matched healthy subjects. PBMCs were isolated by Ficoll separation and were cultured in two groups for 48 hours incubation; treated with Berberine (25 μM) and untreated. Finally, Bcl-2 gene expression was investigated in both groups following RNA extraction and cDNA synthesis by Real time PCR using SYBR Green method.

Results: Bcl-2 gene expression levels in CLL patients treated with Berberine were significantly lower than those of the untreated group ($P<0.05$), but no significant differences were found between healthy subjects treated with Berberine and control group.

Conclusion: The apoptotic activity of Berberine may be mediated through the reduction of Bcl-2 mRNA expression level in leukemic cells of CLL. Considering the major role of Bcl-2 in survival of tumor cells, Berberine could be considered as a natural therapeutic option for CLL.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, Bcl-2, Berberine, Real-time PCR

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (170): 56-63 (Persian).

* **Corresponding Author: Parviz Kokhaei -** Cancer Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran (E-mail: p_kokha@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۷۰ اسفند سال ۱۳۹۷ (۶۳-۵۶)

اثر بربرین بر بیان ژن *Bcl-2* در بیماران لوسمی لنفوسیتی مزمن در مقایسه با گروه کنترل

مهرنوش پاشایی[۱و۲]
مهدی براتی[۳و۴]
فرحناز قهرمانفرد[۱]
فاطمه پاک[۱]
ابوالقاسم اعجمی[۵]
پرویز کوخایی[۱و۶]

چکیده

سابقه و هدف: پروتئین ضد آپوپتوزی *Bcl-2* از وقوع آپوپتوز از طریق مسیر میتوکندریایی جلوگیری کرده و بیان بالای این پروتئین، برای بقای سلول‌های توموری بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL) ضروری است. بربرین یک آلکالوئید است که منجر به القای آپوپتوز سلول‌های سرطانی از طریق مسیر میتوکندریایی می‌گردد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر بربرین بر میزان بیان ژن *Bcl-2* در سلول‌های تک هسته ای خون محیطی (PBMCs) افراد مبتلا به CLL در مقایسه با افراد سالم در محیط In vitro انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، خون محیطی از ۱۲ فرد مبتلا به CLL و ۶ فرد سالم گرفته شد. PBMCs با استفاده از فایکول جداسازی، و در دو گروه تیمار شده با بربرین (۲۵ µM) و تیمار نشده برای ۴۸ ساعت کشت داده شد. بیان ژن *Bcl-2* به دنبال استخراج RNA و سنتز cDNA با استفاده از Real-time PCR و روش سایبرگرین در هر دو گروه مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: سطح بیان ژن *Bcl-2* در افراد مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن تحت تأثیر بربرین نسبت به گروه تیمار نشده، به‌طور قابل توجهی پایین‌تر بود ($p< ۰/۰۵$)، در حالی که تفاوت معنی‌داری در افراد سالم تحت تأثیر بربرین و گروه کنترل (بدون دارو) مشاهده نشد.

استنتاج: فعالیت آپوپتوزی بربرین ممکن است از طریق کاهش بیان ژن *Bcl-2* در سلول‌های توموری CLL میانجی‌گری شود. با توجه به نقش اساسی پروتئین *Bcl-2* در بقای سلول‌های توموری، این محتمل است که بربرین به عنوان یک ترکیب بالقوه طبیعی باز دارنده فعالیت ژن *Bcl-2*، می‌تواند یک گزینه درمانی برای CLL مطرح باشد.

واژه های کلیدی: لوسمی لنفوسیتی مزمن، *Bcl-2*، بربرین، Real-time PCR

مقدمه

بربرین (BBR، Berberine)، یک ترکیب ایزوکوئینولین آلکالوئید است که از برخی گیاهان دارویی مانند آکوا فولیوم بربریس (انگور اورگان)، بربریس آریس‌تاتا (درخت زردچوبه) و بربری(زرشک) و ... جدا می‌گردد(۱).

مولف مسئول: پرویز کوخایی– سمنان: دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات سرطان E-mail: p_kokha@yahoo.com
۱. مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران
۲. دکترای ایمونولوژی، گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. دکترای ایمونولوژی، گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۵. استاد، گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۶. آزمایشگاه ایمونولوژی و ژن درمانی، مرکز سرطان کارولینسکا، بیمارستان دانشگاه کارولینسکا، استکهلم، سوئد
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۵/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۶/۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۸/۲۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

استفاده از بربرین در طب به ۳۰۰۰ سال پیش باز می‌گردد و این ترکیب به دلیل خاصیت بالقوه ضد انگلی، ضد میکروبی و ضد اسهالی در طب سنتی چین باستان مورد استفاده قرار می‌گرفت(۲). پس از گذشت سال‌ها، مطالعات In vitro و In vivo بر روی بربرین، ویژگی‌های مختلف از جمله ضد افزایش فشارخون، ضد آریتمی، ضد افزایش قندخون، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی آن مشخص گردیده است(۵-۳). بربرین به‌عنوان یک محصول گیاهی با کم‌ترین عوارض جانبی و بیش‌ترین قدرت اثر، در درمان برخی سرطان‌ها مورد توجه محققین قرار گرفته است. بربرین با روش‌های متفاوتی از جمله اختلال عملکرد آنزیم‌ها و پروتئین‌های دخیل در همانند سازی، مهار متالوپروتئینازها و مهار متاستاز، توقف سیکل سلولی و مهار تکثیر سلولی، مهار فعالیت NF-KB، القا آپوپتوز، احتمالاً از طریق کاهش بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی مانند *Bcl-2*، *Bcl-xL*، Survivin، *IAP1*، *IAP2*، *cFLIP* و ... فعالیت ضد سرطانی خود را اعمال می‌نماید(۶). لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL، Chronic lymphocytic leukemia)، یکی از انواع بدخیمی‌های خونی است که با تکثیر و تجمع لنفوسیت‌های B منوکلونال در خون و ارگان‌های لنفاوی مشخص می‌گردد. تجمع کلونال سلول‌های توموری به دلیل مهار فرآیند آپوپتوز و افزایش فعالیت تکثیری آن‌ها رخ می‌دهد(۸،۷). افزایش بیان پروتئین ضد آپوپتوزی *Bcl-2* دلیل اصلی بقای سلول‌های توموری B بدخیم در فاز G0 سیکل سلولی است و در پاسخ ضعیف به شیمی درمانی، مقاومت دارویی و پیشرفت بیماری CLL نقش دارد(۱۱-۹). مکانیسم این افزایش بیان در CLL ناشناخته باقی مانده است، البته برخی مطالعات اخیر مشخص کرده است فقدان برخی miRNA با افزایش بیان *Bcl-2* در CLL مرتبط است(۱۲). در مطالعه‌ای، حذف *Bcl-2* در مدل حیوانی لوسمی لنفوبلاستیک B با القای آپوپتوز سلول‌های توموری و بهبود بیماری همراه بوده است. بنابراین، مهار بیان و عملکرد پروتئین ضد آپوپتوزی *Bcl-2*، به عنوان یک استراتژی جدید درمانی به منظور القای آپوپتوز سلول‌های توموری CLL و یا حساسیت این سلول‌ها به شیمی درمانی مورد توجه قرار گرفته است(۱۳). لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثر بربرین بر روی سطح بیان ژن *Bcl-2* در لوسمی لنفوسیتی مزمن نسبت به گروه کنترل، به منظور بنیان‌گذاری مطالعات بیش‌تر مکانیسم‌های اثر بربرین در درمان CLL انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، پس از اخذ رضایت آگاهانه، به میزان ۶cc نمونه خون محیطی از ۱۲ فرد بیمار مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن در فاز غیر پیش رونده و یا مراحل اولیه و ابتدایی بیماری بر اساس رتبه‌بندی سیستم Rai و سیستم Binet، با حدود سنی ۸۰-۴۰ سال، محدوده‌ی لکوسیتی 10^3 x ۶۰/۵-۱۰/۱ و دارای ۹۰-۶۰ درصد لنفوسیت و همچنین ۶ فرد سالم منطبق با سن بیماران به همراه ضد انعقاد هپارین، در آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان کوثر سمنان جمع‌آوری گردید. اطلاعات بالینی و خون‌شناسی بیماران در جدول شماره ۱ مشخص شده است. بررسی بیماران توسط

جدول شماره ۱: اطلاعات بالینی و خون شناسی بیماران لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL)

بیماران CLL	سن	جنس	گلبول های سفید خون*10^3	لنفوسیت (درصد)	هموگلوبین (g/dl)	پلاکت*10^3	رتبه بندی Rai	ارگانومگالی
CLL#1	۵۴	زن	۱۰/۶	۷۲	۱۲/۴	۱۰۹	0	-
CLL#2	۸۱	مرد	۱۲/۶	۶۶	۱۳/۴	۲۵۲	0	-
CLL#3	۷۴	زن	۲۳/۷	۷۳	۱۱/۴	۲۰۲	I	-
CLL#4	۷۵	مرد	۱۸/۹	۷۲	۱۰	۱۳۰	I	-
CLL#5	۴۰	مرد	۲۲/۹	۶۳	۱۵	۱۰۱	I	لنفادنوپاتی
CLL#6	۶۱	زن	۱۱/۳	۷۰	۱۱/۵	۱۸۰	III	-
CLL#7	۷۲	مرد	۲۸/۵	۸۳	۱۲/۵	۱۷۶	II	اسپلنومگالی
CLL#8	۶۳	مرد	۵۴/۱	۸۵	۱۳/۵	۲۰۱	II	-
CLL#9	۵۱	مرد	۳۱/۴	۷۸	۱۵/۸	۲۰۹	II	-
CLL#10	۷۲	زن	۲۱/۳	۶۴	۱۰	۲۸۵	II	-
CLL#11	۴۱	مرد	۳۹/۷	۷۶	۱۴	۱۳۳	I	-
CLL#12	۴۹	زن	۵۷/۱	۸۱	۱۲/۸	۲۶۴	0	-

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

انکولوژیست و بر طبق دستورالعمل‌های بین المللی معیارهای تشخیصی لوسمی لنفوسیتی مزمن (IWCLL) صورت گرفت(۱۴). جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و کشت سلول: سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs)، توسط اختلاف چگالی سلول‌های خون محیطی در سانتریفیوژ، با استفاده از فایکول (Lymphodex, Germany) جداسازی گردید. پس از جداسازی PBMCs، میزان زنده مانی سلول‌ها، توسط رنگ‌آمیزی تریپان بلو بررسی شد که درصد زنده مانی بالای ۹۵ درصد بوده است.

سپس تعداد ۳۵×۱۰^{۵} از PBMCs جداسازی شده در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم AB انسانی (Human AB^{+} serum, HABs)، پنی‌سیلین (100IU) و استرپتومایسین (100 µg/ml) (Gibco, Grand Island, NY, USA)، در دو گروه تیمار شده با بربرین با غلظت ۲۵ میکرومولار (غلظت مناسب بربرین در مطالعه پیشین اندازه‌گیری شد) و تیمار نشده در پلیت‌های ۶ خانه‌ای به‌مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 کشت داده شد(۱۵). استخراج RNA و ساخت cDNA: جهت اندازه‌گیری میزان بیان *Bcl-2* در سطح RNA، پس از سپری شدن زمان انکوباسیون سلول‌های کشت داده شده، با استفاده از معرف Trizol (Sigma-Aldrich, United States)، RNA استخراج گردید. کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز و با مشاهده باندهای ۱۸ s و ۲۸ s بررسی گردید.

ساخت cDNA با استفاده از کیت تجاری High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific, United States) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. طراحی پرایمر و Real-time PCR: به منظور بررسی بیان ژن *Bcl-2* و همچنین ژن *RPLP0*، به عنوان ژن کنترل داخلی، پرایمرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار Oligo v.7 (Molecular Biology Insights, Inc., USA) طراحی گردید. پرایمرهای طراحی شده، به منظور بررسی منحصر به فرد بودن محل اتصال پرایمرها، با استفاده از نرم‌افزار BLAST در سطح ژنوم انسان انجام گرفت. در جدول شماره ۲ توالی پرایمرها بیان شده است. بررسی بیان ژن‌های هدف توسط مخلوط واکنش حاوی SYBR Green (Takara, Japan)، نمونه cDNA و پرایمرهای رفت و برگشت، با استفاده از تکنیک Real-time PCR مدل ABI 7900HT و همچنین به دنبال طی کردن ۳ مرحله شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه، سپس ۴۵ سیکل در فاز ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و فاز ۶۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه به صورت Single replicate انجام گرفت(۱۶). برای تعیین اختصاصی بودن واکنش‌ها، آنالیز منحنی دمای ذوب نیز برای محصولات نهایی از دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت، صورت گرفت.

جدول شماره ۲: توالی پرایمر های مورد استفاده

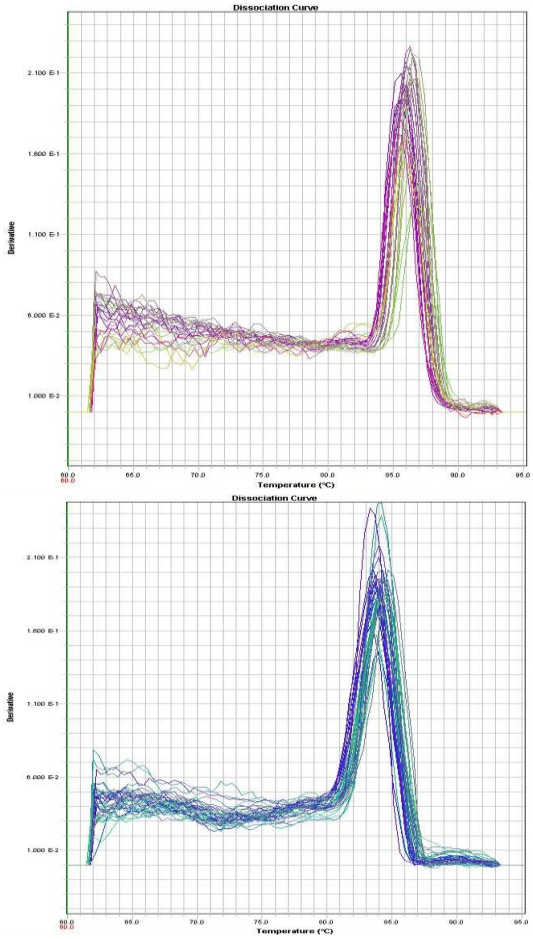
ژن	توالی‌های پرایمر مورد استفاده
Bcl-2	Forward: TCG GTG GGG TCA TGT GTG TGG Reverse: CAC AAA GGC ATC CCA GCC TCC
RPLP0	Forward: TTA AAC CCC CTC GTG GCA ATC Reverse: CCA CAT TCC CCC GGA TAT GA

برای تجزیه و تحلیل آماری داده های به دست آمده از مطالعه، از آزمون کولموگراف اسمیرنوف استفاده شد و در صورت نرمال بودن داده ها تست t زوجی و t مستقل با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism 6 (Graphpad Software, Inc., USA) انجام گرفت و سطح معنی‌داری ($p= ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

یافته ها

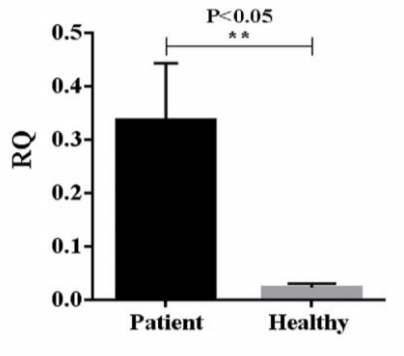
بررسی کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز نمایانگر خلوص قابل قبول و فاقد آلودگی بوده است. پس از انجام واکنش تکثیر، Cycle threshold (Ct) و نمودار منحنی ذوب نمونه ها با استفاده از دستگاه محاسبه گردید. منحنی ذوب ژن های *Bcl-2* و *RPLP0* در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

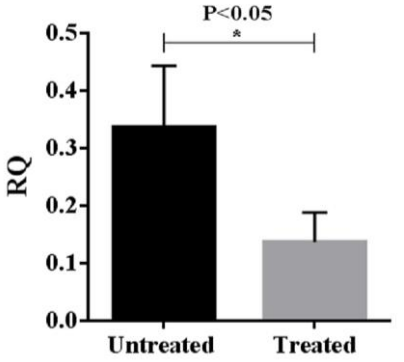


نمودار شماره ۱: نمودار منحنی ذوب Real-time PCR ژن های *Bcl-2* و *RPLP0*، بر اساس دما (محور افقی) و سیگنال فلورسنت (محور عمودی)، A: ژن *Bcl-2*، B: ژن *RPLP0* به عنوان کنترل داخلی

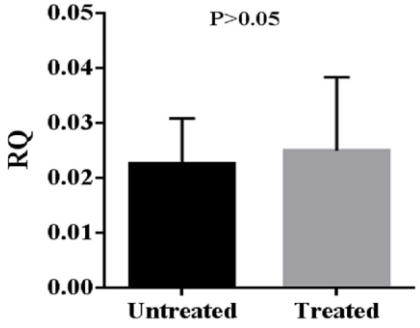
میزان بیان نسبی (Relative quantification) ژن، با استفاده از فرمول $2^{-\Delta Ct}$ اندازه‌گیری گردید. با توجه به نمودار شماره ۲، نتایج اولیه این مطالعه میزان بیان بالای ژن *Bcl-2* در بیماران مبتلا به CLL نسبت به افراد سالم با تفاوت معنی‌داری (p= ۰/۰۰۶) را نشان می‌دهد. میزان بیان ژن *Bcl-2* پس از تیمار با داروی بربرین در هر دو گروه افراد بیمار و سالم سنجیده شد، نتایج حاصل مشخص نمود که سطح بیان ژن *Bcl-2* در بیماران CLL، تحت تأثیر داروی بربرین به طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل (تیمار نشده) پایین‌تر (p=۰/۰۱) است، در حالی که، سطح بیان ژن *Bcl-2* در افراد سالم تحت تأثیر داروی بربرین و گروه کنترل(تیمار نشده) تفاوت معنی‌داری (p=۰/۴۵) مشاهده نشد (نمودار شماره ۳ و ۴).



نمودار شماره ۲: مقایسه میزان بیان نسبی *Bcl-2* در سطح mRNA در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن و افراد سالم، سطح بیان نسبی *Bcl-2* در افراد بیمار نسبت به افراد سالم به طور قابل توجهی بیشتر است(p = ۰/۰۰۶).



نمودار شماره ۳: میزان بیان نسبی *Bcl-2* در سطح mRNA در سلول های تک هسته ای خون محیطی افراد مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن تحت تأثیر بربرین و گروه تیمار نشده، سطح بیان نسبی *Bcl-2* تحت تأثیر بربرین با غلظت ۲۵ میکرومولار پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون به طور قابل توجهی نسبت به گروه تیمار نشده کمتر است (p= ۰/۰۱).



نمودار شماره ۴: میزان بیان نسبی *Bcl-2* در سطح mRNA در سلول های تک هسته ای خون محیطی افراد سالم تحت تأثیر بربرین و گروه تیمار نشده، سطح بیان نسبی *Bcl-2* تحت تأثیر بربرین با غلظت ۲۵ میکرومولار پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون نسبت به گروه تیمار نشده تفاوت معنی داری نداشته است (p = ۰/۰۵).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

بحث

آپوپتوز یکی از مکانیسم‌های اصلی مرگ سلول‌های سرطانی در درمان سرطان است. هرگونه تغییر در این فرآیند مانند افزایش بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوزی مانند خانواده *Bcl-2*، نه تنها با پیشرفت سرطان همراه است، بلکه منجر به افزایش بقا و مقاومت سرطان‌ها به درمان‌های متفاوت مانند داروهای سایتوتوکسیک و یا رادیوتراپی می‌گردد. افزایش بیان پروتئین *Bcl-2* در تومورهایی مانند لوسمی لنفوسیتی مزمن و mantle cell lymphoma مشاهده می‌شود. البته این افزایش سطح بیان تنها مختص بدخیمی‌های هماتولوژیک نمی‌باشد، بلکه در برخی تومورهای مغز، ریه و پستان نیز مشاهده می‌گردد و نقشی اساسی در بقا و رشد سلول‌های سرطانی بدخیم دارد، به گونه‌ای که مهار این پروتئین با استفاده از RNA کوچک مداخله گر و یا مهار کننده‌هایی که *Bcl-2* را مورد هدف قرار می‌دهند، می‌تواند به عنوان رویکرد درمانی جدید در انواع مختلف سرطان‌ها به کار گرفته شود(۱۸،۱۷).

مطالعات اخیر مشخص کرده است بربرین به عنوان یک داروی گیاهی با عوارض جانبی کم‌تری نسبت به داروهای شیمیایی سایتوتوکسیک، منجر به القای آپوپتوز برخی رده‌های سلولی سرطان‌های مختلف مانند پستان، کبد و K562 از طریق مسیر میتوکندریایی با افزایش فعال‌سازی کاسپازهای ۳ و ۸، کاهش بیان پروتئین‌های مهارکننده کاسپازها مانند Survivin و کاهش پروتئین ضد آپوپتوزی *Bcl-2* و همچنین افزایش بیان پروتئین P53 به عنوان یک پروتئین القا کننده آپوپتوز می‌گردد، و این در حالی است که بربرین اثر کشندگی بر روی رده‌ی سلولی اپی‌تلیال نرمال پستان در غلظت ۲۵ میکرومولار در زمان‌های مختلف انکوباسیون اثر کشندگی نداشته است(۲۱-۱۹). در مطالعه اخیر که بر روی القای کشندگی توسط بربرین در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن در مقایسه با داروی شیمی درمانی فلودارابین، به عنوان خط اول درمانی CLL در مقایسه با افراد سالم صورت گرفت، مشخص گردید که بربرین دارای اثر کشندگی سلول‌های توموری در مقایسه با گروه تیمار نشده با بربرین است و همانند داروی فلودارابین می‌باشد و این در حالی است که بربرین اثر کشندگی کم‌تری نسبت به اثر فلودارابین بر روی سلول‌های افراد سالم دارا می‌باشد(۱۵). همچنین مشخص گردید بربرین در القای آپوپتوز با کاهش بیان ژن Survivin در CLL می‌تواند ایفای نقش نماید(۲۲). پیرو مطالعات قبلی، مطالعه حاضر مشخص نمود بربرین از طریق القای کاهش قابل توجه سطح بیان پروتئین *Bcl-2*، به عنوان پروتئین اصلی در بقای سلول‌های توموری در CLL نسبت به گروه تیمار نشده افراد بیمار، می‌تواند در اعمال اثر کشندگی بربرین بر روی سلول‌های توموری CLL دارای نقش باشد، همچنین تفاوت معنی‌داری میان دو گروه سلول‌های نرمال تیمار شده با دارو و بدون دارو افراد سالم مشاهده نشده است. این یافته دلیلی دیگر بر عدم تاثیرکشندگی بربرین بر روی سلول‌های سالم و ایمن بودن دارو با عوارض جانبی کم‌تر است. در مطالعه‌ای که بر روی رده‌های سلولی لوسمی پرومیلوسیت انسانی (HL-60) و لوسمی میلومونوسیت موشی (WEHI-3) به منظور بررسی مکانیسم القای آپوپتوز توسط بربرین صورت گرفته است، مشخص شد که بربرین منجر به تولید Ca^{2+} و واسطه‌های فعال اکسیژن می‌گردد، که به نوبه خود منجر به کاهش بیان پروتئین *Bcl-2* و افزایش پروتئین‌های Bad و Bax و سپس منجر به آزادسازی سیتوکروم c از میتوکندری، فعال‌سازی کاسپاز ۳ و در نهایت آپوپتوز میگردد(۲۳). این نتایج می‌تواند با مطالعه‌ی حاضر در افراد لوسمی لنفوسیتی مزمن در کاهش بیان *Bcl-2* هم راستا باشد. درمان‌های جدید برای بیماری CLL حاکی از این مسئله است که تمرکز بر روی مهارکننده‌های انتخابی *Bcl-2* مورد توجه محققین قرار گرفته است، به گونه‌ای که در سال ۲۰۱۶، داروی Venetoclax (ABT-199) به عنوان یک مهارکننده انتخابی پروتئین *Bcl-2* به منظور درمان بیماران مبتلا به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

CLL توسط سازمان غذا و دارو ایالات متحده آمریکا مورد تائید قرار گرفت(۲۴). این دارو با مهار *Bcl-2* تأثیر قابل توجهی در افزایش بقای کلی و پاسخ بهتر به شیمی درمانی- ایمونو تراپی بیماران می‌گردد(۲۵). با توجه به این‌که داروی Venetoclax یک ترکیب شیمیایی است، درمان بیماران CLL با این دارو همراه با عوارض جانبی از جمله آنمی، نوتروپنی، ترومبوسیتوپنی و مهم‌ترین عارضه جانبی سندرم لیز تومور می‌باشد، که واکنش‌های التهابی را در پی دارد(۲۶). براساس یافته‌های به‌دست آمده در این مطالعه، سطح پایین بیان ژن *Bcl-2* در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن تحت تأثیر داروی بربرین و هم راستا بودن نتایج مطالعه حاضر در مقایسه با درمان‌های جدید بیماری CLL، به نظر می‌رسد که یک راهکار درمانی موثر و غیر شیمیایی، استفاده از این داروی گیاهی باشد که با توجه به توکسی‌سیتی پایین بربرین بر روی سلول‌های نرمال می‌تواند عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای جدید شیمیایی مهارکننده‌های *Bcl-2* داشته باشد، که مطالعات تکمیلی بیش‌تر در این زمینه را می‌طلبد. با توجه به این که این مطالعه در شرایط In vitro انجام گرفته است، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده تأثیر داروی بربرین و داروهای جدید شیمیایی مهار کننده پروتئین *Bcl-2* مانند Venetoclax در بالین و در مقایسه با یکدیگر مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

تشکر از حمایت معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه های علوم پزشکی مازندران و علوم پزشکی سمنان که ما را در انجام مطالعه فوق و تدوین این مقاله پشتیبانی نمودند.

References

1. Kumar A, Chopra K, Mukherjee M, Pottabathini R, Dhull DK. Current knowledge and pharmacological profile of berberine: an update. Eur J Pharmacol 2015; 761: 288-297.
2. Birdsall TC, Kelly GS. Berberine: therapeutic potential of an alkaloid found in several medicinal plants. Altern Med Rev 1997; 2(2): 94-103.
3. Saki K, Eftekhari Z, Naghdi N, Bahmani M. Berberis vulgaris as an antihypertensive drug; berbamine and oxycontin antihypertensive active ingredients. J Prev Epidemiol 2016; 1(2): e18.
4. Pang B, Zhao LH, Zhou Q, Zhao TY, Wang H, Gu CJ, et al. Application of berberine on treating type 2 diabetes mellitus. Int J Endocrinol 2015; 2015.
5. Kuo CL, Chi CW, Liu TY. The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and in vivo. Cancer Lett 2004; 203(2): 127-137.
6. Sun Y, Xun K, Wang Y, Chen X. A systematic review of the anticancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs. Anticancer drugs 2009; 20(9): 757-769.
7. Munk Pedersen I, Reed J. Microenvironmental interactions and survival of CLL B-cells. Leuk Lymphoma 2004; 45(12): 2365-2372.
8. Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2005; 352(8): 804-815.
9. Gottardi D, Alfarano A, De Leo A, Stacchini A, Bergui L, Caligaris-Cappio F. Defective apoptosis due to Bcl-2 overexpression may explain why B-CLL cells accumulate in G0. Curr Top Microbiol Immunol 1995; 194: 307-312.
10. Kitada S, Andersen J, Akar S, Zapata JM, Takayama S, Krajewski S, et al. Expression of apoptosis-regulating proteins in chronic lymphocytic leukemia: correlations with in vitro and in vivo chemoresponses. Blood 1998; 91(9): 3379-3389.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

11. Faderl S, Keating MJ, Do KA, Liang SY, Kantarjian HM, O'brien S, et al. Expression profile of 11 proteins and their prognostic significance in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). Leukemia 2002; 16(6): 1045-1052.
12. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. Proc Natl Acad Sci US 2005; 102(39): 13944-13949.
13. Letai A, Sorcinelli MD, Beard C, Korsmeyer SJ. Antiapoptotic BCL-2 is required for maintenance of a model leukemia. Cancer Cell 2004; 6(3): 241-249.
14. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines. Blood 2008; 111(12): 5446-5456.
15. Ghahremanfard F, Aghabeigi A, Manouchehri E, Pashaei M, Mirmohammadkhani M, Shokrollahi Barough M, et al. Effect of berberine on cancer cell viability of chronic lymphocytic leukemia patients in vitro. Koomesh 2017; 19(3): 634-640 (Persian).
16. Pak F, Mwakigonja AR, Kokhaei P, Hosseinzadeh N, Pyakurel P, Kaaya E, et al. Kaposi's sarcoma herpesvirus load in biopsies of cutaneous and oral Kaposi's sarcoma lesions. Eur J Cancer 2007; 43(12): 1877-1882.
17. Kang MH, Reynolds CP. Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy. Clin Ccancer Res 2009; 15(4): 1126-1132.
18. Vogler M, Dinsdale D, Dyer MJ, Cohen GM. Bcl-2 inhibitors: small molecules with a big impact on cancer therapy. Cell Death Differ 2009; 16(3): 360-367.
19. Patil JB, Kim J, Jayaprakasha GK. Berberine induces apoptosis in breast cancer cells (MCF-7) through mitochondrial-dependent pathway. Eur J Pharmacol 2010; 645(1-3): 70-78.
20. Yip NK, Ho W. Berberine induces apoptosis via the mitochondrial pathway in liver cancer cells. Oncol Reports 2013; 30(3): 1107-1112.
21. Pazhang Y, Ahmadian S, Mahmoudian M, Shafiezadeh M. Berberine-induced apoptosis via decreasing the survivin protein in K562 cell line. Med Oncol 2011; 28(4): 1577-1583.
22. Jafarinejad H, Ghanizadeh N, Ghahremanfard F, Barati M, Manouchehri Doulabi E, Kokhaei P. Effect of Beberine on the survivin gene expression in peripheral blood mononuclear cell of chronic lymphocytic leukemia patients in vitro. Koomesh 2017; 19(1): 227-232 (Persian).
23. Lin CC, Kao ST, Chen GW, Ho HC, Chung JG. Apoptosis of human leukemia HL-60 cells and murine leukemia WEHI-3 cells induced by berberine through the activation of caspase-3. Anticancer Res 2006; 26(1A): 227-242.
24. Roberts AW, Stilgenbauer S, Seymour JF, Huang DC. Venetoclax in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia. Clin Cancer Res 2017; 23(16): 4527-4533.
25. Anderson MA, Deng J, Seymour JF, Tam C, Kim SY, Fein J, et al. The BCL2 selective inhibitor venetoclax induces rapid onset apoptosis of CLL cells in patients via a TP53-independent mechanism. Blood 2016; 127(25): 3215-3224.
26. Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, Kahl BS, Puwada SD, Gerecitano JF, et al. Targeting BCL2 with venetoclax in relapsed chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2016; 374(4): 311-322.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]