Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی- پژوهشی)
جلد ۵، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۳، ۳۹۱-۳۸۵

بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی گل قاصدک بر روی روند تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی

علیرضا عبدانی پور Ph.D.[۱]*، سیده مهسا خاتمی M.Sc.[۲]، محسن سقا Ph.D.[۳]، فرشید سلیمی ننه کران Ph.D.[۱]، داوود نقی زاده M.Sc.[۱]، رضا بنابی M.Sc.[۱]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، دانشکده پزشکی، آزمایشگاه سلول‌های بنیادی، اردبیل، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اردبیل، ایران
۳- دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، آزمایشگاه تحقیقاتی جنین شناسی و سلول‌های بنیادی

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: abdani.anatomy@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۴

چکیده

هدف: هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی گل قاصدک (Cirsium vulgare) بر روی تکثیر و رشد سلول‌های بنیادی عصبی موش صحرایی در شرایط آزمایشگاهی (*In vitro*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های بنیادی عصبی از هیپوکمپ مغز نوزاد موش صحرایی استخراج شد. به‌منظور تعیین بهترین غلظت، سلول‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم به‌ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت تیمار شدند و میزان تکثیر سلولی با روش MTT بررسی گردید. همچنین میزان بیان ژن Sox2 در سلول‌های بنیادی عصبی تیمار شده با روش Real-time PCR بررسی گردید.

نتایج: نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که در حضور عصاره گل قاصدک تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی و بیان ژن Sox2 به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت.

نتیجه گیری: با توجه به تاثیر عصاره گل قاصدک بر روی روند تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی، استفاده از این عصاره گیاهی می‌تواند جهت مقاصد کلینیکی به‌منظور درمان برخی از بیماری‌های سیستم عصبی از جمله ایسکمی مغزی و ضایعات نخاعی مفید باشد.

واژگان کلیدی: تکثیر سلولی، گل قاصدک، سلول‌های بنیادی عصبی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیشترین مکان حضور سلول‌های بنیادی عصبی در نواحی ساب ونتریکولار می‌باشد (۱). سلول‌های بنیادی عصبی توانایی تبدیل به اکثر سلول‌های تخصص یافته مغزی را دارا می باشند و در بیماری‌های سیستم عصبی این سلول‌ها قادرند به نقاط آسیب دیده مهاجرت کرده و در ترمیم شرکت کنند (۲). این سلول‌ها بعد از تولد با حفظ توانایی خود تجدیدی می‌توانند در عمل‌کردهایی مانند یادگیری، حافظه و پاسخ به آسیب، تاثیرگذار باشد (۳). استفاده از ظرفیت طبیعی بدن برای بازسازی و ترمیم یکی از اصول مهمی است که دانش سلول‌های بنیادی برای درمان بیماری‌ها دنبال می‌نماید (۴). سلول‌های عصبی بعد از تولد مراحل پایانی تمایز خود را طی می‌کنند و توانایی خود تجدیدی را ندارند. بنابراین حضور سلول‌هایی که نورون‌زایی می‌کنند، در درمان ضایعات سیستم عصبی دارای اهمیت ویژه‌ای خواهد بود (۵). یکی از مهم‌ترین مسائل در سلول درمانی استفاده از یک محرک مناسب برای افزایش سرعت تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی در شرایط *In vitro* می‌باشد. ژن Sox2 به‌میزان زیادی در نورواپی‌تلیوم سیستم عصبی در حال تکوین بیان می‌شود. بر اساس مطالعات انجام شده این ژن در حفظ و تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی نقش بسیار مهمی ایفا می‌نماید (۶). گیاه سیرسیوم ولگار Cirsium vulgare که در زبان فارسی به قاصدک و در زبان انگلیسی به Spear Thistle شناخته می‌شود ، در مناطق مختلفی از اروپا، غرب آسیا و شمال غرب آفریقا یافت می‌گردد. تمام بخش‌های این گیاه به‌ویژه ریشه آن به‌عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه به‌عنوان ضد تهوع، ضد رماتیسم، ضد درد، ضد التهاب و آنتی اکسیدانت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷ و ۸). بیشتر بررسی‌های انجام شده در رابطه با گیاهان متعلق به رده Cirsium مربوط به گیاه Cirsium japonicum می‌باشد. مطالعات انجام شده روی این گیاه نشان‌دهنده وجود فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، ضدسرطانی (۹) و ضد دیابتی (۱۰) در این گیاه می‌باشد. تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای درباره اثر گیاه قاصدک بر روی سلول‌های بنیادی عصبی صورت نگرفته است. در این مطالعه برای اولین بار تاثیر عصاره هیدروالکلی گل این گیاه بر روی تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی و بیان ژن Sox2 مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره هیدروالکلی گل گیاه گل قاصدک: عصاره Cirsium vulgare به‌روش سوکسله تهیه و اثر غلظت‌های مختلف آن بر روی رشد و تکثیر سلولی بنیادی عصبی(NSCs) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور گیاه مورد نظر از اطراف شهر اردبیل درخرداد ماه جمع آوری و در سایه و جریان هوا خشک و توسط آسیاب پودر شدند. از پودر تهیه شده برای عصاره گیری به‌روش سوکسله استفاده شد. بدین‌صورت که ۱۰۰ گرم از پودر آماده در کارتوش‌هایی که از کاغذ صافی معمولی با اندازه مناسب تهیه شده بود ریخته شد. سپس کارتوش‌ها را درون دستگاه سوکسله قرار داده و تقریبا به‌میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول و آب مقطر به‌عنوان حلال به آن اضافه گردید. عصاره گیری به‌مدت ۱۲ ساعت ادامه یافت. عصاره به‌دست آمده به ظرف‌های شیشه‌ای منتقل شده و به‌مدت ۲۴ ساعت بدون درپوش در آون ۵۰ درجه نگه‌داری شد تا حلال باقی مانده تا حد امکان تبخیر شود .سپس عصاره تهیه شده برای آزمایش‌های بعدی در یخچال نگه‌داری شد.

جداسازی سلول‌های بنیادی عصبی: برای جداسازی سلول‌های بنیادی عصبی از نوزاد موش صحرایی نژاد Sprague استفاده گردید. مراقبت و نگه‌داری از موش‌ها مطابق با آیین نامه مصوب کار با حیوانات آزمایشگاهی تصویب شده در دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام گردید. بعد از بی‌هوشی کامل، بخش هیپوکامپ از دو نیمکره مغز جدا شده و پس از له کردن مکانیکی به‌میزان دو برابر بافت از آنزیم‌های Accutase و کلاژناز برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌منظور هضم آنزیمی استفاده گردید. در مرحله بعدی به‌منظور خنثی کردن آنزیم‌ها از سرم FBS (Fetal bovine serum) استفاده شد. سپس سوسپانسیون حاصله از فیلتر مش نایلونی ۷۰ میکرومتری (Falcon 352350) عبور داده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. رسوب سلولی به‌دست آمده با محیط کشت DMEM/F12 حاوی فاکتورهای رشد Epidermal ،BFGF human recombinant(Millipore) GrowthFactor(sigma) ، B-27 supplement (GIBCO)، پنی سیلین-استرپتومایسین (سیگما) یک درصد به‌همراه ۳ درصد سرم FBS در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 کشت داده شد. محیط کشت سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت تعویض شد و سلول‌های بنیادی عصبی که به کف فلاسک

www.SID.ir

Archive of SID

چسبیده بودند پس از رسیدن به تراکم ۷۰ تا ۸۰ درصد با استفاده از تریپسین از کف فلاسک جدا و با نسبت ۱ به ۲ پاساژ داده شدند. در این مطالعه از سلول‌های پاساژ سوم استفاده گردید. جهت تایید هویت سلول‌های بنیادی عصبی از آنتی‌بادی نستین و روش ایمونوسیتوشیمی استفاده شد. به این ترتیب که سلول‌ها توسط پارافرمالدهید ۴ درصد در دمای اتاق و برای نیم‌ساعت فیکس شدند و پس از فیکساسیون و شستشو توسط PBS (Phosphate buffered saline) با triton-۰/۳100X/PBS درصد نفوذ پذیر شدند و سپس برای مدت یک ساعت با ۱۰ سرم ضد بز در PBS انکوبه می‌گردند. پس از شستشو، سلول‌ها توسط آنتی‌بادی اولیه برای مدت ۱۲ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از شستشوی کامل توسط PBS با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه به FITC (Isothiocyanate Fluorescein) انکوبه و پس از ۲ ساعت سلول‌ها با PBS شسته شده و توسط میکروسکوپ فلورسانس اینورت مشاهده شدند. هسته‌ها نیز مانند قبل با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند.

تیمار سلول‌های بنیادی عصبی با عصاره Cirsium vulgare: سلول‌های بنیادی عصبی ایزوله شده از هیپوکمپ نوزاد موش صحرایی در یک گروه کنترل و پنج گروه تیمار شده با عصاره مورد نظر در پلیت های ۹۶ خانه با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌مدت ۴۸ ساعت تیمار و مورد مطالعه قرار گرفتند. تیمار سلول‌ها در محیط کشت سلول‌های بنیادی عصبی و فاقد سرم انجام شد. به منظور بررسی‌های آماری دقیق ۵ تکرار در نظر گرفته شد.

آزمون MTT: برای ارزیابی میزان تکثیر از روش 3-(4,5 Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) MTT استفاده گردید. پس از ۴۸ ساعت تیمار با عصاره هیدروالکلی گل گیاه قاصدک محیط کشت سلول‌ها با ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (سیگما) با غلظت ۵ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر که به‌صورت تازه تهیه شده بود تعویض شد. بعد از ۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد محلول روی سلول‌ها به آهستگی حذف شد و کریستال‌های فورمازون ایجاد شده در اثر واکنش با MTT در ۱۰۰ میکرولیتر DMSO حل شد. پس از چند دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و حل شدن کامل کریستال‌ها، جذب در ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا (BioTek) محاسبه شد.

Real-time PCR: برای بررسی مقایسه‌ای بیان ژن Sox2 و ژن β-2M به‌عنوان کنترل داخلی در گروه کنترل و سلول‌های تیمار شده با ۸۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر عصاره گل قاصدک از تکنیک Real-time PCR استفاده شد. برای این منظور سلول‌ها در پاساژ سوم برای آزمون انتخاب شدند. در این تکنیک استخراج RNA کل از سلول‌ها با استفاده از کیت Pure link RNA mini kit (Invitrogen) و دستورات شرکت سازنده انجام گرفت و با استفاده از آنزیم کپی برداری معکوس به cDNA تبدیل شد. در مطالعه حاضر، جهت ساخت cDNA از پرایمر oligo dT موجود در کیت Revert aid H Minus-First Strand cDNA Synthesis, K1632 مربوط به شرکت Fermentas استفاده شده است و مطابق با دستور شرکت سازنده mRNA به cDNA تبدیل شد. ۵۰۰ نانوگرم cDNA برای تعیین کمیت بیان mRNA ژن Sox2 استفاده شد. تمامی پرایمرها در جدول شماره یک طبقه بندی شده‌اند. واکنش‌های PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر (Sybergreen) و در ۴۰ چرخه توسط دستگاه (Applied Biosystem cycler) انجام گردید آنالیز نسبی در سطح mRNA با روش Pfaff1 و با استفاده از فرمول ((ΔCT نمونه هدف) – (ΔCT کالیبره کننده)) = ΔΔCT انجام شد. ΔCT عبارت است از CT ژن هدف (یا کالیبراتور) که از CT ژن خانه‌زاد کسر شده است. این عدد بازگو می‌کند که تیمار ما موجب افزایش چند برابری ساخت mRNA هدف شده است (۱۰).

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-time PCR

Gene	Accession no.	Sense 5 → 3	Anti-sense 5 → 3	Size (bp)
Sox2	NM_001109181	TGCCTCTTTAAGACTAGGGCTG	CTGGCGGAGAATAGTTGGGG	۱۹۷
B2M	NM_012512	CCCAACTTCCTCAACTGCTACG	TTACATGTCTCGGTCCCAGGTG	۲۴۳

www.SID.ir

Archive of SID

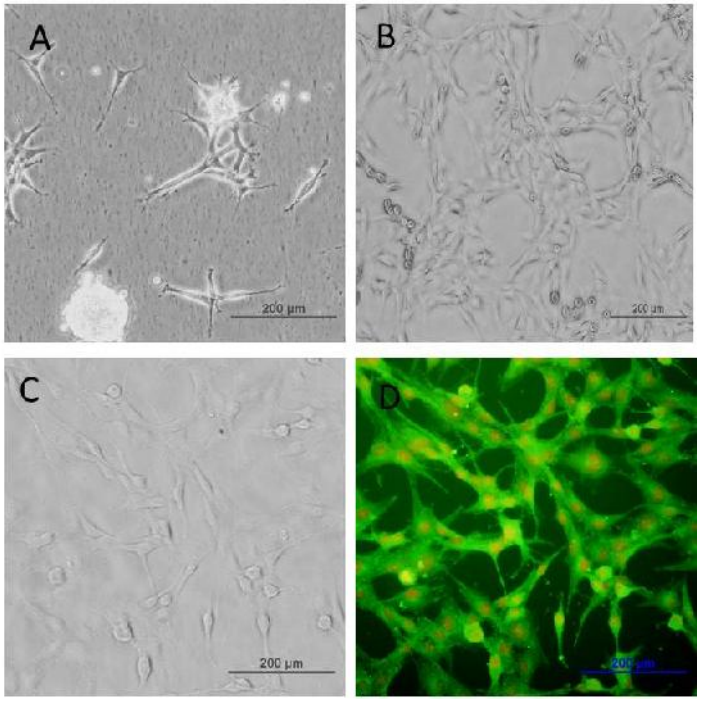
آنالیز آماری:

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار *SPSS 15.0* انجام گردید و تمامی داده‌ها به‌صورت Mean ± SEM ارائه شد. مقایسه آماری بین گروه‌ها با استفاده از Tukey's post hoc *test* انجام شد و $P <$ ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از کشت سلول‌های بنیادی عصبی

سلول‌ها وقتی در محیط مناسب کشت سلول بنیادی عصبی قرار گرفتند زوائد و استطاله‌هایی در سلول ایجاد گردید که گاهی چند برابر جسم سلولی مشاهده شد و با سلول‌های جانبی ارتباط برقرار نمود هسته‌ها کشیده‌تر به‌نظر می‌رسید و سلول‌ها دوکی‌تر شده و در حالی‌که مرز بین سلول‌ها منظم‌تر و مشخص‌تر دیده شد. در روز اول ابتدا این سلول‌ها به‌صورت کلونی بودند که به کف پلیت چسبیده‌اند در روز دوم و سوم به مرور از حجم کلونی کاسته شد و سلول‌ها کم کم پخش شدند و این در حالی بود که همچنان سلول‌ها قدرت تقسیم داشتند به این ترتیب تا حدودی ظاهر سلول‌ها ویژگی‌های یک سلول شبه عصبی را به‌دست آوردند که قدرت تقسیم داشتند. سلول‌های بنیادی عصبی بعد از ۷ روز کاملا فلاسک را پر کردند و نمایی کشیده و دوکی شکل با زوائد سیتوپلاسمی به خود گرفتند (شکل ۱ A وB). این سلول‌ها قدرت تکثیر داشتند که برای اثبات عصبی بودن سلول‌های NSCs و تعیین خلوص آن‌ها در پاساژ سوم از آنتی‌بادی Nestin استفاده گردید. در سلول‌هایی که پروتئین مربوطه وجود داشت به‌دلیل استفاده از آنتی‌بادی ثانویه کنژوکه به FITC سیتوپلاسمشان سبز رنگ دیده شد. برای تعیین درصد سلول‌های مثبت، هسته سلول‌ها توسط اتیدیوم بروماید قرمز رنگ شدند (شکل ۱ C و D). میانگین درصد سلول‌های مثبت برای پروتئین نستین ۴۶/ ۰± ۹۵/۱۲ ارزیابی شد.



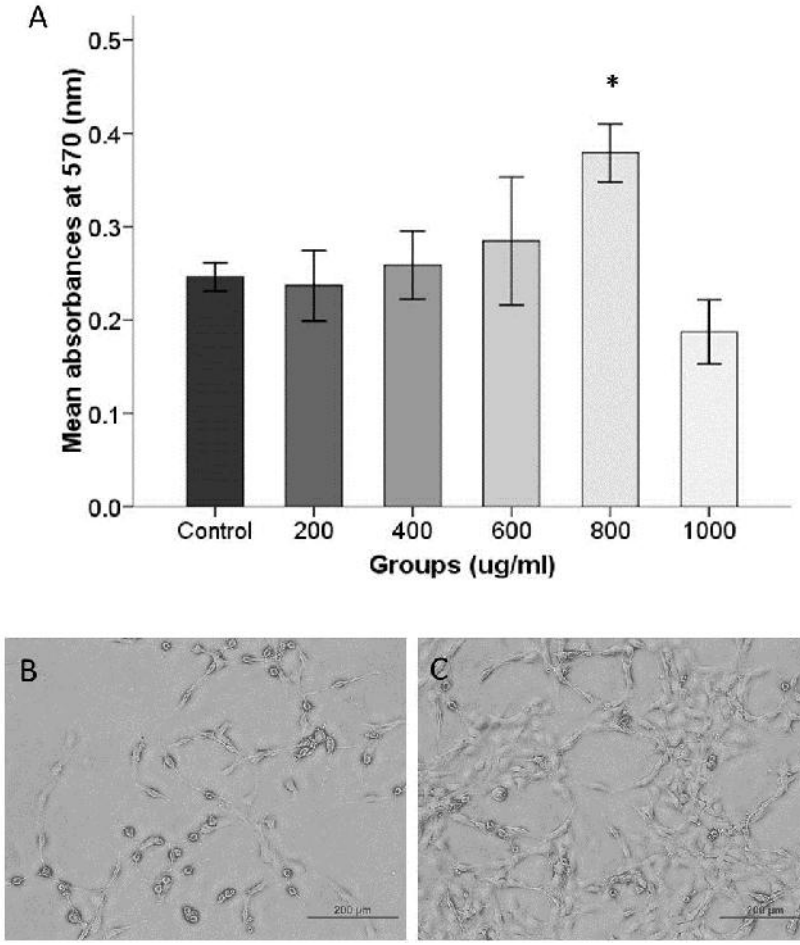
شکل ۱: سلول‌های بنیادی عصبی. A) سلول‌های بنیادی عصبی را پس از یک روز نشان می‌دهد که به‌صورت کلونی‌های چسبیده به کف پلیت دیده می‌شود. B) سلول‌های بنیادی عصبی را پس از یک هفته روز نشان می‌دهد. این سلول‌ها کف فلاسک را پر کرده و حالت کشیده و دوکی شکل می‌باشند. C و D) ایمونوسیتوشیمی از سلول‌های بنیادی عصبی به‌ترتیب فاز کنتراست و فلورسنت. رنگ سبز نشان‌دهنده آنتی‌بادی نستین و رنگ قرمز اتیدیوم بروماید می‌باشد. بزرگنمایی × ۲۰۰.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج MTT

مورفولوژی سلول‌های بنیادی عصبی پس از تیمار با عصاره گیاهی تغییری نداشت. نتایج تست MTT نشان‌دهنده افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی در گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل بود (شکل ۲). سلول‌های تیمار شده با غلظت ۸۰۰ میکروگرم (۰/۰۱±۰/۳۷) بالاترین میانگین رشد را نشان داد که نسبت به گروه کنترل (۰/۰۷±۰/۲۴) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P <۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که افزایش سرعت تکثیر در سلول‌های بنیادی عصبی به غلظت عصاره موجود در محیط کشت دارد. غلظت‌های بالای ۸۰۰ میکروگرم برای سلول‌ها توکسیک محسوب می‌شوند و کاهش تعداد سلول به‌دلیل مرگ سلول‌ها می‌باشد.



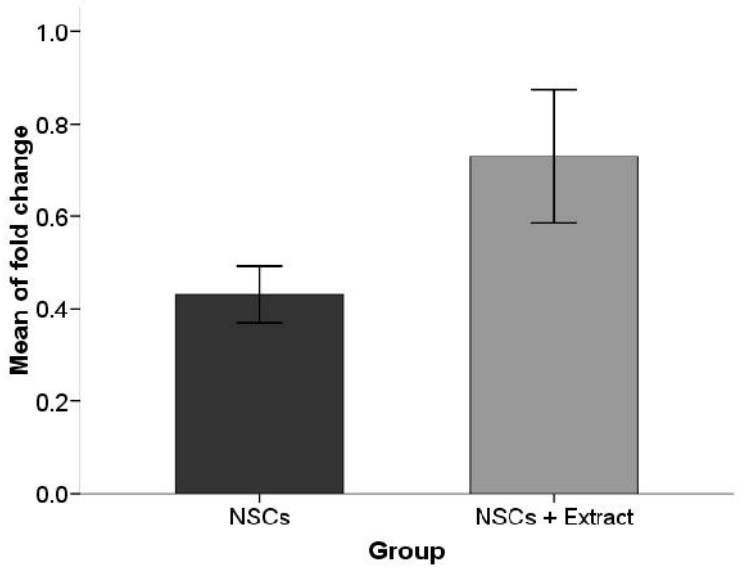
شکل ۲ :A) نمودار مقایسه آماری سلول‌های بنیادی عصبی در غلظت‌های مختلف با روش MTT. A) نمودار نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه کنترل و سلول‌های بنیادی عصبی تیمار شده با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. BوC) میکروگراف‌های سلول‌های بنیادی عصبی قبل و بعد از تیمار با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره گل قاصدک. خطای معیار(SEM) ، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (P <۰/۰۵). بزرگنمایی × ۲۰۰.

نتایج حاصل از Real –time PCR

بیان کمی mRNA ژن مربوط به رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی که با غلظت ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و زمان ۴۸ ساعت تیمار شده بودند با روش Quantitative real-time RT-PCR بررسی شد. الگوی بیان کمی ژن Sox2 در شکل ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه با استفاده از روش آستانه نسبی (مقایسه نسبی) مقدار داده‌های توسط ژن B2M نرمالایز شد و با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ (طبق مقاله Pfaffle و همکارانش) افزایش ساخت mRNA محاسبه شد. نتایج نشان داد که میزان کمی mRNA مربوط به این ژن در سلول‌های تیمار شده با عصاره گل قاصدک (۰/۰۷±۰/۷۳) نسبت به نمونه کنترل یا تیمار نشده (۰/۰۳±۰/۴۳) افزایش داشت (شکل۳).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: نمودار مقایسه نسبی بیان ژن Sox2 نرمالایز شده با ژن B2M در سلول‌های بنیادی عصبی با بهترین غلظت عصاره گل قاصدک (۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) برای مدت ۴۸ ساعت.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده تاثیر افزایش دهنده عصاره هیدروالکلی گل قاصدک در روند تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی می‌باشد. همچنین افزایش بیان ژن *Sox2* در سلول‌های بنیادی عصبی تاییدی بر نتایج *MTT* می‌باشد. استراتژی سلول درمانی در بیماری‌های مخرب سیستم عصبی توسط لیندوال و همکارانش (۱۱) مطرح شد. هم اکنون سلول‌های بنیادی (سوماتیک) به‌عنوان منبع قابل دسترس و مناسب برای سلول درمانی محسوب می‌شوند. این سلول‌ها در بیشتر بافت‌های در بالغین حضور دارند (۱۲). هرمن و همکارانش (۲) به‌منظور تایید هویت سلول‌های بنیادی عصبی ایجاد شده نشان دادند که سلول‌های بنیادی عصبی می‌توانند نسبت به نشانگر عصبی نستین واکنش مثبت نشان دهند. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه که بر روی سلول‌های بنیادی عصبی مشتق از هیپوکمپ مغز نوزاد موش صحرایی انجام شد تاییدی بر کار هرمن و همکارانش (۲) بود. سلول‌های بنیادی عصبی دارای ظرفیت خود تکثیری و تمایز به سلول‌های عصبی، آستروسیت و الیگودندروسیت هستند (۱۳و ۱۴و ۱۵). در حال حاضر استفاده از عصاره‌های گیاهی در درمان بسیاری از بیماری گسترش یافته است. در طب سنتی از عصاره گیاه گل قاصدک به‌منظور ضدتهوع، ضد درد و ضدالتهاب استفاده می‌شود (۱۶). با این‌حال در رابطه با اثر این گیاه روی سلول‌های بنیادی هیچ‌گونه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. بیشتر بررسی‌های انجام شده در رابطه با گیاهان متعلق به رده *Cirsium* مربوط به گیاه *Cirsium japonicum* می‌باشد. این گیاه به‌عنوان داروی ضد دیابت (۱۷)، ضد اضطراب (۱۸) آنتی اکسیدانت و ضدسرطان (۱۹) معرفی شده است. همچنین گزارش شده است که استفاده از عصاره این گیاه جذب گلوکز را در سلول‌های بدن افزایش می‌دهد (۲۰). مطالعه‌ای دیگر نشان دهنده تاثیر عصاره متانولی گیاه بر روی مهار رشد و القا آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی پستان می‌باشد (۲۱). همچنین مطالعات نشان می‌دهد که عصاره متانولی این گیاه تاثیر قابل توجهی بر روی چرخه دو رده سلولی *K562* و سلول‌های *Jurkat* ندارد (۲۲). با توجه به بررسی‌های انجام شده، این تحقیق اولین مطالعه بر روی تاثیر عصاره گل قاصدک در تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی می‌باشد. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که تیمار سلول‌های بنیادی عصبی با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث افزایش معنی‌دار در رشد و تکثیر این سلول‌ها می‌شود. مطالعات انجام شده توسط محققین نشان داده است که عصاره گل قاصدک دارای خاصیت ضدالتهابی می‌باشد (۳و ۱۶). بنابراین با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق و با در نظر گرفتن خاصیت ضدالتهابی می‌توان به تاثیرات مثبت استفاده از این گیاه در درمان بیماری‌های مخرب سیستم عصبی از قبیل آسیب‌های نخاعی به‌ویژه در فاز اولیه امیدوار بود.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده عصاره گیاه *Cirsium vulgare* می‌تواند ماده موثری برای افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی در محیط *In vitro* باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه سلول‌های بنیادی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل انجام شده است. لذا لازم می‌دانیم از حمایت‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر سید سعید هاشمین (معاون پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل) نهایت تقدیر و سپاس را داشته باشیم.

منابع

1. Bonilla S, Silva A, Valdes L, Geijo E, et al. Functional neural stem cells derived from adult bone marrow. Neuroscience. 2005; 133(1): 85-95.

2. Hermann A, Gastl R, Liebau S, Popa MO, et al. Efficient generation of neural stem cell-like cells from adult human bone marrow stromal cells. J Cell Sci. 2004; 117(19): 4411-22.

3. Tamm C, Duckworth J, Hermanson O, Ceccatelli S. High susceptibility of neural stem cells to methylmercury toxicity: effects on cell survival and neuronal differentiation. J Neurochem. 2006; 97:69-78.

4. Serakinci N, Keith WN. Therapeutic potential of adult stem cells. Eur J Cancer. 2006; 42(9):1243-6.

5. Gregg CT, Shingo T, Weiss S. Neural stem cells of the mammalian forebrain. Symp Soc Exp Biol. 2001; (53):1-19.

6. Episkopou V. SOX2 functions in adult neural stem cells. Trends Neurosci. 2005; 28(5): 219-21.

7. Nazaruk J. Antioxidant activity and total phenolic content in Cirsium five species from north-east region of Poland. Fitoterapia. 2008; 79(3): 194-6.

8. Nazaruk J, Czechowska SK, Markiewicz R, Borawska MH. Polyphenolic compounds and in vitro anti-microbial and antioxidant activity of aqueous extracts from leaves of some Cirsium species. Nat Prod Res. 2008; 22(18):1583-8.

9. Yu Yin, Seong-Il H, Myeong-HW. Antioxidant and Anticancer Activities of Methanol and Water Extracts from Leaves of Cirsium japonicum. J. Appl. Biol. Chem. 2008; 51(4), 160-164.

10. Yin J, Heo SI, Wang MH. Antioxidant and antidiabetic activities of extracts from Cirsium japonicum roots. Nutr Res Pract. 2008; 2(4): 247-51.

11. Lindvall O, Björklund A. Cell replacement therapy: helping the brain to repair itself. NeuroRx. 2004; 1(4): 379-81.

12. Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, Jones SP, et al. The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis. Blood Rev. 2006; 20(3): 161-171.

13. Li L, Xie T. Stem cell niche: structure and function. Annu Rev Cell Dev Biol. 2005; 21: 605-31.

14. Bai L, Caplan A, Lennon D, Miller RH. Human mesenchymal stem cells signals regulate neural stem cell fate. Neurochem Res. 2007; 32(2): 353-62.

15. Cao Q, Benton RL, Whittemore SR. Stem cell repair of central nervous system injury. J Neurosci Res. 2002; 68: 501-510.

16. Alvarez-Buylla A, Lim DA. For the long run: maintaining germinal niches in the adult brain. Neuron. 2004; 4; 41(5): 683-6.

17. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, et al. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011; 61(2): 69–90.

18. Felling RJ, Snyder MJ, Romanko MJ, Rothstein RP, et al. Neural stem/progenitor cells partici-patient heregenerative response toperinatalhypoxia/ischemia. J. Neurosci. 2006; 26: 4359–4369.

19. Daadi MM, Hu S, Klausner J, Li Z, et al. Imaging neural stem cell graft-induced structural repairin stroke. CellTransplant. 2013; 41: 516–526.

20. Sommer L, Rao M. Neural stem cells and regulation of cell number. Prog.Neurobiol. 2002; 66(1): 1–18.

21. Kim DY, Kang SH, Ghil SH. Cirsium japonicum extract induces apoptosis and anti-proliferation in the human breast cancer cell line MCF-7. Mol Med Rep. 2010; 3(3): 427-32.

22. Amirghofran Z, Bahmani M, Azadmehr A, Javidnia K. Anticancer effects of various Iranian native medicinal plants on human tumor cell lines. Neoplasma. 2006; 53(5): 428-433.

www.SID.ir