Archive of SID

تاثیر سیاه‌دانه در فعالیت آنزیم‌های متابولیزه‌کننده سموم و سطح پروتئین بتا کاتنین در رت‌های تحت تیمار با دی‌متیل‌هیدرازین

نویسندگان: ابوالفضل دادخواه تهرانی[1*]، محمدرضا محمدی ملایری[2]، فائزه فاطمی[3]، علیرضا جهانبانی[4]، فاطمه ترابی[5] و محمدحسین جمالی[4]

۱. استادیار بیوشیمی گروه پزشکی، دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، ایران
۲. استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، ایران
۳. استادیار بیوشیمی، پژوهشکده چرخه سوخت پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران
٤. دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، ایران
۵. کارشناس‌ارشد فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، ایران

* نویسنده مسئول: ابوالفضل دادخواه تهرانی E-mail:dadkhah_bio@yahoo.com

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌ودوم–شماره ۱۱۷
تیر ۱۳۹۴

دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۰۸
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۴/۰۳/۱۷
پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۲۳

چکیده

مقدمه و هدف: دی‌متیل‌هیدرازین (DMH) در کبد، توسط سیتوکروم p450 (CYP 450) به متیل‌دیازونیوم متابولیزه‌شده که با ایجاد جهش در ژن بتاکاتنین و عدم تخریب آن توسط سیستم یوبی کوئیتین به افزایش سطح آن و درنتیجه، افزایش بیان برخی از آنکوژن‌ها و ایجاد تومور در کولون منجرمی‌شود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۴۸ سر رت به شش گروه تقسیم‌شدند. سرطان کولون از طریق تزریق DMH (20 mg/kg b.w)، هفته‌ای یک‌بار به‌مدت هجده هفته در رت‌ها القاشد و تأثیر مصرف غذای حاوی پودر سیاه‌دانه ۲ و ۴ درصد در مهار ایجاد تومورهای کولون، مورد بررسی قرارگرفت؛ پس از اتمام دوره تیمار (هفت ماه)، بافت‌های کبد و کولون جداشدند. فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون s– ترانسفراز (GST) و CYP 450 و سطح گلوتاتیون (GSH) در کبد و همچنین سطح بتا کاتنین در کولون اندازه‌گیری‌شد. تعداد و سایز تومورها و آسیب‌های پاتولوژیک بافت کولون نیز مورد بررسی قرارگرفت.

نتایج: غذای حاوی سیاه‌دانه در هر دو دز به کاهش تعداد و اندازه (سایز) تومورها منجرشده‌است؛ همچنین DMH، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های GST و CYP 450 و سطح GSH و بتا کاتنین شده و سیاه‌دانه به متعادل‌شدن سطح آنها منجرمی‌شود.

نتیجه‌گیری: مصرف غذای حاوی سیاه‌دانه، به‌احتمال از طریق تأثیر روی فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا و همچنین سطح آنکوژن بتا کاتنین، به مهار تومورهای کولون منجرمی‌شود.

واژگان کلیدی: سرطان کولون، سیاه‌دانه، بتا کاتنین.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC)، یکی از شایع‌ترین علل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در سراسر جهان است؛ این بیماری با شیوع ٦ تا ٨ در هر ١٠٠ هزار نفر، چهارمین نوع شایع سرطان محسوب‌می‌شود و یک‌پنجم کل موارد سرطان در ایران را، CRC تشکیل‌می‌دهد. جمعیت جوان کشور، درصدی بالا از افراد مبتلا به CRC را تشکیل‌می‌دهند که در این میان، ساختار سنی جوان کشور، بروز زودهنگام این بیماری (کمتر از ٤٠ سال) و شیوع کمتر آن در افراد مسن، بی‌تأثیر نیستند (١). سرطان کولورکتال، به دو دسته کلی ارثی و غیرارثی یا اسپورادیک (sporadic) طبقه‌بندی‌می‌شود؛ نوع غیرارثی یا اسپورادیک در حدود ٦٥ تا ٩٥ درصد کل موارد CRC را شامل می‌شود. عوامل رژیمی و محیطی اعم از چربی‌های حیوانی و گوشت قرمز، فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی، کتواستروئیدها (محصول متابولیکی کلسترول)، محصول‌های پیرولیز (ترکیب‌های حاصل از کباب‌کردن یا سرخ‌کردن گوشت)، مصرف روزانه الکل و مصرف داروهای ضدالتهابی غیراسترودیدی در بروز CRC اسپورادیک دخیل‌اند. (٢)

روش‌هایی مختلف برای درمان CRC با توجه به مرحله بیماری وجوددارند. امروزه استفاده از داروهای گوناگون ضدالتهابی و نیز داروهای شیمی‌درمانی، از مؤثرترین راه‌های درمان برای تومورهای متاستاتیک هستند. اگرچه علاوه‌بر عوارض ایجادشده، طی دوره درمان توسط این داروها، مقاوم‌شدن هم‌زمان سلول‌های سرطانی نسبت‌به داروهای مختلف، هنوز یکی از موانع بزرگ بر سر راه درمانی موفق به‌شمارمی رود (٣)؛ ازاین‌رو به‌نظرمی‌رسد که پیشگیری از این بیماری با دیگر روش‌های درمانی رژیم غذایی و داروهای گیاهی مورد استفاده در طب سنتی می‌تواند تأثیری بسزا در بروز یا کاهش شدت آن داشته‌باشد.

از سال‌ها پیش مشخص شده‌است که رژیم غذایی در بروز و پیشگیری از CRC، نقشی مهم را ایفامی‌کند. میوه‌جات، سبزیجات و فیبرهای موجود در رژیم غذایی با تحت تأثیر قراردادن فلور روده، خطر ابتلا به CRC را کاهش‌می‌دهند (٤). مصرف مواد غذایی با خاصیت chemopreventive ازجمله گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی نیز در جلوگیری، به‌تأخیرانداختن یا معکوس‌کرن روند سرطان‌زایی نقشی مهم را برعهده‌دارند (٥).

گیاهان دارویی نیز به دلیل دارابودن مزیت‌هایی بسیار ازجمله ارزانی، دردسترس‌بودن و پذیرش بهتر از جانب بیماران برای درمان بیماری‌های مانند سرطان، مورد توجه قرارگرفتند؛ یکی از این گیاهان دارویی که به آن توجه‌شده، سیاه‌دانه (Nigella sativa) است. سیاه‌دانه گیاهی است ١ ساله، علفی و از تیره آلاله (Ranunculaceae) که حدود ٢٠ تا٣٠ سانتی‌متر طول‌دارد (٦). اسانس سیاه‌دانه، شامل تیموکینون (Thymoquinone)، ρ -cymene، کارواکرول t-anethol4، terpineol و longifoline است (٧). بقیه ترکیبات سیاه‌دانه شامل استرول‌ها، تری‌اسیل گلیسرول‌ها، فسفولیپیدها، تانن‌ها، رزین‌ها، هیدروکسی‌کتون‌ها، پلی‌فنول‌ها، توکروفرول‌ها و ویتامین‌ها هستند (٨).

سیاه‌دانه دارای آثار درمانی قابل‌توجه ازجمله آثار «آنتی‌اکسیدانی، ضددرد و ضدالتهاب، ضدسرطان و ضدجهش، ضدسمیت کبدی و کلیوی، ضددیابتی، تأثیرگذاری روی سیستم ایمنی و ضداولسر» است (٧). روغن سیاه‌دانه و ترکیب‌های جداشده از آن، آثاری مشخصی علیه سلول‌های سرطانی انسانی دارند و همچنین، سمیت متداول داروهای ضدسرطان را کاهش‌می‌دهند (٩). یکی از موارد تأثیرگذار مهم سیاه‌دانه، تیموکینون است که دارای اثرهای فارماکولوژیکی متعدد ازجمله اثر ضدسرطانی است (١٠).

در مطالعه‌ای که *بارک* و همکاران انجام‌دادند، آثار ضدسرطانی این گیاه، روی چند رده سلول سرطانی

www.SID.ir

Archive of SID

ازجمله سرطان پستان، کلیه و قلب نشان‌داده‌شد (۱۱)؛ در مطالعه‌ای دیگر که در سال ۲۰۱۰، *طبسی* و همکاران انجام‌دادند، مشخص شد که عصاره الکلی سیاه‌دانه، موجب کاهش معنی‌دار میزان تکثیر سلولی و افزایش آپوپتوزیس سلول‌های سرطانی کلیه انسان رده ACHN می‌شود (۱۲).

موتاسیون بتا کاتنین در انواع تومورهای کولون که با کارسینوژن‌های مختلف ازجمله دی‌متیل‌هیدرازین (DMH) القاشده‌اند، دیده‌می‌شود(۱۳). بتا کاتنین، عضوی کلیدی در مسیر پیام‌رسانی بیولوژیک بوده که نقشی خیلی مهم را در رشد و نمو طبیعی سلول از طریق پیام‌رسانی Wnt[1] برعهده‌دارد؛ درصورت عدم پیام‌رسانی wnt، بتا کاتنین فسفریله‌شده، توسط سیستم یوبیکوئیتین، شناخته و در کمپلکس پروتئازوم تجزیه‌می‌شود؛ درصورت وجود پیام Wnt، فسفریلاسیون بتا کاتنین، متوقف می‌شود و این پروتئین با عوامل رونویسی از خانواده LEF/TCF [2]، کمپلکس تشکیل‌می‌دهد؛ کمپلکس بالا به افزایش بیان آنکوژن‌هایی نظیر C-myc و Cyclin D1 منجرمی‌شود که درنهایت به ایجاد سرطان می‌انجامند (۱٤).

DMH، یک پروکارسینوژن قوی بوده که پس از فعال‌سازی توسط سیتوکروم p450 در کبد، باعث متیلاسیون بازهای گوانین در DNA بافت‌های مختلف ازجمله کولون، ایلئوم و کبد و تغییر بیان ژن‌ها و درنهایت، ایجاد تومور می‌شود (۱۵)؛ متابولیت فعال DMH، سپس توسط آنزیم گلوتاتیون s- ترانسفراز (GST) با گلوتاتیون، ترکیب و در ادرار و صفرا دفع‌می‌شود (۱٦)؛ همچنین، مطالعه‌ای دیگر نشان‌می‌دهد که DMH به افزایش بیان ژن بتا کاتنین مستقل از متیلاسیون و تخریب آن منجرمی‌شود که این امر نیز به افزایش سطح بتا کاتنین در سلول و پیشبرد روند سرطان می‌انجامد (۱۷).

فرضیه پژوهش حاضر، این است که DMH به افزایش فعالیت آنزیم‌های GST و CYP 450 و سطح بتاکاتنین و درنتیجه ایجاد تومور در کولون منجرمی‌شود؛ همچنین، سیاه‌دانه با جلوگیری از تغییر در عوامل بالا، کاهش تومورهای کولون را سبب‌می‌شود؛ بنابراین، هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر سیاه‌دانه بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم دی‌متیل‌هیدرازین (GST، CYP 450) و سطح GSH است که در فعال‌سازی و همچنین دفع این کارسینوژن نقش‌دارند؛ به‌علاوه، بررسی تأثیر سیاه‌دانه بر سطح بتاکاتنین که به‌طور مستقیم، مسئول ایجاد تومورهای کولون است، از اهداف دیگر این تحقیق به‌شمارمی‌آید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، از رت‌های نر بالغ با وزن متوسط ۱۲۰ گرم استفاده‌شد؛ رت‌ها از مراکز نگاهداری حیوان‌های آزمایشگاهی از انستیتوپاستور ایران خریداری‌شدند.

غذای حیوان‌ها از کارخانجات فراورده‌های غذایی تهران تهیه‌شده که به‌صورت pallet با فرمول استاندارد بود؛ حیوان‌های بالغ نیز به‌طور آزاد، به غذا و آب آشامیدنی از طریق بطری دسترسی‌داشتند. کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، شرایط کار با حیوان‌ها را تأییدکرد.

القای سرطان کولون در رت‌ها

ابتدا کارسینوژن دی‌متیل‌هیدرازین (DMH) در EDTA ۱ میلی‌مولار، حل و به‌منظور پایداری کارسینوژن، PH آن به ٦/٥ رسانده‌شد؛ سپس DMH به‌مدت هجده هفته، هفته‌ای یک‌بار با دوز 30mg/kg b.w به‌صورت زیرجلدی (s.c) در ناحیه کتف به رت‌ها تزریق‌شد (۱۸).

همچنین پس از تهیه دانه سالم گیاه و اطمینان از سلامت ظاهری و آسیاب‌کردن، پودر سیاه‌دانه در غلظت‌های ۲ و ٤ درصد (وزنی/ وزنی) با غذای پودرشده و استاندارد رت، مخلوط و دوباره، غذای palleted تولیدشد (۲۵). در طول دوره تیمار، رت‌ها

[1]- Wnt signaling
[2]- Limphoid Enhancer Factor/T Cell Factor

www.SID.ir

Archive of SID

به‌طور متوسط روزانه 50 gr/kg bw غذای حاوی پودر سیاه‌دانه ۲ و ٤ درصد مصرف‌کردند؛ بنابراین در گروه‌های تیمار، به‌طور متوسط حیوان‌ها به‌ترتیب، ۱ و ۲ gr/kg bw سیاه‌دانه دریافت‌کردند؛ در مرحله بعدی، حیوان‌ها به‌صورت تصادفی در شش گروه تقسیم‌شدند (۸ سر رت در هر گروه) و به‌صورت زیر تیمارشدند (جدول ۱):

جدول۱. گروه‌های درمانی

ردیف	گروه‌های تیمار	EDTA	DMH	غذای حاوی سیاه‌دانه	
				%2	4 %
۱	کنترل	+	-	-	-
۲	سیاه‌دانه ٪۲	+	-	+	-
۳	سیاه‌دانه ٪٤	+	-	-	+
٤	DMH	-	+	-	-
٥	سیاه‌دانه ٪۲ + DMH	-	+	+	-
٦	سیاه‌دانه ٪٤ + DMH	-	+	-	+

گروه کنترل: رت‌ها در این گروه، ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA به‌عنوان حلال DMH هفته‌ای یک‌بار به‌مدت هجده هفته به‌صورت زیرجلدی دریافت و از غذای معمولی استفاده‌کردند.

گروه DMH: رت‌ها در این گروه، ۰/۵ میلی‌لیتر DMHحل‌شده در EDTA (30 mg/kg b.w) هفته‌ای یک‌بار به‌مدت هجده هفته به‌صورت زیرجلدی دریافت و از غذای معمولی استفاده‌کردند.

گروه‌های شم: در این گروه‌ها همانند گروه کنترل به حیوان‌ها، EDTA تزریق‌شد و همچنین رت‌ها به‌ترتیب، غذای حاوی سیاه‌دانه ۲ و ٤ درصد را به‌مدت شش ماه دریافت‌کردند

گروه‌های تیمار: رت‌ها در این گروه‌ها، همانند گروه پیشین، DMH دریافت‌کردند و همچنین غذای حاوی سیاه‌دانه ۲ و ٤ درصد را به‌مدت شش ماه مصرف‌کردند.

پس از گذشت شش ماه از آغاز تیمار، حیوان‌ها با دی‌اتیل‌اتر، بیهوش و به‌منظور انجام آزمایش‌ها، بافت‌های کبد و روده آنها جمع‌آوری‌شدند (۱۸).

بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت کولون

شش ماه پس از آغاز آزمایش، حیوان‌ها بیهوش شدند و بافت کولون آنها برای مطالعات هیستوپاتولوژیک جداشد؛ بدین منظور، بی‌درنگ، پس از جداکردن کولون، یک برش طولی از سکوم تا آنوس در آن زده و در محلول PBS شسته‌شد؛ در مرحله بعد، روده به سه قسمت ابتدایی، میانی و انتهایی (a، b، c)، تقسیم و تعداد تومورها در هر منطقه شمارش و اندازه آنها با کولیس اندازه‌گیری‌شد؛ در ادامه، نمونه‌ها میان دو تکه کاغذ صافی ساندویچ‌شده، در بافرفرمالین قرارداده‌شدند. نمونه‌ها در متیلن بلو ۰/۲ درصد سالین به‌مدت ۲ تا ۳ دقیقه رنگ‌آمیزی‌شدند و روی اسلاید میکروسکوپی قرارگرفتند (۱۹). اسلایدهای تهیه‌شده به‌منظور مقایسه تغییرهای بافتی در نمونه‌های مختلف با میکروسکوپ نوری دارای بزرگ‌نمایی ٤۰، بررسی و از آنها عکس‌برداری‌شد و تغییرهای هیستولوژیکی تجزیه‌وتحلیل‌شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

تهیه هموژن بافت کبد و کولون و پلاسما

بخشی از نمونه‌های بافت کولون و کبد، جدا و در یک لوله آزمایش با بافر فسفات سالین (PBS) سرد (PH=7/3)، مخلوط شد و توسط دستگاه هموژنایزر، بافت همگن‌شد و هموژن ۲۰ درصد وزنی – حجمی تهیه‌شد.

اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون S – از ترانسفراز در هموژن بافت کبد

فعالیت آنزیم GST به روش Habig (۲۰) و با استفاده از سوبسترای CDNB توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری‌شد؛ در این روش، آنزیم GST موجود در نمونه به اتصال CDNB به گلوتاتیون، منجر و درنهایت، جذب کمپلکس حاصل با گذشت زمان در طول موج ۳٤۰ nm اندازه‌گیری‌شد. فعالیت ویژه آنزیم براساس واحد آنزیم به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین اندازه‌گیری‌شده با آزمون برادفورد (۲۱)، محاسبه‌شد.

اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم سیتوکروم P450 در هموژن بافت کبد

فعالیت ویژه آنزیم سیتوکروم p450 با استفاده از آزمون EROD (ethoxy resrufin - o – deethylase) مطابق با روش Buke and Mayer توسط دستگاه اسکپتروفلوریمتری اندازه‌گیری‌شد (۲۲).

اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون احیا (GSH) در هموژن بافت کبد

GSH با استفاده از معرف Ellman's و براساس روش Seldak و Lindsay (۱۹٦۸) اندازه‌گیری‌شد (۲۳)؛ در این روش گلوتاتیون با ترکیبی به نام دی‌تیونیترو بنزوئیک اسید (DTNB)، کمپلکسی را تشکیل‌می‌دهد که در طول موج ٤۱۲ nm جذب‌دارد؛ درنهایت، میزان GSH به کمک منحنی استاندارد محاسبه‌شد.

اندازه‌گیری میزان پروتئین بتاکاتنین در هموژن بافت کولون

اندازه‌گیری میزان پروتئین بتاکتنین به روش ELISA در هموژن بافت کولون با استفاده از کیت خریداری‌شده از شرکت Assay Designs (U.S.A) و مطابق با پروتکل کیت انجام‌شد.

روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

تمام داده‌های حاصل از گروه‌های تجربی با استفاده از نرم‌افزار SPSS توسط آزمون one-way ANOVA و آزمون تعقیبی توکی، محاسبه و در شش گروه کلی مطرح‌شده در روش اجرا مقایسه‌شدند؛ همچنین با استفاده از این نرم‌افزار، سطح معنی‌داری ($p<0.05$) محاسبه‌شد.

نتایج

تأثیر سیاه‌دانه روی تعداد و اندازه (سایز) تومورها در کولون

همان‌طورکه در جدول ۲ مشاهده‌می‌شود، در تمامی گروه‌ها به‌جز، گروه‌های کنترل منفی و شم، تومورهای کولون بر اثر تزریق DMH ایجادشده‌اند. به‌طور کلی، ٤ تومور در قسمت a به‌عنوان بخش ابتدایی، ۳۳ تومور در قسمت b به‌عنوان بخش میانی و ۸۸ تومور در قسمت c به‌عنوان بخش انتهایی کولون در کلیه حیوان‌ها مشاهده‌شد. نتایج بررسی‌های ماکروسکوپی نشان‌می‌دهند که میانگین تعداد و اندازه تومورها در سرتاسر طول کولون در گروه‌هایی که با غذای حاوی سیاه‌دانه ۲ و ٤ درصد تغذیه‌شده‌اند، به‌طور معنی‌داری، کمتر از گروه DMH است ($P<0.05$) که همین الگو در قسمت‌های a، b و c کولون نیز مشاهده‌می‌شود (جدول ۲)؛ البته، میانگین تعداد تومورها در قسمت‌های a و b کولون گروه تیمار با سیاه‌دانه ۲ درصد، تفاوتی معنی‌دار را با گروه DMH نشان‌نمی‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲. تأثیر سیاه‌دانه بر تعداد و اندازه تومورها در قسمت‌های ابتدایی، میانی، انتهایی و کل طول کولون در رت‌های تحت تیمار با DMH

گروه‌های تیمار	تعداد رت‌های مورد آزمایش	تعداد رت‌های دارای تومور	تعداد کل تومور				تعداد تومور در هر رت				سایز تومور(mm^3)			
			a	*b*	*c*	*T*	*a*	*b*	*c*	*T*	*A*	*B*	*c*	*T*
کنترل	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
سیاه‌دانه ٪۲	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
سیاه‌دانه ٪۴	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
DMH	8	8	4	15	34	53	0.5±0.3*	1.9±0.7*	4.2±0.9*	6.6±1.1*	3.6±2.8*	58.3±21*	102.3±26.2*	164.2±34.6*
سیاه‌دانه ٪۲ + DMH	8	8	0	10	29	39	0**	1.3±0.7	3.5±0.7	4.8±0.6**	0**	24.8±10.9**	62.6±10.7**	87.4±8.3**
سیاه‌دانه ٪۴ + DMH	8	7	0	8	25	33	0**	1±0.6**	3.1±0.6**	4.1±1**	0**	6.14±4**	34.8±7.2**	40.9±9.7**

تأثیر سیاه‌دانه روی درصد ابتلا و درصد مهار تومورها در کولون

پس از اتمام دوره هفت ماه تیمار حیوان‌ها، تومورهای کولون در تمام حیوان‌هایی که DMH دریافت‌کردند با چشم غیرمسلح، قابل‌مشاهده بودند. (شکل ۱)؛ باوجوداین، سیاه‌دانه در هر دو دز، قادر به مهار تشکیل تومورها بوده‌است (جدول ۳). درصد ابتلا به تومور در گروه تیمار سیاه‌دانه ٤ درصد به ۸۷ درصد کاهش‌یافته‌است؛ همچنین تیمار رت‌ها با غذای حاوی سیاه‌دانه ۲ و ٤ درصد به مهار تشکیل تومور به‌ترتیب به میزان ۲٦ و ۳۸ درصد منجرشده‌است؛ همچنین در جدول ۳ مشاهده‌می‌شود که بیشترین میزان تشکیل تومور به‌ترتیب در قسمت‌های انتهایی، میانی و ابتدایی است ولی بیشترین درصد مهار تومور، در قسمت ابتدایی کولون مشاهده‌می‌شود.

شکل۱. نمای ماکروسکوپی از تومورهای کولون

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳. تأثیر سیاه‌دانه بر درصد ابتلا به تومور و درصد مهار تومور در قسمت‌های ابتدایی، میانی، انتهایی و کل طول کولون در رت‌های تحت تیماربا DMH

گروه‌های تیمار	تعداد رت‌های مورد آزمایش	تعداد رت‌های دارای تومور	درصد ابتلا به تومور تعداد رت مورد آزمایش/ تعداد رت دارای تومور				درصد مهار تومور			
			a	b	C	T	A	b	c	T
کنترل	8	0	0	0	0	0	-	-	-	-
سیاه‌دانه ۲٪	8	0	0	0	0	0	-	-	-	-
سیاه‌دانه ٤٪	8	0	0	0	0	0	-	-	-	-
DMH	8	8	38	75	100	100	0	0	0	0
سیاه‌دانه ۲٪ + **DMH**	8	8	0	50	100	100	100	33	15	26
سیاه‌دانه ٤٪ + **DMH**	8	7	0	87	87	87	100	46	26	38

تأثیر سیاه‌دانه روی مراحل پیشرفت تومورها در کولون

نقش مصرف غذای حاوی سیاه‌دانه روی تعداد تومورها در قسمت‌های ابتدایی، میانی و انتهایی کولون براساس طبقه‌بندی مراحل پیشرفت تومور در جدول ٤ مشاهده‌می‌شود. در سرتاسر طول کولون در گروه DMH، تعداد ۵۳ تومور در مراحل پیشرفت مختلف؛ در گروه تیمار با سیاه‌دانه ۲ درصد، ۳۹ و در گروه تیمار با سیاه‌دانه ٤ درصد، ۳۳ تومور مشاهده‌می‌شوند. لازم به یادآوری است که در مراحل پیشرفت سرطان، ابتدا tubular adenoma، سپس carcinoma in situ و درنهایت، adenocarcinoma invasive شکل‌می‌گیرند. از شاخص‌ترین شواهد تأثیر سیاه‌دانه، کاهش تعداد تومورهای tubular adenoma و carcinoma in situ در قسمت ابتدایی کولون و همچنین، کاهش تعداد تومورهای adenocarcinoma invasive در قسمت‌های میانی، انتهایی و کل طول کولون در هر دو گروه تیمار سیاه‌دانه نسبت‌به گروه DMH است؛ به‌عبارت‌دیگر با وجود افزایش تعداد تومورهای carcinoma in situ در گروه‌های تیمار با سیاه‌دانه، کاهش تعداد تومورهای adenocarcinoma invasive و همچنین، تعداد کل تومورها در این گروه‌های تیمار نسبت‌به گروه DMH، نشان‌دهنده مهار تشکیل و پیشرفت تومورها توسط سیاه‌دانه است (جدول ٤).

جدول٤. تأثیر سیاه‌دانه بر مراحل پیشرفت تومور در قسمت‌های ابتدایی، میانی، انتهایی و کل طول کولون در رت‌های تحت تیمار با DMH

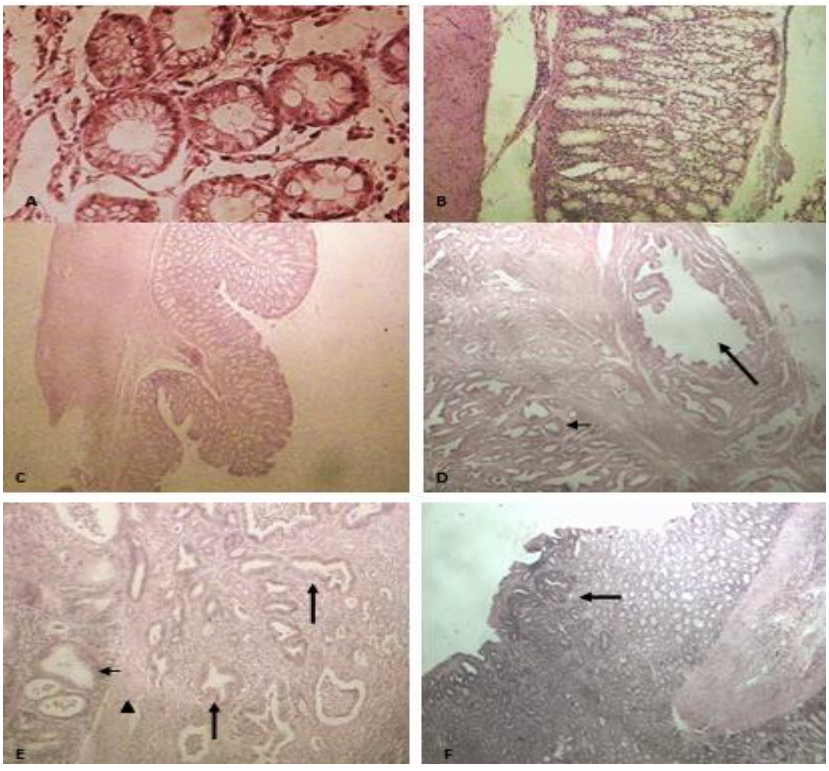
گروه‌های تیمار	مراحل پیشرفت تومور											
	Tubular adenoma				Carcinoma in situ				Adenocarcinoma invasive			
	a	b	c	T	a	b	c	T	a	b	C	T
کنترل	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سیاه‌دانه ۲٪	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سیاه‌دانه ٤٪	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DMH	3	1	0	4	1	3	0	4	0	11	34	45
سیاه‌دانه ۲٪ + DMH	0	4	0	4	0	2	5	7	0	4	24	28
سیاه‌دانه ٤٪ + DMH	0	3	0	3	0	0	9	9	0	5	16	21

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهدات هیستوپاتولوژی تومورهای کولون القاشده توسط DMH

در بافت کولون رت‌ها در گروه‌های اول تا سوم (گروه کنترل منفی و گروه‌های شم)، غدد لیبرکون نرمال همراه با لایه‌های مخاطی و زیرمخاطی طبیعی مشاهده‌می‌شوند؛ به‌طور کلی، ساختار کولون در این گروه‌ها طبیعی و شبیه به هم است و هیچ نشانه‌ای از بدخیمی مشاهده‌نمی‌شود (شکل 2A تا 2C). مطالعات هیستوپاتولوژی بافت کولون رت‌ها در گروه چهارم (گروه DMH)، تومورهایی از نوع adenocarcinoma invasive را در این حیوان‌ها نشان‌می‌دهند؛ همچنین، ساختار غیرطبیعی و دیسپلازی در غدد لیبرکون نیز قابل‌مشاهده است؛ در این گروه، تهاجم سلول‌های سرطانی به لایه‌های عضلانی مشاهده‌می‌شود و ساختارهای شبیه به غدد سازمان‌یافته قابل‌ردیابی‌اند (شکل 2D). در گروه پنجم (گروه تیمار با سیاه‌دانه ۲ درصد) نیز adenocarcinoma invasive مشاهده‌می‌شود؛ پرولیفراسیون سلول‌های توموری و همچنین ساختارهای شبیه به غدد سازمان‌یافته نیز در کولون این حیوان‌ها قابل‌ردیابی‌اند؛ همچنین تهاجم سلول‌های سرطانی به لایه زیرمخاطی نیز قابل‌مشاهده است (شکل 2E). بررسی‌های هیستوپاتولوژی بافت کولون حیوان‌های تیمارشده با سیاه‌دانه ٤ درصد (گروه ششم)، وجود tubular adenoma را نشان‌می‌دهد. بافت اپیتلیوم‌هایپرپلاستیک غدد به‌وسیله غشای پایه، محصور شده‌است. سلول‌های دیسپلاستیک همراه با هسته و هستک‌های بزرگ و نشانه‌های pleomorphism, hyperchromasia، وجود carcinoma insitu را نشان‌می‌دهند (شکل 2F).



شکل۲. تغییرهای هیستوپاتولوژیک بافت کولون

A) بافت کولون در گروه کنترل، سلول‌های اپیتلیال طبیعی و غدد لیبرکون نرمال را نشان‌می‌دهد که توسط غشای پایه، محصور شده‌اند و هیچ نشانه‌ای از آسیب مشاهده‌نمی‌شود (*400 , H&E).

B&C) نتایج بررسی‌های هیستوپاتولوژیک بافت کولون در گروه‌های sham (گروه‌های دوم وسوم) نشان‌می‌دهند که همانند گروه کنترل منفی، در بافت کولون این حیوان‌ها نیز هیچ تغییر میکروسکوپی مشاهده‌نمی‌شود. ساختار مخاط و سلول‌های اپیتلیال غدد به‌طور کامل، طبیعی هستند (*400 , H&E).

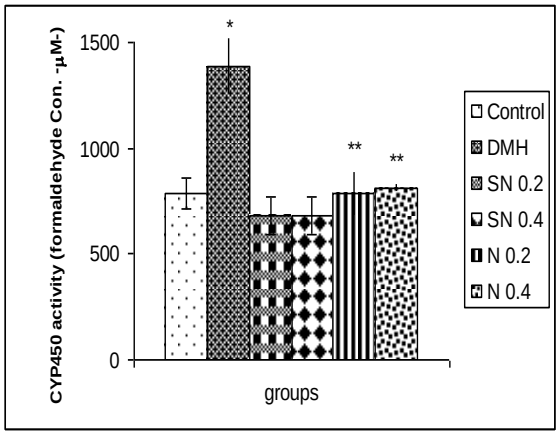
www.SID.ir

Archive of SID

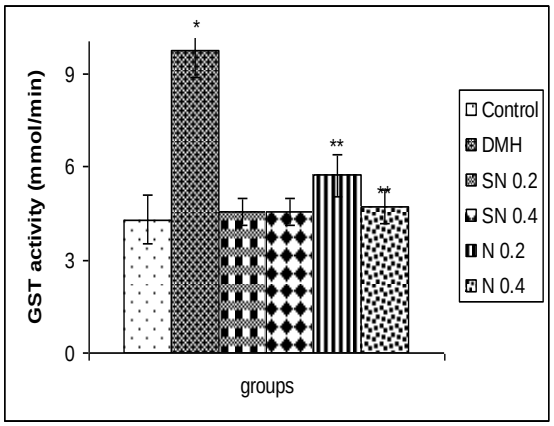
D) مطالعات میکروسکوپی بافت کولون در گروه DMH، وجود adenocarcinoma invasive را نشان‌می‌دهد. دیسپلازی و ساختار غیرطبیعی غدد لیبرکون در قسمت پایین سمت چپ شکل دیده‌می‌شود (فلش کوچک)؛ تهاجم سلول‌های نئوپلاستیک به لایه عضلانی و ساختارهای شبیه به غدد سازمان‌یافته نیز مشاهده‌می‌شود (فلش بزرگ)، (*H&E , 400).

E) بررسی هیستوپاتولوژی بافت کولون در گروه تیمار سیاه‌دانه ۲ درصد، پرولیفراسیون سلول‌های توموری و ساختارهای شبیه به غدد سازمان‌یافته (adenocarcinoma invasive) را نشان‌می‌دهد (فلش کوچک). سلول‌های توموری در حال تهاجم به لایه زیرمخاطی (نوک پیکان) و ساختارهای شبیه به غدد سازمان‌یافته همراه با cystic dilation (فلش بزرگ) نیز قابل‌ردیابی هستند (*H&E , 400).

F) مطالعات هیستوپاتولوژی بافت کولون در گروه تیمار سیاه‌دانه ۴ درصد، اپیتلیوم‌هایپرپلاستیک غدد با ساختارهای توبولار سازمان‌دهی‌شده را نشان‌می‌دهند که توسط غشاءهای پایه احاطه‌شده‌اند (Tubular adenoma). سلول‌های دیسپلاستیک همراه با علایمی از pleomorphism و hyperchromasia و همچنین هسته و هستک‌های بزرگ‌تر، وجود carcinoma insitu را در برخی از تومورها نشان‌می‌دهند (فلش)، (*H&E 40).



شکل۳. تأثیر سیاه‌دانه روی فعالیت CYP450 در کبد رت‌های تحت تیمار با DMH



شکل٤. تأثیر سیاه‌دانه روی فعالیت GST در کبد رت‌های تحت تیمار با DMH

تأثیر سیاه‌دانه روی فعالیت آنزیم‌های متابولیزه‌کننده سموم (GST و CYP450) در کبد

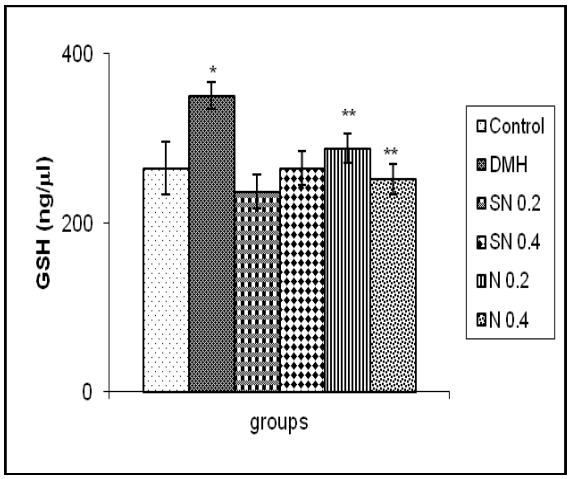
همان‌طورکه در شکل ۳ مشاهده‌می‌شود، فعالیت آنزیم CYP450 در کبد حیوان‌هایی که DMH دریافت‌کرده‌اند، افزایشی معنی‌دار را نسبت‌به گروه کنترل منفی نشان‌می‌دهد (P<0.05). مصرف غذای حاوی سیاه‌دانه در هر دو دز، قادر به کاهش‌دادن فعالیت این آنزیم در بافت کبد است (P<0.05)؛ همچنین تزریق DMH با الگوی مشابه با CYP450 به القای فعالیت آنزیم GST منجرمی‌شود (شکل ٤) به‌طوری‌که فعالیت این آنزیم در گروه DMH به‌صورتی معنی‌دار، بیشتر از فعالیت آن در گروه کنترل منفی است (P<0.05)؛ فعالیت آنزیم GST نیز، همانند CYP450 در گروه‌های تیمار با غذای دارای سیاه‌دانه ۲ و ٤ درصد به‌صورتی معنی‌دار در مقایسه با گروه DMH، کمتر است (P<0.05) (شکل ٤).

تأثیر سیاه‌دانه روی سطح گلوتاتیون احیا (GSH) در کبد

شکل ۵، میزان گلوتاتیون در هموژن بافت کبد کلیه گروه‌ها را نشان‌می‌دهد. سطح GSH در گروه DMH، به‌صورتی معنی‌دار، بیشتر از مقدار آن در گروه کنترل منفی است (P<0.05). تیمار رت‌ها با غذای حاوی سیاه‌دانه در هر دو دز به کاهش معنی‌دار سطح گلوتاتیون در مقایسه با گروه DMH منجرمی‌شود (P<0.05) (شکل ۵).

www.SID.ir

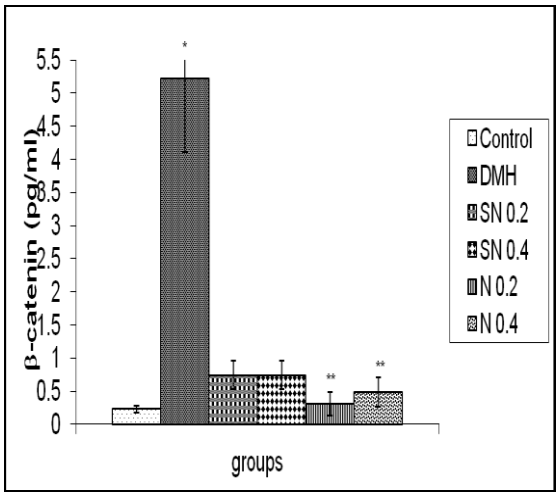
Archive of SID



شکل۵. تأثیر سیاه‌دانه روی میزان گلوتاتیون احیا (GSH) در کبد رت‌های تحت تیمار با DMH

تأثیر سیاه‌دانه روی سطح b-catenin در کولون

همان‌طورکه در شکل ٦ مشاهده‌می‌شود، تزریق DMH به افزایش معنی‌دار سطح b-catenin در بافت کولون منجرمی‌شود ($P<0.05$)؛ به‌طوری‌که سطح b-catenin در گروه DMH بیش از ۲۲ برابر سطح آن در گروه کنترل منفی است. تیمار حیوان‌ها با غذای دارای سیاه‌دانه، در هر دو دز، به مهار افزایش سطح b-catenin می‌انجامد؛ به‌طوری‌که سطح این پروتئین در گروه‌های تیمار، به‌طور تقریبی، مشابه گروه کنترل منفی است (شکل ٦).



شکل۶. تأثیر سیاه‌دانه روی میزان بتا کاتنین در کولون رت‌های تحت تیمار با DMH

بحث

نتایج این تحقیق نشان‌می‌دهند که تغذیه رت‌ها با غذای حاوی سیاه‌دانه به‌طور مؤثری، باعث کاهش تعداد تومورهای کولون، طی فرایند سرطان‌زایی القاشده توسط DMH می‌شود. مهار القای تومورها به میزان ۲٦ و ۳۸ درصد در رت‌های تغذیه‌شده با غذای حاوی سیاه‌دانه ۲ و ٤ درصد (جدول ۳)، می‌تواند نشان‌دهنده آثار ضدتوموری سیاه‌دانه باشد. تاکنون تحقیق‌هایی مختلف درخصوص آثار ضدسرطانی ترکیب‌های استخراج‌شده از گیاهان دارویی صورت‌گرفته‌اند؛ برای نمونه، نتایج تحقیق‌های گذشته ما نشان‌می‌دهند که اسانس زیره سیاه با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم DMH به کاهش تومورهای کولون منجرشده‌است (۲٤)؛ همچنین در مطالعه‌ای که *بارک* و همکاران انجام‌دادند، آثار ضدسرطانی سیاه‌دانه، روی چند رده سلول سرطانی ازجمله سرطان پستان، کلیه و قلب نشان‌داده‌شد (۲۵)؛ باوجوداین، درخصوص آثار ضدسرطانی سیاه‌دانه و به‌ویژه سازوکار احتمالی خواص ضدسرطانی آن، مطالعه‌ای صورت‌نگرفته‌است؛ به همین دلیل در این تحقیق، آثار ضدسرطانی سیاه‌دانه در کاهش تومورهای القاشده توسط DMH و همچنین سازوکار این آثار در مدل سرطان کولون القاشده توسط DMH در رت تاحدودی بررسی‌شد؛ نتایج این مطالعه، همانند سایر مطالعات (۲٦) نشان‌می‌دهند که تیمار حیوان‌ها با DMH (۳۰ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن)، به‌صورت تزریق زیرجلدی هفته‌ای یک‌بار به‌مدت هجده هفته، پس از گذشت شش ماه به ایجاد چندین تومور به‌ویژه در قسمت انتهایی کولون منجرمی‌شود (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی در بیوپسی بافت کولون، وجود انواع ضایعات مرتبط با سرطان ازجمله Tubular adenoma، carcinoma in situ و حتی Adenocarcinoma invasive را در رت‌های مورد مطالعه تأییدمی‌کنند (جدول ٤)؛ همچنین، نتایج این تحقیق نشان‌می‌دهند که مصرف غذای حاوی سیاه‌دانه توسط رت‌ها به کاهش چشمگیر تعداد و اندازه تومورها منجرشده‌است. ترکیب‌های طبیعی ازجمله گیاهان دارویی، دارای آثار درمانی قابل‌توجهی بر روند ایجاد سرطان هستند؛ برای نمونه، مصرف خوراکی (۸ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) از ترکیبی به نام resveratrol (نوعی پلی‌فنل که از انگور استخراج‌شده‌است)، روزانه به‌مدت پانزده هفته، باعث کاهش معنی‌دار تعداد تومورهای القاشده توسط DMH در بافت کولون رت‌ها شده‌است (۲۷)؛ همچنین مصرف (۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) زنجبیل، به‌صورت خوراکی روزانه به‌مدت پانزده هفته توسط رت‌ها، باعث کاهش تعداد و اندازه تومورهای القاشده توسطDMH در کولون شده‌است (۲۸)؛ همچنین، مطالعه‌ای دیگر، روی مخلوطی از سبزیجات نشان‌می‌دهد که خوراندن مخلوطی از سبزیجات پودرشده شامل اسفناج، کلم بروکلی و جوانه چندین گیاه به همراه کاروتنوئیدهای استخراج‌شده از روغن هسته خرما به رت‌ها، باعث مهار روند ایجاد سرطان توسط آزوکسی متان در بافت کولون این حیوان‌ها شده‌است (۲۹).

با توجه به مسیر متابولیسم DMH، به‌منظور بررسی دقیق‌تر سازوکارهای احتمالی در کاهش روند سرطان‌زایی بافت کولون، عوامل دخیل در این فرایند «ازجمله دخالت سیاه‌دانه در فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم مواد شیمیایی سرطان‌زا نظیر سیتوکروم P450 و GST در بافت کبد و همچنین سطح پروتئین بتاکاتنین به‌عنوان یک عامل نسخه‌برداری که بیان آنکوژن‌ها را زیادمی‌کند»، در بافت کولون بررسی‌شدند.

کبد، مهم‌ترین اندامی است که بیشتر ترکیب‌های سمی ازجمله داروها و مواد سرطان‌زا در آن متابولیزه‌می‌شوند (۳۰)؛ بنابراین، تغییرهای بیوشیمیایی ایجادشده در بافت کبد در فرایند ایجاد سرطان توسط DMH می‌توانند به‌عنوان شاخص‌هایی (مارکرهایی) برای بررسی خواص ضدسرطانی ترکیب‌های مختلف استفاده‌شوند. DMH یک کارسینوژن محیطی شناخته‌شده‌است که پس از تزریق، ابتدا در کبد توسط آنزیم سیتوکروم P٤٥٠ متابولیزه‌می‌شود و متابولیت فعالی به نام متیل‌دیازونیوم تولیدمی‌کند. این متابولیت فعال، سپس توسط فعالیت آنزیم‌های فاز ۲ متابولیسم سموم به‌ویژه GST با گلوتاتیون ترکیب و دفع‌می‌شود (۳۱). تزریق DMH، باعث افزایشی معنی‌دار در فعالیت آنزیم سیتوکروم P٤٥٠ در بافت کبد شده‌است و دریافت رژیم غذایی حاوی سیاه‌دانه توسط رت‌ها به‌مدت شش ماه، بازگشت فعالیت آنزیم کبدی به حد طبیعی را درپی‌داشته‌است (شکل ۳)؛ به موازات آن، یکی از آنزیم‌های دخیل در فاز II متابولیسم مواد سمی یعنی GST که در بافت کبد توسط DMH مهارشده‌بود، در بافت کبد رت‌های تحت تیمار با سیاه‌دانه به حد طبیعی خود در گروه کنترل بازگشته‌است (شکل ٤).

نتایج تحقیق‌های *کراول*[1] و همکارانش نیز نشان‌می‌دهند که فعالیت ضدسرطانی بلوکه‌کننده مونوترپن‌ها در طول مراحل اولیه سرطان‌زایی به‌احتمال، به دلیل تغییر در فعالیت آنزیم‌های فاز I و II متابولیزه‌کننده مواد سمی است که به سم‌زدایی کارسینوژن‌ها منجرمی‌شود (۳۲)؛ با توجه به این نتایج و همچنین دیگر مطالعات می‌توان‌گفت که یکی از سازوکازهای ضدسرطانی این‌گونه ترکیب‌ها، مداخله آنها در تشکیل متابولیت‌های فعال در بافت کبد است (۳٤،۳۳). سیتوکروم P450، متابولیسم گزنوبیوتیک‌ها را در فاز ۱ متابولیسم مواد سمی برعهده‌داشته (۳۵)،

[1] - Crowell

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش فعالیت این آنزیم در رت‌های تیمارشده با DMH، بر نقش مؤثر آن در سم‌زدایی DMH به‌عنوان یک کارسینوژن دلالت‌دارد (۳۱)؛ مهار فعالیت این آنزیم توسط سیاه‌دانه باعث کاهش تشکیل متابولیت فعال DMH، یعنی رادیکال فعال متیل دیازونیوم می‌شود؛ ازآنجاکه این متابولیت فعال از طریق متیلاسیون بازهای گوانین در DNA و ایجاد جهش‌های نقطه‌ای (تبدیل گوانین به آدنین)، آثار سرطان‌زایی خود را اعمال‌می‌کند (۳٦)، می‌توان‌نتیجه‌گرفت که مهار فعالیت سیتوکروم P450 کبدی توسط سیاه‌دانه به‌احتمال از طریق مهار متیلاسیون بازهای گوانین درDNA و جلوگیری از ایجاد جهش‌های نقطه‌ای، آثار سرطان‌زایی DMH را تعدیل‌می‌کند (۳۷). با توجه به تأثیر سیاه‌دانه در افزایش فعالیت آنزیم GST در بافت کبد (به‌عنوان یک آنزیم مهم در فاز II متابولیسم گزنوبیوتیک‌ها)، حساسیت و تأثیرپذیری آنزیم‌های متابولیزه‌کننده مواد سمی نسبت‌به سیاه‌دانه بیشتر اثبات‌می‌شود (نمودار ٤).

کاهش در فعالیت آنزیم GST در بافت کبد رت‌های تیمارشده با DMH، به‌احتمال به دلیل مصرف آن در سم‌زدایی متابولیت‌های DMH است (۳۸)؛ القای این آنزیم در بافت کبد توسط سیاه‌دانه، نشان‌دهنده افزایش کنژوگه‌کردن متابولیت‌های DMH با GSH در کبد و کاهش سطح آنهاست. ازآنجاکه متابولیت فعال DMH (متیل‌دیازونیوم) پس از تشکیل‌شدن در کبد به کولون منتقل و در آنجا با متیلاسیون و ایجاد جهش در DNA، باعث ایجاد سرطان می‌شود (۳۹)، کاهش متابولیت فعال DMH، به مهار متیلاسیون بازهای گوانین در DNA بافت کولون و درنتیجه، مهار روند ایجاد سرطان کولون توسط DMH منجرمی‌شود.

ازسوی‌دیگر، صرف‌نظر از قدرت آنتی‌اکسیدانتی GSH، افزایش میزان گلوتاتیون سلولی در بافت کبد رت‌هایی که DMH دریافت‌کرده‌اند، بر نقش مؤثر آن به‌عنوان یک عامل انتخابی رشد سلول‌های سرطانی دلالت‌داشته که به تکثیر سلول‌های سرطانی منجرشده‌است (۲۸). به‌منظور بررسی بیشتر و دقیق‌تر سازوکار آثار ضدسرطانی سیاه‌دانه، علاوه‌بر اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم گزنوبیوتیک‌ها، در مرحله بعد، یکی از مهم‌ترین عوامل دخیل در ایجاد سرطان کولون توسط DMH، یعنی بتاکاتنین بررسی‌شد. متابولیت فعال DMH به متیلاسیون DNA در سلول‌های اپیتلیال بافت کولون (٤۰) و ایجاد جهش در ژن بتا کاتنین منجرمی‌شود (۱۷).

پروتئین بتا کاتنین در سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال کولون با (TCF/LEF)، کمپلکس تشکیل‌می‌دهد و به افزایش بیان برخی از آنکوژن‌ها و ایجاد تومورهای کولون منجرمی‌شود (۱٤). ایجاد جهش در ژن بتاکاتنین توسط DMH از تخریب بتاکاتنین، توسط سیستم پروتئازوم جلوگیری‌می‌کند. تجمع بتاکاتنین در سلول‌های اپی‌تلیال کولون به افزایش نسخه‌برداری از آنکوژن‌ها و درنتیجه، ایجاد سرطان کولون منجرمی‌شود (۱٤).

نتایج این تحقیق نشان‌می‌دهند که تزریق DMH به افزایش شدید میزان پروتئین بتاکاتنین در بافت کولون می‌انجامد (شکل ٦) و تغذیه رت‌ها با غذای حاوی سیاه‌دانه در هر دو دز، به کاهش سطح پروتئین بتاکاتنین و برگشت آن به سطح کنترل منجرمی‌شود؛ این نتایج نشان‌می‌دهند که تیمار رت‌ها با غذای حاوی سیاه‌دانه، با تعدیل فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم DMH، باعث کاهش بیان ژن بتاکاتنین و جلوگیری از تجمع پروتئین بتاکاتنین در سلول‌های اپی‌تلیال بافت کولون می‌شود که درنهایت، کاهش تشکیل ACF در بافت کولون را درپی‌دارد.

به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان‌می‌دهند که سیاه‌دانه، دارای آثار ضدسرطانی در مقابل آسیب‌های اولیه سرطان ناشی از DMH در بافت کولون است و بخشی از سازوکار این اثر، از طریق تأثیر روی آنزیم‌های فاز I و II متابولیسم مواد سمی و همچنین سطح پروتئین بتا کاتنین است.

www.SID.ir

Archive of SID

البته مطالعاتی بیشتر لازم‌اند تا سازوکار دقیق آثار ضدسرطانی سیاه‌دانه در جلوگیری از روند ایجاد سرطان توسط DMH در بافت کولون، مشخص شود؛ بدین منظور پیشنهادمی‌شود، بیان ژن‌های هدف کمپلکس β-catenin/TCF/LEF یعنی آنکوژن‌های c-myc ، c-jun و cyclin D1 پیش و پس از تیمار حیوان‌ها با سیاه‌دانه بررسی‌شوند؛ همچنین پیشنهادمی‌شود که ترکیب‌های مؤثر سیاه‌دانه، جداسازی و تخلیص‌شوند و تأثیر این ترکیب‌ها به‌صورت جداگانه در مهار روند ایجاد سرطان کولون بررسی‌شود؛ بدین ترتیب با روشن‌ترشدن سازوکار دقیق آثار ضدسرطانی سیاه‌دانه، می‌توان در آینده از این ترکیب و ترکیب‌های گیاهی و طبیعی دیگر در پیشگیری و درمان سرطان استفاده‌کرد.

منابع

1. Mahdavinia M, Bishehsari F, Ansari R, Norouzbeigi N, Khaleghinejad A, Hormazdi M, et al. Family history of colorectal cancer in Iran. BMC Cancer 2005; (5):112-117.
2. Devita V, Hellman JS, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 6th ed. New York: Philadelphia; 1997.
3. Gottesman M, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP dependent transporters. Macmillan Magazines Ltd 2000; (2): 48-58
4. Smith G, Carey FA, Beattie J, Wilkie MJV, Lightfoot TJ, Coxhead J, et al. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53—alternative genetic pathways to colorectal cancer.PNAS 2002; (99): 9433–9438.
5. Swan DK, Ford B. Chemoprevention of cancer. Review of the literature. Oncology Nursing Forum 1997; (24): 719–727.
6. Padhye S, Banerjee S, Ahmad A, Mohammad R, Sarkar FH. From here to eternity-the secret of Pharaohs. Therapeutic potential of black cumin seeds and beyond. Cancer Therapy 2008; 6(b): 495.
7. Ali BH and G. Blunden. Pharmacological and Toxicological Propertie of Nigella sativa. Phytotherapy Research 2003; 17(299): 299-305.
8. Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. Toxicology 2000; 143(3): 219-26.
9. Ait Mbarek L, Ait Mouse H, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, et al. Anti-tumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2007; 40(6): 839-847.
10. Rooney S and MF Ryan. Effects of alphahederin and thymoquinone, constituents of Nigella sativa, on human cancer cell lines. Anticancer Research 2005; 25(3B): 2199-204.
11. Ait Mbarek L, Ait Mouse H, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, et al. Anti-tumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2007; 40(6): 839-847.
12. Tabasi N, Khajavi-Rad A, Mahmoudi M, Bahar-Ara J, Rastin M, Hosainpour-Mashhadi M,et al. The effects of Nigella sativa ethanolic extract on proliferation and apoptosis of renal cell carcinoma ACHN cell line. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 2010; 12(3): 839-847.
13. Wang R, Dashwood WM, Bailey GS, Williams DE, Dashwood RH. Tumors from rats given 1,2-dimethylhydrazine plus chlorophyllin or indole-3-carbinol contain transcriptional changes in beta-catenin that are independent of beta-catenin mutation status. Mutation Research 2006; 601(1-2): 8-11.
14. Seidensticker MJ, Behrens J. Biochemical interactions in the wnt pathway. Biochimica et Biophysica Acta 2000; 1495(2): 168-82.
15. Druckrey H. Production of colonic carcinomas by 1,2-dialkylhydrazines and azoxyalkanes. In: Burdette WJ, ed. Carcinoma of the colon and antecedent epithelium. Springfield, IL: Charles C. Thomas 1970; 267-279.
16. Manju V, Nalini N. Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. Clinica Chimica Acta 2005; (358): 60–67.
17. Wang J, Krill D, Torbenson M, Wang Q, Bisceglia M, Stoner J, et al. Expression of cadherins and catenins in paired tumor and non-neoplastic primary prostate cultures and corresponding prostatectomy specimens. Urological Research 2000; 28(5): 308-15.
18. Dadkhah A, Fatemi F, Malayeri M, Jahanbani A, Batebi F and Ghorbanpour Z. The chemopreventive effect of *Nigella Sativa* on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumor. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 2014; 48: 39-48.
19. Ait Mbarek1 L, Ait Mouse1 H, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, et all. Anti-tumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts, Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2007; (40): 839-847.
20. Carnesecchi S, Bras-Gonçalves R, Bradaia A, Zeisel M, Gossé F, Poupon MF, et al. Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. Cancer Letters 2004; 215(1): 53-59.
21. Paik SY, Koh KH, Beak SM, Paek SH, Kim JA. The essential oils from Zanthoxylum schinifolium pericarp induce apoptosis of HepG2 human hepatoma cells through increased production of reactive oxygen species. Biological and Pharmaceutical Bulletin 2005; 28(5): 802-807.

www.SID.ir

Archive of SID

22. Buke MD, Mayer RT. Ethoxyresorufin: direct flurometeric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methyl-cholanthrene. Drug Metabolism and Disposition 1974; (2): 583-588.
23. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein with bound and non-protein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. Analytical Biochemistry 1968; (25): 192–205.
24. Dadkhah A, Allameh A, Khalafi H and Ashrafihelan J. Inhibitory effects of dietary caraway essential oils on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis is mediated by liver xenobiotic metabolizing enzymes. Nutrition and Cancer 2011; 63(1): 46–54.
25. Ait Mbarek L, Ait Mouse H, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, et al. A nti-tumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts, Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2007; 40(6): 839-847.
26. Kamaleeswari M, Deeptha K, Sengottuvelan M, Nalini N.Effect of dietary caraway (Carum carvi L.) on aberrant crypt foci development, fecal steroids, and intestinal alkaline phosphatase activities in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. Toxicology and Applied Pharmacology 2006; 290-96.
27. Sengottuvelan M, Senthilkumar R, Nalini N. Modulatory influence of dietary resveratrol during different phases of 1,2-dimethylhydrazine induced mucosal lipid-peroxidation, antioxidant status and aberrant crypt foci development in rat colon carcinogenesis. Biochimica et Biophysica Acta 2006; (1760): 1175–1183.
28. Manju V, Nalini N. Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. Clinica Chimica Acta 2005; (358): 60–67.
29. Rijken PJ, Timmer WG, van de Kooij AJ, van Benschop IM, Wiseman SA, Meijers M, et al. Effect of vegetable and carotenoid consumption on aberrant crypt multiplicity, a surrogate end-point marker for colorectal cancer in azoxymethane-induced rats. Carcinogenesis 1999; 20(12): 2267-72.
30. Herzfeld A, Greengard O. The dedifferentiated pattern of enzymes in livers of tumor-bearing rats. Cancer Research 1972; 32(9): 1826-32.
31. Rijnkels JM, Alink GM. Effects of a vegetables-fruit mixture on liver and colonic 1,2-dimethylhydrazine-metabolizing enzyme activities in rats fed low- or high-fat diets. Cancer Letters 1998; 128(2): 171-175.
32. Crowell PL. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. Journal of Nutrition 1999; 129(3): 775–778.
33. Devasena T, Rajasekaranb KN, Menona VP. Bis-1,7-(2-Hydroxyphenyl)-Hepta-1,6-Diene-3,5-Dione (A Curcumin Analog) Ameliorates DMH-Induced Hepatic Oxidative Stress during Colon Carcinogenesis. Pharmacological Research 2002; 46(1).
34. Aranganathan S, Panneer Selvam J, Sangeetha N, Nalini N. Modulatory efficacy of hesperetin (citrus flavanone) on xenobiotic-metabolizing enzymes during 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. Chemico Biological Interactions 2009; (180): 254-261.
35. Huttunen KM, Mähönen N, Raunio H, Rautio J Cytochrome P450-activated prodrugs: targeted drug delivery. Current Medicinal Chemistry 2008; 15(23): 2346-65.
36. Colussi C, Fiumicino S, Giuliani A, Rosini S, Musiani P, Macrí C, Potten CS, Crescenzi M, Bignami M. 1,2-Dimethylhydrazine-induced colon carcinoma and lymphoma in msh2(-/-) mice. Journal of the National Cancer Institute 2001; 93(20): 1534-40.
37. Choudhary G, Hugh Hansen, Ph D. Human health perspective on environmental exposure to Hydrazines: a review. Chemosphere 1998; 37(5): 801-843.
38. Devasena T, Menon VP, Rajasekharan KN. Prevention of 1,2-dimethylhydrazine-induced circulatory oxidative stress by bis-1,7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dione during colon carcinogenesis. Pharmacological Reports 2006; 58(2): 229-35.
39. Fiala ES. Investigations into the metabolism and mode of action of the colon carcinogen 1,2-dimethylhydrazine and azoxymethane. Cancer 1977; (40): 2436–45.
40. Deeptha K, Kamaleeswari M, Sengottuvelan M, Nalini N. Dose dependent inhibitory effect of dietary caraway on 1,2-dimethylhydrazine induced colonic aberrant crypt foci and bacterial enzyme activity in rats. Investigation New Drugs 2006; (24): 479–488.

www.SID.ir