Original Article

Comparison of the apoptotic effects of TPSF small molecule and hydroalcoholic extract of *Ziziphus spina-christi* on cervical cancer cells

Hushmandi K[1], Hoveizi E[2,3*], Gooraninejad S[4], Tabandeh MR[3,5]

1- DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.
3- Stem Cells and Transgenic Technology Research Center (STTRC), Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.
4- Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.
5- Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.

Received: 2019/03/1 | Accepted: 2019/09/29

Abstract:

Background: Cervical cancer is the third most common cancer in the world. Considering the prevalence of cervical cancer in Iran and unsuccessful treatments, the apoptotic effects of TPSF small molecule investigated in comparison with the hydroelectric extract of *Ziziphus Spina-christi* leaves on the cervical cancer cell line (HeLa).
Materials and Methods: HeLa cells were cultured in a DMEM medium containing 10% FBS, and treated with different concentrations of TPSF and extract on days 1, 3 and 5. Apoptotic effects were investigated using MTT method, and the morphology of cells was studied by Giemsa staining using invert microscope.
Results: 2 μm concentration of TPSF was determined in 24 hours as IC_{50} for HeLa cells. The percentage of viability in cells treated with 0.5, 1, 2, 5, and 10 μM TPSF was 78, 63, 50, 42 and 37%. The concentration of 4 mM hydroalcoholic extract was determined as IC_{50} of HeLa cells in 24 hours. The percentage of viability in treated cells with 1, 2, 4, 6 and 8 mM from the extract of was 73, 61, 50, 41, and 37. The results showed a significant ($P \leq 0.05$) decrease compared with the control samples. Also, morphological results showed that the treated cells indicated notable changes such as the shrunk nucleus, damaged membrane, and wrinkled cytoplasm compared with the control sample.
Conclusion: The TPSF is significantly better than the extract of Ziziphus Spina-christi, it can be concluded that small molecules have the smallest amount of cytotoxic effect on HeLa cells and have a greater apoptotic effect.

Keywords: Cervical cancer, *Ziziphus Spina-christi* leave, TPSF, Small molecule

***Corresponding Author:**
Email: e.hoveizi@scu.ac.ir
Tel: 0098 613 333 1045
Fax: 0098 613 333 1045

Conflict of Interests: ***No***
Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2020; Vol. 24, No 1, Pages 21-30

Please cite this article as: Hushmandi K, Hoveizi E, Gooraninejad S, Tabandeh MR. Comparison of the apoptotic effects of TPSF small molecule and hydroalcoholic extract of *Ziziphus spina-christi* on cervical cancer cells. ***Feyz*** 2020; 24(1): 21-30.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

مقایسه اثرات آپوپتوزی ریزمولکول TPSF و عصاره هیدروالکلی برگ درخت کنار *Ziziphus spina-christi* بر سلول‌های سرطانی دهانه رحم

کیاوش هوشمندی[1]، الهام حویزی[2,3*]، سعد گورانی‌نژاد[4]، محمّدرضا تابنده[3,5]

خلاصه:

سابقه و هدف: سرطان دهانه رحم سومین سرطان رایج در جهان است. با توجه به شیوع سرطان رحم در ایـران و درمان‌های ناموفق، در این تحقیق اثرات آپوپتوزی ریزمولکول TPSF در مقایسه با عصاره هیدروالکلی برگ‌های درخت کنار بر رده سلولی HeLa بررسی شد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های HeLa در محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS کشت و با غلظت‌های مختلف TPSF و عصاره، تیمار و در روزهای ۱ و ۳ و ۵ بررسی شدند. اثرات آپوپتوزی به روش MTT و مورفولوژی سلول‌ها با رنگ‌آمیزی گیمسا و با استفاده از میکروسکوپ معکوس بررسی شد.

نتایج: غلظت ۲ میکرومولار از TPSF در مدت ۲۴ ساعت به‌عنوان IC_{50} تعیین شد. درصد زنده‌ماندن در سلول‌های تحت‌تیمار با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ درصد میکرومولار از TPSF به‌ترتیب، ۷۸، ۶۳، ۵۰، ۴۲ و ۳۷ درصد بود. همچنین غلظت ۴ میلی‌مولار از عصاره به‌عنوان IC_{50} تعیین شد. درصد زنده‌ماندن سلول‌های تحت‌تیمار با غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار از عصاره کنار به‌ترتیب ۷۳، ۶۱، ۵۰، ۴۱، ۳۷ درصد می‌باشد. نتایج به‌دست‌آمده نسبت به نمونه‌های کنترل به‌طور معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) کاهش نشان دادند. همچنین نتایج مورفولوژی نشان داد که سلول‌های تیمارشده نسبت به نمونه کنترل، تغییرات محسوسی از جمله هسته منقبض‌شده، غشای آسیب‌دیده و سیتوپلاسم چروکیده داشتند.

نتیجه‌گیری: TPSF نسبت به عصاره کنار به‌طور معنی‌داری بهتر عمل کرده است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ریزمولکول‌ها در کمترین مقدار، بیشترین اثر سمیت سلولی را بر رده سلول سرطانی HeLa داشته‌اند و اثر آپوپتوزی بیشتری اعمال کرده‌اند.

واژگان کلیدی: سرطان رحم، برگ درخت کنار، TPSF، ریزمولکول

دو ماه‌نامه علمی – پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹، صفحات ۳۰-۲۱

مقدمه

سرطان، از جمله بیماری‌های مزمن است که در هر فرد و با هر گروه سنی رخ می‌دهد. این بیماری، پیچیده است و چندین عامل در ایجاد آن دخیل هستند که با تقسیم غیرقابل‌کنترل سلول‌ها، فرار از آپوپتوز و متاستاز همراه است و غالباً به‌دلیل اختلالات ژنتیکی و محیطی به‌وجود می‌آید [۱].

۱. دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳. مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فناوری ترانسژنیک دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴. استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵. دانشیار، بخش بیوشیمی و بیولوژی مولکولی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* نشانی نویسنده مسؤول:

اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۰۶۱۳۳۳۳۱۰۴۵ دورنویس: ۰۶۱۳۳۳۳۱۰۴۵

پست الکترونیک: e.hoveizi@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۷/۷

آپوپتوز، یک فرآیند تنظیم‌شده مرگ‌سلولی است که باعث حذف آسیب‌ها یا سلول‌های ناخواسته بدون آسیب در ارگانیسم‌های چندسلولی به‌منظور کنترل رشد و ثابت نگاه‌داشتن شرایط محیط داخل بدن می‌شود و از طریق تغییرات ریخت‌شناسی از جمله چروک‌خوردگی سلولی، متراکم شدن کروماتین و تشکیل اجسام آپوپتوتیک مشخص می‌شود. به‌طور کلی داروهایی که در شیمی‌درمانی به کار می‌روند، منجر به القای آپوپتوز و مهار رشد می‌شوند [۲]. سرطان دهانه رحم سومین سرطان رایج و چهارمین عامل مرگ در اثر سرطان بین زنان در جهان به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه است. براساس گزارش‌های آماری در سال‌های اخیر، سالانه تقریباً ۹۴۷ مورد جدید سرطان دهانه رحم در ایران گزارش شده است. این سرطان، گونه‌ای از سرطان است که از گردن رحم آغاز می‌شود. در ۹۰ درصد موارد عامل این بیماری، عفونت بر اثر ویروس پاپیلوم انسانی HPV (Human Papillomavirus) می‌باشد. سیگار کشیدن، سیستم ایمنی ضعیف بدن و قرص ضدّ بارداری خوراکی از دیگر عوامل خطر این بیماری است [۳]. انواع مختلفی از سرطان دهانه رحم وجود دارد که حدود ۹۰ درصد از موارد شامل کارسینوم سلول سنگ‌فرشی، ۱۰ درصد آدنوکارسینوم و تعداد کمی شامل موارد دیگر می‌شود

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

[۴]. درمان سرطان دهانه رحم معمولاً مستلزم یک درمان کامل و ترکیبی می‌باشد که شامل درمان دارویی (شیمی‌درمانی، هورمون‌درمانی و درمان علامتی)، جراحی و رادیوتراپی برای کاهش مرگ‌ومیر و بهبود بیماری در خانم‌هاست [۵]. اگرچه ۷۰ درصد از سرطان‌های دهانه رحم وابسته به استروژن می‌باشند، هنوز اتیولوژی آن نامشخص می‌باشد و پیشگیری از آن امکان‌پذیر نشده است. بیان بیش از حدّ رسپتورهای استروژنی، یکی از عوامل مهمّ بروز این نوع سرطان می‌باشد [۷،۶]. بسیاری از اثرهای بیولوژیکی استروژن در سلول‌های اپیتلیال رحم و پستان به‌واسطه‌ی گیرنده‌ی استروژن (Estrogen receptor) (ER) صورت می‌پذیرد [۸]. استروژن یک فاکتور اساسی نه‌تنها در گسترش غده‌ی پستانی می‌باشد، بلکه در گسترش و پیشرفت سرطان رحم در مراحل اوّلیه و پیشرفته نیز نقش دارد [۱۰،۹]. علیرغم پیشرفت‌های به‌دست‌آمده در حیطه شیمی‌درمانی سرطان، هنوز داروی ضدّ سرطان با طیف گسترده و مؤثری که بتواند سلول‌های سرطانی را به‌طور اختصاصی هدف قرار دهد، وجود ندارد. بنابراین طراحی و کشف داروهای جدید ضدّ سرطان با کارایی بالا و اختصاصی‌بودن کافی الزامی است. امروزه ریزمولکول‌ها به‌طور مؤثری در درمان سرطان با اثرات جانبی اندک شناسایی شده‌اند. تقریباً تمامی داروهایی که در حال حاضر از آن‌ها در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود، «ریزمولکول» هستند. خصوصیات مهمّ ریزمولکول‌ها شامل تمایل زیاد برای اتصال به پلیمرهای زیستی، ایجاد تغییر در فعالیت پلیمرهای زیستی پس از اتصال به آن‌ها و قابلیت انتشار سریع از غشاهای زیستی به‌دلیل اندازه کوچک (اکثر ریزمولکول‌ها کوچک‌تر از ۸۰۰ دالتون می‌باشند)، می‌شود. هزینه پایین و ساده‌تر بودن تولید ریزمولکول‌ها در مقایسه با همتاهای پروتئینی آن‌ها، موجب شده است که علاوه‌بر ایفای نقش‌های مهم در درون سلول‌های زنده، از آن‌ها در دستکاری پروتئین‌ها (تغییر فعالیت آن‌ها، مهار یا فعال‌کردن آن‌ها) و درنتیجه مسیرهای پیام‌رسانی استفاده شود [۱۲،۱۱]. TPSF (8-[[4-(4—Fluorophenyl)-4-oxobutyl] thio]-1,3,6,9-tetrahydro-1,3-dimethyl-6-thioxo-2H-purin-2-one) یکی از این ریزمولکول‌ها می‌باشد که به‌عنوان یک ریزمولکول غیررقابتی با استروژن شناخته شده است. در مطالعه‌ی انجام‌گرفته بر TPSF نشان داده شد که TPSF باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی مقاوم به تاموکسیفن می‌شود و به‌عنوان یک فاکتور جدید درمانی با پتانسیل کلینیکی بالا معرفی شده است [۱۳]. Castero-Rivera و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که یکی از اثرات القایی توسط استروژن، افزایش مقادیر سیکلین D1 است که عاملی مؤثر در رشد سلول‌های سرطانی سینه، رحم و دیگر سرطان‌ها می‌باشد [۱۴]. همچنین گزارش شده که استروژن باعث القا و افزایش مقدار فاکتور کشنده‌ی توموری به نام فاکتور PI9 (Proteinase inhibitor 9) و در نهایت موجب رهایی سلول‌های سرطانی از آپوپتوز القاشده توسط سلول‌های ایمنی (لنفوسیت‌های T و سلول‌های کشنده‌ی طبیعی) می‌شود [۱۵]. سدر یا سدره با نام علمی *Ziziphus spina-Christi* از تیره عنابیان (Rhamnaceae) و درختی است که طولش به ۱۰ متر می‌رسد و در خوزستان با نام کنار و یا سدر شناخته می‌شود. سدر به‌صورت بوته‌های خاردار و درختان کوچک است که به‌طور گسترده در مناطق گرمسیر آسیا همانند ایران و عربستان رشد می‌کند. میوه این درخت خوراکی به رنگ قرمز یا زرد و شیرین است. دارای یک هسته سخت همانند هسته زیتون نیز می‌باشد. این میوه هم به‌دلیل خوشمزه بودن و هم به‌دلیل خاصیت دارویی استفاده می‌شود [۱۶]. عصاره این گیاه دارای انواع فلاونوئیدها از جمله کورستین، کامفرول و مشتقات فلورتین می‌باشد [۱۷]. مطالعات متعددی نشان‌دهنده دارابودن ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌ساکاریدی گیاه سدر می‌باشند و از آن با نام میوه زندگی یاد می‌کنند. ترکیبات فلاونوئیدی دارای اثر بهبودبخشی به سیستم عصبی مرکزی و دارای فعالیت ضدّ توموری می‌باشند و همچنین سبب تسکین درد و کاهش قندخون می‌شوند [۱۸-۱۶]. همچنین تحقیقات نشان داده‌اند که عصاره گیاهان خانواده عنابیان می‌تواند اثرات ضدّسرطانی در محیط کشت سلولی و نیز در بیماران مبتلا به سرطان داشته باشد، به‌طوری‌که عصاره این گیاهان می‌تواند سبب بهبود کیفیت زندگی در مبتلایان به سرطان شود [۱۹]. با توجه به شیوع سرطان رحم در ایران و به‌دلیل نقش مهمّ آپوپتوز در درمان موفقیت‌آمیز علیه سرطان‌ها، شناخت ترکیباتی که منجر به القای آپوپتوز شود، بسیار حائز اهمیت است. در این تحقیق، اثرات آپوپتوزی ریزمولکول TPSF در مقایسه با عصاره هیدروالکلی برگ‌های درخت کنار بر رده سلولی سرطان دهانه رحم HeLa مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ریزمولکول TPSF

در این مطالعه تجربی، غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میکرومولار از ریزمولکول TPSF از شرکت سیگما (SML0232-5MG sigma) تهیه و پس از فیلتر نمودن توسط فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

تهیه عصاره برگ‌های درخت کنار

در این آزمایش برگ‌های گیاه کنار از باغ‌های اطراف شهرستان دزفول در بهار ۱۳۹۷ جمع‌آوری شد و برای عصاره‌گیری، در ابتدا هویت گیاه توسط کارشناس مجرب تأیید گردید و برگ‌های درخت، جمع‌آوری و با آب مقطر به خوبی شستشو داده شدند. سپس در دمای اتاق، خشک و پس از آن با قیچی، خُرد و توسط هاون پودر شد. بعد ۵۰ گرم پودر آن در ۵۰۰ سی‌سی اتانول ۵۰ درصد حل گردید و به مدت ۳ شبانه‌روز روی استیرر قرار گرفت و سپس با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر و به وسیله روتاری خشک شد و پودر به‌دست‌آمده برای استفاده‌های بعدی در دمای یخچال نگهداری شد.

آماده‌سازی محلول عصاره برگ‌های درخت کنار

برای تیمار سلول‌ها و بررسی اثر عصاره بر آن‌ها، غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره برگ کنار تهیه گردید. به‌طوری‌که مقدار ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم از پودر خشک‌شده‌ی عصاره وزن شد و سپس هر کدام در زیر هود لامینار با ۱ سی‌سی محیط کشت DMEM حل و با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ سرسرنگی استریل و در دمای یخچال تا زمان استفاده نگهداری شد.

کشت و پاساژ سلولی

رده سلول‌های HeLa از مؤسسه پاستور تهران خریداری شد و در محیط کشت DMEM (Gibco, USA) حاوی (Gibco, USA) ۱۰ درصد FBS کشت گردید و در انکوباتور (شرکت سینا، ایران) با ۵ درصد CO_2، ۹۵ درصد رطوبت و دمای ۳۷ °C نگهداری شد. زمانی که تراکم سلول‌ها در فلاسک به ۸۰ درصد رسید، پاساژ سلولی صورت پذیرفت و سلول‌ها با تعداد تقریبی 1×10^4 در پلیت ۹۶ چاهکی حاوی محیط کشت ذکر شده، کشت داده شدند. ۲۴ ساعت بعد، سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت از ریزمولکول و عصاره تیمار گردید و در زمان‌های ۱، ۳ و ۵ روز بقای سلول‌ها ارزیابی شد.

ارزیابی بقای سلولی

با استفاده از آزمون MTT 3-(4, 5 Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltertrazolium Bromide) بقای سلول‌ها ارزیابی شد. سلول‌های سرطانی تعداد حدود 1×10^4 cells/cm^2 در هر چاهک از پلیت ۹۶ چاهکی حاوی محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم کشت شدند. ۲۴ ساعت بعد، سلول‌ها با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میکرومولار از ریزمولکول TPSF و غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۸ میلی‌مولار عصاره سدر به‌مدت ۱، ۳ و ۵ روز و هر کدام حداقل با چهار تکرار تیمار شدند. برای هر سلول یک گروه کنترل هم در نظر گرفته شد که تیمار نشدند. سپس آزمون MTT به‌صورت زیر انجام شد. به این شکل که در زمان‌های موردنظر، محیط کشت از چاهک‌های حاوی سلول خارج و به هر خانه حدود ۱۰۰ µl محیط تازه حاوی ۱۰ µl محلول MTT (با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد. سلول‌ها به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ °C انکوبه شدند و سپس محلول MTT خارج و به هر چاهک ۱۰۰ µl DMSO (Merck, USA, 100%) اضافه شد و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Biotek، آلمان) اندازه‌گیری شد.

بررسی مورفولوژیکی

برای بررسی و مقایسه مورفولوژیکی سلول‌ها، در هر کدام از دو نوع تیمار، از گروه کنترل (تیمارنشده) و گروه‌های تیمارشده با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میکرومولار از TPSF و غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ از عصاره سدر پس از ۱ و ۳ و ۵ روز با دوربین دیجیتال متصل به میکروسکوپ اینورت با عدسی شیئی ۲۰ عکس گرفته شد و تصاویر میکروسکوپی برای هر سلول در گروه‌های کنترل و تیمار بررسی و مقایسه شدند.

نحوه آماده‌سازی رنگ گیمسا

رنگ گیمسا با غلظت ۴ درصد تهیه و بعد از مدت زمان ۱۰ دقیقه با کاغذ صافی واتمن فیلتر گردید و از متانول به‌عنوان فیکس‌کننده رنگ‌آمیزی استفاده شد. نحوه انجام رنگ‌آمیزی به این صورت بود که متانول به‌مدت ۵ دقیقه بر روی سلول‌ها قرار گرفت و سپس فیکس‌کننده خارج شد و میزان ۱۰۰ µl رنگ به‌مدت ۲۰ دقیقه جایگزین فیکس‌کننده گردید و سپس با PBS شستشو داده شد. بعد از خشک شدن، مورفولوژی سلول‌ها توسط میکروسکوپ اینورت بررسی گردید.

بررسی تغییرات سلول‌های تیمارشده و کنترل با رنگ‌آمیزی گیمسا

به‌منظور ارزیابی تغییرات هسته سلول‌های رده HeLa، این سلول‌ها در محیط کشت حاوی غلظت ۲ میکرومولار از ریزمولکول TPSF به‌مدت ۴۸ ساعت کشت شدند. سپس محیط‌رویی سلول‌ها خارج گردید. سلول‌ها با PBS شسته و با متانول تثبیت شدند. سپس با رنگ گیمسا (Giemsa) رنگ‌آمیزی شدند و مورفولوژی سلولی زیر میکروسکوپ اینورت بررسی گردید.

بررسی آماری

داده‌های حاصل از آزمون MTT، با کمک نسخه ۱۸ نرم‌افزار SPSS (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) و آزمون آماری ANOVA یک‌طرفه و تست T تجزیه‌وتحلیل شدند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

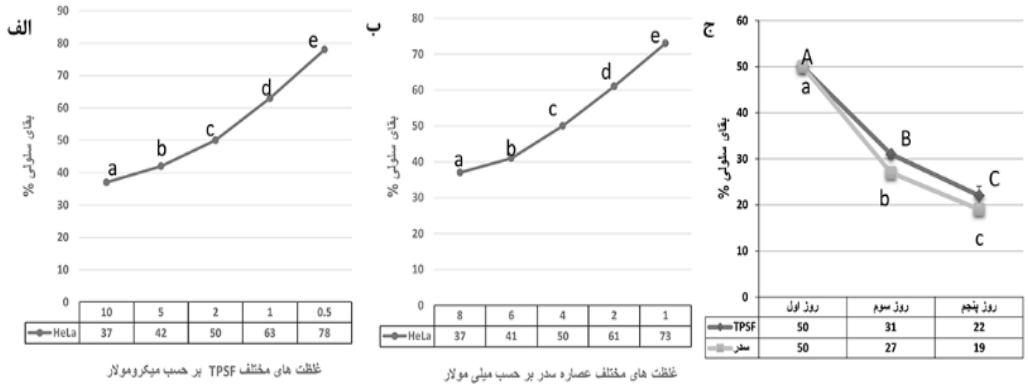
نمودارهای لازم با کمک نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) رسم و تفاوت‌ها در سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

ارزیابی بقای سلولی در سلول‌های تیمارشده با TPSF و عصاره برگ‌های سدر

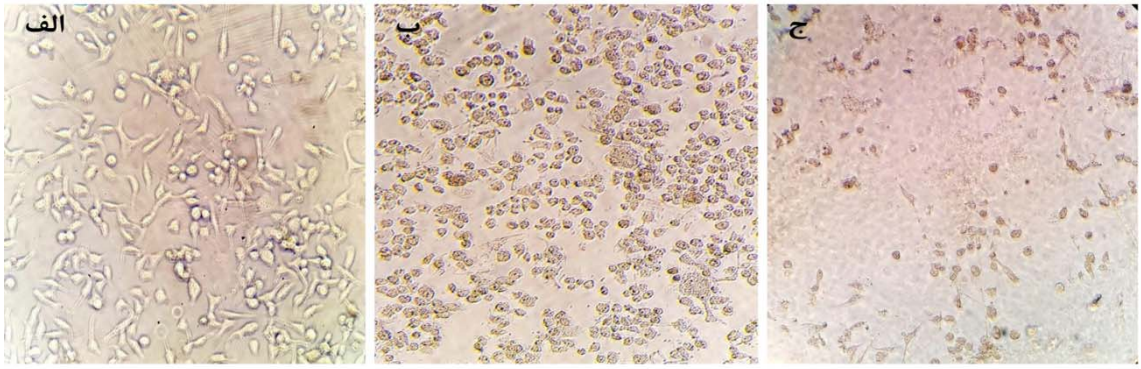
با استفاده از روش MTT غلظت ۲ میکرومولار از TPSF در مدت ۲۴ ساعت به‌عنوان IC_{50} سلول‌های سرطانی HeLa تعیین شد. درصد زنده‌مانی سلول‌ها بر اساس تست MTT در سلول‌های تحت‌تیمار با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میکرومولار از TPSF به‌ترتیب، ۷۸، ۶۳، ۵۰، ۴۲ و ۳۷ درصد بود که در شکل شماره ۱ آمده است. حداکثر سمیت سلولی (کاهش بقای سلولی) در غلظت ۱۰ میکرومولار از TPSF دیده شد. همچنین کمترین میزان سمیت سلولی در غلظت ۰/۵ میکرومولار دیده شد ($P<۰/۰۵$) (شکل۱-الف).

بر اساس نتایج MTT غلظت ۴ میلی‌مولار از عصاره هیدروالکی برگ‌های سدر در مدت ۲۴ ساعت به‌عنوان IC_{50} سلول‌های HeLa تعیین شد. درصد زنده‌ماندن سلول‌ها بر اساس تست MTT در سلول‌های تحت‌تیمار با غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار از عصاره سدر به‌ترتیب ۷۳، ۶۱، ۵۰، ۴۱، ۳۷ می‌باشد. حداکثر سمیت سلولی و حداقل سمیت سلولی برای عصاره سدر به‌ترتیب ۸ و ۱ میلی‌مولار دیده شد. (شکل۱-ب) ($P<۰/۰۵$). مقایسه میزان سمیت سلولی عصاره هیدروالکلی برگ‌های سدر و ریزمولکول TPSF و درصد زنده‌مانی سلول‌های رده HeLa بر اساس نتایج تست MTT در روزهای ۱، ۳، ۵ در شکل ۱-ج نشان داده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود میزان سمیت سلولی ریزمولکول TPSF نسبت به عصاره سدر به‌صورت معنی‌داری بیشتر بوده است و همچنین اختلاف معنی‌داری میان درصد بقای سلول‌های سرطانی تیمارشده با TPSF و سلول‌های تیمارشده با عصاره سدر در روز سوم و پنجم دیده می‌شود ($P<۰/۰۵$).



شکل شماره ۱- بررسی میانگین درصد بقای سلول‌های سرطانی HeLa تیمارشده با استفاده از روش MTT الف- درصد میانگین بقای سلول‌های سرطانی Hela در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میکرومولار TPSF یک روز بعد از تیمار، همان‌گونه که مشاهده می‌شود زنده‌مانی سلول‌ها با افزایش غلظت کاهش یافته است. ب - درصد میانگین بقای سلول‌های سرطانی Hela در غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۸ میلی‌مولار عصاره برگ‌های سدر یک روز بعد از تیمار، در این‌جا نیز زنده‌مانی سلول‌ها وابسته به غلظت می‌باشد. ج- مقایسه میزان سمیت سلولی عصاره سدر با غلظت IC_{50} (۴ میلی‌مولار) و TPSF در غلظت‌های IC_{50} (۲ میکرومولار) با استفاده از روش MTT در روزهای ۱، ۳ و ۵ و همان‌گونه که مشاهده می‌شود، زنده‌مانی سلول‌ها وابسته به زمان می‌باشد. همچنین هر آزمایش سه بار تکرار شده است. در این نمودارها حروف نامشابه نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح $P<۰/۰۵$ می‌باشد.

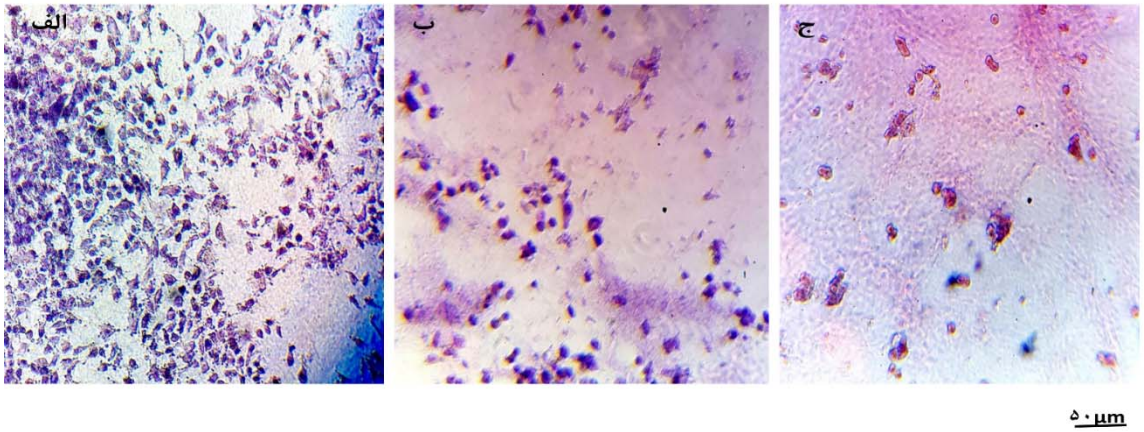
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]



شکل شماره ۲- بررسی مورفولوژی سلول‌های HeLa در نمونه‌های کنترل و تیمارشده با غلظت IC_{50} عصاره سدر و TPSF با استفاده از میکروسکوپ اینورت با بزرگ‌نمایی ۲۰+ : الف- گروه کنترل که مورفولوژی طبیعی سلول‌های HeLa به‌صورت چندوجهی مشاهده می‌شود. ب- گروه تحت‌تیمار با عصاره سدر در غلظت ۴ میلی‌مولار که ویژگی‌های سلول‌های آپوپتوزیافته مشهود است. ج- گروه تحت‌تیمار با ریزمولکول TPSF در غلظت ۲ میکرومولار با ظاهر سلول‌های آپوپتوتیک

نتایج مورفولوژی سلول‌ها

مشاهدات با میکروسکوپ اینورت و رنگ‌آمیزی گیمسا برای بررسی بیشتر مورفولوژی سلول‌های سالم و آپوپتوزیافته انجام شد. در این رنگ‌آمیزی، سلول‌های ارغوانی‌رنگ دیده می‌شوند و تغییرات آپوپتوزی به‌صورت واضح‌تر و دقیق‌تر قابل بررسی می‌باشد. نتایج مورفولوژی با استفاده از میکروسکوپ اینورت معمولی نشان می‌دهد که سلول‌های رده HeLa تیمارشده با عصاره سدر و همچنین TPSF نسبت به نمونه کنترل، تغییرات مورفولوژی محسوسی داشتند. شکل سلول‌ها تحت اثر عصاره و ریزمولکول تفاوت‌های بارز و وابسته به دوز با یکدیگر نشان دادند. از جمله تغییرات عمده این بود که هسته سلول‌ها منقبض شد و غشای آن‌ها آسیب دید و سلول‌ها، چروکیده و کوچک شد؛ درحالی‌که سلول‌های سالم با غشای دست‌نخورده و به رنگ ارغوانی مشاهده می‌شدند. مشاهدات مورفولوژی ما هم‌سو با نتایج MTT بود؛ به‌طوری‌که سلول‌های آپوپتوزیافته در گروه تیمارشده با ریزمولکول TPSF نسبت به عصاره سدر بیشتر بود (شکل شماره ۲ و ۳).



شکل شماره ۳- بررسی مورفولوژی سلول‌های HeLa در نمونه‌های کنترل و تیمارشده با غلظت IC_{50} عصاره سدر و TPSF رنگ‌آمیزی‌شده با رنگ گیمسا با میکروسکوپ اینورت با بزرگ‌نمایی ۲۰+: الف- نمونه کنترل ب- رنگ‌آمیزی گیمسا در گروه تحت‌تیمار با عصاره سدر در غلظت ۴ میلی‌مولار ج- رنگ‌آمیزی گیمسا در گروه‌های تحت‌تیمار با ریزمولکول TPSF با میکروسکوپ اینورت در غلظت ۲ میکرومولار. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، تغییرات مورفولوژی در گروه‌های تیمار به‌ویژه تحت‌تیمار با TPSF نسبت به نمونه کنترل محسوس می‌باشد که شامل هسته سلولی منقبض‌شده، غشای سلولی آسیب‌دیده و سلول‌های چروکیده و کوچک می‌باشد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

بحث

یکی از عمده‌ترین علل مرگ‌ومیر انسان در سراسر جهان، بیماری سرطان می‌باشد. سرطان دهانه رحم، سومین سرطان رایج و چهارمین عامل مرگ در اثر سرطان بین زنان در جهان است که بیش از ۸۰ درصد موارد مرگ در اثر این سرطان در کشورهای در حال توسعه رخ می‌دهد [۴]. علیرغم پیشرفت‌های حاصله در حیطه شیمی‌درمانی سرطان، هنوز داروی ضدّ سرطان با طیف گسترده و مؤثری که بتواند سلول‌های سرطانی را به‌طور اختصاصی هدف قرار دهد، وجود ندارد. بنابراین طراحی و کشف داروهای جدید ضدّ سرطان با کارایی بالا و اختصاصیت کافی الزامی است. یکی از فرآیندهای مهمّی که امروزه توجه محققان سرطان را به خود معطوف کرده است، آپوپتوز می‌باشد [۲۱،۲۰]. با ورود ریزمولکول‌ها به حوزه تحقیقات سلول‌های بنیادی از سال ۲۰۰۴، می‌توان آن‌ها را با رویکردهای ویژه در تحقیقات مورد استفاده قرار داد. به‌عنوان مثال می‌توان از ریزمولکول‌هایی که عملکرد بیولوژیک آن‌ها شناخته شده است، برای دستکاری مسیرهای پیام‌رسانی مهم در طی تکوین و یا تمایز سلول‌های بنیادی استفاده نمود [۱۲]. TPSF یکی از این ریزمولکول‌ها است که به‌عنوان دارویی در درمان سرطان پستان و رحم مورد بررسی قرار گرفته است [۱۵]. گیاه سدر، عضوی از خانواده عنابیان می‌باشد که با نام کنار و یا سدر شناخته می‌شود. مطالعات متعددی نشان‌دهنده اثرات ضدّ سرطانی گیاهان خانواده عنابیان است. تحقیقات نشان می‌دهد که عصاره گیاهان این خانواده دارای اثرات آپوپتوزی بر سلول‌های سرطانی سیستم تولیدمثلی است [۲۲]. با توجه به شیوع سرطان رحم در ایـران و درمان‌های ناموفق، در این تحقیق اثرات آپوپتوزی کوچ ریزمولکول TPSF در مقایسه با عصاره هیدروالکلی برگ‌های درخت کنار بر رده سلولی سرطان دهانه رحم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که ریزمولکول TPSF به‌صورت وابسته به دوز و زمان، میزان بقا و تکثیر سلول‌های سرطانی دهانه رحم HeLa انسان را کاهش می‌دهد؛ به عبارت دیگر تیمار سلول‌های سرطانی Hela با دوزهای مختلف ریزمولکول TPSF، نسبت به عصاره سدر، مرگ سلولی را متناسب با دوز دارو و زمان تیمار افزایش داد. TPSF باعث تغییرات مورفولوژی بیشتری گردید؛ از جمله این‌که هسته سلول‌ها منقبض و نیز موجب آسیب‌دیدن غشا نسبت به عصاره سدر شد. نتایج بررسی مورفولوژی، هم‌سو با نتایج MTT بود؛ به‌طوری‌که میزان سلول‌های آپوپتوزیافته در گروه تیمارشده با ریزمولکول TPSF نسبت به عصاره سدر بیشتر بود. TPSF نیز به‌عنوان یک ریزمولکول غیررقابتی با استروژن شناخته شده است که مطالعات، اثر مهاری این فاکتور را در رشد سلول‌های سرطانی سینه (MCF-7)، کاهش مقادیر PI9، کاهش معنی‌دار سیکلین D1 و کاهش سطح رسپتور استروژن از طریق تجزیه توسط پروتئازوم نشان داده است [۲۴-۲۲]. TPSF باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی مقاوم به تاموکسیفن شده است که آن را به‌عنوان یک فاکتور جدید درمانی با پتانسیل کلینیکی بالا معرفی کرده است. به‌علاوه امروزه کشت آزمایشگاهی شرایط مناسبی را برای آزمایش دارو و ترکیبات ضدّسرطانی جدید فراهم آورده است. هدف کشت آزمایشگاهی فراهم‌آوردن شرایطی مشابه با شرایط درون‌تنی می‌باشد [۲۶،۲۵،۱۳]. در یک پژوهش در ارتباط با مهار غیررقابتی ریزمولکول TPSF بر روی ژن تنظیم‌کننده بیان استروژن و رشد سلول‌های سرطان سینه بیان می‌شود که اثر سمیت این ریزمولکول به‌طور اختصاصی و مؤثری باعث مهار فعالیت رسپتور استروژنی و مهار رشد سلول‌های سرطانی سینه می‌شود [۲۷]. اگرچه ما در مطالعه خود بررسی‌های مولکولی انجام ندادیم، اما به‌طورکلی بررسی‌های سایتوتوکسیک ما نیز تأیید کرد که ریزمولکول TPSF قویاً سبب مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. در مطالعه‌ی Nicole و همکاران (۲۰۱۰) روی اثر TPSF بر سلول‌های سرطانی سینه نشان داده شد که TPSF به‌عنوان یک ریزمولکول غیررقابتی با استروژن، مهارکننده قوی و اختصاصی رسپتور استروژن (ER) می‌باشد که بیان ژن میانجی‌گر ER را متوقف می‌کند. نقش مهارکنندگی ریزمولکول TPSF به‌واسطه‌ی کاهش مقادیر سیکلین D1 و کاهش مقادیر PI9 و مهار رشد سلول‌های سرطانی سینه می‌باشد که هم‌سو با نتایج این مطالعه است. درنهایت این پژوهش، توانایی این ریزمولکول را در درمان سرطان سینه و همچنین جستجوی دیگر مکانیسم‌های عمل ER نشان داد. در ضمن نتایج این مطالعه نشان داد که TPSF باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی مقاوم به تاموکسیفن شده است که آن را به‌عنوان فاکتور جدید درمانی با پتانسیل کلینیکی بالا معرفی کرده است [۱۵]. همان‌طور که در مطالعه حاضر دیده شد، TPSF توانست به‌صورت وابسته به دوز و زمان، میزان بقا و تکثیر سلول-های سرطانی دهانه رحم انسان را کاهش دهد که این اثر نسبت به عصاره هیدروالکلی برگ‌های سدر بهتر بوده است. در مطالعه انجام‌شده از همین نویسندگان (۲۰۱۹) در ارتباط با اثر ریزمولکول‌ها بر سرطان دهانه رحم نشان داده شد که ریزمولکول S14161 به‌صورت معناداری، میزان بقا و تکثیر سلول‌های سرطانی HeLa انسان را کاهش می‌دهد. به عبارت دیگر این ریزمولکول، اثرات سیتوتوکسیک یا کشندگی بر سلول‌های سرطانی داشته است [۲۸]. در پژوهش حاضر، گیاه سدر نیز اثرات سمیت

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

سلولی خوبی داشته است که این یافته، توسط یافته‌های دیگر پژوهش‌ها نیز تأیید می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که عصاره گیاهان خانواده عنابیان، دارای اثرات سلولی سمیت بر سلول‌های سرطان گردن رحم است و این امر از طریق تغییر در بیان ژن‌های تنظیم‌کننده چرخه سلولی رخ می‌دهد [۲۹،۱۹]. همچنین گزارش شده است که عصاره سدر می‌تواند در پیشگیری از سرطان کولون نیز ایفای نقش نماید و در این راستا، عصاره سدر با اثر بر ژن‌های آپوپتوزی و مهار ژن‌های ضدّ آپوپتوزی، سبب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شود [۳۰] و این امر منطبق بر یافته‌های این پژوهش نیز می‌باشد. همچنین بیان شده است که گیاه سدر می‌تواند از تکثیر سلول‌های سرطانی رحم و پستان جلوگیری نماید [۳۱]. عقیده بر این است که اثرات ضدّسرطانی گیاهان از طریق مهار آنزیم‌های محرک سرطان و تحریک تولید آنزیم‌های ضدّتوموری در سلول باعث افزایش ایمنی بدن و القای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۳۲]. هم‌سو با نتایج این مطالعه، احمدی و همکاران نیز (۱۳۹۶) نشان داده‌اند که عصاره گیاه سدر، دارای اثرات سلولی سمیت سلول بر MCF-7 های سرطانی در محیط کشت سلولی است. در این راستا، یافته‌های این پژوهش بیان کرد که عصاره هیدروالکلی برگ گیاه سدر از طریق افزایش بیان ژن Bax، ژن آپوپتوزی Bcl2 و کاهش بیان ضدآپوپتوزی، سبب القای آپوپتوز می‌شود [۳۳]. همچنین Soliman و همکاران در سال ۲۰۱۸ به بررسی خواص فیتوشیمیایی عصاره برگ‌های درخت کنار رویش‌یافته در ایالات متحده عربی پرداختند و موفق شدند ترکیبی به نام betulin را از این درخت استخراج کنند. آن‌ها گزارش دادند که این ترکیب اثرات قابل‌توجهی در مهار رشد سلول‌های سرطانی به‌ویژه مهار سرطان‌های کبدی داشته است [۳۴]. در این مطالعه سعی شد اثرات سمیت ریزمولکول TPSF و عصاره برگ‌های کنار بر سلول‌های سرطانی HeLa بررسی و مقایسه شود؛ اما به‌دلیل محدودیت‌های موجود، مطالعات مولکولی انجام نشد. بنابراین بررسی مسیرهای سیگنالینگ درگیر و بیان ژن‌های آپوپتوزی در ارتباط با این مطالعه پیشنهاد می‌شود. همچنین جداسازی ترکیبات مؤثر عصاره برگ‌های کنار و بررسی تأثیرات آن‌ها و همچنین آزمایش بر سایر رده‌های سلول‌های سرطانی و غیرسرطانی و مقایسه بین آن‌ها توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، در بررسی مقایسه اثر این دو ترکیب دیده شد که ریزمولکول TPSF نسبت به عصاره برگ‌های سدر بهتر عمل کرده است. از آن‌جایی که میزان عصاره سدر (میلی‌مولار) نسبت به کوچک‌مولکول (میکرومولار) در این بررسی بیشتر بوده است، می‌توان نتیجه گرفت که ریزمولکول‌ها در کمترین مقدار، بیشترین اثر سمیت سلولی را بر رده سلول سرطانی HeLa و نیز اثر آپوپتوزی بیشتری داشته‌اند. همچنین تغییرات مورفولوژیکی در شکل سلول‌ها تحت اثر عصاره و ریزمولکول، تفاوت‌های بارز و وابسته به دوز با یکدیگر نشان دادند. در پایان نویسندگان این مقاله، انجام بررسی‌های مولکولی و همچنین کار روی سایر رده‌های سلولی را پیشنهاد می‌کنند.

تشکر و قدردانی

هزینه این پایان‌نامه از گرنت سال ۱۳۹۷ تأمین شده است. نویسندگان این مقاله کمال تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه شهید چمران اهواز اعلام می‌دارند.

References:

[1] Scott SB, Mogle JA, Sliwinski MJ, Jim HSL, Small BJ. Memory Lapses in Daily Life among Breast Cancer Survivors and Women without Cancer History. ***Psychooncology*** 2020.

[2] Kemnitzer W, Drewe J, Jiang S, Zhang H, Zhao J, Crogan-Grundy C, et al. Discovery of 4-Aryl-4 H-chromenes as a New Series of Apoptosis Inducers Using a Cell-and CaspaseBased High-Throughput Screening Assay 3. Structure-Activity Relationships of Fused Rings at the 7, 8-Positions. ***J Med Chem*** 2007; 50(12): 2858-64.

[3] Frelay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN2012. ***Int J Cancer*** 2015; 136(5): E359- 86.

[4] Moding EJ, Michael BK, Kirsch DG, Strategies for optimizing the Response of Cancer and Normal Tissues to Radiation. ***Nat Rev Drug Discov*** 2013; 12(7): 526-42.

[5] Brugnoli F, Grassilli S, Benedusi M, Capitani S, Bertagnolo V. RNA interference in the study of molecular mechanisms activated during agonist induced differentiation of acute promyelocytic leukemia derived promyelocytes. ***Minerva Biotecnol*** 2008; 20: 39-49.

[6] Fossum TW, Hedlund CS, Hulse DA, Johnson AL, Schulz KS, Seim HB, et al. Surgery of the female reproductive tract. In: Fossum TW, Hedlund CS, ditors. Small animal surgery. Mosby, St. Louis, USA 2007; p. 729-35.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

[7] Harvey HJ. Mammary glands. In: Bojrab MJ and Ellison GW, ditors. Current techniques in small animal surgery. USA 1998; p. 579-84.
[8] Zierau O, Helle J, Schadyew S, Morgenroth Y, Bentler M, Hennig A. Role of miR-203 in estrogen receptor-mediated signaling in the rat uterus and endometrial carcinoma. ***J Cell Biochem*** 2018; 119: 5359-72.
[9] Loi S, Haibe-Kains B, Desmedt C, Lallemand F, Tutt AM, Gillet C, et al. Definition of clinically distinct molecular subtype in estrogen receptor-positive breast carcinomas through genomic grade. ***J Clin Oncol*** 2007; 25: 1239-46.
[10] Yanuo M, Keiko M, Masaru S, Michiko I, Koushi O. Mechanisms of estrogen receptor-α up-regulation in breast cancers. ***Med Mol Morphol*** 2010; 43: 193-6.
[11] Lyssiotis CA, Lairson LL, Boitano AE, Wurdak H, Zhu S, Schultz PG. Chemical control of stem cell fate and developmental potential. ***Angew Chem Int Ed Engl*** 2011; 50(1): 200-42.
[12] Muñoz-Galván S, Felipe-Abrio B, García-Carrasco M, Domínguez-Piñol J, Suarez-Martinez E, Verdugo-Sivianes EM, et al. New markers for human ovarian cancer that link platinum resistance to the cancer stem cell phenotype and define new therapeutic combinations and diagnostic tools. ***J Exp Clin Cancer Res*** 2019; 38(1): 234.
[13] Bayat N, Ebrahimi-Barough S, Norouzi-Javidan A, Saberi H, Tajerian R, Ardakan MM, et al. Apoptotic effect of atorvastatin in glioblastoma spheroids tumor cultured in fibrin gel. ***Biomed Pharmacother*** 2016; 84: 1959-66.
[14] Castero-Rivera E, Samudio I, Safe SJ. Estrogen regulation of cyclin D1 gene expression in ZR-75 breast cancer cells involves multiple enhancer element. ***Biol Chem*** 2001; 276: 30853-61.
[15] Nicole MK, Milu CH, Chengjian M, Irene OA, Philip DR, Rachel S, et al. A noncompetitive small Molecule inhibitor of Esterogen-regulated Gen expression and Breast cancer cell Growth that Enhances proteosom-dependent Degradation of Estrogen Receptor. ***J Biol Chem*** 2017; 285(53): 41863-73.
[16] Xu HY, Zhang YQ, Liu ZM, Chen T, Lv CY, Tang SH, et al. ETCM: an encyclopaedia of traditional Chinese medicine. ***Nucleic Acids Res*** 2019; 47(D1): D976-82.
[17] Nesseem DI, Michel CG, Sleem AA, El-Alfy TS. Formulation and evaluation of antihyperglycemic leaf extracts of Zizyphus spinachristi (L.) Wild. ***Pharmazie*** 2009; 64(2): 104-9.
[18] Peluso I, Miglio C, Morabito G, Ioannone F, Serafini M. Flavonoids and immune function in human: a systematic review. ***Crit Rev Food Sci Nutr*** 2015; 55(3): 383-95.
[19] Tahergorabi Z, Abedini MR, Mitra M, Fard MH, Beydokhti H. *Ziziphus jujuba*: A red fruit with promising anticancer activities. ***Pharmacogn Rev*** 2015; 9(18): 99-106.
[20] Ghobrial I.M, Witzig T.E, and Adjei A.A. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA:* ***Cancer J Clin*** 2005; 55(3): 178-94.
[21] Fesik SW. Promoting apoptosis as a strategy for cancer drug discovery. ***Nat Rev Cancer*** 2005; 5(11): 876.
[22] Plastina P, Bonofiglio D, Vizza D, Fazio A, Rovito D, Giordano C, et al. Identification of bioactive constituents of *Ziziphus jujube* fruit extracts exerting antiproliferative and apoptotic effects in human breast cancer cells. ***J Ethnopharmacol*** 2012; 140(2): 325-32.
[23] Frank TF. PI3K/AKT: navigation downstream. ***Cell*** 2008; 129(7): 1261-74.
[24] Davvid AF, Honyin CH, Benjamin DH, Shubha B, Lewis CC, Robert TA. The PI3K pathway in human Disease. ***Cell*** 2017; 170(4): 605-35.
[25] Santhi DK, Rajesh M, Wensheng L, Benny AK, Pratima S, Hiltrud B, et al. Mechanism of strogen receptor antagonism toward P53 and its implication in breast cancer therapeutic response and stem cell regulation. ***Pans*** 2010; 107(34): 15081-6.
[26] Castero-Rivera E, Samudio I, Safe S. Estrogen regulation of cyclin D1gen expression in ZR-75 breast cancer cells involves multiple enhancer element. ***J Biol Chem*** 2001; 276: 30853-61.
[27] Kretzer NM, Cherian MT, Mao C, Aninye IO, Reynolds PD, Schiff R, et al. A noncompetitive small molecule inhibitor of estrogen-regulated gene expression and breast cancer cell growth that enhances proteasome-dependent degradation of estrogen receptor α. ***J Biol Chem*** 2016; 285(53): 41863-73.
[28] Hushmandi K, Gooraninejad S , Hoveizi E, Tabandeh MR. Growth Inhibitory and Anti-Proliferative Effects of S14161 Small Molecule on Hela Cervical Cancer Cell in Hydrogel Scaffold 2019: 132.
Available at: www.Personalized Medicine Journal.com
[29] Hoshyar R, Jamali S, Fereidouni M, Abedini MR. The cytotoxic activity of *Ziziphus Jujube* on cervical cancer cells: In Vitro study. ***Cell Mol Biol*** 2015; 30: 61(8): 128-30.
[30] Guizani N, Waly MI, Singh V, Rahman MS. Nabag (Zizyphus spina-christi) extract prevents aberrant crypt foci development in colons of azoxymethane-treated rats by abrogating oxidative stress and inducing apoptosis. ***Asian Pac J Cancer Prev*** 2013; 14(9): 5031-5.
[31] Jafarian A, Zolfaghari B, Shirani K. Cytotoxicity of different extracts of aerial parts of *Ziziphus spina-christi* on Hela and MDA-MB468 tumor cells. ***Adv Biomed Res*** 2014; 3: 38.
[32] Xu MY, Lee SY, Kang SS, Kim YS. Antitumor activity of jujuboside B and the

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]

underlying mechanism via induction of apoptosis and autophagy. ***J Nat Prod*** 2014; 77(2): 370-6.
[33] Ahmadi R, Rahimi S, Ehteshamzad N. The effect of hydroalcoholic *Ziziphus spina-christi* leaf extract on viability of breast cancer cell line (MCF7) and evaluation of Bax and Bcl2 genes expression level. ***Feyz*** 2017; 21(5): 406-12. [in Persian]
[34] Soliman S, Hamoda AM, El-Shorbagi AA, El-Keblawy AA. Novel betulin derivative is responsible for the anticancer folk use of *Ziziphus spina-christi* from the hot environmental habitat of UAE. ***J Ethnopharmacol*** 2108; 1(231): 403-8.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-02]