مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره شانزدهم، شماره ۱۲، آذر ۱۳۹۳، صفحه ۳۸-۳۲

تأثیر تروستیلبن بر مهار تکثیر سلولی و القاء آپوپتوز در رده سلولی لوسمی لنفوبلاستیک

طاهره رحیم نژاد (MSc)[۱]، پژمان بشکار (MSc)[۲]، هدایت اله شیرزاد (PhD)[۳]، محمود رفیعیان کوپایی (PhD)[۴]، وحید صفدری (BSc)[۵]، نرگس عسگریان دهکردی (BSc)[۱]، بتول پورقیصری (PhD)[۴*]

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲- مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۳- مرکز تحقیقات سلولی-مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۴- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۵- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دریافت:۹۳/۱/۲۲، اصلاح:۹۳/۲/۲۴، پذیرش:۹۳/۵/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL=Acule lymphoblastic leukemia) شایع‌ترین نوع بدخیمی خونی در کودکان ایرانی می باشد. تروستیلبن (PT=Pterostilbene) یک Stilbenoid طبیعی می‌باشد که در ذغال‌اخته یافت می‌شود. از آن جایی که تأثیر PT روی سلول‌های لنفوبلاستی لوسمیک بررسی نشده‌است این مطالعه به منظور بررسی اثرات مهار تکثیر سلولی و القاء آپوپتوز PT روی این رده سلولی انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی رده سلولی جورکت (Jurkat) در شرایط استاندارد کشت داده شد و با غلظت‌های مختلف PT (۱۰۰،۸۰،۶۰،۵۰،۴۰،۳۰،۰ میکرومولار) به مدت ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت مجاور و با سلول‌های کنترل (بدون دارو) مقایسه گردید. سپس میزان تأثیر دارو بر زیست پذیری سلول‌ها و القاء آپوپتوز با استفاده از آزمایش MTS و کیت annexin V-FITC بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که PT پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب موجب مهار تکثیر سلولی به میزان ۴۴٪، ۴۷٪ و ۵۷٪ در غلظت ۶۰ میکرومولار در مقایسه با سلول‌های کنترل گردید ($p<۰/۰۵$) و در غلظت ۱۰۰ میکرومولار مهار تکثیر سلولی به ترتیب ۷۱، ۷۸ و ۸۹% بود ($p<۰/۰۵$). میزان سلول‌های آپوپتوز شده به ترتیب ۶۰٪، ۵۰٪ و ۲۷٪ در غلظت ۸۰، ۶۰ و ۴۰ میکرومولار در مقایسه با ۴/۶۳٪ در کنترل بود، و در غلظت ۸۰ میکرومولار معنی دار بود ($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که PT، در کنترل تکثیر و القاء آپوپتوز در رده سلولی لنفوبلاستیک جورکت مؤثر است. لذا مطالعه مکانیسم القاء آپوپتوز توسط این ترکیب می‌تواند گامی در جهت پیشرفت به سمت هدف درمانی باشد.

واژه های کلیدی: تروستیلبن، تکثیر سلولی، آپوپتوز، رده سلولی لنفوبلاستیک، لوسمی لنفوبلاستیک حاد.

مقدمه

بدخیمی‌های هماتولوژیک گروه هتروژنی از سرطان‌ها می‌باشند، که درصد قابل توجهی از سرطان‌ها را در جهان در برمی‌گیرد (۱). لوسمی حاد لنفوبلاستیک (ALL=Acule lymphoblastic leukemia) مهمترین سرطان تشخیص داده شده در کودکان می‌باشد و تقریباً ۲۵ درصد از موارد سرطان در کودکان زیر ۱۵ سال را شامل می‌گردد (۲). به طور کلی شیوع سرطان در کودکان، شامل لوسمی حاد لنفوبلاستیک، به طور آهسته از سال ۱۹۷۵ شروع به افزایش کرده‌است (۳). لوسمی لنفوبلاستیک حاد مهمترین علت مرگ و میر در کودکان ایالات متحده آمریکا محسوب می‌گردد (۴و۲). با وجود اینکه لوسمی در ایران نسبت به کشورهای اروپایی شیوع کمتری دارد، لوسمی حاد لنفوبلاستیک شایع‌ترین نوع بدخیمی در کودکان ایرانی می‌باشد (۵). اگر چه درمان کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد در دهه گذشته پیشرفت کرده‌است، ترکیبات متداول شیمی درمانی در ۲۰ درصد بیماران با شکست مواجه شده است بنابراین به نظر می‌رسد درمان‌های جدید جایگزین مورد نیاز است تا بتواند این نتایج را بهبود ببخشند (۷و۶). اکثر شکست‌های درمانی به دلیل مقاومت سلولی به داروهای ضد لوسمی ایجاد می‌شود (۸). پیش‌آگهی ضعیف در بزرگسالان و همچنین عوارض جانبی درمان‌های چند دارویی در بیماران لوسمی لنفوبلاستیک حاد دیده می‌شود

▣ این مقاله حاصل پایان نامه طاهره رحیم نژاد دانشجوی ایمونولوژی و طرح تحقیقاتی به شماره۱۴۰۶-۷۵-۰۱-۹۱ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر بتول پورقیصری
آدرس: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی. تلفن: ۰۳۸-۳۳۳۴۶۷۲۰
E-mail:bat238@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.12.4.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.12.32]

(۹و۶). در سال‌های اخیر به دلیل عوارض جانبی داروهای شیمی درمانی و مقاومت‌های دارویی ایجاد شده، استفاده از گیاهان دارویی که اثرات جانبی کمتری داشته باشند و نیز بتوانند اثرات کشندگی سلولی داروها را افزایش دهند، مورد توجه قرار گرفته‌است (۱۰).

ترکیبات با پایه Stilbene در طی سال‌ها توجه تعداد زیادی از محققان را به محدوده وسیع فعالیت‌های بیولوژیکی آن‌ها جلب کرده‌است. مطالعات گسترده‌ای روی Resveratrol (RES) انجام شده‌است که یک فیتوآلکسین موجود در انگور و دیگر مواد غذایی می‌باشد، که به عنوان ترکیب شیمیایی ضد سرطان عمل می‌کند(۱۱).

PT و RES دارای خواص فارماکولوژیک مشابه می‌باشند، اما PT مزیت‌های بیشتری را دارا می‌باشد. در تجویز خوراکی، PT تا ۹۵ درصد خاصیت خود را حفظ می‌کند و دارای خواص فارماکولوژیک متنوع برای جلوگیری و درمان محدوده وسیعی از بیماری‌ها از جمله سرطان می باشد، در صورتی که RES تنها ۲۰ درصد خاصیت خود را در بدن حفظ می‌کند (۱۵-۱۲).

پلی‌فنل‌ها مکانیسم‌های ضد سرطانی شامل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پیش آپوپتوزی، پیش اتوفاژی، آسیب به DNA، ضد رگزایی و تحریک سیستم ایمنی را نشان می‌دهند. RES مهمترین پلی‌فنل بررسی شده، فعالیت ضد سرطانی را به وسیله مکانیسم آپوپتوزی و غیرآپوپتوزی نشان می‌دهد (۱۶). نیمه عمر پایین RES (به عنوان مثال، نیمه عمر آن پس از تزریق داخل رگی ۲۰mg/kg در خرگوش، ۱۴/۴ دقیقه بوده است) استفاده از آن را in vivo به طور زیادی محدود می‌کند (۱۸و۱۷).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که RES مانع آغاز، پیشرفت و گسترش سرطان می‌گردد (۱۹). همچنین RES اثرات بازدارندگی قوی بر رشد رده‌های مختلف سلولی سرطانی شامل: لوسمی، سرطان روده، سینه و پروستات دارد (۲۰). به تازگی، نشان داده شده است که RES موجب تحریک آپوپتوز در رده‌های سلولی مختلف سرطانی شده است (۲۱). مسیر آپوپتوز هدف مهمی در درمان مؤثر سرطان می‌باشد (۲۲). چندین مطالعه روی ترکیبات stilbene به ویژه RES، ایجاد آپوپتوز از طریق مسیر میتوکندریایی را نشان داده‌اند (۲۴و۲۳).

بررسی تأثیر PT بر سلول‌های لنفوبلاستیک لوسمیک و دوز مؤثر ماده گیاهی فوق از جمله مواردی است که می‌تواند گام مؤثری در جهت شناسایی اثرات ضد توموری گیاهان دارویی دارای ترکیبات پلی فنلی باشد. اثرات آن در ترکیب با داروهای روتین مورد استفاده در شیمی درمانی از مواردی است که می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. از آنجائیکه RES و مشتقات آن فعالیت‌های ضد سرطانی امید بخشی را در مدل‌های in vivo و in vitro نشان داده‌اند، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات سیتوتوکسیک PT روی یک رده سلولی لوسمی لنفوبلاستیک می‌باشد.

مواد و روشها

کشت سلول: در این پژوهش تجربی، از دودمان سلولی لنفوبلاست T انسانی (Jurkat E۶/۱) استفاده شد (انستیتو پاستور ایران؛ C۱۲۱). سلول‌های جورکت در RPMI ۱۶۴۰ که به آن ۰/۳ mg/ml ال- گلوتامین،۱۰٪ CS، ۱۰۰ IU/mL پنی سیلین و ۱۰۰ µg/ml استرپتومایسین اضافه شده بود کشت و در انکوباتور ۳۷ °C و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن نگهداری شدند. سلول‌ها در غلظت ml/ ۲×۱۰^{۵} نگهداری و هر ۳-۲ روز یکبار پاساژ داده شدند. شمارش سلول‌ها با لام نئوبار و رنگ آمیزی تریپان بلو انجام شد.

بررسی زیست پذیری سلول‌ها (Cell viability assay): اثر PT بر رشد سلول‌های جورکت توسط روش MTS بررسی گردید. (ماده فوق ترکیبی از نمک تترازولیوم (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H- tetrazolium inner salt; MTS] و محلول PMS (phenazine methosulfate) می‌باشد. PT، MTS، PMS و محلول dimethyl sulfoxide (DMSO)، از شرکت سیگما خریداری گردید. PT در محلول DMSO حل گردید.

MTS نوعی آزمون رنگ سنجی می‌باشد که بر اساس شکسته شدن نمک تترازولیوم MTS زرد رنگ توسط دهیدروژناز موجود در سلول‌های فعال از لحاظ متابولیکی به فورمازان بنفش رنگ ارزیابی می‌گردد. سلول‌ها پس از سانتریفوژ در ۱۶۴۰ RPMI سوسپانسیون و پس از اضافه کردن رنگ تریپان بلو با لام نئوبار شمارش گردیدند. تعداد ۱×۱۰^{۴} سلول به هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای منتقل گردید. از چاهک‌های حاوی سلول، تعدادی به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد و هیچ دارویی به سلول‌ها اضافه نگردید.

در بقیه چاهک‌ها سلول‌ها همراه با غلظت‌های مختلف (۱۰۰،۸۰،۶۰،۵۰،۴۰،۳۰ میکرو مولار) PT به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت درانکوباتور ۳۷ °C و ۵٪ دی‌اکسیدکربن انکوبه گردیدند. مورفولوژی سلول‌ها توسط میکروسکوپ بررسی گردید، سپس ۲۰ میکرولیتر MTS/PMS به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۳ ساعت در انکوباتور نگهداری گردید و سپس توسط الایزا در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. با استفاده از MTS جذب نوری سلول‌هایی که با غلظت‌های مختلف دارو مجاور شده بودند، با جذب نوری سلول‌های کنترل که در مجاورت دارو نبودند مقایسه گردید و درصد سلول‌های زنده طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد سلول‌های زنده=جذب نوری سلول‌های تحت تأثیر دارو به جذب نوری سلول‌های کنترل×۱۰۰

بررسی آپوپتوز توسط فلوسیتومتری: سلول‌ها در پلیت ۶ خانه کشت و با غلظت‌های مختلف دارو مجاور گردید و سپس با گروه کنترل که هیچ دارویی دریافت نکرده بودند، مقایسه گردیدند. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون سلول‌ها برداشته و دوبار با PBS شسته شدند و سپس در بایندینگ بافر در غلظت ۱۰^{۶} سلول در هر میلی لیتر محلول گردید. ۱×۱۰^{۵} سلول با انکسین V متصل شده به ایزوتیوسیانات فلورسین (FITC) و PI به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی مجاور گردید. کیت FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit 1 از شرکت BD Pharmingen خریداری گردید.

میزان سلول‌های آپوپتوز شده توسط دستگاه فلوسیتومتری (PARTEC) بررسی گردید. در طی مراحل اولیه آپوپتوز، فسفاتیدیل سرین به سطح خارجی غشاء سلولی مهاجرت می کند. این مرحله به صورت اختصاصی توسط پروتئین‌های متصل شونده به فسفاتیدیل سرین (Annexin V-FITC) شناسایی می‌گردد. سلول‌هایی که برای PI منفی و برای FITC مثبت هستند در

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.12.4.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.12.32]

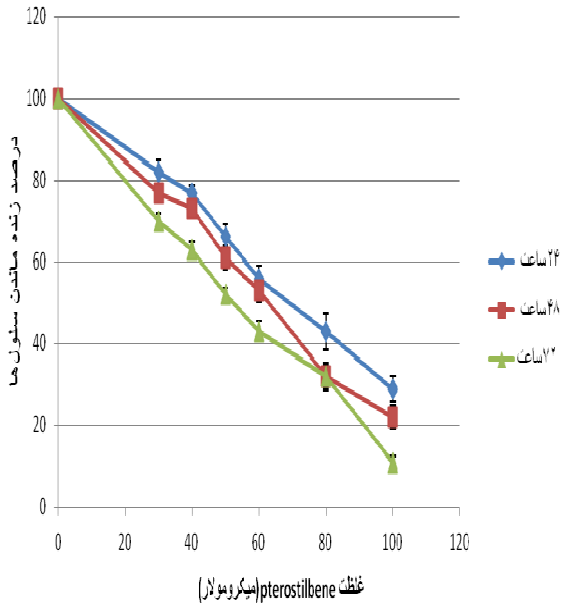
مراحل اولیه آپوپتوز می‌باشند در حالی‌که سلول‌هایی که برای PI و FITC مثبت هستند در مراحل نهایی آپوپتوز یا نکروز قرار دارند.

تجزیه و تحلیل آماری: هر تست با هر دارو و هر غلظت سه تا پنج بار تکرار شد. از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. برای مقایسه داده‌ها از آزمون غیر پارامتری کروسکال والیس و آزمون دان استفاده شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

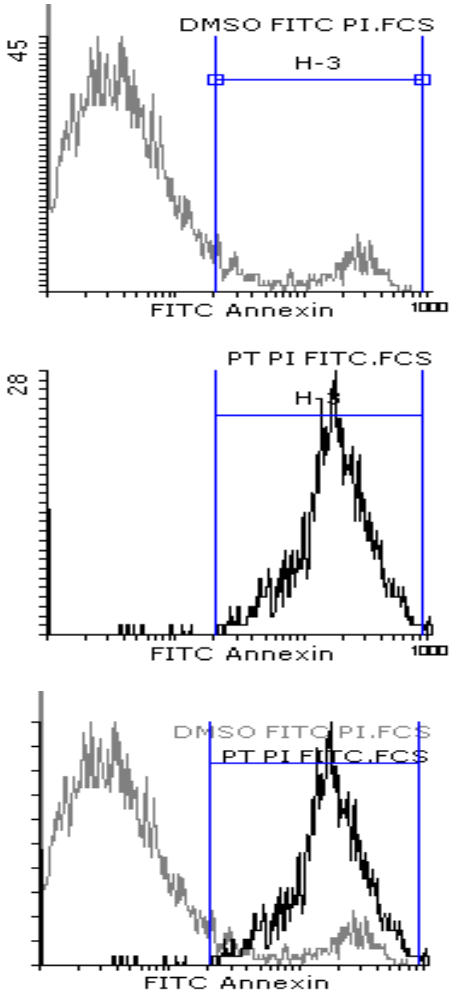
یافته ها

کاهش تکثیر سلولی: کاهش چشمگیری در تکثیر سلولی در سلول‌های جورکت بعد از مواجهه سلول با PT بعد از ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت انکوباسیون مشاهده گردید. به طوری که پس از ۲۴ ساعت در غلظت‌های ۳۰، ۶۰ و۱۰۰ میکرومولار، نسبت سلول‌های زنده به کنترل به ترتیب ۸۲، ۵۶ و ۲۹ درصد شده است. پس از ۴۸ ساعت، در غلظت‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میکرومولار نسبت سلول‌های زنده به کنترل به ترتیب ۷۷، ۵۳ و ۲۲ درصد شده‌است. پس از ۷۲ ساعت، در غلظت‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میکرومولار نسبت سلول‌های زنده به کنترل به ترتیب ۷۰، ۴۳ و ۱۱ شده است. (نمودار ۱).

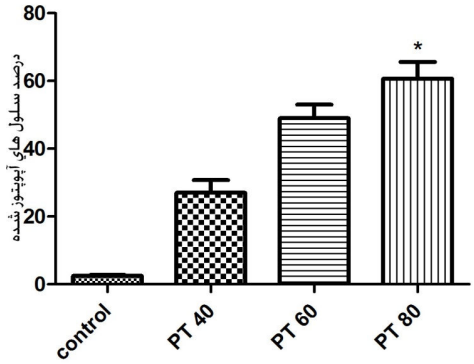
تحریک آپوپتوز: پس از مجاورت با PT، آپوپتوز به میزان قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با کنترل افزایش یافت. میزان آپوپتوز در سلول‌های کنترل ۴/۶۳ درصد و در سلول‌های مجاور شده با PT، ۴۹/۳ درصد بود (نمودار ۲). غلظت ۴۰ میکرومولار موجب القاء آپوپتوز در ۲۷ درصد سلول‌ها، غلظت ۶۰ میکرومولار موجب القاء آپوپتوز در ۴۹ درصد سلول‌ها و غلظت ۸۰ میکرومولار موجب القاء آپوپتوز در ۶۰ درصد سلول‌ها در مقایسه با کنترل (۴/۶۳) گردیده است. (نمودار ۳) که در غلظت اخیر این تفاوت معنی دار است ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۱. تأثیر مهاری PT بر زیست پذیری رده سلولی جورکت پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مجاورت با غلظت‌های مختلف تروستیلبن



نمودار ۲. نمونه‌ای از نمودار فلوسایتومتریک آپوپتوز سلول‌های مجاور شده با PT (نمودار سیاه رنگ) در مقایسه با سلول‌های کنترل (نمودار خاکستری)



نمودار ۳. تأثیر غلظت‌های مختلف تروستیلبن بر آپوپتوز سلول‌های جورکت پس از ۴۸ ساعت در مقایسه با گروه کنترل

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان داد که PT با یک روند وابسته به دوز باعث کاهش تکثیر سلولی در رده سلولی لنفوبلاستیک می‌گردد و القاء آپوپتوز در این سلول‌ها را افزایش می‌دهد. در بررسی PT بر زیست پذیری سلول‌های جورکت، مشاهده

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.12.4.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.12.32]

گردید که میزان سلول‌های زنده با یک روند وابسته به میزان دارو کاهش می یابد و در غلظت ۶۰ میکرومولار، زیست پذیری سلول‌ها در حدود نیمی از کنترل بود. مطالعات مختلف نشان داده است که غلظت‌های وابسته به فعالیت‌های ضد سرطانی PT در تعداد زیادی از سرطان‌ها در محدوده µg/ml ۱۰۰-۱ می‌باشد (۲۵). Tolomeo و همکاران اثر PT را بر روی ۷ رده سلولی بررسی کردند، که شامل سلول‌های لوسمی میلوئیدی انسانی و رده سلولی میلوئیدی مقاوم به دارو نیز می‌گردید. در این تحقیق مشاهده گردید که PT اثر مهارکنندگی وابسته به دوز بر رشد سلول‌ها دارد (۲۶).

در مطالعه Wang و همکاران مشاهده گردید که PT موجب جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطان سینه شده‌است (۲۷). در مطالعهMena و همکاران مشاهده شد که PT دارای اثرات سیتوتوکسی وابسته به میزان دارو و زمان می‌باشد. به طوری که میزان IC50 در رده‌های سلولی سرطان روده ۶۰/۳ میکرومولار، سرطان سینه ۴۴ میکرومولار، سرطان ملانوما ۱۴/۷ میکرومولار و سرطان ریه ۲۸/۶ میکرومولار می‌باشد (۲۸). در مطالعه ما مشخص گردید که PT بر روی رده سلولی جورکت اثر مشابهی با سایر رده‌های سلولی بررسی شده قبلی دارد. برای بررسی مکانیسم اثر PT بر توقف رشد سلول‌ها، در مطالعه ما اثرات PT بر آپوپتوز سلول‌های لنفوبلاستیک جورکت بررسی گردید. آپوپتوز مکانیسمی است که ارگانیسم برای حذف سلول‌های آسیب دیده یا غیر ضروری استفاده می‌کند. در طی گسترش سرطان، موتاسیون ایجاد شده در سلول‌ها به آن‌ها اجازه می‌دهد تا از آپوپتوز فرار کرده و سرطانی گردند، بنابراین القاء آپوپتوز در سلول‌های پیش سرطانی و سرطانی روشی مؤثر برای درمان و پیشگیری از سرطان می‌باشد (۲۹).

در مطالعه‌ای نشان داده شده که PT موجب القاء آپوپتوز و مرگ سلولی در رده سلولی سرطان سینه شده‌است (۳۱و۳۰). همچنین در سرطان روده، PT موجب جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی روده in vivo و in vitro از طریق القاء آپوپتوز شده است (۳۲و۲۵). در مطالعه ما نشان داده شد که PT می‌تواند جمعیت سلول‌های آپوپتوز شده را افزایش دهد، که به وسیله افزایش جمعیت سلولی انکسین v مثبت تأیید گردید. در مطالعه انجام شده روی سلول‌های سرطان معده مشاهده گردیده، که PT از تکثیر سلولی جلوگیری کرده و باعث القاء آپوپتوز از طریق مکانیسم‌هایی مانند فعال سازی آبشار کاسپاز، تغییر پروتئین‌های تنظیم کننده سیکل سلولی و آسیب به غشاء میتوکندری گردیده است (۳۳). PT نقش مهمی در درمان ملانوما دارد، به طوری که درمان سلول‌های ملانوما در in vitro با آن بازدارندگی وابسته به دوز در رشد سلول‌ها همراه با افزایش فعالیت کاسپازهای عملکردی را نشان داده است (۱۵). مطالعات قبلی فعالیت ضد سرطانی PT را شامل فعال کردن آپوپتوز از طریق آبشار کاسپازی را در سرطان پانکراس نشان داده‌اند (۳۴).

همچنین در مطالعه انجام شده روی سلول‌های سرطان سینه مشاهده گردیده که PT موجب القاء دپلاریزاسیون در غشاء میتوکندری گردیده و همچنین کاسپاز ۳ و ۷ را افزایش داده است. PT پروتئین‌های پیش آپوپتوتیک میتوکندریایی Bax را افزایش و پروتئین ضدآپوپتوزی میتوکندریایی Bcl-2 را کاهش داده است (۳۵).

بنابراین PT از طریق مکانیسم‌های مختلف موجب القاء آپوپتوز در سلول‌های متفاوت می‌گردد. در مطالعه ما نیز مشاهده گردید که PT باعث القاء آپوپتوز در سلول‌های جورکت گردیده‌است. این آپوپتوز با افزایش غلظت PT افزایش نشان داده‌است که با مطالعات قبلی انجام شده بر روی سایر رده‌های سلولی سرطانی همسویی دارد.

مطالعات دیگری لازم است تا مکانیسم القاء آپوپتوز در این رده سلولی بررسی گردد. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب پلی فنلی PT در کنترل تکثیر و القاء آپوپتوز در رده سلولی لنفوبلاستیک جورکت مؤثر است. مطالعه سایر رده‌های سلولی مشابه و نیز مکانیسم القاء آپوپتوز توسط این ترکیب می‌تواند گامی در جهت پیشرفت به سمت هدف درمانی باشد که در مطالعات بعدی مورد توجه قرار می‌گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاران مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که حمایت مالی طرح را بر عهده داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.12.4.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.12.32]

Effect of Pterostilbene on Cellular Proliferation Inhibition and Induction of Apoptosis in Lymphoblastic Leukemia Cell Line

T. Rahimnejad (MSc)[1], P. Beshkar (MSc)[2], H. Shirzad (PhD)[3], M. RafieianKopaei (PhD)[4], V. Safdari (BSc)[5], N. Asgarian Dehkordi (BSc)[1], B. Pourgheysari (PhD)[*4]

1. Immunology Department, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran.
2. Cinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran.
3. Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran.
4. Medical Plant Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran.
5. Immunology Department, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 16(12); Dec 2014; PP:32-8

Received: Apr 11th 2014, Revised: May 14th 2014, Accepted: Aug 6th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Acute lymphoblastic leukemia (ALL=Acule Lymphoblastic Leukemia) is the most common type of hematological malignancies in Iranian children. Pterostilbene (PT) is a natural stilbenoid in blueberries. Since the effect of PT on lymphoblastic leukemia cell line has not been investigated, the aim of the present study was to evaluate the effects of PT induction and cellular proliferation inhibition on this cell line.

METHODS: In this experimental study, Jurkat cell line was cultured in standard conditions with different concentrations of PT (0, 30, 40, 50, 60, 80 and 100 µm) for 24, 48 and 72 hours and compared with the cell of control group. Then, the effect of PT on cell viability and induction of apoptosis was measured using MTS assay and Annexin V-FITC kit.

FINDINGS: Inhibition of cellular proliferation was 44%, 47% and 57% at 60 µm concentration and 71%, 78% and 89% at 100 µm concentration after 24, 48 and 72 hours of PT incubation, respectively ($p<0.05$). Cell apoptosis was 60% at 80 µm, 50% at 60 µm and 27% at 40 µm compared to 4.63% in control. There was significant difference at 80 µm concentration.

CONCLUSION: The results demonstrated that the PT was effective on the proliferation inhibition and induction of apoptosis in Jurkat lymphoblastic leukemia cell line. The study of the mechanism of apoptosis induction by using this combination can be a progressive step into target therapy.

KEY WORDS: *Pterostilbene, Cellular Proliferation, Apoptosis, Lymphoblastic cell line, Acute lymphoblastic leukemia.*

Please cite this article as follows:

Rahimnejad T, Beshkar P, Shirzad H, RafieianKopaei M, Safdari V, Asgarian Dehkordi N, Pourgheysari B. Effect of Pterostilbene on Cellular Proliferation Inhibition and Induction of Apoptosis in Lymphoblastic Leukemia Cell Line. J Babol Univ Med Sci 2014; 16(12):32-8.

[*] **Corresponding Author; B. Pourgheysari (PhD)**
Address: Medical Plant Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran
Tel: +98 38 33346720
E-mail: Bat238@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.12.4.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.12.32]

References

1. Ahmad R, Tripathi A, Tripathi P, Singh R, Singh S, Singh R. Studies on lipid peroxidation and non-enzymatic antioxidant status as indices of oxidative stress in patients with chronic myeloid leukaemia. Singapore Med J. 2010; 51(2):110-5.

2. Kim AS, Eastmond DA, Preston RJ. Childhood acute lymphocytic leukemia and perspectives on risk assessment of early-life stage exposures. Mutat Res. 2006; 613(2-3):138-60.

3. Smith MA, Seibel NL, Altekruse SF, Ries LA, Melbert DL, O'Leary M, et al. Outcomes for children and adolescents with cancer: challenges for the twenty-first century. J Clin Oncol. 2010; 28(15):2625-34.

4. Podvin D, Kuehn CM, Mueller BA, Williams M. Maternal and birth characteristics in relation to childhood leukaemia. Paediatr Perinat Epidemiol. 2006; 20(4):312-22.

5. Pourfathollah A, Rakhshan M, Ahmadi M, Izadyar M. FAB Classification of childhood leukemia in Iran. Med J I.R. Iran (MJIRI). 1989; 2(4):263-4.

6. Pui C-H, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med. 2006; 354(2):166-78.

7. Cortes JE, Kantarjian H, Freireich EJ. Acute lymphocytic leukemia: a comprehensive review with emphasis on biology and therapy. Cancer Treat Res. 1996; 84:291-323.

8. Pieters R, Klumper E, Kaspers G, Veerman A. Everything you always wanted to know about cellular drug resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia. Crit Rev Oncol Hematol. 1997;25(1):11-26.

9. Vitale A, Guarini A, Chiaretti S, Foà R. The changing scene of adult acute lymphoblastic leukemia. Curr Opin Oncol. 2006;18(6):652-9.

10. Zaker F, Aghileh S, Pourfatollah A, Solaimani M. ATRA he effects of cytotoxicity, differentiation and apoptosis of viscum album lectin extract on HL60 cells individually and in combination with ATRA. Razi J Med Sci. 2006; 13(52):107-14.

11. Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean ME, Crozier A. Plant foods and herbal sources of resveratrol. J Agric Food Chem. 2002; 50(11):3337-40.

12. Rimando AM, Kalt W, Magee JB, Dewey J, Ballington JR. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in vaccinium berries. J Agric Food Chem. 2004; 52(15):4713-9.

13. Lin HS, Yue BD, Ho PC. Determination of pterostilbene in rat plasma by a simple HPLC-UV method and its application in pre-clinical pharmacokinetic study. Biomed Chromatogr. 2009; 23(12):1308-15.

14. Roupe KA, Remsberg CM, Yáñez JA, Davies NM. Pharmacometrics of stilbenes: seguing towards the clinic. Curr Clin Pharmacol. 2006; 1(1):81-101.

15. [No Authors]. Pterostilbene Monograph. Altern Med Rev. 2010; 15(2):159-63. Available at: http://www.altmedrev.com/publications/15/2/159.pdf.

16. Delmas D, Solary E, Latruffe N. Resveratrol, a phytochemical inducer of multiple cell death pathways: apoptosis, autophagy and mitotic catastrophe. Curr Med Chem. 2011;18(8):1100-21.

17. Asensi M, Medina I, Ortega A, Carretero J, Baño MC, Obrador E, et al. Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. Free Radic Biol Med. 2002; 33(3):387-98.

18. Schneider JG, Alosi JA, McDonald DE, McFadden DW. Effects of pterostilbene on melanoma alone and in synergy with inositol hexaphosphate. Am J Surg. 2009; 198(5):679-84.

19. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science. 1997;275(5297):218-20.

20. Gautam S, Xu Y, Dumaguin M, Janakiraman N, Chapman R. Resveratrol selectively inhibits leukemia cells: a prospective agent for ex vivo bone marrow purging. Bone Marrow Transplant. 2000;25(6):639-45.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.12.4.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.12.32]

21. Clément MV, Hirpara JL, Chawdhury SH, Pervaiz S. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. Blood. 1998; 92(3):996-1002.
22. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. CA Cancer J Clin. 2005; 55(3):178-94.
23. Dong Z. Molecular mechanism of the chemopreventive effect of resveratrol. Mutat Res. 2003; 523-524:145-50.
24. Reis-Sobreiro M, Gajate C, Mollinedo F. Involvement of mitochondria and recruitment of Fas/CD95 signaling in lipid rafts in resveratrol-mediated antimyeloma and antileukemia actions. Oncogene. 2009;28(36):3221-34.
25. Paul S, Rimando AM, Lee HJ, Ji Y, Reddy BS, Suh N. Anti-inflammatory action of pterostilbene is mediated through the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in colon cancer cells. Cancer Prev Res(Phila). 2009; 2(7):650-7.
26. Tolomeo M, Grimaudo S, Cristina AD, Roberti M, Pizzirani D, Meli M, et al. Pterostilbene and 3′-hydroxypterostilbene are effective apoptosis-inducing agents in MDR and BCR-ABL-expressing leukemia cells. Int J Biochem Cell Biol. 2005; 37(8):1709-26.
27. Wang Y, Ding L, Wang X, Zhang J, Han W, Feng L, et al. Pterostilbene simultaneously induces apoptosis, cell cycle arrest and cyto-protective autophagy in breast cancer cells. Am J Transl Res. 2012; 4(1):44-51.
28. Mena S, Rodríguez ML, Ponsoda X, Estrela JM, Jäättela M, Ortega AL. Pterostilbene-induced tumor cytotoxicity: a lysosomal membrane permeabilization-dependent mechanism. PloS One. 2012; 7(9):e44524.
29. Fesik SW. Promoting apoptosis as a strategy for cancer drug discovery. Nat Rev Cancer. 2005; 5(11):876-85.
30. McCormack D, Schneider J, McDonald D, McFadden D. The antiproliferative effects of pterostilbene on breast cancer in vitro are via inhibition of constitutive and leptin-induced Janus kinase/signal transducer and activator of transcription activation. Am J Surg. 2011; 202(5):541-4.
31. Alosi JA, McDonald DE, Schneider JS, Privette AR, McFadden DW. Pterostilbene inhibits breast cancer in vitro through mitochondrial depolarization and induction of caspase-dependent apoptosis. J Surg Res. 2010; 161(2):195-201.
32. Paul S, DeCastro AJ, Lee HJ, Smolarek AK, So JY, Simi B, et al. Dietary intake of pterostilbene, a constituent of blueberries, inhibits the β-catenin/p65 downstream signaling pathway and colon carcinogenesis in rats. Carcinogenesis. 2010;31(7):1272-8.
33. Pan MH, Chang YH, Badmaev V, Nagabhushanam K, Ho CT. Pterostilbene induces apoptosis and cell cycle arrest in human gastric carcinoma cells. J Agric Food Chem. 2007; 55(19):7777-85.
34. Mannal PW, Alosi JA, Schneider JG, McDonald DE, McFadden DW. Pterostilbene inhibits pancreatic cancer in vitro. J Gastrointest Surg. 2010; 14(5):873-9.
35. McCormack D, McFadden D. Pterostilbene and cancer: current review. J Surg Res. 2012; 173(2):e53-61.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.12.4.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.12.32]