فصلنامه پژوهش در علوم، مهندسی و فناوری
دوره ۹، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲
صفحات ۱۱۱-۱۳۱
Print ISSN: 2476-5082
www.uctjournals.com

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو در ارزیابی سطح بیان ژن های MMP2،9 و Caspase3،9

فاطمه علیزاده
کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش ژنتیک، دانشکده علوم دانشگاه آزاد مشهد،مشهد، ایران
Fatemehalizadeh15964528@gmail.com

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثرات بالقوه عصاره الکلی گیاه بالانگو بر میزان بیان ژن های MMP2، 9 و Caspase3، 9 می باشد. گیاه Balangu (Lalelemantia royleana) به طور سنتی در طب گیاهی به دلیل خواص درمانی بالقوه خود از جمله اثرات ضد التهابی و ضد سرطانی استفاده می شود. این مطالعه به دنبال بررسی مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی این اثرات بالقوه با بررسی تأثیر عصاره گیاه بر بیان ژن‌های خاص درگیر در التهاب و آپوپتوز است. تحقیقات قبلی خواص ضد التهابی و ضد سرطانی گیاه بالانگو را نشان داده است. مطالعات نشان داده اند که عصاره الکلی آن حاوی ترکیبات زیست فعال با خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است که ممکن است بیان ژن های مرتبط با این فرآیندها را تعدیل کند. علاوه بر این، بیان ژن‌های MMP2، 9 و Caspase3، 9 با شرایط پاتولوژیک مختلفی از جمله سرطان و التهاب مرتبط است. با این حال، شکافی در ادبیات مربوط به اثرات خاص عصاره گیاه Balangu بر بیان این ژن ها وجود دارد. بنابراین، این مطالعه برای پر کردن این شکاف و ارائه بینش های ارزشمند در مورد مکانیسم های مولکولی بالقوه زیربنای خواص درمانی گیاه Balangu ضروری است.

این تحقیق از روش‌های کشت سلولی آزمایشگاهی برای بررسی تأثیر عصاره گیاه Balangu بر بیان ژن استفاده می‌کند. رده‌های سلولی انسانی با غلظت‌های مختلف عصاره گیاه درمان می‌شوند و سطح بیان ژن‌های MMP2، 9 و Caspase3، 9 با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی (qRT-PCR) ارزیابی می‌شود. طرح آزمایشی شامل هر دو گروه تیمار و گروه کنترل برای مقایسه سطوح بیان ژن در حضور و عدم حضور عصاره گیاه خواهد بود. تجزیه و تحلیل آماری برای تعیین هر گونه تفاوت قابل توجه در سطح بیان ژن بین گروه های درمانی انجام شد.

کلیدواژه: عصاره هیدروالکلی، گیاه ، ارزیابی ، ژنهای MMP2،9 و Caspase3،9

مقدمه

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو بر سطح بیان ژنهای MMP2، 9 و Caspase3، 9 مهم است چرا که این ژنها در فرآیندهای مربوط به پیشرفت سرطان، آسیب سلولی و مهار فرآیندهای التهابی نقش دارند. هیدروالکلی بودن عصاره گیاه بالنگو نشان دهنده حلالیت مواد فعال در این عصاره است که می‌تواند بر اثرات بیولوژیکی آن تأثیر بگذارد. بنابراین، بررسی این اثر بر سطح بیان ژنهای MMP2، 9 و Caspase3، 9 می‌تواند نقش مهمی در ارزیابی خواص دارویی گیاه بالنگو داشته باشد. چنین بررسی‌هایی می‌تواند به ما کمک کند تا درک بهتری از مکانیسم‌های عملکرد واقعی این گیاه در سلامتی انسان‌ها پیدا کنیم و این مطالعات می‌تواند به طور مستقیم از کاربردهای گیاه بالنگو در زمینه پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌ها مانند سرطان، آسیب سلولی و التهاب بهره‌مند شویم. برای بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو در ارزیابی سطح بیان ژنهای MMP2،9 و Caspase3،9، ابتدا باید مراحل زیر را طی کرد:

جمع آوری گیاه بالنگو به منظور استخراج عصاره هیدروالکلی آن. جداسازی و شناسایی ترکیبات فعال موجود در عصاره گیاهی. استفاده از سلول‌های پیش سرطانی یا سلول‌های سرطانی مرتبط مانند سلول‌های سرطانی سینه یا رحم برای بررسی تأثیرات عصاره بالنگو بر روی سطح بیان ژنهای MMP2،9 و Caspase3،9. تیتراسیون عصاره بالنگو و اعمال دزهای مختلف بر روی سلول‌های سرطانی در محیط کشت سلولی. اندازه‌گیری سطح بیان ژنهای MMP2،9 و Caspase3،9 با استفاده از روش‌های مولکولی مانند تکنیک PCR و وسترن بلاتینگ. تجزیه و تحلیل داده‌ها و ارزیابی تأثیرات عصاره بالنگو بر سطح بیان ژنهای MMP2،9 و Caspase3،9. در نهایت، نتایج این بررسی می‌تواند نشان دهد که آیا عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو می‌تواند به عنوان یک مولکول فعال برای کاهش سطح بیان ژنهای MMP2،9 و افزایش سطح بیان ژنهای Caspase3،9 در سلول‌های سرطانی استفاده شود یا خیر.

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو بر سطح بیان ژنهای MMP2،9 و Caspase3،9 به منظور ارزیابی تأثیر آن بر فرایندهای مرتبط با التهاب و آپوپتوز در سلول‌ها صورت گرفت. نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو باعث کاهش سطح بیان ژن MMP2 و MMP9 و افزایش سطح بیان ژن Caspase3 و Caspase9 می‌شود. این نتایج نشان دهنده تأثیر مثبت عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو در کاهش فرایندهای التهابی و افزایش فرایندهای آپوپتوزی می‌باشد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو می‌تواند به عنوان یک ترکیب گیاهی موثر در کاهش التهاب و افزایش فرایندهای آپوپتوز در سلول‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو می‌تواند در ارزیابی سطح بیان ژن‌های MMP2،9 و Caspase3،9 تأثیرگذار باشد. این گیاه ممکن است دارای ترکیباتی باشد که بتواند در فرایند انتقال سیگنال‌های سلولی و همچنین در فرایند آپوپتوز (مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده) دخیل باشد.MMP2 و MMP9 به عنوان فاکتورهای ماتریکس فعالیت دارند و در فرایندهای تغییر شکل و حرکت‌های سلولی نقش دارند. افزایش یا کاهش سطح بیان این ژن‌ها می‌تواند به تغییراتی در رفتارهای سلولی منجر شود. همچنین Caspase3 و Caspase9 از خانواده کاسپازها هستند و نقش مهمی در فرایند آپوپتوز دارند. کاهش یا افزایش سطح بیان این ژن‌ها می‌تواند به تنظیم فرایند مرگ و زنده‌مانی سلولی کمک کند. بنابراین، ارزیابی سطح بیان این ژن‌ها در پاسخ به عصاره هیدروالکلی گیاه بالنگو می‌تواند به ما کمک کند تا درک بهتری از اثرات این گیاه بر روی فعالیت سلولی و مرگ و زنده‌مانی سلولی پیدا کنیم.

بیان مساله

سلول‌های بدن که به طور نامنظم در محیط اطراف رشد می‌کنند، به عنوان تکثیر بی‌رویه سلول‌های سرطانی شناخته می‌شوند. این رشد غیرطبیعی و مهارنشده سلول‌ها می‌تواند منجر به بروز سرطان شود. در کشورهای پیشرفته، سرطان دومین عامل مرگ و میر است و در کشور ما سومین عامل مرگ و میر پس از بیماری‌های قلبی و عروقی و سوانح و تصادفات است. طبق آمار منتشر شده توسط "موسسه ارزشیابی و سلامت"، ابتلا به سرطان در دوره ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۵ در ۳۲ سرطان در ۱۹۵ کشور، ۳۳ درصد افزایش یافته است. پرتودرمانی یکی از روش‌های درمان سرطان است که تقریباً ۵۲ درصد بیماران مبتلا به سرطان از آن

استفاده می‌کنند. درمان با پروتون با نحوه واگذاری دوز جذبی این ذرات در بافت، می‌تواند بیشترین دوز اشعه را در محل تومور واگذار نماید.

در دهه‌های اخیر، پیشرفت‌های مهمی در زمینه رادیوتراپی در ایران حاصل شده است، اما هنوز برخی از تجهیزات مورد نیاز برای درمان‌های پیشرفته در دسترس نیستند. (سیف and اراک ۲۰۱۸). سرطان کولورکتال (CRC) یکی از شایع‌ترین تشخیص‌ها و دومین عامل مرگ و میر در هر دو جنس است. این نوع سرطان دارای ارتباط قوی با عوامل محیطی و ژنتیکی است. آمارهای اخیر نشان می‌دهد که تعداد موارد جدید و نرخ مرگ و میر در سال‌های اخیر به جز برای افراد جوان‌تر (کمتر از ۵۰ سال)، کاهش یافته است که این می‌تواند ناشی از افزایش غربالگری سرطان و بهبود روش‌های درمانی باشد. در حدود ۵٪ از موارد CRC به دو سندرم ارثی، یعنی پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی و سندرم لینچ، بازمی‌گردد .تبدیل اپیتلیوم طبیعی کولون به یک ضایعه پیش سرطانی و در نهایت به یک کارسینوم نیازمند تجمع جهش‌های ژنتیکی (اکتسابی و/یا ارثی) در یک دوره تقریباً ۱۰ تا ۱۵ ساله است. [(Xiao et al. 2019) و (Gajendran et al. 2019)و(Sokic-Milutinovic 2019)]. عدم پایداری کروموزومی، ترمیم تفاوت‌های ژنتیکی، و هیپرمتیلاسیون CpG از مسیرهای اصلی سرطان روده بزرگ هستند. مهمترین نشانگان پیش آگهی سرطان روده بزرگ، مرحله پاتولوژیک در زمان مراجعه است. همه موارد جدید سرطان روده بزرگ باید به طور جهانی برای ترمیم تفاوت‌های ژنتیکی /DNA وضعیت میکروماهواره و آزمایش جهش RAS/BRAF در زمان بررسی پیش آگهی و پیش‌بینی اثر شیمی‌درمانی غربالگری شوند. تقریباً در همه بیماران، انجام کولونوسکوپی تشخیصی یا غربالگری برای تأیید پاتولوژیک کارسینوم کولون نیازمند بیوپسی بافتی است .توموگرافی کامپیوتری پایه برای قفسه سینه، شکم و لگن با ماده حاجب و آنتی ژن کارسینومبریونیک CEA در مرحله‌بندی سرطان روده بزرگ قبل از برداشتن جراحی انجام می‌شود. جراحی روش اصلی درمانی برای سرطان کولون در مراحل اولیه است. استفاده از درمان‌های کمکی می‌تواند احتمال درمان را در بیماران پرخطر مبتلا به سرطان روده بزرگ افزایش دهد. بیماران الیگو متاستاتیک مبتلا به سرطان کولون در کبد و ریه و عود موضعی، کاندیدهای بالقوه قابل درمان با درمان‌های چندگانه هستند. درمان سیستمیک تسکین دهنده برای کاندیدهای غیر جراحی سرطان کولون با هدف بهبود کیفیت زندگی و افزایش امید به زندگی در نظر گرفته شده است. (Waheed and Cagir 2017،Recio-Boiles). بررسی های اپیدمیولوژی پاتولوژیک مولکولی می تواند عوامل خطر سرطان روده بزرگ را شناسایی کند و به پیشرفت تحقیقات نشانگرهای زیستی و پزشکی دقیق کمک کند. روش های درمان فعلی برای سرطان روده بزرگ اکثراً شامل جراحی و شیمی درمانی است. با این حال، به دلیل ظاهر شدن عوارض جانبی و مقاومت دارویی، نیاز اساسی به فراهم کردن داروهای جدید و کارآمدتر برای درمان سرطان روده بزرگ وجود دارد. تحقیقات متعدد نشان داده اند که بسیاری از مواد طبیعی دارای اثرات درمانی قوی علیه سرطان روده بزرگ هستند و ممکن است به عنوان جایگزین های شیمی درمانی برای درمان این بیماری عمل کنند. در این مطالعه، ما مواد طبیعی با خصوصیات ضد سرطان روده بزرگ از منابع مختلف را بر اساس ساختار های شیمیایی مانند آلکالوئید ها، پلی ساکارید ها، پلی فنل ها، ترپنوئید ها، و اسید های چرب غیر اشباع خلاصه خواهیم کرد و داروهای مشتق شده از مواد طبیعی که به صورت بالینی برای درمان سرطان روده بزرگ استفاده می شوند را بررسی می کنیم. ایجاد و پیشرفت سرطان روده بزرگ توسط ترکیبی از عوامل متعدد ایجاد می شود که در بین آنها سن، سابقه خانوادگی، جنسیت، منطقه و سابقه شخصی از اصلیترین عوامل خطر هستند. [(Peng et al. 2018) و (Shen et al. 2018) و (Center et al. 2009)]. اخیراً، اپیدمیولوژی پاتولوژیک مولکولی یک زمینه تحقیقاتی بین رشته‌ای که رابطه بین عوامل خطر (ژنتیک، سبک زندگی، الگوی غذایی، میکروبیوم و غیره) و ویژگی‌های مولکولی، وقوع، توسعه و پیش‌آگهی بیماری‌ها را آشکار می‌کند، عمدتاً مورد بررسی قرار گرفته است. برای مطالعات اپیدمیولوژیک در مورد سرطان به منظور ارائه بینش جدید و راهبردهای پیشگیری و درمان سرطان استفاده شد. تغییرات ژنتیکی از جمله بی‌ثباتی ریزماهواره MSI، جهش‌های BRAF، جهش‌های PIK3CA، جهش‌های KRAS و فنوتیپ متیلاتور جزیره‌ای CpG، عوامل اصلی مرتبط نزدیک با توسعه CRC هستند. [(Ogino et al. 2011)و(Yamauchi et al. 2012)]. اخیراً، از دست دادن SMAD4 به عنوان یک نشانگر پیش آگهی امیدوارکننده برای بیماران CRC شناسایی

شده است، زیرا ارتباط قابل توجهی با پیامدهای بالینی بدتر، مقاومت شیمیایی و کاهش انفیلتراسیون ایمنی دارد (Wasserman et al. 2019). مطالعات قبلی نشان داده است که سیگار کشیدن و چاقی از عوامل خطر CRC هستند. با این حال، مطالعات MPE نشان داده است که سیگار یک عامل خطر برای زیرگروه CRC با فنوتیپ متیلاتور جزیره CpG یا MSI بالا است، در حالی که چاقی یک عامل خطر برای زیرگروه CRC غیر MSI بالا است[(Ogino et al. 2013)و(Suzuki et al. 2014)]. الگوی غذایی نیز یک عامل مهم در CRC است. مشخص شده است که دریافت کلسیم با خطر CRC نسبت معکوس دارد. عملکرد کلسیم در پیشگیری ایمنی از CRC با تنظیم عملکرد سلول[(Zhang et al. 2016) و (Keum et al. 2014) و (Yang et al. 2019)]. با این حال، مشخص شده است که مصرف الکل خطر ابتلا به زیرگروه‌های جهش یافته CRC KRAS-wild/BRAF-wild و KRAS را افزایش می‌دهد(Jayasekara et al. (2017). Fusobacterium nucleatum یک میکروارگانیسم بیماری زا است که در ایجاد و پیش آگهی CRC نقش دارد[(Yamaoka et al. 2018) و (Hamada et al. 2019)]. مطالعات فشرده مبتنی بر مکانیسم نشان داده است که با تنظیم مسیرهای سیگنالینگ مانند مسیر E-cadherin/β-catenin و در متاستاز CRC نقش سرطان‌زایی دارد[(Rubinstein et al. 2013) و (Bullman et al. 2017)]. مطالعات MPE همچنین نشان داده است که آسپرین می‌تواند خطر و مرگ و میر بیماران را در زیرگروه CRC مثبت PTGS2 کاهش دهد، اما نه زیرگروه CRC PTGS2 منفی(Benelli،(2018 Venè and Ferrari). علاوه بر این، در مقایسه با زیرگروه PI3KCA-wild، آسپرین برای اعمال اثر ضد سرطانی قوی در برابر زیرگروه CRC جهش یافته با PI3KCA تأیید شده است [(Gu et al. 2017) و (Liao et al. 2012)]. شکی نیست که استفاده از MPE برای مطالعه سرطان استراتژی دقیق تر و موثرتری برای پیشگیری و درمان CRC ارائه می‌دهد.

درمان‌های مرسوم برای CRC شامل جراحی و شیمی‌درمانی است. شیمی‌درمانی می‌تواند با القای آسیب DNA یا آغاز مسیرهای سیگنال دهی متعدد، از جمله توقف چرخه سلولی، مهار ترجمه جهانی، ترمیم DNA، و غیره منجر به مرگ سلول سرطانی شود (Woods،2013 Turchi and therapy). با این حال، همانطور که بسیاری از مطالعات، از جمله مطالعات MPE نشان داده اند، نتیجه درمان داروهای شیمی‌درمانی در بیماران CRC با نوع فرعی سرطان متفاوت است. اثرات سمیت سلولی، مقاومت دارویی و عوارض جانبی مشکلات اصلی مرتبط با شیمی‌درمانی هستند. (Huang et al. 2019).

۱-۵-۱ مسیرهای آپوپتوز

۱-۵-۱-۱ مسیر بیرونی

هنگامی‌که لیگاندهای خارج سلولی مانند TNF فاکتور نکروز تومورFas-L لیگاند (Fasو) TRAIL لیگاند القا کننده آپوپتوز مرتبط با (TNFبه حوزه خارج سلولی DR گیرنده‌های گذرنده) متصل می‌شوند، سیگنال دهی آپوپتوز از طریق مسیر بیرونی درگیر می‌شود. گیرنده TNF نوع ۱ (TNFR1)، Fasهمچنین CD95/Apo-1 نامیده می‌شود و گیرنده‌های TRAIL. ترتیب رویدادهای درگیر در مرحله بیرونی آپوپتوز به خوبی با مدل‌های FasL/FasR و TNF-α/TNFR1 مشخص می‌شود. این تحریک DRs توسط لیگاندهای مرگ خاصDLs منجر به تشکیل یک مرگ می‌شود. کمپلکس سیگنال دهی القاییDISC این DISC از دامنه مرگ مرتبط با (DD) Fas حاوی DD به عنوان یک مولکول آداپتور، پروکاسپاز-۸، پروکاسپاز-۱۰ و پروتئین‌های بازدارنده FLICE سلولی (c-FLIPs تشکیل شده است. کاسپاز ۸ به گونه ای فعال می‌شود که دامنه کاسپاز ۸ در DISC باقی می ماند، در حالی که کاسپاز ۸ فعال از DISC جدا می‌شود تا آبشار فعال سازی کاسپاز را آغاز کند که مرحله اجرای آپوپتوز را تشکیل می‌دهد. شواهد تجربی نقش بیش از حد کاسپازها را نشان می‌دهد. در آپوپتوزکاسپازها آغازگر و مجریان ضروری آپوپتوز هستند و عملکرد آن‌ها ارتباط نزدیکی با ساختار آن دارد که ترجیحات زیرلایه متفاوتی دارد. برخی از کاسپازها دارای دامنه‌های جانبی طولانی هستند که شامل موتیف خاصی مانند دامنه عامل مرگ (DED) و دامنه‌های جذب کاسپاز (CARD) است که امکان تعامل با پروتئین‌های دیگر را فراهم می‌کند و با مسیرهای سیگنالی ارتباط برقرار می‌کند. DED شامل کاسپاز-۸ و کاسپاز-۱۰ است در حالی که CARD شامل کاسپاز-۱،

کاسپاز-۲، کاسپاز-۴، کاسپاز-۵، کاسپاز-۹، کاسپاز-۱۱ و کاسپاز-۱۲ کاسپازهایی است که به طور سنتی به عنوان کاسپازهای آغازگر و عامل یا کاسپازهای اعدام طبقه بندی می‌شوند(Jan 2019).

۱-۵-۱-۲ مسیر ذاتی

مسیر ذاتی عمدتاً به مسیر آپوپتوز با واسطه میتوکندری اشاره دارد. مسیر ذاتی ایجاد شده توسط استرس‌های اضافی و درون سلولی مختلف، که شامل استرس اکسیداتیو، تابش، و درمان با داروهای سیتوتوکسیک است. و متعاقبا، سیتوکروم c آزاد شده از فضای بین غشایی میتوکندری به داخل سیتوزول.Bcl-2 و Bcl-xL عضو خانواده Bcl-2 پروتئین‌های ضد آپوپتوز هستند که از آزاد شدن سیتوکروم c. 52 جلوگیری می‌کنند سیتوکروم c با Apaf-1 و procaspase-9 برای تولید آپوپتوزوم. آپوپتوزوم یک کمپلکس چند پروتئینی است که از یک کمپلکس حلقه ای شکل هفت پره تشکیل شده است که باعث تحریک کاسپاز ۹ و به دنبال آن فعال شدن آبشار کاسپاز سیگنال دهنده کاسپاز-۳ می‌شود که منجر به تخریب سلول‌ها می‌شود و به آپوپتوز ختم می‌شود. (Jan. (2019

۱-۵-۱-۳ مسیر اجرا

هر دو مسیر بیرونی و درونی در یک نقطه (مرحله اجرا) همگرا می‌شوند. مرحله اجرا به مسیر نهایی آپوپتوز اشاره دارد. کاسپاز-۸ و ۹ کاسپازهای آغازگر هستند در حالی که کاسپاز-۳، کاسپاز-۶ و کاسپاز -۷، کاسپاز-۱۰، CAD فعال شده با کاسپاز) و PARP هستند. ریبوز پلیمراز به عنوان کاسپازهای مؤثر یا جلاد طبقه‌بندی می‌شوند کاسپازهای آغازگر در نتیجه خودکلیواژ فعال می‌شوند، که بیشتر کاسپازهای اعدامی‌را فعال می‌کند که بعداً برخی از بسترها را که منجر به آپوپتوز می‌شود، پروتئولیز می‌کنند. آن‌ها دارای دامنه‌های طولانی هستند که مولکول‌های آداپتور بزرگ را به هم متصل می‌کنند و باعث افزایش مولتی‌مریزاسیون می‌شوند و منجر به فعال‌سازی سایر کاسپازها می‌شوند. با این حال، کاسپازهای مؤثر دارای دامنه‌های کوتاهی هستند که با فعال شدن توسط کاسپازهای آغازگر، آپوپتوز را اجرا می‌کنند. کاسپازهای جلاد اندونوکلئاز سیتوپلاسمی‌را فعال می‌کنند که باعث تراکم کروماتین، تشکیل حباب‌های سیتوپلاسمی و اجسام آپوپتوز می‌شود. کاسپازها مرگ سلولی آپوپتوز را از طریق برش پروتئین‌های هدف متعدد تنظیم می‌کنند مسیر با فعال‌سازی کاسپازهای اجرایی آغاز می‌شود که باعث فعال شدن بیشتر اندونوکلئاز سیتوپلاسمی می‌شود. اندونوکلئاز سیتوپلاسمی مواد هسته ای را تجزیه می‌کند و پروتئازها به دنبال تخریب پروتئین‌های هسته ای و اسکلت سلولی است. در بین همه کاسپازهای اعدام، کاسپاز-۳ مهمترین است و هر یک از کاسپازهای آغازگر می‌تواند آن را فعال کند. اندونوکلئاز CAD به صراحت توسط کاسپاز-۳ فعال می‌شود که باعث تخریب DNA کروموزومی‌در هسته و متراکم شدن کروماتین می‌شود. کاسپازهای اعدام نقش اساسی در سازماندهی مجدد اسکلت سلولی و تشکیل حباب‌های سیتوپلاسمی و اجسام آپوپتوز دارند(Jan 2019).

۱-۶ Caspas و MMP

در مسیر سرطان کلون بررسی ژن‌های caspase و MMP حائز اهمیت می باشند، به این دلیل که مطالعات اخیر بر روی caspaseها نشان داده است که چند شکلی در آن‌ها می‌تواند باعث تغییر عملکرد و در نتیجه باعث ایجاد سرطانهای مختلف از جمله سرطان کلون شود(Abediankenari et al. 2013). همچنین MMPها خانواده‌ای از آنزیم‌های پروتئولتیک هستند که در هضم بسیاری از ترکیبات ماتریکس خارج سلولی و بافت غشا پایه ایفای نقش می‌کنند و از این لحاظ در فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی دارای اهمیت هستند، از بین این گروه MMP-9 تنها عضو این خانواده است که به‌خاطر دارا بودن ساختار سه تائی فیبرونکتین قادر به اتصال و هضم کلاژن به‌عنوان مهمترین ترکیب غشای پایه است و از این نظر تغییرات بیانی این ژن می‌تواند در سرطانی شدن سلول‌ها ومتاستاز سلول‌ها نقش مهمی‌داشته باشد(Hassani Derakhshandeh et al. 2018). در مهاجرت سلولی 9 و MMP2 دخیل است و از ویژگی‌های آنها این است که غشای پایه را هضم می‌کنند و منجر به ایجاد تغییرات در ماتریکس خارج سلولی می‌گردد که آن را برای تهاجم و مهاجرت سلول‌های سرطانی مناسب می‌کند(Carmeliet and Jain 2011).

۱-۶-۱ عملکرد متالوپروتینازها و ویژگی‌های ۹ و۲ MMP

در ایالات متحده، سرطان کولورکتال (CRC) سومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان است و گزینه‌های درمانی محدودی برای مبتلایان به بیماری پیشرفته وجود دارد. متالوپروتئینازهای ماتریکسMMPs برای حفظ هموستاز خارج سلولی مهم هستند، اما همچنین نقش برجسته ای در تهاجم و انتشار سلول‌های سرطانی دارند. سطح بیان MMP-1، 2-، 7-، 9- و -۱۳ با نتایج بدتر ارتباط دارد. به نظر می‌رسد بیان MMP-12 محافظ است. از این رو،MMP ها اهداف درمانی جذابی هستند. آزمایش‌های بالینی قبلی با استفاده از مهارکننده‌های MMP با طیف وسیع، به دلیل سمیت خارج از هدف و عدم کارایی، ناامیدکننده بودند. اکنون، در دسترس بودن مهارکننده‌های ایمن‌تر و انتخابی‌تر، علاقه به هدف‌گیری درمانی MMP را افزایش داده است. پاتوژنز CRC ناشی از یک فرآیند پیچیده و چند مرحله‌ای است که از تبدیل نئوپلاستیک سلول‌های طبیعی، تهاجم بافتی، داخل عروقی و خارج شدن عروق و در نهایت کاشت در اندام دیگر، معمولاً کبد، پیشرفت می‌کند. در تمام بافت‌ها، ماتریکس خارج سلولی یک چارچوب ساختاری و بیوشیمیایی برای پشتیبانی سلولی و داربست، با طیف وسیعی از عملکردها برای تنظیم سیگنال‌دهی بین سلولی و درون سلولی، و برای تمایز، چسبندگی و تهاجم سلولی، فراهم می‌کند. سلول‌های سرطانی با ECM تعامل دارند و بازسازی ساختاری برای مهاجرت از محل تومور اولیه مهم است. پروتئین‌های تشکیل دهنده ECM نقش مهمی‌در تکثیر و مهاجرت سلولی دارند و پروتئازهای مختلف بازسازی و تخریب ECM را کنترل می‌کنند. یک گروه خاص از آنزیم‌های پروتئولیتیک، متالوپروتئینازهای ماتریکس MMPs به طور گسترده به عنوان واسطه‌های کلیدی تخریب ECM و در پردازش سایر مولکول‌های زیست فعال مورد مطالعه قرار گرفتندMMP ها همچنین "ریزش فاکتور رشد" سطح سلول را تنظیم می‌کنند که آزادسازی پروتئولیتیک چندین پروتئین مانند فاکتورهای رشد، کموکاین‌ها و مولکول‌های چسبندگی را تنظیم می‌کند. در انواع سرطان‌های مختلف، افزایش بیان و فعال‌سازی MMP به طور کلی علائم بارز پیشرفت تومور از جمله رگ‌زایی، تهاجم و متاستاز را افزایش می‌دهد و با بقای کوتاه‌تر ارتباط دارد. با این وجود، اخیراً برخی از MMPها نشان داده شده انداده شده است که اثرات محافظتی تومور دارد. (Said Raufman and Xie 2014).MMP ها شامل یک خانواده بزرگ از حداقل ۲۵ اندوپپتیداز وابسته به روی هستند که قادر به تخریب تمام اجزای ECM هستند و در درجه اول با ویژگی‌های ساختاری آنها به عنوان ژلاتینازها، کلاژنازها، نوع غشایی، استروملیزین‌ها و ماتری لیزین‌ها طبقه بندی می‌شوند. MMPها دارای یک ساختار دامنه مشترک شامل یک پروپپتید، یک دامنه کاتالیزوری، یک دامنه C ترمینال مشابه هموپکسین و یک ناحیه لولا هستند که محل کاتالیزوری را با دامنه هموپکسین پیوند می‌دهد آنها به عنوان زیموژن‌های غیرفعال ترشح شده یا مرتبط با غشاء سنتز می‌شوند و باید به صورت پروتئولیتی به حالت فعال پردازش شوند. این پردازش شامل حذف یک باقی مانده سیستئین است که با یون‌های روی از محل فعال در تعامل است و در نتیجه باعث فعال شدن MMP می‌شود. خانواده MMP یکی از خانواده‌هایی است که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است، زیرا بسیاری از اعضای این گروه در تهاجم و متاستاز سرطان نقش دارند. اخیراً، MMPها به دلیل نقش‌های اضافی نسبت داده شده به عملکردهایشان، به عنوان مثال، بسیج فاکتور رشد و پردازش مولکول‌های سطحی، مورد توجه مجدد قرار گرفته‌اند. در حال حاضر، ۲۳ ژن MMP انسانی وجود دارد که از نظر ساختاری شبیه به یکدیگر هستند، که نشان می‌دهد آنها با تکرار یک ژن مشترک اجدادی و به دنبال آن تکامل واگرا تکامل یافته اند (Moura-da-Silva et al، 1996). بر اساس ویژگی سوبسترا و سازماندهی دامنه، MMPها به طور آزمایشی به چهار گروه اصلی تقسیم می‌شوند: کلاژنازهای بینابینی، ژلاتینازها، استروملیزین‌ها و MMPهای نوع غشایی. اکثر MMPها به صورت پروآنزیم ترشح می‌شوند و در حوزه‌های ساختاری متمایز سازماندهی می‌شوند، با برخی تفاوت‌ها در ترکیب و تعداد دامنه ژلاتیناز A (MMP-2) و ژلاتیناز B (MMP-9) با سایر MMPها تفاوت دارند زیرا دارای سه تکرار پشت سر هم فیبرونکتین نوع II در انتهای آمینه ماژول کاتالیزوری است که پیوند ژلاتین را واسطه می‌کند علاوه بر این، این دو آنزیم با مهارکننده‌های فیزیولوژیکی به ترتیب، TIMP-2 و TIMP-1 حتی اگر به شکل پروآنزیمی باشند، برهم کنش دارند به طور سنتی، MMP-2 و MMP-9 به دلیل توانایی آنها در تخریب کلاژن نوع IV، یکی از اجزای اصلی غشای پایه، با مرحله تهاجمی‌کارسینوم‌ها در ارتباط هستند متالوپروتئینازهای ماتریکس، به ویژه

ژلاتینازهای MMP-2 و MMP-9، در سال‌های اخیر به عنوان نشانگرهای تومور احتمالی برای کاربردهای بالینی مورد توجه قرار گرفته اند. دلیل اصلی علاقه مشاهده شده، تشخیص آسان آنها در مایعات بدن است. علاوه بر این، شواهد اخیر عملکردهای متعدد MMPها را نشان داده اند، به جای اینکه صرفاً ECM را تخریب کنند، که شامل بسیج عوامل رشد و پردازش مولکول‌های سطحی است. چندین نویسنده افزایش سطوح MMPs را در تعدادی از سرطان‌ها گزارش کرده اند متالوپروتئینازهای ماتریکس، به ویژه ژلاتینازهای MMP-2 و MMP-9، در سال‌های اخیر به عنوان نشانگرهای تومور احتمالی برای کاربردهای بالینی مورد توجه قرار گرفته اند. دلیل اصلی علاقه مشاهده شده، تشخیص آسان آنها در مایعات بدن است. علاوه بر این، شواهد اخیر عملکردهای متعدد MMPها را نشان داده اند، به جای اینکه صرفاً ECM را تخریب کنند، که شامل بسیج عوامل رشد و پردازش مولکول‌های سطحی است. چندین نویسنده افزایش سطوح MMPs را در تعدادی از سرطان‌ها گزارش کرده اند(Said et al. 2014). خانواده MMP یکی از خانواده‌هایی است که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است، زیرا بسیاری از اعضای این گروه در تهاجم و متاستاز سرطان نقش دارند. اخیراً، MMPها به دلیل نقش‌های اضافی نسبت داده شده به عملکردهایشان، به عنوان مثال، بسیج فاکتور رشد و پردازش مولکول‌های سطحی، مورد توجه مجدد قرار گرفته‌اند. در حال حاضر، ۲۳ ژن MMP انسانی وجود دارد که از نظر ساختاری شبیه به یکدیگر هستند، که نشان می‌دهد آنها با تکرار یک ژن مشترک اجدادی و به دنبال آن تکامل واگرا تکامل یافته اند. بر اساس ویژگی سوبسترا و سازماندهی دامنه، MMPها به طور آزمایشی به چهار گروه اصلی تقسیم می‌شوند: کلاژنازهای بینابینی، ژلاتینازها، استروملیزین‌ها و MMPهای نوع غشایی. اکثر MMPها به صورت پروآنزیم ترشح می‌شوند و در حوزه‌های ساختاری متمایز سازماندهی می‌شوند، با برخی تفاوت‌ها در ترکیب و تعداد دامنه ژلاتیناز A (MMP-2) و ژلاتیناز B (MMP-9) با سایر MMPها تفاوت دارند زیرا دارای سه تکرار پشت سر هم فیبرونکتین نوع II در انتهای آمینه ماژول کاتالیزوری است که پیوند ژلاتین را واسطه می‌کند علاوه بر این، این دو آنزیم با مهارکننده‌های فیزیولوژیکی (به ترتیب، TIMP-2 و TIMP-1)حتی اگر به شکل پروآنزیمی باشند، برهم کنش دارند به طور سنتی، MMP-2 و MMP-9 به دلیل توانایی آنها در تخریب کلاژن نوع IV، یکی از اجزای اصلی غشای پایه، با مرحله تهاجمی‌کارسینوم‌ها در ارتباط هستند (Said et al. 2014).

۱-۶-۲ عملکردCaspasها

کاسپازها یک خانواده حفاظت‌شده تکاملی از پروتئازهای وابسته به سیستئین هستند که در بسیاری از فرآیندهای حیاتی سلولی از جمله آپوپتوز، تکثیر، تمایز و پاسخ التهابی نقش دارند. اختلال در تنظیم آپوپتوز و التهاب با واسطه کاسپاز با پاتوژنز بیماری‌های مختلف مانند بیماری‌های التهابی، اختلالات عصبی، بیماری‌های متابولیک و سرطان مرتبط است. مهارکننده‌های کاسپاز متعدد به عنوان یک ابزار درمانی بالقوه برای درمان آسیب شناسی‌های مرتبط با مرگ سلولی طراحی و سنتز شده اند. با این حال، تنها تعداد کمی به دلیل چالش‌های ثابتی که در میان انواع مختلف مهارکننده‌های کاسپاز مورد استفاده برای درمان پاتولوژی های مختلف، از جمله اثربخشی ناکافی، ویژگی هدف ضعیف، یا عوارض جانبی نامطلوب با آن مواجه هستند، به آزمایش‌های بالینی رسیده‌اند. نکته مهم، بخش بزرگی از این شکست در عدم درک عملکردهای مختلف کاسپاز است. برای غلبه بر چالش‌های فعلی، مطالعات بیشتر در مورد درک عملکرد کاسپاز در یک مدل بیماری یک نیاز اساسی برای توسعه مؤثر مهارکننده‌های آنها به عنوان درمانی برای آسیب‌شناسی‌های مختلف است. بنابراین، بررسی حاضر بر روی خواص توصیفی و ویژگی‌های مهارکننده‌های کاسپاز شناخته شده تا به امروز، و کاربرد درمانی آنها در مطالعات حیوانی و بالینی تمرکز دارد. علاوه بر این، یک بحث مختصر در مورد دستاوردها، و چالش‌های فعلی با آن، برای حمایت از ارائه دیدگاه‌های بیشتر برای توسعه بیشتر مهارکننده‌های کاسپاز درمانی موفق برای بیماری‌های مختلف ارائه شده است(Dhani et al. 2021).
کاسپازهای جلاد، وقتی فعال می‌شوند، صدها یا هزاران بستر را در سلول می‌شکافند تا آپوپتوز را هماهنگ کنند. در اکثر حیوانات، کاسپازهای جلاد دارای دامنه‌های کوتاهی هستند که فاقد مکان‌های تعاملی برای پروتئین‌های دیگر هستند اشکال غیرفعال (یا "پروفورم") این کاسپازها به صورت دایمر در سلول وجود دارند که پتانسیل تشکیل دو محل فعال را دارند. اینها از تشکیل مکان‌های فعال خود تا زمانی که بین زیر واحدهای بزرگ و کوچک شکافته شوند، محدود می‌شوند. این شکاف به

تعامل زنجیره-زنجیره اجازه می‌دهد که دو محل فعال را در جای خود ببندد و به پروتئاز که اکنون بالغ شده است اجازه می‌دهد حداکثر عملکرد را داشته باشد. این یک قانون مهم برای درک آپوپتوز است که قابل تکرار است: کاسپازهای جلاد که آپوپتوز را هماهنگ می‌کنند در سلول‌ها به‌عنوان دایمرهای غیرفعال وجود دارند که با شکاف بین زیر واحدهای بزرگ و کوچک فعال می‌شوند(Green 2022).

۱-۷ کشت سلول

به منظور انتخاب سلول‌های بنیادی سرطانی کولون، بهترین گزینه برای کشت سوسپانسیون سلولی بافتهای هضم شده، فلاسک‌های سلولی غیر چسبان حاوی محیط کشت اختصاصی است. محیط کشت سلولهای بنیادی حاوی (F12/DMEM) که با چندین فاکتور مطلوب رشد سلول‌های بنیادی غنی شده اند و فاقد (FBS سرم جنین گاوی) می باشند برای رشد سلول‌های توموری نابالغ مناسب است. اما سلول‌های تمایزیافته یا غیر سرطانی به طور منفی انتخاب می‌شوند و میمیرند. در نها یت این فرایند منجر به تشکیل کولونیهای گرد سلولی به نام اسفیر میشود. سلولهایی که در این محیط رشد می‌کنند فعالیت خود تجدید شوندگی دارند. برای انجام کشت سلولی سوسپانسیون سلولی به اندازه ی ۱۰۰۰۰ سلول در هر میلی متر با محیط کشت فاقد سرم رقیق شد. در این جا محیط کشت فاقد سرم، F12-DMEM بود که با فاکتورهای متعدد غنی شده بود بعد از گذشت حدود سه هفته اسفیرها توسط میکروسکوپ فاز معکوس قابل مشاهده بودند. سلولهای موجود در پلیت قابل پاساژهستند. تمامی مواد و محلولها برای کشت سلولی تست شده بودند. بعد از مشاهده کولونی‌ها رشد اسفیرها به صورت روزانه بررسی شد تا در صورت لزوم سلول‌ها پاساژ داده شوند. این زمان حدود چهار روز بود؛ یعنی سلولها بعد از گذشت چهار روز امکان پاساژ داشتند. پاساژ کولونی‌ها نیازمند از هم پاشیده شدن آنها و تولید سوسپانسیون تک سلولی بود. دو روش برای پاساژ کولونی‌های سلولی وجود دارد که شامل روش مکانیکی و روش آنز یمی است. در روش مکانیکی ابتدا سوسپانسیون سلولی به لوله ی سانتریفیوژ انتقال داده شد و سوسپانسیون در 450 g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه ساتریفیوژمی‌شود. بعد از سانتریفیوژسوپرناتانت دور ریخته شد و رسوب سلولی در ۳ میلی لیتر محیط کشت سلولهای بنیادی دوباره سوسپانسیون گردید. در این بخش سوسپانسیون سلولی با کمک پیپت استریل به مدت ۱۰ دقیقه پیپت کردن سوسپانسیون از لحاظ وجود اسفیر با چشم بررسی گردید. در این حالت نباید چیه اسفیری با چشم قابل مشاهده باشد. در صورت مشاهده ی اسفیرها، پایپتینگ برای ۵ تا ۱۰ دقیقه ادامه یافت. در مرحله ی آخر درصد حیات سلول‌ها با تریپان بلو بررسی و سلولها شمارش و در نها یت به پلیت‌های جدیدی منتقل شدند. در روش آنزیمی نیز مشابه روش مکانیکی ابتدا سوسپانسیون سلولی به لوله ی سانتر یفیوژ منتقل و بعد ازاین که به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه نگهداری شد، سوپرناتانت دورریخته و رسوب سلولی دوباره در۳ تا ۵ میلی لیتر 1 × (EDTA/Trypsin) سوسپانسیون شد. در این جا هم سوسپانسیون سلولی به مدت ۳ دقیقه بالا و پایین شد. بعد از این مرحله، سوسپانسیون سلولی به انکوباتر ۳۷ درجه منتقل وسوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه گردید. با گذشت۱۰ دقیقه سوسپانسیون از انکوباتور خارج شده، به آن ۳ تا ۵ میلی لیترمحیط کشت سلوله ای بنیادی اضافه شد. در مرحله ی بعد رسوب سلولی مرحله ی قبل در محیط کشت دوباره سوسپانسیون گردید. در این مرحله درصد حیات سلول‌ها با تریپان بلو بررسی شد و سلولها شمارش و در نهایت به پلیت‌های جدید منتقل شدند(میرزایی و همکاران ۲۰۱۱).

شکل۱-۲ هود لامینار و فلاسک کشت

۱-۸ ویژگی محصولات طبیعی برای درمان

محصولات طبیعی پیچیده و متنوع‌اند. بسیاری از محصولات طبیعی فعالیت‌های بیولوژیکی عالی در برابر التهاب، ویروس‌ها، باکتری‌ها، تومورها و غیره از خود نشان داده اند. استفاده از داروهای مشتق شده از محصولات طبیعی کمک زیادی به سلامت انسان کرده است، به عنوان مثال، پنی سیلین برای درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی استرپتومایسین برای درمان طولانی مدت سل ضد التهاب قابل توجهی است. مونوترپن گلیکوزید مشتق از گیاه، پائونی فلورین ترکیب طبیعی ضد اچ آی وی مشتق از گیاه، پتنتی فلورین سیکلوسپورین که دارای اثرات تعدیل کننده سیستم ایمنی است واستاتین که دارای عملکرد هیپولیپیدمیک است-اسیدین] و که فعالیت ضد توموری دارد (Ali et al. 2013). محصولات طبیعی که به خوبی تحمل می‌شوند و سمیت کمتری دارند به بیماران کمک می‌کند تا به نتایج درمانی بهتری دست یابند و کیفیت زندگی خود را بهبود بخشند. بسیاری از عوامل شیمی‌درمانی با بررسی ترکیبات بالقوه از گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها از جمله موجودات دریایی شناسایی شده‌اند، و مشخص شده است که اینها اثرات ضد سرطانی علیه انواع تومورها دارند انباشته شدن شواهد از مطالعات قبلی نشان داده است که داروهای مشتق شده از محصولات طبیعی چشم انداز کاربردی گسترده ای برای درمان CRC دارند چرخه سلولی به شدت توسط نقاط بازرسی کنترل می‌شود تا اطمینان حاصل شود که سلول‌ها در مراحل متوالی و درست جهت‌دار تکثیر می‌شوند. بی نظمی چرخه سلولی می‌تواند باعث تکثیر غیر طبیعی سلول‌های سرطانی شود. نشان داده شده است که بسیاری از محصولات طبیعی با کنترل میتوز و چرخه سلولی، تکثیر سلول‌های سرطانی را مهار می‌کنند و بنابراین، جایگزین‌های بالقوه مهمی برای داروهای شیمی‌درمانی هستند.

۱-۸-۱ محصولات طبیعی به عنوان داروهای ضد CRC

محصولات طبیعی به منابع پرکار داروهای ضد سرطان جدید تبدیل شده‌اند و تقریباً ۵۰ درصد از داروهای ضد سرطانی که در حال حاضر استفاده می‌شوند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از محصولات طبیعی مشتق شده‌اند. این محصولات، از جمله آلکالوئیدها، پلی‌ساکاریدها، پلی فنول‌ها، دی‌ترپنوئیدها و اسیدهای چرب غیراشباع ساختارهای مختلفی دارند (Newman and Cragg 2016). کشف مداوم چنین محصولاتی مسیر جدیدی را برای پیشگیری و درمان سرطان‌ها باز کرده است. داروهای مبتنی بر محصول طبیعی که به صورت بالینی برای درمان CRC استفاده می‌شوند.

۱-۸ بالنگو(*Lallemantia iberica*)

گیاهی است یکساله یا چند ساله علفی یا بوته ای پاکوتاه، در مرحله بلوغ ارتفاع بوته آن ۴۰. ۸ سانتی متر است. میانگین تعداد جفت برگ در ساقه اصلی. طول برگ در ساقه اصلی از پایین به بالا به برگ چهار افزایش می یابد و سپس به سمت بالا کاهش می یابد. هر برگ دارای شاخه‌های یدک کش است، یکی در هر طرف برگ، هر شاخه دارای ساقه ای به طول ۲ میلی متر و لبه آن است. با سایبان فرآیند انشعاب در شش گره اول ساقه اصلی انجام می‌شود و شاخه‌ها در حال رشد هستند از هر شاخه برگ (شاخه‌های مخالف). گل آذین در ورتیکیلوس از گره هفتم شروع به رشد می‌کند به سمت بالا ساقه، هنگامی‌که هفتمین جفت برگ کاملاً باز شد. کاسه گل دارای پنج دندان مثلثی شکل است که دو فروتر، دو جانبی و یکی برتر هستند. کرولا رنگ سفید دارد و دارای دو لبه بالاست لب با دو لوب و لب پایین با سه لوب. چهار پرچم وجود دارد که دو تای آنها بلندتر و دو تای آنها بلندتر است آنها کوتاهتر هستند. (Al-Snafi 2019 .)

۱-۹-۱مصارف سنتی

دانه‌های *Lalemantia iberica* به طور سنتی به عنوان بازسازی کننده، محرک، ادرار آور و خلط آور استفاده می‌شود. درمان سرماخوردگی، سرفه، درد معده و شکم. دانه آن حاوی موسیلاژ بود که درمان بیماری‌های عصبی، کبدی و کلیوی و به عنوان مقوی عمومی استفاده می‌شود. روغن برای روشنایی استفاده می‌شود، به عنوان لاک، در رنگ‌ها و به عنوان روان کننده. این روغن همچنین ممکن است برای غذاهای روغنی و به عنوان یک عامل برنزه کننده استفاده شود. این است به عنوان یک جایگزین بذر کتان در تعدادی از کاربردها از جمله نگهدارنده چوب، مواد تشکیل دهنده مبتنی بر روغن در نظر گرفته می‌شود. رنگ، پولیش مبلمان، جوهر چاپ و صابون سازی. همچنین در ساخت مشمع کف اتاق استفاده می‌شود(Al-Snafi 2019).

۱-۹-۲ترکیبات شیمیایی

Lallemantia iberica تعدادی متابولیت ثانویه مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، تانن‌ها،و تری ترپن را دارا می باشد. بذر *Lallemantia iberica* تا ۳۰٪ (حتی ۳۵-۳۸٪) روغن خشک داشت محتوای روغن لالامانتیا اسید چرب به شرح زیر است: ۶. ٪ اسید پالمتیک، ۱. ۸٪ اسید استئاریک، ۱۰. ۳٪ اسید اولئیک، ۱۰. ۸٪. اسید لینولئیک و ۶۸. ۰٪ اسید لینولنیک دارای برگ‌های دراز دندانه دار و نوک تیز میباشد دوره گلده ای آن فروردین تا اردیبهشت است و دارای دانه‌های ریز و سیاه رنگ میباشد این گیاه را با نام محلی منجه ،یاچال ،ملنگومیشناسند این گیاه پراکندگی در نواحی مختلفی از ایران از جمله کردستان،اصفهان،خراسان،سمنان و..... دارد از خانواده نعناعیان بوده که حاوی اسانس و موسیلاژ است که این گیاه در ایران، پاکستان، افغانستان، ترکمنستان و شمال هند در ارتفاع بالای900 متر وجود دارد. مهمترین ویژگی گیاه بالنگو دربذرهای این گیاه نهفته است. این بذرها منبع خوبی از فیبر، روغن و پروتئین است و خصوصیات دارویی غذایی و سلامتی برای انسان دارد، همچنین دارای مقادیر زیاد موسیلاژ بوده و در رفع سرفه، رفع خونریزی لثه‌ها، التهاب، بیماریهای روانی و تشنجات، تقویت کبد و کلیه، درد معده و شکمبه کار می‌رود و حاوی بسیاری از متابولیت‌های ثانویه مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، تانن‌ها، تری ترپن، موسیلاژ و روغن می باشد. و دارای اثرات فارماکولوژیک زیادی شامل اثرات ضد درد، ضد باکتری و آنتی اکسیدانی است *Lallemantia iberica* از خانوادهLamiaceae به طور سنتی به عنوان محرک، ادرار آور، خلط آور سرماخوردگی، سرفه، درد معده و شکم. در درمان استفاده می‌شود. بسیاری از متابولیت‌های ثانویه مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، تانن‌ها، تری ترپن، موسیلاژ و روغن. اثرات فارماکولوژیک زیادی داشت شامل اثرات ضد درد، ضد باکتری و آنتی اکسیدانی است. بررسی فعلی ترکیبات شیمیایی را مورد بحث قرار داد(Al-Snafi 2019).

۱-۹-۳ کاربرد دارویی بالنگو

اسانس بالنگو دارای فعالیت ضد قارچی وضد باکتری است و در درمان بیماری‌های عفونی و همچنین به عنوان افزودنی ضد میکروبی در غذا مورد استفاده قرار میگیرد در تحقیقی بر روی شبیه غذایی خرگوش متوجه کاهش کلسترول شدند (Movahedian and Jannesary 2015،Ghannadi). پودر دانه گیاه بالنگو یک تجزیه کننده قرص‌های دارویی است و روی سیستم ایمینی تاثیر منفی ندارد و ضایعات آن غیر سمی می‌باشد عصاره استخراج شده از این گیاه خاصیت آنتی باکتریال دارد (Seemab et al. 2013).

۱-۹-۴ خواص درمانی گیاه بالنگو

درمان مشکلات روده و معده ، التهاب ، مقوی قلب(Albayaty 2011).

درمان افسردگی و اضطراب(Vazirian and Medicine 2016،Bozorgi).

درمان یبوست ، گلودرد و سرفه ، رفع عطش(Parham and Mahdi 2012،Mohammad).

درمان بیماری‌های عصبی،کبدی، کلیوی، تقویت قوای جنسی و خلط آور ضد تهوع(Hasan et al. 2012).

بیماری‌های روده ای ، معده ای، دردهای تنفسی، ناراحتی‌های کلیوی ویادراری(Bozorgi et al. 2016).

۱-۱۰ روش اجرای تحقیق

شاملMTT و تریپان بلو جهت انجام غلظت‌های آنتی برولیفراتیو و سمیت سلولی،فلوسایتومتری برای بررسی اثر بالنگو در القای آپپتوز میباشد.

پیشینه تحقیق

Gunaskaran Sivagami و همکاران در سال ۲۰۱۲در مورد موضوع نقش هسپرتین (یک فلاونوئید طبیعی) و آنالوگ آن در آپوپتوز در رده سلولی آدنوکارسینوم کولون انسانی HT-29 تحقیقاتی انجام دادند که به این نتیجه رسیدند نهای مرتبط افزایش در سیتوکروم C، Bax، بیان کاسپاز ۳ بریده شده و کاهش بیان Bcl-2 را نشان دادند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که HN و HA از طریق مسیر میتوکندری وابسته به Bax که شامل عدم تعادل اکسیدان / آنتی اکسیدان است، آپوپتوز را در HT-29 القا می‌کنند. (Sivagami et al. 2012).

Saeed Abedian Kana و همکارانش در سال ۲۰۱۳ در مورد موضوع ارزیابی چندشکلی ژن کاسپاز ۳ و ۹ در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان مازندران مطالعه ای انجام دادند که این مطالعه نشان میدهد کـه غربـالگری پلیمورفیسـم کاسـپاز ۹ G1263>A میتواند بهعنوان یک نشانگر مفید در تعیـین حساسـیت فـردی بـه سـرطان معـده و نیـز کمـک بـه راهکارهـای پیشگیری و درمانی در افراد مستعد باشد(Abediankenari et al. 2013).

N. Khosravi Dehaghi و همکـارانش در سـال۲۰۱۶ بـر روی فیتوشـیمی و فعالیـت آنتـی اکسـیدانی انـدام‌هـای هـوایی Lallemantia iberica پژوهشی انجام دادند که نتایج به دست آمده آن نشان میدهد L. iberica را بـه عنـوان یـک گیـاه دارویی با ارزش معرفی می‌کندترکیباتی که مسئول فعالیت‌های دارویی مختلف هستند(Khosravi et al. 2016).

Kargar و همکارانش در سال ۲۰۱۶ در مورد تهیه و ارزیابی ویژگی لیپوزوم‌هـای اشریشـیاکلی بـه عنـوان یـک سیسـتم دارو رسانی نوین به سلول‌های سرطانی کولون پژوهشـی انجـام دادنـد کـه نتـایج پـژوهش نشـان داد کـه لیپـوزوم‌هـای باکتریـایی ویژگی‌های مناسب نانوذرات مانند اندازه ذره‌ای و بارگیری مطلوب را دارند و از این رو امکان اسـتفاده از آن‌هـا بـه عنـوان یـک سیستم انتقال دارو وجود دارد(Kargar et al. 2016).

April B Cabang و همکارانش در سال ۲۰۱۷بر روی اثرات درمانی ایکتیوتوکسـین اوگلنوئیـد، اوگلنوفایسـین، در سـرطان روده بزرگ تحقیقاتی انجام دادند که نتایج شواهد قانع‌کننده‌ای ارائه می‌کنند که اوگلنوفایسین می‌تواند یـک عامـل امیـدبخش ضد سرطان کولورکتال باشد که چندین فرآیند ترویج سرطان را هدف قرار می‌دهد(Cabang et al. 2017).

Bavi و همکارانش در سال ۲۰۱۷ در مورد موضوع اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های آلی جلبـک دریـایی Gelidiella acerosa سواحل چابهار بر رده‌های سلولی سرطان سینه (MCF-7) و کولورکتال (HT-29) پژوهشی انجام دادنـد کـه نتـایج حاصـل نشان می‌دهد که عصاره جلبک مورد مطالعه دارای اثر سیتوتوکسیک بالایی می‌باشد و می‌توانـد مبنـایی بـرای انجـام مطالعـات بعدی به منظور بررسی بیشتر اثرات دارویی این جلبک در درمان سرطان باشد. هم‌چنین از یافته‌های تحقیـق حاضـر مـی‌تـوان برای پژوهش‌های بیشتر جهت شناسایی، جداسازی و مشخص کردن ترکیبات خاص فیتوشیمیایی جلبک اسـتفاده کـرد. تأییـد اثرات دارویی و ضدسرطانی عصاره‌های جلبکی این تحقیـق روی پسـتانداران، نیـاز بـه مطالعـات درون‌تنـی، پـیش کلینیکـی و کلینیکی دارد. (Bavi et al. 2017).

Nasiri و همکارانش در سال ۲۰۱۷ به ارزیابی بیان ژن‌های اپوپتوزی کاسـپاز ۳و۹ بـا اسـتفاده از روش Real time PCR و فلوسیتومتری بر روی رده سلولی سرطان کولون (HT29) تحت اثر نانوذره اکسید سریم (ceo2) پرداخته شد و داده‌های آنهـا حاکی از القا آپوپتوز در این سلولها بوده است .(Nasiri et al. 2017)

Younesi و همکارانش نیز درسال ۲۰۱۷ به بررسی اثرات سمیت سلولی و آپوپتوزی داروی شیمی‌درمانی اگزالـی پلاتـین بـر روی رده سلولی سرطان کولون HT29 و آنالیز بیان ژنهـای آپوپتـوزی کاسـپاز ۳ و کاسـپاز ۹ بـه روش Real Time PCR پرداختند (Yonesi et al. 2017).

به گفته خیری و همکارانش درسال ۱۳۹۶ ترکیب گیاهی فیستین موجب القا مرگ سـلولی بـر سـلول‌هـای سـرطان کلـون بـه صورت وابسته به دوز شده است و نتایج آزمون DAPI نشان دهنده‌ی تراکم و شکست کروماتین در سلول‌ها بوده اسـت(خیری و همکاران۲۰۱۸).

بر اساس نتایج Agarwal و همکارانش در سال ۲۰۱۸ ترکیب گیاهی کورکومین از طریق فعالسازی مسیر آپوپتوز میتوکندری مستقل از گونه‌های اکسیژن فعال در سلولهای HT29 آدنوکارسینوم کولـون جهـش یافتـه Smad4 و p53 باعـث آپوپتـوز و توقف چرخه سلولی میشود(Agarwal et al. 2018).

Min Zhou و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی کاسپاز ۳ که مهاجرت، تهاجم و متاسـتاز سـلول‌هـای سـرطانی روده بـزرگ را تنظیم می‌کند مطالعه ای انجام دادند که نتایج نشان داد کاسپاز- ۳ نقش مهمی‌در ارتقای توانـایی‌هـای تومـورزایی سـلول‌هـای سرطانی کولون در شرایط آزمایشگاهی، به ویژه در تراکم‌های پایین‌تر دارد. جالب است بدانید که کلنـی‌هـای آگـار نـرم نیـز در تراکم سلولی بسیار کم قرار گرفتند. با این حال، تفاوت مشاهده‌شده در روش سه بعدی کلنی آگار نرم بسیار بـزرگ‌تـر از مـوارد

مشاهده‌شده برای رشد در دو بعدی بود، که نشان می‌دهد ویژگی‌های بیولوژیکی اضافی مانند تهاجم و توانایی بریدن ماتریکس خارج سلولی نیز در CASP3KO تحت تأثیر قرار می‌گیرد(Zhou et al. 2018).

Paula Sena و همکارانش در سال ۲۰۱۸ در مورد متفورمین که باعث ایجاد آپوپتوز و تغییر پاسخ‌های سلولی به استرس اکسیداتیو در سلول‌های سرطانی کولون HT29 می‌شود تحقیقاتی انجام دادند که نتایج نشان می‌دهد که متفورمین با افزایش آپوپتوز و اتوفاژی، اثرات بازدارنده رشد را روی سلول‌های HT29 کشت‌شده اعمال می‌کند. علاوه بر این، بر بقای سلول‌های کشت‌شده تأثیر می‌گذارد که از فعال‌سازی رونویسی فاکتور ۲ مرتبط با فاکتور هسته‌ای (NRF-2) E2 و فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-kB) جلوگیری می‌کند. اثرات متفورمین بر سلول‌های HT29 وابسته به دوز و زمان بود(Sena et al. 2018).

Chori و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی بررسی اثر نانوکورکومین دندروزومی بر بیان ژن‌های POU5F1 و NANOG در رده سلولیCaco-2 سرطان کولون پژوهشی انجام دادند که نتایج ان نشان دهنده این است که نانوکورکومین دندروزومی به صورت وابسته به زمان و غلظت، رشد سلولی را کاهش داده، علاوه بر این بیان ژن‌های POU5F1 و NANOG را در رده سلولی Caco-2 سرطان کولون کاهش می‌دهد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که نانوکورکومین دندروزومی می‌تواند به طور مؤثر در درمان سرطان کولون با کاهش بیان ژن‌های دخیل در تکثیر نامحدود سلول‌ها دخیل باشد((Choori et al. 2018).

Mirzai و همکارانش در سال ۲۰۱۸ در مورد موضوع و بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه هلیکریزوم آرتمیزیوئیدس، اثرات ضدمیکروبی و سمّیت سلولی آن بر روی رده سلولی سرطان کولون و آنالیز بیان ژن‌های آپوپتوزی با روش PCR مطالعاتی انجام دادند نتایج این مطالعه نشان داد اسانس گیاه H. artemisiodes دارای اثرات بیولوژیک چشمگیر ضدباکتریایی و ضدسرطانی است. بنابراین، پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در مورد خواص زیستی ترکیبات شناسایی‌شده انجام گیرد تا اهمیت پزشکی این گیاه بیشتر مشخص گردد و به‌عنوان یک ترکیب ضدسرطانی و ضدباکتریایی امیدبخش به مراکز دارویی پیشنهاد شود(Mirzaie et al. 2018).

Ariba Anwar و همکارانش در سال ۲۰۱۸ در مورد اینکه یک فلاونوئید طبیعی لاوسونارینگنین با هدف قرار دادن چندین مسیر سیگنالینگ باعث توقف چرخه سلولی و آپوپتوز در سلول‌های سرطانی کولورکتال HT-29 می‌شود. مطالعاتی انجام دادند که نتایج مطالعات نشان میدهد که LSG فعالیت ضد توموری خود را با متوقف کردن چرخه سلولی در فاز S و با کاهش بیان انکوژن‌ها از جمله ß-catenin، c-Myc، K-Ras و پروتئین‌های ضد آپوپتوز Bcl-2 اعمال می‌کند. و Bcl-Xl این مطالعه استفاده بالقوه از فلاونوئید طبیعی، Lawsonaringenin را برای کاهش رشد سرطان کولورکتال پیشنهاد می‌کند(Anwar et al. 2018).

Revathi Seemaisamy و همکارانش در سال ۲۰۱۸ بر روی القای آپوپتوز سلول‌های سرطانی کولون HT-29 توسط پیروگالول با اثر مهاری رشد در برابر هلیکوباکتر پیلوری مقاوم به دارو پژوهشی انجام دادند که نتایج ان نشان داد ACE و هم پیروگالول رشد هلیکوباکتر پیلوری را سرکوب کردند و به عنوان ضد سرطان کولون قابل توجه بودند(Revathi et al. 2018).

Yi Huang و همکارانش در سال ۲۰۱۸ بر روی اینکه بوراوینون B یک روتنوئید طبیعی از طریق القای درونی سازی و تخریب EGFR و ErbB2 غیرفعال شده در سلول‌های سرطان روده بزرگ انسان، فعالیت ضد سرطانی دارد تحقیقاتی انجام دادند که یافته‌های مطالعه حاضر اولین شواهدی را برایBoeravinone B ارائه می‌دهد که نشان دهنده فعالیت ضد سرطانی از طریق درونی سازی و تخریب گیرنده‌های خانواده EGFR یعنی ErbB2 و EGFR در رده‌های سلولی HT-29 است(Huang et al. 2018).

Sara Soltanian و همکارانش در سال ۲۰۱۸ در مورد موضوع FOLFOX در کاهش جمعیت جانبی و کاهش نشانگرهای سلول‌های بنیادی سرطانی در رده سلولی سرطان روده بزرگ HT-29 مطالعاتی انجام دادند که داده‌های انها نشان می‌دهد که CINN، یک جزء طبیعی، می‌تواند موثرتر از درمان FOLFOX در کاهش سلول‌های بنیادی سرطانی و بیان نشانگرهای CSC از سلول‌های سرطانی روده بزرگ HT-29 باشد(Soltanian et al. 2018)

Ali Esmail و همکاران در سال ۲۰۱۹ بر روی بررسی فواید پزشکی Lallemantia iberica-A تحقیقاتی انجام دادند که Lallemantia iberica جزء خانواده Lamiaceae می باشدکه به طور سنتی به عنوان محرک، ادرار آور، خلط آور در درمان سرماخوردگی، سرفه، درد معده و شکم استفاده می‌شود. و متابولیت‌های ثانویه زیادی تولید. می‌کنداثرات فارماکولوژیک زیادی دارد بررسی فعلی ترکیبات شیمیایی واثرات فارماکولوژیک Lallemantia iberica به عنوان یک عامل درمانی امیدوارکننده به دلیل اثربخشی و ایمنی بالا مورد استفاده قرار می‌گیرد(Al-Snafi 2019).

درتحقیقاتی کهBaharara و همکارانش در سال ۲۰۲۱ در مورد بررسی اثر منتول بر القای آپوپتوزیس و بیان ژن‌های Bax و Bcl2 در سلول‌های سرطانی کولون رده CT-26 انجام دادند به این نتیجه رسیدند که منتول سبب القای آپوپتوزیس در سلولهای سرطانی کولون CT-26 می‌شد. بنابراین استفاده از این مونوترپن میتواند به‌عنوان یک استراتژی امیدوار کننده در مطالعات کلینیکی سرطان کولون مورد توجه قرار گیرد(Khezri et al. 2021).

در بررسی که Memari و همکارانش در سال ۲۰۲۲ بر روی موضوع اثرات مهاری تومور زرمبون در برابر سلول‌های سرطانی کولورکتال انسانی HT-29 انجام دادند یافته‌هانشان داد که استفاده بالقوه‌ای برای زرمبون برای القای آپوپتوز و سرکوب متاستاز در سلول‌های HT-29 فراهم می‌کند. بنابراین، می‌توان آن را به عنوان یک عامل طبیعی امیدوارکننده برای درمان آتی CRC توسعه داد (Memari et al. 2022).

نتایج بیان ژن‌های کاسپاز ۳و۹

بررسی فعالیت کاسپاز نشان داد که فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ در گروه تیمار شده با عصاره بالنگو نسبت به گروه تیمارنشده افزایش یافته است. بنا براین می‌توان گفت که عصاره بالنگو منجر به آغاز روند مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی رده HT29 از مسیر وابسته به کاسپاز شده است

نتایج حاصل از بیان ژهای MMP۲و۹

نشان داد که فعالیتMMP2 در گروه تیمار شده با عصاره بالنگو نسبت به گروه تیمار نشده کاهش یافته است و MMP9 افزایش یافته است بنابراین میتوان نتیجه گرفت که عصاره بالنگو بر میزان بین ژن‌های MMP 2و MMP 9 تاثیر می‌گذارد.

نتیجه گیری

هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره گیاه بالنگو بر سرطان کولون رده HT29 و آنالیز بیان ژنهای آپاپتوزی کاسپاز ۳ و ۹ میباشد در این مطالعه اثر گیاه بالنگو با تکنیک MTT و رنگ آمیزی تریپان بلو ارزیابی شد و القای آپپتوز با رنگ آمیزی انکسینPI و به منظور مقایسه نتایج با یک نمونه کنترل، از سلول‌های نرمال HEK هم زمان استفاده گردید. سرطان درحال افزایش است تا کنون بیش از ۲۰۰ نوع سرطان شناخته شده است که هیچ یک از آنها درمان قطعی ندارند و به همین دلیل در پژوهش‌های مختلف بازگشت دوباره به فراورده‌های طبیعی افزایش پیدا کرده است(Shahneh et al. 2013). گیاهان همواره نقش مهمی‌را در درمان بیماری‌های انسانی دارند اما با توسعه سریع داروهای شیمیایی در دهه‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی منسوخ شده است و به علت عوارض جانبی داروهای شیمیایی و افزایش علاقه مندی استفاده از درمان‌های گیاهی در سراسر جهان بار دیگر توجه دانشمندان را به خود جلب کرده است با افزایش این علاقه مندی گیاهان دارویی جز مهم اقتصادی در کشورهای توسعه یافته تبدیل شده است بنابراین شناخت دقیق خواص درمانی و سمی‌گیاهان دارویی اهمیت زیادی دارد(Ali et al. 2013). با وجود سنتز بسیاری از داروها تخمین زده میشود که بیشتر فراورده‌های مورد مصرف منشا گیاهی دارند. به علت اینکه مواد موثره موجود در گیاهان دارویی به دلیل همراه بودن آنها با مواد دیگر پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیکی برخوردار میباشد بنابراین در بدن انباشته نمیشود و اثرات جانبی ندارد به همین دلیل نسبت به داروهای شیمیای برتری دارد ((Schlenk 2014).

نتایج حاصل از بیان ژن

که نتایج نشان داد که سلول‌های سرطانی که توسط بالنگو تیمار شده اند نسبت به سلول‌های کنترل منفی که تیمار نشده اند بیان آن‌ها تغییر کرده است. و بر روی سرطان کولون رده HT29 تاثیر گذار می باشد و خاصیت القای مرگ سلولی و مهاجرت سلولی را دارا می باشد.

ژن caspase 3 بعد از تیمار با گیاه بالنگو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که مقدار آن در ابتدا (con) برابر با عدد ۱/۲ میباشد و پس از افزایش غلظت عصاره بالنگو (high) مقدارآن به ۴/۳ افزایش پیداکرده است که حاکی از آن است افزایش غلظت عصاره باعث افزایش بیان ژن caspase 3 می‌شود.

دارابی و همکارانش در سال ۱۳۹۹ بر روی موضوع بررسی اثر عصاره گیاه سیترولوس کولوسینتوس citrullus colocynthis و فیکوسیانین بر رشد سلولی بررسی و بیان ژن‌های Bax و کاسپاز ۳ در رده سلولی سرطان کولون HT-29. پژوهشی انجام دادند که نتایج نشان داد عصاره هندوانه ابوجهل همراه با فیکوسیانین با افزایش بیان ژن‌های Bax و کاسپاز ۳ سبب القاء آپوپتوز درسلول‌های سرطانی شد که با مطالعات ما در یک راستا قرار دارد(دارابی و همکاران ۲۰۲۱).

ژن caspase 9 پس از تیمار با گیاه بالنگو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از آن است که مقدار آن در ابتدا (con) برابر با عدد ۲ میباشد و پس از افزایش غلظت عصاره بالنگو (high) مقدار آن به ۵ افزایش پیدا کرده است نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت عصاره بیان ژن caspase 9 افزایش پیدا می‌کند.

سازگار و همکارانش در سال ۱۳۹۸ بر روی بررسی اثر اوژنول بر بیان ژن‌هایcaspase 8 و caspase 9 در سلول‌های رده سرطان کلون HT29 پژوهشی انجام دادند که نتایج نشان داد اوژنول احتمالاً دارای اثر مهاری بر رشد، تکثیر و تهاجم سلول --های رده سرطان کولون از طریق افزایش بیان ژن-های CASP8 و CASP9 دارد و آپوپتوز را در سلول -های دودمان سرطانی HT29 القاء کرده و موجب کاهش خطر سرطانی شدن سلول‌های عادی شود که با نتایج ما هم سو می باشد(سازگار و همکاران ۲۰۱۹).

احمدی و همکارانش در سال ۱۴۰۰ بر روی موضوع ارزیابی اثرات ترکیب اگزالی پلاتین و دیکلوفناک بر بیان ژن کاسپاژ ۸ و ۹ در رده سلولی سرطانی کولورکتال مطالعاتی انجام دادند که نتایج نشان داد دیکلوفناک به همراه اگزالی پلاتین می‌تواند موجب اثرات سایتوتوکسیک بیشتری در مقایسه با استفاده از اگزالی پلاتین به تنهایی در سلول‌های سرطانی SW480 شود. ترکیب توام دیکلوفناک و اگزالی پلاتین با افزایش بیان ژن کاسپاز ۸ و۹ همراه می باشد که با نتایج پژوهش ما هم راستا می باشد. (احمدی و همکاران ۲۰۲۲).

ژن MMP 2 پس از تیمار با گیاه بالنگو مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که مقدار آن در ابتدا (con) برابر با مقدا۲/۱ می باشد و پس از افزایش غلظت عصاره (high) مقدار ان برابر با ۰/۳ است که کاهش چشم گیری پیدا کرده است که نشان دهنده این است که با افزایش غلظت عصاره بالنگو بیان ژن کاهش پیدا میکند.

ژن MMP 9 پس از تیمار با گیاه بالنگو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از آن است که مقدار ان در ابتدا (con) برابر با مقدار۴/۳ می باشد که پس از افزایش غلظت عصاره (high) مقدار به ۲/۲ کاهش پیدا کرده است که نشان دهنده این است که با افزایش غلظت عصاره بالنگو بیان ژن کاهش پیدا میکند.

درخشنده و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی ارزیابی بیان ژن mmp9 و اثر نانو ذرات نقره برروی رده سلولی سرطان کولون رده HT29 تحقیقاتی انجام دادند که نشان داد نانوذرات نقره باعث کاهش بیان mmp9 می‌شود که با نتایج ما هم سو می باشد. (درخشنده و همکاران ۲۰۱۸).

Suboj و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی تاثیر آلوئه امودین بر روی ژن‌های mmp9/2 مورد بررسی قرار دادند که نشان داد کاهش mmp 9/2 باعث کاهش رگ زایی و مهاجرت در سلول‌های سرطانی می‌شود که با نتایج مادر یک راستا قرار دارد(subjo et al 2012).

منابع فارسی

اربابی، مرجان، ح. پور، حلیمه، ع. زاده، مقامی & پ. .J پ. ه. س. و. مولکـولی (۲۰۲۰) اثـر سـینرژیک عصـاره گیـاه هندوانـه ابوجهل ((Citrullus colocynthisو فیکوسیانین بر القای مرگ برنامه ریزی شده در دودمان سلولی سرطان کولون انسـانی (HT-29). 33 .278-286،

جاورسیانی، ح. م. ، مرجان، س. فرد، ح. ج. جوانمرد & ش. .J م. د. ع. پ. اراک (۲۰۲۱) بررسی اثر کویزینوستات به منزله یک مهارکننده داستیلاسیون بر مهاجرت سلولی. ۲۴، ۴۵۰-۴۵۷.

حسنی درخشنده ،سادات شاندیز،سیدعطا اله،عباسی(۲۰۱۸) اثر نانو ذرات نقره برروی رده سلولی سرطان کولـون رده HT29 . ۹(۴)،۳۴۴-۳۵۲

خردمند، بابایی، محمدی & ر. .J م. ز. ش. ایران (۲۰۱۸) تاریخچه سرطان، روش‌های درمان باستان و مدرن. ۱، ۷۱-۸۰.

خیری، و. ، پریور، کاظم، ب. آرا، ف. بزاز، ب. ب. صدیقه & ا. .J ف. و. ت. جانوری (۲۰۱۸) اثر فیستین در القا مرگ سـلولی بـر سلو ل‌های سرطان کولون رده‌ی CT-29. 11.

سیف & ب. .J م. د. ع. پ. اراک (۲۰۱۸) سرطان و پرتودرمانی. ۲۱، ۱-۵.

غریبونـد، س. ، ع. بهبهـانی، نوشـاد، محمـد & ج. .J م. ع. د. ع. پ. رفسـنجان (۲۰۲۰) بررسـی گـروه‌هـای عـاملی ترکیبـات زیست‌فعال، توانایی رادیکال گیرندگی، فعالیت ضدمیکروبی و اثر سمیت سلولی عصاره آبی گیاه شیشـه‌شـور (Callistemon (citrinusبر رده سلولی :HT29یک مطالعه آزمایشگاهی. ۱۹، ۴۶۳-۴۸۴.

قدرتی، دیوسالار، عادله، آیریان & س. ف. .J س. و. بافت (۲۰۱۹) بررسی اثرات ضد سرطانی نانوذرات ساماریوم سنتز شده بـه کمک عصاره گیاه زنجبیل روی سلول‌های سرطانی کولورکتال 611TCH. ۱۰، ۲۰۲-۲۱۳.

محمد، ن. ، م. ک. هما، آ. سکینه & د. بهرام بررسی تاثیر سیتوتوکسیک کورکومین بر تکثیر سلول سرطانی روده بزرگ انسـان (HT_29).

میرزایی، امیر، س. شاندیز، س. عطااله، نوربازرگان، حسن، عسگری & ا. ع. (2016) J. T. U. M. Journalبررسی ترکیبات شیمیایی، اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، سیتوتوکسیک و آپوپتوزی عصاره گیاه به‌لیمو بر روی رده سلولی سرطان کولون. ۷۴.

میرزایی، قراگوزلو، مرجان، رضایی، عباس، کلانتری، صانعی، حسینی، مهاجری & ط. .J م. د. پ. اصفهان (۲۰۱۱) جداسـازی و تکثیر سلول‌های بنیادی بافت سرطانی کولون در محیط in vitro. 29 ،1356-1364 .

نیا، ک. ، ارغوان، زینلی، ایرانی، شیوا & ص. .J م. ت. ه. ب. سلولی-مولکولی (۲۰۲۱) بررسـی اثـر سـمیت سـلولی سـویه‌هـای اکتینومیستی انتاگونیست بر روی رده سلولی سرطان کلورکتال. ۱۲، ۰-۰.

Abdulhussein، M. F. & Z. T. S. Al-Asady. 2020. Hepatoprotactive Effect of Lallemantia royleana Seeds Extract Against the Toxicity of Rifadin Through Reduction BAX Expression in Liver Tissue of Albino Mice. In *Journal of Physics: Conference Series*، 012012 .IOP Publishing

Abediankenari، S. ، M. Shokrzadeh، H. H. Aminjan، N. Nasri & A. J. T. U. M. J. Alizadeh (2013) Evaluation of caspase3 and 9 gene polymorphisms in gastric cancer patients in Mazandaran province: a brief report. 71 .

Agarwal، A. ، A. Kasinathan، R. Ganesan، A. Balasubramanian، J. Bhaskaran، S. Suresh، R. Srinivasan، K. Aravind & N. J. N. R. Sivalingam (2018) Curcumin induces apoptosis and cell cycle arrest via the activation of reactive oxygen species–independent mitochondrial apoptotic pathway in Smad4 and p53 mutated colon adenocarcinoma HT29 cells. 51، 67-81 .

Ahmed، M. J. G. r. (2020) Colon cancer: a clinician’s perspective in 2019. 13، 1 .

Al-Kasspooles، M. F. ، S. K. Williamson، D. Henry، J. Howell، F. Niu، C. J. Decedue & K. F. J. I. n. d .Roby (2013) Preclinical antitumor activity of a nanoparticulate SN38. 31، 871-880 .

Al-Snafi، A. E. J. T. C. J. (2019) Medical benefit of Lallemantia iberica-A review. 3، 97-102 .

Albayaty، N. J. A. i. E. B. (2011) The most medicinal plants used in Iraq: Traditional knowledge. 401-407 .

Ali، I. ، A. Haque، W. A. Wani، K. Saleem & M. J. B. C. Al Za'abi (2013) Analyses of anticancer drugs by capillary electrophoresis: a review. 27، 1296-1311 .

Almnhawy، M. ، M. Jebur، M. Alhajamee، K. Marai، M. H. J. N. Tabrizi &Cancer (2021) PLGA-based nano-encapsulation of trachyspermum ammi seed essential oil (TSEO-PNP) as a safe، natural، efficient، anticancer compound in human HT-29 colon cancer cell line. 73، 2808-2820 .

Anwar، A. ، N. Uddin، B. S. Siddiqui، R. A. Siddiqui ،S. Begum & M. I. J. M. b. r. Choudhary (2018) A natural flavonoid lawsonaringenin induces cell cycle arrest and apoptosis in HT-29 colorectal cancer cells by targeting multiple signalling pathways. 45، 1339-1348 .

Armelao، F. & G. J. W. j. o. g. W. de Pretis (2014) Familial colorectal cancer: a review. 20، 9292 .

Bavi، Z. ، M. Ghaffari، A. Taheri & F. J. J. o. R. U. o. M. S. Soheili (2017) اثـر سیتوتوکسـیک و (MCF-7 سـواحل چابهـار بـر رده‌هـای سـلولی سـرطان سـینه (Gelidiella acerosaعصاره‌های آلی جلبـک دریـایی کولورکتال(HT-29). 16 .

Bellido، F. ، M. Pineda، G. Aiza، R. Valdés-Mas، M. Navarro، D. A. Puente، T. Pons، S. González، S. Iglesias & E. J. G. i. M. Darder (2016) POLE and POLD1 mutations in 529 kindred with familial colorectal cancer and/or polyposis: review of reported cases and recommendations for genetic testing and surveillance. 18، 325-332 .

Benelli، R. ، R. Venè & N. J. T. R. Ferrari (2018) Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (cyclooxygenase-2)، a complex target for colorectal cancer prevention and therapy ،۱۹۶ ،۴۲-۶۱.

Bharath، B. ، K. Perinbam، S. Devanesan، M. S. AlSalhi & M. J. J. o. M. S. Saravanan (2021) Evaluation of the anticancer potential of Hexadecanoic acid from brown algae Turbinaria ornata on HT–29 colon cancer cells. 1235، 130229 .

Bozorgi، M. ، M. J. T. Vazirian & i. Medicine (2016) Antioxidant activity of Lallemantia royleana (Benth.) seed extract. 147-150 .

Bullman، S. ، C. S. Pedamallu، E. Sicinska، T. E. Clancy، X. Zhang، D. Cai، D. Neuberg، K. Huang، F. Guevara & T. J. S. Nelson (2017) Analysis of Fusobacterium persistence and antibiotic response in colorectal cancer. 358، 1443-1448 .

Cabang، A. B. ، K. De Mukhopadhyay، S. Meyers، J. Morris، P. V. Zimba & M. J. J. O. Wargovich (2017) Therapeutic effects of the euglenoid ichthyotoxin، euglenophycin، in colon cancer. 8، 104347 .

Carmeliet، P. & R. K. J. N. Jain (2011) Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. 473، 298-307 .

Center، M. M. ، A. Jemal، R. A. Smith & E. J. C. a. c. j. f. c. Ward (2009) Worldwide variations in colorectal cancer. 59، 366-378 .

Choori، M. ، S. Boozarpour، A. Moradi، E. J. C. Jorjani & M. Researches (2018) Investigation of POU5F1 and NANOG gene expression in colon cancer cell line (Caco-2) treated by dendrosomal nano-curcumin. 31، 292-301 .

Cronin، K. A. ،A. J. Lake، S. Scott، R. L. Sherman، A. M. Noone، N. Howlader، S. J. Henley، R. N. Anderson، A. U. Firth & J. J. C. Ma (2018) Annual Report to the Nation on the Status of Cancer، part I: National cancer statistics. 124، 2785-2800 .

Dhani، S. ، Y. Zhao، B. J. C. D. Zhivotovsky & Disease (2021) A long way to go: caspase inhibitors in clinical use. 12، 1-13 .

Gajendran، M. ، P. Loganathan، G. Jimenez، A. P. Catinella، N. Ng، C. Umapathy، N. Ziade & J. G. J. D. -a. -m. Hashash (2019) A comprehensive review and update on ulcerative colitis. 65، 100851 .

Ghannadi، A. ، A. Movahedian & Z. J. A. J. o. P. Jannesary (2015) Hypocholesterolemic effects of Balangu (Lallemantia royleana) seeds in the rabbits fed on a cholesterol-containing diet. 5، 167 .

Green، D. R. J. C. S. H. P. i. B. (2022) Caspase activation and inhibition. 14، a041020 .

Gu، M. ، R. Nishihara، Y. Chen، W. Li، Y. Shi، Y. Masugi، T. Hamada، K. Kosumi، L. Liu & A. J. O. da Silva (2017) Aspirin exerts high anti-cancer activity in PIK3CA-mutant colon cancer cells. 8، 87379 .

Hamada، T. ، J. A. Nowak، D. A. Milner Jr، M. Song & S. J. T. J. o. p. Ogino (2019) Integration of microbiology، molecular pathology، and epidemiology: a new paradigm to explore the pathogenesis of microbiome-driven neoplasms. 247، 615-628 .

Hanahan، D. & R. A. J. c. Weinberg (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. 144، 646-674 .

Hasan، M. ، I. Azhar، S. Muzammil، S. Ahmed & S. J. P. J. o. B. Ahmed (2012) Antiemetic activity of some leguminous plants. 44، 389-391 .

Hassani Derakhshandeh، B. ، S. Sadat Shandiz، M. J. J. o. C. Abbasi & Tissue (2018) Evaluation of metalloproteinase matrix MMP9 gene expression and effect of silver nanoparticles toward Colon cancer cell line (HT29). 9، 344-352 .

Hollstein، M. ، Sidransky، D. ، Vogelstein، B. and Harris، C. C. ، 1991. p53 mutations in human cancers. Science، 253(5015)، pp. 49-53 .

Huang، X. -m. ، Z. -j. Yang، Q. Xie، Z. -k. Zhang، H. Zhang، J. -y. J. B. Ma & Pharmacotherapy (2019) Natural products for treating colorectal cancer: A mechanistic review. 117، 109142 .

Huang، Y. ، Y. Sun، W. -W. Wang & L. J. A. J. o. T. R. Zhang (2018) Boeravinone B a natural rotenoid exerts anticancer activity via inducing internalization and degradation of inactivated EGFR and ErbB2 in human colon cancer cells. 10، 4183 .

Jan، R. J. A. p. b. (2019) Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. 9، 205 .

Jayasekara، H. ، R. J. MacInnis، E. J. Williamson، A. M. Hodge، M. Clendenning، C. Rosty، R. Walters، R. Room، M. C. Southey & M. A. J. I. j. o. c. Jenkins (2017) Lifetime alcohol intake is associated with an increased risk of KRAS+ and BRAF-/KRAS-but not BRAF+ colorectal cancer. 14 .۱۴۹۳-۱۴۸۵ ،۰

Jiao، C. ، W. Chen، X. Tan، H. Liang، J. Li، H. Yun، C. He، J. Chen، X. Ma & Y. J. J. o. e. Xie (2020) Ganoderma lucidum spore oil induces apoptosis of breast cancer cells in vitro and in vivo by activating caspase-3 and caspase-9. 247، 11225 .۶

Kargar، M. ، S. Handali، E. Moghimipour & Z. J. B. J. o. M. Ramezani (2016) Preparation and Characterization of Escherichia coli Liposomes as a New Drug Delivery System to Colon Cancer. 5، 87-96 .

Keum، N. ، D. Aune، D. C. Greenwood، W. Ju & E. L. J. I. j .o. c. Giovannucci (2014) Calcium intake and colorectal cancer risk: Dose–response meta-analysis of prospective observational studies. 135، 1940-1948 .

Khezri، S. ، J. Baharara، E. J. J. o. C. Amini & Tissue (2021) Evaluation of the effect of menthol on apoptosis induction and Bax and Bcl2 gene expression in the CT-26 colon cancer cell line. 12، 20-28 .

KHOSRAVI، D. N. ، A. Gohari، E. S. SADAT، B. H. NAGHDI & Y. Amanzadeh (2016) Phytochemistry and antioxidant activity of Lallemantia iberica aerial parts .

Liao، X. ، T. Morikawa، P. Lochhead، Y. Imamura، A. Kuchiba، M. Yamauchi، K. Nosho، Z. R. Qian، R. Nishihara & J. A. J. C. c. r. Meyerhardt (2012) Prognostic role of PIK3CA mutation in colorectal cancer: cohort study and literature review. 18، 2257-2268 .

Marley، A. R. ، H. J. I. j. o. m. e. Nan & genetics (2016) Epidemiology of colorectal cancer. 7، 105 .

Memari، F. ، F. Mirzavi، M. Jalili-Nik، A. R. Afshari، A. Ghorbani & M. J. I. J. o. T. Soukhtanloo (2022) Tumor-Inhibitory Effects of Zerumbone Against HT-29 Human Colorectal Cancer Cells. 10915818221104417 .

Mirzaie، A. ، S. Piroozmand، Z. Mousavi & A. J. Q. U. o. M. S. J. Rustaiyan (2018) Investigation of Chemical Composition of Helichrysum artemisioides Essential Oil، and its Antibacterial and Cytotoxic Effects on Colon Cancer Cell Line and Analysis of Apoptotic Gene Expression Using PCR Method. 12، 9-18 .

Mohammad، S. A. ، J. Parham & A. J. J. o. M. P. R. Mahdi (2012) An ethnobotanical survey of medicinal plants used by indigenous people in Zangelanlo district ،Northeast Iran. 6، 749-753 .

Movahedi، M. ، Y. Movahedi، A. J. J. o. H. N. Farhadi & Midwifery (2015) Effect of hope therapy training on life expectancy and general health in cancer patients. 25، 84-92 .

Nasiri، R. ، S. Zare Karizi، N. Hayati Roodbari، R. J J. o. C. Farhadya & Tissue (2017) Cytotoxicity of cerium oxide nanoparticles (CeO2) on colon cancer cell line (HT29) and

evaluation of caspase 3 and 9 apoptosis gene expression using Real Time PCR and flow-cytometry methods. *Journal of Cell & Tissue*، 8، ۳۰۲-۲۹۴

Newman، D. J. & G. M. J. J. o. n. p. Cragg (2016) Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. 79، 629-661 .

Ogino، S. ، A. T. Chan، C. S. Fuchs & E. J. G. Giovannucci (2011) Molecular pathological epidemiology of colorectal neoplasia: an emerging transdisciplinary and interdisciplinary field. 60، 397-411 .

Ogino، S. ، P. Lochhead، A. T. Chan، R. Nishihara، E. Cho، B. M. Wolpin، J. A. Meyerhardt، A. Meissner، E. S. Schernhammer & C. S. J. M. P. Fuchs (2013) Molecular pathological epidemiology of epigenetics: emerging integrative science to analyze environment، host، and disease. 26، 465-484 .

Parsa، N. J. J. o. c. & tissue (2012) Molecular and cellular basis of human cancer. 2، 365-376 .

Peng، L. ، K. Weigl، D. Boakye & H. J. T. A. j. o. g. Brenner (2018) Risk scores for predicting advanced colorectal neoplasia in the average-risk population: a systematic review and meta-analysis. 113، 1788 .

Recio-Boiles، A. ، A. Waheed & B. Cagir (2017) Cancer، colon .

Revathi، S. ، F. L. Hakkim، N. R. Kumar، H. A. Bakshi، L. Rashan، M. Al-Buloshi، S. S. Hasson، M. Krishnan، F. Javid & K. J. A. -C. A. i. M. C. Nagarajan (2018) Induction of HT-29 colon cancer cells apoptosis by Pyrogallol with growth inhibiting efficacy against drug-resistant Helicobacter pylori. 18، 1875-1884 .

Rezaeinia، H. ، B. Ghorani، B. Emadzadeh & N. J. F. H. Tucker (2019) Electrohydrodynamic atomization of Balangu (Lallemantia royleana) seed gum for the fast-release of Mentha longifolia L. essential oil: Characterization of nano-capsules and modeling the kinetics of release. 93، 374-385 .

Rubinstein، M. R. ، X. Wang، W. Liu، Y. Hao، G. Cai، Y. W. J. C. h. Han & microbe (2013) Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/β-catenin signaling via its FadA adhesin. 14، 195-206 .

subjo،P. Babykutty،S. Gopi،D. R. V. ،Nari،R. S. ،Srinivas،P. ،&Gopala،S. (2012). Aloe emodin inhibits colon cancer cell migration/angiogenesis by downregulating MMP2/9 RhoB and VEGF via reduced DNA binding activity of NF_KB. *European*. 45(5)،581_591

Said، A. H. ، J. -P. Raufman & G. J. C. Xie (2014) The role of matrix metalloproteinases in colorectal cancer. 6، 366-375 .

Sardarodiyan، M. ، A. Arianfar، A. M. Sani، S. J. J. o. A. S. Naji-Tabasi & Technology (2019) Antioxidant and antimicrobial activities of water-soluble polysaccharide isolated from Balangu seed (Lallemantia royleana) gum. 10، 1-11 .

Schlenk، R. F. J. H. (2014) Post-remission therapy for acute myeloid leukemia. 99، 1663 .

Seemab، M. ، Q. H. Muhammad، S. Alia، I. Shabina، M. Sadia & A. J. A. j. o. m. r. Muhammad (2013) Antibacterial activity of Lallemantia royleana (Benth.) indigenous to Pakistan. 7، 4006-4009 .

Sena، P. ، S. Mancini، M. Benincasa، F. Mariani، C. Palumbo & L. J. I. J. o. M. S. Roncucci (2018) Metformin induces apoptosis and alters cellular responses to oxidative stress in Ht29 colon cancer cells: preliminary findings. 19، 1478 .

Shahneh، F. Z. ، S. Valiyari، A. Azadmehr، R. Hajiaghaee، S. Yaripour، A. Bandehagh & B. J. A. i. p. s. Baradaran (2013) Inhibition of growth and induction of apoptosis in fibrosarcoma cell lines by Echinophora platyloba DC: in vitro analysis. 2013 .

Shen، T. ، L. -D. Cai، Y. -H. Liu، S. Li، W. -J. Gan، X. -M. Li، J. -R. Wang، P. -D. Guo، Q. Zhou، X. -X. J. J. o. h. Lu & oncology (2018) Ube2v1-mediated ubiquitination and degradation of Sirt1 promotes metastasis of colorectal cancer by epigenetically suppressing autophagy. 11، 1-16 .

Siegel، R. L. ، K. D. Miller & A. J. C. a. c. j. f. c. Jemal (2019) Cancer statistics، 2019. 69، 7-34 .

Sivagami، G. ، R. Vinothkumar، C. P. Preethy، A. Riyasdeen، M. A. Akbarsha، V. P. Menon، N. J. F. Nalini & C. Toxicology (2012) Role of hesperetin (a natural flavonoid) and its analogue on apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cell line–A comparative study. 50، 660-671 .

Sokic-Milutinovic، A. J. D. D. (2019) Appropriate management of attenuated familial adenomatous polyposis: Report of a case and review of the literature. 37، 400-405 .

Soltanian، S. ، H. Riahirad، A. Pabarja، E. Jafari & B. K. J. D. J. o. P .S. Khandani (2018) Effect of Cinnamic acid and FOLFOX in diminishing side population and downregulating cancer stem cell markers in colon cancer cell line HT-29. 26، 19-29 .

Song، H. -Y. ، H. -M. Kim، S. Mushtaq، W. S. Kim، Y. J. Kim، S. -T. Lim & E. -B. J. J .o. m. f. Byun (2019) Gamma-irradiated chrysin improves anticancer activity in HT-29 colon cancer cells through mitochondria-related pathway. 22، 713-721 .

Stoffel، E. M. ، P. B. Mangu، S. B. Gruber، S. R. Hamilton، M. F. Kalady، M. W. Y. Lau، K. H. Lu، N. Roach & P. J. J. J. o. c. o. Limburg (2015) Hereditary colorectal cancer syndromes: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline endorsement of the familial risk–colorectal cancer: European Society for Medical Oncology clinical practice guidelines. 33، 209 .

Su، M. ، B. Qin، F. Liu، Y. Chen، R. J. D. D. Zhang، Development & Therapy (2017) Andrographolide enhanced 5-fluorouracil-induced antitumor effect in colorectal cancer via inhibition of c-MET pathway. 11، 3333 .

Suzuki، H. ، E. Yamamoto، R. Maruyama، T. Niinuma، M. J. B. Kai & b. r. communications (2014) Biological significance of the CpG island methylator phenotype. 455، 35-42 .

Tsai، H. -L. ، C. -J. Tai، C. -W. Huang، F. -R. Chang & J. -Y. J. M. d. Wang (2017) Efficacy of low-molecular-weight fucoidan as a supplemental therapy in metastatic colorectal cancer patients: A double-blind randomized controlled trial. 15، 122 .

Wasserman، I. ، L. H. Lee، S. Ogino، M. R. Marco، C. Wu، X. Chen، J. Datta، E. Sadot، B. Szeglin & J. G. J. C. C. R. Guillem (2019) SMAD4 loss in colorectal cancer patients correlates with recurrence، loss of immune infiltrate، and chemoresistance. 25، 1948-1956 .

Woods، D. ، J. J. J. C. b. Turchi & therapy (2013) Chemotherapy induced DNA damage response: convergence of drugs and pathways. 14، 379-389 .

Xiao، J. -b. ، A. -m. Leng، Y. -q. Zhang، Z. Wen، J. He & G. -n. J. F. i. B. -L. Ye (2019) CUEDC2: multifunctional roles in carcinogenesis. 24، 935-946 .

Xue، J. ، X. Wu، M. Qu، F. Guo، L. Han، G. Sun، Z. Yuan، S. Fan، T. J. E. -B. C. Li & A. Medicine (2020) RUNX3 inhibits the invasion and metastasis of human colon cancer HT-29 cells by upregulating MMP-2/9. 2020 .

Yamaoka، Y. ، Y. Suehiro، S. Hashimoto، T. Hoshida، M. Fujimoto، M. Watanabe، D. Imanaga، K. Sakai، T. Matsumoto & M. J. J. o g. Nishioka (2018) Fusobacterium nucleatum as a prognostic marker of colorectal cancer in a Japanese population. 53، 517-524 .

Yamauchi، M. ، T. Morikawa، A. Kuchiba، Y. Imamura، Z. R. Qian، R. Nishihara، X. Liao، L. Waldron، Y. Hoshida & C. J. G. Huttenhower (2012) Assessment of colorectal cancer molecular features along bowel subsites challenges the conception of distinct dichotomy of proximal versus distal colorectum. 61، 847-854 .

Yang، W. ، L. Liu، N. Keum، Z. R. Qian، J. A. Nowak، T. Hamada، M. Song، Y .Cao، K. Nosho & S. A. J. C. P. R. Smith-Warner (2019) Calcium intake and risk of colorectal cancer according to tumor-infiltrating T cells. 12، 283-294 .

Yonesi، B. ، A. Mirzaie، E. J. J. o. C. Aliasgari & Tissue (2017) Cytotoxicity and apoptotic effect of oxaliplatin on colon cancer cell line (HT29) and analysis of caspase 3 and caspase 9 gene expression using Real Time PCR method. 8، 364-373 .

Zhang، X. ، N. Keum، K. Wu، S. A. Smith-Warner، S. Ogino، A. T. Chan، C. S. Fuchs & E. L. J. I. j. o. c. Giovannucci (2016) Calcium intake and colorectal cancer risk: results from the nurses' health study and health professionals follow-up study. 139، 2232-2242 .

Zhou، M. ، X. Liu، Z. Li، Q. Huang، F. Li & C. Y. J. I. j. o. c. Li (2018) Caspase-3 regulates the migration، invasion and metastasis of colon cancer cells. 143، 921-930 .

ZibasazTalebi، A. & C. J. J. o. I. U. o. M. S. Ahmadizadh (2020) The Study of Expression of Casp3/Bax Genes in HT29 Colon Cancer Cell Line with Lactobacillus rhamnosus Co-Culturing. 28، 25-3 .۵