ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲٤، شماره٦، بهمن و اسفند ۱۳۹۸(شماره پی در پی ۱۳۷)

مقایسه اثرات سمی‌عصاره هیدروالکلی شقایق کوهی (*Glaucium flavum*) بر رده سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما و سلول‌های عصبی غیرسرطانی

الهام حویزی [۱و۲*]، مهشاد کلانتری[۳]، کیاوش هوشمندی [۴]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، [۲]مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فناوری ترانسژنیک دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، [۳]گروه ژنتیک، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران، [۴]گروه دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز ،اهواز، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۰۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۹

چکیده:

زمینه و هدف: تومورهای گلیوبلاستوما جزء تهاجمی‌ترین تومورهای مغزی با منشا بافت عصبی مغز می‌باشند. پایین بودن موفقیت‌های درمان این نوع تومورها، نیاز به جستجو برای راهکارهای جدید درمانی را توجیه می‌کند. شقایق‌کوهی به دلیل سرشار بودن از ترکیبات آلکالوئیدی به طور گسترده در صنعت داروسازی کاربرد دارد. هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات سمی‌عصاره هیدروالکلی شقایق‌کوهی بر رده سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما و سلول‌های غیرسرطانی عصبی بود.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه تحقیقاتی کشت سلول دانشگاه شهید چمران اهواز به انجام رسیده است. یک موش باردار در این مطالعه برای جداسازی سلول استفاده شد. ابتدا عصاره‌گیری از شقایق کوهی صورت گرفت و سلول‌های پیش‌ساز عصبی از کورتکس مغز جنین‌های موش سوری باردار ۱۷روزه با روش هضم آنزیمی‌استحصال شد. سپس با غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر شقایق کوهی، سلول‌ها در دو بازه زمانی ۲٤ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. پس از تیمار بقاء سلول‌ها با روش فتومتریک MTT و مورفولوژی هسته سلول‌ها با رنگ‌آمیزی فلوروسنت DAPI ارزیابی شد. داده ها با استفاده از آزمون آماری آنوا یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: سلول‌های مورد آزمایش پس از تیمار با غلظت IC50 شقایق‌کوهی، دچار تغییرات مورفولوژی شدند. ارزیابی بقای سلولی با روش MTT نشان داد که شقایق کوهی باعث کاهش معنی‌دار بقای سلول‌های C118 و همچنین نوروسفرهای عصبی(NCs) در هر دو بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت می‌شود. شدت سمیت سلولی شقایق کوهی بر سلول‌های گلیوبلاستوما نسبت به نوروسفرهای عصبی بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد($p<0/05$). همچنین نتایج کمی‌بقای سلولی نشان داد که غلظت ۳۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره شقایق کوهی به ترتیب غلظت IC50 برای سلول‌های C118 و NCs بوده است.

نتیجه‌گیری: فرآورده‌های طبیعی از جمله شقایق کوهی با خاصیت فارموکولوژیک و بیوشیمیایی آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی خود و با توجه به این که اثرات جانبی کمتری بر سلول های غیرسرطانی دارند، می‌توانند در درمان سرطان گلیوبلاستوما مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: گلیوبلاستوما، شقایق کوهی، سلول پیش‌ساز عصبی، بقای سلولی

***نویسنده مسئول:** **الهام حویزی**، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

Email: e.hoveizi@scu.ac.ir

مقدمه

تومورهای گلیوبلاستوما(GBM) چندشکلی یا مولتی فرم هستند و از رایج‌ترین و تهاجمی‌ترین تومورهای مغزی با منشا بافت عصبی مغز می‌باشند. با توجه به تمام پیشرفت‌هایی که در زمینه درمان این نوع تومور انجام گرفته است، میزان بقا افراد مبتلا به این تومور بسیار کوتاه و حدود ۱۳ تا ۱۴ ماه می‌باشد که تنها حدود سه درصد از مبتلایان از نرخ بقای بیش از ۴ سال برخوردار می‌باشند(۲ و۱). ۸۰ درصد از تومورهای مغزی اولیه بدخیم هستند و ۳۰ درصد از تمامی تومورهای سیستم عصبی مرکزی را انواع گلیوما ایجاد می‌کنند(۳). یکی از علل بروز این نوع سرطان‌ها عوامل محیطی مانند آسیب مکانیکی و پرتوهای الکترومغناطیسی است، اما علاوه بر نقش عوامل محیطی، اختلال در مسیرهای تحت سلولی بسیاری مانند مسیر RAS/PI3K و PI3K/PTYEN/AKT/mTOR در بروز این سرطان مؤثر می‌باشند(۴). هم‌چنین محصولات جانبی سوخت و ساز بدن و خطاهایی که در طول همانندسازی DNA رخ می‌دهند، در سرطان‌زایی دخیل هستند. محصولات جانبی حاصل از متابولیسم هوازی، رادیکال‌های اکسیژن تولید می‌کنند که جهش‌زا هستند(۵). درمان استاندارد برای گلیوبلاستوما مولتی فرم شامل برداشتن حداکثری تومور به وسیله جراحی و به دنبال آن رادیوتراپی بین ۲ تا ۴ هفته بعد از عمل جراحی است(۶). علی‌رغم پژوهش‌های کلینیکی و پاراکلینیکی وسیع جهت افزایش طول عمر بیماران مبتلا به تومور گلیوبلاستوم چند شکلی، این بیماری علایم پیش آگهی چندان مشخصی برای بیماران مبتلا ندارد و به صورت یک چالش درمانی برای نوروآنکولوژیست‌ها و جراحان مغز و اعصاب باقی مانده است. از دلایل پایین بودن موفقیت درمان‌های رایج این تومور می‌توان به مقاومت ذاتی تومور گلیوبلاستوم به شیمی‌درمانی و رادیوتراپی، عملی نبودن برداشت کامل تومور به وسیله جراحی به دلیل ماهیت تهاجمی‌تومور، وجود سد خونی ـ مغزی که دسترسی دارو را به محل تومور محدود می‌کند و سمیت عصبی عوامل درمانی که دوزهای مصرفی داروها را محدود می‌سازد، نام برد(۷).

گیاهان دارویی دارای مواد طبیعی هستند. بسیاری از این گیاهان عوارض جانبی کمتری دارند و دارای منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که می‌توانند اثرات ناشی از اکسیدان‌ها یا برخی از بیماری‌ها را کاهش دهند(۸). شقایق کوهی(*Glaucium flavum*) از تیره شقاقیان (Papaveraceae family) به دلیل اهمیت دارویی و اقتصادی که دارد در دنیای داروسازی مورد توجه می‌باشد و تاریخ استفاده از این گل به زمان‌های قدیم نسبت داده می‌شود(۹). این گونه گیاه، یک گیاه یکساله، دوساله یا چندساله با ظاهری غیر معمول و دارای برگ‌های گوشواره‌ای شکل سبز مایل به زرد می‌باشد که در طول لبه‌های خود پیچیده و گره خورده‌اند(۱۰). شقایق کوهی که به شقایق شاخ‌دار زرد(Yellow Horne puppy) معروف است به طور

معمول در اوایل تا اواسط بهار در بخش‌های وسیعی از غرب و جنوب غربی ایران گل می‌دهد و آن را نشانه نشاط و سعادت می‌دانند. این گیاه سرشار از ترکیبات آلکالوئیدی است که به طور گسترده در صنعت داروسازی کاربرد دارند. آپورفین، پروتوپین و پروتوبربرین انواعی از این ترکیبات آلکالوئیدی بوده، اما گلوسین از زیر خانواده آپورفین، مهم‌ترین آنها محسوب می‌شود. گلوسین در ترکیب با دیگر مواد ضد سرفه، به عنوان یکی از داروهای شناخته شده شربت سینه به وسیله شرکت‌های داروسازی تولید می‌شود(۱۱). کوو و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که بربرین مشتق شده از پروتوبربرین، توانایی مقابله با سرطان پستان را دارد(۱۲)، همچنین بورین و همکاران در پژوهشی گزارش کردند که عصاره شقایق کوهی باعث کاهش رشد تومور گلیومای جوجه در شرایط درون تنی با نشانه‌های کوچک شدن اندازه تومور و کاهش رگزایی شده است و حجم تومور گلیومای تیمار شده با شقایق کوهی حدود ۷۰ درصد نسبت به تومورهای کنترل کاهش اندازه داشته است. همچنین با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین تومورهای تیمارشده، نکروز وسیعی در سلول‌های توموری مشاهده شد(۱۳). به علاوه چندین نوع گیاه دیگر از خانواده و جنس شقاقیان همچون سرخبن و مامیران وجود دارد که به دلیل وجود ترکیبات آلکالوئیدی امروزه برای درمان تومورهای انسانی استفاده می‌شود(۱۵ و ۱۴). مطالعه کشمیری و همکاران نشاد می‌دهد که گاسیپول، ترکیب پلی‌فنولیک زرد رنگی که در غدد رنگدانهٔ گیاه پنبه وجود دارد، توانایی کلونی‌زایی سلول‌های سرطانی گلیوبلاستومایی را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و از سویی دیگر تأکید کردند که سلول‌های تیمار شده با گاسیپول به پروتودرمانی پاسخ بهتری نشان می‌دهند(۱۶).

پیشینه و اهمیت آلکالوئیدهای خانواده شقاقیان و فعالیت بیولوژیکی بالای آنها باعث شده که این ترکیبات موضوع بررسی‌های فیتوشیمیایی و دارویی بسیاری از محققان با عنوان داروهای ضد سرطانی شوند. هم‌چنین با توجه به این که تاکنون اثرات بیولوژیکی عصاره شقایق کوهی در محیط آزمایشگاهی به طور اختصاصی بر روی گلیوما مورد بررسی قرار نگرفته است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات سمی‌عصاره هیدروالکلی شقایق کوهی بر رده سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما(C118) و هم‌چنین بر نوروسفرهای غیرسرطانی عصبی(NCs) بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در بهار ۱۳۹۸ در آزمایشگاه تحقیقاتی کشت سلول دانشگاه شهید چمران اهواز به انجام رسیده است. در این مطالعه یک سر موش باردار از دانشگاه جندی شاپور اهواز خریداری و جهت جداسازی سلول به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه شهیدچمران اهواز منتقل شد. کل

فرآیند پژوهش به وسیله کمیته اخلاق دانشگاه شهیدچمران اهواز تأیید شد.

به منظور جداسازی این سلول‌ها یک موش سوری باردار ۱۷روزه نژاد بالب سی تهیه و سپس آسان‌کشی شد. جنین‌های موش تا حد امکان در شرایط استریل از رحم خارج شده و سپس به وسیله بافر فسفات سالین(PBS)، شستشو و بعد سر آنها جدا شد. مغزها را از سر جنین‌ها خارج و کورتکس مغزها جدا و پس از چندین بار شستشو مغزها به وسیله بافر PBS ، به مدت ۱۵ دقیقه در محلول Trypsin/ EDTA انکوبه شدند. مغزها چندین بار پیپتاژ شدند و سپس با مش‌های ۴۰ و ۷۰ میکرومتری فیلتر گردیده سوسپانسیون بافتی حاصله پس از اضافه کردن محیط کشت، با دور ۱۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی پس از سانتریفوژ دور ریخته شد و به پلت سلولی تشکیل شده ۵ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM حاوی ۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر FGFb(Fibroblast growth factor) و ۱۰ درصد FBS اضافه شد. ترکیب جدید آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین ۱ درصد، اضافه شد و به عنوان کشت سلول اولیه در فلاسک کشت شده و سپس با شرایط 5CO2 درصد، ۹۵ درصد رطوبت و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

در اوایل فصل بهار در اطراف شهرستان کازرون بوته‌ها جمع‌آوری شدند. گیاهان سبز در محیط خشک و در سایه‌ی نور آفتاب خشک و سپس در آسیاب برقی ریخته شد تا بوته‌ها کاملاً آسیاب شوند و پودر نرمی‌به دست آید. این پودر جهت تهیه عصاره به آزمایشگاه انتقال داده شد. پودر نرم به دست آمده را به نسبت ۵۰/۵۰ با آب و اتانول ۹۶ درصد و به مدت ۳ روز کامل خیسانده شد سپس آن را صاف کرده و در مرحله آخر در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته تا آب و الکل تبخیر گردد و پودر خشک شده باقی ماند.

ابتدا برای تهیه غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر شقایق کوهی، مقدار لازم از پودر تهیه شده برای هر غلظت، در محیط کشت حل و پس از فیلتر نمودن در دمای یخچال تا زمان استفاده نگهداری شد.

برای کشت و پاساژسلولی ابتدا رده سلولی گلیوبلاستوما(C118) از بانک سلولی انستیتوپاستور تهران تهیه شد. سپس سلول‌ها شمارش شده و درصد بقا آنها تعیین گردید. این سلول‌ها در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی کشت شدند. سپس در انکوباتور(شرکت سینا، ایران) با CO2 ۵ درصد و ۹۵ درصد رطوبت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. زمانی که تراکم سلول‌های مدنظر در فلاسک به ۸۰ درصد رسید، پاساژ سلولی انجام گرفت و سلول‌ها با تعداد تقریبی 1×10^{4} cells/cm^{2} در پلیت ۹۶ چاهکی کشت شدند. ۲۴ ساعت بعد سلول‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکی شقایق کوهی تیمار شدند و در زمان‌های ۲۴ و۷۲ ساعت بقای سلول‌ها ارزیابی شد.

آزمون MTT برای ارزیابی بقاء سلول‌ها استفاده شد. سلول‌های سرطانی به تعداد حدود ۱×۱۰^{٤} سلول بر سانتی‌متر مکعب در هر چاهک از پلیت ۹٦ چاهکی حاوی محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم کشت شدند. ۲٤ ساعت بعد سلول‌ها با غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیترعصاره شقایق کوهی تیمار شدند. برای هر سلول یک گروه کنترل هم در نظر گرفته شد که عصاره را دریافت نکرده‌اند. سپس آزمون MTT بدین گونه انجام شد که در زمان‌های مورد نظر، محیط کشت از چاهک‌های حاوی سلول خارج و به هر خانه حدود ۱۰۰ میکرولیتر محیط تازه حاوی ۱۰ میکرولیتر محلول MTT (با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد، سلول‌ها به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس محلول MTT خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید اضافه شد. ذر ادامه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر(Biotech، آلمان) اندازه‌گیری شد.

بدین منظور پس از جداسازی سلول‌های پیش‌ساز عصبی از مغز جنین‌ها، حدود ۵×۱۰^{٤} سلول بر سانتی متر مربع سلول در هر چاهک از ظروف کشت شش خانه غیر چسبنده(باکتریایی) به مدت ۲ تا ٤ روز همراه با محیط کشت، کامل انکوبه شدند تا نوروسفر تشکیل شود.

برای بررسی و مقایسه مورفولوژیکی سلول‌ها، در هر کدام از دو نوع سلول(NCs) و(C118)، از گروه کنترل(تیمار نشده) و گروه‌های تیمار شده با غلظت IC50 عصاره شقایق کوهی را پس از ۲٤ و ۷۲ ساعت 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.

به منظور بررسی مورفولوژی سلول‌های گلیوبلاستوما و NCs، به ترتیب این سلول‌ها در محیط کشت حاوی غلظت IC50 عصاره شقایق کوهی به مدت ۲٤ ساعت کشت شدند. سپس محیط رویی سلول‌ها خارج گردید. سلول‌ها با بافر فسفات سالین(PBS) شسته شده‌اند، سپس سلول‌ها با پارافرمالدهید ٤ درصد تثبیت و با استفاده از رنگ DAPI (Sigma, USA) ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رنگ‌آمیزی شدند. هسته‌های چروکیده، قطعه قطعه شده و با شدت فلورسانس بالا به عنوان هسته سلول‌های آپوپتوز شده گزارش گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

تغییرات مورفولوژی سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما و نوروسفرهای عصبی تیمارشده با عصاره شقایق کوهی، با استفاده از میکروسکوپ

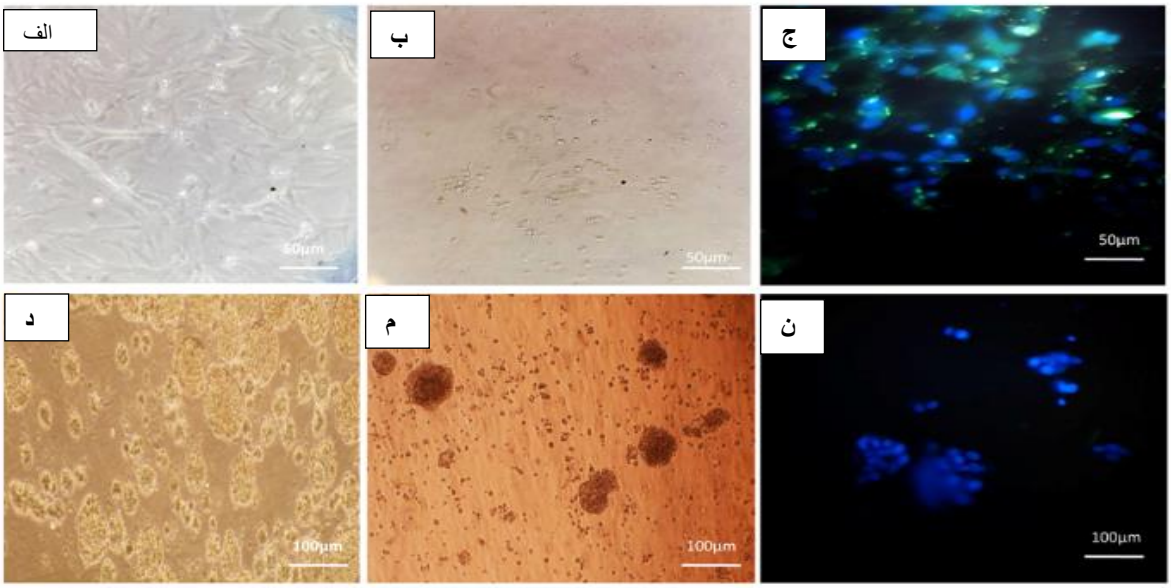
نوری و همچنین رنگ‌آمیزی فلئورسنت DAPI بررسی شدند. همان‌طور که در شکل۱ دیده می‌شود، سلول‌ها پس از تیمار با ترکیب شقایق‌کوهی، دچار تغییراتی از جمله چروکیدگی، گرد شدن و برآمدن غشاء شدند(شکل ۱-الف، ۱-ب، ۱-د و ۱-م) . این تغییرات مورفولوژی نشان می‌دهد که ممکن است عصاره گیاهی شقایق‌کوهی باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما و عصبی شود هرچند که این تغییرات در سلول‌های گلیوبلاستوما نسبت به سلول‌های عصبی با شدت بیشتری مشاهده گردید. همچنین همان‌گونه که در شکل‌های ۱ــ ج و ۱ــ ن نشان داده شده است تغییرات هسته سلول های تیمار شده به واسطه کوچک و چروکیده شدن هسته و قطعه قطعه شدن کروماتین مشابه تغییرات ناشی از آپوپتوز می‌باشد.

برای بررسی تأثیر سیتوتوکسیته عصاره هیدورالکی شقایق کوهی روی سلول‌های سرطانی C118 و نوروسفرهای عصبی استخراج شده از مغز جنین موش۱۷ روزه از روش MTT assay استفاده شد.

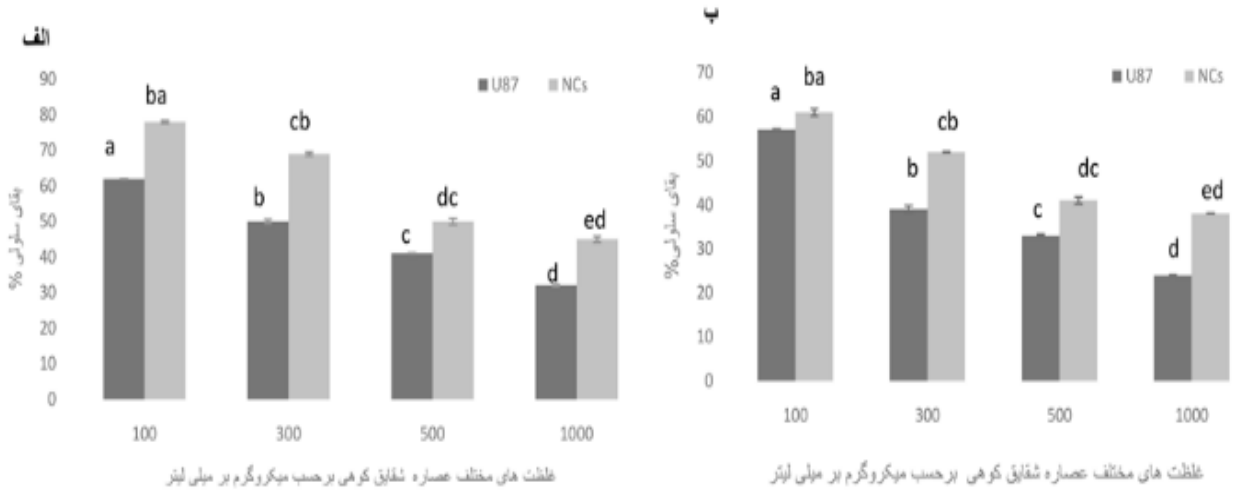
نمودار۱ نشان دهنده تأثیر ترکیب شقایق کوهی یا غلظت‌های مختلف بر رده سلولی سرطانی C118 در دو بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت است. برای کنترل از کشت همزمان سلول‌هایی استفاده شد که هیچ تیماری روی آنها صورت نگرفته بود. نتایج نشان داد که عصاره شقایق کوهی باعث کاهش بقای سلولی سلول‌های C118 در هر دو بازه زمانی شد. همچنین با افزایش دوز عصاره میزان کاهش بقای سلول‌ها نیز بیشتر می‌شود البته در بازه زمانی ۷۲ ساعت نسبت به ۲۴ ساعت کاهش بقای سلولی بیشتر بود. بیشترین اثر کشندگی و ضد سرطانی عصاره شقایق کوهی مربوط به دوز ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد که نسبت به دوزهای دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان داد($p<0/05$). همچنین غلظت‌های مختلف شقایق کوهی در هر دو بازه زمانی توانسته‌اند بقای سلولی نوروسفرهای عصبی را نیز کاهش دهند که این کاهش بقا وابسته به دوز و زمان می‌باشد. شدت سمیت سلولی شقایق کوهی بر سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما در زمان‌های ۲٤ و ۷۲ ساعت نسبت به نوروسفرهای عصبی بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری را نشان داد($p<0/05$).

بحث

پیشینه و اهمیت آلکالوئیدهای خانواده شقاقیان و فعالیت بیولوژیکی بالای آنها باعث شده که این ترکیبات موضوع بررسی‌های فیتوشیمیایی و دارویی بسیاری از محققان با عنوان داروهای ضد سرطانی شوند. همچنین این که تاکنون اثرات بیولوژیکی عصاره شقایق کوهی در محیط آزمایشگاهی به طور اختصاصی بر روی گلیوما مورد بررسی قرار نگرفته است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات سمی‌عصاره هیدروالکلی شقایق‌کوهی بر رده سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما و سلول‌های عصبی غیرسرطانی بود.



تصویر ۱: بررسی مورفولوژی سلول‌ها و هسته: الف) سلول‌های C118 (نمونه کنترل بدون تیمار)ـ ب) سلول‌های C118 ۴۸ ساعت بعد از تیمار با ۳۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر عصاره شقایق کوهی ـ ج) هسته رنگ‌آمیزی شده سلول‌های C118 با رنگ DAPI بعد از۴۸ ساعت تیمار با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر عصاره شقایق کوهی ـ د) نمونه کنترل از سلول‌های عصبی(به صورت نوروسفر) استخراج شده از کورتکس مغز جنین موش ۱۷ روزه ـ م) نوروسفرهای عصبی ۴۸ ساعت بعد از تیمار با ۵۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر عصاره شقایق کوهی ـ ن)هسته رنگ‌آمیزی شده نوروسفرها با رنگ DAPI بعد از۴۸ ساعت تیمار با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر عصاره شقایق کوهی



نمودار ۱: بررسی بقای سلول‌ها: اثرات غلظت‌های متفاوت عصاره شقایق کوهی برحسب میکروگرم بر میلی لیتر بر بقای سلول‌های C118 و نوروسفرهای عصبی(NCs) در زمان‌های ۲۴و ۷۲ ساعت بعد از تیمار با روشMTT الف) ۲۴ ساعت بعد از تیمار- ب) ۷۲ ساعت بعد از تیمار. حروف های مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار($p<0/05$) غلظت‌های مختلف عصاره شقایق کوهی و حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت‌های معنی‌دار($p<0/05$) بین غلظت‌های مختلف آن می‌باشد(تعداد=۳)

تومورهای مغزی و CNS یکی از ده سرطانی است که منجر به مرگ می‌شود. گلیوما، گروهی از تومورهای درگیرکننده سیستم عصبی مرکزی هستند که جزء حادترین تومورهای بدخیم بزرگسالان محسوب می‌شوند و از تقسیم بی‌رویه سلول‌های نوروگلیا ناشی شده است(۱۷). گلیوبلاستوما با علایم بافت‌شناسی از قبیل؛ افزایش میتوز، پلی‌مورفیسم، تکثیر اندوتلیال و نکروز شناخته می‌شود و سرعت انتشار بالایی نسبت به بافت‌های اطراف دارد. راهکارهای مورد استفاده جهت درمان گلیومای حاد، با توجه به نوع، محل بروز و درجه تومور و سلامت عمومی بیمار تعیین می‌شود که جراحی و برداشتن تومور، پرتودرمانی، استفاده از داروهای ضد تشنج و کورتیکواستروئیدها، و شیمی‌درمانی با عوامل آلیکلاسیون DNA مانند تموزولومید(temozolomide) از این موارد می‌باشد(۱۸). به دلیل اثرات جانبی داروها، وقت گیر و پرهزینه بودن و عدم کارایی روش‌های درمانی، نیاز به جستجو برای روش‌های جدید و راهکارهایی برای پیشگیری از ابتلا را توجیه می‌کند. اخیراً تمایل زیادی در تشخیص ترکیبات آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که دارای توان فارماکولوژیکی بدون اثرات جانبی یا حداقل با کم ترین اثرات جانبی هستند و در پزشکی و صنعت غذایی اهمیت زیادی دارند(۱۹). از جمله راهکارهای جایگزین که برای درمان و پیشگیری تومورهای بدخیم مغز و نخاع مطرح است، می‌توان به استفاده از داروهای گیاهی اشاره کرد. استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضد سرطانی برای اولین بار به وسیله هایتول و همکاران در اواخر دهه ۱۹۶۰ انجام شد. آن‌ها از podophyllotoxin و مشتقات آن به عنوان عوامل ضدسرطانی استفاده کردند(۲۰). امروزه بیش از ۶۰ درصد ترکیبات ضدسرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم‌ها به دست می‌آیند(۲۱ و ۲۰). در مطالعه حاضر اثرات سمی و ضد تکثیری عصاره هیدروالکلی گیاه شقایق کوهی بر رده سلول-های سرطانی گلیوبلاستوما و همچنین بر نوروسفرهای غیرسرطانی عصبی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های سرطانی تیمارشده با شقایق کوهی نشان داد که سلول‌ها دچار تغییراتی از جمله؛ چروکیدگی، گرد شدن و برآمدن غشاء شدند که بیان کننده القای آپوپتوز به وسیله شقایق کوهی در سلول‌های گلیوبلاستوما است. همچنین ارزیابی بقای سلولی با روش MTT نشان داد که شقایق کوهی باعث کاهش بقای سلولی سلول‌های C118 و همچنین نوروسفرهای عصبی در هر دو بازه زمانی ۷۲ و ۲۴ ساعت می‌شود که با افزایش دوز عصاره میزان کاهش بقای سلول‌ها نیز بیشتر می‌شود. شدت سمیت سلولی شقایق کوهی بر سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما نسبت به نوروسفرهای عصبی بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد($p<0/05$).

گیاه شقایق کوهی سرشار از ترکیبات آلکالوئیدی می‌باشد که مهم‌ترین آنها گلوسین با خاصیت ضدالتهابی و ضدسرفه، بربرین مشتق شده

از پروتوبربرین با خاصیت آنتی‌بیوتیکی و کاهنده قندخون، بولباکاپانین با خاصیت درمان لرزش عضلات(Muscular tremor) و دودوئک چشم (Nystagmus)(۱۲) و دیگر ترکیبات آن با خاصیت ضددیابتی وکاهنده چربی و وزن بدن(۲۲) گزارش شده‌اند. پژوهش‌های اخیر نیز خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد ویروسی را به کاربردهای احتمالی این گیاه دارویی افزوده است(۲٤ و۲۳). در مطالعه‌ای مشابه، میمندی و همکاران گزارش کردند عصاره گل محمدی باعث کاهش بقای سلول، مهار تکثیر آن و القای مرگ در سلول سرطان معده می‌شود که مکانیسم عمل آن را به وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن نسبت می‌دهند. این ترکیبات انواع وقایع بیولوژیکی مرتبط با گسترش و پیشرفت سرطان مثل تکثیر سلولی، آپوپتوز، تمایز سلولی و ایجاد رگ‌های جدید را مانع می‌شوند(۲۵). در پژوهشی دیگر نیز اثر نانوکورکومین(عصاره زردچوبه) بر تومور گلیوبلاستوما مورد بررسی قرار گرفته است. کورکومین ترکیبی با خاصیت ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. با توجه به این بررسی نشان داده شد که کوکورمین با مکانیسم دمتیلاسیون فعال در سلول‌های مغزی و هدایت آنها در مسیر آپوپتوز سلول‌های سرطانی، راهی مفید برای حذف سلول‌های سرطانی مغزی یا بهبود وضعیت آنهاست(۲۶). عصاره هیدروالکی هلیله کابلی با مکانیسم آنتی‌اکسیدانی و القاء آپوپتوز توانسته به عنوان یک داروی مؤثر کمکی در درمان انواع سرطان از جمله تومورهای مغزی (گلیوبلاستوم مولتی فرم) در کنار داروهای استاندارد شیمی‌درمانی و رادیوتراپی معرفی شود (۲۷). عصاره آلکالوئیدی ریشه شقایق کوهی، مانع از تکثیر و تقسیم سلول‌های سرطانی سینه شده و هم‌چنین باعث القا توقف چرخه سلولی در مرحله G2/M و در نهایت سبب القا آپوپتوز بدون تأثیر سوء بر سلول‌های طبیعی می‌شود(۲۸). آپورفین و گلوسین مهم‌ترین ترکیبات آلکالوئیدی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد ویروسی آنها در مطالعه‌ای گزارش شده است(۲۹). آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که رادیکال‌های آزاد آسیب‌رسان را از بین می‌برند و از این راه سلول‌ها و DNA را از آسیب اکسیداتیو حفاظت می‌کنند(۲۷). آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی در پیشگیری از سرطان و کشندگی انتخابی سلول‌های سرطانی از طرق مختلف مانند القای آپوپتوز، جلوگیری از رگ‌زایی و رشد متاستاتیک سرطان نقش دارند(۳۱ و ۳۰). از آنجایی که عصاره شقایق کوهی سرشار از ترکیبات آلکالوئیدی است، احتمالاً این ترکیبات عامل اصلی مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌باشند. طبق گزارشات، سانکوئینارین به عنوان یک ترکیب آلکالوئیدی منجر به آپوپتوز در چندین رده از سلول‌های توموری شده است(۳۲ و ۳۱). به علاوه پروتوپین یک ترکیب آلکالوئیدی با فعالیت فارماکولوژیکی بالا بوده که علاوه بر خاصیت آنتی‌توموری، اهمیت اصلی آن به خاطر افزایش دادن چشمگیر سطح mRNA از CYP1A1

در سلول‌های کبدی انسان و سلول های HepG2 هپاتوما می‌باشد(۳۳). مسیرهای مختلفی برای فعالیت ضدسرطانی آلکالوئیدی وجود دارد که شامل القاء و فعال کردن پروتئین‌های محرک آپوپتوز، پیشرفت آپوپتوز با القاء آسیب DNA و فعال کننده‌های کاسپاز-ها و یا مهارکننده‌های رشد سلولی است. جدا از این مسیرها، مسیر دیگری وجود دارد که بر پایه تشکیل G-quadruplex است و این نوع فعالیت به عنوان عامل نوینی در درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است(۳٤).

در مطالعه حاضر می‌توان مکانیسم عمل شقایق کوهی در داشتن خاصیت ضد سرطانی و نیز داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن و خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد مضر را نتیجه‌گیری کرد. بسیاری از موادی که در رژیم‌های غذایی وگیاهان اثرات پیشگیری کننده از سرطان دارند از طریق القاء آپوپتوز اثرات مهاری خود را بر سرطان اعمال می‌کنند(۳۵) . با توجه به این که پیشرفت تومورارتباط بسیار نزدیکی با التهاب و استرس اکسیداتیو دارد، ترکیبی که خواص ضدالتهابی یا آنتی‌اکسیدانی داشته باشد، می‌تواند یک عامل آنتی‌کارسینوژن باشد. در نهایت می‌توان چنین نتیجه گرفت که فرآورده‌های طبیعی با خاصیت فارمولوژیک و بیوشیمیایی آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌توانند در درمان سرطان و تومور مؤثر باشند(۳۶).

چرخه سلولی کنترل نشده منجر به تکثیر بی‌رویه سلول‌ها شده که یکی از تغییرات مهمی است که در طول گسترش تومور رخ می‌دهد به همین علت بلوکه کردن چرخه سلولی به عنوان یک راهکار درمانی خوبی برای مقابله با سرطان است(۳۷). محققان در مطالعه‌ای بر روی اثر ضد توموری ریشه شقایق کوهی الجزایری، برای اولین بار گزارش نمودند که عصاره شقایق کوهی مانع رشد سلول‌های سرطانی پستان هم به صورت برون تنی و هم درون تنی شده است. که این عمل با توقف فاز G2/M چرخه سلولی و القاء آپوپتوز صورت گرفت که با نتایج حاضر در این پژوهش مطابقت دارد. این اثر ضد سرطانی شقایق کوهی را به حضور آلکالوئید پروتوپین که بیشترین ترکیب ریشه را تشکیل می‌دهد نسبت می‌دهند. هم‌چنین در این مطالعه بیان شده که این عصاره توانسته میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی پستان را پس از ۲٤ ساعت(IC50 =۱۵ میکروگرم برمیلی‌لیتر) کاهش دهد، هم‌چنین تغییرات مورفولوژی سلول‌های سرطانی پستان در رنگ‌آمیزی DAPI نشان‌دهنده شکستگی و چروکیدگی کروماتین و DNA و کوچک شدن سلول‌ها است که با یافته‌های مطالعه حاضر مشابهت دارد، اما برخلاف نتایج حاضر شقایق کوهی در مطالعه ذکر شده، تأثیری برسلول‌های طبیعی پستان هم‌چون سلول‌های اپیتلیال، فیبروبلاست‌ها و آندوتلیال تأثیری نداشته است(۱۳). در یافته‌های مطالعه حاضر شقایق کوهی بر نوروسفرهای عصبی غیرسرطانی نسبتاً تأثیر گذاشته و باعث کاهش زنده مانی آنها شده است. هم‌چنین به طور قابل توجهی در تابلوی HPLC گیاه شقایق کوهی

نشـان داده شـده کـه ترکیـب اصـلی ریشـه ایـن گیـاه آلکالوئید پروتوپین است که در تحقیقی نشان داده شد که پروتوپین اثر ضدتکثیری خود را به وسیله تحریـک پلیمرازسیون توبولین و هم‌چنین توقف تقسـیم میتـوز در سـلول‌هـای سـرطانی پروسـتات انسـان گذاشـته است(۳۷). با توجه بـه محـدودیت‌هـای موجـود امکـان جداسازی ماده موثر و اجزای مختلف عصاره شـقایق و شناسایی آنها وجود نداشت. هم‌چنـین بـا توجـه بـه تـأثیرات چشـم‌گیـر عصـاره شـقایق کـوهی پیشـنهاد می‌گردد تأثیرات عصاره یا ماده مـؤثره آن بـر سـایر سلول‌های سرطانی و هـم‌چنـین شناسـایی مسـیرهای مولکولی درگیر در آن بررسی گردد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان مـی‌دهنـد کـه عصاره هیدروالکی شقایق کوهی به دلیل حضور انواع مـختلفی از آلکالوئیدها هم‌چون پروتوپین و گلوسـین و بربرین و مواد آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند اثر ضد تکثیری و آپوپتوتیـــک بـــر روی ســـلول‌هـــای ســـرطانی گلیوبلاستوما بگـذارد. شـدت سـمیت سـلولی عصـاره شقایق کوهی بر سلول‌هـای گلیوبلاسـتوما نسـبت بـه نوروسفرهای عصبی بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. هم‌چنین نتایج کمی‌بقای سلولی نشان داد کـه غلظـت ۳۰۰ و ۵۰۰ میکروگـرم بـر میلـی‌لیتـر عصـاره شـقایق کـوهی بـه ترتیـب غلظـت IC50 بـرای سلول‌های C118 و NCs بوده است.

تقدیر و تشکر

ایـن مقالـه حاصـل کـار پژوهشـی دانشـگاه شهیدچمران اهواز با کدEE97.24.3.70419 می‌باشد، کـه هزینه تحقیقات از محـل اعتبـارات پژوهانـه ۹۸ تـأمین گردیده اسـت. نویسـندگان ایـن مقالـه کمـال تشـکر و قـدردانی خـود را از معاونـت پژوهشـی و فنـآوری دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر حمایت های مالی اعلام می‌دارد.

REFERENCES

1.Haque A, Banik NL, Ray SK. Molecular alterations in glioblastoma: potential targets for immunotherapy. Prog Mol Biol Trans Sci 2011; 98: 187-234.
2.Galan-Moya EM, Le Guelte A, Lima Fernandes E, Thirant C, Dwyer J, Bidere N, et al. Secreted factors from brain endothelial cells maintain glioblastoma stem-like cell expansion through the mTOR pathway. Embo Rep 2011; 12(5): 470-6.
3.Goodenberger ML, Jenkins RB. Genetics of adult glioma. Cancer Genet 2012; 205(12): 613-21.
4.Dimov I, Tasic D, Stefanovic I, Dimov D. New insights into molecular basis of glioblastoma multiforme and associated immunosuppression. Acta Fac Med Naiss 2013; 30(4): 165-84.
5.Zhao Y, Bao Q, Renner A, Camaj P, Eichhorn M, Ischenko I, et al. Cancer stem cells and angiogenesis. Int J Dev Biol 2011; 55: 477-82.
6.Scott CB, Scarantino C, Urtasun R, Movsas B, Jones CU, Simpson JR, et al. Validation and predictive power of radiation therapy oncology group (RTOG) recursive partitioning analysis classes for malignant glioma patients: a report using RTOG 90-06. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998; 40: 51 – 5.
7.Alizadeh L, Gorizan A, Akbari M, Ghaemi A. Immunotherapy of Glioblastoma Multiforme Tumors: From Basic to Clinical Trial Studies. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam 2015; 3(2): 77-84.
8.Cheraghi J, Krishchi P, Nasri S, Boorboor M. The effect of ethanolic extracts of petroselinum crispum leaves on histopathological and activity of liver enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 2016; 23:190-202.
9.García-Lafuente A, Guillamón E, Villares A, Rostagno MA, Martínez JA. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. Inflam Res 2009; 58: 537-52.
10.Bercu RM, Dana Jianu L. Anatomy of the eangered pant gaucium favum Cr. Occurring on the Romanian Black Sea Littoral Journal Nature Conservation 2006; 4: 273-80.
11.Chervenkova V, Mollov N, Paszyc S. Source of some minor alkaloids in G. Flavum Journal Phytochemistry 1981; 20: 2287-87.
12.Kuo HP, Chuang TC , Tsaietal SC. Berberine,anisoquinoline alkaloid, inhibits the metastatic potential of breast cancer cells via Akt pathway modulation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2012; 60: 9649–58.
13.Bournine L, Bensalem S, Peixoto P, Gonzalez A, Maiza-Benabdesselam F, Bedjou F, et al. Revealing the anti-tumoral effect of Algerian Glaucium flavum roots against human cancer cells. Phytomedicine 2013; 20(13): 1211-8.
14.Ahmad N, Gupta S, Husain MM, Heiskanen KM, Mukhtar H. Differential antiprolifrative and apoptotic response of sanguinarin for cancer cells versus normall cells. Clinical Cancer Reaserch 2000; 6: 1524-8.
15.Chmura SJ, Dolan ME, Cha A, Mauceri HJ, Kufe DW, Weichselbaum RR. In vitro and in vivo activity of protein Kinase C inhibitor growth delay in vivo chlerythrine chloride induced tumor cell toxicity and growth delay in vivo. Clinical Cancer Reaserch 2000; 6: 737-42.
16.Keshmiri-Neghab H, Goliaei B, Nikoofar A. Gossypol enhances radiation induced autophagy in glioblastoma multiforme. Gen Physiol Biophys 2014; 33(4): 433-42.
17.Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, Rowitch DH, Louis DN, Cavenee WK, et al. Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. Genes Dev 2001; 15(11): 1311–33.
18.Omuro A, DeAngelis LM. Glioblastoma and other malignant gliomas: A clinical review. JAMA 2013; 310(17): 1842-50.
19.Srivastava Y, Venkatakrishnan-Bhatt H, Verma Y. Antidiabetic and adaptogenic properties of Momordica charantia extract: an experimental and clinical evaluation. Phytother Res 2003; 7: 285-9.
20.Srivastava V, Negi AS, Kuma JK, Gupta MM, Khanuja S. Plantbased anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2005; 13: 5892– 590.
21.Seyedalipour B, Pourakbar E, Taravati A. The cytotoxic effect of ethanolic extract of pistacia khinjuk leaf onhela and mcf-7 cancerous cell lines. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences 2016; 14(11): 939-52.

22.Darya GHH, Nowroozi-Asl A, Khoshvaghti A, Rahmani Moghaddam E, Musavi SM. Effect of hydro-alcoholic extract of yellow horned poppy (Glaucium flavum) on serum concentration of glucose and lipid profile and weight changes in alloxan induced diabetic rats. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2019; 99: 45-55.
23.Spasova M, Philipov S, Nikolaeva-Glomb L, Galabov A, Milkova T. Cinnamoyl-and hydroxycinnamoyl amides of glaucine and their antioxidative and antiviral activities. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2008; 16(15): 7457-61.
24.Bournine L, Bensalem S, Peixoto P, Gonzalez A, Maiza-Benabdesselam F, Bedjou F, et al. Revealing the anti-tumoral effect of Algerian Glaucium flavum roots against human cancer cells. Phytomedicine 2013; 20(13): 1211-8.
25.Meimandi K, Yaghoobi MM. Effects of aqueous and ethanolic extract of Rosa damascena Mill L. Against Human Gastric Cancer Cells 2015, 299-309.
26.Zamani M, Sadeghizadeh M, Behmanesh M. Dendrosomal curcumin upregulates expression of the long noncoding rna gene meg3 in u87mg glioblastoma cells. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology 2014; 15;22(10):961-7.
27.Afshari AR. Investigation of cytotoxic and apoptogenic effects of terminalia chebula hydro-alcoholic extract on glioblastoma cell line. Shefaye Khatam 2018; 5: 14-23.
28.Bournine L, Bensalem S, Peixoto P, Gonzalez A, Maiza-Benabdesselam F, Bedjou F, et al. Revealing the anti-tumoral effect of Algerian Glaucium flavum roots against human cancer cells. Phytomedicine 2013; *20*(13): 1211-8.
29.Spasova M. Cinnamoyl-and hydroxycinnamoyl amides of glaucine and their antioxidative and antiviral activities. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2008; 16(15): 7457-61.
30.Chang MC, Chan CP, Wang YJ, Lee PH, Chen LI, Tsai YL, Lin BR, Wang YL, Jeng JH. Induction of necrosis and apoptosis to KB cancer cells by sanguinarine is associated with reactive oxygen species production and mitochondrial membrane depolarization. Toxicology and Applied Pharmacology 2007; 218: 143–51.
31.Chen CH, Liao CH, Chang YL, Guh, JH, Pan SL, Teng CM. Protopine, a novel microtubule-stabilizing agent, causes mitotic arrest and apoptotic cell death in human hormone-refractory prostate cancer cell lines. Cancer Letters 2010; 315: 1–11 .
32.Habli Z, Toumieh G, Fatfat M, Rahal ON, Muhtasib HG. Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: overview of molecular mechanisms. Molecules 2017; 22: 1–22.
33.Williams GH, Stoeber K. The cell cycle and cancer. The Journal of Pathology 2012; 226: 352-64.
34.Ulusoy S, Bosgelmez-Tinaz G, SecilmisCanbay H. Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties of rose essential oil, hydrosol and absolute. Current Microbiology 2009; 59: 554-8.
35.Kim MJ, Kim DH, Lee KW, Yoo DY, Surh YJ. Jaceosidin induces apoptosis in rastransformed human breas t epithelial cells through generation of reactive oxygen species. Ann N Y Acad Sci 2007; 1095(1): 48395.
36.Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. Food and Chemical Toxicology 2007; 45: 6836-90.
37.Chen CH, Liao CH, Chang YL, Guh JH, Pan SL, Teng CM. Protopin, a novel microtubule-stabilizing agent. Causes mitotic arrest and apoptotic cell death in human hormone- refractory prostat cancer cell lines. Cancer Letters 2012; 315: 1- 11.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Comparison of the Toxic Effects of Hydroalcoholic Extract of *Glaucium flavum* on Glioblastoma and Non-Cancer Nerve Cells

Hoveizi E[1,2*], Kalantari M[3], Hushmandi K[4]

[1]Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran,[2] Stem cells and transgenic technology research center (STTRC), Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, [3]Department of Modern Science, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [4]Department of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 10 May 2019 Accepted: 19 Sep 2019

Abstract

Background & aim: Glioblastoma tumors are one of the most invasive brain tumors of neural tissue origin. The low success rates of these types of tumors require the search for new treatment options. *Glaucium flavum* is widely used in the pharmaceutical industry because of its high content of alkaloids. The aim of this study was to determine and evaluate the toxic effects of hydroalcoholic extract of *Glaucium flavum* glioblastoma and non-cancerous nerve cells.

Methods: the present research was an experimental study carried out in the cell culture research laboratory of Shahid Chamran University of Ahvaz in 2019. A pregnant rat was used in this study for cell isolation. The *Glaucium flavum* extract was first extracted and nerve progenitor cells then extracted from the brain cortex of 17-day-old pregnant mouse embryos by enzymatic digestion. Cells were then treated with *Glaucium flavum* at concentrations of 100, 300, 500, and 1000 µg/ml for 24 and 72 h. After treatment, cell viability was assessed by MTT photometric method and cell morphology was evaluated by DAPI fluorescent staining. Data were analyzed using one-way ANOVA.

Results: Morphological changes were observed in the cells treated with IC50. Evaluation of cell survival by MTT assay showed that the *Glaucium flayum* extract significantly decreased the survival of C118 cells as well as neural neurospheres (NCs) at both 24 and 72 h intervals. The severity of *Glaucium flayum* extract cytotoxicity on glioblastoma cells was higher than the neurospheres and showed a significant difference ($p < 0.05$). The results of cell viability also showed that the concentration of 300 and 500 µg/ml of the *Glaucium flayum* extract was IC50 for C118 and NCs cells respectively.

Conclusion: It was concluded that natural products such as *Glaucium flayum* extract with pharmacological and biochemical properties had antioxidant and anti-inflammatory properties and have less adverse effects on non-cancerous brain cells than in non-cancerous cells.

Keywords: Glioblastoma, *Glacium flavum*, Neuronal precursor cell, Cell viability

***Corresponding author: Hoveizi E,** Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Email: e.hoveizi@scu.ac.ir

Please cite this article as follows:
Hoveizi E, Kalantari M, Hushmandi K. Comparison of the Toxic Effects of Hydroalcoholic Extract of *Glaucium flavum* on Glioblastoma and Non-Cancer Nerve Cells. Armaghane-danesh 2020; 24(6): 1073-1086.