Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Short Communication

Effect of hesperetin on interleukin-8 gene expression in MCF-7 cell line

Hamideh Dehghan[1], Milad Bideh[2], Mahboobeh Sabeti Akbar Abad[3], Fatemeh Zahra Biabani[1], Mohammed Zangooei[2]*

ABSTRACT

Breast cancer is recognized as the most common cause of cancer deaths in women. So far, no definite treatment has been identified there is no certain cure for breast cancer. The over expression of interleukin-8 is associated with increased tumor growth and breast cancer metastasis. Hesperetin is a flavonone sub-group of flavonoids that is abundantly found in citrus fruits, including lemons and oranges. Considering the anti-cancer and anti-inflammatory role of hesperetin, as also, well as the role of interleukin-8 in cancer metastasis and progression, in this study the present study aimed to assess, the effect of hesperetin on the expression of the interleukin-8 gene in MCF-7 cell line has been investigated. The relative expression level of interleukin-8 gene in MCF-7 cell line at concentrations of 0, 25, 50, 100, and 200 µM hesperetin and durations of 6, 24, and 48 hours (with the concentration of 100 µM) was performed using the A real-time polymerase chain reaction (real-time PCR)Real-time method PCR was performed. The obtained our results pointed out showed that the level of interleukin-8 gene expression decreases with an increase in by increasing the concentration of hesperetin (up to 100 µM), the level of interleukin-8 gene expression decreases. Furthermore, the level of interleukin-8 gene expression in the 48-hour treatment was also lower than that in the 24- and 6-hour treatments. Considering its various properties, including anti-cancer and anti-inflammatory properties, hesperetin could be effective in reducing the risk of metastasis and progression of breast cancer by reducing the expression of the interleukin-8 gene**.**

Keywords: Breast cancer, Hesperetin, Interleukin-8, MCF-7 Cells

Citation: Dehghan H, Bideh M, Akbar Abad MS, Biabani FZ, Zangooei M. [Effect of hesperetin on interleukin-8 gene expression in MCF-7 cell line]. J Birjand Univ Med Sci. 2022; 29(4): 390-396. [Persian]

DOI https://www.doi.org/10.34785/bums024.2022.029

Received: November 7, 2022 **Accepted:** January 13, 2023

[1] Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[3] Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

***Corresponding author:** Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
Tel: +989902770129 Fax: +985632433004 E-mail: zangooei65@gmail.com

مقاله کوتاه

بررسی اثر هسپرتین بر بیان ژن اینترلوکین–۸ در رده سلولی MCF-7

حمیده دهقان[۱]، میلاد بیده[۲]، محبوبه ثابتی اکبرآباد[۳]، فاطمه زهرا بیابانی[۱]، محمد زنگوئی[۲]*

چکیده

سرطان پستان شایع‌ترین علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان است. تاکنون درمان قطعی برای سرطان پستان مشخص نشده است. بیان بیش از حد اینترلوکین–۸ با افزایش رشد تومور و متاستاز سرطان پستان در ارتباط است. هسپرتین یک زیر گروه فلاونون از فلاونوئیدها است که به فراوانی در مرکبات، از جمله لیمو و پرتقال یافت می‌شود. با توجه به نقش ضد سرطانی و ضد التهابی هسپرتین و همچنین نقش اینترلوکین–۸ در متاستاز و پیشرفت سرطان، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثر هسپرتین بر بیان ژن اینترلوکین–۸ در رده سلولی MCF-7 پرداخته شده است. میزان بیان نسبی ژن اینترلوکین–۸ در رده سلولی MCF-7 در غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ µM هسپرتین و مدت زمان‌های ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت (با غلظت ثابت ۱۰۰µM) با استفاده از روش Real-time PCR انجام شد. نتایج ما نشان داد که با افزایش غلظت هسپرتین (تا غلظت ۱۰۰ µM) میزان بیان ژن اینترلوکین–۸ کاهش می‌یابد. همچنین میزان بیان ژن اینترلوکین–۸ در تیمار ۴۸ ساعته کمتر از تیمارهای ۲۴ و ۶ ساعته بود. هسپرتین با توجه به خواص مختلف از جمله خاصیت‌های ضدسرطانی و ضدالتهابی، با کاهش بیان ژن اینترلوکین–۸ در کاهش خطر متاستاز و پیشرفت بیماری سرطان پستان توانست مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، هسپرتین، اینترلوکین–۸، سلول‌های MCF-7

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۱؛ ۲۹ (۴): ۳۹۰–۳۹۶.

دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۳

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[۲] گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[۳] گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند– دانشگاه علوم پزشکی بیرجند– دانشکده پزشکی– گروه بیوشیمی

تلفن: ۰۹۹۰۲۷۷۰۱۲۹ نمابر: ۵۶۳۲۴۳۳۰۰۴ پست الکترونیکی: zangooei65@gmail.com

مقدمه

سرطان پستان یک بیماری شایع، بدخیم و پیش‌رونده، با میزان بروز ٪۱۱/۹است. سرطان پستان علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان می‌باشد (۱). این سرطان شایع‌ترین نوع سرطان در بین زنان در سراسر جهان است و ٪۲۵ از سرطان‌های زنان را به خوداختصاص داده است. بر اساس آمار مرکز تحقیقات سرطان در ایران، سرطان پستان رایج‌ترین سرطان در بین زنان است و به طور تقریبی از هر ۱۰ زن ایرانی یک نفر احتمالاً به این بیماری مبتلا خواهد شد (۱). بر اساس یافته‌های پاتولوژیک، بسته به اینکه سلول های سرطانی در ابتدا در کدام قسمت پستان ایجاد می‌شوند، انواع سرطان پستان متفاوت می‌باشند. یک هدف مولکولی اصلی در پاتوژنز سرطان پستان گیرنده استروژن است که در حدود ٪۷۰ سرطان‌های مهاجم سینه بیان می‌شود. گیرنده استروژن(ER[1]) یک گیرنده هورمون استروئیدی و یک فاکتور رونویسی است که وقتی توسط استروژن فعال می‌شود، مسیرهای رشد انکوژن را در سلول‌های سرطان سینه فعال می‌کند (۲). مشخص شده است که اینترلوکین-۸، نقش کلیدی در میانجی‌گری فنوتیپ‌های تهاجمی و وابسته به گیرنده استروئیدی سرطان پستان دارد. Fu و همکارانش پیشنهادکردند که هدف قرار دادن سیگنالینگ اینترلوکین-۸ یک استراتژی امیدوارکننده برای درمان سرطان‌های پستان +ER است (۴, ۳). تا به امروز به دلیل بروز مقاومت در برابر شیمی‌درمانی در بیشتر بیماران، مناسب‌ترین درمان سرطان پستان جراحی و برداشتن ضایعه می‌باشد (۳). بیش از ٪۹۰ از مرگ و میرهای ناشی از سرطان پستان، به عوارض ناشی از متاستاز نسبت داده می‌شود. متاستاز یک فرآیند ناشناخته است که با جدا شدن سلول‌های توموری اولیه و ورود آن‌ها به جریان خون آغاز می‌شود. این سلول‌های توموری در مویرگ اندام‌های دیگر متوقف می‌شوند و از طریق دیواره عروقی وارد اندام می‌شوند و منجر به تولید کلونی‌های متاستاتیک در سایر اندام‌ها می‌شوند. متاستاز سرطان پستان بیشتر در استخوان، مغز، کبد و ریه اتفاق می‌افتد (۳). التهاب نقش کلیـدی در متاستاز تومورهـا ایفـا می‌کند. بیان بیش از حد سیتوکاین‌های پیش التهابی در بافت تومور در گسترش سلول‌های سرطانی نقش دارد. اینترلوکین-۸ (IL-8) عضوی از خانواده سیتوکاین‌های پیش التهابی cxc[2] است (۵). اینترلوکین-۸ دارای اثرات پیش التهابی زیادی است و به وسیله سلول‌های طبیعی از جمله فیبروبلاست‌ها و مونوسیت‌ها ترشح می‌شود، همچنین این سیتوکاین به وسیله انواع سلول‌های توموری از قبیل: پروستات، ریه، پستان، معده و رحم ترشح می‌شود (۶). هسپرتین یک زیر گروه فلاونون از فلاونوئیدها است به‌طور گسترده در میان مرکبات، از جمله لیمو یافت می‌شود، هسپرتین در طبیعت به صورت آگلیکون هسپریدین است (۷). در واقع هسپریدین یک فلاونون گلیکوزیله است که در مرکبات یافت می‌شود و پس از ورودش به مجرای گوارش به کمک یک آنزیم هیدرولیز می‌شود و بخش قندی خودش را از دست می‌دهد و تبدیل به هسپرتین می‌شود (۸). این پلی فنول به دلیل اثر ضد استروژنیک، به عنوان مهارکننده تکثیر سلول‌های سرطان پستان دیده شده که دارای خواص دارویی متعددی است از جمله: خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی، القای آپوپتوز در سلول‌های تومور و محافظت از عملکردهای عصبی و فعال کردن سیگنالینگ آپوپتوز سلول‌های سرطانی است (۹). با توجه به نقش‌های هسپرتین به‌عنوان یک ماده با خواص مختلف از جمله خاصیت‌های ضدسرطانی و ضدالتهابی و همچنین نقش بیان ژن اینترلوکین-۸ در متاستاز و پیشرفت بیماری سرطان پستان، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثر هسپرتین بر بیان ژن اینترلوکین-۸ پرداخته‌ایم. نتایج این مطالعه علاوه برکمک به شناخت سیگنالینگ ملکولی سرطان پستان، برای درک مکانیسم عمل هسپرتین و نقش ضد سرطانی آن، مؤثر است.

روش تحقیق

مواد

محیط کشت RPMI-1640، آنتی بیوتیک‌ها و هسپرتین از شرکت sigma (آمریکا-سنت لوئیس) تهیه شد. Master Mix Real-time، کیت استخراج RNA، کیت سنتز cDNA از شرکت پارس توس (مشهد-ایران) تهیه شد. پرایمرهای Forward و

[1] Estrogen Receptor

[2] Proinflammatory cytokine C-X-C chemokine

Reverse ژن اینترلوکین-۸ و کنترل داخلی (B_2M) نیز از شرکت پیشگام (تهران-ایران) تهیه شد.

کشت و تیمار سلولی

MCF-7 یک رده سلولی سرطان پستان با گیرنده‌های استروژن، پروژسترون و گلوکوکورتیکوئید است که ما در این مطالعه استفاده کردیم. ابتدا سلول‌های MCF-7 در چاهک‌های پلیت شش خانه در محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد حاوی ۵ درصد CO_2 کشت داده شدند. بر اساس داده‌های حاصل از MTT که توسط گروه تحقیقاتی ما در یک مطالعه همسو با مطالعه حاضر انجام شد، سلول‌ها با پنج غلظت متفاوت از هسپرتین (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ µM) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. همچنین به‌منظور بررسی اثر هسپرتین بر بیان ژن اینترلوکین-۸ در زمان‌های مختلف، سلول‌ها با غلظت ۱۰۰ میکرومولار از هسپرتین در زمان‌های ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند.

استخراج RNA

استخراج RNA از سلول با استفاده از کیت شرکت پارس توس (مشهد، ایران) و طبق پرتکل مربوطه انجام شد. غلظت RNA استخراج شده با اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه نانودراپ به‌دست آمد. همچنین برای بررسی میزان آلودگی RNA استخراج شده نسبت ۲۶۰/۲۸۰ محاسبه شد. به منظور بررسی کیفیت RNA، مقداری از نمونه استخراج شده بر روی ژل آگارز برده شد و نسبت شدت باند ۲۸S به ۱۸S محاسبه شد. نمونه‌هایی که این نسبت در آن‌ها در حدود ۲ به ۱ بوده و فاقد اسمیر بودند برای انجام مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

سنتز cDNA

به‌طور کلی برای سنتز cDNA از روی RNA، از oligo dT و یا Random hexamer به عنوان پرایمر استفاده می‌شود که به الگوی RNA متصل شده و امکان رونویسی از RNA را توسط آنزیم رونویسی‌کننده معکوس در حضور dNTP ها فراهم می‌کنند. در این مطالعه سنتز cDNA بر طبق دستورالعمل موجود در کیت شرکت پارس توس و بر اساس oligo dT انجام شد. cDNA سنتز شده تا انجام آزمایشات بعدی در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

Real-time PCR

ابتدا پرایمرهای Forward و Reverse اختصاصی مربوط به ژن اینترلوکین-۸ و ژن کنترل داخلی (B_2M) با استفاده از پایگاه‌های داده بیوانفورماتیک طراحی و بهینه‌سازی شد. پرایمرهای مورد استفاده ژن اینترلوکین-۸ و B2M در جدول ۱ آمده است. برای بررسی سطح mRNA مربوط به ژن اینترلوکین-۸ در گروه‌های مختلف با روش Real-time PCR از Master Mix SYBR Green شرکت پارس توس (مشهد-ایران) استفاده شد. داده‌های حاصل با روش $\Delta\Delta Ct$ آنالیز شد و مقادیر نسبی mRNA هدف در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل از طریق فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ به‌دست آمد.

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

ژن	پرایمر forward	پرایمر reverse
IL8	CAGCTCTGTGTGAAGGTGC	TGGGGTGGAAAGGTTTGGAG
B2M	GGAGGCTATCCAGCGTACT	CCAGACACATAGCAATTCAGG

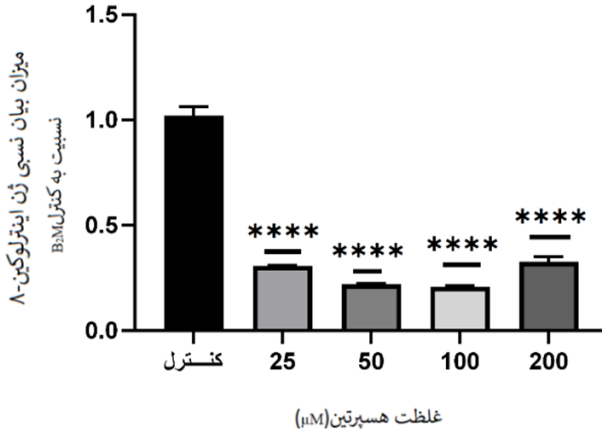
روش‌های تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمام آزمایشات حداقل سه بار تکرار شد. وجود اختلاف بین گروه‌ها توسط روش آماری One way ANOVA با نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه۸.۴۳ مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین میزان اختلاف هر گروه با گروه کنترل از تست Dunnett استفاده شد. دامنه اطمینان ۹۵٪ و P<۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

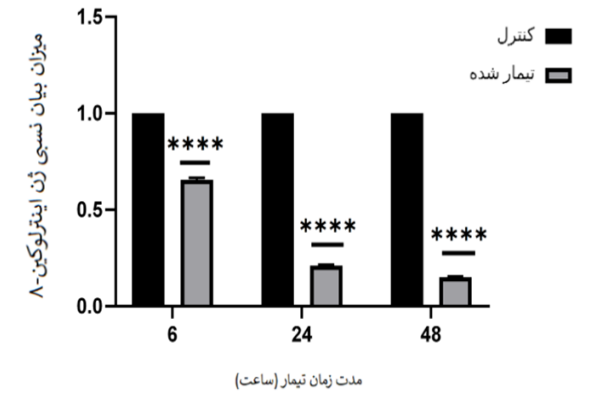
این مقاله بر اساس طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد ۵۹۰۶ و کد اخلاق IR.BUMS.REC.1401.108 نگارش شده است.

یافته‌ها

میزان بیان نسبی ژن اینترلوکین-۸ در رده سلولی MCF-7 در غلظت‌های۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ µM هسپرتین و مدت زمان‌های ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت (با غلظت ثابت ۱۰۰ µM) با استفاده از روش Real-time PCR بررسی شد. با توجه به نمودار (۱) میزان بیان ژن اینترلوکین-۸ با افزایش غلظت هسپرتین تا ۱۰۰µM نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). علاوه بر این همان‌طور که در نمودار ۲ نشان داده شده، میزان بیان ژن اینترلوکین-۸ در تیمار ۴۸ساعته کمتر از تیمارهای ۲۴ و ۶ ساعته بوده است. پس از تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ µM هسپرتین به مدت، ۲۴ ساعت، و سپس ۱۰۰µM هسپرتین به مدت ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت، RNA استخراج شد و در بررسی اسپکتروفتومتری، نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ آن‌ها بالاتر از ۱/۸ به‌دست آمد که نشان دهنده خلوص RNA و عدم آلودگی آن با DNA می‌باشد. پس از سنتزcDNA و سنجش بیان اینترلوکین-۸، داده‌های حاصل از Real- time PCR در آزمون ANOVA way-One پارامتریک با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism8.43 نشان داده شد که میانگین بیان ژن اینترلوکین-۸ در رده سلولیMCF-7 تیمار شده با هسپرتین نسبت به گروه کنترل در حالت وابسته به دوز کاهش معنی‌داری داشته است و کمترین میزان بیان ژن اینترلوکین-۸ در غلظت ۱۰۰ µM و تیمار ۴۸ ساعته بوده است (P<۰/۰۰۱).



نمودار۱- تأثیر غلظت‌های مختلف هسپرتین بر بیان نسبی ژن اینترلوکین-۸ در رده سلولیMCF-7. اختلاف هر گروه با گروه کنترل با استفاده از تست Dunnett مشخص شد. داده‌ها بصورت میانگین± انحراف معیار سه تکرار نشان داده شده‌است. ****P<۰/۰۰۱.



نمودار۲- تأثیر مدت زمان تیمار سلول‌ها با هسپرتین (۱۰۰µM) بر بیان نسبی ژن اینترلوکین-۸. اختلاف هر گروه با گروه کنترل با استفاده از تست Dunnett مشخص شد. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار سه تکرار نشان داده شده‌است. ****P<۰/۰۰۱.

بحث

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان است و متاستاز در این سرطان باعث افزایش بدخیمی همراه با مرگ و میر بسیار بالا می‌شود. با این حال، تقریباً هیچ روش مؤثری برای مهار کامل متاستاز سرطان پستان به دلیل فرآیند چند مرحله‌ای و با وجود مسیرهای پیچیده و محل وقوع پراکنده وجود ندارد. بررسی ارتباط بین سطح اینترلوکین-۸ سرمی و حجم تومور نشان داده است که

هرچه سطح اینترلوکین-۸ افزایش یابد، حجم تومور نیز بزرگتر می‌شود. در واقع بیان بیش از حد اینترلوکین-۸ با افزایش رشد تومور، پیشرفت بیماری و عود سرطان پستان رابطه مستقیم دارد (۱۰). بیان اینترلوکین-۸ با آنژیوژنز، تومورزایی و متاستاز تومورها در داخل بدن ارتباط دارد. مطالعات متعددی بیانگر اثر مهاری فلاونوئیدهای مختلف بر روی مهار رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی می‌باشد (۱۱, ۹). التهاب به پیشرفت تومور کمک می‌کند و می‌تواند با تولید بیش از حد سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین-۶، اینترلوکین-۸ ایجاد شود. اولین عارضه ایجاد شده در فرد مبتلا به سرطان پستان، التهاب در ناحیه تومور و بافت‌های سرطانی می‌باشد (۱۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش غلظت هسپرتین تا غلظت ۱۰۰µM میزان بیان ژن اینترلوکین-۸ به‌صورت وابسته به دوز کاهش می‌یابد. همچنین میزان بیان ژن اینترلوکین-۸ در تیمار ۴۸ ساعته کمتر از تیمارهای ۲۴ و ۶ ساعته بود. در این بررسی در غلظت ۲۰۰ µM با وجود کاهش قابل توجه بیان نسبی ژن اینترلوکین-۸ نسبت به کنترل، میزان بیان نسبی ژن اینترلوکین-۸ بیشتر از غلظت ۱۰۰µM بود. در مطالعه Polat و همکاران مشخص شد، هسپرتین از طریق اثرات ضد التهابی (کاهش بیان IL-6)، آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوز در مدل‌های کولیت ناشی از TNBS[1] محافظت می‌کند (۱۳). در مطالعه Ren و همکاران که اثر محافظتی هسپرتین بر پاسخ‌های التهابی در سلول‌های RAW264.7 ناشی از لیپوپلی‌ساکارید (LPS[2]) بررسی‌شد، مشخص شد که درمان با هسپرتین به‌طور چشمگیری ترشح فاکتور نکروز تومور TNF-α[3]، اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۱β را سرکوب کرد. همچنین احتمالاً اثر ضد التهابی هسپرتین با مهار NF-kB[4] و فعال‌سازی Nrf2/HO-1[5] مرتبط است (۱۴).

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی ما نشان می‌دهد که هسپرتین به‌عنوان یک ماده با خاصیت های ضدسرطانی و ضدالتهابی، با کاهش بیان ژن اینترلوکین-۸ در کاهش خطر متاستاز و پیشرفت بیماری سرطان پستان ER+ می‌تواند مؤثر باشد. همچنین نتایج مربوط به این مطالعه در شناخت هر چه بیشتر مکانیسم‌های مولکولی اثر هسپرتین بر سرطان پستان کمک کننده است و در کنار سایر مطالعات نویدی برای ارائه راهکارهای جدید مقابله با سرطان پستان می‌باشد.

تقدیر و تشکّر

این مقاله بر اساس طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد ۵۹۰۶ و کد اخلاق IR.BUMS.REC.1401.108 نگارش شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از دانشگاه علوم پزشکی بیرجند و آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند که ما را در انجام این پژوهش یاری دادند، اعلام کنند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

[1] Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)
2 Lipopolysaccharides (LPS)
3 Tumour necrosis factor α (TNF-α)
4 Nuclear factor-κB (NF-kB)
5 Nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase 1 (Nrf2/HO-1)

منابع:

1- Devericks EN, Carson MS, McCullough LE, Coleman MF, Hursting SD. The obesity-breast cancer link: a multidisciplinary perspective. Cancer Metastasis Rev. 2022; 41(3): 607-625. DOI: 10.1007/s10555-022-10043-5.

2- Majeed AI, Hafeez A, Khan SA. Strengthening Breast Cancer Screening Mammography Services in Pakistan Using Islamabad Capital Territory as a Pilot Public Health Intervention. Healthcare; 2022; 10(6), 1106. DOI: 10.3390/healthcare10061106

3- Medeiros B, Allan AL. Molecular mechanisms of breast cancer metastasis to the lung: clinical and experimental perspectives. Int J Mol Sci. 2019; 20(9): 2272. DOI: 10.3390/ijms20092272

4- Fu X, Jeselsohn R, Pereira R, Hollingsworth EF, Creighton CJ, Li F, et al. FOXA1 overexpression mediates endocrine resistance by altering the ER transcriptome and IL-8 expression in ER-positive breast cancer. Proc Natl Acad Sci. 2016; 113(43): E6600-E9. https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1612835113

5- Li W, Zhou X, Cai J, Zhao F, Cao T, Ning L, et al. Recombinant Treponema pallidum protein Tp0768 promotes proinflammatory cytokine secretion of macrophages through ER stress and ROS/NF-κB pathway. Applied microbiology and biotechnology. 2021; 105(1): 353-66. DOI:10.1007/s00253-020-11018-8

6- Salari N, Kazeminia M, Hosseinian-Far A, Mansouri K, Mohammadi M, Noodeh FA. The Effect of Polymorphism A/T 251 of the IL-8 Gene on Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Indian J. Gynecol. Oncol. 2021; 19(4): 1-12. DOI:10.1007/s40944-021-00571-3

7- Sohel M, Sultana H, Sultana T, Al Amin M, Aktar S, Ali MC, et al. Chemotherapeutic potential of hesperetin for cancer treatment, with mechanistic insights: a comprehensive review. Heliyon. 2022; 8(1): e08815. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08815

8- Bagheri V, Zangooei M. Effect of Hesperetin on the level of reactive oxygen species (ROS) in gastric cancer stem cells. J Birjand Univ Med Sci. 2022; 29(1): 50-6. DOI: 10.34785/bums024.2022.006 [Persian]

9- Jo SH, Kim ME, Cho JH, Lee Y, Lee J, Park Y-D, et al. Hesperetin inhibits neuroinflammation on microglia by suppressing inflammatory cytokines and MAPK pathways. Arch Pharm Res. 2019; 42(8): 695-703. DOI: 10.1007/s12272-019-01174-5

10- Teijeira A, Garasa S, Ochoa MC, Villalba M, Olivera I, Cirella A, et al. IL8, Neutrophils, and NETs in a Collusion against Cancer Immunity and ImmunotherapyIL8 and NETs in Cancer Immunotherapy. Clin Cancer Res. 2021; 27(9): 2383-93. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-1319

11- de Oliveira JMPF, Santos C, Fernandes E. Therapeutic potential of hesperidin and its aglycone hesperetin: Cell cycle regulation and apoptosis induction in cancer models. Phytomedicine. 2020; 73: 152887. DOI: 10.1016/j.phymed.2019.152887

12- Deshmukh SK, Srivastava SK, Poosarla T, Dyess DL, Holliday NP, Singh AP, et al. Inflammation, immunosuppressive microenvironment and breast cancer: opportunities for cancer prevention and therapy.. Ann Transl Med. 2019; 7(20): 593. DOI: 10.21037/atm.2019.09.68

13- Polat FR, Karaboğa İ, Polat MS, Erboğa ZF, Yılmaz A, Güzel S. Effect of hesperetin on inflammatory and oxidative status in trinitrobenzene sulfonic acid-induced experimental colitis model. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2018; 64(11): 58-65. http://acikerisim.nku.edu.tr/xmlui/handle/20.500.11776/4437 PMID: 30213290

14- Ren H, Hao J, Liu T, Zhang D, Lv H, Song E, et al. Hesperetin suppresses inflammatory responses in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cells via the inhibition of NF-κB and activation of Nrf2/HO-1 pathways. Inflammation. 2016; 39(3): 964-73. DOI: 10.1007/s10753-016-0311-9