بررسی تاثیر ضد سرطانی عصاره الکلی گیاه گلپر و پروماستیگوت لیشمانیا ماژور در مقایسه با دوکسوروبیسین در رده سلولی سرطان سینه MCF7 و نرمال فیبروبلاست HU02

زهرا باقری حسین آبادی[۱]، فاطمه جوانی جونی[۲]،سیده ناهید سجادی[۳]، حسین وزینی[۴*]، آمنه الیکایی[۵]

۱) گروه آموزشی بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۲) گروه مهندسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، تهران، ایران
۳) گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران
۴) گروه پرستاری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران
۵) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۱۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۷**

چکیده

مقدمه: سرطان سینه شایع ترین سرطان در زنان می باشد. دوکسوروبیسین یکی از مهم ترین داروهای شیمی درمانی می باشد که اثرات جانبی متعددی به همراه دارد. امروزه ترکیبات گیاهی تقریباً یک سوم کل داروهای موجود را تشکیل می دهند. گیاه گلپر(Heracleum persicum) دارای خاصیت ضد سرطانی می باشد. هم چنین در سال های اخیر بررسی تارگت های دارویی جدید هم چون استفاده از ترکیبات انگلی در درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است. بنا بر این هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضد سرطانی عصاره گیاه گلپر و پروماستیگوت لیشمانیا ماژور در مقایسه با دوکسوروبیسین در رده سلولی سرطان سینه MCF7 و فیبروبلاست HU02 می باشد.

مواد و روش ها: رده های سلولی سرطان سینه و فیبروبلاست در معرض غلظت های لگاریتمی دوکسوروبیسین، عصاره الکلی گیاه گلپر و پروماستیگوت لیشمانیا به صورت مجزا و ترکیبی قرار گرفتند. به منظور بررسی مقدار IC50 (Inhibitory Concentration) برای عصاره گیاه، دارو و انگل از روش MTT استفاده شد. در نهایت با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل نتایج صورت پذیرفت.

یافته های پژوهش: نتایج نشان می دهد که با افزایش غلظت دوکسوروبیسین، عصاره گلپر و پروماستیگوت لیشمانیا به طور مجزا و ترکیبی درصد سلول های زنده فیبروبلاست و MCF7 کاهش می یابد. بیشترین کاهش درصد سلول های زنده در اعمال توام عصاره گلپر، پروماستیگوت لیشمانیا و دوکسوروبیسین می باشد.

بحث و نتیجه گیری: عصاره گلپر و پروماستیگوت لیشمانیا می توانند اثر مهارکننده قابل توجهی بر درصد سلول های زنده فیبروبلاست و MCF7 داشته باشند که این کاهش در سلول های زنده MCF7 چشمگیرتر می باشد.

واژه های کلیدی: سرطان سینه، دوکسوروبیسین، عصاره الکلی گلپر، پروماستیگوت لیشمانیا ماژور

* نویسنده مسئول: گروه پرستاری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

Email:Hossein_vazini@yahoo.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

سرطان از بزرگ ترین مشکلات سلامت عمومی و سومین عامل مرگ و میر در ایران است. سرطان پستان، یکی از علل مرگ و میر ناشی از سرطان در میان زنان و نیز از شایع ترین سرطان های مهاجم تشخیص داده شده در زنان می باشد(۱). MCF7 از رده های سلولی سرطان سینه است که به عنوان الگوی in vitro در تحقیقات سرطان پستان استفاده می شود(۲). تحقیقات زیادی در سراسر دنیا به منظور درمان سرطان صورت گرفته است. از جمله داروهایی که بیش از ۳۰ سال است برای درمان انواع سرطان مورد استفاده قرار می گیرد، دوکسوروبیسین می باشد(۳). این ترکیب چهار حلقه ای از خانواده آنتراسایکلین است و تمایل بالایی به اتصال به DNA دارد(۴). در واقع دوکسوروبیسین با تشکیل کمپلکس با DNA و DNA توپوایزومراز II، با ایجاد ممانعت فضایی و شکست رشته DNA، سبب مهار توپوایزومراز II و در نهایت باعث اختلال در فرآیند همانندسازی سلول ها می شود(۵). استفاده بالینی از این دارو موجب آسیب به بافت های سالم مانند قلب، کبد، کلیه و غیره می شود(۶).

مصرف این دارو به دلیل غیر اختصاصی بودن، عوارض جانبی زیاد و بروز مقاومت دارویی با چالش روبرو گردیده است(۷) و انجام تحقیقاتی در زمینه کشف ترکیبات طبیعی که در مهار و یا پیشگیری از سرطان نقش داشته باشند ضروری به نظر می رسد. در سال های اخیر، تحقیقاتی در راستای معرفی آنتی ژن های انگلی با خاصیت ضد سرطان انجام شده است(۸). لیشمانیا ماژور از شایع ترین عفونت های انگلی ناشی از تک یاختگان است. تحقیقات نشان داده است که آنتی ژن های ترشحی این تک یاختگان احتمالاً برخی از مسیرهای سرطان زایی مانند تومورزایی، القای آپوپتوز، فعال سازی سیستم ایمنی، اجتناب از متاستاز و... را تحت تاثیر قرار می دهند، با این وجود مکانیسم دقیق فعالیت ضدسرطانی این انگل ها هنوز به طور کامل مشخص نیست و نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه احساس می شود(۹).

با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی، توجه به گیاهان دارویی و بررسی ویژگی های درمانی آن ها مورد توجه محققان قرار گرفته است(۱۰). گیاه گلپر با نام علمی Heraclum persicum از جمله گیاهان دارویی بومی ایران است(۱۱). این گیاه از گونه جعفری و از خانواده چتریان می باشد. اندام های دارویی این گیاه شامل ریشه، میوه، برگ و دانه است. این گیاه از روغن های فرار، فلاونوئیدها و فورانوکوآمارین ها تشکیل شده است. گزارش هایی در مورد خاصیت ضد انعقادی، آنتی ترومبوتیک، ضد تجمع پلاکتی، تحریک کننده سیستم انعقادی، درمان صرع، خاصیت ضد قارچی، ضد میکروبی و ضد سرطانی این گیاه وجود دارد(۱۲). لذا گیاه گلپر با توجه به خواص درمانی متعدد، عوارض جانبی کمتر و مقرون به صرفه بودن این نوع درمان نسبت به درمان های شیمیایی و هم چنین ترکیبات انگلی به دلیل دارا بودن اثرات ضد سرطانی در این مطالعه انتخاب شدند. بنا بر این هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضد سرطانی پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور و عصاره گیاه گلپر در مقایسه با دوکسوروبیسین در رده سلولی سرطان سینه(MCF7) و فیبروبلاست(HU02) می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی بر روی ۱۲ گروه انجام شده است(جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. دسته بندی گروه های مورد آزمایش

شماره گروه	تیمارها
۱	تاثیر پروماستیگوت انگل لیشمانیا بر رده سلولی MCF7
۲	تاثیر پروماستیگوت انگل لیشمانیا بر رده سلولی HU02
۳	تاثیر عصاره گلپر بر رده سلولی MCF7
۴	تاثیر عصاره گلپر بر رده سلولی HU02
۵	تاثیر داروی دوکسوروبیسین بر رده سلولی MCF7
۶	تاثیر داروی دوکسوروبیسین بر رده سلولی MCF7
۷	تاثیر داروی دوکسوروبیسین توام با پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور بر رده سلولیMCF7
۸	تاثیر داروی دوکسوروبیسین توام با پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور بر رده سلولی HU02
۹	تاثیر داروی دوکسوروبیسین توام با عصاره گیاه گلپر بر رده سلولی MCF7
۱۰	تاثیر داروی دوکسوروبیسین توام با عصاره گیاه گلپر بر رده سلولی HU02
۱۱	تاثیر داروی دوکسوروبیسین توام با عصاره گیاه گلپر و پروماستیگوت انگل بر رده سلولی MCF7
۱۲	تاثیر داروی دوکسوروبیسین توام با عصاره گیاه گلپر و پروماستیگوت انگل بر رده سلولی HU02

تهیه انگل: پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. سپس این انگل در محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ حاوی آنتی بیوتیک های پنیسیلین و استرپتومایسین کشت داده شد و پس از پاساژهای متوالی، زمانی که لیشمانیا به فاز لگاریتمی رسید، از محیط کشت جدا گردید. پس از آن انگل ها دو بار با PBS استریل شستشو داده شد و به ویال های استریل منتقل شد و در ظرف حاوی یخ، سونیکیت شد. مخلوط حاصل از فیلترهای ۰/۴ و ۰/۲ میکرونی عبور داده و لیوفیلیزه شد(۱۳). در نهایت محلول استوک در محیط کشت استریل RPMI ۱۶۴۰ رقیق گردید و غلظت های(۱-۱۰-۵۰-۵۰۰ µg/ml) تهیه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تهیه عصاره گیاه گلپر: حدود ۲ کیلوگرم گیاه گلپر (مخلوط دانه و برگ) تهیه و در محیطی خنک و تاریک خشک شد. سپس حدود ۱۰۰ گرم از پودر آسیاب و غربال شده در ارلن ریخته شد و حدود ۲۵۰ میلی لیترمتانول ۸۰ درصد به آن افزوده شد و به مدت ۲۴ ساعت به روی شیکر با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. مخلوط به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی صاف شده و در دستگاه تبخیر کننده چرخشی قرار گرفت تا حلال آن کاملاً تبخیر شده و رسوب آن باقی بماند. در نهایت غلظت های مورد نیاز از عصاره ها با حل کردن مقدار مورد نیاز از پودر عصاره در محیط کشت فاقد سرم و عبور آن از فیلتر milipore با قطر منافذ ۰/۲۲ میکرومتر تهیه شد.

کشت رده های سلولی: در پژوهش حاضر، رده سلول های سرطانی پستان MCF7 و فیبروبلاست نرمال HU02 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. ۱ میلی لیتر از این سلول ها به فلاسک ۲۵ سانتی متری حاوی محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ به همراه ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱۰۰ میکروگرم از هر یک از آنتی بیوتیک های پنی سیلین و استرپتومایسین منتقل شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و دی اکسید کربن ۲۵ درصد و رطوبت ۹۵ درصد قرار گرفت.

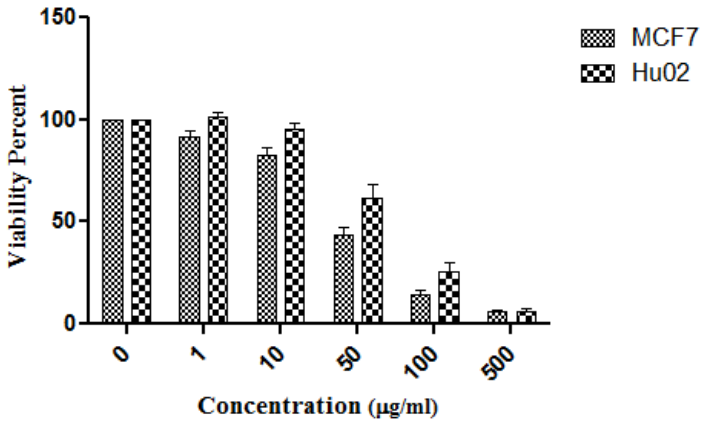
تعیین سمیت سلولی دوکسوروبیسین: جهت بررسی اثر سمیت داروی دوکسوروبیسین بر رده سلول های سرطانی پستان MCF7 و فیبروبلاست نرمال HU02 از آزمون MTT -diphenyltetrazoliumbromide (2.5-(yl-2- dimethylthiazol-4.5)-3) استفاده شد(۱۴). به منظور انجام این تست سلول ها دو مرتبه پاساژ داده شد. سپس میکروپلیت ۹۶ خانه استریلی برداشته، به هر چاهک، سوسپانسیون سلولی حاوی 10^4 سلول MCF7 و HU02 منتقل و پس از آن، داروی دوکسوروبیسن با غلظت های(۱-۱۰-۵۰-۵۰۰ µg/ml) به طور جداگانه به هر ول اضافه شد. لازم به ذکر است هر غلظت ۴ بار تکرار شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و سوپرناتانت دور ریخته شد و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول MTT که حاوی ۵ میلی گرم از پودر این ماده در ۱ سی سی محیط RPMI ۱۶۴۰ بدون FBS افزوده شد و میکروپلیت ها به مدت ۳ ساعت در

شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی گراد و دی اکسید کربن ۲۵ درصد و رطوبت ۹۵ درصد انکوبه شدند. پس از پایان زمان گرماگذاری محلول رویی چاهک ها دور ریخته شد و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO(Dimethyl sulfoxide) اضافه شد. حدود ۱۰ دقیقه بعد، محلول رویی هر چاهک خارج گردید و جذب نوری توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۶۹۰-۵۴۰ نانومتر خوانده شد.

آنالیز آماری: حداقل سه تکرار مستقل برای هر داده انجام شد و نتیجه به صورت میانگین ±SD (انحراف استاندارد) ارائه گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و آزمون های Anova One Way و Tukey صورت پذیرفت. معنی داری در سطح($P\leq0.05$) در نظر گرفته شد.

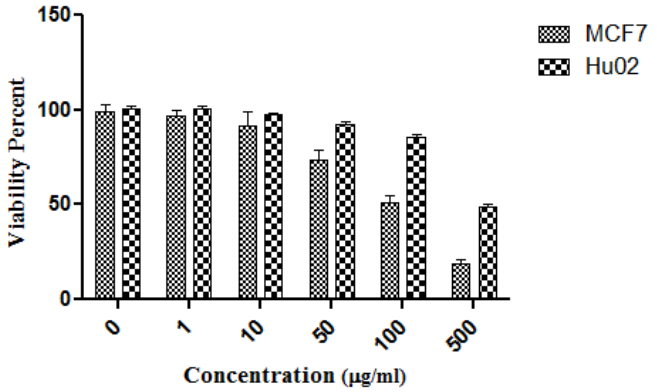
یافته های پژوهش

الف) تاثیر بازدارندگی داروی دوکسوروبیسین بر رده سلولی سرطانی پستان MCF7 و فیبروبلاست نرمال HU02: تست MTT، به منظور بررسی تاثیر داروی دوکسوروبیسین بر رده سلولی سرطانی پستان MCF7 و فیبروبلاست نرمال HU02، انجام شد. نتایج نشان داد، غلظت باز دارندگی ۵۰ درصدی این دارو، پس از گذشت ۲۴ ساعت بر رده سلولی نرمال HU02 و بر رده سلولی سرطانی MCF7، به طور میانگین به ترتیب IC50=58.98µg/ml و IC50=32.00µg/ml می باشد. این کاهش در سلول های MCF7 بیشتر است(شکل شماره ۱).



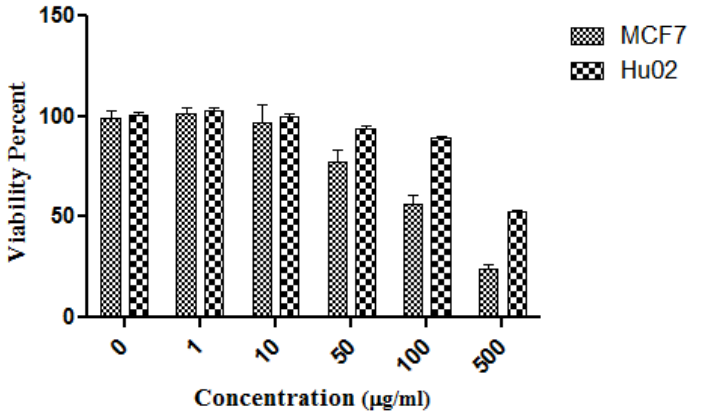
شکل شماره ۱. اثرات بازدارندگی دوکسوروبیسین بر رده سلولی MCF7 و HU02 در تست ۲۴ ساعته

ب) اثرات بازدارندگی عصاره‌ی گیاه گلپر بر رده سلولی سرطانی پستان MCF7 و فیبروبلاست نرمال HU02: برای بررسی سمیت سلولی عصاره گیاه گلپر با روش MTT ، غلظت های ۱-۱۰-۵۰-۱۰۰-۵۰۰ (µg/ml) از عصاره تهیه شد. نتایج نشان داد که در رده سلولی MCF7 درصد کشندگی سلول نسبت به نمونه کنترل به ترتیب ۳/۲۲ درصد، ۸/۴۷ درصد، ۲۶/۲۵ درصد، ۴۸/۷۴ درصد و ۸۱/۱۵ درصد می باشد در حالی که غلظت µg/ml ۱ عصاره گیاه گلپر بر رده سلولی نرمال فیبروبلاست HU02 فاقد اثر کشندگی می باشد. تاثیر سایر غلظت های µg/ml ۱۰-۵۰-۱۰۰-۵۰۰ بر روی این رده به ترتیب ۲/۵۰ درصد، ۷/۴۵ درصد، ۱۴/۵۳ درصد و ۵۱/۱۸ درصد می باشد. به طور میانگین غلظت بازدارنده ۵۰ درصدی عصاره گیاه گلپر بر رده سلولی سرطانی MCF7 و رده سلولی نرمال فیبروبلاست HU02 به ترتیب IC50=117.3µg/ml و IC50=507.1µg/ml محاسبه گردید(شکل شماره ۲).



شکل شماره ۲. تاثیر بازدارندگی عصاره گیاه گلپر بر رده سلولی MCF7 و HU02 در تست ۲۴ ساعته

ج) اثرات بازدارندگی پروماستیگوت انگلی لیشمانیا ماژور بر رده سلولی سرطانی پستان MCF7 و فیبروبلاست نرمال HU02: نتایج دو گروه آزمایش نشان داد که پس از گذشت ۲۴ ساعت غلظت باز دارنده ۵۰ درصدی پروماستیگوت انگلی لیشمانیا ماژور بر رده سلولی نرمال HU02 به طور میانگین IC50=599.1µg/ml و بر رده سلولی سرطانی MCF7 به طور میانگین IC50=148.7µg/ml می باشد. غلظت ۱ µg/ml پروماستیگوت انگلی لیشمانیا ماژور بر رده سلولی نرمال فیبروبلاست HU02 و رده سلولی سرطانی پستان MCF7 فاقد اثر کشندگی می باشد. غلظت های ۱۰-۵۰-۱۰۰-۵۰۰ µg/ml پروماستیگوت انگلی لیشمانیا ماژور بر روی رده سلولی سرطانی پستان MCF7 به ترتیب دارای اثر کشندگی ۲/۸۸ درصد، ۲۲/۷۴ درصد، ۴۳/۵۴ درصد و ۷۶/۳۶ درصد می باشد در حالی که غلظت های ۱۰-۵۰-۱۰۰-۵۰۰ µg/ml آن بر روی رده سلولی HU02 به ترتیب دارای اثر کشندگی ۰/۳۰۳ درصد، ۶/۱۴ درصد، ۱۰/۶۷ درصد و ۴۷/۸۵ درصد می باشد($P<0.05$)(شکل شماره ۳).



شکل شماره ۳. تاثیر بازدارندگی پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور بر رده سلولی MCF7 و HU02 در تست ۲۴ ساعته

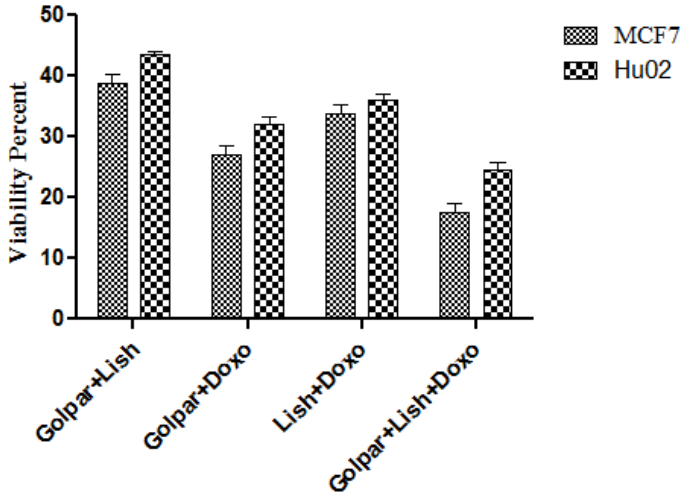
د) درصد بقا سلول های زنده: پس از محاسبه IC50 گروه های زیر تعریف و سلول ها با غلظت های IC50 به صورت ترکیب های زیر به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند:

۱-غلظت IC50 عصاره گیاه گلپر+غلظت IC50 پروماستیگوت انگل لیشمانیا(Golpar+Lish)

۲- غلظت IC50 عصاره گیاه گلپر+غلظت IC50 داروی دوکسوروبیسین(Golpar+Doxo)

۳-غلظت IC50 پروماستیگوت انگل لیشمانیا+غلظت IC50 داروی دوکسوروبیسین Lish (+Doxo)

۴-غلظت IC50 عصاره گیاه گلپر+غلظت IC50 پروماستیگوت انگل لیشمانیا+غلظت IC50 داروی دوکسوروبیسین(Golpar+Lish+Doxo) در هر گروه درصد سلول های زنده محاسبه گردید(شکل شماره ۴).



شکل شماره ۴. میزان تکثیررده سلولی MCF7 و HU02 تیمار شده با چهار گروه مورد آزمایش ۱-پروماستیگوت انگلی توام با عصاره گلپر ۲-عصاره گیاه گلپر توام با داروی دوکسوروبیسین ۳-پروماستیگوت انگلی توام با داروی دوکسوروبیسین ۴-پروماستیگوت انگلی توام با عصاره گلپر و دارو دوکسوروبیسین

نتایج نشان داد که درصد بقاء سلول های زنده در گروه تیمار شده با پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور همراه با عصاره گیاه گلپر در رده های سلولی سرطانی سینه MCF7 و نرمال فیبروبلاست HU02 به ترتیب ۳۸/۸۴ درصد و ۴۳ درصد می باشد. هم چنین درصد بقاء سلول های زنده در گروه تیمار شده با داروی دوکسوروبیسین همراه با عصاره گیاه گلپر در رده های سلولی سرطانی سینه MCF7 و فیبروبلاست HU02 به ترتیب ۲۷ درصد و ۳۲ درصد می باشد. در گروه تیمار شده با پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور توام با داروی دوکسوروبیسین در گروه های آزمایشی رده سلولی سرطانیMCF7 و HU02 درصد بقا سلول های زنده نیز به ترتیب ۳۳/۸۵ درصد و ۳۵/۹۱ درصد بود. بیشترین کاهش در درصد بقای سلول های زنده در دو رده سلولی MCF7 و HU02 در گروه تیمار شده با عصاره گیاه گلپر همراه با پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور و داروی دوکسوروبیسین دیده می شود. درصد بقاء سلول های زنده در گروه های آزمایشی رده سلولی سرطانی سینه MCF7 و رده سلولی نرمال فیبروبلاست HU02 به ترتیب ۱۷/۵۴ درصد و ۲۴/۵۶ درصد می باشد.

بحث و نتیجه گیری

امروزه سرطان دومین عامل مرگ و میر در دنیاست. سرطان سینه شایع ترین سرطان می باشد و از سال ۱۹۹۹ جامعه آماری این سرطان در ایران رو به افزایش است. روش های درمانی سرطان سینه پیچیده و پر هزینه می باشد بنا بر این تلاش برای یافتن تشخیص و درمان جدید برای این سرطان ضروری به نظر می رسد(۱۵).

در بین داروهای شیمی درمانی دوکسوروبیسین یکی از مهم ترین و شناخته شده ترین داوهای ضد سرطانی می باشد. گرچه این دارو با مهار همانندسازی DNA در مسیر تکثیر سلول های سرطانی اختلال ایجاد می کند(۱۶)، اما به دلیل غیر هدفمند بودن، عوارض جانبی زیادی را به بیمار تحمیل می کند. هم چنین بروز مقاومت دارویی یکی از معضلات در درمان با دوکسوروبیسین می باشد. مکانیسم های متفاوتی در بروز مقاومت نسبت به این دارو مطرح شده است، از جمله فعال شدن نا به هنجار بسیاری از مسیرهای پیام رسانی هم چون مسیر PI3K/Akt که

نقش بسیار مهمی در توانایی تکثیر غیرطبیعی سلولی و فرار از آپوپتوز در بروز پدیده مقاومت به داروی دوکسوروبیسین ایفا می کند(۱۷،۱۸).

ثابت شده است که گیاهان، هم در پیشگیری و هم در درمان بیماری سرطان نقش چشمگیری دارند(۱۹). این ترکیبات با مکانیسم های مختلف عمل می کنند، اما القاء آپوپتوز نقطه مشترک بسیاری از این ترکیبات می باشد(۲۰). مطالعات صادقی و همکاران نشان داد که عصاره گیاه سرخدار اثرات مشابهی با داروی دو کسوروبیسین در مهار فعالیت سلول های Hela دارد(۲۱). تحقیقات باکار و همکاران نشان داد که عصاره گونه Ferulago دارای اثرات مهار کنندگی رشد بر روی سلول های سرطانی PC3 و SW480 است(۲۲). در مطالعه دیگری اثر اتانولی گیاه ترخون بر سلول های سرطانی رده سلولی MFC7 مورد بررسی قرار گرفت، گزارش شد که با افزایش غلظت عصاره ترخون و مدت زمان، تاثیر ضد سرطانی گیاه ترخون افزایش می یابد و می توان نتیجه گرفت که گیاه ترخون دارای خاصیت ضد سرطانی می باشد(۲۳).

محمدی و برادران در سال ۱۳۹۴ اثر آپوپتوتیک عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه(Urtica dioica) بر روی سلول های سرطان سینه رده MDA-MB-468 را مورد بررسی قرار دادند. نتایج تست MTT نشان داد که عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه باعث القاء آپوپتوز در این سلول ها شده و به طور معنی داری سلول های سرطانی را از بین برد(۲۴).

از طرفی مطالعات گوناگونی در راستای بررسی تاثیر آنتی ژن های انگلی در درمان سرطان صورت گرفته است. در پژوهشی اثرات ضد سرطانی عصاره های انگلی Leishmania Major و Toxoplasma gondii رده سلولی سرطانی مقاوم(A2780-CP) و حساس (A2780) به سیس پلاتین مورد بررسی قرار گرفت. یافته ها نشان می دهد که مقاومت سلول های سرطانی مقاوم(A2780-CP) به سیس پلاتین در حضور عصاره های انگلی از بین رفته و درصد سلول های زنده و نرخ تکثیر در حضور این عصاره ها نسبت به رده سلولی سرطانی حساس(A2780) به سیس پلاتین کاهش می یابد. هم چنین بیشترین میزان کاهش تکثیر و سلول های مرده در دو گروه آزمایشی مربوط به گروه تیمار شده با عصاره انگل لیشمانیا ماژور توام با داروی سیس پلاتین مشاهده گردید. عصاره های انگلی توکسوپلاسما گوندی و لیشمانیا ماژور به دلیل دارا بودن کمپلکسی از آنتی ژن های دفعی/ترشحی، می توانند اثرات کشندگی قابل توجهی بر هر دو رده سلولی سرطانی دارا باشند(۲۵).

در پژوهش حاضر ۴ حالت کلی(۱-پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور توام با عصاره گلپر ۲-عصاره گیاه گلپر توام با داروی دوکسوروبیسین ۳-پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور توام با داروی دوکسوروبیسین ۴-پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور توام با عصاره گلپر و دارو دوکسوروبیسین) بر روی دو رده سلولی MCF7 و HU02 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که به طور کلی درصد کشندگی سلول ها در رده سلولی MCF7 نسبت به HU02 بیشتر است. پروماستیگوت انگلی لیشمانیا در ترکیب با داروی دوکسوروبیسن به ترتیب سبب مهار رشد ۶۷ درصد و ۶۵ درصد سلول های MCF7 و HU02 شد به علاوه پروماستیگوت انگلی در ترکیب با عصاره گلپر سبب مهار رشد ۶۲ درصد و ۵۷ درصد سلول های MCF7 و HU02 شد. بیشترین تاثیر در مهار رشد سلول ها را می توان در ترکیب عصاره گلپر توام با پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور و داروی دوکسوروبیسن دید که سبب مهار رشد ۸۵ درصد و ۸۰ درصد سلول های MCF7 و HU02 شد.

تقوی و همکاران نشان دادند که عصاره گیاه گلپر سبب مهار رشد سلول های MCF7 می شود و احتمالاً این تاثیرات به دلیل حضور ترکیبات فورانوکومارین ها در عصاره این گیاه و تاثیر بر فرآیند متقسیم سلولی با ایجاد تداخل در عملکرد میکروتوبل های دوک میتوزی می باشد. نتایج حاصل از مطالعه این محققین نشان داد که عصاره اتانولی گلپر به میزان ۷۶/۳۱ درصد اثر مهاری بر رشد سلول های سرطانی داشت. بنا بر این چنین استنباط گردید که افزودن دوز مناسبی از گیاه گلپر خوراکی در رژیم غذایی می تواند خطر ابتلا به سرطان سینه را کاهش دهد(۲۶). براساس نتایج حاصل از این مطالعه می توان چنین استنباط نمود که عصاره گیاه گلپر

و پروماستیگوت انگلی لیشمانیا ماژور می توانند از تکثیر رده سلولی سرطانی سینه MCF7 جلوگیری نمایند. هم چنین بیشترین میزان کاهش تکثیر سلول ها بر رده سلولی سرطانی پستان MCF7 و فیبروبلاست نرمال HU02 مربوط به گروه تیمار شده با عصاره گیاه گلپر توام با پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور همراه با داروی دوکسوروبیسین مشاهده گردید.

نتایج تحقیق ما نیز در راستای نتایج مطالعات سایر محققان، تایید کننده اثر ضد سرطانی عصاره گیاه گلپر و نیز پروماستیگوت لیشمانیا ماژور بر سرطان سینه می باشد. بنا بر این، می توان این امر را محتمل دانست که این نوع شیوه درمان در مهار سلول های سرطانی می تواند با جدیت بیشتری پیگیری شود و با انجام تحقیقات گسترده تر بر روی رده های سلولی سرطانی متعدد بتوان در درمان سرطان از این عصاره و انگل بهره برد.

کد اخلاق: IR.SKUMS.0063-99

References

1.Hanbyoel L, Wonshik H. Unique features of young age breast cancer and its management. J Breast Cancer2014; 17: 301-30. doi.10.4048/jbc.2014.17.4.301

2.Comşa S, Cîmpean A M, Raica M. The story of MCF-7 breast cancer cell line 40 years of experience in research. Anticancer Res2015; 35: 3147-54. doi.0250-7005/2015 $2.00+.40

3.Wakharde AA, Awad AH, Bhagat A, Karuppayil SM. Synergistic activation of doxorubicin against cancer a review. Am J Clin Microbiol Antimicrob2018; 1: 1009.

4.Mizutani H, Oikawa S, Hiraku Y, Murata M, Kojima M, Kawanishi S. Distinct mechanisms of site specific oxidative DNA damage by doxorubicin in the presence of copper II and NADPH cytochrome P450 reductase.Cancer Sci 2003;94:686-91. doi.10.1111/j.1349-7006. 2003.tb01503. x.

5.Ottewell PD, Woodward JK, Lefley DV, Evans CA, Coleman RE, Holen I. Anticancer mechanisms of doxorubicin and zoledronic acid in breast cancer tumor growth in bone. Mole Cancer Ther 2009; 8: 2821-32. doi.10.1158/1535-7163.MCT-09-0462

6.Kelleni MT, Amin EF, Abdelrahman AM. Effect of metformin and sitagliptin on doxorubicin-induced cardiotoxicity in Rats impact of oxidative stress inflammation and apoptosis. J Toxicol 2015; 1-8. doi. 10.1155/2015/424813

7.Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. J Cancer Res Therap 2015; 10: 853. doi.10.4103/0973-1482.139267

8.Kalantari N, Ahangardarabi Z, Siadati S, Nikbakhsh N, Ghasemi M, Ghaffari T, et al. Detection of Toxoplasma gondii DNA in malignant breast tissues in breast cancer patients. Int J Mole Cell Med2017; 6: 190-6. doi.10.22088/acadpub.BUMS.6.3.190

9.Callejas B.E, Martínez-Saucedo D, Terrazas L.I. Parasites as negative regulators of cancer. Biosci Rep 2018; 38: 20180935. doi. 10.1042/BSR20180935

10.Soltanian S, Sheikhbahaei M, Mohamadi N. Cytotoxicity evaluation of methanol extracts of some medicinal plants on p19 embryonal carcinoma cells. J Appl Pharm Sci 2017; 7: 142-9. doi. 10.7324/JAPS.2017.70722

11.Shariatifar N, Mostaghim T, Afshar A, Mohammadpourfard I, Sayadi M, Rezaei M. Antibacterial properties of essential oil of Heracleum persicum Golpar and foodborne pathogens. Int J Enter Path2017; 5: 41-4. doi.10.15171/ijep.2017.10

12.Taghizabet N, Mangoli E, Anbari F, Masoodi SA, Talebi AR, Mazrooei M. The effect of Heracleum persicum Golpar oil and alcoholic extracts on sperm parameters and chromatin quality in mice. Int J Rep Biomed Yazd, Iran 2016; 14: 365-70.

13.Silveira FT, Blackwell JM, Ishikawa EA, Braga R, Shaw JJ, Quinnell RJ, et al. T cell responses to crude and defined leishmanial antigens in patients from the lower Amazon region of Brazil infected with different species of Leishmania of the subgenera Leishmania and Viannia. Parasite Immunol1998; 20: 19-26. doi.10.1046/j.1365-3024.1998.t01-1-00126.x

14.Bodo J, Chovancova J, Hunakova L, Sedlak J. Enhanced sensitivity of human ovarian carcinoma cell lines A2780 and A2780/CP to the combination of cisplatin and synthetic isothiocyanate ethyl 4-

isothiocyanatobutanoate. Neoplasma 2005; 52: 510-6.
15.Azizi M, Bahadori M, Azizi F. History of cancer in Iran. Arch Iran Med 2013; 16: 613-22.
16.Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez T, Mcleod H, Klein TE, Altman RB. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. Pharm Genom 2011; 21: 440-6. doi. 10.1097/FPC.0b013e32833ffb56
17.Smith L, Watson MB, Kane SLO, Drew PJ, Lind MJ, Cawkwell L. The analysis of doxorubicin resistance in human breast cancer cells using antibody microarrays. Mole Cancer Therap 2006; 2115-21. doi.10.1158/1535-7163.MCT-06-0190
18.Lovitt CJ, Shelper TB, Avery VM. Doxorubicin resistance in breast cancer cells is mediated by extracellular matrix proteins. BMC Cancer2018; 18: 41. doi. 10.1186/s12885-017-3953-6
19.Prakash O, Kumar A, Kumar P. Anticancer potential of plants and natural products a review. Am J Pharmacol Sci2013; 1: 104–115. doi: 10.12691/ajps-1-6-1
20.Bayala B, Bassole IHN, Scifo R, Gnoula C, Morel L. Anticancer activity of essential oils and their chemical components a review. Am J Cancer Res2014; 4: 591-607. doi. 2156-6976/ajcr0001130
21.Sadeghialiabadi H, Ahmad S, Saeidi M, Jafarian A. Cytotoxic effects of the extracts of iranian taxus baccata and cupressus horizentalis on cancer cells. Iranian J Pharmaceut Res2003; 2:107-10. doi. 10.22037/IJPR.2010.21
22. Filiz B, Songul K, Bostanlık D, Gul F, Ceyda Sibel K. Anticancer effect of ferulago mughlea peşmen apiaceae on cancer cell proliferation. Iran J Pharm Res 2016; 15: 501-4.
23.Holohan C, Schaeybroeck S, Longley DB, Johnston PG. Cancer drug resistance an evolving paradigm. Nature Rev Cancer 2013; 13: 714-26. doi.10.1038/nrc3599
24.Mohammadi A, Baradaran B. [Apoptotic effect of the urtica dioica plant extracts on breast cancer cell line MDA- MB- 468]. J Ardabil Uni Med Scie2015; 15: 283-90. (Persian)
25.Elikaei A, Vazini H, Javani F. [Anticancer effects of parasite extracts of leishmaniasis and toxoplasma On resistant cell line A2780-CP and sensitive A2780 to cisplatin]. J Alzahra Uni Appl Biol2018; 31:23-8. doi. 10.22051/JAB.2017.16470.1162 (Persian)
26.Taqavi M, Nemati F, Khan Babaei R. Effect of glacial plant on cancer cell apoptosis. 3th National Con Food Secu Tehran Iran. 2013.

Anticancer Effect of Heracleum persicum Alcoholic Extract and Leishmania Major Promastigute in Comparison with Doxorubicin in MCF7 Breast Cancer Cell Line and Natural HU02 Fibroblast

Bagherihosseinabadi Z[1], Javanijouni F[2], Sajjadi S[3], Vazini H[4], Elikaei A[5]*

(Received: June 1, 2019 Accepted: January 7, 2020)

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common cancer among women. Doxorubicin is one of the most important chemotherapy drugs in the treatment of tumors with many side effects. Today, herbal compounds make up about one-third of the total available drugs. Heracleum persicum has anti-cancer effects. Moreover, in recent years, there has been an interest in the study of new drug targets, such as the use of parasitic compounds in cancer treatment. Therefore, this study aimed to investigate the anticancer effects of Heracleum persicum alcoholic extract and Leishmania major promastigute in comparison with doxorubicin in MCF7 breast cancer cell line and HU02 fibroblast.

Materials & Methods: Breast and fibroblast cell lines were exposed to logarithmic concentrations of doxorubicin, Heracleum persicum extract, and Leishmania promastigute separately and in combination. The MTT was used to determine the inhibitory concentration of this herb extract, medicine, and the parasite. The data were analyzed in SPSS software. *Ethics code:* IR.SKUMS.0063-99

Findings: The results showed that an increase in the concentration of doxorubicin, Heracleum persicum extract, and Leishmania promastigute individually and in combination led to a decrease in the percentage of live fibroblast cells and MCF7. The highest percentage of the decreased live cells is observed in the combined application of Heracleum persicum extract, Leishmania promastigute, and doxorubicin.

Discussion & Conclusions: Heracleum persicum extract and Leishmania promastigute can have significant inhibitory effects on the percentage of live fibroblast cells and MCF7, which is more pronounced in living cells of MCF7.

Keywords: Breast cancer, Doxorubicin, Heracleum persicum alcoholic extract, Leishmania major promastigute

1. Dept of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
2. Dept of Biomedical Engineering, Faculty of Health, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Dept of Biology, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran
4. Dept of Nursing, Faculty of Basic Sciences, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran
5. Dept of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
**Corresponding author Email: Hossein_vazini@yahoo.com*