مجلـه دانشگـاه علـوم پــزشکـی اردبیـل

دوره دهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۲۸۷ الی ۲۹٤

# بررسی اثرات سیتوتوکسیسیتی عصاره‌های زیتون و چای سبز بر روی رده سلولی سرطانی پستان

دکتر حسن حسین زادگان[۱]، بهروز عزت پور[۲]، فواد عبداله پور[۳]، معصومه معتمدی[٤]،مرضیه رشیدی پور[۵]

[۱]نویسنده مسئول: استادیار باکتری شناسی پزشکی، گروه علوم پایه، دانشکده پرستاری و مامایی مراغه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مراغه، ایران
**E-mail:** Hosainzadegan_2010@@yahoo.com
[۲] مربی انگل شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران [۳] مربی بیوشیمی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران [٤] کارشناس ارشد ایمونولوژی، بیمارستان شهید مدنی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران [۵] باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم آباد، خرم آباد، ایران

## چکیده

**زمینه و هدف:** همانطور که می‌دانیم مشکلات زیادی در درمان بسیاری از تومورها وجود دارد و مطالعات زیادی برای یافتن ترکیبات ضد توموری مناسب در کشورهای مختلف انجام می‌شود. در همین راستا این مطالعه جهت بررسی اثر ضد سرطانی عصاره‌های چای سبز و زیتون بر میزان لیز رده سلولی سرطانی پستان (BT474) انجام شد.

**روش کار:** ابتدا عصاره‌های آبی چای سبز و اتانولی زیتون تهیه شدند. سپس با استفاده از روش سنجش آنزیم لاکتات دهیدروژناز میزان لیز سلولی یا سیتوتوکسیسیتی آنها در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف بر روی سلول‌ها بررسی شد هر آزمایش ۳ بار تکرار شد و نتایج برای هر تیمار بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید. اختلاف آماری بین تیمارها توسط آزمون تی بررسی شد و ( $p<۰/۰۵$ ) به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** در مورد عصاره چای سبز با افزایش غلظت، درصد کشندگی یا لیز سلولی در ۸ و ۲٤ ساعت پس از تیمار کاهش یافت. بیشترین درصد لیز سلولی توسط عصاره زیتون در غلظت ۱ میلی‌گرم در دسی لیتر (۸۵٪) مشاهده گردید درصد لیز در سلول‌های تیمار شده با عصاره زیتون وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت بیشتر می‌شد. از نظر آماری درصد لیز سلولی عصاره زیتون در ۲٤ ساعت تیمار با درصد لیز در ۸ ساعت تیمار (۸۳٪) تفاوت معنی‌داری نداشت. اما مقایسه نتایج لیز سلولی عصاره چای سبز در ۸ ساعت و ۲٤ ساعت تیمار در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p=۰/۰۰۰$).

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که دو عصاره زیتون و چای سبز به صورت خام دارای اثر لیز سلولی روی رده سلولی BT474 هستند. عصاره زیتون اثر شدیدتری در مقایسه با عصاره چای سبز نشان داد که با افزایش غلظت اثر آن نیز افزایش می یافت.

**کلمات کلیدی:** عصاره زیتون؛ عصاره چای سبز؛ لاکتات دهیدروژناز؛ رده سلولی BT474

**دریافت:** ۸۹/۶/۲۹ **پذیرش:** ۸۹/۱۰/۱۶

## مقدمه

انسان در طی سالیان متمادی به اثرات مختلف درمانی عصاره‌های گیاهی پی برده است. از مزیت‌های شناخته شده این عصاره‌ها عدم وجود عوارض جانبی خطرناک و گستردگی طیف اثر آنها می‌باشد که در این خصوص برخی از آنها از قبیل چای و زیتون با زندگی روزمره انسانها عجین شده‌اند [۲،۱]. از طرفی پس از سال‌ها پیشرفت در

لطفا به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Hosain zadegan H, Ezzet por B, Abdollah por F, Motamedy M, Rashidipor M. Study of Cytotoxic Activity of Olive and Green Tea Extracts on Breast Tumor Cell Line. J Ardabil Univ Med Sci. 2010; 10(4): 287-294. (Full text in Persian)

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

زمینه بهداشت هنوز انواع سرطان و از جمله سرطان پستان از مشکلات اساسی در اغلب کشورهاست. سرطان پستان شایعترین بدخیمی غیر جلدی در آمریکاست به طوری که سالانه در آمریکا حدود ٤۰۰۰۰ نفر و در کل دنیا ٤۰۰۰۰۰ نفر بر اثر سرطان پستان از بین می‌روند. در این میان مصرف گسترده داروهای رایج ضدسرطان از قبیل تاکسان[1] و آنتراسیکلین‌ها[2] موجب ایجاد مقاومت‌های درمانی نیز می‌شود به طوری که سایر گزینه‌های درمانی را نیز محدود می‌کنند [۳]. در حال حاضر علاوه بر جراحی و داروهای شیمیایی رایج، پیشگیری‌های اولیه توسط مواد شیمیایی مختلف و داروهای گیاهی نیز در کنترل انواع سرطان روش‌های مناسبی هستند. داروهای گیاهی به علت عدم وجود عوارض جانبی، اهمیت بیشتری در پیشگیری انواع سرطان دارند [٤].

از طرف دیگر زیتون و چای سبز دو ماده غذایی هستند که اثرات مختلف ضد توموری از قبیل القای آپوپتوزیس، ضد رگ‌زایی، القای تمایز سلولی، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تغییر متابولیسم کارسینوژنی در آنها مشاهده شده است [٤،۲،۱].

زیتون با نام علمی اولئا اروپا[3] گیاهی همیشه سبز خاص مناطق مدیترانه‌ای است. گیاه، میوه و برگ زیتون دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد لخته خون، یا تجمع پلاکت‌هاست علاوه بر این دارای خواص ضد میکروبی و گشادکنندگی عروق هستند [۲،۱]. چای سبز نیز محصول گیاهی با نام علمی کاملیا سیننسیس[4] است که پس از آب، دومین نوشیدنی انسان محسوب می‌شود. چای سبز به فراوانی در کشورهای آسیایی، چین و ژاپن مصرف می شود که دارای کارتنوئیدها، کلروفیل، پلی ساکاریدها، چربی، انواع ویتامین، عناصر مانند منگنز، روی، پتاسیم و پلی‌فنل‌هاست.

پلی‌فنل‌های چای مخصوصا دارای اثرات ضدسرطانی هستند. اپی‌کاتچین[5]، اپی گالوکاتچین[6]، اپی کاتچین گالات[7] و اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات[8] چهار نوع پلی‌فنل مهم چای سبز هستند [۵،۲].

هدف اصلی این مطالعه بررسی اثر عصاره‌های گیاهی چای سبز و زیتون بر میزان لیز رده سلولی سرطان پستان در شرایط آزمایشگاهی بود.

## روش کار

این مطالعه از نوع مطالعات بنیادی است که در آن اثر عصاره‌های زیتون و چای سبز بر روی لیز رده سلولی BT474 مورد بررسی قرار گرفته است. زیتون و چای سبز از نمونه‌های مرغوب در سطح مغازه‌های شهر خرم آباد خریداری و عصاره‌گیری شدند. رده سلولی BT474 نیز از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد که برای آزمایشات لیز سلولی از آن استفاده گردید.

**تهیه عصاره چای سبز**

پنجاه گرم از گیاه کاملاً خشک شده چای سبز توزین گردید و پس از اضافه نمودن ۱٤۰۰ میلی لیتر آب به آن به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد. سپس مایع با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شده و در دمای اتاق سرد شد. عصاره به دست آمده با استفاده از دستگاه رتاری (مدل Hiedolph؛ آلمان) تغلیظ گردید [۶].

**تهیه عصاره زیتون**

پس از خشک شدن، زیتون‌ها آسیاب شده و به صورت پودر نرم درآمدند. به آن‌ها استون اضافه شده و به مدت ۱۲ ساعت تحت هم‌زدن‌های شدید قرار گرفتند. این عمل دوبار تکرار شد. پس از فیلتر کردن، مخلوط حاصل با محلول دی‌کلرومتان و متانول شسته شد. قسمت‌های نامحلول جدا شده و

---

1 Taxanes
2 Anthracyclines
3 *Olea europaea*
4 *Camellia cinensis*
5 Epicatechin
6 Epigallocatechin
7 Epicatechingallate
8 Epigallocatechin-3-gallate

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

در دمای محیط خشک گردید. عصاره حاصل تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. عصاره‌گیری از میوه درخت زیتون با استفاده از اتانل ۷۰٪ و به روش ماسراسیون انجام شد [۷].

**تعیین درصد لیز سلولی**

رده سلولی سرطان پستان (BT 474) در فلاسک حاوی محیط کشت RPMI (Sigma-Chemicals; USA) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی[1] رشد داده شد وقتی تعداد سلول‌ها به حد مطلوب رسید سلول‌ها با استفاده از ترکیب ترپیسین (۰/۰۲۵٪) و EDTA (۰/۰۲٪) جداسازی شدند. اثر سیتوتوکسیک عصاره‌ها با استفاده از روش سنجش آنزیم لاکتات دهیدروژناز (Roche Applied Sciences; Germany) انجام شده است که یکی از روش‌های بررسی بیواسی بر اساس رنگ سنجی بوده و تکثیر سلول‌های کشت تیمار شده با مواد مختلف را به صورت کمی ارزیابی می‌کند [۹،۸]. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های چای سبز و زیتون در غلظت‌های ۱، ۰/۵، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم درمیلی‌لیتر تهیه شده و به چاهک‌های حاوی $10^4$ سلول (BT474) در ۱۰۰ میکرولیتر محیط RPMI اضافه شد. سپس پلیت‌ها در مدت زمان‌های ۸ و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در مجاورت دی‌اکسیدکربن انکوبه شدند. سپس پلیت‌ها در g × ۵۰۰ سانتریفوژ شده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به پلیت دیگر منتقل شد. سپس به تمام چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای آماده اضافه گردید و بعد از ۳۰ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف‌کننده اضافه شد و در طول موج ۴۵۰ در مقابل ۶۳۰ با الیزا ریدر قرائت شد [۱۰]. کیت مورد استفاده شامل کنترل‌های منفی و مثبت به شرح زیر بود:

گروه کنترل پایین شامل رده‌های سلولی به تنهایی و گروه کنترل بالا شامل رده سلولی همراه با محلول لیز کننده سلول بود. درصد کشندگی (لیز سلولی) مطابق توصیه شرکت سازنده با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

**(کنترل پایین -کنترل بالا)/۱۰۰ (کنترل پایین-تست)= درصد لیز**

برای مقایسه نتایج علاوه بر فرمول اشاره شده در بالا که به صورت میانگین ۳ بار تکرار آزمایشات محاسبه گردید نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۱/۵ تجزیه و تحلیل شد و اختلاف آماری میان تیمارها توسط آزمون تی بررسی گردید و ($p$<۰/۰۵) به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

میزان لیز رده سلولی BT474 تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره‌های زیتون و چای سبز در جدول‌های ۱ و۲ نشان داده شده‌اند. نتایج به صورت میانگین ۳ بار تکرار آزمایش نشان داده شده‌اند.

**جدول ۱. میانگین لیز رده سلول BT474 در ۸ ساعت پس از تیمار با مقادیر مختلف عصاره های چای سبز و زیتون**

| | میزان لیز سلولی ۸ ساعت پس از تیمار | |
|---|---|---|
| غلظت | چای سبز | زیتون |
| ۰/۰۱ | ۲۷/۹۲±۱/۸ | ۲۰/۱ ± ۱/۸۵ |
| ۰/۱ | ۱۴ ±۱/۵۲ | ۲۱ ± ۲/۶۴ |
| ۰/۵ | ۰ ± ۰ | ۵۵/۵۸ ± ۳/۶۶ |
| ۱ | ۰ ± ۰ | ۸۲/۵۲ ± ۳/۳۶ |

با افزایش غلظت چای سبز درصد کشندگی یا لیز سلولی کاهش می‌یافت در هر دو سری آزمایش (۲۴ و۸ ساعت) تغییرات لیز سلولی تقریباً یکسان بود. به طوری که بیشترین میزان درصد لیز سلولی (۴۹/۲۱٪) در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر عصاره چای سبز مشاهده گردید.

همانطور که در جداول‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود درصد لیز در سلول‌های تیمار شده با عصاره زیتون برخلاف عصاره چای سبز، وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت بیشتر می‌شد. به طوری که بیشترین درصد لیز سلولی (۸۵٪) در غلظت ۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر مشاهده گردید.که از نظر

[1] Fetal Calf Serum

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

آماری با درصد لیز سلولی در ۸ ساعت تیمار (۸۳٪) تفاوت معنی‌داری نداشت. اما مقایسه نتایج لیز سلولی عصاره چای سبز در ۸ ساعت و ۲۴ ساعت تیمـــار در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر با آزمون تی تفاوت معنی‌داری نشان داد. بدین ترتیب که با افزایش غلظت میزان لیز سلولی نیز کاهش می یافت ($p$=۰/۰۰۰).

**جدول ۲. میانگین لیز رده سلول BT474 در ۲۴ ساعت پس از تیمار با مقادیر مختلف عصاره های چای سبز و زیتون**

| | میزان لیز سلولی ۲۴ ساعت پس از تیمار | |
|---|---|---|
| غلظت | چای سبز | زیتون |
| ۰/۰۱ | ۴۹/۲۱ ± ۴/۰۳ | ۱۹/۶۸ ± ۲/۳۹ |
| ۰/۱ | ۴۲/۷ ± ۲/۵ | ۲۴ ± ۲ |
| ۰/۵ | ۰ ± ۰ | ۲۵/۳۸ ± ۱/۹۰ |
| ۱ | ۰ ± ۰ | ۸۵/۱۳ ± ۲/۶۸ |

## بحث

این مطالعه نشان داد که دو عصاره زیتون و چای سبز به صورت خام دارای اثر لیز سلولی روی رده سلولی BT 474 هستند. عصاره زیتون اثر شدیدتری در مقایسه با عصاره چای سبز نشان داد. که با افزایش غلظت اثر آن نیز افزایش می‌یافت. برای مطالعه لیز سلولی در این مطالعه از کیت سنجش آنزیم لاکتات دهیدروژناز استفاده گردید که یکی از آنزیم‌های پایدار سیتوپلاسمی است که در اکثر سلول‌ها دیده می‌شود. این آنزیم به محض آسیب غشای سیتوپلاسمی سلول به بیرون نشت پیدا می‌کند که با استفاده از تست لاکتات دهیدروژناز قابل سنجش است. این تست از نظر عملی از تست MTT[1] ساده‌تر است. از طرف دیگر، حساسیت و ویژگی‌های این تست از تست‌های دیگر از قبیل MTT بالاتر است به طوری که مرگ یا آسیب ۲۰۰۰ سلول در هر چاهک میکروپلیت را نیز نشان می‌دهد [۱۲،۱۱] که به همین دلیل نیز مورد استفاده قرار گرفته است.

امروزه علیرغم اینکه بسیاری از مطالعات بر روی مواد خالص شده انجام می‌گیرند اما در این تحقیق ما در درجه اول به دلیل عدم وجود امکانات لازم، از عصاره‌های خام استفاده نمودیم که به نوبه خود مجموعه مواد مختلف می‌تواند مزیت‌هایی در مقایسه با مواد خالص داشته باشد به طوری که در مطالعه‌ای روشن شده که ترکیبات خام در مقایسه با ترکیبات خالص شده اثرات بهتر و قویتـــری در مـــرگ سلول‌های سرطانی نشان می‌دهند، که نشان‌دهنده نوعی سینرژیسم بین آنهاست [۱۳].

در حال حاضر استفاده از گیاهان دارویی برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی از جمله انواع سرطان در حال افزایش است. همانطور که می‌دانیم جراحی، اشعه درمانی و استفاده از داروهای سیتوتوکسیک به صورت تکی یا توام از روش‌های شناخته شده درمان سرطانها هستند. این روش‌ها اغلب با بهبودی نسبی و بقای چندین سال بیمار همراه هستند. در حالی که داروهای ضد سرطانی موفق داروهایی هستند که با کمترین اثر روی سلول‌های طبیعی، به صورت انتخابی سلول‌های توموری را از بین می‌برند. این اثر با تحریک آپوپتوزیز انتخابی امکان پذیر است که نوعی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است که عصاره‌های مختلف طبیعی گیاهی، میوه‌ها، سبزیجات مصرفی انسان و حتی عصاره‌ها و سموم باکتریها می‌توانند در القای آن نقش داشته باشند. القای این پدیده در مرگ سلول‌های توموری برای مدیریت، درمان و پیشگیری از سرطان بسیار مفید است [۱۸-۱۴].

در بررسی های بعمل آمده مطالعات مشابهی که بتوان نتایج این مطالعه را با آن مقایسه نمود پیدا نشد با این وجود اثر ضد توموری ترکیبات مختلف گیاهی از جمله ترپنوئیدها، لکتین‌ها، تانین‌ها، لیگنین‌ها، پلی‌ساکارید، و گلیکوپروتئین‌های گیاهی،

[1] 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

پلی فنل‌های چای سیاه و سبز و سایر مواد تشکیل‌دهنده عصاره‌های گیاهی از قبیل اولئورپین استخراج شده از برگ زیتون در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است[۶،۷،۱٤،۱۹].

ترکیبات مختلف فنلی موجود در زیتون و روغن آن موجب می‌شود که عصاره آن اثرات مختلف بیولوژیکی مانند توقف تکثیر سلول و القای آپوپتوزیزیس در سلول‌های لوسمی میلوسیتیک انسانی، توقف عمل سیکلواکسیژنازهای ۱ و۲ شبیه عمل ایبوبروفن از خود نشان دهد [٤]. اولئورپین[1] از اجزای مهم تشکیل‌دهنده این میوه است که دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی است [۱]. اخیرا مشخص شده که اولئورپین گلیکون موجود در روغن زیتون مستقیما ژن her-2 در سلـــول‌های سرطان پستان را کنترل می‌کند یا لیگنان‌های موجود در زیتون خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروس، و ضد سرطان در پستان، ریه، پوست و کولون از خود نشان می‌دهند. حتی برخی لیگنان‌ها با استرادیول یا تاموکسیفن شباهت ساختمانی دارند [۱۳].

تری‌ترپن‌های پنتاسیکلیک از دیگر ترکیبات شناخته شده عصاره زیتون هستند که با استفاده از القای آپوپتوزیز در برخی رده‌های سلولی توموری مانع تکثیر آنها می‌شوند. اولئانولیک اسید و مازلینیک اسید از جمله این ترکیبات هستند که در آزمایشگاه مانع رشد رده سلولی آستروسیتوما شده‌اند. به علاوه اولئانولیک اسید در مدل سرطان روده‌ای در روی رت اثر ضد توموری عالی از خود نشان داده است. ضمن اینکه این ترکیب مانع آنژیوژنزیز می‌شود که از عوامل مهم رشد تومورهای جامد محسوب می‌شود [۲۰].

پلی‌فنل‌اپی‌گالات‌کاتچین‌گالات موجود در چای سبز از اجزای اصلی فعال بیولوژیکی محسوب می‌شود که احتمالا در تولید آنزیم‌های مورد نیاز رشد سلول‌های سرطانی نقش مهمی دارد. به علاوه اینکه با سرکوب تشکیل عروق خونی (آنتی آنژیوژنز) در کنترل رشد تومورها موثر است. لذا ۳ فنجان یا بیشتر چای سبز برای کنترل و درمان سرطان پیشنهاد شده است [۱،۲،۵].

در مطالعه‌ای با بررسی اثـــر اپی کاتچین-۳ گالات، اپی گالات کاتچین گالات و اپی گالو کاتچین روی رده‌های سلولی ملانومای متاستاز داده در غدد لنفی مشخص شده که این ترکیبات اثر ضد توموری زیادی دارند. در حالی که مطابق گزارشات معلوم شده که همین ترکیبات فاقد اثر ممانعتی رشد روی سلول نرمال ملانوسیتی هستند [۲۱]. اثر ضد توموری عصاره چای سبز در روی سرطان پروستات نیز نشان داده شده است [۲۲].

اثـــر ممـــانعت تکثیری مـــاده خالص شده اپی‌گالت‌کاتچین‌گالات نشان داده است که این ماده در غلظت ۳۰ میکروگرم در هر میلی لیتر مانع تکثیر رده سلولی BT474 می‌شود. در این مطالعه مشخص شده که ماده نامبرده مانع فعال شدن گیرنده عامل رشد اپیدرمال[2] (EGFR) در سلول‌ها می‌شود [۲۳]. از مشکلات اجرای طرح به طور خاص می‌توان به سرعت رشد پائین رده سلولی BT474 اشاره نمود که به دلیل سرعت پائین رشد به ندرت به صورت تک لایه در می‌آمدند که خود منجر به طولانی شدن مطالعه آن شد [٢٤].

## نتیجه گیری

در پایان قابل ذکر است که با توجه به مطالعه حاضر و سایر تحقیقات مرتبط، و از طرفی با توجه به مصرف طولانی مدت و مطمئن انسان از زیتون و چای سبز، مصرف منطقی این ترکیبات به عنوان کمک درمانی انواع سرطان پیشنهاد می‌گردد هر چند مطالعات بیشتر از نظر شناخت مکانیسم اثر، دوز و دفعات مصرف نیز در این زمینه لازم به نظر می‌رسد.

[1] Oleurpein

[2] Epidermal Growth Factor Receptor

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

**تشکر و قدردانی**

این طرح با مساعدت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی انجام شده است لذا بدینوسیله از تمامی همکاران محترم این حوزه تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

1-Mohammad A, Bano Faruqi F, Mustafa J. Edible compounds as antitumor agents. Indian J Sci Technol. 2009 May; 2(5):62-74.

2- Carmen C, Reyes A, Rafael G. Beneficial effects of green tea - a review. J AM Coll Nutr. 2006; 25(2): 79–99.

3- Alvaro MA, Edith AP. Treatment options for breast cancer resistant to anthracycline and taxane. Mayo Clin Proc. 2009 Jun; 84(6): 533–545.

4-Takeru O, Yumiko Y, Shigeyuki S, Takuji T. Preclinical assays for identifying cancer chemopreventive phytochemicals. Scholarly Research Exchange. 2009 Apr; 2009: 1-15.

5- Mepur HR, Thiruverkadu SS, Clarence CM, Naftali P, Xing Y, Senthamil RS. et al. Epicatechins purified from green tea (Camellia sinensis) differentially suppress growth of gender-dependent human cancer cell lines. Evid Based Complement Alternat Med. 2006 Jun; 3(2): 237–247.

6- Zahir RS, Azad CAK, Rabbani GH, Marni F, Shawkat AM, Nahar L, et al. Effect of aqueous extracts of black and green teas in arsenic-induced toxicity in rabbits. Phytother Res. 2009 Nov; 23(11):1603-8.

7- Andreadou I, Iliodromitis EK, Mikros E, Constantinou M, Agalias A, Magiatis P. et al. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. J Nutr. 2006 Aug; 136(8): 2213-9.

8-Rubinstein LV, Shoemake RH, Paull KD, Simon RM, Tosini S, Skehan P,et al. Comparison of in vitro anticancer-drug screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel human tumor cell lines. J Natl Cancer Inst. 1990 Jul; 82(13): 1113-1118

9-Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983 Dec; 65: 55-63.

10- Arab S, Motamedi M, Khansari N, Moazzeni SM, Gheflati Z, Hadjati J. Dendritic cell maturation with CpG for tumor immunotherapy. Iran J Immunol. 2006 Sep;3(3):99-105.

11- Decker T, Lohmann-Matthes ML. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. J Immunol Methods. 1988 Nov 25;115(1):61-9.

12- Korzeniewski C, Callewaert DM. An enzyme-release assay for natural cytotoxicity. J Immunol Methods. 1983 Nov 25;64(3):313-20.

13- Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V, Graziani G, Romano M, De Vol EB, et al. Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM–p53 cascade in colon cancer cell lines. Carcinogenesis. 2008 Jan; 29(1):139-46.

14- Amit KT, Madhumita R, Bhattacharya RK. Natural products as inducers of apoptosis:Implication for cancer therapy and prevention. Curr Sci. 2001 Jun; 80(11): 1387-1396.

15- Hirano T, Abe K, Gotoh M, Oka K. Citrus flavone tangeretin inhibits leukaemic HL-60 cell growth partially through induction of apoptosis with less cytotoxicity on normal lymphocytes. Br J Cancer 1995 Dec; 72(6): 1380–1388.

16-Jiang M, Yang-Yen C,Yen HF, Lin JK. Curcumin induces apoptosis in immortalized NIH 3T3 and malignant cancer cell lines. Nutr Cancer.1996; 26(1): 111–120.

17-Chiao C, Carothers AM, Grunberger D, Solomon G, Preston GA, Barrett JC. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. Cancer Res. 1995 Aug; 55(16): 3576-3583.

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

18- Hosain zadegan H, Sattari M, Allame AA, Zahir H. Synergistic cytotoxicity of Verotoxin1 with monophosphoryllipidA in In Vitro & In Vivo. The 7th Iranian Congress of Microbiology. Esfahan 2007.

19- Betancur-Galvis LA, Granados SJ, Salazar HA, Ossa JE. Antitumor and antiviral activity of colombian medicinal plant extracts. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999 Jul-Aug; 94(4):531-5.

20- Rub M, Juliana C, Elvira I, Hern V, Ruiz-Gutierrez M, Luisa N. Acidic triterpenes compromise growth and survival of 20 astrocytoma cell lines by regulating reactive oxygen species accumulation. Cancer Res. 2007 Apr; 67(8):3741-3751.

21- Mepur HR, Vaishali R, Songeun M, Carlos R, Sakunthala M. Differential growth suppression of human melanoma cells by Tea (Camellia sinensis) epicatechins (ECG, EGC and EGCG). Evid Based Complement Alternat Med. 2009 Dec; 6(4): 523-30.

22- Adhami V, Ahmad N, Mukhtar H. Molecular targets for green tea in prostate cancer prevention. J Nutr. 2003 Jul; 133(7): 2417S–2424S.

23- Masuda M, Suzui M, Lim JT, Weinstein IB. Epigallocatechin-3-gallate inhibits activation of HER-2/neuand downstream signaling pathways in human head and neck and breast carcinoma cells. Clin Cancer Res. 2003 Aug; 9(9): 3486-3491.

24- Lasfargues EY, Coutinho WG, Redfield ES.Isolation of two human tumor epithelial cell lines from solid breast carcinomas. J Natl Cancer Inst. 1978 Oct; 61(4): 967-978.

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

# Study of Cytotoxic Activity of Olive and Green Tea Extracts on Breast Tumor Cell Line

**Hosainzadegan H, PhD[1]; Ezzetpor B, MSc[2]; Abdollahpor F, MSc[3]; Motamedy M, MSc[4]; Rashidipor M[2]**

[1] Assistant Professor of Medical Bacteriology, Tabriz University of Medical Sciences, Maragheh Faculty of Nursing and Midwifery, Maragheh, Iran. Email: hosainzadegan_2010@yahoo.com
[2] Lecturer in Parasitology, Lorestan University of Medical Sciences, Razi Herbal Medicine Center, Khorramabad, Iran. [3] Lecturer in Biochemistry, Lorestan University of Medical Sciences, Razi Herbal Medicine Center, Khorramabad, Iran. [4] MSc in Immunology, ShahidMadani Hospital, Lorestan University of Medical Sciences, Razi Herbal Medicine Center, Khorramabad, Iran. [5] Young Researcher Club, Islamic Azad University, Khorramabad Branch, Khorramabad, Iran.

## ABSTRACT

***Background and Objectives:*** There are many problems in treatment of different kinds of tumors. Many studies were carried out for finding suitable antitumor materials in different countries. The aim of this study is to evaluate the antitumor effects of olive and green tea extracts on human breast tumor cell line (BT474).

***Methods:*** Water and ethanol extracts of green tea and olive were prepared. BT474 cells were treated with determinded concentration of extracts at different incubation times and cell lysis was measured using the lactate dehydrogenase enzyme assay. Experiments were repeated 3 times and the results expressed as means ± standard deviation. Statistical analysis were performed by t-test and $p \leq 0.05$ considered as significant.

***Results:*** Increasing the concentration of green tea in 8 and 24 h exposures decreased cell lysis or killing percentage of treated cells. Olive extract in 1mg/dL concentration showed highest percent (85%) of cell lysis. Cell lysis effect of olive extract treatments was dose-dependent and increased in higher concentrations. There were no significant difference in killing effect of olive extract between 8 and 24 h incubation time (consequently 83% and 85%). But at the same incubation periods the difference between percent of cell lysis in the presence of green tea extracts (0.01 and 0.1 mg/dL) was significant. ($p$ =0.000).

***Conclusions:*** Our results indicated that crude olive and green tea extractions have exerted lytic effects on BT 474 lines. Olive extract have higher cytotoxicity than green tea. Cytotoxicity of olive extract was dose-dependent.

***Key words:*** Olive extract; Green tea extract; Lactate dehydrogenase; BT474 cell line

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]