Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.15, No.3, Autumn 2015, Pages 283 - 290

Apoptotic Effect of the Urtica Dioica Plant Extracts on Breast Cancer Cell Line (MDA- MB- 468)

Mohammadi A[1,2] , Baradaran B *[3]

1. Department of Genetic, East Azarbaijan Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Department of Genetic, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3. Immunology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

**** Corresponding author.*** Tel: +984133371440 Fax: +984133371311 E-mail: Behzad_im@yahoo.com

Received: Jul 11, 2015 Accepted: Aug 20, 2015

ABSTRACT

Background & objectives: Cancer is one of the most causes of mortality in worldwide. Components derived from natural plants that induce apoptosis are used for cancer treatment. Therefore investigation of different herbal components for new anti-cancer drug is one of the main research activities throughout the world. According to low cost, oral consumption and easy access to the public extracts of Urtica dioica, in this study we aimed to investigate the effectiveness of this herb on MDA-MB-468 breast cancer cells.

Methods: Cytotoxic effect of Urtica dioica extract was measured using MTT assays. To show induction of apoptosis by this plant TUNEL and DNA Fragmentation test were performed.

Results: In the present study dichloromethane extracts noticeably killed cancer cells. IC50 values related to human breast adenocarcinoma cell line MDA-MB-468 were 29.46±1.05 µg/ml in 24 hours and 15.54±1.04 µg/ml in 48 hours. TUNEL test and DNA Fragmentation assay showed apoptotic characteristic in the extract treated cells.

Conclusion: The results showed that MDA-MB-468 cells after treatment with dichloromethane extract of Urtica dioica, induces apoptosis in MDA-MB-468 cancer cells which may be useful in the treatment of cancer.

Keywords: Urtica dioica; Apoptosis; Cytotoxic; MDA-MB-468.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

اثر آپوپتوتیک عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه (Urtica dioica) بر روی سلول‌های سرطان سینه رده MDA-MB-468

علی محمدی[۱،۲]، بهزاد برادران[۳]*

۱. گروه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات آذربایجان شرقی، تبریز، ایران ۲. گروه ژنتیک، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران ۳. مرکز تحقیقات ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰٤۱۳۳۳۷۱٤٤۰ فاکس: ۰٤۱۳۳۳۷۱۳۱۱ پست الکترونیک: behzad_im@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: امروزه سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشد. ترکیبات گیاهان دارویی القاکننده آپوپتوز، از روش‌های درمان سرطان محسوب می‌گردد؛ لذا مطالعه بر روی گیاهان و شناسایی ترکیبات آنها در جهت تولید داروهای ضد سرطانی جدید از فعالیت‌های تحقیقاتی مهم در دنیا می‌باشد. از طرف دیگر با توجه به ارزان بودن، مصرف خوراکی و دسترسی آسان عموم به عصاره گیاه گزنه، محققان بر آن شدند تا در این تحقیق اثربخشی عصاره این گیاه را بر روی سلول‌های سرطان سینه رده MDA-MB-468 بررسی نمایند.

روش کار: در این مطالعه برای بررسی اثرات سایتوتوکسیک عصاره گیاه گزنه تست MTT انجام شد. در مرحله بعد برای بررسی نوع مرگ سلولی و القا آپوپتوز تست‌های DNA Fragmentation و TUNEL انجام شد.

یافته ها: نتایج تست MTT نشان داد که عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه به طور معنی داری سلول‌های سرطانی را از بین برد. مقادیر IC50 مربوط به رده سلولی سرطان پستان انسانی MDA-MB-468 برابر با ۱/۰۵±۲۹/٤٦ میکروگرم در میلی لیتر در زمان ۲٤ ساعت و ۱/۰٤±۱۵/۵٤ میکروگرم در میلی لیتر در زمان ٤۸ ساعت بود. تست DNA Fragmentation و TUNEL نشان داد که عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه در القای آپوپتوز نقش دارد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعات نشان داد که تیمار سلول‌های MDA-MB-468 با عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه (Urtica dioica)، باعث القاء آپوپتوز در این سلول‌ها شده و این عصاره می‌تواند در درمان سرطان مفید باشند.

واژه های کلیدی: گزنه، آپوپتوز، سایتوتوکسیک، MDA-MB-468

دریافت: ۹٤/٤/۲۰ **پذیرش:** ۹٤/۵/۲۹

مقدمه

سرطان رشد و تکثیر کنترل‌نشده سلول‌های غیر طبیعی در بدن می‌باشد و یک بیماری مهلک با آمار مرگ و میر بالا هست که درگیری‌های روانی و اقتصادی زیادی را به دنبال دارد [۱]. درمان و پیشگیری از سرطان یک چالش بزرگ در جوامع بشری در سراسر دنیا به شمار می‌رود. سرطان سینه یکی از شایع‌ترین بدخیمی نئوپلاستیک زنان در جهان می‌باشد و مهمترین دلیل مرگ ناشی از سرطان در خانم‌ها را به خود اختصاص می‌دهد [۲]. میزان شیوع آن در کشورهای دنیا متفاوت گزارش شده است و روز به روز در حال افزایش می‌باشد [۳،٤]. تحقیقات نشان می‌دهد که شیب افزایش شیوع سرطان سینه در کشورهای در حال توسعه بیشتر بوده و متوسط عمر بیماران مبتلا در این کشورها کمتر می‌باشد [۵]. طی مطالعات صورت گرفته مشخص شده است که میزان شیوع سرطان سینه در کشور ایران رو به افزایش است و این بدخیمی همچنان به عنوان شایع‌ترین سرطان در زنان ایرانی مطرح بوده و اطلاعات موجود، از افزایش شیوع این بدخیمی طی دو دهه گذشته در ایران حکایت دارد [۶]. از جمله راهکارهای درمانی این بدخیمی می‌توان به شیمی‌درمانی، رادیوتراپی و جراحی اشاره کرد. با این وجود میزان مرگ و میر در افراد مبتلا که تحت

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

درمان قرار می‌گیرند بالا می‌باشد که خود حکایت از ناکارآمدی این راهکارهای درمانی دارد [۷].

شناخت مکانیسم‌های مهم و دخیل در ایجاد سرطان برای پیشبرد روش‌های درمانی، جهت درمان نئوپلاسم‌ها بسیار مهم می‌باشد. القاء آپوپتوز یکی از ویژگی‌های مهم عوامل آنتی‌تومور سایتوتوکسیک می‌باشد. نشان داده شده که یک سری از ترکیبات طبیعی از جمله گیاهان باعث القاء مسیرهای آپوپتوزی می‌شوند که در سلول‌های سرطان مهار شده‌اند. توانایی القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و توقف تکثیر این سلول‌ها موضوع بسیاری از تحقیقات ایمونوفارماکولوژی می‌باشد. از جمله علل اصلی بروز سرطان‌ها می‌توان به تأثیر عوامل محیطی در ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی مسئول بروز بدخیمی‌ها اشاره کرد [۸]. فرآورده‌های طبیعی به‌ویژه گیاهان دارای پتانسیل بالایی برای ساخت ترکیبات دارویی می‌باشند. بسیاری از داروهای ضدسرطانی که سنتز شده‌اند، از جمله تاکسان[1] ها، وینکا آلکالوئیدها[2]، پودوفیلوتوکسین‌ها[3] و کامپتوتسین‌ها[4] و... از ترکیبات گیاهی مشتق شده‌اند و برای درمان سرطان‌های مختلف متاستاتیک و غیرمتاستاتیک استفاده می‌شود [۹,۱۰]. از گیاهان دارویی می‌توان به گیاه گزنه اشاره کرد که دارای ٤٠ جنس و حدود ۵۰۰ گونه می‌باشد که اکثر آنها در آمریکا، هند، مالزی و نواحی حاره‌ای می‌رویند. در آفریقا و اروپا گونه‌های این تیره بسیار نادر است [۱۱]. گزنه دارای تانن، موسیلاژ، نوعی ماده مومی، اسید فورمیک، یک فیتوسترین، نیترات پتاسیم و کلسیم، ترکیبات آهن، نوعی گلوکوزید با اثر قرمزکننده پوست است. از سرشاخه‌های گیاه، ماده رنگی اورتیسین[5] به دست می‌آید [۱۲]. با توجه به مطالعات قبلی در مورد اثرات ضدسرطانی عصاره گیاه گزنه، محققان بر آن شدند که اثر این گیاه را بر روی سلول‌های MDA-MB-468 بررسی نمایند. با توجه به شیوع بالای سرطان سینه در ایران، شیب صعودی این بدخیمی طی دو دهه گذشته و میزان مرگ و میر بالای مبتلایان و مطالعات قبلی که در مورد اثرات ضدسرطانی عصاره گیاه گزنه صورت گرفته بود، محققان بر آن شدند در این مطالعه خاصیت ضدسرطانی و آثار سایتوتوکسیک گیاه گزنه را بر روی سرطان سینه رده سلولی MDA-MB-468 مورد ارزیابی قرار دهند.

روش کار

آماده سازی عصاره

گیاه گزنه از ارتفاعات منطقه آذربایجان شرقی جمع‌آوری گردید. گیاهان در محیط تاریک و رطوبت ۱۵-۱۰٪ خشک شدند و در آسیاب دستی (خانگی) آسیاب گردیدند. سپس جهت استخراج به راکتور ده لیتری (Stainless Steel Reactor-۳۱۶) مجهز به کنترل دور و حرارت انتقال داده شدند و با استفاده از حلال دی کلرومتان به مدت ٢٤ ساعت عمل عصاره‌گیری صورت گرفت. سپس محتویات را از راکتور خارج نموده و با استفاده از فیلتر فشاری، تفاله را جدا نموده و محلول زیر صافی که حاوی ماده موثر استخراج شده بود، جهت فیلتراسیون بهتر از فیلتر کاغذی واتمن شماره ٤٠٠ عبور داده شد و سپس حلال تحت فشار کاهش یافته تقطیر و جدا گردید.

کشت سلول

رده سلولی MDA-MB-468 مربوط به آدنوکارسینوما با منشاء انسانی از انستیتو پاستور ایران به صورت ویال خریداری شد. این رده سلولی در محیط کشت RPMI-1640، 10% FBS، ۲mM از L-گلوتامین، پنی سیلین به میزان ۱۰۰ unit/ml در دمای 37^0C و فشار ۵٪ از CO_2 کشت داده شد.

[1] Taxan
[2] Alkaloid
[3] Podophyllotoxin
[4] Campothecin
[5] Orticine

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

به منظور تعیین اثرات بهینه عصاره، ۲ متغیر دوز و زمان در این تحقیق در نظر گرفته شد. سلول‌های سرطانی، با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰، ۶۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیمار شدند و بعد از ۲٤ و ٤۸ ساعت مورد مطالعه قرار گرفتند. همچنین سلول‌های تیمارنشده به عنوان سلول‌های گروه کنترل استفاده شد. در ضمن به منظور افزایش بهره‌وری کار و بررسی مقایسه‌ای، آزمایشات به صورت تریپلیکیت انجام شد.

بررسی خاصیت سایتوتوکسیک با روش MTT

MTT ماده تترازولیوم زردرنگ محلول در آب است که توسط میتوکندری سلول‌های زنده احیا شده و به نمک فورمازان غیرمحلول در آب تبدیل می‌شود. برای این تست ۱۵×۱۰^{۳} سلول در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای پخش شد و پس از تیمار سلول‌ها با دوزهای مختلف عصاره بعد از گذشت ۲٤ و ٤۸ ساعت ابتدا سلول‌ها با استفاده از بافر فسفات شستشو داده شدند، سپس محلول MTT (۲ mg/ml در PBS) به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد و به مدت ٤ ساعت در انکوباتور $۳۷^{0}C$ قرار گرفت. پس از طی زمان انکوباسیون، محلول رویی در چاهک‌ها خالی گردید و ۲۰۰ میکرولیتر محلول Dimethyl Sulfoxide (DMSO) به هر کدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه جهت حل‌کردن تکان داده شد. سپس توسط الایزاریدر جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

قطعه قطعه شدن DNA[1]

آپوپتوز، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌باشد که با یک سری ویژگی‌ها مشخص می‌شود، از جمله تراکم سیتوپلاسم، جوانه‌زدن غشای سیتوپلاسمی و شکسته‌شدن DNA. برای این تست ۳ میلی لیتر از سوسپانسیون سلولی حاوی ۵×۱۰^{۵} سلول در پلیت‌های ۶ خانه‌ای پخش شدند. سلول‌ها تحت تیمار با عصاره قرار گرفتند و بعد از گذشت زمان انکوباسیون (۲٤ ساعت)، DNA سلول‌ها با استفاده از کیت Apoptotic DNA Ladder Isolation Kit محصول کمپانی Abcam (ab65627) استخراج گردید. برای این کار ابتدا سلول‌ها با استفاده از PBS شستشو شد و در دور ۱۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید، سپس مایع رویی خارج و ۵۰ میکرولیتر بافر DNA Ladder Extraction اضافه شد و ۱۰ ثانیه در دمای اتاق با سلول‌ها مخلوط گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۳۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه مایع رویی به یک میکروتیوب جدید انتقال شد. سپس ۵ میکرولیتر آنزیم A اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۷ درجه انکوبه گردید. سپس ۵ میکرولیتر آنزیم B اضافه شد و در دمای ۵۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. در ادامه از محلول آمونیوم استات ۵ میکرولیتر اضافه شد و خوب هم زده شد و ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه گردید و ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه قرار گرفت. سپس در دور ۱۳۰۰ دور در دقیقه نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند و محلول رویی خارج گردید. یک بار با استفاده از اتانول ۷۰٪ شستشو شد و در نهایت روی رسوب DNA ۳۰ میکرولیتر DNA Lader Suspension Buffer اضافه گردید. نمونه DNA به‌دست آمده برروی ژل آگاروز ۱/۵٪ الکتروفورز گردید و نتیجه با استفاده از ترانس لومیناتور مشاهده شد.

تست تانل برای بررسی قطعات DNA و تایید آپوپتوز

به‌دنبال شکستن DNA ژنومیک طی فرآیند آپوپتوز DNA های دو رشته‌ای با وزن مولکولی پایین (منو و الیگونوکلئوزم) و همچنین انتهاهای تک رشته‌ای بوجود می‌آید که این DNA های شکسته شده با نشان‌دارکردن انتهای 3'oH طی یک واکنش آنزیمی قابل تشخیص می‌باشد. در این تست ۱۵×۱۰^{۳} سلول در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای پخش شد و سلول‌ها تحت تیمار با عصاره قرار گرفتند. بعد از گذشت زمان

[1] DNA Fragmentation

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

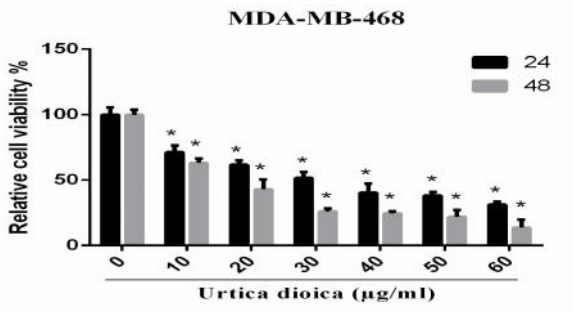
انکوباسیون (۲٤ ساعت) تست تانل با استفاده از کیت Roche Molecular Biochemicals انجام شد. برای این کار سلول‌ها توسط پارافرمالدئید ٤٪ فیکس شد. بعد از شستشو با بافر PBS سلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق با Blocking solution انکوبه شد. در مرحله بعد با خارج کردن محلول Blocking و شستشو با بافر PBS سلول‌ها به مدت ۲ دقیقه بر روی یخ با Permeabilisation solution انکوبه شد. بعد از خارج کردن محلول نفوذپذیر Permeabilisation Solution با PBS دو بار شستشو شد، سپس به هر چاهک ۵۰ میکرو لیتر TUNEL reaction mixture اضافه شد و به مدت یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد در تاریکی قرار گرفت (پلیت با فویل پوشانده شد). سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول Convertor اضافه شد و پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی انکوبه شد. بعد از گذشت زمان انکوباسیون شستشو با بافر PBS، ۱۰۰ میکرولیتر محلول DAB اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. در نهایت سلول‌ها در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

آنالیز آماری

تمامی آنالیزهای MTT در ۳ تکرار انجام شد. با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism 6 میانگین ۳ بار تکرار و انحراف معیار آن‌ها محاسبه شد. با استفاده از این نرم افزار مقدار IC_{50} نمونه‌ها که بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰ درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود، محاسبه شد. برای تجزیه و تحلیل اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر رده سلولی سرطانی از آزمون آماری t test استفاده گردید.

یافته‌ها

ابتدا جهت بررسی و تعیین اثرات سایتوتوکسیک عصاره مورد مطالعه و تعیین IC50، آزمایش MTT انجام گرفت. نتایج حاصل از تیمار سلول‌های MDA-MB-468 با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰ و ۶۰ (µg/ml) از عصاره در زمان‌های ۲٤ و ٤۸ ساعت بصورت نمودار ۱ نشان داده شده است. مقدار IC50 عصاره برای رده سلولی MDA-MB-468 با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism 6 محاسبه گردید و مقادیر آن‌ها در جدول ۱ آمده است.



نمودار ۱. اثر سایتوتوکسیک عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه روی سلول‌های MDA-MB-468 در زمان‌های ۲٤ و ٤۸ ساعت.

ستون‌هایی که با * نشان داده شده اند کاهش زیست پذیری سلول‌ها با $p<.005$ نسبت به سلول کنترل (غلظت 0 از عصاره) معنی دار است.

جدول ۱. مقادیر IC50 عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه روی سلول‌های MDA-MB-468 در زمان‌های ۲٤ و ٤۸ ساعت

	IC50(µg/ml)	
زمان	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت
MDA-MB-468	۲۹/٤۶±۱/۰۵	۱۵/۵٤±۱/۰٤

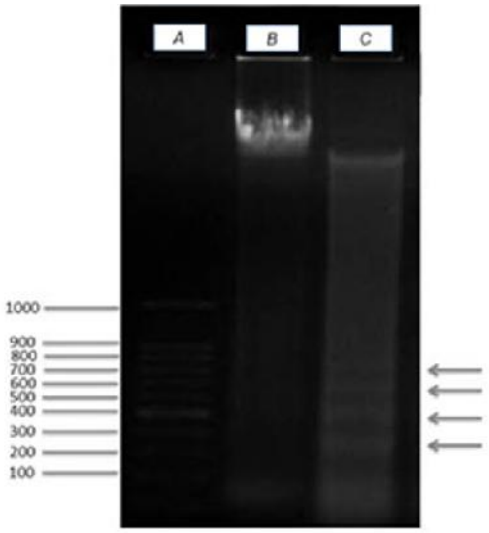
تست DNA Fragmentation

انجام این تست با عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه در زمان ۲٤ ساعت القاء آپوپتوز و شکسته‌شدن DNA را در سلول‌های MDA-MB-468 نشان داد. نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است.

TUNEL

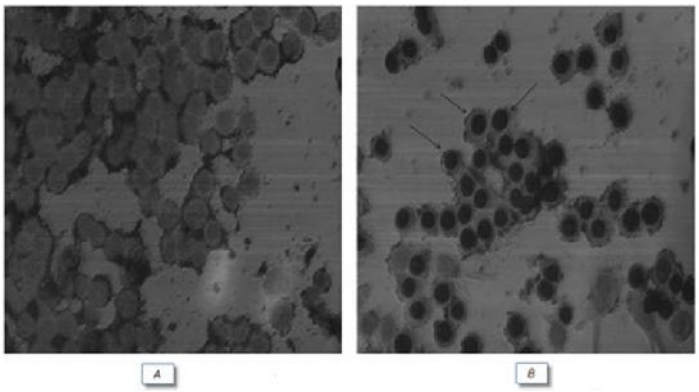
تیمار سلول‌های MDA-MB-468 با عصاره دی‌کلرومتانولی گیاه گزنه در زمان ۲٤ ساعت القاء آپوپتوز در این سلول‌ها را تایید کرد. هسته سلول‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل رنگ قهوه‌ای به خود گرفته بودند. نتایج در شکل ۲ نشان داده شده است.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]



► **شکل ۱. تست DNA Fragmentation برای نشان دادن الگوی قطعه قطعه شدن DNAدر سلول‌های MDA-MB-468.**

A) مارکر. B) سلول‌های MDA-MB-468 کنترل (بدون تیمار با عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه). C) سلول‌های MDA-MB-468 تیمار شده با دوز IC50 از عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه. پیکان‌ها نشان دهنده باندهای مربوط به DNAهای شکسته شده می‌باشند.



شکل ۲. تست تانل برای تایید القاء آپوپتوز: A) کنترل منفی (سلول‌های MDA-MB-468 بدون تیمار با عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه) B) سلول‌های MDA-MB-468 تیمار شده با دوز IC50 از عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه. سلول‌هایی که با پیکان نشان داده شده اند آپوپتوز در آنها رخ داده و هسته آنها رنگ قهوه ای گرفته است.

بحث

طب سنتی سال‌ها است که به عنوان منبع ارزشمندی در صنعت داروسازی می‌باشد و ایران سابقه طولانی در استفاده از ترکیبات طبیعی بویژه گیاهان دارد. ۸۰-۷۵ درصد جمعیت جهان و بویژه کشورهای در حال توسعه از داروهای گیاهی برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کنند، به این علت که معتقدند داروهای گیاهی در کنار ارزان بودن و قابل دسترس‌بودن فاقد عوارض جانبی می‌باشند. یک داروی ضدسرطانی مناسب باید بتواند سلول‌های سرطانی را بدون اثرات جانبی بر سلول‌های نرمال از بین ببرد. این شرایط ایده‌آل با القاءِ آپوپتوز بر سلول‌های سرطانی به دست می‌آید. بسیاری از داروهای متداول از منابع گیاهی منشأ گرفته‌اند. در گذشته پایه بسیاری از داروها از جمله آسپیرین، دیگوسین و مورفین[1] گیاهی بود [۱۳]. جهان امروز با شیوع بالای بیماری سرطان مواجه می‌باشد به طوری که این بیماری دومین علت مرگ و میر بعد از بیماری‌های قلبی است. شناخت مکانیسم‌های مهم دخیل در ایجاد سرطان برای پیشبرد روش‌های درمانی برای درمان نئوپلاسم‌ها مهم می‌باشد [۹]. یک سری جهش‌ها در سلول‌ها سبب مقاوم شدن سلول‌ها به محرک‌های مرگ و آپوپتوز می‌شود، لذا استفاده از ترکیبات

[1] Opium

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

شیمیایی القاکننده آپوپتوز یکی از اهداف اصلی درمان سرطان می‌باشد [۱٤]. گیاهان هم در پیشگیری و هم در درمان بیماری سرطان نقش چشمگیری دارند. این ترکیبات با مکانیسم‌های مختلف عمل می‌کنند، اما القاء آپوپتوز نقطه مشترک بسیاری از این ترکیبات می‌باشد. مطالعات متعددی اثرات سایتوتوکسیک و آنتی توموری گونه‌های مختلف از جنس Urtica را نشان داده است.

گوزوم[1] و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان درمان‌های مکمل مورد استفاده توسط بیماران مبتلا به سرطان در شرق ترکیه نشان دادند که استفاده از عصاره گیاه گزنه در بیماران مبتلا به سرطان در کشور ترکیه بصورت رایج کاربرد دارد [۱۵]. کونراد[2] و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان اثر مهار رشد عصاره ریشه گزنه در سلول‌های سرطانی پروستات انسان نشان دادند که عصاره ریشه گیاه گزنه باعث کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی پروستات می‌شود [۱۶]. نهات[3] و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان اثرات بهبوددهنده گزنه در هیپرپلازی پروستات تستوسترون موش نشان دادند که گیاه دارویی گزنه با مهار آنزیم 5α-reductase می‌تواند به عنوان یک داروی موثر برای درمان هیپرپلازی پروستات مورد استفاده قرار گیرد [۱۷]. هارتمن[4] و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان مهار ۵ α ردوکتاز و آروماتاز توسط عصاره گزنه نشان دادند که عصاره گیاه گزنه موجب کاهش وابسته به غلظت آنزیم‌های ۵ α ردوکتاز و آروماتاز می‌شود [۱۸].

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره دی کلرومتانولی این گیاه در مقایسه با کنترل دارای اثرات سایتوتوکسیک معنی‌داری بر روی سلول‌های سرطانی بوده و اثرات سایتوتوکسیک عصاره دی‌کلرومتانولی گیاه گزنه وابسته به غلظت و زمان می‌باشد، به طوری که با افزایش زمان و افزایش غلظت عصاره، این اثرات برروی سلول‌های MDA-MB-468 بیشتر می‌شود. نتایج حاصل مشابه مطالعه هارپوت[5] و همکاران بود که بر روی لنفوسیت‌ها انجام داده بودند [۱۹].

فرایند آپوپتوز با چروکیدگی و ایجاد حباب‌هایی در سطح سلول آغاز می شود، سپس سلول چند قسمتی می شود، به گونه‌ای که غشاء سیتوپلاسمی از بین نرفته و محتویات سیتوپلاسمی آزاد نمی‌شود و در نهایت ایجاد اجسام آپوپتوتیک می‌کند. جهت بررسی القاء آپوپتوز مرگ سلولی القاشده توسط این گیاه آزمایش TUNEL انجام شد که نتایج خاصیت آپوپتوتیک عصاره دی کلرومتانولی گیاه مورد مطالعه را نشان داد.

قطعه قطعه شدن DNA از شاخص‌های مورفولوژیک در آپوپتوز می‌باشد که این ویژگی با انجام DNA-Fragmentation ثابت شد. نتایج بدست آمده از مطالعه با نتایج مطالعه‌ای که ینر[6] و همکاران در درمان بافت آسیب دیده با آفلاتوکسین در موش به کمک گیاه گزنه انجام داده بودند، مشابه بود [۲۰].

نتیجه گیری

تیمار سلول‌های MDA-MB-468 با عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه باعث تغییر مورفولوژی این سلول‌ها شده و اثرات سایتوتوکسیک القا شده توسط این عصاره با زمان و غلظت ارتباط مستقیم دارد، به طوری که قابلیت زیست پذیری سلول‌ها با افزایش غلظت و زمان کاهش می یابد. با توجه به نتایج بدست آمده عصاره دی کلرومتانولی گیاه گزنه می‌تواند کاندید مناسبی جهت شناسایی ترکیبات فعال ضدسرطانی باشند.

[1] Gözüm
[2] Konrad
[3] Nahata
[4] Hartmann
[5] Harput
[6] Yener

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

References

1- Jena J, Ranjan R, Ranjan P, Sarangi MK. A Study on Natural Anticancer Plants. Int J Pharmaceut Chem Sci. 2012 Jan;1(1):365-8.
2- Fisch T, Pury P, Probst N, Bordoni A, Bouchardy C, Frick H, et al. Variation in survival after diagnosis of breast cancer in Switzerland. Ann Oncol . 2005 Dec;16(12):1882-8.
3- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA CANCER J CLIN. 2015 Jan;65(1):5-29.
4- DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics. 2013. CA CANCER J CLIN. 2014 Jan;64(1):52-62.
5- Orre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA CANCER J CLIN. 2015 Mar;65(2):87-108.
6- Harirchi I, Kolahdoozan S, Karbakhsh M, Chegini N, Mohseni S, Montazeri A, et al. Twenty years of breast cancer in Iran: downstaging without a formal screening program. Ann Onc. 2011 Jun;22(1):93-7.
7- Yang G, Li X, Li X, Wang L, Li J, Song X, et al. Traditional chinese medicine in cancer care: a review of case series published in the chinese literature. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Published online 2012 May 31. doi: 10.1155/2012/751046.
8- Moller P, Wallin H, Knudsen LE. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. Chemico-biological interactions. 1996 Sep;102(1):17-36.
9- HemaIswarya S, Doble M. Potential synergism of natural products in the treatment of cancer. Phytother Res . 2006 Mar;20(4):239-49.
10.Namiki M. Antioxidants/antimutagens in food. Critical Reviews in Food Science & Nutrition. 1990 Sep;29(4):273-300.
11- Hamilton H, Hall G. Virginia Native Plants. King George, Virginia: Black Cat Press; 2005 Mar. 500 p.
12- Ali zargari, Herbal medicine, 4th ed, Tehran: Tehran university press, 1989. 51-78
13- Pal SK, Shukla Y. Herbal medicine: current status and the future. APJCP. 2003 Jul;4(4):281-8.
14- Ait-Mohamed O, Battisti V, Joliot V, Fritsch L, Pontis J, Medjkane S, et al. Acetonic extract of Buxus sempervirens induces cell cycle arrest, apoptosis and autophagy in breast cancer cells. PloS one. 2011 Sep;6(9):e24537.
15- Gözüm S, Tezel A, Koc M. Complementary alternative treatments used by patients with cancer in eastern Turkey. Cancer nursing. 2003 Jun;26(3):230-6.
16- Konrad L, Müller H-H, Lenz C, Laubinger H, Aumüller G, Lichius JJ. Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (Urtica dioica) extract. Planta Med . 2000 May;66(1):44-7.
17- Nahata A, Dixit V. Ameliorative effects of stinging nettle (Urtica dioica) on testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats. Andrologia. 2012 May;44(s1):396-409.
18- Hartmann R, Mark M, Soldati F. Inhibition of 5 α-reductase and aromatase by PHL-008 01(Prostatonin®), a combination of PY102 (Pygeum africanum) and UR102 (Urtica dioica) extracts. Phytomedicine. 1996 Sep;3(2):121-8.
19- Harput US, Saracoglu I, Ogihara Y. Stimulation of lymphocyte proliferation and inhibition of nitric oxide production by aqueous Urtica dioica extract. Phytother Res. 2005 Apr;19(4):346-8.
20- Yener Z, Celik I, Ilhan F, Bal R. Effects of Urtica dioica L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. FCT. 2009 Feb;47(2):418-24.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]