مقایسه اثرات ضد سرطانی عصاره‌ی هیدروالکلی میخک و گزنه بر سلول‌های سرطان سینه (MCF-7) و سلول‌های سالم (HUVEC)

لیلا سلطانی[1*]، مریم درب‌امامیه[2]، زهرا محبی[3]، ناهید معرف زاده[4]

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۱۱/۰۵ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۰۱/۱۲

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان یکی از عوامل منجر به مرگ در جهان است. به‌منظور یافتن درمان‌هایی با اثرات جانبی کمتر و از طرفی مشکلات مقاومت دارویی که در رابطه با درمان بیماران سرطانی وجود دارد، توجهات به محصولات مشتقه از گیاهان بسیار افزایش یافته است. هدف از این مطالعه مقایسه سمیت سلولی عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان گزنه و میخک بر سلول‌های سرطانی سینه و سلول‌های سالم بود.

مواد و روش‌ها: عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه گزنه و میخک تهیه شد در غلظت‌های مختلف (۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) سپس به محیط کشت سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های سالم Huvec اضافه شدند و برای ۲۴ یا ۷۲ ساعت انکوبه شدند. در پایان انکوباسیون، سمیت سلولی با کمک ارزیابی MTT و آپاپتوز به‌وسیله‌ی رنگ‌آمیزی دوگانه آکریدین نارنجی-اتیدیوم‌بروماید موردبررسی قرار گرفت. داده‌های به‌دست‌آمده با کمک نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین دانکن موردبررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: افزودن عصاره‌ی هیدروالکلی هر دو گزنه و میخک در غلظت حداکثر (۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) بعد از ۲۴ و ۷۲ ساعت، سبب کاهش معنی‌دار تکثیر سلولی در مقایسه با سایر گروه‌های تیماری و شاهد شد ($p<0.05$). افزودن حداکثر غلظت عصاره‌ی هیدروالکلی هر دو گزنه و میخک به‌طور معنی‌داری سبب کاهش تکثیر سلول‌های سالم نسبت به سایر گروه‌های تیماری شد ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های هیدروالکلی گزنه و میخک سبب مهار تکثیر سلول‌های سرطان سینه (MCF-7) می‌شوند.

کلیدواژه‌ها: سلول‌های سرطان سینه (MCF-7)، میخک، عصاره هیدروالکلی، گزنه

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره سوم، ص ۱۸۶-۱۷۵، خرداد ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، تلفن: ۰۹۳۷۲۷۲۵۹۸۷
Email: l.soltani@razi.ac.ir

مقدمه

سرطان سینه یکی از انواع سرطان‌های مرتبط با زنان است که سالانه سبب مرگ بسیاری از بیماران می‌شود (۱). استرس اکسیداتیو سبب تولید جهش‌های ژنتیکی شده که نقش اساسی در گسترش سرطان دارند. کاهش ظرفیت احیا سلولی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌تواند عامل رشد تومور باشد (۲). رادیکال‌های آزاد می‌تواند سبب آسیب به غشای سلولی، پروتئین‌ها، میتوکندری و DNA شده که خود می‌تواند سبب القای سرطان گردد. درمان‌های کنونی برای سرطان شامل یک سری از درمان‌های ترکیب‌شده برای مبارزه و مهار بیماری است. گزینه‌های درمانی موجود برای بیماران مبتلا به سرطان شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی، هورمون درمانی، درمان‌های بیولوژیک و درمان هدفمند است. این روش‌های درمانی و داروها بشدت سمی هستند و از طرفی اثرات جانبی زیادی به دنبال دارند (۳). بسیاری از فرآورده‌ها و محصولات خوراکی نظیر ترکیبات فیتوشیمیایی، فیبرهای جیره‌ایی، ریزمغذی‌های ویژه‌ی غذا و ترکیبات غذایی برای درمان سرطان سینه موردبررسی قرار گرفته شده‌اند (۴). امید است این ترکیبات بتوانند جایگزین درمان‌های رایج شوند و باعث کاهش عوارض شیمی‌درمانی در بیماران گردند.

[1] استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران (نویسنده مسئول)
[2] استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
[3] استادیار، گروه منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه ایران
[4] استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

میخک قرنفلی (*Eugenia caryophylata*) درخت همیشه سبزی است که در مناطق گرمسیری آسیای جنوب شرقی، بخش‌هایی از آفریقا و برزیل کشت می‌شود. این گیاه فعالیت بالقوه‌ی برعلیه ترکیبات شیمیایی نشان می‌دهد و در طب سنتی هند از زمان‌های باستان برای درمان مشکلات تنفسی و گوارشی مورداستفاده قرار گرفته است (۵). ماده فعال در روغن میخک اوژنول است. اوژنول به‌عنوان ضددرد در دندانپزشکی استفاده می‌شود و همچنین خواص ضدمیکروبی دارد. اوژنول (۱ -هیدروکسی- ۲ - متوکسی - ۴ -آلیلبنزن) یک ترکیب طبیعی موجود در عسل و گیاهان مختلف ازجمله عصاره میخک است و در مواد مختلف دارویی استفاده می‌شود. روش MTT اثر ضدتکثیری و ضدسرطانی اوژنول را در سرطان روده بزرگ نشان داده است (۶). مطالعات متعددی فعالیت ضدویروسی شکوفه‌ی میخک را نشان داده‌اند از آن برای درمان سرطان دهانه رحم ایجادشده با فعالیت ویروس شبه هرپس (HPV) استفاده می‌شود (۷). بعلاوه، شکوفه دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است (۸). همچنین ضد درد دندان، ادرارآور، مقوی معده، و ضد نفخ است (۹). بعلاوه، مصرف خوراکی آن برای درمان آسم و برخی انواع آلرژی‌ها به اثبات رسیده است (۱۰). انواع مختلف میخک حاوی ترکیبات شیمیایی مختلف نظیر سزکوازی‌ترپن‌ها، تانن‌ها، تری‌ترپنوئیدها، و ترکیبات فنولی مانند eugenol است (۱۳-۱۱). Eugenol به نظر می‌رسد به‌عنوان نوعی آنتی‌اکسیدان، مسکن، ضداسپاسم، ضدعفونی‌کننده و عوامل ضدمیکروبی عمل می‌کند (۱۴ و ۱۵). فعالیت‌های ضد تکثیری عصاره‌های آبی، اتانولی و روغنی میخک بر علیه سلول‌های سرطان دهانه رحم، سینه، پروستات و مری همراه با سلول‌های سالم لنفوسیت خون انسان موردبررسی قرار گرفته بود. در این مطالعه عصاره‌ی روغنی بیشترین اثر سمیت را بر علیه سلول‌های سرطانی نشان داده بود. حداقل مرگ سلولی در سلول‌های سرطان پروستات و حداکثر مرگ سلولی در سلول‌های سرطان مری روی داده بود (۱۶). تأثیر چهار بخش عصاره‌ی کلروفرومی میخک بر مهار تکثیر سلولی در دو رده‌ی سلول‌های سرطان ریه انسانی، توسط Ali و همکاران در سال ۲۰۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۷). آن‌ها نشان دادند که این بخش‌ها سبب مهار مهاجرت سلولی و القای آپاپتوز می‌گردد.

گزنه (*Urtica dioica L.*) دارای گونه‌های متعددی (۴۵-۳۰ گونه) است (۱۸)، ولی سه گونه عمده آن‌که ازنظر دارویی موردتوجه هستند و در ایران نیز یافت می‌شوند عبارت‌اند از گزنه درشت، کوچک و گزنه یونانی (۱۹). درحالی‌که این سه گونه تفاوت چندانی باهم ندارند، گونه گزنه درشت و گزنه کوچک از زمان‌های بسیار دور موردتوجه بوده‌اند و از گونه‌های مهم به شمار می‌آیند (۲۰). گزنه گیاهی است علفی، چندساله و دارای ساقه‌های راست به ارتفاع یک تا دو ونیم متر و حتی بیشتر که کمابیش در اماکن مخروبه، باغ‌ها و نقاط مرطوب خارج‌شهر، به حالت خودرو می‌روید. این گیاه، در مناطق معتدل و گرمسیری در سراسر جهان رشد می‌کند (۲۱). این گیاه دارای اعضای پوشیده از تارهای مخروطی شکل و گزنده است که در صورت لمس‌کردن، محتویات سوزآور آن در پوست بدن وارد می‌گردد. این محتویات تولید خارش و سوزش می‌کند و شاید به همین دلیل این گیاه را گزنه نامیده‌اند (۲۲). از زمان‌های بسیار قدیم از گیاه گزنه به‌عنوان غذا، رنگ، به‌عنوان الیاف، کود، مواد آرایشی استفاده می‌شد (۲۳). علاوه‌براین، از مدتهای مدیدی به‌عنوان نوعی گیاه دارویی استفاده می‌شده است. برخی از کاربردهای آن عبارت‌اند از: آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب، ضد زخم، ضد درد و ضد سرطان (۲۴، ۲۵). ترکیبات مؤثر متعددی از قبیل استروئیدها، ترپنوئیدها، فنیل‌پروپانوئیدها، لیگنین‌ها، کومارین‌ها، پلی‌ساکاریدها، لکتین‌ها و فلاونوئیدها در گیاه گزنه شناسایی شده است (۲۶). گزارشات پیشین فعالیت ضد توموری گزنه را بر سلول‌های سرطانی مختلف مورد نشان داده‌اند (۲۷، ۲۸).

مطالعات کمی در رابطه با مقایسه گیاهان دارویی و اثرات ضدتکثیری آن‌ها بر سلول‌های سرطانی وجود دارند. در این مطالعه برآن شدیم که به مقایسه اثرات ضد تکثیری عصاره‌ی هیدروالکلی گیاهان گزنه و میخک بر سلول‌های سرطانی سینه بپردازیم.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گونه‌های گیاهی: گونه دارویی گزنه (*Urtica dioica L*) با خواص آنتی اکسیدانی و ضد ویروس، در فصل رویش از ارتفاعات و مناطق مرتعی غرب کشور (استان‌های کرمانشاه، کردستان و ایلام) جمع‌آوری گردید. گیاه میخک (*Eugenia caryophylata*) خشک نیز از یک مرکز فروش گیاهان دارویی خریداری شد.

انجام تحقیقات آزمایشگاهی:

خشک کردن گیاهان: برگ‌ها و اندام‌های هوایی گونه گیاهی گزنه ابتدا شسته شده و در یک محیط دور از نور و با تهویه مناسب خشک شدند، سپس آسیاب گردیده و برای عصاره گیری آماده شدند.

عصاره گیری از گیاهان: از هر نمونه خشک گیاهی (گزنه و میخک) به میزان ۵۰ گرم در ۱۰۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد خیسانده (نسبت گیاه به حلال: ۱ به ۲۰) و به مدت ۷۲ ساعت در اتاق پاک در یک محیط بدون نور و دمای اتاق نگهداری شدند. در طی این مدت (۷۲ ساعت) هر روز ۱ تا ۲ ساعت محلول عصاره را بر روی هیتر استیرر (Heidolph, Germany) گذاشته و با دمای ۳۰

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

تا ۴۰ درجه هم زده شد. پس از پایان مدت عصاره گیری، محلول را با کاغذ صافی، صاف نموده، سپس عصاره‌ها در آون (Memmetr; Germany) ۴۵ درجه خشک شدند و بخش‌های خشک شده تا زمان استفاده در فریزر منفی ۲۰ نگهداری شدند.

کشت سلول:

رده‌های سلول سرطانی و سالم مورد استفاده در این مطالعه از انیستیتو پاستور ایران تهیه شدند. این سلول‌ها در فلاسک T25 حاوی محیط Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) (Gibco) با گلوکز بالا، مکمل شده با سدیم بیکربنات، ۱۰ درصد سرم گوساله‌ی جنینی (Gibco) و ۱درصد آنتی‌بیوتیک‌های پنی-سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور (Binder, Germany) تحت شرایط ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۵درصد دی‌اکسیدکربن و هوای اتمسفری مرطوب کشت شدند. زمانیکه حدود ۸۰درصد کف پلیت به‌وسیله‌ی سلول‌های مورد نظر پر شدند. با کمک آنزیم تریپسین از کف پلیت جداسازی شدند و بخشی از آن فریز و بقیه مجدداً کشت شدند تا برای استفاده‌های بعدی آماده شوند.

آزمون زنده‌مانی سلولی:

زنده‌مانی سلول‌های مورد استفاده در این مطالعه که تحت تیمار با غلظت‌های مختلف هر کدام از دو عصاره‌ی هیدروالکلی گزنه و میخک (۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) قرار گرفته بودند با کمک آزمون MTT مورد بررسی قرار گرفت. این آزمون به‌طور وسیعی برای سنجش زنده‌مانی سلولی و تکثیر و سمیت در بیولوژی سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. آزمون MTT با تأمین محلول آبی زرد رنگ، که به‌وسیله‌ی سوکسینات‌دهیدروژنازهای میتوکندری موجود در سلول‌های زنده کاهیده شده و کریستالهای نامحلول در آب، فورمازان آبی-بنفش را تشکیل می‌دهند. این کریستالها در حلالهای آلی نظیر Dimethyl sulfoxide (DMSO) و ایزوپروپانول محلول بوده که در دستگاه الایزا ریدر در طول موج بین ۶۰۰-۵۰۰ نانومتر خوانده می‌شوند. پس از کشت سلول زمانی که میزان سلول‌های کف پلیت به حدود ۸۰ درصد رسید با کمک آنزیم تریپسین، سلول‌ها از کف پلیت جداسازی شدند، با کمک لام نئوبار (Saaringia, Germany) سلول‌ها شمارش شدند حدود ۵۰۰۰ سلول و حدقل سه تکرار برای هر غلظت، به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه (Sorfa) کشت منتقل شدند. این سلول‌ها در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۵درصد دی‌اکسیدکربن و هوای اتمسفری مرطوب برای مدت زمان ۲۴ ساعت کشت شدند. بعد از اتمام این دوره محیط رویی حذف و محیط جدید با غلظت‌های مختلف دو عصاره‌ی گزنه و میخک به آنها اضافه شدند. بعد از اتمام دوره تیمار یعنی ۲۴ و ۷۲ ساعت، به هر چاهک حدود ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (۵ میلی-گرم در میلی‌لیتر بافر Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS)) اضافه شد و برای مدت زمان ۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. بعد از اتمام دوره انکوباسیون، محیط رویی به آرامی حذف شد و به هر چاهک حدود ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO اضافه شد سپس در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر BioTek (Power Wave XS2) خوانش انجام شد. درصد سلول‌های زنده پس از گذشت زمان ۲۴ و ۷۲ ساعت به‌صورت زیر محاسبه شد:

درصد زنده‌مانی= نتایج OD هر نمونه/OD شاهد×۱۰۰

بررسی میزان زنده‌مانی با میکروسکوپ فلوروسنت:

سلول‌های سرطانی و سالم تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی (۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) گیاهان گزنه و میخک پس از اتمام دوره‌ی کشت یعنی ۲۴ و ۷۲ ساعت، محیط رویی این سلول‌ها خارج شد. سپس سلول‌ها با پارافرم‌آلدهید ۴درصد ثابت شدند در ادامه بعد از دوره‌ی انکوباسیون ۱۵ دقیق‌هایی با فیکساتور، محیط رویی حذف شد و چندین مرتبه با DPBS شستشو داده شده به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DPBS اضافه شد و سپس ۴ میکرولیتر رنگ آکریدین نارنجی-اتیدیوم بروماید با نسبت ۱:۱ اضافه شد. میزان زنده‌مانی با کمک میکروسکوپ فلوروسنت (Leica, Germany) ارزیابی شد (۲۹).

آنالیز آماری:

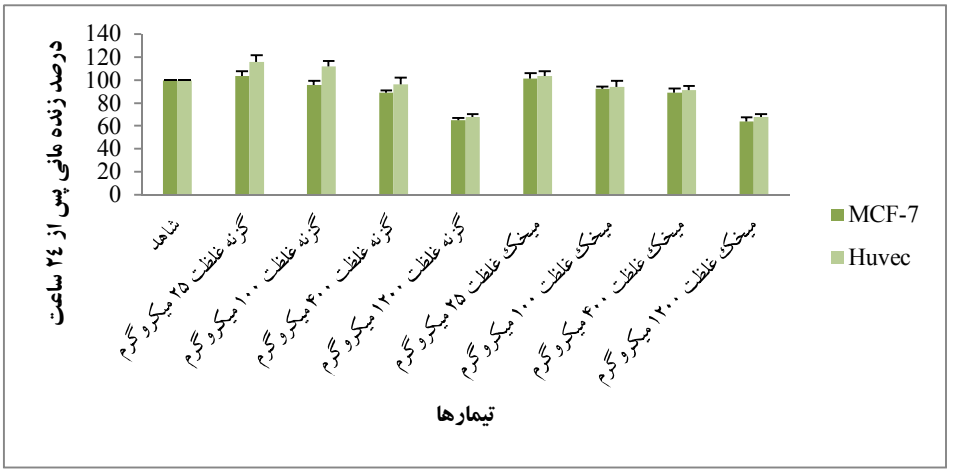
در این مطالعه جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (ورژن ۱۶) استفاده شد. داده‌های به دست آمده در این مطالعه با کمک طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی آنالیز شدند و به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد از حدقل ۳ تکرار گزارش شدند. اختلافات بین میانگین گروه‌های تیماری با کمک آزمون دانکن مورد بررسی قرار گرفت. p-value مورد استفاده در این مطالعه ۵درصد بود.

یافته‌ها

نتایج آزمون سمیت پس از ۲۴ ساعت، نشان داد که افزودن حداکثر غلظت هر دوعصاره‌ی هیدروالکلی میخک و گزنه (۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) سبب مهار تکثیر سلول‌های سرطان سینه MCF-7 (میزان زنده‌مانی ۶۴/۰۳ و ۶۵/۴۴ درصد به ترتیب) شده بود که در مقایسه با سایر گروه‌های تیماری اختلاف معنی‌داری نشان می‌داد ($p<0.05$). در این شرایط میزان تکثیر سلول‌های سالم Huvec به ترتیب برای میخک و گزنه در پایان ساعت ۲۴، ۶۷/۸۱ و ۶۷/۸۲ درصد، بود که با سایر گروه‌های تیماری اختلاف معنی‌داری

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

($p<0.05$) داشت (شکل ۱، جدول ۱). گروه‌های تیماری میخک غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و گزنه غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نسبت به گروه شاهد در سلول‌های سالم افزایش تکثیر نشان دادند (۱۰۳/۷۱، ۱۱۵/۸۸ و ۱۱۲/۱۲ درصد، به ترتیب). علاوه‌براین، در سلول‌های سرطانی، گروه‌های تیماری ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره‌ی هیدروالکلی میخک و گزنه نسبت به گروه شاهد افزایش تکثیر داشتند گرچه این افزایش معنی‌دار نبود (۱۰۱/۶۶ و ۱۰۳/۴۹ درصد، به ترتیب) (شکل ۱، جدول ۱). در پایان ۲۴ ساعت، در تمامی گروه‌های تیماری میزان مهار تکثیر سلولی در رده‌ی سلول سرطانی (MCF-7) بیشتر از سلول‌های سالم (Huvec) بود.



شکل (۱): میزان تکثیر سلول‌های سرطانی و سالم پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره‌های گزنه و میخک با کمک آزمون MTT

جدول (۱): بررسی میزان سمیت سلولی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی میخک و گزنه- با کمک آزمون MTT (ساعت ۲۴)

تیمار	درصد سلول‌های زنده MCF-7 پس از آزمون MTT (ساعت ۲۴)	درصد سلول‌های زنده Huvec پس از آزمون MTT (ساعت ۲۴)
شاهد	۱۰۰ de	۱۰۰ cd
عصاره گزنه غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر	۱۰۳/۴۹ ± ۴/۰۲ e	۱۱۵/۸۸ ± ۵/۶۶ e
عصاره گزنه غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۹۶/۱۵ ± ۳/۰۹ cd	۱۱۲/۱۲ ± ۴/۲۶ e
عصاره گزنه غلظت ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۸۹/۴۳ ± ۱/۲۹ b	۹۶/۴۴± ۵/۶۷ bc
عصاره گزنه غلظت ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۶۵/۴۴ ± ۱/۵۸ a	۶۷/۸۲ ± ۲/۱۹ a
عصاره میخک غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر	۱۰۱/۶۶ ± ۴/۱۶ e	۱۰۳/۷۱ ± ۳/۸۲ d
عصاره میخک غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۹۲/۶۹ ± ۱/۵۴ bc	۹۴/۴۲ ± ۵/۰۹ bc
عصاره میخک غلظت ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۸۹/۰۶ ± ۳/۵۷ b	۹۱/۵۷ ± ۳/۱۳ b
عصاره میخک غلظت ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۶۴/۰۳ ± ۳/۱۸ a	۶۷/۸۱ ± ۲/۴۵ a

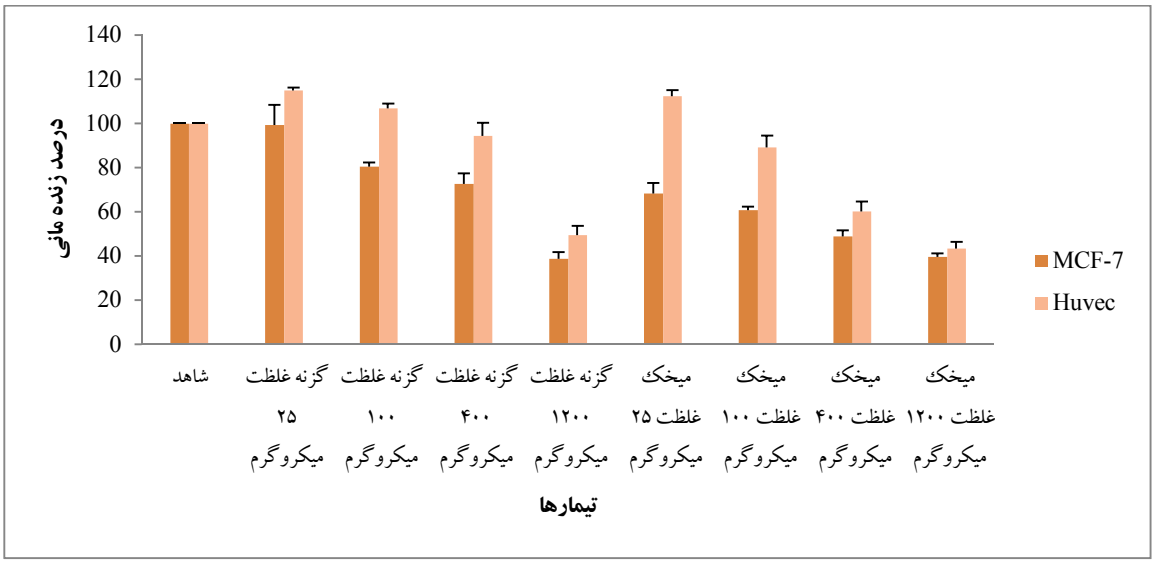
میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌دار دارند. اختلافات در سطح ۵درصد بررسی‌شده‌اند.
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تیماری است.

در ارتباط با مهار تکثیر سلولی پس از ۷۲ ساعت، تیمار سلول‌های سرطانی (MCF-7) با حداکثر غلظت (۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره‌های هیدروالکلی میخک و گزنه بیشترین میزان مهار تکثیر سلولی در مقایسه با گروه شاهد و سایرگروههای تیماری

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

مشاهده شد (میزان زنده‌مانی ۳۹/۷۴درصد و ۳۸/۸۶ درصد، به ترتیب) که این اختلاف معنی دار ($p<0.05$) بود (شکل ۲، جدول ۲). افزودن عصاره‌ی هیدروالکلی میخک در غلظت ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پس از ۷۲ ساعت، میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی (MCF-7) به حدود ۴۸/۸۴ درصد رسیده بود که در مقایسه با سایر گروه‌های تیماری؛ به غیر از غلظت‌های ۱۲۰۰ میکروگرم هر دو عصاره؛ اختلاف معنی‌داری ($p<0.05$) نشان داد. در مجموع پس از گذشت ۷۲ ساعت، در تمامی گروه‌های سلول‌های سرطانی که هر یک از دو عصاره هیدروالکلی میخک و گزنه (غلظت‌های ۱۲۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) را دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شاهد روند کاهش تکثیر سلول مشاهده شد که این کاهش نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان می‌داد ($p<0.05$). در ارتباط با سلول‌های سالم (Huvec)، تیمار با غلظت‌های مختلف هر دو عصاره، که غلظت حداکثر (۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) را دریافت کرده بودند کاهش تکثیر را نشان داد (میخک ۴۳/۴۵ و گزنه ۴۹/۶۲ درصد) که در مقایسه با گروه شاهد و سایر گروه‌های تیماری اختلاف معنی‌دار نشان می‌داد ($p<0.05$). غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره‌ی هیدروالکلی گزنه و ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره‌ی هیدروالکلی میخک نسبت به گروه شاهد افزایش تکثیر نشان داد (۱۱۵/۱۲، ۱۰۶/۸۳ و ۱۱۲/۳۹ درصد، به ترتیب) که این افزایش تکثیر نسبت به گروه شاهد در ساعت ۷۲ معنی‌دار بود ($p<0.05$). میزان کاهش تکثیر پس از مواجهه با هر دو عصاره در سلول‌های سالم نسبت به سلول‌های سرطانی کمتر بود (شکل ۲، جدول ۲).

اشکال ۳ تا ۶ تغییرات سلول‌های سالم و سرطانی پس از گذشت ۲۴ و ۷۲ ساعت از تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره‌های هیدروالکلی گزنه و میخک را نشان می‌دهد.



شکل (۲): میزان تکثیر سلول‌های سرطانی و سالم پس از گذشت ۷۲ ساعت از تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره‌های گزنه و میخک با کمک آزمون MTT

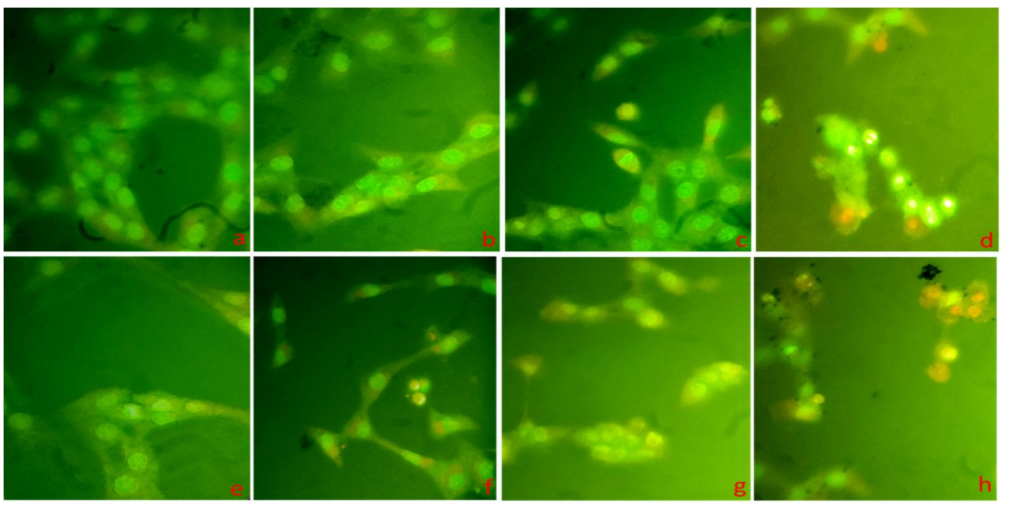
جدول (۲): بررسی میزان سمیت سلولی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی میخک و گزنه- با کمک آزمون MTT (ساعت ۷۲)

تیمار	درصد سلول‌های زنده MCF-7 پس از آزمون MTT (ساعت ۷۲)	درصد سلول‌های زنده Huvec پس از آزمون MTT (ساعت ۷۲)
شاهد	۱۰۰^{f}	۱۰۰^{d}
عصاره گزنه غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر	۹۹/۴۵ ± ۸/۸۴^{f}	۱۱۵/۱۲ ± ۱/۰۹ ^{f}
عصاره گزنه غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۸۰/۶۴ ± ۱/۴۹ ^{e}	۱۰۶/۸۳ ± ۲/۱۳ ^{e}
عصاره گزنه غلظت ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۷۲/۸۴ ± ۴/۶۰^{d}	۹۴/۳۹± ۵/۷۶ ^{cd}
عصاره گزنه غلظت ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۳۸/۸۶ ± ۲/۸۱^{a}	۴۹/۶۲ ± ۳/۹۵ ^{a}

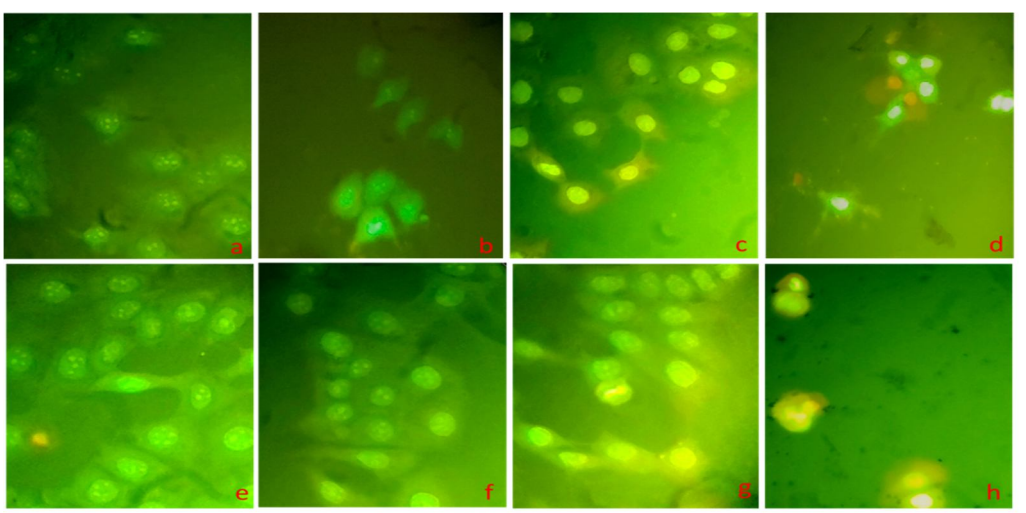
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

عصاره میخک غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر	۶۸/۲۲ ± ۴/۷۲[d]	۱۱۲/۳۹ ± ۲/۷۵ [ef]
عصاره میخک غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۶۰/۸۹ ± ۱/۲۹[c]	۸۹/۳۲ ± ۵/۲۳ [c]
عصاره میخک غلظت ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۴۸/۸۴ ± ۲/۷۸[b]	۶۰/۲۵ ± ۴/۳۵[b]
عصاره میخک غلظت ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر	۳۹/۷۴ ± ۱/۲۵[a]	۴۳/۴۵ ± ۲/۹۵ [a]

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌دار دارند. اختلافات در سطح ۵درصد بررسی‌شده‌اند.
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تیماری است.

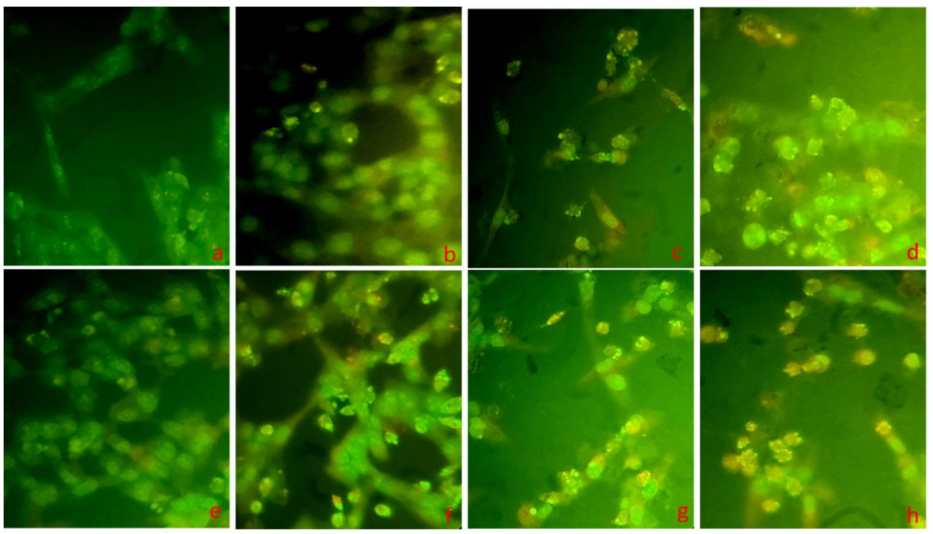


شکل (۳): رنگ آمیزی همزمان اتیدیوم بروماید-آکریدین نارنجی سلول‌های سالم (Huvec) تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی گزنه (a: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، b: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، c: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و d: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) و میخک (e: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، f: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، g: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و h: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) پس از ۲۴ ساعت

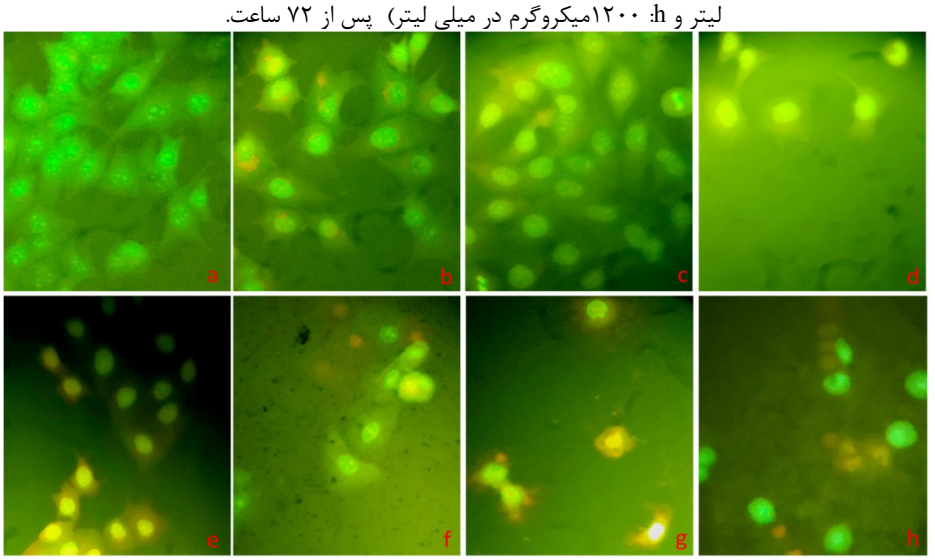


شکل (۴): رنگ آمیزی همزمان اتیدیوم بروماید-آکریدین نارنجی سلول‌های سرطان سینهMCF-7 تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی گزنه (a: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، b: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، c: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و d: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) و میخک (e: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، f: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، g: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و h: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) پس از ۲۴ ساعت.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]



شکل (۵): رنگ آمیزی همزمان اتیدیوم بروماید-آکریدین نارنجی سلول‌های سالم (Huvec) تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی گزنه (a: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، b: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، c: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و d: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) و میخک (e: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، f: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، g: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و h: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) پس از ۷۲ ساعت.



شکل (۶): رنگ آمیزی همزمان اتیدیوم بروماید-آکریدین نارنجی سلول‌های سرطان سینه MCF-7 تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی گزنه (a: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، b: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، c: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و d: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) و میخک (e: ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، f: ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، g: ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و h: ۱۲۰۰میکروگرم در میلی لیتر) پس از ۷۲ ساعت.

بحث

سرطان یکی از عوامل اصلی مرگ‌ومیر در کل جهان است که به سرعت به یکی از بیماری‌های ترسناک تبدیل می‌شود. یکی از دلایل این امر، مقاومت‌های دارویی مشاهده شده و رو به افزایش نسبت به سرطان است. این امر سبب تلاش‌های جدی در مورد بررسی داروها و ترکیبات حیات بخش برای درمان سرطان شده است (۳۰). ترکیباتی با منشأ گیاهی احتمالاً اثرات سمی ناشی از درمان‌های شیمیایی را کاهش داده و از طرفی اثرات جانبی ناخواسته مانند مقاومت دارویی را کمتر در پی دارند. امروزه استفاده از مکمل‌ها و محصولات غذایی با منشأ طبیعی بسیار مورد توجه هستند. هزینه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

مناسب و در دسترس بودن گیاهان دارویی، همچنین عوارض جانبی کمتر آنها نسبت به داروها می‌تواند آنها را به‌عنوان ابزاری برای درمان سرطان معرفی کند. ترکیب ضد سرطان ایده‌آل بایستی سلول‌های سرطانی را بدون اثر منفی بر سلول‌های طبیعی از بین ببرد. برخی جهش‌ها در سلول‌های سرطانی آنها را به القاکننده‌های آپاپتوز مقاوم می‌سازد. بنابراین، استفاده از ترکیبات شیمیایی القاکننده‌ی آپاپتوز در این سلول‌ها هدف اصلی از درمان سرطان است (۳۱). در این مطالعه به مقایسه‌ی عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان میخک و گزنه در غلظت‌های مختلف بر سلول‌های سرطان سینه (MCF-7) و سلول‌های اندوتلیال داخل رگهای خونی بند ناف انسانی (Huvec) به‌عنوان سلول سالم پرداخته شد. گیاه میخک پس از گذشت ۷۲ ساعت نسبت به گیاه گزنه در غلظت‌های ۲۵، ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اثرات به مراتب بهتری در مهار سلول‌های سرطانی داشت. همچنین در غلظت بالا یعنی ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر هر دو عصاره مشابه با هم عمل کرده بودند. در ارتباط با سلول‌های سالم هرچند که میزان مرگ سلولی در غلظت‌های کم ناچیز بود، ولی در ارتباط با گزنه در غلظت حداکثر، روند کاهش سلول‌ها و مرگ سلولی مشاهده شد که در مقایسه با سلول‌های سرطانی سینه، این روند معنی‌دار نبود. در گیاه میخک نیز در غلظت‌های ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر روند مرگ سلولی مشاهده شد، اما این روند در سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های سالم بیشتر بود. به نظر می‌رسد که گیاه گزنه نسبت به گیاه میخک، اثرات کمتری بر سلول‌های سالم خصوصاً در غلظت‌های پایین نسبت به سلول‌های سرطانی برجای گذاشته بود. در مورد میخک نیز هرچند میزان مهار تکثیر سلول‌های سرطانی بهتر در این غلظت‌ها مشاهده می‌شد، میزان آسیب به سلول‌های سالم نیز نسبت به گزنه بیشتر بود. در مطالعه‌ی محمدی و همکاران (۳۲)، عصاره‌ی دی‌کلرومتان گیاه گزنه سبب مهار نمو سلول‌های سرطانی HCT-116 شده بود. میزان تکه-تکه شدن DNA افزایش یافته بود همچنین بیان کاسپازهای ۳ و ۹ افزایش و بیان Bcl-2 کاهش یافته بود. در مطالعه‌ی Kumar و همکاران (۳۳) نیز مشابه با مطالعه‌ی حاضر از عصاره‌های گیاه میخک برای مهار سلول‌های سرطان سینه استفاده شد. البته با این تفاوت که عصاره‌های آبی، الکلی و روغنی این گیاه جهت بررسی استفاده شده بود. طبق نتایج این مطالعه پس از ۴۸ ساعت، عصاره‌ی روغنی بهتر سبب مهار سلول‌های سرطانی شده بود. هرچند که در آن مطالعه عصاره‌ی اتانولی نیز به مراتب نسبت به عصاره‌ی آبی بهتر عمل کرده بود. Prashar و همکاران (۳۴) نشان دادند که روغن میخک سبب القای سمیت در سلول‌های فیبروبلاستی و اندوتلیالی انسانی می‌شود. در مطالعه‌ی دیگر توسط Hussain و همکاران (۳۵) مشابه با مطالعه‌ی حاضر، اثرات سمی عصاره‌ی میخک بر هر دو سلول‌های سالم و سلول‌های سرطان دهانه رحم مشاهده شده است. اما این روند کاهشی در سلول‌های سرطانی بیشتر مشاهده شده است. عصاره‌ی میخک سبب آسیب DNA، و القای چرخه‌های ذاتی وابسته به کاسپاز و مرگ مرتبط با استرس اکسیداتیو میانجی شده با رادیکال‌های اکسیژن و نتیروژن در سلول‌های سرطانی سینه شده است (۳۶). اثرات سمی عصاره‌ی میخک می‌تواند به دلیل مشتقات الکلی موجود در آن مانند Eugenol باشد. این ترکیب برعلیه سلول‌های سرطان سرویکس Hela مورد استفاده قرار گرفته که اثرات سمی آن وابسته به زمان و میزان غلظت بوده است (۳۷). همچنین در مطالعه‌ی دیگر توسط Salah و همکاران (۳۸) از Eugenol به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدانتی مشتق از میخک برعلیه استرس اکسیداتیو القایی توسط سیترینین در شرایط کشت آزمایشگاهی سلول‌های HCT116 (سلول‌های بخش انتهایی روده بزرگ انسانی) استفاده گردید. مصرف آن مرگ را در این سلول‌ها کاهش داده، سبب مهار تولید ROS، تعدیل فعالیت هر دو آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیداز دیسموتاز و کاهش تولید مالونیل‌دی‌آلدهید شده بود (۳۸). بخش‌های مختلف عصاره‌ی کلروفرومی میخک سبب القای آپاپتوز و مهار تکثیر در دو رده‌ی سلول‌های سرطان ریه در مطالعه‌ی Ali و همکاران (۱۷) شده بود. Dwivedi و همکاران در سال ۲۰۱۱، اثرات عصاره‌های مختلف آبی، الکلی و روغنی میخک را بر سلول‌های سرطانی دهانه رحم، سینه، پروستات و مری و همچنین سلول‌های سالم مورد بررسی قرار دادند (۱۶). بیشترین تأثیر مهار تکثیر، بر سلول‌های مری و کمترین اثر آن برای سلول‌های سرطان پروستات با استفاده از عصاره‌ی روغنی بود. این در حالی بود که سلول‌های سالم در پی تیمار با عصاره‌ی میخک آسیبی ندیده بودند. Al Doghaithe و همکاران (۳۹)، نیز اثرات عصاره‌ی آبی گزنه به‌صورت خشک شده و فریزدرایر شده را بر سلول‌های سرطانی روده بزرگ، ریه و سینه همچنین سلول‌های سالم در دو غلظت ۵ و ۱۰ میکروگرم مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها در هر دو غلظت اثرات سمی را بر رده‌های مختلف سرطانی مشاهده کردند ولی مانند مطالعه‌ی حاضر، اثری بر سلول‌های سالم در این غلظت‌ها (یعنی غلظت‌های پایین) مشاهده نشد. هرچند که غلظت‌های مورد استفاده در آن مطالعه با غلظت‌های مورد استفاده در این پژوهش مشابه نبود، در بررسی ما نیز در مورد گزنه اثرات سمی در غلظت‌های ۲۵، ۱۰۰ و حتی ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده نشد. D'Abrosca و همکاران (۴۰) نیز مشاهده کردند که برخلاف سلول‌های سرطانی، عصاره گزنه اثر سمی بر سلول‌های سالم ندارد. در مطالعه‌ایی دیگر عصاره‌ی آبی گزنه، سبب مهار سلول‌های سرطان پروستات و القای استرس اکسیداتیو و آپاپتوز در آنها شده بود (۴۱). روند تشکیل تومور سرطان سینه در موش صحرایی در پی تیمار آنها با گیاه گزنه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

کاهش یافته بود (۴۲). در موش، تیمار با عصاره‌ی متانولی بخش‌های هوایی گزنه از کبد و نفرونهای کلیوی برعلیه سمیت القایی ناشی از سیس پلاتین محافظت کرده بود (۴۳)، در واقع این عصاره سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و سوپراکسیدازدیسموتاز و محتوی گلوتاتیون می‌شود (۴۴). به نظر می‌رسد فعالیت فلاونوئیدهای موجود در گیاه گزنه با این اثرات آنتی-اکسیدانی و دفاع آنتی‌اکسیدانی برعلیه رادیکال‌های آزاد ارتباط داشته باشد (۴۵).

نتیجه‌گیری

طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه، افزودن عصاره‌ی هیدروالکلی گیاهان میخک و گزنه پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت از تیمار، در حداکثر غلظت خود سبب مهار رشد سلول‌های سرطان سینه شده است. در این مطالعه، متاسفانه امکان بررسی‌های کیفی‌تر، نظیر افزودن مشتقات گیاهان میخک و گزنه به سلول‌های سرطانی وجود نداشت با این حال مکانیسم دقیق و تاثیرگذاری این ترکیبات بر سلول‌های سرطانی و سالم به درستی مشخص نشده است. در پایان، نیاز به مطالعات سلولی بیشتر همراه با آنالیزهای مولکولی، جهت ارزیابی مکانیسم‌های مهار تکثیر و افزایش مرگ برنامه ریزی شده سلولی وجود دارد. علاوه‌براین، بررسی‌های درون‌تنی مهار سرطان در پی مصرف عصاره‌ها و مشتقات گزنه و میخک در گونه‌های حیوانات آزمایشگاهی نیز ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

این پژوهش با شماره IR.RAZI.REC.1399.031 موفق به دریافت کد اخلاق از کمیته اخلاق در پژوهشهای زیست پزشکی معاونت پژوهشی دانشگاه رازی شده است که بدین وسیله از زحمات این معاونت سپاسگزاری می‌گردد.

References:

1- Gupta RK, Patel AM, Kumari R, Chugh S, Shrivastav C, Mehra S, et al. Interactions between oxidative stress, lipid profile and antioxidants in breast cancer: a case control study. Asian Pac J Cancer Prev 2012; 13: 6295-8.

2- Ray G, Batra S, Shukla NK, Deo S, Raina V, Ashok S, et al. A lipid peroxidation free radical production and oxidant status in breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2000; 59: 163-70.

3- Price P, Sikora K, Illidge T. Treatment of Cancer. 5th ed. London: Hodder Arnold Publication; 2008.

4- Duncan AM. The role of nutrition in the prevention of breast cancer. AACN Adv Crit Care 2004; 15: 119- 35.

5- Aggarwal BB, Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. Biochem Pharmacol 2006; 71: 1397-421.

6- Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, Eugenia caryophyllata (Syzigium aromaticum L. Myrtaceae): A short review. Phytother Res 2007;21(6):501-6.

7- Banerjee S, Das S. Anticarcinogenic effects of an aqueous infusion of cloves on skin carcinogenesis. Asian Pac J Cancer Prev 2005; 6: 304-8.

8- Scott EN, Gescher AJ, Steward WP, Brown K. Development of dietary phytochemical chemopreventive agents: biomarkers and choice of dose for early clinical trials. Cancer Prev Res 2009; 2: 525-30.

9- Odugbemi TO. Outlines and pictures of medicinal plants from Nigeria. Lagos: University of Lagos Press; 2006.

10- Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J Natl Cancer Inst 1990;82:1107–12.

11- Zheng GQ, Kenney PM, Lam LK. Sesquiterpenes from clove (Eugenia caryophyllata) as potential anticarcinogenic agents. J Nat Prod 1992;55:999–1003.

12- Tanaka T, Orii Y, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and related compounds. CXXIII. Chromone, acetophenone and phenylpropanoid glycosides and their galloyl and/or hexahydroxydiphenoyl esters from the leaves of Syzygium aromaticum MERR. Et PERRY. Chem Pharm Bull 1993;41:1232–7.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

13- Umehara K, Takagi R, Kuroyanagi M, Ueno A, Taki T, Chen YJ. Studies on differentiation-inducing activities of triterpenes. Chem Pharm Bull 1992;40:401–5.

14- Farag R, Badei A, El Baroty G. Influence of thyme and clove essential oils on cottonseed oil oxidation. J Am Oil Chem Soc 1989;66:800–4.

15- Farag R, Badei A, Hewedi F, El-Baroty GS. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. J Am Oil Chem Soc 1989;66:792–9.

16- Dwivedi V, Shrivastava R, Hussain S, Ganguly C, Bharadwaj M. Comparative Anticancer Potential of Clove (Syzygium aromaticum) - an Indian Spice - Against Cancer Cell Lines of Various Anatomical Origin. Asian Pac J Cancer Prev 2011;12:1989- 93

17- Ali I, Farooq Naqshbandi M, Husain M. Cell migration and apoptosis in human lung cancer cells by Clove (Syzygiumaromaticum) dried flower buds extract. Journal of Taibah University for Science 2019; 13(1): 1163-74.

18- Bodros E, Baley C. Study of the tensile properties of stinging Nettle fibres (Urtica dioica). Mater Lett 2008; 62(14): 2143- 5.

19- Shahraki MR, Mirshekari H, Shahraki AR, Shahraki E, Divband KH. Effect of urtica dioica boiling on serum glucose, insulin and lipids in fructose-fed male rats. Ofogh-e-Danesh. GMUHS J 2008; 14(3):10-5

20- Kavalali G, Tuncel H, Göksel S, Hatemi HH. Hypoglycemic activity of Urtica pilulifera in streptozotocin-diabetic rats. J Ethnopharmacol 2003;84(2-3):241-5.

21- Krystofova O, Adam V, Babula P, Zehnalek J, Beklova M, Havel L, et al. Effects of various doses of selenite on stinging nettle (Urtica dioica L.). Int J Environ Res Public Health 2010; 7(10): 3804–15.

22- James A, Duke B. Phytochemical and ethnochemial databases, Beltsvilla Argriculture Researh Center. Visual 2005; 26: 193-200.

23- Akgul, M. Suitability of stinging nettle (Urtica dioica L.) stalks for medium density fiberboards production. Compos B Eng 2013; 45: 925–9.

24- Nahata A, Dixit VK. Ameliorative effects of stinging nettle (Urtica dioica) on testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats. Andrologia 2012; 44(Suppl 1): 396–409.

25- Gul S, Demirci B, Baser KH, Akpulat HA, Aksu P. Chemical composition and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from Urtica dioica L. Bull Environ Contam Toxicol 2012; 88: 666–71.

26- Akbay P, Basaran AA, Undeger U, Basaran N. In-vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from Urtica dioica L. Phytother Res 2003; 17: 34–7

27- Durak I, Biri H, Devrim E, Sozen S, Avci A. Aqueous extract of Urtica dioica makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer. Cancer Biol Ther 2004; 3: 855–7.

28- Fattahi S, Ardekani AM, Zabihi E, Abedian Z, Mostafazadeh A, Pourbagher R, et al. Antioxidant and apoptotic effects of an aqueous extract of Urtica dioica on the MCF-7 human breast cancer cell line. Asian Pac J Cancer Prev 2013; 14: 5317–23

29- Esmaili Gourvarchin Galeh H, Delirezh N, Abtahi Froushani SM, Afzale Ahangaran N. The Effect of Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells Pulsed with Vitamin D3 on the Function of Peripheral Blood Neutrophils in Rat. Qom Univ Med Sci J 2014; 8 (5):1-8.

30- Ferdowsian HR, Barnard ND. The role of diet in breast and prostate cancer survival. Ethn Dis 2007; 17(2): 18-22.

31- 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;6(9):e24537

32- Mohammadi A, Mansoori B, Aghapour M, Chokhachi Baradaran P, Shajari N, Davudian S, et al. The Herbal

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

Medicine Utrica Dioica Inhibits Proliferation of Colorectal Cancer Cell Line by Inducing Apoptosis and Arrest at the G2/M Phase. J Gastrointest Cancer 2016;47(2):187-95. DOI 10.1007/s12029-016-9819-3

33- Kumar PS, Febriyanti RM, Sofyan FF, Luftimas DE, Abdulah R. Anticancer potential of Syzygium aromaticum L. in MCF-7 human breast cancer cell lines. Pharmacogn Res 2014;6(4):350-4.

34- Prashar A, Locke IC, Evans CS. Cytotoxicity of clove (Syzygium aromaticum) oil and its major components to human skin cells. Cell Prolif 2006; 39(4):241-8

35- Hussain A, Sasidharan S, Ahmed T, Ahmed M, Sharma C. Clove (Syzygium aromaticum) Extract Potentiates Gemcitabine Cytotoxic Effect on Human Cervical Cancer Cell Line. Cancer Res 2009; 5: 95-104.

36- Kello M, Takac P, Kubatka P, Kuruc T, Petrova K, Mojzis J. Oxidative Stress-Induced DNA Damage and Apoptosis in Clove Buds-Treated MCF-7 Cells. Biomolecules 2020;10(1):139.

37- Das A, Harshadha K, Dhinesh Kannan SK, Hari Raj K, Jayaprakash B. Evaluation of Therapeutic Potential of Eugenol-A Natural Derivative of Syzygium aromaticum on Cervical Cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2018;19(7):1977-85.

38- Salah A, Bouaziz C, Amara I, Abid-Essefi S, Bacha H. Eugenol protects against citrinin-induced cytotoxicity and oxidative damages in cultured human colorectal HCT116 cells. Environ Sci Pollut Res Int 2019;26(30):31374-83.

39- Al Doghaithe HAr, Omar UM, Rahimulddin SA, Al-Ghafari AB. Cytotoxic Effects of Aqueous Extracts of Urtica urens on Most Common Cancer Types in Saudi Arabia. J Biol Sci 2016; 16(6): 242-6

40- D'Abrosca B, Ciaramella V, Graziani V, Papaccio F, Della Corte MC, Potenza N, et al. Urtica dioica L. inhibits proliferation and enhances cisplatin cytotoxicity in NSCLC cells via Endoplasmic Reticulum-stress mediated apoptosis. Sci Rep 2019; 9:4986

41- Levy A, Sivanesan D, Murugan S, Jornadal J, Quinonez Y, Jaffe M, et al. Urtica dioica Induces Cytotoxicity in Human Prostate Carcinoma LNCaP Cells: Involvement of Oxidative Stress, Mitochondrial Depolarization and Apoptosis. Trop J Pharm Res 2014; 13 (5): 711-7.

42- Teloa S, Halifeoglub I, Hanifi Ozercanc I. Effects of Stinging Nettle (Urtica Dioica L.,) on Antioxidant Enzyme Activities in Rat Model of Mammary Gland Cancer. Iran J Pharm Res 2017; 16: 164-70.

43- Florea AM, Büsselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. Cancers (Basel) 2011; 3(1):1351-71.

44- Özkol H, Musa D, Tuluce Y, Koyuncu I. Ameliorative influence of Urtica dioica L against cisplatin-induced toxicity in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. Drug Chem Toxicol 2012; 35(3):251-7.

45- Nollet LML, Gutierrez-Uribe JA. Phenolic Compounds in Food: Characterization and Analysis. CRC Press; Boca Raton, FL, USA: 2018.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]

Original Article

COMPARISON OF ANTI-CANCER EFFECTS OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *SYZYGIUM AROMATICUM* AND *UTRICA DIOICA* ON BREAST CANCER CELLS (MCF-7) AND NORMAL CELLS (HUVEC)

Leila Soltani[1], Maryam Darbemamieh[2], Zahra Mohebbi[3], Nahid Moarrefzadeh[4]*

Received: 24 January, 2021; Accepted: 11 October, 2021

Abstract

***Background & Aims*:** One of the leading causes of death in the world is cancer. In order to find cures with fewer side effects and on the other hand drug resistance problems that exist in relation to the treatment of cancer patients, attention to plant-derived products has greatly increased. The aim of this study was to compare the cytotoxicity of hydro-alcoholic extracts of nettle and clove on cancer and normal cells.

***Materials & Methods*:** Hydro-alcoholic extracts of nettle and clove were prepared in different concentrations (25, 100, 400, and 1200 µg / ml) then added to culture medium of breast cancer cells (MCF-7) and normal cells (Huvec) and incubated for 24 or 72 h. At the end of incubation, cytotoxicity was assessed by MTT assay and apoptosis by acridine orange-ethidium-bromide dual staining. The obtained data were analyzed using SPSS software and Duncan's multiple comparisons.

***Results*:** The addition of hydroalcoholic extracts of both nettle and clove at the highest used concentration (1200 µg/ml) after 24 and 72 hreduced cell proliferation significantly compared to other treatment and control groups ($p<0.05$). The addition of the highest concentration of both hydro-alcoholic extracts of clove and nettle to normal cells reduced cell proliferation significantly compared to other treatment groups ($p<0.05$).

***Conclusion*:** The results of this study showed that the hydro-alcoholic extracts of nettle and clove inhibit the proliferation of breast cancer cells (MCF-7).

***Keywords*:** breast cancer cells (MCF-7), clove, hydroalcoholic extract, nettle

Address: Department of Animal Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran
Tel: +989372725987
E-mail: L.soltani@razi.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(3): 186 ISSN: 2717-008X

[1] Assistant Professor, Department of Animal Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran (Corresponding Author)
[2] Assistant Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Natural Resources, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-27]