فصلنامه بیماری‌های پستان ایران، سال چهارم، شمارهٔ سوم، پاییز ۱۳۹۰

مقاله پژوهشی

بررسی اثر عصارهٔ آبی برگ خربزهٔ درختی (Carica papaya) بر رشد تومور و میزان بیان IFN-γ و IL-4 در موش‌های مبتلا به سرطان پستان

لیلا یاحقی: کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم
*** الهام صفرپور کپورچال:** استادیار فیزیولوژی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم
ابوالفضل دادخواه تهرانی: استادیار یوشیمی بالینی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم
محمد حسن زهیر: دانشیار ایمونولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
مهدیه سادات قیاثی: دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز جهاد دانشگاهی قم، ازمایشگاه سلول‌های بنیادی

چکیده

مقدمه: امروزه، از آنجاکه شیوع سرطان به‌ویژه سرطان پستان و مرگ‌ومیر ناشی از آن در میان زنان افزایش یافته است، تحقیقات زیادی در این زمینه صورت می‌گیرد. در تحقیق اخیر اثر عصارهٔ آبی برگ خربزهٔ درختی[1] به‌دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌توموری فعال بر روی رشد، اندازه و وزن تومور و سطح بیان اینترلوکین-۴ و اینترفرون گاما در موش‌های مبتلا به سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در تحقیق حاضر از موش‌هایbalb/c مادهٔ مبتلا به سرطان پستان(با سلول‌های 4T1) استفاده شد. عصارهٔ گیاه توسط روش دم کردن به‌دست آمد. برای به‌دست آوردن دوز مناسب جهت تزریق، تست DPPH برروی دوزهای مختلف عصاره انجام گرفت و دوزی که بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را نشان داد (۱۱۶µg/ml)، برای تزریق استفاده شد. یک گروه، عصاره را همزمان با دریافت سلول سرطانی به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند که به مدت ۲۰ روز ادامه یافت و گروه دیگر عصاره را بعد از ظاهر شدن تومور به مدت ۱۲ روز دریافت نمودند. درطول دورهٔ آزمایش اندازهٔ تومور از روز پانزدهم تا بیستم هر روز و نیز بعد از خارج شدن از بدن اندازه‌گیری و اندازهٔ تومور توسط فرمول استاندارد (اندازهٔ تومور= ^{۲}عرض×طول×۰/۵)محاسبه گردید. وزن تومور بعد از خارج شدن از بدن اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری بیان IFNγ,IL-4 برروی پلاسمای خون، آزمایش ELISA انجام گردید. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند و درنهایت، سطح (IFNγ,IL-4) درگروه‌های مختلف با روش‌های آماری مقایسه شد.

یافته‌ها: اندازهٔ تومور در گروه‌های تحت تیمار با عصاره به‌مدت ۱۲ روز (گروه B) و۲۰ روز (گروه A) نسبت به گروه‌های کنترل هم در روند رشد تومور و هم بعد از خارج کردن تومور از بدن کاهش معنی‌داری را نشان داد به‌طوری‌که بر طبق اندازه‌گیری تومور در روزهای پانزدهم تا بیستم در گروه A این اختلاف در روز هجدهم در $P<۰/۰۵$ و در روزهای نوزدهم و بیستم در $P<۰/۰۰۱$ و در گروه B در روز بیستم در $P<۰/۰۵$ معنی‌دار بود. همچنین وزن تومور در گروه A نسبت به گروه کنترل آن کاهش معنی‌داری را در $P<۰/۰۰۱$ نشان داد. نتایج حاصل از تست ELISA به ترتیب در سطح IL-4 و IFN-γ کاهش و افزایش را نشان داد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل از این تحقیق عصارهٔ آبی برگ خربزهٔ درختی می‌تواند باعث کاهش در روند رشد تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان شود.

واژه‌های کلیدی: خربزهٔ درختی(Carica papaya، اندازهٔ تومور، وزن تومور، DPPH، سرطان پستان، IL-4، INFγ، ELIS

[1]. Carica papaya

www.SID.ir

نشانی نویسندهٔ پاسخگو: قم، بلوار پانزده خرداد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، گروه فیزیولوژی، الهام صفرپور کپورچال
تلفن: ۰۹۱۲۳۴۰۵۵۴۹ نشانی الکترونیک: elham.safarpoor@gmail.com

مقدمه

امروزه، سرطان بعد از بیماری‌های قلبی- عروقی دومین عامل مرگ‌ومیر در انسان است[۱]. در این میان سرطان پستان بعد از سرطان پوست رایج‌ترین سرطان در میان زنان است به‌طوری‌که از هر ۳ سرطان تشخیص داده شده در میان زنان آمریکایی یکی از آن‌ها سرطان پستان است[۲].

سرطان یک فرآیند چندمرحله‌ای می‌باشد که شامل تغییرات برگشت‌ناپذیر ژنتیکی در سلول بنیادی[۲] و پس از آن تکثیر کلونال سلول بنیادی‌های مذکور[۳] و در نهایت ایجاد فنوتایپ مهاجم و متاستاز سلول‌های سرطانی[۴] می‌باشد. پیشگیری و یا درمان سرطان می‌بایست در مراحل مختلف فرآیند مذکور با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی صورت پذیرد[۳]. امروزه، درمان‌های متداول سرطان شامل جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی می‌باشد[۴] با اینکه در اغلب سرطان‌ها علت اصلی شکست درمان، متاستاز سلول‌های سرطانی می‌باشد، متأسفانه باید گفت که جراحی و رادیوتراپی تنها در درمان سرطان‌های موضعی کاربرد دارند و در مورد متاستازهای سرطانی کارآیی ندارند. در چنین مواردی روش درمان اغلب بر پایهٔ شیمی‌درمانی استوار است. البته کارآیی این روش هم به‌دلیل آثار جانبی سمی که در دوزهای بالا دارد عملاً محدود می‌باشد. امروزه به‌خوبی معلوم شده است که رادیوتراپی و شیمی‌درمانی حتی بیشتر از خود سرطان باعث تضعیف و از بین بردن سیستم دفاعی بدن می‌شوند[۵] لذا، به‌دلیل آثار جانبی بالای داروهای شیمیایی و کمتر بودن این اثرها در گیاهان دارویی، گرایش محققان به سمت گیاهان دارویی و استفاده از ترکیبات فعال آن در درمان سرطان‌ها افزایش یافته است.

در طی سال‌های اخیر گیاهان متعددی در درمان سرطان مورد بررسی قرار گرفتند و اثرهای آنتی‌اکسیدانی بسیاری از این ترکیبات گیاهی به اثبات رسیده است، از جمله فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، انواع ویتامین‌ها و..... . خربزهٔ درختی نیز ازجمله گیاهان دارویی است که دارای ترکیبات آنتی‌توموری و آنتی‌اکسیدانی مختلفی است. Carica papaya متعلق به خانوادهٔ Caricaceae می‌باشد که چندین عضو از این خانواده به‌عنوان دارو در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شدند. این گیاه، بومی کشور مکزیک می‌باشد ولی در حال حاضر در سراسر مناطق حاره‌ای گسترده شده است. میوهٔ این گیاه هم به‌عنوان غذا و هم شبه دارو مصرف می‌شود. تحقیقات زیادی جهت ارزیابی فعالیت‌های بیولوژیکی بخش‌های مختلف این گیاه از جمله: میوه، جوانه، برگ، پوست، دانه، ریشه و لاتکس صورت گرفته است. برگ‌های این گیاه حاوی ترکیبات فعال زیادی است که قدرت فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بدن را افزایش می‌دهد و باعث کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود از جملهٔ این ترکیبات می‌توان به papain, cyanogenic glucosides, chymopapain,cystatin α –tocopherol, flavonoids, glucosinolates, acid ascorbic, Benzylisothiocyanate lycopen, اشاره کرد. همچنین عصارهٔ برگ این گیاه به‌علت دارا بودن خواص ضدسرطانی توسط ساکنین منطقهٔ Gold Coas استرالیا جهت درمان سرطان استفاده می‌شود و نیز عصارهٔ برگ این گیاه به‌مدت طولانی توسط بومیان جهت درمان اختلالاتی چون سرطان و بیماری‌های عفونی استفاده می‌شده است[۶]. لذا، در این بررسی اثر عصارهٔ ابی برگ گیاه خربزهٔ درختی برروی سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت تا مشخص شود ایا استفاده از عصارهٔ برگ این گیاه به‌صورت تزریق داخل صفاقی نیز می‌تواند اثری در کاهش رشد تومور و تغییر در سطح بیان IFN-γ و IL-4 داشته باشد. زیرا از جمله مهم‌ترین پاسخ‌های مورد نیاز بدن در مقابله با تومور، پاسخ‌های مربوط به لنفوسیت‌های TH1 مثل IFN-γ و لنفوسیت‌های نوع Th2 مثل IL-4 می‌باشد. لنفوسیت‌های نوع Th2 که مهم‌ترین آن‌ها IL-4 می‌باشد ازجمله سایتوکین‌هایی هستند که افزایش سطح بیان آن‌ها می‌تواند باعث افزایش تکثیر سلول‌های توموری و گسترش آن‌ها در بدن شود و سایتوکینی مثل IFN-γ سایتوکین ضد تکثیری مهمی در جلوگیری از تکامل سلول‌های توموری محسوب می‌شود. ازجمله عملکردهای این سایتوکین عبارت‌اند از: تقویت عملکرد عرضه توسط ماکروفاژها و همچنین تقویت عملکرد سلول‌های کشندهٔ طبیعی[۷]، القای اندوسیتوز و فاگوسیتوز، رهاسازی واسطه‌های اکسیژن و TNF-α که

[2]. Initiation phase
[3]. Promotion phase
[4]. Progression phase

Archive of SID

www.SID.ir

نهایتاً سبب تقویت کشتن سلول‌های توموری توسط ماکروفاژها می‌شود[۸].

روش بررسی

عصاره گیری

عصارهٔ برگ گیاه مورد نظر به‌صورت آبی[5] و از روش دم کردن که منطبق با روش سنتی آن است، تهیه گردید. درابتدا، برگ‌ها کاملاً خشک و پودر شدند و به میزان ۳۰ گرم از آن داخل بشر ریخته شد و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید و بعد از مخلوط کردن کامل در ظرف با فویل آلومینیوم پوشش داده شد و داخل بن ماری در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۴ ساعت قرار گرفت و در طی این مدت هر یک ساعت مخلوط به هم زده شد سپس مخلوط حاصل از کاغذ صافی و از فیلتر ضدمیکروبی عبور داده شد. سپس این محلول برای ادامهٔ آزمایش در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری گردید.

تعیین میزان عصاره در محلول

برای پی بردن به اینکه در هنگام تزریق دقیقاً چه دوزی از عصارهٔ داخل حلال استفاده شده‌است، لازم است میزان خالص عصاره در محلول به‌دست آید. بدین منظور تنها بخشی از این محلول برای تهیهٔ عصارهٔ پودرمانند و خشک استفاده شد تا درنهایت بتوان نسبت عصاره را در کل محلول به‌دست آورد.

تعیین درصد آنتی‌اکسیدانی عصاره

جهت تعیین درصد آنتی‌اکسیدانی عصاره، تست DPPH انجام شد. DPPH مخفف ترکیب شیمیایی ارگانیک 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl می‌باشد. به ۲ میلی‌لیتر از محلول DPPH ساخته‌شده مقادیر مختلف عصاره اضافه گردید و برای نمونه بلانک به ۲ میلی‌لیتر از محلول فوق هم‌حجم عصارهٔ آب مقطر اضافه شد. بدین ترتیب ۶ دوز مختلف از عصاره انتخاب گردید و در لوله‌های آزمایش ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH ریخته و عصاره‌ها به آن‌ها اضافه شد و یک لوله هم به‌عنوان بلانک بود که به آن آب مقطر اضافه گردید. سپس لوله‌ها با پارافیلم پوشانده شدند و بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و تاریکی جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر محاسبه شد. سپس با فرمول زیر درصد مهار رادیکال‌های آزاد به‌دست آمد:

$$I\% = [A\ blank - (A\ sample/A\ blank)].\ 100$$

تهیهٔ ردهٔ سلولی 4T1

سلول‌های سرطان پستان با منشأ موش balb/c ردهٔ 4T1 داخل محیط کشت از انستیتو پاستور ایران در تاریخ ۱۳۹۰/۳/۲ تهیه گردید.

گروه‌بندی حیوانات

جهت انجام آزمایش از موش‌های ماده با وزن ۲۳/۹۰-۱۹ گرم استفاده شد. موش‌ها در دمای ۲۴ درجهٔ سانتی‌گراد، نور (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ساعت تاریکی) و رطوبت مناسب با آب و غذای کافی نگهداری شدند. آن‌ها در ۴ گروه ۶تایی دسته‌بندی شدند. گروه اول (گروه مورد آزمایش A) سلول سرطانی و عصاره را به‌طور همزمان به‌مدت ۲۰روز دریافت کردند، گروه دوم (گروه کنترل A) سلول را به‌همراه آب مقطر به‌طور همزمان به‌مدت ۲۰روز دریافت کردند، گروه سوم (گروه مورد آزمایش B) ابتدا سلول سرطانی را دریافت کردند و بعد از نمایان شدن تومور، عصاره را به‌مدت ۱۲ روز دریافت نمودند و گروه چهارم (گروه کنترل B) ابتدا دریافت سلول و بعد از نمایان شدن تومور آب مقطر را به مدت ۱۲ روز دریافت کردند.

القاء سرطان پستان

محل تزریق با پنبه و الکل ضد عفونی شد. در روز صفر تزریق سلول سرطانی به تعداد ۷×۱۰^{۵} به‌صورت زیر جلدی به تمام موش‌ها انجام گرفت. محل تزریق مجاور پایین‌ترین غدهٔ پستانی سمت چپ در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری سایز تومور

جهت بررسی تغییرات در روند رشد و اندازهٔ تومور در طول درمان با عصاره اندازهٔ آن گرفته شد. به‌طوری‌که طول و عرض تومور هر روز از روز پانزدهم تا روز بیستم و نیز بعد از خارج کردن از بدن به‌وسیلهٔ کولیس اندازه‌گیری گردید. اندازهٔ تومور با فرمول زیر به‌دست آمد:

$$\text{اندازهٔ تومور} = \text{عرض}^{۲} \times \text{طول} \times ۰/۵$$

اندازه‌گیری وزن تومور

بعد از کشتن موش‌ها، تومور از بدن آن‌ها خارج و وزن شد.

[5]. Aqueous extract

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه‌گیری سطح اینترلوکین-٤ و اینترفرون گاما در پلاسما

پس از کشتن موش‌ها از آن‌ها نمونهٔ خون تهیه شد و پلاسمای آن جدا گردید. میزان تولید اینترلوکین-۴ و اینترفرون گاما در پلاسما توسط تست الایزا و با کیت موشی Platinum ELISA (eBioscience) اندازه‌گیری شد. نتایج غلظت سایتوکین در پلاسما بر حسب pg/ml بیان شد.

آنالیز آماری داده‌ها

نتایج به‌دست آمده در نمونه‌های مورد مطالعه با یکدیگر و با گروه کنترل مقایسه شد. اطلاعات به‌دست آمده از آزمایش‌ها جمع‌آوری شد و با نرم‌افزار spss مشاهدهٔ آماری داده‌ها مورد تجزیه‌وتحلیل و سطح معنی‌داری داده‌ها با روش one-way ANOVA مورد بررسی قرار گرفت و P<۰/۰۵ معنی‌دار درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعیین درصد آنتی‌اکسیدانی عصاره

هدف از انجام تست DPPH و تعیین درصد آنتی‌اکسیدانی عصاره، به‌دست آوردن دوزی با بالاترین درصد آنتی‌اکسیدانی از میان دوزهای تعیین‌شده می‌باشد. برطبق نتایج به‌دست‌آمده و نشان داده‌شده در جدول ۱، کمترین دوز عصاره (۱۱۶ µ) بالاترین درصد آنتی‌اکسیدانی را نشان داد و به‌ترتیب هرچه دوز عصاره افزایش می‌یافت، درصد انتی اکسیدانی آن نیز کاهش پیدا می‌کرد.

جدول ۱: درصدهای آنتی اکسیدانی عصاره

نمونه ها	مادهٔ مورد نظر	مقادیر	درصد جذب نمونه‌ها	درصد مهار رادیکال‌ها
بلانک	آب مقطر	۳۵۰ µ	۰/۶۶۹	-
اول	عصاره	۱۱۶ µ	۰/۱۳۳	۴۷/۰۱
دوم	عصاره	۲۳۲ µ	۰/۲۲۷	۳۳
سوم	عصاره	۳۴۸ µ	۰/۳۶۰	۱۳/۱
چهارم	عصاره	۴۶۴ µ	۰/۴۴۳	۰/۷
پنجم	عصاره	۵۸۱ µ	۰/۵۳۰	۱۲/۳
ششم	عصاره	۶۹۸ µ	۰/۶۳۰	۲۷/۲

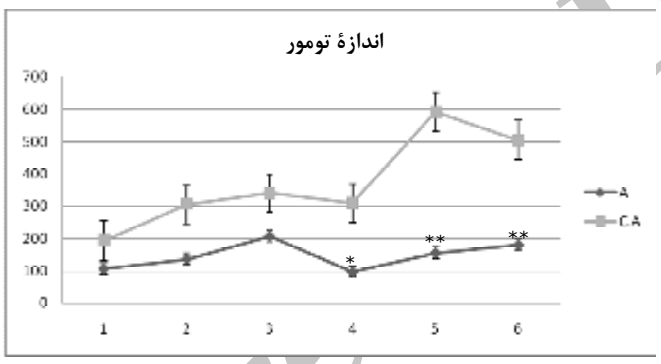
اندازه‌گیری سایز تومور در روزهای پانزدهم تا بیستم

طول و عرض تومور هر روز از روز پانزدهم تا روز بیستم و همچنین بعد از خارج کردن تومور از بدن به‌وسیلهٔ کولیس اندازه‌گیری شد. سپس مقادیر به‌دست‌آمده در فرمول ۰/۵×عرض^{۲}×طول قرار داده شد. میانگین داده‌های به‌دست‌آمده از هر گروه به‌دست‌آمد و براساس آن‌ها نمودار مورد نظر رسم شد. همان‌طورکه درنمودار ۱ مشخص است، تفاوت اندازهٔ تومور درگروه B نسبت به کنترل آن C.B در روز بیستم معنی‌دار شد (P<۰/۰۵)*و همان‌طورکه درنمودار ۲ مشخص است، تفاوت اندازهٔ تومور در گروه A نسبت به گروه کنترل آن C.A در روزهای هجدهم (P<۰/۰۵)*، نوزدهم(P<۰/۰۱)** و بیستم(P<۰/۰۱)** معنی‌دار گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

نمودار۱: اندازهٔ تومور در روزهای پانزدهم تا بیستم: روزهای پانزدهم تا بیستم به‌ترتیب با اعداد ۱ تا ۶ مشخص شده است. اندازهٔ تومور در گروه B (دریافت عصاره به‌مدت ۱۲ روز)نسبت به گروه کنترل آن C.B در طول این مدت مقایسه شد. در روز بیستم اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمار مشاهده شد(P<۰/۰۵)*. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ درنظر گرفته‌شد.



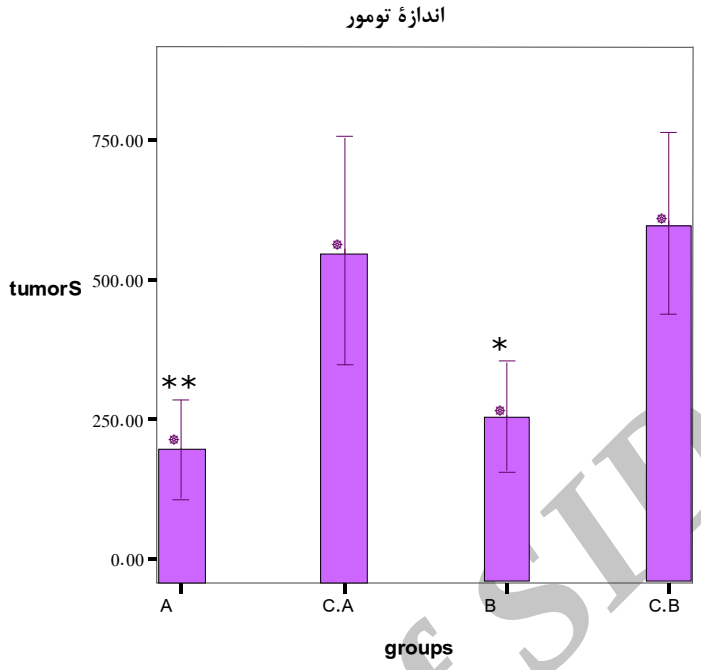
نمودار۲: اندازهٔ تومور در روزهای پانزدهم تا بیستم: روزهای پانزدهم تا بیستم به‌ترتیب با اعداد ۱ تا ۶ مشخص شده است . اندازهٔ تومور در گروه A (دریافت عصاره به مدت ۲۰ روز) نسبت به گروه کنترل آن C.A در طول این مدت مقایسه شد. در روز هجدهم، نوزدهم و بیستم اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمار مشاهده شد (P<۰/۰۱) و (P<۰/۰۵)*. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ درنظر گرفته‌شد.**

اندازهٔ تومور بعد از خارج کردن از بدن

تومورها بعد از خارج کردن از بدن توسط کولیس اندازه‌گیری شدند و مقادیر به‌دست‌آمده در فرمول (۰/۵ × عرض^2 ×طول) قرار داده شد و با به‌دست آوردن میانگین در هر گروه، نمودار آن‌ها رسم گردید. همان‌طورکه در نمودار ۳ مشخص است، اندازهٔ تومور گروه A (دریافت عصاره به مدت ۲۰ روز) نسبت به گروه کنترل آن C.A (دریافت آب مقطر به‌مدت ۲۰ روز) و گروه B (دریافت عصاره به‌مدت ۱۲روز) با گروه کنترل آن C.B (دریافت آب مقطر به‌مدت ۱۲روز) کاهش معنی‌داری نشان داد.(P<۰/۰۱)**

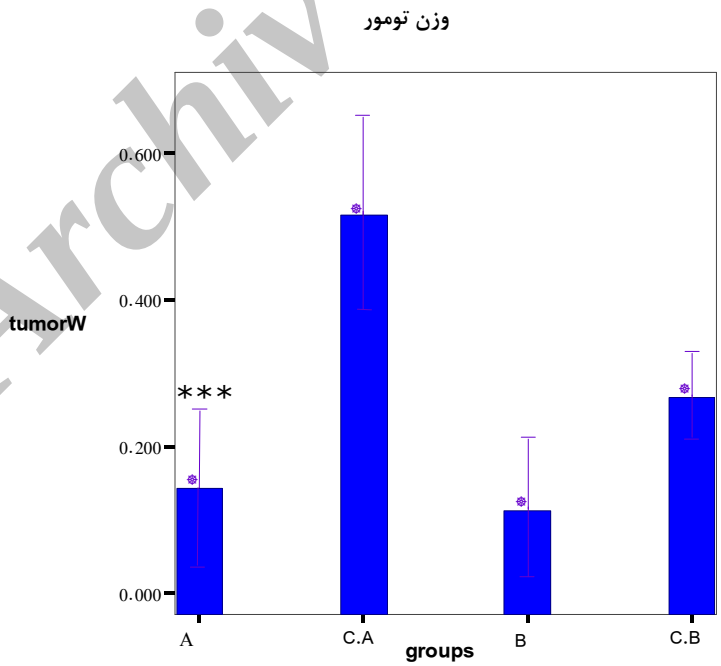
پس از خارج کردن تومور از بدن، وزن آن‌ها توسط ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد. سپس میانگین داده‌های به‌دست آمده از هر گروه به‌دست آمد و نمودار آن رسم شد. همان‌طورکه در نمودار ۴ مشخص است، وزن تومور در گروه B (دریافت عصاره به‌مدت ۱۲روز) با گروه کنترل آن C.B تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اما، گروه A(دریافت عصاره به‌مدت ۲۰روز) نسبت به گروه کنترل آن کاهش معنی‌داری را نشان داد. (P<۰/۰۰۱)***

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار۳: اندازهٔ تومور بعد از خارج کردن از بدن: اندازهٔ تومور گروه A (دریافت عصاره به‌مدت ۲۰روز)نسبت به گروه کنترل آن C.A (دریافت اب مقطر به‌مدت ۲۰روز) کاهش معنی‌داری نشان داد.(P<۰/۰۱)**

اندازهٔ تومور گروه B (دریافت عصاره به‌مدت ۱۲روز)با گروه کنترل آن C.B (دریافت آب‌مقطر به‌مدت ۱۲روز) اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵)* داشت. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



نمودار ۴: اندازهٔ وزن تومور: میانگین وزن تومور در گروه B (دریافت عصاره به‌مدت ۱۲روز) با گروه کنترل آن C.B تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما، گروه A (دریافت عصاره به‌مدت ۲۰ روز) نسبت به گروه کنترل آن کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱)* سطح معنی‌داری P<۰/۰۰۱ در نظر گرفته شد.**

Archive of SID

www.SID.ir

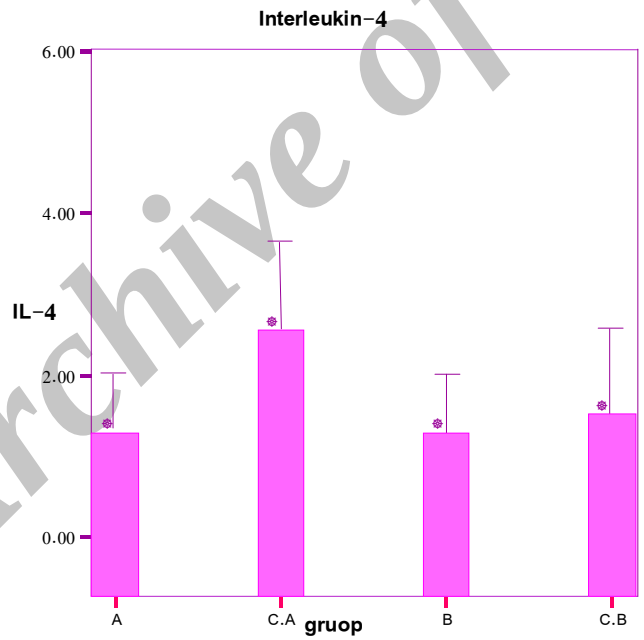
نتیجهٔ اندازه‌گیری سطح اینترلوکین-۴ و اینترفرون گاما در پلاسما

نتایج غلظت سایتوکین در پلاسما بر حسب pg/ml بیان شد. پس از کشتن موش‌ها از آن‌ها نمونهٔ خون تهیه شد و پلاسمای آن جدا گردید. میزان تولید اینترلوکین-۴ و اینترفرون گاما در پلاسما توسط تست الایزا و با روش پروتکل

ضمیمه‌شده اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره با دوز µ ۱۱۶ باعث کاهش سطح بیانIL-4 و افزایش بیان IFN-γ در موش‌های تحت تیمار با عصاره شد به‌طوری‌که سطح IFN-γ در گروه A=۲۱/۰۱±۹/۱

(دریافت‌کنندهٔ عصاره به‌مدت ۲۰روز) و در گروه کنترل آن C.A=۱۴/۵۸±۱/۸ در گروه B =۱۴/۱۶±۱/۳ (دریافت-کنندهٔ عصاره به‌مدت ۱۲روز) و در گروه C.B=۱۳/۲۰±۲/۶ گزارش شد. اما، کاهش IL-4 و افزایش IFN-γ براساس آنالیزهای آماری معنی‌دار شناخته نشد. براساس میانگین داده‌های به‌دست‌آمده نمودار آن‌ها رسم گردید(نمودار ۵و۶). میزان IL-4 در پلاسمای گروه A (دریافت‌کنندهٔ عصاره به‌مدت ۲۰روز) نسبت به گروه کنترل آن C.A و گروه B (دریافت کنندهٔ عصاره

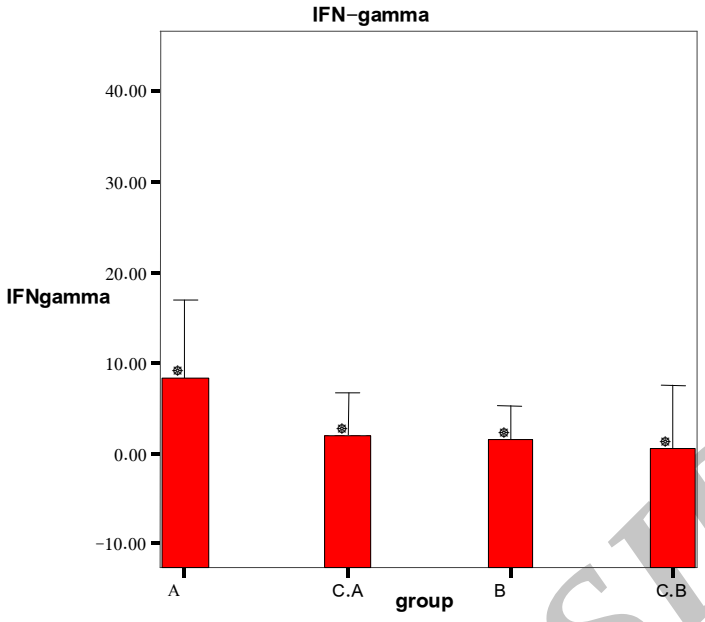
به‌مدت ۱۲روز) نسبت به گروه کنترل آن C.B تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. سطح معنی‌داری (P< ۰/۰۵) در نظر گرفته شد.



نمودار۵: سطح اینترلوکین-۴ در پلاسما: میزان IL-4 در پلاسمای گروه A(دریافت کنندهٔ عصاره به‌مدت ۲۰روز) نسبت به گروه کنترل آن C.A و گروه B (دریافت‌کنندهٔ عصاره به‌مدت ۱۲روز) نسبت به گروه کنترل آن C.B تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار۶: سطح اینترفرون گاما در پلاسما: میزان اینترفرون گاما در پلاسمای گروه A (دریافت‌کنندهٔ عصاره به‌مدت ۲۰ روز) نسبت به گروه کنترل آن C.A و گروه B (دریافت‌کنندهٔ عصاره به‌مدت ۱۲روز)نسبت به گروه کنترل آن C.B تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ درنظر گرفته‌شد.

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها است. به‌طوری‌که در ایالت متحده از هر ۹ زن یک نفر در طول زندگی خود به آن مبتلا می‌گردد[۷]. همچنین این بیماری به‌عنوان دومین علت مرگ ناشی از سرطان (۱۶ درصد مرگ‌ومیرها) در خانم‌ها می‌باشد[۸] لذا، تشخیص زود و به‌موقع این بیماری و پیدایش راه‌های جدید درمانی می‌تواند کمک مؤثری در بهبود کیفیت زندگی این افراد باشد[۹و۱۰] بسیاری از مطالعات صورت‌گرفته بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان حاکی از کاهش پاسخ‌های ایمنی، عملکرد سایتولیتیک، کاهش تکثیر در سلول‌های ایمنی و درنتیجه کاهش سایتوکین‌ها در اثر ابتلا به این سرطان می‌باشد که در حقیقت بیانگر یک وضعیت ایمونوساپرشن می‌باشد[۱۱]. بنابراین در چنین شرایطی استفاده از عوامل تقویت‌کنندهٔ سیستم ایمنی و درمان‌های مکمل می‌تواند مؤثر باشد. عصارهٔ آبی برگ خربزهٔ درختی ازجمله مکمل‌های دارویی است که می‌تواند با مکانیسم‌های متعدد در درمان سرطان مؤثر باشد. این گیاه دارای اثرهای ضدالتهابی[۱۲]، تنظیم‌کنندهٔ سیستم ایمنی[۶]، ضدتکثیری[۱۳] آنتی‌توموری [۶] و آنتی‌اکسیدانی[۱۵و۱۴] می‌باشد.

باتوجه به تحقیقاتی که توسط Otsuki و همکارانش برروی اثرهای آنتی‌توموری و ایمونومودولاتوری عصارهٔ آبی برگ این گیاه برروی لاین‌های سرطانی مختلف از جمله سرطان پستان انسان (MCF-7) به‌صورت in vitro صورت گرفت، نشان دادند ۲۴ ساعت بعد از افزودن عصاره، تولید برخی سایتوکین‌های نوع Th2 ازجمله IL-4وIL-2در کشت، کاهش یافت. اما، دیگر انواع سایتوکاین Th1 که با ایمنی آنتی‌توموری مرتبط بودند مثل IL-12P40,IL-12P70, IFN-γ , TNF-α به‌طور قابل توجهی افزایش یافته بودند. همچنین مشخص شد که با فعالیت caspase3/7 (درتحریک اپوپتوزیس سلول نقش دارند) ۲۴ساعت بعد از درمان، سلول‌های سرطانی با عصارهٔ خربزهٔ درختی تحریک شده بودند و نیز عصارهٔ پاپایا تنظیم افزایشی بیان ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ ایمنی (ccl2,ccl7,ccl8,SERPINB2) را نشان داد. با این نتایج اثرهای آنتی‌توموری و ایمونومودولاتوری عصارهٔ آبی برگ خربزهٔ درختی به اثبات رسید[۶].

باتوجه به این مطالعات می‌توان گفت سایتوکین‌های القایی توسط این گیاه، دارای نقش عمده‌ای در القاء خواص تنظیم‌کنندگی برروی سیستم ایمنی هستند. بر طبق نتایج به‌دست‌آمده از مطالعهٔ حاضر در کاهش رشد تومور و باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده توسط Otsuki از

Archive of SID

www.SID.ir

اثرهای عصارهٔ آبی برگ این گیاه برروی سیستم ایمنی و با توجه به نوع پاسخ مورد نیاز بدن در مقابله با تومور که درواقع پاسخ‌های مربوط به لنفوسیت‌های Th1 مثل IFN-γ، سلول‌های T سیتوتوکسیک و دیگر مکانیسم‌های سایتولیز سلول‌های توموری از جمله فعالیت سلول‌های NK می‌باشد و با توجه به اثرهایی که عصارهٔ آبی برگ این گیاه برروی کاهش لنفوسیت‌های نوع Th2 مثل IL-4 و افزایش لنفوسیت‌های نوع Th1 مثل IFN-γ دارد، می‌توان این برداشت را از اثر این گیاه برکارآمدی بیشتر پاسخ‌های ایمنی و وضعیت دفاعی بدن در مقابل تومور داشت. در مطالعاتی که به‌صورت in vitro اثر عصارهٔ برگ این گیاه را برروی سلول‌های توموری بررسی کردند، کاهش یا مهار رشد سلول‌های توموری مشاهده شد. در تنها مطالعه‌ای که برروی این گیاه در مدل موشی انجام گرفت، ما کاهش معنی‌داری را در روند رشد تومور و کاهش در وزن تومور در طول درمان با عصاره مشاهده کردیم. به‌طوری‌که این اثرها در گروهی که عصاره را همزمان با سلول سرطانی دریافت نموده بودند (گروهA)، بیشتر و بارزتر از گروهی بود که عصاره را بعد از ظاهرشدن تومور دریافت نموده بودند (گروهB). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت این عصاره اثر مثبتی در بهبود وضعیت موش‌های مبتلا به سرطان پستان و کاهش در اندازه و وزن تومور داشته است. با توجه به این موضوع انجام مطالعات بیشتر و بررسی‌های دیگر در جهت شناخت مکانیسم‌های دقیق‌تر این اثرها ضروری به‌نظر می‌رسد.

References

1. Lane WI, Comac L. Sharks don't get Cancer. Avery publishing Group Inc. New York, USA. 1992.
2. Breast Cancer Facts & Figures. American Cancer Society, Inc. 2003-2004.
3. Trosko JE. Chang CC. Mechanism of up-regulation gap junctional intercellular communication during chemoprevention and chemotherapy of cancer. Mutat. Res 2001; 480-1.
4. Devita VT. Biologic therapy of cancer. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, USA. 1995.
5. Smith JE, Rowan NJ, Salivan R. Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. 2000.
6. Otsuki N, Dang NH, Kumagai E, Kondo A, Iwata S, Morimoto C. Aqueous extract of Carica papaya leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. Journal of Ethnopharmacology 2010; 127: 760-7.
7. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. Annu Rev Immunol 1999; 17: 189-220.
8. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Conffman RL. Two types of murine helper T cell clone.I. definition according to profiles of lymphokines activities and secreted proteins J Immunol 1998; 136: 2348-57.
9. Cotran R, Kumar S, Collins V, Robbins T. Pathologic Basis of Disease, 6th ed., W. B. Saunders Company, Philadalphia 1999; 1104-301.
10. Damjanove I, Linder J. Anderson Pathology, 10th ed., Mosby, New York 1996; 2365.
11. Harirchi I, Karbaksh M, Kashefi A, Momtahen AJ. Breast cancer in Iran: results of a multi-center study.Asian Pac J Cancer Perv 2004; 5(1): 24-7.
12. Yassaee VR, Zeinali S, Harirchi I, Jarvandi S, Mohagheghi MA, Hornby D, Dalton A. Novel motation in the BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian women with early-onset breast cancer. Breast Cancer Res 2002; 4: R6.
13. Marrogi AJ, Munshi A, Merogi AJ. Study of tumor infiltrating lymphocytes and transforming growth factor-beta as prognostic factors in breast carcinoma. Int J Cancer 1997; 74(5): 492-501.
14. Gupta OP, Sing S, Bani S, Sharma N, Malhotra S, Gupta BD, Banerjee SK, Handa

Archive of SID

www.SID.ir

SS. Anti-Inflammatory and anti-arthritic activities of silymarin acting through inhibition of 5-lipoxygenase. PubMed journal 2000; 7(1): 21-4.

15. Garcia-Solis P, Yahia EM, Morales-Tlalpan V, Diaz-Munoz M. Screening of antiproliferative effect of aqueous extracts of plant foods consumed in Mexico on the breast cancer cell line MCF-7. PubMed journal 2009; 26: 1-15.

16. Aruoma OI, Colognato R, Fontana I, Gartlon J, Migliore L, Koike K, Coecke S, Lamy E, Mersch-Sundermann V, Laurenza I, Benzi L, Yoshino F, Kobayashi K, Lee MC. Molecular effects of fermented papaya preparation on oxidative damage, MAP Kinase activation and modulation of the benzo[a]pyrene mediated enotoxicity.PubMed journal 2006; 26(2): 147-59.

17. Shivananda N, Pereina P. Lexley P, Dale M. Wound healing activity of Carica papaya L. in experimentally induced diabetic rats. Indian journal of experimental biology 2007; 45: 739-43.

Archive of SID

www.SID.ir