Archive of SID

دانشور
پزشکی

تأثیر عصاره گیاهی SIM5 بر رده‌های سلولی لنفوم و سلول‌های منونوکلئر خون

نویسندگان: دکتر رویا یارایی*[1]، دکتر طوبی غضنفری[2]، دکتر جلال‌الدین شمس[1]، مهدیه اسمعیلی[3] و داود جمالی[4]

۱. استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد
۲. دانشیار گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد
۳. دانش آموخته دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد
۴. کارشناس گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد

* نویسنده مسئول: Email: yaraee@shahed.ac.ir

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال پانزدهم – شماره ۷۳
اسفند ۱۳۸۶

وصول: ۸۵/۴/۲۷
ارسال اصلاحات: ۸۵/۹/۲۷
دریافت اصلاحات: ۸۶/۱۱/۱
پذیرش: ۸۶/۴/۱۰

چکیده

مقدمه: تحقیقات گسترده‌ای در جهان به منظور یافتن داروهای ضد سرطانی که عوارض جانبی کم‌تری داشته، به‌طور اختصاصی سلول‌های توموری را تحت تأثیر قرار دهند، در حال انجام است. یکی از منابع مهم برای یافتن چنین داروهایی می‌تواند ترکیبات موجود در طبیعت، به‌ویژه در گیاهان دارویی باشد.

روش: در این مطالعه، یک فرآورده گیاهی به‌نام SIM5 در غلظت‌های مختلف و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با سلول‌های منونوکلئر خون و با دو رده سلولی لنفوم انسانی به نام‌های راجی (Raji) و جورکت (Jurkat) مجاور شده و تأثیر سایتوتوکسیک آن با تست رنگ‌سنجی (MTT) مورد بررسی قرار گرفته است.

نتایج: نتایج به دست آمده حاکی از این است که در زمان ۲۴ ساعت، دوزهای ۱–۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت، تمام دوزهای به کار رفته SIM5 (از ۰/۰۱ تا ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) برای رده سلولی راجی و دوزهای ۱–۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در هر سه زمان برای رده سلولی جورکت توکسیک بوده، موجب مرگ سلول‌ها می‌شوند. این در حالی است که هیچ‌کدام از دوزهای فوق در ۲۴ ساعت اثر توکسیک بر لنفوسیت‌های نرمال انسان ندارند و در ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت نیز فقط بالاترین دوز، یعنی ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، موجب کاهش نسبی فعالیت سلول‌های نرمال می‌گردد و در دوزهای کم‌تر از ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، اثر توکسیک مشاهده نمی‌شود.

نتیجه‌گیری: هر چند این عصاره گیاهی، گزینه مناسبی به عنوان داروی ضد توموری در لنفوم‌ها به نظر می‌رسد ولی جهت کاربرد آن در شرایط داخل بدن (in vivo)، بررسی‌های بیش‌تری لازم است تا مکانیسم اثر دقیق، دوز مناسب در انواع لنفوم‌ها، و سایر عوارض احتمالی مشخص شود.

واژه‌های کلیدی: لنفوم، SIM5، سمیت سلولی (سایتوتوکسیسیته)، سلول‌های مونونوکلئر خون، رده سلولی جورکت، رده سلولی راجی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در بین انواع سرطان، لوسمی‌ها و لنفوم‌ها با شیوع جهانی ۵-۳ درصد در جامعه انسانی از اهمیت بالایی برخوردارند[۱]. تحقیقات گسترده‌ای در جهان به منظور یافتن داروهای ضد سرطانی که عوارض جانبی کم‌تری داشته و به‌طور اختصاصی سلول‌های توموری را تحت تأثیر قرار دهند، در حال انجام است و استفاده از رده‌های سلولی لوسمی و لنفوم در این تحقیقات کاربرد فراوان دارد[۲]. از آن‌جا که داروهای رایج برای شیمی‌درمانی، عوارض جانبی زیادی داشته، معمولاً سرکوبگر ایمنی نیز هستند[۳و۴] مشکلاتی برای بیماران ایجاد می‌کنند. در صورتی که داروی مناسب با خاصیت توکسیک برای سلول‌های سرطانی و غیرتوکسیک برای سایر سلول‌های طبیعی یافت شود گام مهمی در درمان این بیماری برداشته شده است. یکی از منابع مهم برای یافتن چنین داروهایی می‌تواند ترکیبات موجود در طبیعت، به‌ویژه در گیاهان دارویی باشد که با مطالعه متون قدیمی و نیز غربالگری این گیاهان می‌توان به آن‌ها دست یافت[۵و۶]. توجه به این نکته نیز لازم است که هرچند غیرسمی بودن گیاهان دارویی خوراکی در طول تاریخ زندگی بشر تأیید شده، ولی این جستجو و غربالگری به گیاهان خوراکی محدود نمی‌شود. تحقیقات گسترده‌ای در جهان به منظور یافتن داروهای ضد سرطانی که عوارض جانبی کم‌تر داشته و به‌طور اختصاصی سلول‌های توموری را تحت تأثیر قرار دهند، در حال انجام است. در این مطالعه، SIM5 که فرآورده‌ای مستخرج از گیاهان دارویی است (مشخصات این فرآورده گیاهی در معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد موجود است) در گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد از نظر تأثیر بر دو نوع سلول سرطانی رده لنفوبید مورد بررسی قرار گرفته است؛ به این ترتیب که تأثیر غلظت‌های مختلف SIM5 در زمان‌های متفاوت بر رده سلولی لنفوبلاستوبید راجی (Raji) و جورکت (Jurkat) اندازه‌گیری شده و اثر توکسیک آن بر این سلول‌ها با سلول‌های منونوکلئر خون انسان مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها

برای تهیه دارو، مقدار ۰/۱ گرم از پودر SIM5 توزین شد و در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI (بهارافشان) حل گردید. سپس با فیلتر ۰/۰۲ میکرومتر استریل شد و در حجم‌های کم تقسیم شده، در فریزر $-70^{\circ}C$ قرار گرفت. در زمان انجام تست، هر بار یک ویال خارج و رقت‌های مورد نیاز از آن در محیط کشت RPMI حاوی ۱۰٪ FCS (Gibco) تهیه می‌شد.

رده‌های سلولی لنفوم انسانی راجی (Raji) و جورکت (Jurkat) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید و در محیط کشت RPMI با ۱۰ درصد سرم (FCS) نگهداری و تکثیر شد. سلول‌ها در مرحله ایستای رشد برای انجام تست جمع‌آوری و بعد از شمارش با تریپان‌بلو (Gibco)، در چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه تقسیم شدند. تعداد 2×10^{5} سلول در حجم ۱۰۰ میکرولیتر در هر چاهک قرار داده شد. سلول‌ها به ۷ گروه تقسیم شدند که هر گروه متشکل از ۵ چاهک بود. به گروه کنترل ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و به سایر سلول‌ها، محیط کشت حاوی SIM5 اضافه شد؛ به شکلی که غلظت نهایی SIM5 در هر یک از گروه‌ها (در حجم نهایی ۲۰۰ میکرولیتر برای هر چاهک) به ترتیب ۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باشد. برای اندازه‌گیری تأثیر SIM5 در زمان‌های مختلف، سه پلیت به موازات هم تهیه شد و به تفکیک بعد از ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های منونوکلئر خون محیطی با استفاده از فایکول (بهار افشان) جدا شدند و بعد از سه بار شستشو با محیط کشت و شمارش با تریپان بلو در شرایط کاملاً مشابه رده سلولی مورد آزمایش قرار گرفتند.

انجام تست MTT: بعد از گذشت زمان مورد نظر (۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت) یک پلیت از انکوباتور خارج شد و به اندازه یک دهم حجم محیط هر چاهک (۲۰ میکرولیتر) از محلول MTT یا ۳- (۴و۵ دی‌متیل ۱-۲ تیازولیل) ۲ و ۵ دی‌فنیل -۲ H - تترازولیوم بromید (Sigma) با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به آن اضافه گردید تا در صورت زنده بودن و تکثیر سلول‌ها و متناسب با فعالیت حیاتی آن‌ها، کریستال‌های تیره رنگ فورمازان تشکیل شود. پلیت‌ها مجدد به مدت ۴ ساعت

www.SID.ir

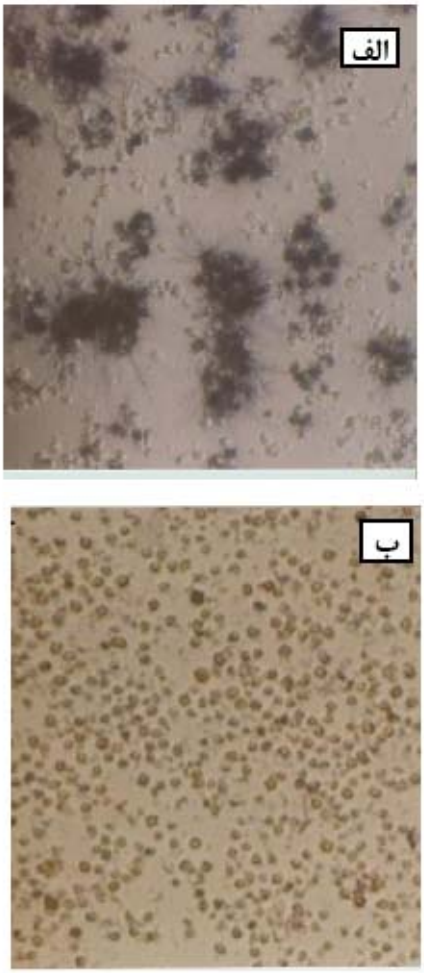
Archive of SID

در انکوباتور قرار گرفتند. سپس با سانتریفوژ ویژه میکروپلیت در دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول رویی، جمع‌آوری و دور ریخته شد و محلول ایزوپروپانل (Merk) اسیدی (۰/۰۴ نرمال با استفاده از اسیدکلریدریک) اضافه گردید. بعد از حل شدن کریستال‌ها، پلیت‌ها در الایزاریدر با طول موج ۴۹۲ نانومتر خوانده شدند و میزان جذب هر چاهک تعیین شد. میانگین و انحراف معیار برای هر گروه محاسبه گردید و نسبت جذب هر گروه به کنترل محاسبه و با استفاده از آزمون تی استیودنت (T-test) معنادار بودن اختلافات با $p<0/05$ تعیین شد. تمام آزمایش‌ها حداقل سه بار تکرار شدند.

نتایج

در تصویر مقابل (شکل ۱-الف) سلول‌های راجی بعد از اضافه کردن رنگ MTT و تشکیل بلورهای فورمازان در گروه کنترل (بدون دارو) بعد از گذشت ۲۴ ساعت دیده می‌شوند و تصویر سمت چپ (شکل ۱-ب)، سلول‌ها را در گروه دارو (SIM5 با دوز ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بعد از گذشت ۲۴ ساعت و اضافه کردن رنگ MTT نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود فعالیت حیاتی سلول‌های سرطانی که با توانایی آن‌ها برای احیای رنگ در تست MTT مشخص می‌شود، در حضور SIM5 به طور فاحش مختل شده است و این سلول‌ها توانایی احیای رنگ و تبدیل آن به کریستال‌های بنفش را ندارند.

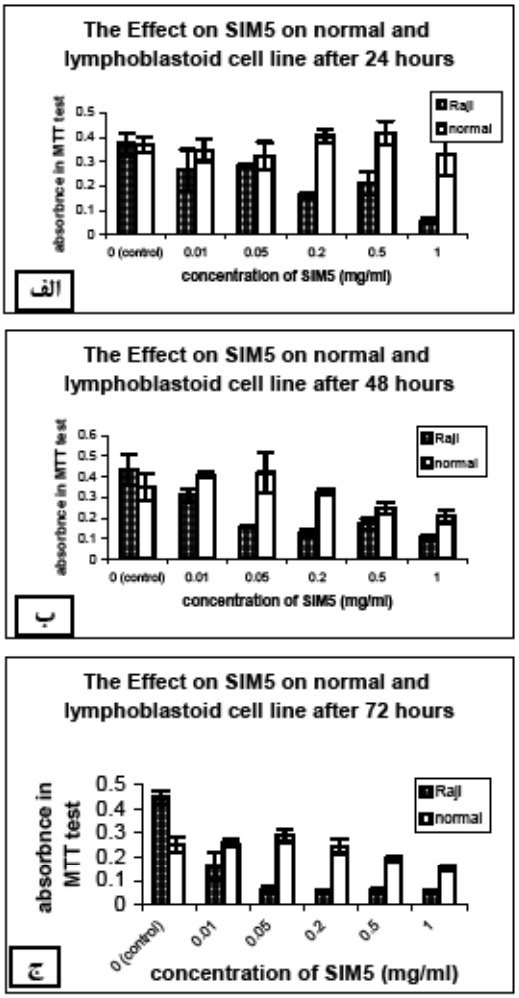
شکل ۲-الف، تأثیر دوزهای مختلف SIM5 را بر رده سلولی لنفوبلاستوئید راجی در مقایسه با سلول‌های منونوکلئر نرمال در زمان ۲۴ ساعت نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود SIM5 در هیچ‌یک از غلظت‌ها، اثر توکسیک بر سلول‌های نرمال نداشته است، ولی برای سلول‌های سرطانی در همه دوزهای بالاتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر موجب کاهش فعالیت جدی شده است. این کاهش در دوز ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، بالاتر از ۸۴ درصد (کاملاً کشنده) و در دوزهای ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، حدود ۵۰ درصد و در دوز ۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نزدیک ۲۵ درصد است؛ یعنی در شرایطی که اثر SIM5 بر سلول‌های سرطانی باعث شده تا فعالیت آن‌ها به کم‌تر از ۱۶ درصد سلول‌های سرطانی کنترل (بدون دارو) برسد، تأثیر معناداری بر سلول‌های منونوکلئر نرمال مشاهده نمی‌شود. اگر فعالیت سلول‌های سرطانی را با سلول نرمال با تعداد و شرایط مشابه مقایسه کنیم در دوز ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، فعالیت سلول سرطانی ۱۷ درصد سلول نرمال است.



شکل ۱ سلول‌های راجی در زمان ۲۴ ساعت و بعد از اضافه کردن رنگ MTT در گروه کنترل بدون دارو (الف) و در گروه مجاور شده با SIM5 با دوز ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (ب). تشکیل بلورهای فورمازان که نشان‌دهنده فعال و زنده بودن سلول‌ها است در تصویر الف به‌خوبی دیده می‌شود و فعالیت حیاتی سلول‌های سرطانی در حضور SIM5 به‌طور فاحش مختل شده است (ب). تعداد سلول‌ها در هر چاهک ۲×۱۰^{۵} است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲-الف، تأثیر دوزهای مختلف SIM5 بر رده سلولی لنفوبلاستویید راجی در مقایسه با سلول‌های منونوکلئر نرمال در بعد از گذشت زمان ۲۴ ساعت (الف)، ۴۸ ساعت (ب) و ۷۲ ساعت (ج). سنجش فعالیت سلول‌ها بعد از گذشت زمان فوق با تست MTT انجام شده است و نمودارها، میانگین فعالیت سلول‌ها را در این تست نشان می‌دهند. تعداد سلول‌ها در هر چاهک ۲×۱۰^{۵} و هر گروه متشکل از ۵ چاهک است.

نتایج در زمان ۴۸ ساعت نیز تا حدی مشابه است (شکل ۲-ب). تأثیر معنادار SIM5 بر سلول‌های منونوکلئر نرمال فقط در دوز ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشاهده می‌شود؛ به این ترتیب که فعالیت حیاتی آن‌ها حدود ۴۰ درصد کاهش داشته است (نسبت به سلول‌های منونوکلئر بدون دارو). اما در همین زمان، SIM5 برای سلول‌های سرطانی در همه دوزها موجب کاهش فعالیت جدی شده و در دوزهای بالاتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کاملاً کشنده بوده است.

بعد از گذشت ۷۲ ساعت (شکل ۲-ج) می‌توان مشاهده کرد که SIM5 در تمام دوزها برای سلول‌های سرطانی راجی کشنده بوده و حتی پایین‌ترین دوز آن، فعالیت سلول‌ها را به حدود ۳۶ درصد همین سلول‌ها بدون دارو کاهش داده است؛ در حالی‌که برای سلول‌های منونوکلئر نرمال، تأثیر معنادار با $p<۰/۰۵$ باز هم فقط در دوز ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشاهده می‌شود که دوز نسبتاً بالایی است.

قابل توجه است که سلول‌های سرطانی در غیاب SIM5 تکثیر قابل توجهی داشته‌اند و به همین دلیل، بعد از ۷۲ ساعت، فعالیت آن‌ها از سلول‌های نرمال گروه کنترل - که محرک خاصی به آن اضافه نشده- نیز بیش‌تر است. همان‌طور که مشاهده می‌شود دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در هر سه زمان برای سلول‌های سرطانی کاملاً کشنده هستند، در حالی‌که آسیبی به سلول‌های نرمال وارد نکرده‌اند.

جدول ۱ درصد مهار رشد یا سایتوتوکسیسیته سلول‌ها را در حضور مقادیر مختلف SIM5 نشان می‌دهد. این مقادیر بر اساس فرمول زیر محاسبه شده‌اند:

جدول ۱ مقایسه میزان اثر سایتوتوکسیک SIM5 بر رده‌های سلولی راجی، جورکت و لنفوسیت نرمال

غلظت (mg/ml)	درصد مهار رشد رده (راجی)			درصد مهار رشد رده (جورکت)			درصد مهار رشد لنفوسیت نرمال		
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
۱	۸۵±۰/۳	۷۶±۱/۵	۸۸±۲/۹	۷۲/۱±۰/۰۵	۷۶/۶±۰/۰۶	۸۶/۷±۰/۰۴	م. ن.	۴۰±۸/۸	۳۶±۷/۵
۰/۵	۴۴±۹/۸	۶۰±۱/۳	۸۷±۵/۴	۷۹/۸±۰/۰۱	۷۱/۵±۰/۰۳	۸۶/۱±۰/۰۳	م. ن.	م. ن.	م. ن.
۰/۲	۵۷±۲/۱	۷۰±۱/۳	۸۸±۴/۳	۵۲/۶۷±۰/۴	۵۱/۲۹±۰/۰۸	۵۴/۷۲±۰/۰۹	م. ن.	م. ن.	م. ن.
۰/۰۵	۲۴±۱/۵	۶۳±۲/۹	۸۶±۱/۳	م. ن.	م. ن.	م. ن.	م. ن.	م. ن.	م. ن.
۰/۰۱	م. ن.	۳۷±۹/۷	۶۴±۷/۵	م. ن.	م. ن.	م. ن.	م. ن.	م. ن.	م. ن.

محاسبات فوق بر مبنای تست MTT انجام شده و به صورت میانگین همراه با انحراف معیار (SD) ارائه شده‌اند.
م.ن. به این معنا است که اختلاف از نظر آماری معنادار نبود.

www.SID.ir

Archive of SID

= درصد سایتوتوکسیسیته

۱۰۰ × (جذب کنترل/ جذب تست) − ۱

همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود SIM5 بر رده سلولی جورکت -که لنفوم با منشأ سلول T است - نیز اثر توکسیک قابل توجهی دارد و در دوزهای ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌تواند حتی در ۲۴ ساعت موجب مهار رشد این سلول‌ها تا بیش از ۷۰ درصد گردد. این اثر در ۴۸ و ۷۲ ساعت نیز در دوزهای فوق دیده می‌شود که مهار رشد به بالاتر از ۸۶ درصد رسیده است.

با رسم نمودار سایتوتوکسیسیته در مقابل غلظت می‌توان غلظت ایجادکننده IC_{50} را در فواصل زمانی مختلف برای سلول‌ها محاسبه کرد (جدول ۲). این مقدار برای سلول راجی در ۲۴ ساعت ۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، در ۴۸ ساعت ۰/۰۲۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در ۷۲ ساعت کم‌تر از ۰/۰۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. IC_{50} این دارو برای سلول‌های جورکت حدود ۰/۱۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده، در هر سه زمان تقریباً مشابه است. در مورد لنفوسیت نرمال، با توجه به این‌که در هیچ مورد سایتوتوکسیسیته ۵۰ درصد نیست، اعداد حاصل از محاسبه بسیار بالا هستند (بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و لذا امکان محاسبه دقیق غلظت ایجادکننده IC_{50} در این آزمایش وجود ندارد.

جدول ۲ غلظت ایجادکننده IC_{50} برای سلول‌های راجی و جورکت در زمان‌های مختلف (بر حسب میلی‌گرم‌در میلی‌لیتر)

	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
Raji	۰/۲۵	۰/۰۳۳	۰/۰۳۳
جورکت	۰/۱۳	۰/۱۶	۰/۱۳

محاسبات فوق بر مبنای تست MTT انجام شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان‌ها در دنیای پزشکی امروز، توجه زیادی را به خود معطوف کرده‌اند و تلاش‌های زیادی نیز در جهت حل این مشکل با استفاده از داروهای مستخرج از گیاهان یا سایر منابع طبیعی شده است. از جمله این تلاش‌ها می‌توان به مواردی مثل بررسی اثر ضد سرطانی فلاونوییدهای گیاهی و اثر داروهای گیاهی بومی کشورهای مختلف بر رشد رده سرطانی اشاره کرد [۵و۶]. شاید یکی از علل این توجه گسترده به ترکیبات گیاهی، به‌ویژه گیاهان خوراکی، این باشد که بشر سال‌ها از این مواد برای تغذیه خود استفاده کرده و به بی‌خطر بودن آن‌ها اطمینان دارد، هرچند که مسلماً این تحقیقات صرفاً به گیاهان خوراکی محدود نمی‌شود. از طرف دیگر، طبیعت، منبعی غنی از انواع ترکیبات مفید است که تأثیرات آن‌ها تاکنون شناخته نشده است، ولی مواردی که مورد شناسایی قرار گرفته‌اند، مانند آتروپین، دیگوکسین، ارگوتأمین، هیوسین و موارد زیاد دیگر در نوع خود از جمله داروهای موفق در درمان محسوب می‌شوند[۷].

معمولاً در اولین مرحله از بررسی اثرهای ضد سرطانی بهتر است از رده‌های سلولی در شرایط in vitro استفاده شود تا بتوان اثر غلظت‌های مختلف دارو را در زمان‌های متفاوت به‌خوبی مورد بررسی قرار داد. یکی از روش‌هایی که به خاطر کمّی بودن، سهولت انجام و دقت آن بسیار مورد توجه است تست MTT است [۸و۹] که به‌ویژه در غربالگری گیاهان دارویی اهمیت فراوان دارد.

در مطالعه چیانگ (Chiang) و همکارانش در سال ۲۰۰۴، اثر ۵ داروی گیاهی تایوانی بر رده‌های لوسمی بررسی گردید و مؤثرترین موردی که همزمان اثرهای ضدویروسی داشته باشد، برای مطالعات بعدی انتخاب شد[۱۰]. تسای (Tsai) و همکاران او نیز در سال ۲۰۰۲، اثر ۱۰ داروی گیاهی چینی را بر رده‌های سرطانی مختلف تست کرده‌اند و Saposhnikovae divaricata را که بیش‌ترین اثر مهاری را بر رشد سلول‌های توموری مختلف داشته به‌عنوان مؤثرترین مورد انتخاب کرده‌اند [۱۱]. البته در این مطالعات، تأثیر هم زمان دارو بر سلول‌های نرمال گزارش نشده است. از جمله مطالعات مشابه که در داخل کشور در این زمینه انجام گرفته می‌توان به مطالعه‌ای که توسط عباس آزادمهر و همکارانش در سال ۱۳۸۳ انجام شده اشاره کرد. در این مطالعه، اثر متانولی کتان و سه فراکشن آن از غلظت‌های ۰/۰۱ تا ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رده سلول سرطانی جورکت (سلول سرطانی Pre-T) مورد بررسی قرار گرفته است. این بررسی در محیط in vitro و با تست MTT انجام گرفته و اثرهای سیتوتوکسیک این عصاره بر رده سلول سرطانی فوق مشاهده شده است؛ به‌طوری‌که غلظت ۰/۱ از عصاره دارای ۳۰ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

سیتوتوکسیسیته برای سلول جورکت بوده است [۱۲]. در این تحقیق نیز اشاره‌ای به اثرهای همزمان عصاره بر سلول‌های نرمال نشده و لذا وجود تأثیر مشابه بر سلول‌های غیرسرطانی یا نرمال بر اساس این تحقیق نامعلوم است.

در تحقیق حاضر نیز از کشت سلول و روش MTT برای مقایسه اثر SIM5 بر رده سرطانی و سلول نرمال استفاده شده و همان‌طور که مشاهده شد SIM5 اثرهای توکسیک قابل توجهی بر رده لنفوم داشته‌است؛ در حالی‌که همزمان بر سلول‌های لنفوسیتی نرمال بی‌اثر بوده است. نتایج ما در این مطالعه نشان داد که SIM5 برای سلول‌های رده سرطانی راجی – که یک رده لنفوبلاستوئید لنفوم بورکیت است – در تمام غلظت‌های به کار رفته توکسیک بوده و در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کاملاً کشنده است. میزان توکسیسیته آن برای رده سرطانی جورکت با منشأ سلول T نیز بسیار بالا است. این در حالی است که اثر سمی آن بر سلول‌های منونوکلئر که درصد زیادی از آن‌ها را لنفوسیت‌ها تشکیل می‌دهد بسیار ناچیز است یا اصلاً قابل اندازه‌گیری نیست. اثر SIM5 بر رده سلولی راجی وابسته به دوز و نیز زمان بوده، با افزایش دوز و مدت زمان مجاورت دارو، افزایش می‌یابد، هر چند که تأثیر توکسیک آن بر این رده از زمان ۲۴ ساعت کاملاً مشهود است؛ در حالی‌که بر سلول‌های منونوکلئر در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت، اثر توکسیک معنادار ندارد و فقط بعد از گذشت ۷۲ ساعت مجاورت با SIM5 در دوز ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثر توکسیک مشاهده می‌شود. لذا به نظر می‌رسد اثر توکسیک این فرآورده گیاهی بر رده سرطانی انتخابی بوده، در دوز مناسب بر سلول‌های نرمال بی‌اثر باشد. مقایسه IC_{50} نیز نشان می‌دهد دوز ایجادکننده ۵۰ درصد مرگ و میر در ۲۴ ساعت برای رده جورکت حدود ۰/۱۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای سلول راجی حدود ۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است که البته با گذشت زمان IC_{50} برای رده راجی کاهش زیادی پیدا می‌کند. در همین شرایط عملاً امکان محاسبه IC_{50} برای سلول‌های نرمال به‌دلیل پایین بودن توکسیسیته وجود ندارد.

این یافته‌ها، توانایی بالقوه SIM5 را از نظر توکسیسیته انتخابی سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد؛ ولی جهت مشخص کردن دقیق دوز، مکانیسم اثر، سمیت برای سایر سلول‌ها و کاربرد آن در شرایط in vivo به عنوان داروی ضد توموری، بررسی‌های بیش‌تر لازم است.

منابع

1. Lau C.B.S., Ho C.Y., Kim C.F., Leung K.N., Fung K.P., Tse T.F., Chan H.H.L., Chow M.S.S. Cytotoxic activities of Coriolus versicolor (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. Life Sciences. 2004 (75):797–808.
2. Drexler HG, Minowada J. History and classification of human leukemia-lymphoma cell lines. Leuk Lymphoma. 1998 (3-4):305-16.
3. Herbertson R, Hancock BW. Hodgkin Lymphoma in adolescents. Cancer Treat Rev. 2005 (5):339-60.
4. Vazquez E, Lucaya J, Castellote A, Piqueras J, Sainz P, Olive T, Sanchez-Toledo J, Ortega JJ.Neuroimaging in pediatric leukemia and lymphoma: differential diagnosis. Radiographics. 2002 (6):1411-28.
5. Spiridonov NA, Konovalov DA, Arkhipov VV. Cytotoxicity of some Russian ethnomedicinal plants and plant compounds. Phytother Res. 2005 (5):428-32.
6. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC.The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev. 2000 (4):673-751.

۷. دکتر ژان ولنه. گیاه درمانی. درمان بیماری‌ها توسط گیاهان، ترجمه احمد امامی چاپ اول، ۱۳۸۱، انتشارات راه کمال.

8. Kawada K., Yonei T., Ueoka H., Kiura K., Tabata M., Takigawa N., Harada M., Tanimoto M. Comparison of chemosensitivity tests: clonogenic assay versus MTT assay. Acta Med Okayama 2002 Jun; 56(3):129-34.
9. Weichert H, Blechschmidt I, Schroder S, and Ambrosius H. The MTT-assay as a rapid test for cell proliferation and cell killing: application to human peripheral blood lymphocytes (PBL). Allerg Immunol, 37, 139-44, 1991.
10. Chiang LC, Cheng HY, Chen CC, Lin CC. In vitro anti-leukemic and antiviral activities of traditionally used medicinal plants in Taiwan. Am J Chin Med. 2004; 32(5):695-704.
11. Kuo YC, Lin YL, Huang CP, Shu JW, Tsai WJ. A tumor cell growth inhibitor from Saposhnikovae divaricata. Cancer Invest. 2002; 20 (7-8):955-64.

۱۲. آزادمهر عباس، جاویدنیا کتایون؛ بررسی تأثیر عصاره گیاه کتان و فراکشن‌های آن بر سلول‌های لوسمیک در محیط برون‌تنی؛ هفتمین کنگره ایمونولوژی و آلرژی ایران، اردیبهشت ۱۳۸۳؛ مقاله شماره ۷۵.

www.SID.ir