Archive of SID

Pharmaceutical Sciences, 2010, Vol.16, No 3, 149-156 علوم داروئی، ۱۳۸۹ دوره ۱٦، شماره ۳، ۱۵٦-۱٤۹

بررسی اثرات سایتوتوکسیک وآپوپتوتیک عصاره متانولی گیاه شیر مرغ دیهیمی بر روی رده سلول سرطانی WEHI-164 مدل فیبروسارکوما

مهرنوش سمواتی*[۱و۲]، زهره بابالو[۱و۲]، عباس دل آذر[۱و۳]، بهزاد برادران[۱و۲]، احسان نظیفی[۱]، سید ابوالقاسم محمدی[۱]، علی اکبر موثق پور[۲]

[۱]مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز تبریز، ایران. [۲]دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی، تبریز، ایران.

[۳]دانشکده داروسازی، گروه فارماکوگنوزی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۱۸ ، تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۲٤

Cytotoxic and Apoptotic Effects of *Ornithogalum cuspidatum* Methanolic Extract on WEHI-164 Fibrosarcoma Cancer Cell Line

Samavati M.[1,2 *], Babaloo Z.[1,2], Delazar A.[1,3], Baradaran B.[1,2] , Nazifee E.[1] , Mohammadi A.[1], Movasahgpour A.[2]

Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran[1]. Department of Immunology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran[2]. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Science , Tabriz, Iran [3]

Received: 9 Dec. 2009, Accepted: 14 Jun. 2010

Objectives: *Ornithogalum cuspidatum* is one of the medicinal plants that has been used in Iranian traditional medicine as treatment for respiratory and inflammatory diseaes. Previous studies on other *Ornithogalum* species showed that thay have anti-cancer and cytotoxic activities. However, the exact mechanism has not yet been determind. In present study, the growth inhibitory and apoptotic effects of methanolic extract of *Ornithogalum cuspidatum* (MEOC) on WEHI-164 fibrosarcoma cell line, a type of soft tissue cancer, were evaluated. **Methods:** MTT assay was used for measuring the cytotoxicity and cell viability at 6, 12 and 24 hours and in different concentrations of MEOC. Also, ELISA was used to measure apoptosis after 12 hours in different concentrations of MEOC. **Results:** The results showed that MECO had growth inhibitory and cytotoxic activities on WEHI-164 cell line, in three mentioned times. The MECO changed morphology of WEHI-164 cell lines in to apoptotic cells. **Conclusion:** Increasing extract concentration and time caused decreased in cell viability. MEOC caused induction of apoptosis in WEHI-164 cell line. In general, these effects depends on the concentration of MEOC ($P< 0.01$).

***Key words**: Ornithogalum cuspidatum, Apoptosis,Cytotoxic, WEHI- 164 fibrosarcoma cell line.*

زمینه وهدف: گیاه شیر مرغ دیهیمی، یکی از گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی ایران است. این گیاه به طور گسترده برای درمان بیماریهای تنفسی و التهابی استفاده می شود. مطالعات گذشته بر روی گونه های دیگر این گیاه فعالیت ضد سرطانی و سایتو توکسیک را نشان دادند. اگرچه مکانیسم دقیق آن مشخص نشده است. در مطالعه حاضر، اثر مهارکنندگی رشد و القاء آپوپتوز عصاره متانولی گیاه شیر مرغ دیهیمی بر روی سلولهای سرطانی WEHI-164 مدل فیبروسارکوما، یکی از انواع سرطان های بافت نرم بررسی شد. **روش ها:** آزمایش MTT برای بررسی خاصیت سایتو توکسیسیتی و قابلیت زیست پذیری سلولهای WEHI-164در زمانهای ٦و ۱۲ و ۲٤ ساعت در غلظتهای متفاوت از عصاره متانولی صورت گرفت. روش ELISA برای مطالعه القاء آپوپتوز در طی ۱۲ ساعت در غلظتهای مختلف نیز انجام شد.**یافته ها:** نشان دادند که عصاره متانولی گیاه شیر مرغ دیهیمی توانایی مهار رشد و خاصیت سایتوتوکسیک در سلولهای WEHI-164 را در هر سه زمان ذکر شده را دارد.عصاره متانولی سبب تغییر مورفولوژی سلولها به صورت سلولهای آپوپتوزی می شود. **نتیجه گیری:** افزایش غلظت عصاره و زمان سبب کاهش قابلیت زیست پذیری سلولها می شود. همچنین عصاره متانولی گیاه شیر مرغ دیهیمی سبب القاء آپوپتوز در این رده سلولی گردید. به طور کلی، تمامی این اثرات بستگی به غلظت عصاره متانولی گیاه شیر مرغ دیهیمی دارد ($P< 0.01$).

واژه های کلیدی :گیاه شیر مرغ دیهیمی، آپوپتوز، سایتوتوکسیک ، WEHI-164 رده سلول سرطانی فیبرو سارکوما.

*نویسنده مسئول: مهرنوش سمواتی، کارشناس ارشد ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران .تلفن: ۳۱۱-٤٤۱۱٦٦۳ ۰

**Corresponding author: Mehrnoush Samavati ,MSc, Faculty of Immunology ,Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran .Tel: +98-311-4411663, Mail: samavati.mehr@yahoo.com*

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

بروز سرطان ها به عواملی مانند: سن، زمینه ژنتیکی و جنسیت بستگی دارند. برای تبدیل یک سلول طبیعی به یک سلول سرطانی بروز شش تغییر ضروری می باشد: حضور بیش از حد پیام های رشد، عدم حساسیت به پیا م های مهار کننده رشد ، مقاومت به آپوپتوز، رشد و تکثیر نامحدود ، توانایی رگزایی و تهاجم به بافتها و قدرت متاستاز ، هرکدام از این تغییرات سبب تکثیر و گسترش تومورها می شوند (۱). تومورهای بدخیم بافت نرم سارکوماها یکی از انواع سرطان ها هستند. که حدود ۱ درصد از بدخیمی های انسان و ۲ درصد از عوامل مرگ و میر ناشی از سرطان را شامل می شود. سارکوماها ۵ درصد نئو پلازی ها در افراد بالغ و حدود ۱۰ درصد از تومورهای کودکان را تشکیل می دهند (۲).

تشخیص سارکوماهای بافت نرم بسیار مشکل می باشد، زیرا این تومورها غالباً بدون درد هستند و در بافتهایی مثل : چربی، عضلات، استخوان واعصاب بروز می یابند (۳). فیبروسارکوما یکی از انواع سارکوماهای بافت نرم با منشا سلولهای فیبروبلاستی هستند، این تومورها از لحاظ بافت شناسی دارای استروما فیبروبلاستیک همراه با سلول های آتیپیک اند که تشخیص آنها می تواند با تومورهای دیسموئیدی بافت نرم اشتباه شود. به فیبروماتوزهای عمیق واژه دیسموئید اطلاق می شود (۵، ٤). درمان رایج فیبروسارکوما در بیشتر موارد جراحی وسپس رادیوتراپی و شیمی درمانی می باشد (٦).

یکی از راه های درمان سرطان ها استفاده از ترکیبات شیمیایی که القاء کننده آپوپتوز در سلولهای سرطانی می باشد. وقوع جهش در سلول سبب مقاومت سلول به محرکهای مرگ و آپوپتوز می شود. در واقع بدخیمی یا سرطان افزایش تکثیر سلول یا کاهش مرگ سلول می باشد (۷).

آپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی سلول یک لغت یونانی به معنای افتادن برگ از درخت می باشد، که اولین بار توسط کرر kerr در سال ۱۹۷۱ به کار رفت. آپوپتوز همراه با چروکیدگی سلول، تراکم کروماتینی در کنار غشاء هسته، چروکیدگی غشا سلول و سرانجام قطعه قطعه شدن سلول به اجسام آپوپتوتیک است. آپوپتوز یک فرآیند بسیار تنظیم شده و دقیق بوده که طی آن یک سلول یا گروهی از سلول ها دچار آپوپتوز می شوند و همراه با صرف انرژی و فعال شدن اختصاصی آنزیم های کاسپاز می باشد و سرانجام به دلیل بیان فسفاتیدیل سرین بر روی غشاء سلول سیستم فاگوسیتی با استفاده از گیرنده های ویترونکتین و کربوهیدراتی، سلول آپوپتوزی را شناسایی کرده و آن را فاگوسیت می نماید، در نتیجه هیچ وقت به دنبال آپوپتوز التهاب ایجاد نمی شود (۱۱-۸).

از زمان های قدیم خواص دارویی گیاهان در درمان بیماری های مختلف برای بشر شناخته شده بود. بیشتر ترکیبات ضد سرطانی که تا به امروز برای درمان سرطان ها به کار می روند، از گیاهان به دست آمده اند تحقیقات بسیاری در حال حاضر در این زمینه صورت می گیرد، بیشتر این تحقیقات نشان دادند که مصرف میوه ها و گیاهان بروز سرطان را در انسان کاهش می دهد (۱۲). یکی از گیاهان دارویی گیاه شیرمرغ دیهیمی *Ornithogalum caspidatun* Bert گونه گیاه ایرانی از جنس ارنیتوگالوم *Ornithogalum*، خانواده سوسنی ها Family:liliaceae میباشد.

این گیاه بیش از ۱۵۰ گونه در نواحی آسیایی، اروپایی و آفریقایی دارد این گیاه پیاز دار و به ارتفاع شش الی بیست سانتی متر و با گل آذین دیهیمی به رنگ سفید می باشد (۱۳) .

مطالعات فیتوشیمیایی بر روی پیاز گونه های مختلف گیاه شیرمرغ *O. saundersiae* وجود ترکیبات استروئیدی، گلیکوزیدی، مونوترپن لاکتون و همواریزوفلاونونها را نشان دادند که این ترکیبات شیمیایی دارای خاصیت ضد میکروبی ، سایتوتوکسیک و ضد سرطانی اند (١٦-١٤). شیر مرغ دیهیمی یک گیاه دارویی بومی ایران می باشد که در شمال شرقی ایران می روید. در آذربایجان شرقی اندام هوایی این گیاه به عنوان افزودنی‌های خوراکی و همچنین در طب سنتی بواسطه اثرات ضد تحریکی و تسکین دهندگی آن در حلق و مجاری تنفسی در سرماخوردگی استفاده می شود.

www.SID.ir

Archive of SID

تاکنون هیچ گونه بررسی بر روی خاصیت سایتوتوکسیک و القاء کنندگی آپوپتوز بر روی این گیاه انجام نشده است، بنابراین با توجه به اهمیت این گیاه از لحاظ دارویی و درمان تومورهای بدخیم بافت نرم فیبروسارکوما، بر آن شدیم تا در مطالعه حاضر اثر سایتوتوکسیک و خاصیت القاء کنندگی آپوپتوزی عصاره متانولی گیاه شیر مرغ دیهیمی بر روی سلول های سرطانی WEHI-164 مدلی از فیبروسارکوما، را ارزیابی نمائیم.

۲- مواد و روش ها

۲-۱: گیاه و تهیه عصاره

پیاز گیاه شیرمرغ دیهیمی از مراغه در آذربایجان شرقی در طی ماه های فروردین واردیبهشت جمع آوری شد. ۱۰۰ گرم از پودر پیاز پس از توزین، در داخل کاغذ کارتوش قرار گرفت، پس از آن کاغذ کارتوش وارد دستگاه سوکسله گردید و با اضافه نمودن یک لیتر متانول به داخل دستگاه فرایند استخراج به مدت ٦ ساعت ادامه پیدا کرد. پس از اتمام فرایند عصاره گیری و سرد نمودن سیستم، عصاره متانولی از دستگاه خارج شد و با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور ، در دمای پایین تر از ٤٠ درجه سانتی گراد خشک گردید و تا زمان مصرف در ظروف شیشه ای دربدار در یخچال نگهداری شد. محلول mg/ml ۱۰ از آن در آب مقطر تهیه شد و با استفاده از فیلتر میلی پور 0.02 µm استریل شد و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری گردید (۱۷).

۲-۲: کشت سلول

رده سلولی WEHI-164 از انستیتو پاستور ایران به صورت فلاسک زنده سلول خریداری شد (NCBICode:C200).

برای کشت رده سلول سرطانی از محیط کشت RPMI1640 (Sigma ,Code. No:R6504) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی FBS و آنتی بیوتیک های پنی سیلین Iu/ml ۱۰۰ و استرپتومایسین µg/ml ۱۰۰ در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، محیط مرطوب حاوی ۵ درصد CO_2 کشت داده شد. این رده سلول به صورت تک لایه سلولی چسبنده رشد نموده و برای جدا نمودن آن از ظروف کشت باید از محلول EDTA/ Trypsine ۰/۵ درصد استفاده نمود (۱۸).

۲-۳: تعیین قابلیت زیست پذیری سلول ها MTT Assay

متیل تیازول تترازولیوم زرد رنگ محلول در آب، که به وسیله سیستم سلولی زنده، توسط میتوکندری ها احیاء شده و به فورمازان بنفش رنگ تبدیل شده، که نامحلول در آب می باشد. با این تست به طور غیر مستقیم می توان میزان خاصیت سایتوتوکسیک عصاره را بررسی نمود. سلولها به تعداد ۵۰۰۰ عدد در پلیتهای ۹٦ خانه ای کشت داده شدند و به صورت تریپلیکت در طی زمانهای ٦، ۱۲ و ٢٤ ساعت تحت تیمار با عصاره متانولی در غلظت های: ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ٤۰۰، ٤۵۰، µg/ml ۵۰۰ از عصاره و محلول کنترل PBS قرار گرفتند. سپس محیط کشت حاوی عصاره جمع آوری شد و محیط کشت تازه همراه با ۵۰ میکرولیتر MTT به سلولها اضافه شد و سلول ها در تاریکی به مدت ٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و محیط مرطوب حاوی ۵ درصد CO_2 انکوبه گردیدند. محیط کشت حاوی MTT حذف شده و به آن ۲۰۰ میکرولیتر DMSO و ۲۵ میکرولیتر بافر سورنسن اضافه شد و جذب پلیتها توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید (۱۹).

۲-٤: تست الایزا (Cell Death Detection) ELISA

از این تست برای سنجش میزان القاء آپوپتوز توسط عصاره متانولی بر روی سلولهای سرطانی استفاده شد. ابتدا سلول ها به تعداد ۵۰۰۰ عدد به صورت تریپلیکت در پلیتهای ۹٦ خانه ای کشت داده شدند و در مدت زمان ۱۲ ساعت در مجاورت با عصاره در غلظتهای ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و µg/ml ۳۰۰ و محلول کنترل PBS قرار گرفتند. سپس طبق دستور العمل کیت ELISA (Cell Death Detction Roche,Cat No.11 774 425 001) لیزت سلولها برای مشخص شدن القاء آپوپتوز جمع آوری گردیده و

www.SID.ir

Archive of SID

به میکروپلیت های آماده که حاوی دو نوع مونوکلونال آنتی بادی برعلیه Histon, DNA هستند، افزوده شدند. بعد از انکوباسیون، ۳ بار عمل شستشو انجام داده و سپس سوبسترا اضافه نموده و مقدار جذب در ٤٠٥ nm قرائت گردید (۲۰).

۵-۲: آنالیز آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده ها از ANOV و مقایسه میانگین ها به روش چند دامنه ای دانکن انجام شد و معنی دار بودن آماری $p < ۰/۰۱$ در نظر گرفته شد. کلیه آزمون های آماری با نرم ا فزار آماری SAS Ver .9 صورت گرفت.

۳ - نتایج

بـرای انـدازه گیری اثـر عصاره بـر روی قابلیت زیست پذیری سلولها یا سایتوتوکسیتی، آزمایش MTT انجام شد که در کنترل منفی از PBS به جای عصاره استفاده شد.

۱-۳: نتایج آزمایش MTT در طی ٢٤ ساعت

پس از تیمار سلولها با غلظتهای ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ٤٠٠، ٤٥٠، ۵۰۰µg/ml کنترل PBS از عصاره در طی ٢٤ ساعت، هما نطور که در نمودار ۱ نشان داده شده است: میزان IC_{50} بین ۱۰۰ µg/ml – ۵۰ می باشد(IC_{50} برابر با غلظتی از عصاره است کـه در آن غلظت ۵۰ درصـد سلول هـا زنـده باقـی می مانند). قابلیت زیست پذیری سلول ها در مقدار ۱۰µg/ml از عصاره باعث کاهش ۱۲ درصدی و غلظت µg/ml ۵۰ باعث کاهش قابلیت زیست پذیری سلولها تا ۲۰ درصد، به طوری که از غلظت های µg/ml ٤٠٠-۵۰۰ نزدیک به صفر می باشد با افزایش غلظت عصاره خاصیت سایتوتوکسیک افزایش یافته و به همان نسبت از قابلیت زیست پذیـــری سلـول ها کاستـه شده است.

۲-۳: نتایج آزمایش MTT در طی ۱۲ ساعت

سلولها با غلظتهای ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ٤٠٠، ٤٥٠، µg/ml ۵۰۰ کنترل PBS عصاره در طی ۱۲ ساعت تیمار شدند. با توجه به نمودار ۲ میزان IC50 بین غلظتهای µg/ml ۲۰۰-۱۵۰ می باشد. که با کاهش مدت زمان، میزان IC50 در غلظتهای بیشتر عصاره مشاهده می شود و با افزایش غلظت عصاره خاصیت سایتوتوکسیک افزایش می یابد.

۳-۳: نتایج آزمایش MTT در طی ٦ ساعت

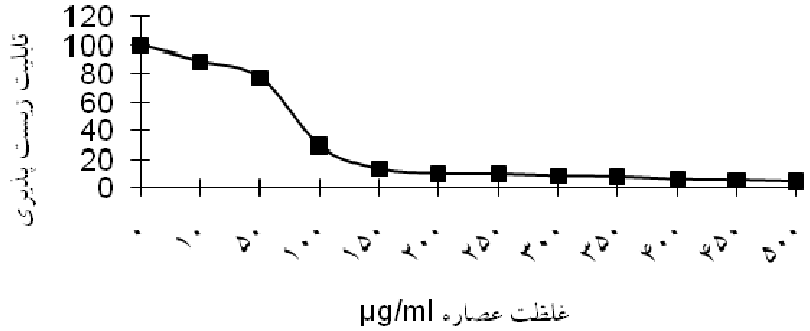
با توجه به نمودار۳ عصاره باعث کاهش میزان قابلیت زیست پذیری سلولها از غلظتهای µg/ml ۲۵۰-۱۰ تا حدود ۲۰ درصد و از غلظتهای µg/ml ۵۰۰-۲۵۰ تا حدود ٤٠ درصد شده است که این کاهش با افزایش غلظت عصاره نسبت مستقیم دارد. بنابراین ٦٠ درصد سلولها زنده هستند. تمام آزمایشات MTT به صورت تریپلیکت انجام شد و $p < ۰/۰۰۰۱$ معنی دار می باشد.

٤-۳: نتایج مربوط به تست الایزا

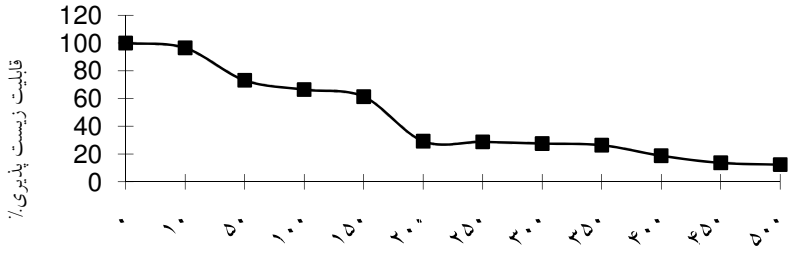
با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایشات MTT و مشخص شدن مقدار IC50 بهترین زمان برای بررسی القا آپوپتوز ۱۲ ساعت و رقت های ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰µg/ml کنترل PBS عصاره در نظر گرفته شـد. شـدت القاء آپوپتوز در غلظت های µg/ml ۲۰۰-۱۵۰ افزایش داشته ، اما همانطور که در نمودار MTT در ۱۲ ساعت نشان داده شده است میـزان قـابلیت زیست پـذیـری سلـــول هـــا در غلظت های µg/ml ۳۰۰-۲۵۰ ثـــابت است بـنابراین مقـــدار شـــدت آپوپتـــوز نیز ثـابت و بـــه میـــزان ۳۸ درصد می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



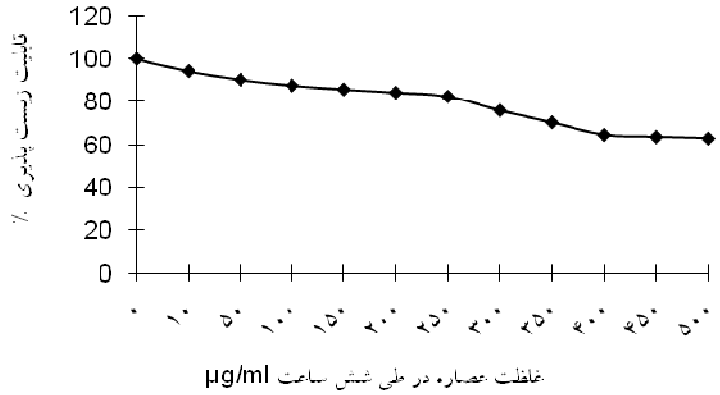
نمودار ۱. قابلیت زیست پذیری سلولهایWEHI-164 تحت تیمار با عصاره متانولی طی ۲٤ ساعت ، میزان IC_{50} بین µg/ml ۱۰۰– ۵۰ بوده و با افزایش غلظت عصاره متانولی از µg/ml ۱۵۰ به بالا قابلیت زیست پذیری سلولها کاهش می یابد.



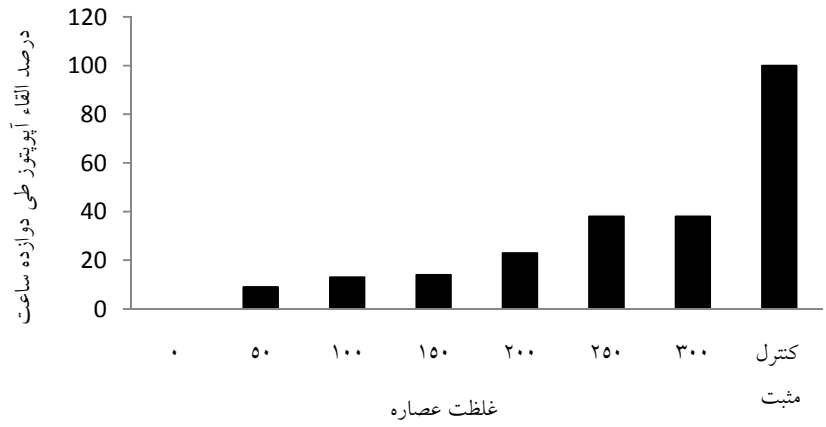
نمودار ۲. قابلیت زیست پذیری سلولهای WEHI-164 تحت تیمار با عصاره متانولی در طی ۱۲ ساعت ، میزان IC50 بین µg/ml ۱۵۰– ۲۰۰ بوده و با افزایش غلظت عصاره متانولی از µg/ml ۳۰۰ – ۲۰۰ قابلیت زیست پذیری سلولها برابر با ۳۰ درصد است و با افزایش غلظت عصاره متانولی ، قابلیت زیست پذیری کاهش یافت.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳. قابلیت زیست پذیری سلولهای WEHI-164 تحت تیمار با عصاره متانولی در طی ٦ ساعت ، کاهش میزان قابلیت زیست پذیری سلولها برابر با ٤٠ درصد بوده ، یعنی ٦٠ درصد سلولها حتی در غلظت µg/ml ۵۰۰ زنده هستند.



نمودار ٤. بررسی آپوپتوزبا انجام الایزا تحت تیمار با عصاره متانولی در طی ۱۲ ساعت ، که درصد القاء اپوپتوز ایجاد شده توسط عصاره متانولی در نمودار نشان داده شده است که تایید کننده نتایج به دست آمده از MTT assay در طی ۱۲ ساعت می باشد.

٤- بحث

از زمان های قدیم خواص دارویی گیاهـان در درمـان بیماری های مختلف، برای بشر شناخته شده بـود. بیشتر ترکیبات ضـد سرطانی که تا به امروز برای درمان سرطان ها به کار می رونـد، از گیاهـان به دست آمده اند. به عنوان مثال: در چین از ریشه و پوست گیاه *Magnolia Officialis* برای درمان ناراحتی های عصبی و گوارشی استفاده می شود. یکی از ترکیبات فنولیک آن به نام هونو کیول Honokiol باعث القاء آپوپتوز و مهار رگزایی در سلول های سرطانی تخمدان، کولون و ریه می شود (۲۱).

تاکسول که از گیاه سرخدار pacific yew به دست می آیـد در درمـان سرطان تخمـدان و پستان به کار

www.SID.ir

Archive of SID

می رود (۲۲). عصاره به دست آمده از گیاه *Ornithogalum Saudersiae* حاوی ترکیبات کلستان (Cholestane) و ساپونینی بوده که خاصیت سایتوتوکسیک و فعالیت بسیار قوی برعلیه سلولهای توموری دارد. ترکیبات ساپونینی جدا شده از این گیاه مثل OSW1 به غشاء میتوکندری در سلولهای لوسمی و سلول های سرطانی پانکراس انسان صدمه زده سبب القاء آپوپتوز می شود (۲۳، ۱۵). گیاه *Ornithogalum Thyrsoides* نیز حاوی ترکیبات مختلف استروئیدی گلیکوزیدی از قبیل کلستان گلیکوزید و استیل کلستان بیس د سموزید می باشد. که خواص سایتوتوکسیک قوی برعلیه سلولهای لوسمی انسان نشان می دهد (۱٤).

یکی از گیاهان که در مورد خاصیت سایتوتوکسیک آن کمتر تحقیق شده است گیاه شیر مرغ دیهیمی ، بومی منطقه ایران است. با توجه به تحقیق و مطالعه فیتوشیمیایی که بر روی این گیاه در مرکز تحقیقات کاربردی دارویی تبریز انجام شده، وجود تر کیبات استروئیدی، گلیکوزیدی، مونوترپن لاکتون و همواپزوفلاونونها را نشان داده است.

بر این اساس برای اولین بار اثر عصاره گیاه شیر مرغ دیهیمی را بر روی سرطان بافت نرم فیبروسارکوما بررسی نمودیم. فیبروسارکوما یک بدخیمی با منشاء فیبروبلاستی بوده که این ضایعات بدخیم می توانند در هر بافتی رشد کنند اما بیشتر در بافت عضلانی ، بافت الاستین، چربی و اعصاب رشد نموده و علائم ایجاد شده ، بستگی به ناحیه درگیر دارد. فیبروسارکوما یکی از انواع سارکوماهای بافت نرم می باشد (۲٤). گزارش های مختلف بروز این ضایعات را در بچه ها و نوزادان نشان دادند (۲۵).

نتایج این مطالعه نشان داد که در طی ۱۲و۲٤ ساعت میزان IC_{50}بین ۱۰۰ µg/ml –۵۰و بین غلظتهای ۲۰۰–۱۵۰ µg/ml قرار دارند. در طی زمان ٦ ساعت مجاورت با عصاره سلولها در ۱۰ µg/ml کاهش ٤ درصدی و از غلظتهای ۲۵۰ µg/ml –۵۰ قابلیت زیست سلول ها به صورت نزولی تا ۲۰ درصد کاهش یافته و به ترتیب با افزایش غلظت عصاره تا حدود ٤۰ درصد کاهش می یابد (یعنی ٦۰ درصد سلول ها زنده هستند).

در نتیجه تیمار سلول ها در طی ٦ ساعت نشان می دهد که عصاره خاصیت سایتوتوکسیک دارد. نتایج به دست آمده که سطح معنی دار بودن آن برابر با $p<۰/۰۰۰۱$ است، نشان می دهند اثر سایتوتوکسیک عصاره با افزایش زمان و افزایش غلظت افزایش می یابد، حتی در ٦ ساعت نیز این خاصیت مشاهده می شود. بهترین زمان اثر عصاره بر روی سلول ها ۲٤ ساعت می باشد، اما به دلیل بررسی خاصیت القاء کنندگی آپوپتوز عصاره متانولی بهترین زمان ۱۲ ساعت بوده و غلظت های کمتر و بیشتر مقدار IC_{50} در نظر گرفته شدند. شدت القاء آپوپتوز در غلظت های ۲۰۰µg/ml–۱۵۰ به ترتیب برابر با ۲۳–۱٤ درصد می باشد. با افزایش غلظت ۳۰۰µg/ml –۲۵۰ شدت آپوپتوز ثابت بوده و برابر با ۳۸ درصد می باشد، که با نتیجه به دست آمده از تست MTT در طی ۱۲ ساعت مطابقت می کند. سطح معنی دار بودن این آزمایش نیز برابر با $p<۰/۰۰۰۱$ است. بنابراین با افزایش غلظت عصاره شدت آپوپتوز افزایش می یابد و به طور کلی ا ثر عصاره بستگی به غلظت دارد.

۵– نتیجه گیری

اثر سایتوتکسیک عصاره بر روی رده سلول سرطانی WEHI-164 بستگی به زمان و غلظت دارد، که با افزایش غلظت و افزایش زمان این اثر شدیدتر می باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه پیشنهاد می شود که تحقیقات بعدی بر روی فراکشن های مختلف عصاره متانولی به دست آمده از این گیاه صورت گرفته و با مشخص نمودن ماده فعال و جداسازی و خالص سازی آن، مطالعات بیشتری بر روی سلول های طبیعی و مدل حیوانی انجام گردد و در نهایت با کار آزمایی بالینی در انسان اثر کامل آن مشخص گردد، تا ضمن اثبات اثر آن در انسان و شناسایی دقیق ماده موثر آن اقدام به فرمولاسیون دارویی آن نمود.

www.SID.ir

Archive of SID

٦- تشکر وقدردانی

نویسندگـان از پشتیبانـی مالـی مرکز تحقیقـات کاربردی – دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز کمال تشکر را دارند. بدین وسیلـه از همـه همـکـاران کـه در جـهـت اجـرای آن همکاری صمیمانه داشتند تقدیر و تشکر به عمل می آید.

References:

1. Hanahan D., Weinberg R.A. The Hallmarks of Cancer, Cell. 2000, 100: 57-70.
2. Osuna D., Álava Ed. Molecular Pathology of Sarcomas. Reviews on Recent Clinical Trials., 2009, 4: 12-26.
3. Mankin HJ, Hornicek FJ. Diagnosis, Classification, and Management of Soft Tissue Sarcomas, Cancer Control 2005, 121: 5-22.
4. WONG SL. Diagnosis and Management of Desmoid Tumors and Fibrosarcoma, Journal of Surgical Oncology 2008, 97: 554-8.
5. Black.A.Morrison. Soft tissue sarcomas of the extremities. Bumc Proceedings 2000, 9016: 285-3.
6. Gronchi A, Casali PG, Mariani L, Miceli R, Fiore M, Vullo SL, et al. Status of Surgical Margins and Prognosis in Adult Soft Tissue Sarcomas of the Extremities: A Series of PatientsTreated at a Single Institution. journal of cilinical oncology. 2005, 23: 96-105.
7. Kerr JFR, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis :Its Significance in Cancer and Cancer Therapy. Cancer 1994;73:2013-26.
8. Formigli L, Papucci L, Tani A, Schiavone N, A.Tempestini, G.E.Orlandini, et al. Aponecrosis: Morphological and Biochemical Exploration of a Syncretic Process of Cell Death Sharing Apoptosis and Necrosis. Journal of Cellular physiology. 2000, 182: 41-9.
9. Bruin ECd, Medema JP. Apoptosis and non-apoptotic deaths in cancer development and treatment response Cancer Treatment Reviews 2008:1-13 .
10. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicolology Pathology. 2007, 354: 495-516.
11. Kuan N-K, Passaro E. Apoptosis: Programmed Cell Death. Arch Surgery 1998, 133: 773-5.
12. Wen-jing R, Mao-de L, Jian-guang Z. Anticancer effects of Chinese herbal medicine, science or myth? Journal of Zhejiang University SCIENCE B. 2006, 712: 1006-14.
13. Nazifi E, Delazar A, Movafeghi A, Hemmati S, Nazemiyeh H, Nahar L, et al. GC-MS analysis of the dichloromethane extract of the bulbs of Ornithogalum cuspidatum Bert. Family: Liliaceae from Iran. Academy of Chemistry of Globe Publications. 2008, 23: 94-9.
14. Kuroda M, Ori K, Mimaki Y. Ornithosaponins A–D, four new polyoxygenated steroidal glycosides from the bulbs of Ornithogalum thyrsoides. steroids 2006, 71: 199-205.
15. Zhou Y, Prieto CG-, Carney DA, Xu R-h, Pelicano H, Kang Y, et al. OSW-1: a Natural Compound With Potent Anticancer Activity and a Novel Mechanism of Action. Journal of the National Cancer Institute. 2005, 9723: 1781-5.
16. Kuroda M, Mimaki Y, Sashida Y. Saundersiosides C-H, rearranged cholestane glycosides from the bulbs of Ornithogalum saundersiae and their cytostatic activity on HL-60 cells. Phytochemistry 1999, 52: 435-43.
17. Phelan MC. Basic Techniques for Mammalian Cell Tissue Culture. Current Protocols in Cell Biology. 1998, 7: 1- 10.
18. Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. Journal of lmmunological Methods. 1983, 65: 55-63.
19. Young FM, Phungtamdet W, Sanderson BJS. Modification of MTT assay conditions to examine the cytotoxic effects of amitraz on the human lymphoblastoid cell line, WIL2NS. Toxicology in Vitro. 2005, 19: 1051-9.
20. Wang, Guttridge, Mayo, Baldwin. NF-kappa B Induces Expression of the Bcl-2 Homologue A1/Bfl-1 To Preferentially Suppress Chemotherapy-Induced Apoptosis. Mol Cell Biol. 1999, 19: 5923-9.
21. Li Z, Liu Y, Zhao X, Pan X, Yin R, Huang C, et al. Honokiol, a natural therapeutic candidate, induces apoptosis and inhibits angiogenesis of ovarian tumor cells. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 2008, 140: 95-102.
22. Liebmann JE, Cook JA, Lipschultz C, D. Teague JF, Mitchell JB. Cytotoxic studies of pacfitaxel Taxol in human tumour cell lines. Cancer 1993;68:1104-9.
23. G. F, Z. K, S. MHP, K. B. The biological action of saponins in animal systems: a review. British Journal of Nutrition. British Journal of Nutrition. 2002, 88: 587-605.
24. Tout ApU. FIBROSARCOMA :The Malignant Tumor of Fibroblasts. Cancer. 1947;3:30-64.
25. Sroijt AR. Fibrosarcoma in infants and children. Cancer. 1961, 5: 1028-31.

www.SID.ir