

بررسی اثر سمیت سلولی سه ترکیب هومیوپاتی سپیا، فسفر و پولستیل بر سلول‌های سرطانی پستان MCF-7

بهاره امین¹، لیلا سادات الداغی²، حمیده معلم‌زاده حقیقی³، فاطمه سلطانی^{4*}

1. دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
2. کارشناس ارشد بیولوژی سلولی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
3. دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
4. استادیار، مرکز تحقیقات دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: 1398/07/14
تاریخ پذیرش: 1398/11/02

زمینه و هدف: سرطان پستان، دومین سرطان رایج در زنان سراسر جهان می‌باشد. علاوه بر این، بیماران مبتلا به این سرطان، عموماً از طب مکمل و مداخله‌گر همچون هومیوپاتی استفاده می‌کنند. مشخص شده است که ترکیبات هومیوپاتی از قبیل سپیا (Sepia)، فسفر (Phosphorus) و پولستیل (Pulsatilla) تأثیرات شایانی در انواع بیماری‌ها از قبیل برخی سرطان‌ها دارند. به هر حال، تاکنون، سمیت سلولی این ترکیبات در محیط برون‌تن بر رده سلولی سرطان پستان نظیر MCF-7 مطالعه نشده است. از این رو، هدف این مطالعه، بررسی تأثیر سمیت این ترکیبات هومیوپاتیک بر روی رده سلولی سرطان پستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7) در محیط کشت DMEM کشت گردیدند و سپس با ترکیبات هومیوپاتیک با پوتنسی‌های 30 و 200 به مدت 24، 48 و 72 ساعت تیمار گردیدند. سپس پایایی سلول‌ها از طریق سنجش MTT بررسی شدند.

یافته‌ها: یافته‌ها بیان می‌کنند که هیچ‌کدام از ترکیبات آزمون شده بر سلول‌های سرطانی MCF-7 دارای تأثیر سمیت سلولی در محیط برون‌تن نمی‌باشند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که سپیا، فسفر و پولستیل به‌عنوان سه ترکیب شاخص هومیوپاتی فاقد اثر سمیت سلولی بر رده سلولی سرطانی پستان بود و به نظر می‌رسد که مطالعات بیشتری بر روی سایر سلول‌ها و نیز مطالعات درون‌تن برای ارزیابی بیشتر مورد نیاز می‌باشد.

کلیدواژه‌ها:

هومیوپاتی، سرطان پستان، سپیا، فسفر، پولستیل.

1. مقدمه

مختلف نشان داده‌اند که حدود 29٪ از سرطان‌های تشخیص داده شده در زنان را سرطان پستان تشکیل می‌دهد (2). در برخی مطالعات، از سرطان پستان، به‌عنوان دومین سرطان رایج در زنان، پس از سرطان ریه، نام برده شده است (3). تاکنون روش‌های مختلفی به‌منظور تشخیص

سرطان به‌عنوان یکی از بیماری‌های با معضلات فراوان برای فرد و جامعه شناخته شده و در کشور ایران، سومین عامل مرگ‌ومیر به حساب می‌آید (1). از طرف دیگر، مطالعات

* نویسنده مسئول: فاطمه سلطانی

نشانی: استادیار، مرکز تحقیقات دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تلفن: 09155095630

رایانامه: soltanif@mums.ac.ir

شناسه ORCID: 0000-0002-8219-9919

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-9121-7453

آلرژیک مؤثر است و جزو ترکیبات مفید برای بهبود افراد مبتلا به این گونه بیماری‌ها خصوصاً آگزاما می‌باشد (19). از طرف دیگر در مطالعات مختلفی، فسفر به‌عنوان یکی دیگر از ترکیبات مؤثر در هومیوپاتی از دسته غیرفلزات بیان شده است (18) که در درمان بیماری‌های قلبی تأثیر به‌سزایی دارد و در زمینه تغییرات جریان خون (BFV) تأثیرگذار می‌باشد (18 و 22-20). از دیگر ترکیبات مهمی که در مباحث مرتبط با درمان‌های برپایه هومیوپاتی مورد تأکید قرار گرفته است پولستیلا می‌باشد (23). پولستیلا نیز همچون فسفر در زمینه بیماری‌های قلبی و عروقی تأثیرات شایانی دارد و مشخص شده که در درمان درد حاد گوش و همچنین تنظیم بی‌نظمی‌های قاعدگی زنان دارای اهمیت می‌باشد (23 و 20). این نکته نیز جالب توجه است که پولستیلا، معمولاً از طریق خیساندن کل گیاه همراه با ریشه و عصاره‌گیری آبی-الکلی برخی از گیاهان خانواده Ranunculaceae حاصل شده و برای مقاصد مرتبط با درمان‌های هومیوپاتی استفاده می‌شود (18 و 23 و 24). در این مطالعه بر آن شدیم که تأثیرات ضدسرطانی این سه دارو را در محیط برون‌تنی بر روی رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) ارزیابی کنیم.

2. مواد و روش‌ها

1.1. داروهای هومیوپاتی

داروهای مورد استفاده در این پژوهش (جدول 1) سپیا، پولستیلا، فسفر به‌صورت قرص و با غلظت‌های 200c، 30c از شرکت بویرون Boiron فرانسه خریداری گردیدند. این پروژه دارای کد اخلاق به شماره IR.Medsab.rec.92.33 از معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار می‌باشد.

2.2. آماده‌سازی غلظت‌های مختلف ترکیبات هومیوپاتی

برای تهیه محلول اولیه قرص‌ها با غلظت‌های تعیین شده 200c، 30c در آب مقطر استریل حل گردیدند و سپس از طریق رقت‌سازی محلول اولیه به کمک محیط کشت آماده گردیدند.

درمان این بدخیمی در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی، بررسی شده است و مطالعات مرتبط با روش‌های مختلف درمانی این نوع سرطان به‌صورت فزاینده‌ای در حال گسترش است. از جمله استراتژی‌های درمانی که تاکنون در این زمینه به‌کار رفته است می‌توان به روش‌های شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، استفاده از داروهای شیمیایی و داروهای گیاهی و همچنین فراورده‌های طب سنتی و برخی روش‌های با تکنولوژی بالا همچون استفاده از سیستم‌های هدفمند نیز نام برد (8-4). هومیوپاتی، یک روش درمانی می‌باشد که اساس آن را دکتر ساموئل هانمن در قرن 18 میلادی تحت عنوان «مشابه، مشابه را درمان می‌کند» پایه‌گذاری کرد (9). نتایج حاصل از برخی مطالعات نشان می‌دهد که این روش می‌تواند در زمینه درمان بدخیمی‌ها تأثیرات مفیدی داشته باشد (10). یکی از مکانیسم‌های احتمالی درمان بیماری‌ها توسط این روش از طریق اثرات ضدالتهابی و ضدخونریزی می‌باشد که از این طریق بر برخی آسیب‌های ایجاد شده در طول جراحی بافت‌های سرطانی خصوصاً بافت‌های نرم از قبیل بافت پستان که با خونریزی شدیدی همراه می‌باشند غلبه می‌کند و به همین دلیل محققان زیادی در سراسر دنیا بر روی انواع ترکیبات محتمل مؤثر در این فرایند مطالعه می‌کنند (11-13). از جمله ترکیباتی که با عنوان داروهای هومیوپاتی برای بهبود بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند می‌توان از Sepia، *Lycopodium clavatum*، *Pulsatilla*، *Phosphorus* و *Nux vomica* نام برد (14 و 15). به‌طور کلی، ترکیبات مورد استفاده در هومیوپاتی، از طریق برخی فرایندهای خاص از عصاره‌های گیاهی، جانوری و حتی برخی مواد معدنی، استخراج می‌شوند و به‌منظور اجتناب از ایجاد تأثیرات جانبی ناخوشایند احتمالی، با درجات متفاوتی، رقیق می‌شوند (16). در کتاب مرجع هومیوپاتی، داروی سپیا، فسفر و پولستیلا از داروهایی با تأثیر درمانی بر سرطان پستان بیان شده‌اند (17). سپیا دارویی است که از ترشحات ماهی مرکب *Sepia officinalis* تهیه می‌شود و از دسته منابع جانوری می‌باشد و معمولاً در طول دوران بارداری برای بهبود بیوست و سردرد افراد تجویز می‌شود (16 و 18). همچنین نشان داده شده که سپیا به‌عنوان یکی از ترکیبات شاخص هومیوپاتی، در بهبود برخی تأثیرات

جدول 1. داروهای مورد استفاده در مطالعه

منبع دارو	نام دارو	پوتنسی	شرکت	کشور تولیدکننده
گیاهی	پولستیلا	30c , 200c	بویرون	فرانسه
عنصر غیرفلز	فسفر	30c , 200c	بویرون	فرانسه
ترشحات حیوانی	سپیا	30c , 200c	بویرون	فرانسه

680 model) بررسی شد. شایان ذکر است که تمامی آزمایش‌ها در چهار تکرار مستقل و به صورت سه تکراری¹ انجام گردید. در نهایت، درصد بقای سلولی نیز از طریق معادله زیر محاسبه گردید:

$$\% \text{ Viability} = \text{O.D. test sample} / \text{O.D. of solvent control} * 100$$

2.4. تجزیه و تحلیل آماری

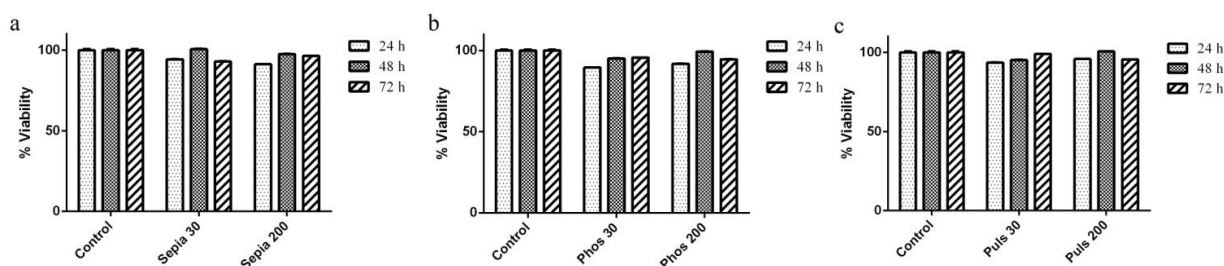
نتایج سمیت سلولی از طریق محاسبه $\text{mean} \pm \text{SEM}$ برای داده‌های حاصل از چهار آزمایش مستقل انجام شده به صورت triplicates به دست آمد. شایان ذکر است که تأثیرات سمیت سلولی ترکیبات هومیوپاتی از نظر آماری با روش one-way ANOVA و با کمک نسخه 7 نرم افزار GraphPad Prism تجزیه و تحلیل شدند.

3. یافته‌های پژوهشی

به منظور بررسی تأثیرات سمیت سلولی ترکیبات مورد نظر از سنجش MTT استفاده گردید و تأثیرات ترکیبات مورد نظر بر سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7) مطالعه شد. پس از انجام آنالیزهای آماری داده‌های به دست آمده از سنجش MTT مشخص گردید که پایایی سلول‌ها پس از تیمار با پوتنسی‌های مختلف ترکیبات مورد بررسی (30 و 200) در طول دوره‌های زمانی 24، 48 و 72 ساعت هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ندارند و در حقیقت، هر سه ترکیب مورد استفاده، فاقد اثر سمیت سلولی بر سلول‌های MCF-7 بوده‌اند. همچنین تغییرات اعمال شده در اثر تیمار سلول‌های مورد بررسی با ترکیبات مورد نظر، فاقد تفاوت معنی‌داری بین ترکیبات مختلف مورد بررسی بوده است. در شکل 1، نمودارهای مربوط به درصد بقای سلول‌های MCF-7 پس از تیمار با هر یک از ترکیبات هومیوپاتی مورد نظر که از آنالیز داده‌های مربوط به سنجش MTT به دست آمده‌اند نشان داده شده است.

2.3. سنجش سمیت سلولی

تعیین سمیت سلولی ترکیبات هومیوپاتی مورد نظر بر سلول‌های MCF-7 بر اساس سنجش MTT (3-(4,5)-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) و پروتکل استاندارد موجود انجام گرفت (22). به صورت خلاصه سلول‌های MCF-7 (خریداری شده از انستیتو پاستور ایران) در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (Gaithersburg, MD, USA) دارای 100 U/ml از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین/استرپتومایسین و میزان 10 درصد سرم جنینی گاوی (FBS; Gibco) در انکوباتور دارای دمای 37 درجه سانتی‌گراد با 5 درصد CO2 کشت گردیدند. به منظور شروع پروسه اصلی سنجش، سلول‌های مورد نظر، تریپسینه شده و به کمک لام شمارش سلولی (هموسیتومتر) شمارش شدند و در پلیت‌های دارای 96 چاهک با چگالی 20 هزار سلول در 50 میکرولیتر محیط کشت شدند. در مرحله بعد، سلول‌ها به منظور استقرار پایدار در کف پلیت‌ها و تعادل با محیط، به مدت 24 ساعت تحت انکوباسیون قرار گرفتند و سپس با 150 میکرولیتر از پوتنسی‌های 30 و 200 ترکیبات هومیوپاتی مورد نظر در محیط کشت تازه برای بازه‌های زمانی 24، 48 و 72 ساعت، تحت تیمار قرار گرفتند. پس از اتمام زمان تیمار هر یک از پلیت‌ها، به منظور بررسی میزان سمیت سلولی هر یک از ترکیبات، سنجش MTT به روش زیر انجام گردید: 20 میکرولیتر از محلول MTT (5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در فسفات بافر سالین (PBS)) به هر چاهک محتوی سلول اضافه شد و برای مدت 4 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در گام بعدی، محیط کشت موجود در چاهک‌های محتوی سلول‌ها با 150 میکرولیتر DMSO جایگزین گردید و برای حدود 20 دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. در گام نهایی، جذب بلورهای فورمازان بنفش رنگ تولید شده توسط سلول‌های زنده در طول موج 570 نانومتر توسط دستگاه خوانشگر الیزا (ELISA reader BIO-RAD)



شکل 1. نمودارهای مربوط به درصد بقای سلول‌های MCF-7 پس از تیمار با ترکیبات هومیوپاتی مورد بررسی از طریق سنجش MTT. (a): نمودار حاصل از آنالیز داده‌های MTT مربوط به تیمار سلول‌ها با ترکیب سیپا (sepia) در پوتنسی‌های 30 و 200 و طول دوره تیمار 24، 48 و 72 ساعته (b): نمودار حاصل از آنالیز داده‌های MTT مربوط به تیمار سلول‌ها با ترکیب فسفر (phos) در پوتنسی‌های 30 و 200 و طول دوره تیمار 24، 48 و 72 ساعته (c): نمودار حاصل از آنالیز داده‌های MTT مربوط به تیمار سلول‌ها با ترکیب پولستیلیا (puls) در پوتنسی‌های 30 و 200 و طول دوره تیمار 24، 48 و 72 ساعته.

جهان تاکنون از طریق ترکیبات مختلف هومیوپاتی، شرایط مساعدی را به دست آورده و روبه بهبودی رفته‌اند؛ به طوری که عمدتاً پس از هومیوپاتی قابلیت‌های حرکتی و خصوصاً علائم کاهش درد را آشکار ساخته‌اند (28). با این وجود، هنوز داده‌های قابل اطمینانی در زمینه درمان سرطان با استفاده از این روش درمانی در مطالعات معتبر به اثبات نرسیده است (28). در حقیقت، با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و تطابق آن‌ها با مورد فوق نمی‌توان اثر ضدسرطانی ترکیبات هومیوپاتی مورد استفاده در این پژوهش را حداقل در مورد سرطان پستان در شرایط برون تنی به صورت دقیق و با اطمینان، تأیید کرد. در همین رابطه، مشابه با نتایج حاصل از مطالعه پیش رو، در مطالعه‌ای که بر روی تأثیرات چند ترکیب هومیوپاتی؛ از جمله سیپا بر میزان استروژن در بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام شد مشخص شد که این ماده تأثیر شاخصی در این زمینه نداشته است و موجب تغییرات معنی‌داری در شرایط کلینیکی بیماران نیز نمی‌شود (29). همچنین Arora و همکارانش در مطالعه‌ای، تأثیرات برخی ترکیبات مؤثر در هومیوپاتی را در سرطان‌های کولون، کلیه و پستان بررسی کردند و بیان نمودند که ترکیبات مورد مطالعه‌شان در برخی رده‌های سلولی دارای تأثیرات سمیت معنی‌داری بوده است (30). برخلاف نتایج حاصل از بررسی تأثیرات سمیت سلولی ترکیبات مورد استفاده در این مطالعه، به صورت جالب توجهی در مطالعه‌ای که روی تأثیرات ضدسرطانی پوتنسی‌های بسیار پایین چند ترکیب هومیوپاتی شامل *Thuja*، *Carcinosin*، *Phytolacca* و *Conium* انجام گرفت مشخص گردید که این ترکیبات دارای اثرات سمیت سلولی بر سلول‌های سرطان پستان

نتایج براساس درصد بقای سلولی در مقایسه با سلول‌های گروه کنترل بررسی شده و آنالیز آماری به روش one-way ANOVA و به کمک نرم‌افزار *GraphPad Prism 7* انجام گردیده است ($p \text{ value} \leq 0.05$).

4. بحث و نتیجه‌گیری

فراورده‌های مورد استفاده در روش‌های درمانی مرتبط با هومیوپاتی در بسیاری از کشورهای جهان از نظر پزشکی، به عنوان ترکیبات مؤثر و سالم تأیید و استفاده شده‌اند. از طرف دیگر، با توجه به اینکه این ترکیبات از منابع موجود در طبیعت همچون برخی جانوران و گیاهان حاصل می‌شوند و همچنین معمولاً با غلظت‌های بسیار پایین به کار می‌روند می‌توان با اطمینان از عدم تأثیرات جانبی آنها صحبت کرد (23). این موارد، از طرفی باعث شده‌اند که بیشتر مطالعات مرتبط با ترکیبات هومیوپاتی، مستقیماً در فازهای کلینیکی و روی انسان انجام گیرند و بنابراین در این زمینه، مطالعات اندکی در شرایط برون تنی وجود دارد. برای مثال در موارد درمان سرطان پستان، از داروهای مختلفی نظیر سیپا، پولستیلیا و فسفر در بیماران استفاده گردیده است (25). در این مطالعه، برای اولین بار، تأثیرات ضدسرطانی این سه ترکیب در محیط برون تن بر روی سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7) بررسی شدند. مطالعات قبلی نشان داده بود که استفاده کلینیکی از این ترکیبات، از نظر تأثیر بر سلامت انسان، فاقد خطر هستند و برخی مطالعات نیز بیان کرده‌اند که ترکیبات هومیوپاتی را می‌توان در زمینه‌های مرتبط با بهبود معضلاتی که بیماران مبتلا به سرطان پستان با آن‌ها درگیرند به صورت مؤثری مورد استفاده قرار داد (23, 27). مشخص شده است که بیماران سرطانی بسیاری در سراسر

توجه به وجود مطالعات اندکی که در مورد ترکیبات هومیوپاتی خصوصاً در رابطه این ترکیبات با سرطان پستان در شرایط برون تن وجود دارد می توان از داده های حاصل از این مطالعه به عنوان الگویی برای آغاز مطالعات این چنینی یاد کرد و مسیری پیچیده و طولانی مدت را برای تعیین تأثیرات احتمالی ترکیبات هومیوپاتی خصوصاً تأثیرات سه ترکیب مورد استفاده در این مطالعه در درمان سرطان ها به ویژه سرطان پستان متصور بود.

علی رغم استفاده روزافزون از درمان های هومیوپاتی در سراسر جهان، تا کنون مطالعات نسبتاً اندکی بر روی تأثیر این ترکیبات بر سرطان های انسانی انجام گرفته است. در این مطالعه مشخص گردید که سه ترکیب شاخص در مباحث مرتبط با هومیوپاتی شامل سیپا، فسفر و پولستیللا در شرایط برون تن، اثر سمیت سلولی معنی داری بر سلول های MCF-7 ندارند و پس از تیمار سلول ها با این ترکیبات، پایایی سلول های سرطانی پستان، تغییر معنی داری نداشته است. با توجه به اینکه طب هومیوپاتی یک طب کل نگر می باشد احتمال این وجود دارد که علی رغم بی اثر بودن ترکیبات در محیط برون تن، پاسخ متفاوتی را در بدن موجود زنده شاهد باشیم. بر این اساس، بدیهی است که مطالعات تکمیلی به منظور بررسی تأثیرات این ترکیبات و سایر ترکیبات مشابه بر روی سایر رده های سلولی سرطان پستان همراه با روش های پیشرفته تر و همچنین انجام مطالعات در شرایط درون تن، موجب حصول نتایج قابل اعتمادتری برای تصمیم گیری در مورد تأثیر یا عدم تأثیر این ترکیبات بر سرطان پستان خواهد گردید.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل طرح تحقیقاتی با کد اخلاق IR.Medsab.rec.92.33 مصوب دانشگاه علوم پزشکی سبزوار می باشد و نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سبزوار برای حمایت های مالی، تشکر و قدردانی می کنند.

بوده و بدون تأثیر بر سلول های نرمال پستانی موجب القای آپوپتوز در سلول های سرطانی مذکور از طریق افزایش فعالیت کاسپاز 7 می شوند (31). در مطالعه دیگری، اثرات ضدسرطانی Paclitaxel به عنوان یکی از داروهای شاخص مورد استفاده برای شیمی درمانی سرطان پستان با اثرات دو ترکیب هومیوپاتی به نام های Carcinotin و Phytolacca مقایسه شد و مشخص گردید که این ترکیبات دارای میزان اثر سمیت سلولی مشابهی با داروی مذکور بودند و همچنین مشابه Paclitaxel بر سلول های نرمال پستانی اثر کشندگی ندارند (32). از طرف دیگر، مطالعه ای که بر روی اثرات ضدسرطانی فسفر در کارسینومای کبدی در موش در شرایط درون تنی انجام گرفت نشان داد که این ترکیب هومیوپاتی، تأثیرات مفیدی در زمینه افزایش طول عمر موش های مبتلا داشتند و بر ویژگی های ریخت شناسی، بیوشیمیایی و آسیب شناسی بافتی آن ها نیز به صورت معنی داری مؤثر بودند؛ امری که در این مطالعه و بر روی سلول های سرطانی پستان، اثبات نشد (33). نکته جالب توجه این است که علی رغم مطالعات بسیاری که بر روی اثرات درمانی فسفر به عنوان یکی از ترکیبات شاخص هومیوپاتی انجام گرفته است تاکنون هیچ گونه داده ای که ارتباط و تأثیر این ترکیب را بر سلول های سرطانی پستانیف بررسی کرده باشد گزارش نشده است. از طرف دیگر، پولستیللا که به عنوان یکی از ترکیبات دارویی با منشأ گیاهی مورد استفاده در هومیوپاتی مورد توجه محققان قرار دارد و مخصوصاً در طب چین و کره به صورت سنتی استفاده شده و می شود مشخص گردیده که در درمان مالاریا، سکتة مغزی و عفونت های باکتریایی، تأثیرات شایانی دارد (34). همچنین مشخص گردید که ساپونین های استخراج شده از پولستیللا در موش های nude موجب تضعیف تومورهای کبد انسانی می شوند (35). از طرف دیگر، در مطالعه ای نشان داده شده است که تری ترپن های پنج حلقه ای به دست آمده از پولستیللا نیز می توانند با اثرات ضدسرطانی دوکسوروبیسین، هم افزایی داشته باشند و از طریق افزایش بیان گلیکوپروتئین های خانواده P، موجب کاهش مقاومت تومور نسبت به شیمی درمانی شوند (36). به هر حال،

proposed interventions for change. CA Cancer J Clin. 2015;65:221-38.

References

- [1]. Rassouli FB, Matin MM, Bahrami AR, Ghaffarzadegan K, Sisakhtnezhad S, Cheshomi H, et al. SOX2 expression in gastrointestinal cancers of Iranian patients. Int J Biol Markers. 2015;30:315-20.
- [2]. Daly B, Olopade OI. A perfect storm: how tumor biology, genomics, and health care delivery patterns collide to create a racial survival disparity in breast cancer and
- [3]. Aldaghi LS, Rezaei Sh, Cheshomi H. The cytotoxic effect of vitex pseudo negundo fruit in breast cancer (MCF-7) cell line. J Sabzevar University Med Sci; 2016; 23: 353-59.
- [4]. Rezaei-Seresht E, Mireskandari E, Kheirabadi M, Cheshomi H, Rezaei-Seresht H, Aldaghi LS. Synthesis and anticancer activity of new azo compounds containing extended π -conjugated systems. Chem Pap. 2017;71:1463-9.

- [5]. Cheshomi H, Aldaghi LS, Seresht HR. Cytotoxicity of the Methanol Extract of *Datura innoxia* Petals on MCF-7 and HEK-293 Cell Lines. *J Biomed*. 2016;1:e6623.
- [6]. Gotwals P, Cameron S, Cipolletta D, Cremasco V, Crvstal A, Hewes B, et al. Prospects for combining targeted and conventional cancer therapy with immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:286.
- [7]. Begam AJ, Jubie S, Nanjan MJ. Estrogen receptor agonists/antagonists in breast cancer therapy: A critical review. *Bioorg Chem*. 2017;71:257-74.
- [8]. Goldvaser H, Barnes TA, Šeruga B, Cescon DW, Ocaña A, Ribnikar D, et al. Toxicity of extended adjuvant therapy with aromatase inhibitors in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis. [NCI J Natl Cancer Inst. Oxford University Press; 2017;110:djx141.
- [9]. Thangapazham RL, Gaddipati IP, Rajeshkumar NV, Sharma A, Singh AK, Ives JA, et al. Homeopathic medicines do not alter growth and gene expression in prostate and breast cancer cells in vitro. *Integr Cancer Ther*. 2006; 5: 356-61.
- [10]. Sorrentino L, Piraneo S, Riggio E, Basilicò S, Sartani A, Bossi D, et al. Is there a role for homeopathy in breast cancer surgery? A first randomized clinical trial on treatment with *Arnica montana* to reduce post-operative seroma and bleeding in patients undergoing total mastectomy. *J Intercult Ethnopharmacol*. 2017;6:1.
- [11]. Demertzis K, Polymeros D, Emmanuel T, Triantafyllou K, Tassios P, Ladas SD. Omeprazole maintenance therapy prevents recurrent ulcer bleeding after surgery for duodenal ulcer. *World J Gastroenterol WJG*. 2006;12:791.
- [12]. Kriplani P, Guarve K, Baghael US. *Arnica montana* L. - a plant of healing: review *J Pharm Pharmacol*. 2016;69: 924-45
- [13]. Orpen NM, Little C, Walker G, Crawford EJP. Tranexamic acid reduces early post-operative blood loss after total knee arthroplasty: a prospective randomised controlled trial of 29 patients. *Knee*. 2006;13:106-10.
- [14]. Atif R, Saleem Z, Qureshi MZ, Asia R, Gorski GI. Homeopathic remedies to heal afflicted persons: A systematic review. *SAJ Pharma Pharmacol*. 2018;5:201.
- [15]. Vilhena EC de, Castilho EA de. Homeopathic Treatment of overweight and obesity in pregnant women with mental disorders: a double-blind, controlled clinical trial. *Altern Ther Health Med* 2016;22:14-22.
- [16]. Ivoti S, Tandon S. Impact of homeopathic remedies on the expression of lineage differentiation genes: an in vitro approach using embryonic stem cells. *Homeopathy*. 2016;105:148-59.
- [17]. Master FJ. Tumors and homeopathy. B. Jain publishers Pvt. Ltd, Germany, 2005
- [18]. 18. Khalvati B. Textbook of homeopathic pharmacy, Darou Gostar Razi Ltd, 2000
- [19]. Van Wassenhoven M. Clinical verification in homeopathy and allergic conditions. *Homeopathy*. 2013;102:54-8.
- [20]. Mishra N, Muraleedharan KC, Paranjpe AS, Munta DK, Singh H, Navak C. An exploratory study on scientific investigations in homeopathy using medical analyzer. *J Altern Complement Med*. 2011;17:705-10.
- [21]. Tenzera L, Djindjic B, Mihajlovic-Elez O, Pulparampil BJ, Mahesh S, Vithoulkas G7. Improvements in long standing cardiac pathologies by individualized homeopathic remedies: A case series. *SAGE Open Med Case Rep*. 2018; 6: 2050313X18792813.
- [22]. Ferreira EC, Ciupa L, Portocarrero AR, Brustolin CF, Massini PF, Aleixo DL, et al. Phosphorus protects cardiac tissue by modifying the immune response in rats infected by *Trypanosoma cruzi*. *Cytokine*. 2018;102:102-6.
- [23]. Schrenk D, Merz KH, Jochims K. Feasibility study of nonclinical safety assessments on homeopathic preparations using the example of protoanemonin in *Pulsatilla pratensis* L. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2013;66:104-8.
- [24]. Calderon A, Font J, Ortun RM. Studies on structurally simple $\alpha\beta$ -butenolides. IV. behaviour of protoanemonin as electrophile towards alcohols and thiols. *Tetrahedron*. 1984;40:3787-94.
- [25]. Krishnan R, Coulter C. A homeopathic approach to cancer. Ninth Publishing House Ltd, 2001
- [26]. Romero AC, Vilanova E, Sogorb MA. shortening and improving the embryonic stem cell test through the use of gene biomarkers of differentiation. *J Toxicol*. 2011:1-8.
- [27]. Mathie RT, Lloyd SM, Legg LA, Clausen I, Moss S, Davidson JRT, et al. Randomised placebo-controlled trials of individualised homeopathic treatment: systematic review and meta-analysis. *Syst Rev*. 2014;3:142.
- [28]. Milazzo S, Russell N, Ernst E. Efficacy of homeopathic therapy in cancer treatment. *Eur J Cancer*. 2006;42:282-9.
- [29]. Thompson EA, Montgomery A, Douglas D, Reilly D. A pilot, randomized, double-blinded, placebo-controlled trial of individualized homeopathy for symptoms of estrogen withdrawal in breast-cancer survivors. *J Altern Complement Med*. 2005;11:13-20.
- [30]. Arora S, Aggarwal A, Singla P, Ivoti S, Tandon S. Anti-proliferative effects of homeopathic medicines on human kidney, colon and breast cancer cells. *Homeopathy*. 2013;102:274-82.
- [31]. Frenkel M, Mishra BM, Sen S, Yang P, Pawlus A, Vence L, et al. Cytotoxic effects of ultra-diluted remedies on breast cancer cells. *Int J Oncol*. 2010;36:395-403.
- [32]. Frenkel M. Is there a role for homeopathy in cancer care? Questions and challenges. *Curr Oncol Rep*. 2015;17:43.
- [33]. Kumar KBH, Sunila ES, Kuttan G, Preethi KC, Venugopal CN, Kuttan R. Inhibition of chemically induced carcinogenesis by drugs used in homeopathic medicine. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2007;8:98.
- [34]. Park BH, Jung KH, Son MK, Seo JH, Lee H-S, Lee I-H, et al. Antitumor activity of *Pulsatilla koreana* extract in anaplastic thyroid cancer via apoptosis and anti-angiogenesis. *Mol Med Rep*. 2013;7:26-30.
- [35]. Xu Q, Shu Z, He W, Chen L, Yang S, Yang G, et al. Antitumor activity of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel saponins in human liver tumor 7402 cells in vitro and in vivo. *Phytomedicine*. 2012;19:293-300.
- [36]. Zheng Y, Zhou F, Wu X, Wen X, Li Y, Yan B, et al. 23-Hydroxybetulinic acid from *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel synergizes the antitumor activities of doxorubicin in vitro and in vivo. *J Ethnopharmacol*. 2010;128:615-22.

Evaluation of cytotoxic effects of three homeopathy remedies (Sepia, Phosphorus and Pulsatilla) in the breast cancer cell line, MCF-7

Bahareh Amin¹, Leila Sadat Aldaghi², Hamideh Moalemzadeh Haghighi³, Fatemeh Soltani⁴

1. Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, Department of Physiology and Pharmacology, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
2. MSC cell biology, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
3. Dr in Pharmacy, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
4. Assistant Professor, Pharmaceutical Research Center, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Abstract

Introduction: Breast cancer is the second common cancer in women at worldwide. Furthermore, patients with breast cancer generally use complementary and integrative medicine such as homeopathy. It has been shown that homeopathic remedies such as Sepia, Phosphorus and Pulsatilla have great effects in the various diseases such as some of the cancers. However, the cytotoxicity effects of these compounds have not been studied for breast cancer cell lines such as MCF-7. Hence, the aim of this study was to investigate the cytotoxic effects of these homeopathic remedies on breast cancer cell line.

Materials & Methods: Breast cancer cells (MCF-7) were cultured in DMEM medium and treated with different potencies (30 and 200) of remedies for 24, 48 and 72 h. Cell viability was determined by MTT assay.

Results: The findings indicate that none of the tested compounds had cytotoxicity effect on MCF-7 cancer cells.

Conclusion: This study shows that Sepia, Phosphorus and Pulsatilla as the three of homeopathic remedies have not *in vitro* cytotoxic effects on breast cancer cell line, and it seems that further studies on different cell lines and also *in vivo* studies are needed to confirm these findings.

Received: 2019/10/06

Accepted: 2020/01/22

Keywords: Homeopathy, Breast cancer, Sepia, Phosphorus, Pulsatilla.