مقاله پژوهشی

اثر سمیّت سلولی عصاره‌ی گیاه Astragalus cystosus بر روی رده‌ی سلول‌های HeLa با روش MTT

لیلا سادات الداغی [1,2]، ***عباسعلی دهپور جویباری*** [3]، ***فرخنده نعمتی*** [3]، ***رضا میر دشتی*** [4]، ***رحیم اکرمی*** [5]

[1] کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر

[2] کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

[3] استادیاردانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، گروه زیست شناسی، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی، قائمشهر، ایران

[4] کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

[5] کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

نشانی نویسنده مسئول: عباسعلی دهپور جویباری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، گروه زیست شناسی، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی
E-mail: dehpour@gmail.com

وصول:۹۲/۱۲/۲۸، اصلاح:۹۲/۵/۱۵، پذیرش:۹۲/۶/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: درمان سرطان به‌وسیله‌ی گیاهان دارویی، از دیرباز مورد توجه محققان بوده‌است. در این میان، برخی گونه‌های گیاهی دارای موادی هستند که از طریق آپوپتوز و یا نکروز، موجب مهار یا از بین بردن سلول‌های سرطانی می گردند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضد سرطانی این گیاه برروی رده‌های سلولی HeLa بوده است.

مواد و روش‌ها: سلول‌های سرطانی سرویکس مورد استفاده در این تحقیق، از بخش تومور بانک انستیتو پاستور ایران تهیه شد. بعد از کشت سلول‌های سرطانی در محیط آزمایشگاه، غلظت‌های ۰/۱۵۶ ، ۰/۳۱۲ ، ۰/۶۲۵ ، ۱/۲۵ ، ۲/۵ ، ۵ ، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ی گیاه، بر روی این رده سلول‌های سرطانی تأثیر داده شد. بعد از ۷۲ ساعت، مرگ و میر سلول‌ها، با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. در آزمون‌های آماری، سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و همچنین آزمون های تی تست با نرم افزار اکسل انجام گرفت.

یافته ها: یافته‌های این مطالعه، نشان می دهد که عصاره‌ی گیاه Astragalus cystosus بر روی رده‌ی سلولی سرطانی Hela، دارای سمیّت سلولی در اکثر غلظت‌ها بوده و بالاترین مهار آن، درغلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر است. درصد مهارکنندگی در غلظت های بالاتر مانند ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر، برابر ۲۸/۹۸ درصد که بیشترین مقدار است، می باشد.

نتیجه گیری: باتوجه به این‌که عصاره‌ی گیاه Astragalus cystosus، دارای خاصیت سمیّت سلولی در رده‌ی سلول‌های سرطانی سرویکس (Hela) می باشد، با انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی و پس از آن مطالعات کارآزمایی بالینی می تواند به عنوان یک ماده در درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: *Astragalus cystosus، Hela، سمیّت سلولی، عصاره‌ی اتانولی*

مقدمه

امروزه، سرطان از جمله شایع‌ترین بیماری‌ها و یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان می باشد(۱). روش‌های درمانی مرسوم نیز، اکثراً شیمیایی و فیزیکی بوده که خود عوارض جانبی سوئی بر سایر اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن دارد. لذا، امروزه بسیاری از مراکز تحقیقاتی دنیا برای پیشگیری یا درمان انواع مختلف سرطان، به دنبال یافتن یک روش ایمن‌تر و کارآمدتر از طریق استفاده از گیاهان دارویی برآمده‌اند. یکی از این گونه‌ها، گیاه «گون» با نام علمی Astragalus cystosus می‌باشد که پراکندگی آن در کشور ما بسیار زیاد است و گیاه مذکور، یکی از گیاهان بومی و شناخته شده‌ی شهرستان سبزوار می باشد(۲).

بر طبق آخرین تحقیقات پزشکی انجام شده، اثرات ضد سرطانی گونه‌های دیگر این گیاه، در مجلات معتبر علمی ـ پژوهشی به چاپ رسیده است که فلاوونوئیدهای موجود در گیاه «گون» گونه A. complanatus در محیط In Vitro، می‌تواند رده‌های سلولی کارسینومای کبد را به سمت آپوپتوز سوق دهد(۳،٤). همچنین در مطالعه‌ای دیگر که بر روی ۲٤ بیمار مبتلا به سرطان ریه غیر سلول کوچک (Non-Small Cell Lung Carcinoma) صورت گرفته، ۲۱ بیمار به عصاره‌ی این گیاه پاسخ درمانی مثبت نشان داده‌اند[۵]. از طرفی دیگر، برای گونه‌های «گون»، خواصِ سمیّت سلولی به همراه ماده‌ای به نام Sawainsonine و مشتقات آن نیز وجود دارد (٦).

سمیّت سلولی عصاره‌ی «گون» با روش MTT، بر روی رده‌ی سلول‌های HeLa بررسی شده‌است. در این مطالعه، با توجه به امکانات موجود، عصاره‌گیری به روش «پرکولاسیون» که یکی از متداول‌ترین روش‌های عصاره-گیری به‌شمار می آید، انجام گرفته‌است.

از آنجایی که هنوز درمان قطعی و بدون عوارض برای انواع مختلف سرطان وجود ندارد و اینکه این اثرات، فقط در مورد برخی از گونه‌های این گیاه گزارش شده است، لذا با توجه به تفاوت‌های گیاه‌شناختی موجود درگونه‌های شناخته شده در ایران و خصوصاً خراسان با دیگر نقاط دنیا، بررسی و مطالعه‌ی اثرات ضد سرطانی گونه‌ی «گون»، دارای اهمّیّت پزشکی و اکولوژیک خاصی می باشد که در صورت مشاهده و تأیید این اثرات، امکان تهیه‌ی داروهای گیاهی بومی از این گونه‌ی گیاهی خاص به صورت بالقوه وجود دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد سرطانی گیاه «گون» برروی رده‌ی سلولی بافت سرویکس (HeLa) انجام گرفته شده‌است.

مواد و روش‌ها

سلول های HeLa

سلول‌های مورد استفاده در این تحقیق که از سلول-های کارسینومای سرویکس انسان می باشد، از بخش بانک سلولی انستیتو پاستور ایران به صورت فلاسک خریداری شده است.

نحوه ذوب کردن و استحصال سلولی از نمونه های منجمد سلولی(۷)

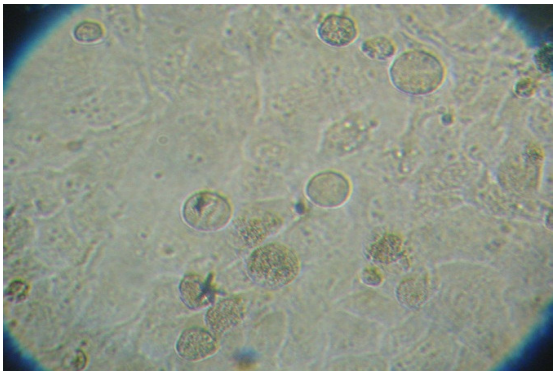
۱) ۱۵ میلی لیتر از محیط RPMI 1640 حاوی ۱۰ ٪ FCS (۱۰۰ mg/ml) پنی سیلین و ۱۰۰ mg/ml استرپتومایسین) را در یک فلاسک کشت، برای مدت ۲ ساعت در یک انکوباتور CO_2 دار قرار داده تا به حال تعادل به محیط برسد.

۲) تحت شرایط ایمنی (استفاده از دستکش عایق و عینک) ویال منجمد سلولی را از تانک ذخیره ازت خارج می‌کنیم.

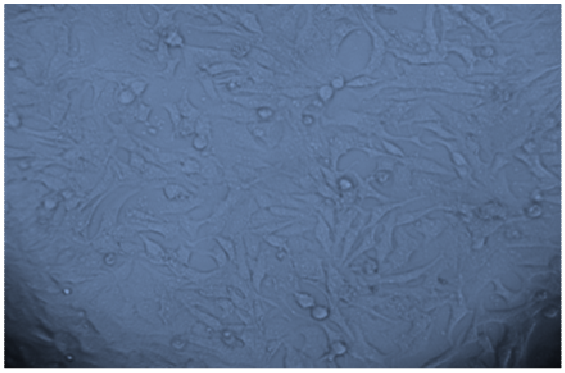
۳) به منظور اجتناب از انفجار احتمالی ویال (به علت ورود احتمالی ازت مایع به داخل ویال)، درِ آن را، بعد از ضد عفونی کردن سطح خارجی ویال با الکل ۷۰ درجه، در زیر هود شل می کنیم تا گاز ازت خارج شود.

٤) مجدداً، درِ ویال را بسته و فوراً آن را در بن ماری ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد ذوب می کنیم. فرایند ذوب شدن بایستی حدوداً ظرف ۱ دقیقه تمام و از حرارت بیش از

تصویر (الف)



تصویر (ب)



حد به سلول‌ها اجتناب شود.

۵) قطره قطره محیط را به ویال می‌افزاییم و سپس محتویات آن را خارج و همراه با محیط در لوله‌های آزمایش استریل ۱۵ سی‌سی، سانتریفیوژ می کنیم. پس از سانتریفیوژ، محیط رویی را خارج می‌کنیم و دوباره، سلول‌ها را به صورت تعلیق در محیط درمی‌آوریم و به فلاسک از پیش آماده حاوی محیط و FBS منتقل و انکوبه می‌کنیم.

جمع آوری گیاه و عصاره‌گیری

گیاه Astragalus cystosus در اواخر خرداد ماه ۱۳۹۱، از ارتفاعات روستای استاج واقع در شهرستان سبزوار جمع آوری شده است .بخش‌های مختلف گیاه، بعد از خشک شدن در سایه و در مجاورت هوا، پودر گردیده و برای تهیه‌ی عصاره مورد استفاده قرار گرفته است.

برای عصاره‌گیری، ابتدا گیاه مورد نظر را به صورت پودر درمی‌آوریم و به منظور حل شدن ماده‌ی حل شونده، به‌همراه حلال (اتانول ۸۰٪) و تحریک مکرر، در یک ظرفِ در بسته، برای یک دوره‌ی حداقل سه روزه در دمای اتاق نگهداری می کنیم. پس از حاصل شدن مخلوط کدر، مواد جامد مرطوب پرس‌شده و مایعات ترکیب‌شده، به‌وسیله‌ی فیلتراسیون و یا ظرف به ظرف کردن جدا می‌شود. آنگاه، حلال اتانول با استفاده از روتاری و با روش تقطیر در خلاء خارج می‌گردد. این عصاره، به عنوان عصاره‌ی خالص در نظر گرفته شده و براین اساس، غلظت‌های مختلف از آن تهیه می شود.

تهیه‌ی رقت‌های مختلف از عصاره گیاه

عصاره‌ی گیاهی مورد نظر توسط ترازوی حساس دیجیتالی وزن و آنگاه در هر ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به صورت محلول در آورده می شود. سپس در محیط کشت سلولی (RPMI 1640) رقت‌های مختلف مورد نیاز تهیه می‌گردد. رقت‌های مورد استفاده دراین تحقیق شامل ۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵۶ mg/ml می باشند. میزان DMSO در محلول نهایی موجود در چاهک-های کشت سلول کمتر از ۱٪ محاسبه می گردد. گفتنی است DMSO تا غلظت کمتر از ۱٪، فاقد سمیّت است و از این حیث، غلظت این حلال مهم می باشد.

بررسی سمیّت سلولی مواد با استفاده از آزمون MTT

رده‌ی سلولی مورد استفاده در محیط کشت RPMI 1640 که حاوی پنی سیلین (۱۰۰ IU/ML)، استرپتومایسین (۱۰۰ IU/MI)، گلوتامین (۲ mmol) و ۱۰ ٪ سرم جنین گاو (FBS) می‌باشد، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و در اتمسفر حاوی ۵٪ CO2 انکوبه می‌شوند. سلول‌ها، در فلاسک‌های T شکل ۷۵cm2 در ۱۵ میلی‌لیتر محیط و با تعداد اولیه $۱۰^{۶}$ × ۲-۱ سلول، شروع به رشد می‌کنند. بعد از گذشت سه روز و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه‌ی سلول چسبنده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین- ورسن جدا و پس از انتقال به لوله‌ی آزمایش استریل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰، سانتریفیوژ می شود.

سپس سلول‌ها در محیط کشت تازه با کمک پیپت پاستور، دوباره معلّق و از آن سوسپانسیون با استفاده از

سمپلر ۸ کاناله ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ای با کف صاف (ویژه‌ی کشت سلولی) ریخته می شود. یک ستون از چاهک‌ها، بدون سلول و به عنوان Blank و فقط حاوی محیط کشت نگهداشته می شود. در یک ستون دیگر، حاوی محیط کشت و سلول‌های سالم (لنفوسیت و منوسیت) و درستون‌های دیگر، حاوی محیط کشت و سلول‌های رده‌ی سلولی در نظر گرفته می شود. یکی از این ستون‌ها که حاوی محیط کشت و سلول و فاقد عصاره می باشند، به عنوان شاهد (کنترل) در نظر گرفته می شود و یک ستون دیگر هم، حاوی محیط کشت و سلول و غلظت به کار رفته DMSO (کنترل منفی) می-باشد تا اثر سمیّت آن بر روی سلول‌ها بررسی گردد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت، درون انکوباتور، انکوبه می شوند تا سلول‌ها از استرس ناشی از ترپیسینه شدن به حالت عادی باز گردند. پس از این زمان، رقت‌های مناسب از عصاره‌ی مورد نظر تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به صورت ستونی به چاهک‌های پلیت اضافه می شود.(به این ترتیب غلظت نهایی ترکیب مورد مطالعه در چاهک ها نصف می گردد. بنابراین غلظت ها به صورت ۲ برابر تهیه می گردد تا بعد از اضافه شدن به چاهک، به غلظت نهایی مورد نظر برسد). سپس سلول ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و در اتمسفر ۵٪ CO2 در انکوباتور قرار داده می شوند. پس از گذشت ۷۲ ساعت به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ mg/ml) اضافه می گردد. پلیت‌ها به مدت ۳ تا ٤ ساعت، انکوبه می شوند و سپس باقیمانده خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه می گردد تا فورمازان حاصل حل شود. پس از ۱۰ دقیقه و با استفاده از تکان دادن پلیت‌ها، جذب نوری فورمازان در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از خوانشگر پلیت خوانده می‌شود. چاهک‌های حاوی سلول Hela و بدون عصاره به عنوان کنترل و چگالی نوری چاهک‌های بدون سلول و تنها حاوی محیط کشت به عنوان Blank در نظر گرفته می‌گردد. درصد حیات سلولی، با استفاده ازفرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$\%OD = \frac{OD\text{ بلانک} - OD\text{ چاهک های تحت تاثیر عصاره}}{OD\text{ بلانک} - OD\text{ کنترل}} \times 100$$

یافته‌ها

به‌طورکلی، با تأثیردادن غلظت های مختلف از عصاره‌ی گیاه «گون» (۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/٦۲۵، ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر روی سلول‌های سرطانی بافت سرویکس (Hela)، مهارکنندگی رشد سلول ها قابل ملاحظه بوده، به شکلی که بالاترین مهارکنندگی در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب ۱۸/۳ و ۲۸/۹۸ درصد می‌باشد (جدول۱).

میانگین جذب نوری در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی داری با میانگین جذب نوری با گروه کنترل متفاوت می باشد و از این جهت، P<۰/۰۵ به‌دست آمده‌است.

میانگین جذب نوری در غلظت ۱۰ و ۷/۵ میلی-

جدول ۱: طول موج نوری خوانده شده در سه پلیت مختلف و میانگین مهارکنندگی رشد سلول های سرطانی

غلظت عصاره گون (mg/ml)	میانگین جذب نوری± انحراف معیار	میانگین مهارکنندگی ٪
۰/۱۵۶	۰/۱۱±۰/۰۷	۰/۵۲۶
۰/۳۱۲	۰/۰۹±۰/۰۱	۰/۵۶۶
۰/۶۲۵	۰/۰۷±۰/۰۰٤	۱٤/۰۳
۱/۲۵	۰/۰۵±۰/۰۱	۱٤/۲۸
۲/۵	۰/۰٤±۰/۰۰۷	۱۵/۰۱
۵	۰/۰٤±۰/۰۱	۱۶/۱
۷/۵	۰/۰۲۱±۰۰۲	۱۸/۳
۱۰	۰/۰۲۶±۰/۰۰۲	۲۸/۹۸
بدون مداخله (کنترل)	۰/۲±۰/۰۲۱	۰

گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب ۰/۰۲٦ و ۰/۰۲۱ به‌دست آمده-است که این، نشان دهنده‌ی مرگ سلولی بالا و اثر سمیّت سلولی بیشتر نسبت به گروه کنترل می‌باشد. با بررسی جذب نوری خوانده شده از دستگاه الایزا در پلیت‌های مختلف، می‌توان سمیّت سلولی غلظت‌های مورد استفاده-ی عصاره‌ی«گون» را بروی سلول‌های سرطانی مشاهده کرد.

ارتباط مهارکنندگی رشد سلول‌ها و غلظت‌های مورد استفاده در سلول‌های سرطانی در نمودار ۱ قابل مشاهده است. روند مهارکنندگی رشد سلول‌ها با افزایش غلظت گیاه ،افزایش می‌یابد.

ضمناً، شکل‌های زیر مربوط به سلول‌های Hela بعد از ۷۲ ساعت تیمار با عصاره‌ی Astragalus cystosus (شکل الف) در مقایسه با گروه کنترل (بدون تیمار با عصاره) (شکل ب) می‌باشند. کاهش تعداد سلول‌ها و ظاهر حباب مانند غشاء در شکل الف مشاهده می‌شود.

بحث

یافته‌های این مطالعه، نشان می‌دهند که عصاره‌ی گیاه Astragalus cystosus **برروي** رده‌ی سلولی سرطانی Hela، دارای سمیّت سلولی در اکثر غلظت‌ها بوده و بالاترین مهار آن درغلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. همچنین جذب نوری در غلظت‌های بالاتر مانند ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، کمترین جذب نوری را نشان می‌دهد که خود، مشخص کننده‌ی از بین رفتن تعداد زیاد سلول می‌باشد.

درمطالعات دیگر، مهارکنندگی رشد سلول‌های سرطانی Hela، در غلظت‌های بسیار مشابه نیز مورد بررسی قرار گرفته است که گیاه Consolida orientalis در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ، درصد مهارکنندگی بالاتری داشته است. در این مطالعه، با افزایش غلظت عصاره، میزان مهارکنندگی افزایش یافته است (۸). گفتنی است، نتایج مشابه دیگری از مطالعات مختلف در این زمینه گزارش شده‌اند. اگرچه، از سوی محققان، بررسی‌ها و مطالعاتی انجام گرفته، ولی تاکنون بررسی در مورد این گونه از گیاه Astragalus Cystosus انجام نگرفته است. طبق آخرین مطالعات انجام شده در سال ۲۰۱۲، با بررسی عصاره‌ی «دی‌کلرومتان» بر رده‌های سلول‌های کارسینومای پوششی، نشان داده‌شده که عصاره‌ی گیاه Astragaluse gombiformis، دارای اثرات سمیّت سلولی قوی می‌باشد (IC50=85± 21.7 µg/ml). همچنین عصاره‌ی«متانولی»، بر سوش‌های باکتری‌هایی نظیر سالمونلا و پزودوموناس، اثرات ضدّ باکتریایی داشته است (۹).

در تحقیقی دیگر که برروی گونه‌ی دیگر گیاه «گون» صورت گرفته است، لکتین موجود در A.mongholicus از گیاه استخراج و با تکنیک افینیتی کروماتوگرافی (Chromatography Affinity) تخلیص-گردیده‌است. ازسلولهای توموری سرویکس انسانی (HeLa)، رده‌ی سلولی شبه استئوبلاستی انسانی و رده‌ی سلولی لوسمی انسانی استفاده گردیده تا اثرات AMML را که نوعی لکتین است، بر رشد سلولی آپوپتوزیس و چرخه‌ی سلولی مورد بررسی قرار بگیرد. در سلول‌های رده‌ی HeLa، حداکثر مهار رشد، (۹۲٪) و پس از آن در سلول‌های رده لوسمی،(۸٤٪) و رده‌ی سلولی شبه استئوبلاستی، (٤۸٪) مشاهده شده‌است. تغییرات ریخت-شناختی در رده‌ی HeLa، بسیار مشخص شده، شامل قطعه قطعه شدن هسته و ظهور اجسام آپوپتوتیک احاطه شده در غشاء می باشند (۱۰).

در مطالعه‌ای دیگر، مشخص گردیده که گونه‌ی A. saponin «گون» به‌وسیله‌ی تسریع پیام‌رسانی دو مولکول m Tor و ERK در مسیر خارجی آپوپتوز، می-تواند سلول‌های سرطان کولون HT-29 را به سمت آپوپتوز هدایت کند (۱۱). هر چند این مطالعه و سایر مطالعات مشابه آن که اثرات ضد سرطانی گونه‌های «گون» را مورد بررسی قرار داده‌اند، دارای اثر مهارکنندگی در غلظت‌های بالا می‌باشند، اما مقدار درصدهای مهار

کنندگی، به دلیل نوع ترکیبات مؤثر، متفاوت می‌باشد.

با توجه به عدم پاسخ مطلوب سرطان‌ها به درمان و پیشرفت سریع آن، تحقیق در زمینه‌ی تولید داروهایی با کارایی بیشتر و سمیّت کمتر ادامه دارد. ترکیبات گیاهی بسیاری با اثرات بیولوژیکی متنوع وجود دارند که بخشی از داروهای ضد سرطانی را در علم داروسازی نوین شامل میشوند. Astragalus cystosus به‌علت وجود فلاونوییدها، ترپنوییدها و لکـتین ها از گیاهان این خانواده است که استفاده‌های دارویی، آرایشی و بهداشتی می‌شود. مهمترین ترکیباتی که در این خانواده شناسایی شده عبارتند از: لکتین ها، فلاونویید ها، ترپنوییدها، هیدروکربن ها، آلدیید ها و کتون ها (۱۲).

هر چند نتایج مطالعه‌ی ما، مهارکنندگی رشد سلول‌ها را در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد، اما بایستی به مواردی از محدودیت‌های مطالعه نیز اشاره کرد. گفتنی است روش‌های دقیق‌تر دیگری بر سنجش سمیّت سلولی و عصاره گیری وجود دارد که به علت طولانی‌تر شدن زمان مطالعه و همچنین دردسترس نبودن امکانات آزمایشگاهی مورد نیاز مورد استفاده قرار نگرفته است.

هرچند این مطالعه، بررسی اولیه‌ی اثر مهارکنندگی عصاره‌ی گیاه «گون» را بروی سلول‌های سرطانی سرویکس نشان می‌دهد، اما ابعاد دیگری از این مطالعه نیز بایستی مورد بررسی قرار گیرد که جداسازی و خالص سازی ترکیبات مؤثر عصاره و همچنین تعیین ساختار و مکانیسم فعالیت ضد سرطانی آن می تواند از مهمترین بخش‌های مطالعات بعدی باشد. اثر مهارکنندگی این عصاره، می‌تواند روی رده‌های دیگرسلول‌های سرطانی مورد بررسی قرارگیرد. همچنین بررسی فرایند پروتئومیکس و ژنومیکس روی رده‌های سلول‌های سرطانی، می تواند از دیگر محورهای پژوهش‌های آتی باشد.

با توجه به این‌که عصاره‌ی گیاه Astragalus cystosus، دارای خاصّیت سمیّت سلولی در رده سلول-های سرطانی سرویکس (Hela) می‌باشد، با انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی و پس از آن مطالعات کار آزمایی بالینی، می‌تواند به عنوان یک ماده در درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدرانی

از آقای مهندس فیله‌کش رئیس محترم اداره‌ی منابع طبیعی شهرستان سبزوار و همکارانشان در جمع آوری نمونه‌ی گیاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Parkin, D.M., P. Pisani, and J. Ferlay, Global cancer statistics. CA: A cancer journal for clinicians, 2008. 49(1): p. 33-64.
2. Mahmoodi, M., A. Maassoumi, and B. Hamzeh'ee, Geographic distribution of Astragalus (Fabaceae) in Iran. Rostaniha, 2009. 10 .(۱)Parkin DM, Pisani P, Ferlay J, Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 1999. 49(1):33-64.
3. Mahmoodi M, Maassoumi A, Hamzeh'ee B. Geographic distribution of Astragalus (Fabaceae) in Iran. Rostaniha, 2009;10:1[Persian].
4. Auyeung K, Law P, Ko JK. Astragalus saponins induce apoptosis via an ERK-independent NF-κB signaling pathway in the human hepatocellular HepG2 cell line. Int J Mol Med. 2009. 23(2):189-96.
5. Hu YW, Liu CY, Du CM, Zhang J, Wu WQ, Gu ZL. Induction of apoptosis in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells in vitro by flavonoids from Astragalus complanatus. J Ethnopharmacol, 2009. 123(2): 293-301.
6. Cassileth BR, Rizvi N, Deng G, Yeung KS, Vickers A, Guillen S, Woo D, Coleton M, Kris MG. Safety and pharmacokinetic trial of docetaxel plus an Astragalus-based herbal formula for non-small cell lung cancer patients. Cancer Chemother Pharmacol, 2009. 65(1): 67-71.
7. Rios J, Waterman PG, A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus. Phytotherapy Research, 1998. 11(6): 411-8.

8. Khoramizade MR, Falak R. Basic Fundamentals of Cell Culture. tehran univercity of medical science, 2009;1: 188.
9. Demati A, Dj A, Irani M, mahdavi Sv, Mirzanezhad S, cytotoxicity activity of Consolida orientalis ethanolic extract against Hela cell line. biology of islamic azad university of Garmsar unit, 2012; 6: 53-8.
10. Teyeb H, Zanina N, Neffati M, Douki W, Najjar MF. Cytotoxic and antibacterial activities of leaf extracts of Astragalus gombiformis Pomel (Fabaceae) growing wild in Tunisia. Turk J Biol, 2012. 36(1): 53-8.
11. Yan Q, Li Y, Jiang Z, Sun Y, Zhu L, Ding Z. Antiproliferation and apoptosis of human tumor cell lines by a lectin (AMML) of Astragalus mongholicus. Phytomedicine, 2009. 16(6): 586-93.
12. Auyeung KK, Cho CH, Ko JK. A novel anticancer effect of Astragalus saponins: Transcriptional activation of NSAID-activated gene. Int J Cancer, 2009. 125(5): 1082-91.
13. Krasteva I, Platikanov S, Momekov G, Konstantinov S, Nikolov S. Phytochemical analysis and in vitro cytotoxic activity of volatiles from Astragalus corniculatus. Nat Prod Res, 2008. 22(11): 969-74.

The effects of cytotoxicity of Astragalus cystosus on the Hela Cells by using MTT Method

Leila Sadat Aldaghi
Cell biology MSc, Islamic Azad University of Ghaem Shar.
Cell biology MSc, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Abbas Ali Dehpour Jooybari
Assistant Professor of biology, Islamic Azad University of Ghaem Shar.

Farkhoneh Nemati
Assistant Professor of biology, Islamic Azad University of Ghaem Shar.

Reza Mir dashti
Biochemical MSc, Sabzevar University of Medical Sciences

Rahim Ekrami
Epidemiology MSc,, Sabzevar University of Medical Sciences

Received:18/05/2013**, Revised:**06/08/2013**, Accepted:**19/09/2013

Corresponding Author:
Abbas Ali Dehpour Jooybari,
Islamic Azad University of Ghaem Shar.
E-mail: dehpour@gmail.com

Abstract

Background & objectives: Cancer prevention and treatment by medicinal plants for a long was is one of the most challenging areas of research. Among them, some plants species could suppress or kill tumor cells via apoptosis or necrosis. One of these plants is Astragalus. The purpose of this study was investigating the anti-cancer effects of this plant.

Material & method: The cancer cell lines obtained from Pasteur Institute of Iran. The cells were cultured in RPMI 1640. Then the cells have effected from the presence of various concentrations (0.156, 0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 7.5 and 10 mg/ml) of Astragalus cystosus. After 72 hours the rate of cytotoxicity was determined by using MTT test. These statistical analyses carried out with a significant level of 0.05 and t-test with excel software.

Findings: These findings indicate that the extract of Astragalus cystosus on Hela cancer cell lines had cytotoxicity in all concentrations and the highest inhibition was 7.5 and 10 mg/ml concentrations. The rate of inhibition in higher concentrations such as 10mg/m1 was equal to 28.98% which is the highest one.

Conclusion: Regarding that the extract of Astragalus cystosus had cytotoxicity on hela cancer cells, further studies can be performed on animal model and clinical trial so that Astragalus used as an anticancer drug.

Keywords: *Astragalus cystosus , Hela, cytotoxicity, Ethanol extract*