Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2014; 17(87): 66-73

The comparison between hydroethanolic extraction of *pistacia Atlantica* and Suzin effects on growth inhibition of K562 cell line *in Vitro* condition

Keikhaei F[1], Naghsh N[*2], Modaresi M[3]

1- Department of Biology,Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
2- Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University,Isfahan, Iran.
3- Department of Biology, Khorasgan(Isfahan)Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Received: 4 Feb 2014, Accepted: 2 Jul 2014

Abstract

Background: Leukemiais a malignant and progressive disease of the Hematopoietic tissues of the body. The*pistaciaatlantica*treebase, the geographic inlarge areas ofthe Mediterraneanand theMiddle Eastisgrowing. K562Cell class is considered as laboratory model of chronic phase of human CML.wecompared thegrowthinhibitoryeffectsSUZIN asa chemicalcompared with*pistaciaatlantica*as acombined Zn plantantioxidantcapacityinreducingcancer hasbeen studied.

Materials and Methods: Pistachio nutaround Kermanwas collected.then they were dried in room temperature and extraction was performed for48 hours by maceration method.K562 Cell class wasincubatedinmediumRPMI-1640fortifiedwith10%(v/v)FBSand50%Streptomycin-Penicillin.
Cytotoxiceffect of hydro- ethanolic extract of*pistaciaatlantica*against cancer cells K562 was evaluated in three interval by MTTmethod. Light absorbance by Eliza device was measured in wavelength 540nm. Statistical analysis was performed using SPSS15software and ANOVA test.

Results: *Pistaciaatlantica*in24h and inconcentration100µg/ml andSuzin in48h and in 12.5µg/ml,72 h and in 50µg/ml induced growth inhibitionhalf of thecellswereK562.results obtained from changes in cell morphology influenced by hydro-ethanolic extract of*pistaciaatlantica*and SUZINsuggest abnormal transformation of cells that probably represents apoptosis and necrosis.

Conclusion: Time and concentration against cytotoxiceffect of *Pistaciaatlantica*have the combined effect. Whileiron supplementation,alonetimeisdue. Special concentration of *pistaciaatlantica*having high antioxidant capacitywith theSuzincan be considered as a potential target for inhibitingK562cells in treatment of blood cancer.

Keywords: *Pistacia Atlantica* extract, leukemia,cytotoxic, Suzin, K562.

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University,Isfahan, Iran.
Email: n_naghsh@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۷، شماره۶ (شماره پیاپی۸۷)، شهریور ۱۳۹۳، ۷۳-۶۶

مقایسه اثرات عصاره هیدرواتانلی پسته و شربت روی در مهار رشد سلول های رده K562 درشرایط برون تنی

فاطمه کیخائی[۱]، نوشین نقش[۲*]، مهردادمدرسی[۳]

۱-کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۲-استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۳-دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد خوراسگان(اصفهان)، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: لوسمی نوعی بیماری پیش رونده و بدخیم بافت‌های خون ساز بدن است. پسته درختی دو پایه، از نظر جغرافیایی در مناطق وسیعی از حوزه مدیترانه و خاورمیانه رویش دارد. رده سلولی K562 به عنوان مدل آزمایشگاهی فاز حاد لوسمی مزمن میلوئیدی انسانی در نظر گرفته می‌شود. در مطالعه حاضر اثرات مهاری رشد شربت روی به عنوان یک ترکیب شیمیایی حاوی روی در مقایسه با عصاره هیدرواتانلی دانه پسته به عنوان یک ترکیب گیاهی با ظرفیت بالای آنتی اکسیدانی در کاهش انواع سرطان‌ها، مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، دانه پسته از اطراف کرمان جمع‌آوری شد. در دمای اتاق خشک گردید و عصاره‌گیری به روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. رده سلولی K562 در محیط کشت 1640-RPMI، غنی شده با سرم جنین گاوی ۱۰ درصد و ۵۰ درصد استرپتومایسین – پنی‌سیلین انکوبه شد. اثرسایتوتوکسیک عصاره هیدرواتانولی دانه پسته برضد سلول‌های سرطانی K562 در سه فاصله زمانی توسط روش MTT ارزیابی شد. جذب نوری توسط دستگاه الایزا در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بررسی داده‌ها بااستفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ و آنالیز یک طرفه وآزمون توکی تست صورت گرفت. سطح معنی‌داری نیز کمتر از ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تیمار با عصاره هیدرواتانولی دانه پسته در ۲۴ ساعت و در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و شربت روی در ۴۸ ساعت، غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۷۲ ساعت، غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سبب مهار رشد نیمی از سلول‌های سرطانی K562 شدند. نتایج حاصل از تغییرات مورفولوژی سلولی تحت تاثیر عصاره پسته و شربت روی نشان‌دهنده تغییرشکل غیرعادی سلول‌ها می‌باشدکه احتمالا حاکی از آپوپتوز و نکروز می‌باشد.

نتیجه‌گیری: زمان و غلظت در مقابل اثرسایتوتوکسیکی پسته اثر توأم دارد در حالی که در شربت روی، زمان به تنهایی اثر دارد. پسته با دارا بودن ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا می‌تواند در کنار شربت روی با غلظت کم به عنوان یک هدف بالقوه در مهار سلول‌های K562 در درمان سرطان خون بررسی شود.

واژگان کلیدی: لوسمی، سایتوتوکسیک، K562، عصاره پسته، شربت روی

***نویسنده مسئول:** اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، گروه زیست شناسی

Email:n_naghsh@yahoo.com

مقدمه

لوسمی میلوئیدمزمن (Chronic Myeloid Leukemia-CML) یکی ازشناخته شده‌ترین انواع لوسمی است که به دلیل یک جا بجایی دو طرفه ژن abl برروی کروموزم ۹ و ژن bcr برروی کروموزم ۲۲ در سلول‌های بنیادی چند توان به وجود می‌آید. نتیجه این جابه جایی تشکیل هیبرید Bcr- Abl با وزن مولکولی ۲۱۰ کیلودالتون و دارای فعالیت مداوم تیروزین کیناز که پروتئین $P210^{Bcr-Abl}$ را کد می‌کند و باعث تکثیر بی‌رویه و نیز اختلال درآپوپتوز می‌گردد(۱، ۲). آپوپتوزیس، یک فرآیند تنظیم شده مرگ سلولی است که باعث حذف آسیب‌ها یا سلول‌های ناخواسته بدون آسیب در ارگانیسم‌های چند سلولی به منظور کنترل رشد و ثابت نگاه داشتن شرایط محیط داخل بدن می‌گردد و از طریق تغییرات ریخت شناسی از چروک خوردگی سلولی، متراکم شدن کروماتین و تشکیل اجسام آپوپتوتیک مشخص می‌گردد(۳). رده سلولی K562 به عنوان مدل آزمایشگاهی فاز حاد CML انسانی در نظر گرفته می‌شود(۴). یکی از مشکلات عمده در درمان اغلب سرطان‌ها از جمله لوسمی میلوئیدی مزمن، حذف تخصصی سلول‌های سرطانی می‌باشد. لذا در سال‌های اخیر، مطالعات گسترده‌ای در زمینه شناخت ژن‌های درگیر در رشد و خود نوزایی سلول‌های لوسمیک در حال انجام است. به طور کلی داروهایی که در شیمی درمانی به کار می‌روند منجر به القاء آپوپتوز و مهار رشد می‌شوند(۵). اما اثرات جانبی این داروها بر روی سلول‌های سالم و مقاومتی که سلول‌های سرطانی نسبت به آنها نشان می‌دهند، از مشکلات و موانع مهم در شیمی درمانی به شمار می‌روند(۶).

استفاده از درمان‌های ترکیبی یکی از شیوه‌های جدید درمان سرطان می‌باشد لذا در این تحقیق به بررسی مقایسه‌ای اثرات شربت روی و پسته بر رده سلولی K562 پرداخته شده است.

در بین کاتیون‌های بدن فلز روی دارای ششمین رتبه فراوانی می‌باشد(۷). روی به عنوان قسمتی از قطعه انگشت، روی گیرنده‌های هورمونی و در پروتئین (Annother Partner ARF-1)APA1 و دیگر اشکال پروتئینی در تنظیم تظاهر ژنی دخالت دارد(۸،۹).

علاوه براین روی به طور مستقیم می‌تواند از ایجاد شکاف DNA و در نتیجه ایجاد جهش ژنی جلوگیری کند و بدین وسیله منجربه کاهش خطر ابتلا به سرطان شود(۱۰).

پسته با نام علمی *Pistaciaatlantica* درختی دوپایه است که از نظر جغرافیایی در مناطق وسیعی از حوزه مدیترانه و خاورمیانه رویش دارند.

پسته بسیار مقوی و حاوی ویتامین‌های B_1، B_3، E و املاح مغذی شامل مواد پروتئین، مواد چرب که شامل اسید اولئیک(اسید چرب امگا۹)، اسید لینولئیک (اسید چرب امگا۶)، اسید پالمتیک، اسید استئاریک و اسید لینولنیک (اسید چرب امگا۳) و آهن، فسفر، روی، پتاسیم وکلسیم است. پسته از فیبر بالایی برخورداراست که علاوه بر این که حرکات غذا را در دستگاه گوارش زیاد می‌کند، درجلوگیری از بیماری‌های سرطانی نیز موثر است(۱۱). با توجه به وجود ترکیبات آهن، فسفر، روی و پتاسیم در پسته به صورت گیاهی و عدم بررسی دقیق این گیاه بر لوسمی، در این تحقیق هدف مقایسه اثرات شربت سوزین به عنوان یک ترکیب شیمیایی حاوی روی و عصاره هیدرواتانلی پسته به عنوان یک ترکیب گیاهی حاوی روی و دیگر عناصر ضروری، بر زیستایی سلول‌های K562 می‌باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی رده سلولی K562 از بانک سلولی انسیتو پاستور ایران تهیه شد. محیط کشت مناسب برای این رده سلولی محیط RPMI1640 (شرکت سیگما) همراه با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum-FBS) (شرکت سیگما) و ۱ درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین- استرپتومایسین (شرکت سیگما) بود. این سلول‌ها در ظروف کشت ۶ چاهکی و انکوباتور با ۵ درصد Co_2 و ۹۵ درصد رطوبت کشت داده شدند.

پسته با نام علمی *atlanticapistacia* از باغ‌های اطراف کرمان جمع‌آوری و در هر بار یوم دانشگاه آزاد فلاورجان درحد گونه و زیرگونه با کد ۰۶۳/۰۰۴/۰۰۱ شناسایی شد. در این تحقیق روش تهیه عصاره به شیوه خیساندن انجام شد. ابتدا ۰/۰۱ گرم از عصاره خشک شده دانه پسته را با ترازوی دیجیتال (C0006 ژاپن) وزن کرده و با بافر فسفات حل کرده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ ،۵۰ ،۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با روش کسری رقت ازعصاره تهیه شد.

شربت روی از شرکت الحاوی تهیه و با در نظرگرفتن آن به عنوان محلول استوک استاندارد، به کمک آب دیونیزه استریل، غلظت‌های ۵،۲۰،۵۰،۱۰۰/۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت سریالی تهیه کرده وبر رده سلولی K562 اثر داده شد.

سوسپانسیون سلولی به غلظت ۲×۱۰^{۴} سلول در میلی‌لیتر تهیه شد وبه ترتیب زیر عمل گردید(۱۲). در اولین ردیف دو پلیت ۹۶ خانه ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت به عنوان بلانک ریخته شد. در ردیف دوم هر پلیت۱۸۰ میکرو لیتر سوسپانسیون سلولی و۲۰ میکرولیترمحیط کشت به عنوان کنترل منفی ریخته شد. در ردیف سوم هرپلیت۲۰میکرولیتر دوکسوروبسین به عنوان کنترل مثبت افزوده شد. در مرحله بعد، بعد از ۲۴ ساعت انکوبه کردن۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره هیدرواتانولی دانه پسته و شربت روی به ترتیب به ردیف‌های چهارم تا دوازدهم هر پلیت اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. بعد از این مدت پلیت‌ها را از انکوباتور بیرون آورده و ۱۶۰ میکرولیتر از محیط رویی را با محیط جدید عوض کرده به چاهک‌ها ۲۰ میکرولیتر MTT اضافه گردید و به مدت سه ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. پس از سه ساعت،۱۸۰ میکرولیتر از محیط رویی را به آرامی برداشته و ۱۵۰ میکرولیتر DMSO (دی متیل سولفواکسید) به چاهک‌ها اضافه کرده تا کریستال‌های فورامازون حل شود.

جذب نوری محلول با استفاده از دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۴۰ نانومتر در سه فاصله زمانی۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت خوانده شد.

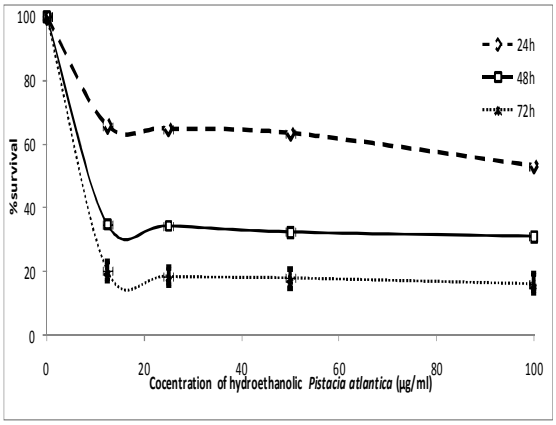
در تحقیق حاضر کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار گردید و نتایج به صورت میانگین سه بار تکرار ±خطای استاندارد نمایش داده شد. بررسی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ و آنالیز یک طرفه آنووا وآزمون توکی تست صورت گرفت. سطح معنی‌داری نیز کمتر از ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شد.

یافته ها

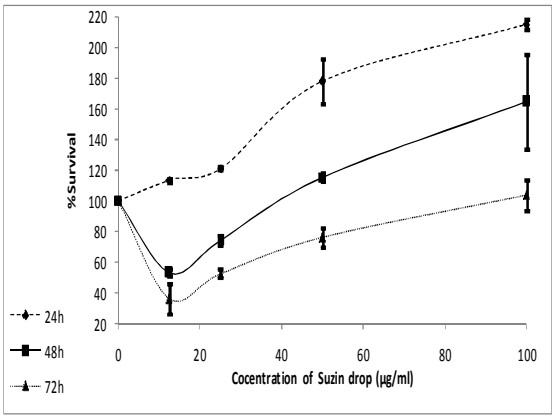
براساس آزمون MTT (Methyl) ThiazolTehrazzolium نتایج نوری(OD) برحسب غلظت‌های ۱۲/۵ ،۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دانه پسته و شربت روی در مقایسه با میزان بقای سلولی در ۲۴، ۴۸ ،۷۲ ساعت به دست آمد. مهار رشد سلول‌های K562 بعد از یک بار تیمار با عصاره هیدرواتانولی پسته با غلظت‌های متفاوت (۱۲/۵ تا ۱۰۰میکروگرم بر میلی لیتر) برای زمان‌های مختلف می‌باشد. اثرات مهار رشد عصاره هیدرواتانولی دانه پسته بر روی سلول‌های K562 بعد از ۲۴ ساعت مشاهده شده و به صورت وابسته به زمان افزایش یافت به طوری که در ۷۲ ساعت به بیشترین میزان خود می‌رسد. به عنوان مثال در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و بعد از زمان‌های ۲۴ ،۴۸، ۷۲ ساعت رشد سلول‌ها به ترتیب به میزان ۴۷، ۷۰ و ۸۴ درصد کاهش می‌یابد. این اثرات هم‌چنین به صورت وابسته به غلظت می‌باشد به طوری که به عنوان نمونه بعد از ۷۲ ساعت تیمار با عصاره هیدرواتانولی دانه پسته در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر، رشد سلول‌های K562 به ترتیب به میزان ۸۰، ۸۲، ۸۳ و ۸۴ درصد مهار می‌شود.

درصد بقاء سلول‌های K562 تیمار شده با پسته در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و ۲۴ ساعت برابر با IC50=۵۳ (غلظتی از تیمار که در آن پنجاه درصد سلول‌ها در محیط کشت از بین می‌روند)، در ۴۸ ساعت به IC50=۳۰/۹۹ و در ۷۲ ساعت به IC50=۱۶/۲۰ کاهش یافته است.

ولی اثرات سایتوتوکسیکی شربت سوزین وابسته به زمان است. درصد بقاء سلول‌های K562 تیمار شده با شربت سوزین در غلظت ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی لیتر و ۲۴ ساعت برابر با IC50=۱۱۳ است که این مقدار با گذشت ۴۸ ساعت به IC50=۵۲/۸۶ و در ۷۲ ساعت به IC50=۳۵/۸۶ کاهش یافته است. عصاره هیدرواتانولی پسته نسبت به شربت روی در مقایسه با کنترل اثر سایتوتوکسیکی بیشتری بر زیستایی سلول‌های K562 داشته است(نمودار۱ و ۲).



نمودار۱. بررسی اثر سایتوتوکسیکی زمان (۲۴،۴۸،۷۲ ساعت) درعصاره هیدرواتانولی دانه*Pistaciaatlantica* بر درصد بقـاء سلول های K562



نمودار۲. بررسی اثر سایتوتوکسیکی زمان (۲۴،۴۸،۷۲ ساعت) درشربت روی بر درصد بقاءسلول های K562

*معنی دار بودن را نشان می دهد($p< ۰/۰۱$).

**($p< ۰/۰۰۱$).

نتایج نشان می‌دهد که در طول ۳ روز، میزان بقای سلول K562 رو به کاهش است. هم‌چنین آنالیز آماری داده‌ها نشان دهنده معنی‌داری نتایج بود($p<۰/۰۰۱$). در زمان ۲۴ ساعت بقای سلولی شروع به کم شدن کرده است که کم‌ترین درصد بقای سلول K562 در زمان ۷۲ به ثبت رسیده است(جدول ۱).

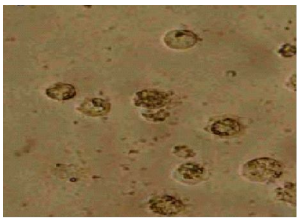
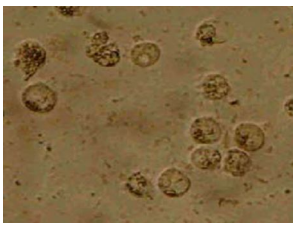
جدول ۱. مقایسه درصدرشد سلول های K562 در حضور غلظت های مختلف دانه پسته و شربت روی

	غلظت	درصد بقاء ۲۴ ساعت	درصد بقاء در ۴۸ ساعت	درصد بقاء در ۷۲ ساعت	p	درصد بقاء کل
	۱۲/۵	۶۵/۵۹±۰/۴۴	۳۴/۹۷±۰/۱۵	۲۰/۱۵±۲/۹۸	<۰/۰۰۱	۴۰/۲۳±۲۰/۱۳
پسته	۲۵/۰۰	۶۴/۷۹±۰/۱۱	۳۴/۴۹±۰/۳۵	۱۸/۴۵±۲/۶۶	<۰/۰۰۱	۳۹/۲۵±۲۰/۴۳
	۵۰/۰۰	۶۳/۴۰±۰/۳۶	۳۲/۲۵±۰/۱۶	۱۷/۸۳±۳/۱۲	<۰/۰۰۱	۳۷/۸۳±۲۰/۲۳
	۱۰۰/۰۰	۵۳/۱۵±۰/۲۱	۳۰/۹۹±۰/۰۶	۱۶/۲۰±۳/۰۷	<۰/۰۰۱	۳۳/۴۵±۱۶/۱۸
	p	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۴۷۹	*<۰/۰۰۱	۰/۸۸۴
	۱۲/۵	۱۱۳/۳۱±۱/۲۷	۵۲/۸۶±۲/۳۱	۳۵/۸۶±۹/۹۳	<۰/۰۰۱	۶۷/۳۴±۳۵/۶۳
شربت روی	۲۵/۰۰	۱۲۰/۸۷±۱/۰۳	۷۳/۷۹±۳/۵۹	۵۲/۳۹±۲/۵۴	<۰/۰۰۱	۸۲/۳۵±۳۰/۴۲
	۵۰/۰۰	۱۷۷/۸۴±۱۵/۱۵	۱۱۵/۳۵±۲/۸۴	۷۵/۸۶±۶/۶۲	<۰/۰۰۱	۱۲۳/۰۱±۴۵/۳۱
	۱۰۰/۰۰	۲۱۵/۱۲±۳/۱۰	۱۶۴/۵۰±۳۱/۱۹	۱۰۳/۶۹±۹/۹۴	۰/۰۰۱	۱۶۱/۱۱±۵۱/۰۴
	p	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	*۰/۰۱۳	<۰/۰۰۱

نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار آمده است.

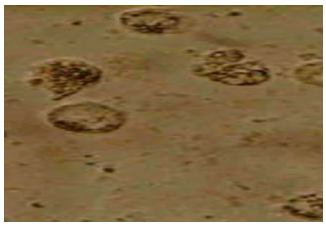
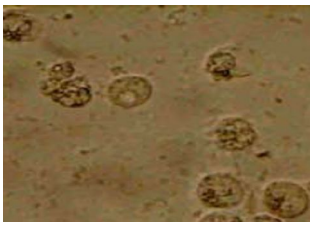
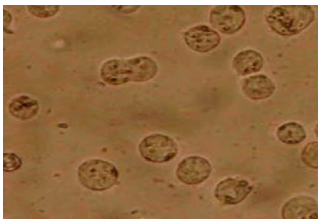
برای بررسی تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های K562 تیمار شده با عصاره هیدرواتانولی پسته در غلظت ۱۰۰میکروگرم بر میلی لیتر، زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت (شکل ۱) و شربت روی در غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر، زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت(شکل ۲)، از میکروسکوپ معکوس با درشت نمایی ۴۰۰ استفاده شد.

برای مشخص شدن نوع مرگ سلولی و بررسی این موضوع که آیا پسته و شربت روی سبب القای مرگ به طریق آپوپتوز یا نکروز می‌شوند یاخیر، نیاز به میکروسکوپ فلورسنت و آزمون قطعه قطعه شدن DNA است که نیاز به بررسی مولکولی دارد.

الف ب ج

شکل ۱. الف: گروه کنترل سلول‌های نرمالK562.۱- ب: سلول‌های K562 تیمار با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر **عصاره هیدرواتانولی دانه پسته بعد از ۴۸ ساعت . ۱-ج: سلول‌های K562 تیمار باغلظت ۱۰۰** میکروگرم بر میلی لیتر **عصاره هیدرواتانولی دانه پسته بعد از ۷۲ ساعت. (درشت نمایی ۴۰۰، میکروسکوپ معکوس)**

الف ب ج

شکل۲. الف: گروه کنترل سلول‌های نرمال K562.۲- ب: سلول‌های K562 تیمار با غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر **شربت روی بعد از ۴۸ ساعت . ۲-ج: سلول‌های K562 تیمار با غلظت ۱۲/۵** میکروگرم بر میلی لیتر **شربت روی بعد از ۷۲ ساعت. (درشت نمایی۴۰۰،میکروسکوپ معکوس)**

بحث

استفاده از روش‌های کشت سلولی درک بسیار عمیق‌تری از تاثیر داروها و گیاهان دارویی برروی سلول‌های سرطانی و طبیعی پدید می‌آورد. اگر چه تاکنون روش‌ها و داروهای متعددی برای درمان مبتلایان به سرطان خون به کار گرفته شده است اما با توجه به وجود مقاومت دارویی تلاش‌های گسترده‌ای در جهت یافتن ترکیبات موثری که پتانسیل تومور کشی بیشتری داشته باشند و قادر به غلبه بر مقاومت دارویی باشند در جریان است. طب گیاهی قدیمی‌ترین شکل درمان است که از سوی بشر شناخته شده و از دیر باز مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده از این روش درمانی در تمامی تمدن‌ها سابقه دارد و یک جزء مهم در پیشرفت علم پزشکی رایج به شمار می‌رود.

در مطالعه حاضر نشان داده شد که عصاره هیدرواتانولی پسته به صورت وابسته به غلظت و زمان، سبب مهار رشد، تا ۸۰ درصد در سلول‌های K562 به عنوان مدلی برای فاز بلاست CML می‌شود، به طوری که غلظت و زمان بهینه، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از۷۲ ساعت از تیمار می‌باشد. هم‌چنین تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ معکوس با بزرگنمایی ۴۰۰X نشان داد که مکانیسم عملکرد پسته احتمالا از طریق القای آپوپتوز و نکروز در سلول‌های K562 می‌شود.

زمان و غلظت اثر توأم بر اثر سایتوتوکسیکی عصاره هیدرواتانولی دانه پسته دارد که این اثر به ترکیبات موجود در این گیاه از جمله فلاونوئیدها و ویتامین‌ها و املاح مخصوصا روی بر می‌گردد که دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی برای درمان بیماری‌ها هستند. با توجه به این موضوع که خواص آنتی اکسیدانی پسته بر سلول‌های K562 حائز اهمیت است و چنین اثراتی از پسته در مورد سرطان‌های دیگر نیز مشاهده شده است.

به عنوان مثال در مطالعه‌ای نشان داده شد که ویتامین E موجود در پسته نقش مهمی در پیش‌گیری از ابتلا به بسیاری از سرطان‌ها به ویژه سرطان ریه دارد. احتمالا مکانیسم عملکرد پسته، تجمع آنتی اکسیدان‌ها به خصوص ویتامین E در سلول‌های سرطانی است که به دلیل از دست رفتن مکانیسم کنترل هموستازیس در خود جمع‌آوری می‌کنند. تجمع آنتی اکسیدان‌ها در سلول‌های سرطانی مانع از انجام واکنش اکسیداتیو در جهت انرژی می‌شود. این تغییرات سبب افزایش آهنگ مرگ سلول‌های سرطانی و کاهش پرولیفراسیون سلولی و تمایز آن می‌شود(۱۳). هم‌چنین آنتی اکسیدان‌ها از جمله ویتامین E می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرند وموجب کاهش اثرات آسیب رسان آنها شوند(۱۴).

روی می‌تواند نقش مهمی را در درمان سرطان ایفا کند به ویژه این که روی می‌تواند سلول‌های طبیعی را در مقابل اثرات مضر داروهای ضد سرطان واشعه محافظت کند(۱۵).

شربت روی به عنوان یک مکمل، برخلاف خود روی به صورت خالص در غلظت بالا درصد بقاء سلول‌های K562 را افزایش داد. به طوری که شربت روی در غلظت کم و با گذشت زمان بیشتر (۴۸ ساعت) نسبت به دانه پسته، نیمی از سلول‌های سرطانی راکاهش می‌دهد و افزایش غلظت روی، اثری عکس برجای گذاشت.

در مقایسه دانه پسته با شربت روی کمترین درصد بقاء سلول‌های K562، غلظت ۱۰۰ برای دانه پسته و غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای شربت روی و جالب آن که بیشترین درصد بقاء سلول‌های K562 برای پسته وشربت روی حالت عکس دارد(۱۲/۵ برای پسته و۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای شربت روی).

نتیجه گیری

از آنجا که اختلال در فرآیند آپوپتوز یکی از نقص‌های رایج در سلول‌های سرطانی می‌باشد، القای آپوپتوز می‌تواند به عنوان یکی از استراتژی‌های مورد توجه در درمان سرطان به شمار آید. پسته با دارا بودن ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا می‌تواند در کنار شربت روی در غلظت کم به عنوان یک هدف بالقوه در مهار سلول‌های K562 مطرح گردد. برای مطالعات بیشتر دراین زمینه برای کار با حیوانات آزمایشگاهی و در صورت مثبت بودن نتایج، تعمیم آن برای درمان سرطان خون پیشنهاد می‌گردد.

تشکر وقدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد فاطمه کیخائی می‌باشدکه تمام هزینه این پژوهش توسط اینجانب تامین شده است. بدین وسیله از همه افرادی که زمینه را برای این پژوهش در دانشگاه قهدریجان فراهم کرده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. Blood. 2000;96(10):3343-56.
2. Bosch G, Joosten AM, Kessler JH, Melief C, Leeksma OC. Recognition of BCR-ABL positive leukemic blasts by human CD4+ T cells elicited by primary in vitro immunization with a BCR-ABL breakpoint peptide. Blood. 1996;88(9):3522-7.
3. Moosavi MA, Yazdanparast R, Sanati MH. The cytotoxic and anti-proliferative effects of 3-hydrogenkwadaphnin in K562 and jurkat cells is reduced by guanosine. Journal of biochemistry and molecular biology. 2005;38(4):391-2.
4. Lozzio BB, Lozzio CB. Properties and usefulness of the original K-562 human myelogenous leukemia cell line. Leukemia research. 1979;3(6):363-70.
5. Kemnitzer W1, Drewe J, Jiang S, Zhang H, Zhao J, Crogan-Grundy C, Xu L, Lamothe S, Gourdeau H, Denis R, Tseng B, Kasibhatla S, Cai SX. Discovery of 4-aryl-4H-chromenes as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high-throughput screening assay. 3. Structure-activity relationships of fused rings at the 7,8-positions. J Med Chem. 2007;50(12):2858-64.

6. Wong S, McLaughlin J, Cheng D, Witte ON. Cell context–specific effects of the BCR-ABL oncogene monitored in hematopoietic progenitors. Blood. 2003;101(10):4088-97.
7. Leary W, Olhaberry J, Reyes A, Lockett C. Zinc metabolism under physiological conditions. South African Medical Journal/Suid-Afrikaanse Mediese Tydskrift. 1983; 64(8):283-4.
8. Nemoto K, Kondo Y, Himeno S, Suzuki Y, Hara S, Akimoto M, et al. Modulation of telomerase activity by zinc in human prostatic and renal cancer cells. Biochemical pharmacology. 2000;59(4):401-5.
9. Rudolf E, Červinka M. External zinc stimulates proliferation of tumor Hep-2 cells by active modulation of key signaling pathways. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2008;22(2):149-61.
10. Anastassopoulou J, Theophanides T. Magnesium–DNA interactions and the possible relation of magnesium to carcinogenesis. Irradiation and free radicals. Critical reviews in oncology/hematology. 2002;42(1):79-91.
11. Mahmoud Abadi A. Leukemia (Blood cancer). Mashhad: Kerdegari Publisher. 2008. p. 11-55.[Persian]
12. Edgren G, Tran TN, Hjalgrim H, Rostgaard K, Shanwell A, Titlestad K, et al. Improving health profile of blood donors as a consequence of transfusion safety efforts. Transfusion. 2007; 47(11):2017-24.
13. Bergman M, Varshavsky L, Gottlieb HE, Grossman S. The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. Phytochemistry. 2001; 58(1):143-52.
14. Lomnitski L, Bergman M, Nyska A, Ben-Shaul V, Grossman S. Composition, efficacy, and safety of spinach extracts. Nutrition and cancer. 2003;46(2):222-31.
15. Li F, Huang Q, Chen J, Peng Y, Roop DR, Bedford JS, et al. Apoptotic cells activate the" phoenix rising" pathway to promote wound healing and tissue regeneration. Science signaling. 2010; 3(110):ra13-4.