مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و نهم، شماره سه، خرداد ۱۴۰۰
تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۵/۲۸
تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۰۸/۲۶

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

خاصیت ضد توموری عصاره هسته زردآلو بر لوسمی‌های حاد از طریق تنظیم چرخه سلولی

شیوا مصدق منشادی[۱]، فاطمه نادعلی[۲]، محمدرضا شمس اردکانی[۳*]

مقاله پژوهشی

مقدمه: زردآلو از جمله گیاهان خانواده *Rosacea* می‌باشد. فعالیت ضد توموری این خانواده بر روی سرطان‌های‌کولون، پروستات، مثانه، سرویکس، ریه و سینه در پژوهش‌های پیشین به اثبات رسیده است، که این ویژگی به یک ترکیب طبیعی به نام آمیگدالین نسبت داده می‌شود. بنابراین، در این پژوهش به بررسی تأثیر عصاره هسته زردآلو، بر روی لوسمی‌های حاد که تا کنون مطالعه ای روی آن‌ها انجام نشده بود پرداختیم.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، عصاره آبی، اتیل استاتی و هیدروالکلی از هسته زردآلو تهیه شد. در دوزهای مختلف بر روی رده‌های سلولی NALM-6 و KG-1 تأثیر داده شد. میزان زنده‌مانی سلول‌ها با آزمون MTT مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از رنگ آمیزی دوگانه فلوروسنت، آپوپتوز سلول‌ها تشخیص داده شد. در نهایت پیشرفت چرخه سلولی با استفاده از کیت BD Cycle TEST PLUS DNA تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: نتایج نشان داد که عصاره‌های مختلف سبب مهار وابسته به دوز، در هر دو رده Kg1 و Nalm6 می‌گردد. با توجه به نتایج تستMTT، قوی‌ترین IC_{50} مربوط به اثر ۴۸ ساعته عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو می‌باشد. آنالیز سلول‌ها با میکروسکوپ فلورسنت، نشان دهنده آپوپتوز بود. استفاده از عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو در هر دو رده سلولی، تعداد سلول‌ها را در فاز G0/G1 افزایش داده و سبب کاهش تعداد سلول‌ها در فاز G2/M شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو می‌تواند منجر به کاهش تکثیر رده‌های سلولی Kg1 و Nalm6 احتمالاً از طریق تنظیم چرخه سلولی گردد.

واژه‌های کلیدی: زردآلو، لوسمی حاد، KG-1، Nalm-6 ، چرخه سلولی

ارجاع: مصدق منشادی شیوا، نادعلی فاطمه، شمس اردکانی محمدرضا. **خاصیت ضد توموری عصاره هسته زردآلو بر لوسمی‌های حاد از طریق تنظیم چرخه سلولی**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۳): ۱۹-۳۶۱۱.

۱،۲- گروه آموزشی هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و طب ایرانی و مرکز تحقیقات داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، تهران ، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۲۱۶۶۴۸۲۷۰۷، پست الکترونیکی: shams@tums.ac.ir، صندوق پستی: ۱۴۱۷۶۱۴۴۱۱

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

مقدمه

طبق تعریف امروزی، لوسمی حاد به تکثیر سریع و کلونال سلول‌های پروژنیتور لنفوئیدی و میلوئیدی که به ترتیب لنفوبلاست و میلوبلاست اطلاق می‌شوند، در مغز استخوان اشاره دارد (۱). لوسمی‌های حاد بر اساس نوع سلول بنیادی درگیر شامل دو گروه بزرگ می‌باشند: اگر نقص عمدتاً بر بلوغ و تمایز پیش‌سازهای مشترک میلوئیدی اثر بگذارد لوسمی میلوئیدی حاد و اگر اثر بر پیش‌سازهای مشترک لنفوئیدی باشد لوسمی از نوع لوسمی لنفوبلاستی حاد است (۲). درمان این لوسمی‌ها به‌طور مرسوم شامل استفاده از داروهای شیمی‌درمانی و آنتی‌بادی‌های منوکلونال است. یک نوع از این داروها، آنالوگ‌های پورین مثل فلودارابین می‌باشد که باعث مهار سنتز DNA و ترمیم آن می‌شود و مسیر آپوپتوزی را فعال می‌کند. در حال حاضر درمان انتخابی لوسمی پیوند مغز استخوان می‌باشد (۳). گیاهان خانواده rosacea که دارای توزیع گسترده می باشند و بادام تلخ، زردآلو و... را شامل می‌شوند، دارای یک ترکیب طبیعی به نام آمیگدالین می‌باشند (۴). آمیگدالین دارای اثر ضدتوموری با رسوب دادن مواد کارسینوژن در بدن، کشتن سلول‌های سرطانی، مهار منبع تغذیه‌ای سلول‌های توموری و مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌باشد (۵). این ویژگی‌ها آمیگدالین را به یک داروی ضد تومور نویدبخش تبدیل کرده که اگر با داروهای شیمی‌درمانی مرسوم ترکیب گردد می‌تواند اثرات سینرژیک ایفا کند. محققین طی بررسی سرطان‌های کولون، پروستات، مثانه، سرویکس، ریه و سینه نشان دادند که آمیگدالین استخراج شده از هسته زردآلو سبب تعویق پیشرفت چرخه سلولی شده و توقف در G0/G1 را افزایش می‌دهد. قدرت تکثیر سلول‌ها درinvitro به‌وسیله این ترکیب کاهش می‌یابد که این امر به غلظت بالایی از این ماده نیاز دارد. هم‌چنین قدرت تهاجمی و مهاجرت سلول‌ها به‌وسیله آمیگدالین مهار می‌شود (۶-۱۱ ،۴). آمیگدالین مستخرج از هسته زردآلو سبب کاهش بیان ژن‌های دخیل در چرخه سلولی و هم‌چنین کاهش سطح mRNA این ژن‌ها در سلول‌های سرطان کولون انسانی می‌گردد (Hae-Jeong Park و همکاران (۲۰۰۵) (۶). درمان با این ماده سبب افزایش بیان پروتئین‌های پروآپوپتوتیک Bax و کاهش بیان پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک Bcl-2 و افزایش فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در سلول‌های سرطان پروستات می‌شود (Hyun-Kyung CHANG و همکاران (۲۰۰۶) (۷). آمیگدالین حاصل از هسته زردآلو به‌صورت وابسته به دوز رشد و تکثیر هر ۳ رده سلولی سرطان مثانه را از طریق تعویق پیشرفت چرخه سلولی و توقف در G0/G1 کاهش می‌دهد (Makarevic J و همکاران۲۰۱۴) (۸). حیات سلول‌های سرطان سرویکس به‌طور چشمگیری به‌وسیله این ترکیب مهار می‌شود که این عمل به‌وسیله افزایش بیان پروتئین‌های پروآپوپتوتیک Bax و کاهش بیان پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک Bcl-2 و افزایش فعالیت آنزیم کاسپاز۳ در سلول‌های هلا (Hela) صورت می‌گیرد (Yu Chen و همکاران۲۰۱۳) (۴). قدرت تکثیر سلول‌های سرطان ریه در invitro به وسیله آمیگدالین کاهش می‌یابد که این امر به غلظت بالایی از این ماده نیاز دارد. هم‌چنین قدرت تهاجمی و مهاجرت سلول‌ها به‌وسیله آمیگدالین مهار می‌شود. آمیگدالین نقش بالقوه‌ای در درمان و کاهش متاستاز سلول‌های سرطان ریه ایفا می‌کند (Liyu Qian و همکاران ۲۰۱۵) (۱۰). عصاره آمیگدالین دارای اثر سایتوتوکسیک بر روی گیرنده‌های استروژن سلول‌های سه گانه منفی سرطان سینه می‌باشد و سبب القای آپوپتوز در این سلول‌ها وکاهش چسبندگی آن‌ها می‌شود. پس به‌طور کلی آمیگدالین کاربرد بالقوه‌ای در کاهش پیشروی سرطان سینه دارد (Hye Min Lee and Aree Moon ۲۰۱۶) (۱۱). بنابراین در این مطالعه تصمیم گرفتیم تا اثرات ضد توموری عصاره هسته زردآلو که حاوی مقادیر زیادی آمیگدالین است را بر رده‌های سلولی لوسمی حاد یعنی ALL (Acute Lymphoid Leukemia) و AML (Acute Myeloid Leukemia) و پیشروی چرخه سلولی—که تابحال مطالعه‌ای بر روی آن‌ها صورت نگرفته است، سنجیده و مکانیسم القاء این اثرات را دریابیم. باتوجه به اثرات جانبی عدیده‌ای که داروهای شیمی درمانی برروی سلامت بیمار دارند نتایج حاصل از این پژوهش پس از انجام مطالعات تکمیلی می‌تواند به‌عنوان درمان مکمل یا

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

جایگزین این نوع داروها برای لوسمی‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

روش بررسی

رده‌های سلولی NALM-6 و KG-1 از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. محیط کشت RPMI1640 حاوی ۲۰ mM بافر HEPES و گلوتاماکس ۱٪ و همچنین پنی‌سیلین/ استرپتومایسین از شرکت فرانسوی Biosera و سرم جنین گاوی (FBS) از شرکت Gibco آمریکا تهیه شدند. جهت تغلیظ عصاره‌ها از روتاری Heidolph آلمان استفاده شد و جهت بررسی حیات سلول‌ها از MTT و DMSO سیگما آلدریچ آمریکا و دستگاه الایزا ریدر BioTek ELx808 آمریکا استفاده گردید.

کشت سلولی

رده‌های سلولی لوسمی لنفوئیدی حاد به نام NALM-6 و لوسمی میلوئیدی حاد به نام KG-1 هر کدام به طور جداگانه در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۲۰ mM بافر HEPES و گلوتاماکس ۱٪ و۱۰٪ سرم جنین گاوی FBS غیرفعال شده با حرارت و ۱۰۰ µg/ml پنی سیلین/ استرپتومایسین کشت داده شدند. سلول‌های کشت داده شده در انکوباتور ۳۷ ˚C با ۵٪ CO_2 و رطوبت ۹۵٪ رشد داده شده و هر ۳-۲ روز محیط کشت آن‌ها تعویض شد.

آماده‌سازی عصاره

۲۰۰ گرم از هسته‌های زردآلوی خریداری شده از بازار پس از خشک شدن با هاون آسیاب شدند. ابتدا پودر دانه‌ها در دکانتور درمجاورت حلال اتردوپترول به مدت ۴۸ ساعت جهت جداسازی روغن قرار گرفتند. بعد از روغن گیری اجازه داده شد تا پودر دانه کاملاً خشک شده و حلال آن تبخیر گردد. سپس ۵۰ گرم از آن جهت تهیه عصاره آبی وزن شد. برای این منظور پودر دانه به مدت ۳۰-۴۵ دقیقه در آب ۹۰ ˚C خیسانده و سپس با کاغذ صافی صاف شد. جهت تهیه عصاره اتیل استاتی، ۵۰۰ ml اتیل استات به مابقی پودر دانه در دکانتور افزوده شد. بعد از ۴۸ ساعت حلال خارج گشت و این کار سه بار تکرار شد. این پروسه با متانول ۶۰٪ به منظور تهیه عصاره هیدروالکی تکرار گردید. عصاره حاصل از هر مرحله با کاغذ صافی فیلتر شد و با روتاری در ۱۰۰ rpm و دمای ۴۰ ˚C تغلیظ گشت.

تست MTT

جهت بررسی حیات سلول‌ها از تست MTT استفاده شد. سلول‌ها در پلیت ۹۶ خانه با غلظت ۵×۱۰^{۴} سلول در هر خانه کشت داده شد. هر دو رده سلولی با عصاره‌های آبی، اتیل استاتی و متانولی در غلظت ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ mg/ml به مدت ۱۲،۲۴،۳۶،۴۸ ساعت تیمار شدند. سپس ۵۰ µl MTT به هر خانه پلیت افزوده شد و بعد از ۴ ساعت انکوباسیون مایع رویی خارج شده و ۱۰۰ µl DMSO جهت حل کردن MTT اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گشت. سپس جذب نوری توسط دستگاه الایزا ریدر در ۴۹۲ nm خوانده شد. این تست حداقل ۳ بار تکرار شد.

رنگ‌آمیزی دوگانه فلوروسنت با میکروسکوپ فلوروسنت

یکی از روش‌های تشخیص آپوپتوز سلول‌ها بر اساس مورفولوژی سلولی، استفاده از میکروسکوپ فلوروسنت و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید. آکریدین اورانج است. برای انجام این تست ابتدا تعداد ۳×۱۰^{۵} سلول در هر چاهک از پلیت ۶ خانه کاشته شد. بعد از۲۴ ساعت انکوباسیون، سلول‌ها توسط عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو که دارای بهترین IC_{50} در هر دو رده بود تیمار گشته (هر رده سلولی توسط دوز IC_{50} ویژه خود تیمار شد) و یک خانه به عنوان کنترل خالی گذاشته شد. سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. (زمان اپتیمومی که توسط MTT مشخص شد). پس از انکوباسیون سلول‌ها، سوسپانسیون سلولی به داخل فالکون انتقال و به رسوب سلولی مقدار ۴ µl، ترکیبی از دو رنگ اتیدیوم بروماید/آکریدین اورانج با غلظت ۱mg/ml افزوده و توسط میکروسکوپ فلوروسنت آنالیز صورت گرفت.

آنالیز چرخه سلولی

به‌منظور تجزیه و تحلیل چرخه سلولی، جمعیت سلول‌های توموری پس از قرار گرفتن در معرض عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو با پروپیدیم یدید رنگ‌آمیزی گردیده، با استفاده ازکیت BD Cycle TEST PLUS DNA و سپس با دستگاه BD FACS Calibur فلوسیتومتری انجام شد. داده‌ها با

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

استفاده از نرم‌افزار BD Cell FIT جمع‌آوری و پیشرفت چرخه سلولی با استفاده از نرم افزار ModFit تجزیه و تحلیل شد. تعداد سلول‌ها در هر مرحله به صورت ٪ گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمام آزمایشات به صورت دوگانه و با سه بار تکرار انجام شد. IC_{50} با استفاده از نرم افزار Excel 2013 محاسبه شد و آنالیز چرخه سلولی با استفاده از نرم‌افزار BD Cell FIT انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین±SD (انحراف معیار) برای تمام آزمایشات بیان شد. جهت یافتن تفاوت‌های چشمگیر بین گروه تست و کنترل از نرم افزار GraphPad Prism 5.0 استفاده گردید. تفاوت آماری چشمگیر به صورت *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 در مقایسه با کنترل تعریف شد.

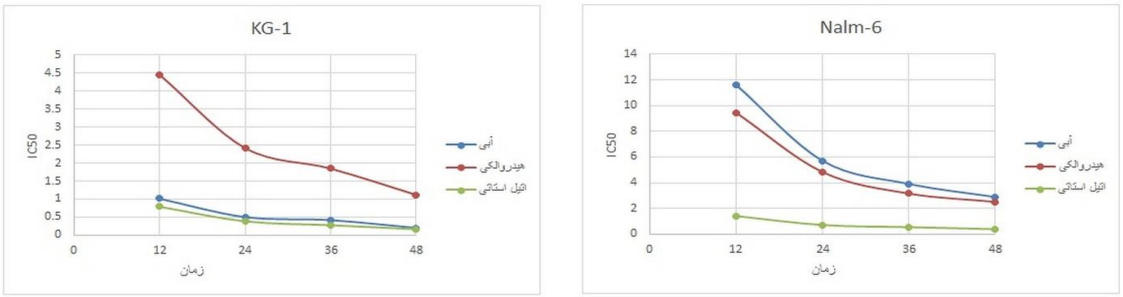
ملاحضات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی تهران تأیید شد (کد اخلاق:IR.TUMS.SPH.RCE.1395.1342).

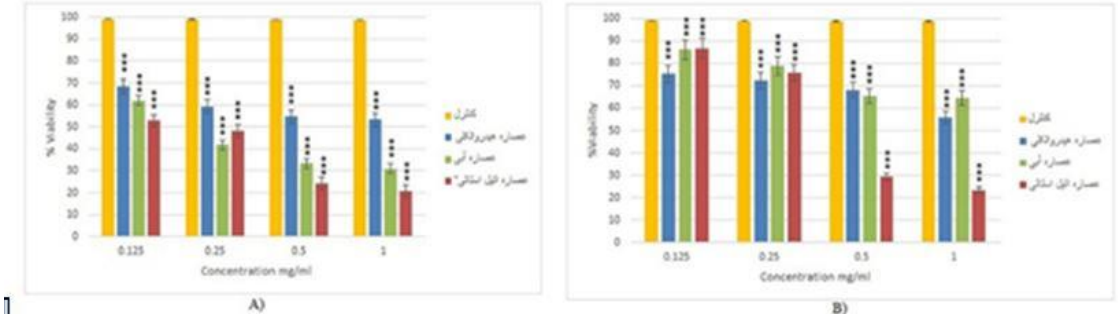
نتایج

محاسبه IC_{50} عصاره‌های مختلف هسته زردآلو در تست MTT

تیمار سلول‌ها با عصاره‌های آبی، هیدروالکلی و اتیل استاتی هسته زردآلو در دوزهای ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ mg/ml به مدت ۱۲،۲۴،۳۶،۴۸ ساعت نشان داد که عصاره اتیل استاتی دارای کمترین IC_{50} در هر دو رده KG-1 و Nalm-6 در زمان ۴۸ ساعت و بیشترین درصد مهار نسبت به سایر عصاره‌ها می باشد (شکل۱). به‌طور کلی با افزایش غلظت تمامی عصاره‌ها قابلیت زنده مانی سلول‌ها کمتر شده و عصاره‌ها در غلظت بالاتر اثر مهاری بیشتری از خود نشان می‌دهند. در تمامی مراحل تست سه بار تکرار شده و داده‌های به‌دست آمده به صورت Mean±SD بیان شدند (شکل۲).



شکل۱: میزان IC_{50} عصاره‌های آبی، هیدروالکلی و اتیل استاتی برای رده‌های سلولی Kg-1 و Nalm-6 در زمان‌های ۱۲ ، ۲۴ ، ۳۶ و ۴۸ ساعت



شکل۲: تأثیر عصاره‌های آبی، هیدروالکلی و اتیل استاتی هسته زردآلو بر زنده مانی رده‌های سلولی KG-1 و NALM-6 . آزمایش حداقل سه بار تکرار شد. داده‌ها بیانگر میانگین± SD (انحراف معیار) از سه آزمایش مستقل که هر کدام به‌صورت سه تایی در مقایسه با کنترل انجام شدند، می‌باشد ,NALM-6 (B) . KG-1 (A) علامت*** نشانگر $p<0.001$ در مقایسه با کنترل می باشد.

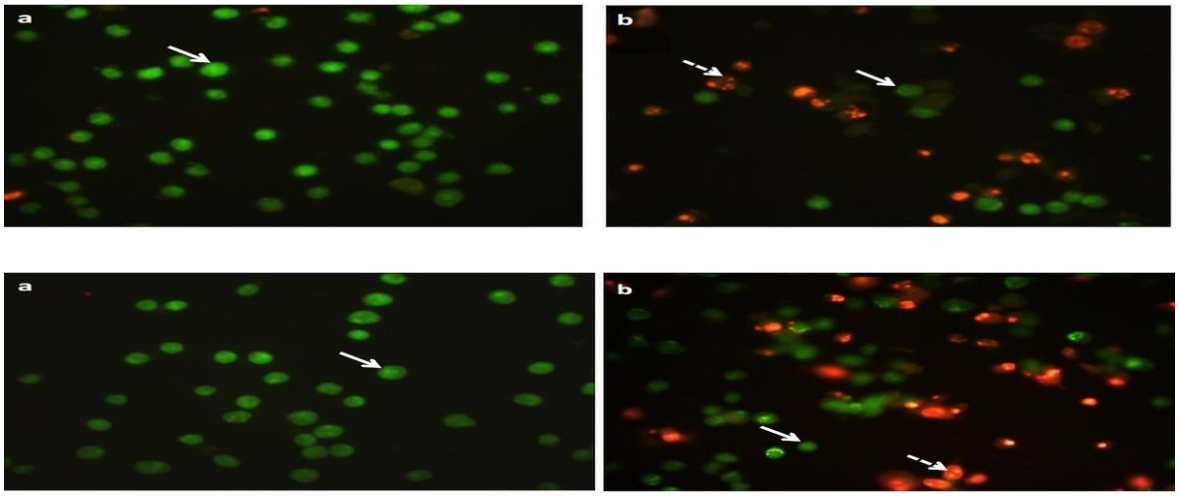
[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

بررسی آپوپتوز با فلوسیتومتری با رنگ آمیزی دوگانه در رده‌های سلولی Nalm6 و Kg1 با رنگ آمیزی اتیدیم برمید / آکریدین نارنجی و تجزیه و تحلیل با میکروسکوپ فلورسنت

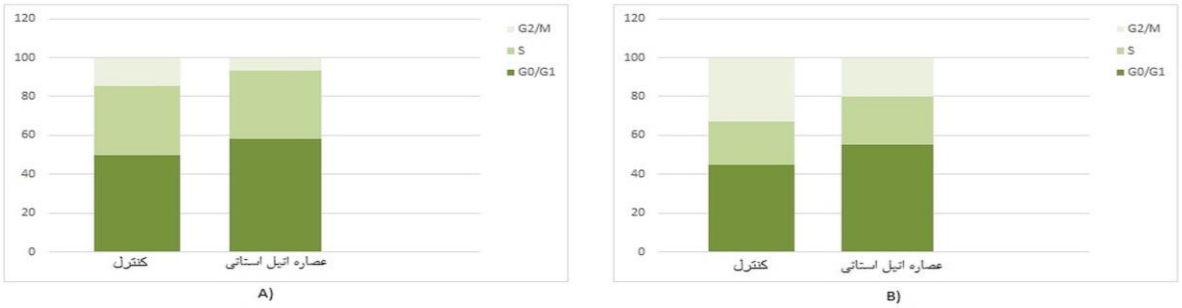
مطالعات میکروسکوپ فلورسنت در حضور کنترل و عصاره اتیل استاتی در غلظت IC_{50}، هر یک از رده‌های سلولی با غلظت IC_{50} عصاره اتیل استاتی مربوط به خود تحت تیمار قرار گرفتند، نشان داد که تمام سلول‌ها در گروه کنترل سبز هستند، به این معنی که سلول‌ها زنده و سالم می‌باشند. آکریدین نارنجی توسط سلول‌های زنده جذب می‌شود و به DNA سلول‌ها متصل می‌شود، که کروماتین سلول‌ها به رنگ سبز در زیر میکروسکوپ فلورسنت دیده می‌شوند. در گروه دیگر که با عصاره اتیل استاتی تیمار شدند، سلول‌ها دچار آپوپتوز شده و به رنگ نارنجی قرمز بودند. اتیدیم برمید فقط در سلول‌های مرده جذب می‌شود و به DNA سلول‌ها متصل می‌شود و آن‌ها را به رنگ نارنجی قرمز در می‌آورد. این آزمایش به‌منظور تأیید وجود آپوپتوز در هر دو رده سلولی انجام شد (شکل۳).

چرخه سلولی

عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو بسته به نوع رده سلولی تومور، پیشرفت چرخه سلولی را تنظیم می‌کند. به کارگیری عصاره اتیل استاتی در رده سلولی KG-1 تعداد سلول‌های G0 / G1 را افزایش داده ($P = 0.0151$) و تعداد سلول‌های G2 / M را کاهش داد (p=٪۱۲۳). در سلول‌های رده Nalm-6 تعداد سلول‌های فاز G0 / G1 افزایش یافته است (P =٪۰۱۱۴)، اما تعداد سلول‌های موجود در فاز G2 / M کاهش یافته است (= P ٪۲۵۷) (شکل۴).



شکل۳: نتایج مربوط به میکروسکوپ فلورسنت در رده سلولی Nalm6 و Kg1. (A) کنترل. (B) عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو



شکل۴: آنالیز چرخه سلولی رده‌های Kg-1 و Nalm-6 تحت تیمارقرارگرفته با عصاره اتیل استاتی به مدت ۴۸ ساعت (کنترل‌ها بدون تیمار باقی ماندند). جمعیت سلولی به صورت درصد کل سلول‌های مورد بررسی بیان شده است. یک آزمایش از سه آزمایش انجام شده، نشان داده شده است.

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

بحث

در مطالعه حاضر، تأثیر عصاره هسته زردآلو بر زنده‌ماندن سلولی و پیشرفت چرخه سلولی در رده‌های سلولی لوسمی حاد برای تعیین مکانیسم‌های ضد تکثیری عصاره هسته زردآلو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که زنده‌مانی سلول‌ها در هر دو رده سلولی KG-1 و Nalm-6 به دوز عصاره و نوع سلول وابسته بوده و میزان بقای سلول‌های توموری با افزایش دوز عصاره کاهش می‌یابد. آنالیز آپوپتوز با فلوسیتومتری با رنگ‌آمیزی دوگانه در این رده‌های سلولی که تحت تیمار با عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو قرار گرفته بودند، وجود آپوپتوز در هر دو رده سلولی را تأیید می‌کند. این عصاره پیشرفت چرخه سلولی را بسته به نوع رده سلولی تعدیل می‌کند و باعث افزایش تعداد سلول‌های فازG0 / G1 و کاهش تعداد سلول‌ها در فاز G2 / M می‌شود. امروزه فعالیت‌های دارویی ترکیبات گیاهی باعث افزایش علاقه جامعه علمی به آن‌ها به عنوان ترکیبات ضد توموری شده است (۱۲). بسیاری از گیاهان که با خواص ضد سرطانی شناخته شده‌اند، اثرات خود را از طریق القای آپوپتوز و هم‌چنین تقویت سیستم ایمنی بدن ایفا می‌کنند (۱۳). به عنوان یک گیاه دارویی، اثرات ضد تکثیری خانواده rosaceous که حاوی مقدار زیادی از یک ماده مهم به نام آمیگدالین می‌باشد در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است (۷). در سال ۲۰۱۶، Hye Min Lee و Aree Moon نشان دادند که آمیگدالین آپوپتوز و چسبندگی را در سلول‌های سرطان سینه سه‌گانه منفی Hs578T تنظیم می‌کند (۱۱). Makarevic J و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که آمیگدالین مستخرج از هسته زردآلو باعث القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی مثانه می‌شود (۸). علاوه بر این در سال ۲۰۰۵ Hae-Jeong Park et al. نشان داد که عصاره هسته زردآلو ژن‌های ویژه درگیر در چرخه سلولی در رده سلولی سرطان روده بزرگ را به‌صورت منفی تنظیم می‌کند. در سال ۲۰۰۳ مشخص شد که عصاره هسته زردآلو باعث بروز آپوپتوز در لوسمی پرومیلوسیتیک انسانی (HL-60) می‌شود (۱۴). در مطالعه حاضر، نتایج MTT نشان داد که با افزایش دوز عصاره به‌ویژه در عصاره اتیل استاتی، بقای سلول‌های توموری کاهش می‌یابد. همان‌طور که در سال ۲۰۰۵ ، Park HJ و همکاران گزارش دادند که عصاره هسته زردآلو دارای اثر سیتوتوکسیک وابسته به دوز بر رده سلولی سرطان روده بزرگ انسان (SNU-C4) است (۶). آن‌ها هم‌چنین گزارش دادند که تیمارسلول‌های لوسمی میلوئید مزمن انسان (رده سلولی K562) با آمیگدالین در غلظت‌های مختلف منجر به کاهش میزان زنده مانی سلول‌ها به حالت وابسته به دوز می‌شود. این یافته‌ها تأیید می‌کنند که هسته زردآلو به سبب غنی بودن از آمیگدالین دارای خاصیت ضد تکثیری می‌باشد (۱۵). در این پژوهش آنالیز آپوپتوز با میکروسکوپ فلورسنت در رده‌های سلولی Nalm-6 وKg-1 حضور آپوپتوز را نشان داد. عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو در هردو رده سلولی تعداد سلول‌های فاز G0 / G1 را افزایش داده و تعداد سلول‌های فاز G2 / M را کاهش داد. در سال ۲۰۰۵ Hyun-Kyung Chang و همکاران نشان دادند که عصاره هسته زردآلو باعث القا آپوپتوز درسلول‌های سرطانی پروستات می‌شود (۷). Makarevic´ J و همکاران در سال ۲۰۱۴، آپوپتوز رده‌های سلولی سرطان مثانه UMUC-3، TCCSUP و RT-112 تیمار شده با آمیگدالین حاصل از هسته زردآلو در غلظت‌های ۱، ۱۰، ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر را با استفاده از کیت Anexin-V-FITC / PI ارزیابی کردند. آن‌ها رابطه وابسته به دوز بین غلظت آمیگدالین و سلول‌های آنکسین V مثبت را نشان دادند. تحقیقات آن‌ها نشان داد که بسته به نوع سلول توموری، آمیگدالین پیشرفت چرخه سلولی را تعدیل می‌کند (۸). Hee-Young Kwon و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که عصاره هسته زردآلو باعث القاء آپوپتوز در سلول‌های لوسمی پرومیلوسیتیک انسانی (HL-60) می شود (۱۴). بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره هسته زردآلو دارای توانایی القاء آپوپتوز و تنظیم چرخه سلولی در رده‌های سلولی سرطانی می‌باشد. در مطالعات پیشین انجام شده، محققان فقط سلول‌ها را به مدت ۲۴ ساعت تیمار نمودند، در حالی‌که ما از زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت برای تیمار استفاده کردیم. در اکثر این مطالعات به‌استخراج آمیگدالین از هسته زردآلو پرداخته

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

شده و سپس آمیگدالین خالص شده برای تیمار سلول‌ها مورد استفاده قرار گرفت، در حالی‌که در این پژوهش، ما از عصاره هسته زردآلو جهت تیمار استفاده نمودیم. در مطالعه حاضر سنجش فعالیت آنزیمی Caspase3 و آنالیز وسترن‌بلات پروتئین‌های Bcl2 و Bax به دلیل عدم دسترسی به کیت و هزینه‌های بالا انجام نشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، مطالعه in vitro حاضر مشخص کرد که عصاره اتیل استاتی هسته زردآلو می‌تواند اثرات ضد تکثیری بر روی رده‌های سلولی Nalm-6 و Kg-1 از طریق القای آپوپتوز و تنظیم پیشرفت چرخه سلولی داشته باشد. با این‌حال، پیشنهاد می‌شود که مطالعات آینده بر جداسازی ترکیبات مؤثره عصاره اتیل استاتی و ارزیابی مکانیسم‌های مولکولی آپوپتوز آن‌ها در رده‌های سلولی و نیز حیوانات تمرکز کند.

سپاس‌گزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. مقاله حاصل از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم شیوا مصدق منشادی می‌باشد.

حامی مالی: دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1-Keohane EM, Smith LJ, Walenga JM. ***Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications***. 5th Ed. Elsevier: Canada 2016: 605

2-Kaushansky K, Litchtman MA, Prchal JT, Levi MW, Press OW, Burns LJ, Caligiuri MA. ***Williams Hematology***. 9th Edn. New York; Mc Graw Hill 2016; 1396: 1528

3-Hoffbrand AV, Moss PA. ***Hoffbrand's Essential Haematology***. 7th Ed. London: Wiley-Blackwell 2016: 149-53

4-Chen Y, Ma J, Wang F, Hu F, Cui A, Wei CH, et al . ***Amygdalin Induces Apoptosis in Human Cervical Cancer Cell Line Hela Cells***. Immunopharmacol Immunotoxicol 2013; 35(1): 43-51

5-Song Z, Xu X. ***Advanced Research on Anti-Tumor Effects of Amygdalin***. J Cancer Res Ther 2014; 10(5): 3-7.

6-Park HJ, Yoon SH, Han LS, Zheng LT, Jung KH, Uhm YK, et al. ***Amygdalin Inhibits Genes Related to Cell Cycle in SNU-C4 Human Colon Cancer Cells.*** World J Gastroenterol 2005; 11(33): 5156-61.

7-Chang HK, Shin MS, Yang HY, Lee JW, Kim YS, Lee MH, et al. ***Amygdalin Induces Apoptosis through Regulation of Bax and Bcl-2 Expressions in Human DU145 and Lncap Prostate Cancer Cells***. Biol Pharm Bull 2006; 29(8):1597-602.

8-Makarević J, Rutz J, Juengel E, Kaulfuss S, Reiter M, Tsaur I, et al. ***Amygdalin Blocks Bladder Cancer Cell Growth in Vitro By Diminishing Cyclin a and Cdk2***. Plos One 2014; 9(8): E105590.

9-Makarević J, Rutz J, Juengel E, Kaulfuss S, Tsaur I, Nelson K, et al. ***Amygdalin Influences Bladder Cancer Cell Adhesion and Invasion in Vitro.*** Plos One 2014; 9(10): E110244.

10-Qian L, Xie B, Wang Y, Qian J. ***Amygdalin-Mediated Inhibition of Non-Small Cell Lung Cancer Cell Invasion in Vitro***. International J Clinical and Experimental Pathology 2015; 8(5): 5363.

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

11-Lee HM, Moon A. ***Amygdalin Regulates Apoptosis and Adhesion in Hs578T Triple-Negative Breast Cancer Cells.*** Biomol Ther (Seoul) 2016; 24(1): 62-6.

12-Rahman MM, Khan MA. ***Anti-Cancer Potential of South Asian Plants***. Natural Products and Bioprospecting 2013; 3(3): 74-88.

13-Akerele O. ***Medicinal Plants and Primary Health Care: An Agenda for Action***. Fitoterapia 1988; 59(5): 355-63.

14-Hee-Young K, Seon-Pyo H, Dong-Hoon H, Hee KJ. ***Apoptosis Induction of Persicae Semen Extract in Human Promyelocytic Leukemia (HL-60) Cells***. Archives of Pharmacal Research 2003; 26(2):157-61.

15-Park HJ, Baik HW, Lee SK, Yoon SH, Zheng LT, Yim SV, et al. ***Amygdalin Modulates Cell Cycle Regulator Genes in Human Chronic Myeloid Leukemia Cells.*** Mol Cell Toxicol 2006; 2(3):159-65.

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6205]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 15:14 IRDT on Monday May 31st 2021

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 29| NO 3 | Jun 2021
Received: 18 Aug 2020
Accepted: 16 Nov 2020

Anti-proliferative Effects of Prunus Armeniaca Semen on Acute Leukemia by Regulate of Cell Cycle Progression

Shiva Mosadegh Manshadi[1], Fatemeh Nadali[2], Mohammad Reza Shams Ardekani[†3]

Original Article

Introduction: Prunus armeniaca is one member of the *Rosaceae* family. Antitumor activity of this family on the colon, prostate, bladder, cervix, lung and breast cancers has been proven in previous research, which is attributed to a natural compound called amygdalin. Therefore, in this study, we investigated the effect of apricot kernel extract on acute leukemia that has not been studied before.

Methods: In this experimental study, Aqueous, ethyl acetate, and hydro alcoholic of the Armeniacae semen extracts were prepared. The NALM-6 and KG-1 cell lines were treated with different doses of extracts; cell viability was investigated with MTT test and using double staining fluorescent, cell apoptosis was detected. Cell cycle progression was analyzed, using a BD Cycle TEST PLUS DNA Kit.

Results: The results showed that different extracts of Prunus armeniaca induced dose-dependent inhibition in both Kg1 and Nalm6 cell lines. According to the results of MTT test, the strongest IC50 in Kg1 and Nalm6 cell lines was related to the 48h effect of ethyl acetate extract of Prunus armeniaca. Fluorescent microscopy analysis showed apoptosis. The ethyl acetate extract application in both cell lines increased the number of cells in the G0 / G1 phase and decreased the number of cells in the G2 / M phase.

Conclusion: It seems that ethylacetat extract of Prunus armeniaca can reduce the proliferation of Kg1 and Nalm6 cell lines, probably by regulates cell cycle progression.

Keywords: Apricot kernels (Prunus armeniaca L.); KG-1; Nalm-6; Cell cycle; acute leukemia.

Citation: Mosadegh Manshadi SH, Nadali F, Shams Ardekani M.R. **Anti-proliferative Effects of Prunus Armeniaca Semen on Acute Leukemia by Regulate of Cell Cycle Progression.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 29(3): 3611-19.

[1,2]Department of Hematology and Blood Banking, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[3]Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Persian Medicine and Pharmacy Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 02166482707**, email:** Sham@tums.ac.ir