مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و ششم - بهار ۱۳۹۶

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.) بر روی رده سلولی A549

ساناز نیکومنش، علی محمد اصغریان*
گروه زیست شناسی سلولی و مولکلولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

چکیده

سابقه و هدف: سرطان ریه مهم‌ترین عامل مرگ ناشی از سرطان در دنیا می‌باشد و از آن جایی که اغلب درمان‌های امروزی سرطان ناکارآمد و دارای عوارض جانبی زیادی هستند، لذا یافتن درمان موثر و جایگزین ضروری به نظر می‌رسد. گیاه گزنه با نام علمی *Urtica dioica* L. از تیره *Urticaceae* گیاهی چند ساله، علفی گلدار است که ارزش غذایی و دارویی بالایی دارد. لذا در پژوهش حاضر تأثیر سیتوتوکسیکی عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.) بر روی رده سلولی A549 مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه، برای اولین بار، اثر سیتوتوکسیکی عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بر روی رده سلولی A549 مورد بررسی قرار گرفت. به طوری که برگ های گیاه گزنه دو پایه در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۴ از منطقه سه‌هزار تنکابن جمع‌آوری شد و جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش $DPPH^0$ مورد ارزیابی قرار گرفت. رده سلولی A549 در محیط DMEM با ۲۰ درصد سرم جنین گاوی کشت داده شد. غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه دو پایه (۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی سلول‌های سرطانی A549 اثر داده‌شد. در ادامه توانایی حیات سلول‌ها با استفاده از روش MTT بررسی شد.

یافته‌ها: در بررسی حاضر درصد مهار رادیکال آزاد $DPPH^0$ برابر با ۶۷/۷۹ درصد و هم‌چنین مقدار IC_{50} ۴/۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه گردید. نتایج حاصل از تست MTT ، این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه اثر سایتوتوکسیک وابسته به دوز بر روی رده سلولی A549 دارد. IC_{50} این عصاره برای سلول‌های A549 غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج MTT در مدت زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت تفاوت معنی داری نداشتند، ولی با مدت زمان ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه به صورت وابسته به دوز قادر، به از بین بردن سلول‌های سرطانی بوده و خواص سایتوتوکسیکی از خود نشان داد. بدین ترتیب این گیاه می تواند به عنوان یک گیاه دارویی بر علیه سرطان ریه مورد پژوهش وسیع تری قرار گیرد.

واژه های کلیدی: *Urtica dioica* L.، سرطان، A549، عصاره اتانولی، سیتوتوکسیک، آنتی‌اکسیدانی

مقدمه:

سرطان دومین عامل مرگ و میر بعداز بیماری‌های قلبی عروقی در بسیاری از جوامع از جمله ایران است (۱۷).

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی سلولی و مولکلولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
پست الکترونیک: mehranasgharian@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۱۰

درمان سرطان‌های مرسوم باعث اثرهای جانبی جدی می‌شود به طوری که دسترسی به دارویی با اثر بخشی بالا، سمیت کم، که به صورت اختصاصی بر سلول‌ها تاثیر گذاشته و ارزان باشد یکی از دغدغه‌های مهم جوامع دارویی دنیا و حوزه درمان می باشد. در این زمینه درمان گیاهان دارویی می‌تواند یکی از پایه های اصلی کنترل و درمان سرطان باشد و به نظر می‌رسد معرفی داروهای مورد استفاده در طب سنتی به ویژه گیاهان دارویی سرآغاز مناسبی برای تدوین پروژه‌های تحقیقاتی جهت دستیابی به داروهای نوین باشد. به هر حال سرطان یک

مشکل مهم سلامتی در کشورهای درحال توسعه محسوب می شود و به طور عمده درمان ها مناسب و کافی نیستند (۵).
درمان و پیش‌گیری از سرطان یک چالش بزرگ در جوامع بشری در سراسر دنیا به شمار می‌رود.
سرطان ریه شایع‌ترین سرطان در دنیاست و به عنوان یک اپیدمی در نظر گرفته می‌شود. در سال ۲۰۰۲ میلادی بیش از ۱/۳ میلیون نفر مبتلا به این بیماری بودند، ۲۹ درصد از کل مرگ‌های ناشی از سرطان مربوط به سرطان ریه می باشد (۱۳، ۲۶، ۳۳).
واژه سرطان ریه در مورد تومورهای ناشی از اپی‌تلیوم تنفسی به کار می رود (۲).
سرطان ریه[1] نوعی بیماری است که مشخصه آن رشد کنترل نشده سلول در بافت‌های ریه است. اگر این بیماری درمان نشود، رشد سلولی می‌تواند در یک فرایند به نام متاستاز به بیرون از ریه گسترش پیدا کند و به بافت‌های اطراف یا سایر اعضای بدن برسد (۱۸).
عامل عمده ابتلا به سرطان ریه مجاورت طولانی مدت با مواد سرطان‌زا و کارسینوژن (موجود در دود تنباکو) می باشد، ۱۵٪ از موارد سرطان ریه مربوط به افراد غیر سیگاری (۳۶) و افرادی که در ارتباط با فاکتورهای مضر ژنتیکی مثل گاز رادون (۱۵)، آزبستوز (۷)، آلودگی هوا و یا سیگاری‌های ثانویه (استنشاق دود سیگار دیگران) می باشد (۲۸). به نظر می‌رسد که ویروس‌ها نیز می‌توانند در حیوان‌ها ایجاد سرطان ریه نمایند (۹)، البته پتانسیل ایجاد سرطان ریه در انسان نیز مطرح شده‌است (۲۳).
به‌طورکلی سرطان‌های ریه از نظر آسیب شناختی و بر اساس سلول‌ها و رفتارهای این سرطان‌ها نسبت به درمان و پیش آگاهی بیماران به دو دسته بزرگ سرطان ریه با سلول کوچک[2] و سرطان ریه با سلول غیرکوچک[3] تقسیم می شوند. شواهد بیانگر آن است که سلول‌های بنیادی اپیتلیوم ریه چند پتانسیلی[4] بوده و توانایی تمایز به فنوتیپ‌های مختلفی را دارند (۱).
به‌علاوه، استفاده از گیاهان در درمان سرطان دارای تاریخچه های طولانی است، به‌طوری که گیاهان منابع اولیه جهت تهیه داروهای سنتی مؤثر در درمان این بیماری بوده‌اند. اگرچه ترکیب‌های واقعی جدا شده از گیاهان کمابیش ممکن‌است به عنوان دارو به کار نروند، اما گیاهان به عنوان منابع مهمی برای ایجاد و توسعه فاکتورهای بالقوه جدید برای محققان محسوب می‌گردند. رژیم های غذایی غنی از منابع گیاهی نه تنها ویتامینهای ضروری و مواد معدنی مورد نیاز بدن را فراهم می‌کنند، بلکه بالغ بر ۲۵ هزار ماده شیمیایی گیاهی (فیتوکمیکال[5]) در گیاهان مختلف وجوددارند که کمابیش دارای اثرهای و خواص بیولوژیک هستند (۱۴، ۲۷).
داروهای گیاهی به علت عدم وجود عوارض جانبی، اهمیت بیش‌تری در پیش‌گیری انواع سرطان دارند. دانشمندان در حال بررسی منابع مختلف دارویی با درمان مؤثر و بدون عوارض جانبی می‌باشند (۲۹، ۳۱).
گزنه دارای گونه‌های متعددی (۳۰ – ۴۵گونه) است (۸)، ولی سه گونه عمده آن که از نظر دارویی مورد توجه هستند و در ایران نیز یافت می‌شوند عبارتند از گزنه درشت[6]، گزنه کوچک[7] و گزنه یونانی[8](۳۰).
نکته قابل ذکر این است که این سه گونه تفاوت چندانی باهم ندارند و گونه گزنه درشت و گزنه کوچک از زمان‌های بسیار دور مورد توجه قرارداشته و از گونه‌های مهم به شمار می‌آیند (۲۱).
گزنه گیاهی است علفی، چندساله و دارای ساقه‌های راست به ارتفاع ۰/۵ تا یک متر و حتی بیش‌تر که کمابیش در اماکن مخروبه، باغ‌ها و نقاط مرطوب خارج‌شهر، به حالت خودرو می روید (۳۵، ۲۱).
این گیاه دارای اعضای پوشیده از تارهای مخروطی شکل و گزنده دارد که در صورت لمس‌کردن ، محتویات سوزآور آن در پوست بدن وارد می‌گردد که تولید خارش و سوزش می‌کند و شاید به همین دلیل آن را گزنه نامیده‌اند (۲۰).
گزنه از دوران ما قبل تاریخ وجود داشته و مردم آن زمان از آن برای تغذیه استفاده می‌کردند و از خواص درمانی آن آگاهی داشتند (۲۱).
این گیاه در طب سنتی ایران نیز وجود داشته و به عنوان یک داروی کاهنده گلوکز خون معرفی شده‌است (۱۱).
اسیدگالیک، اسید فرمیک (جوهرمورچه)، کاروتنو ویتامینA، تانن، موسیلاژ، پتاسیم، آهن، کلسیم، سیلیکون، ویتامین C از ترکیب‌های شیمیایی این گیاه هستند (۱۰، ۱۹).
از سوی دیگر بدن نیاز به ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان دارد، زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که مانع فعالیت رادیکال های آزاد شده و یا سبب حذف آن‌ها می‌شوند و سلول‌های

1 Lung cancer
2 Small Cell Lung Cancer (SCLC)
3 Non Small Cell Cancer (NSCLC)
4 Pluripotent

5 Phytochemical
6 *U.dioica* L.
7 *U.urens* L.
8 *U.pilulifera* L

بدن را از اثرهای مخرب این ترکیب‌ها مصون نگاه می‌دارند، از این رو با روند پیری و ابتلا به بیماری‌های مختلف مبارزه می کنند. این مواد می‌توانند از تشکیل رادیکال‌های آزاد در بدن جلوگیری کنند و در صورت تشکیل، تأثیر آن‌ها را بر بدن کاهش دهند .در حقیقت آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که برای پیش‌گیری و یا کند نمودن آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون در بدن به کار می‌روند و به عنوان خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل نموده و از این رو باعث پیش‌گیری از آسیب ناشی از این ترکیب‌ها در بدن می‌شوند. این ترکیب‌ها از یک طرف باعث کاهش خطر ابتدا به بیماری های قلبی عروقی و سکته می‌شوند و از طرف دیگر از پیشرفت سرطان‌ها که موجب آسیب به DNA می‌شوند جلوگیری می کنند (۲۵).

با توجه به اینکه روش و نوع حلال به کار رفته، در استخراج ترکیب‌های فرار گیاهان دارویی بسیار مؤثرند، در این پژوهش اجزای عصاره برگ گیاه گزنه دو پایه (درشت) به روش جوشاندن و با حلال اتانولی استخراج شد (۳، ۳۲).

به منظور بررسی اثر توکسیسیتی عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بر مهار تکثیر رده سلولی A549 از این آزمون استفاده شد.

مواد و روش ها

الف : جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

برگ‌های گیاه گزنه در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۴ از منطقه سه‌هزار شهرستان تنکابن واقع در شمال غرب مازندران جمع‌آوری شدند. سپس توسط کارشناس هرباریوم دانشگاه آزاداسلامی واحد تنکابن مورد شناسایی و تأیید قرارگرفت و با کد ۷۵۸ ثبت گردید. در نهایت نمونه‌ها به دور از نور مستقیم خورشید نگه داشته شده و در سایه خشک گردیدند و توسط دستگاه آسیاب ، پودر آن تهیه گشت.

جهت تهیه عصاره اتانولی ۱۵ گرم از پودر خشک شده برگ گیاه گزنه به ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۵٪ اضافه شد. ۱۵ دقیقه مخلوط با حرارت ملایم جوشانده شد وسپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک، فیلتر شد و در فالکون ۵۰ ریخته شد، در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ب: اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش $DPPH^0$

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، از طریق اندازه‌گیری ظرفیت مهار رادیکالی $DPPH^0$ مورد بررسی قرارگرفت(۳۴).

بدین‌منظور، ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار $DPPH^0$ به ۱ میلی لیتر از عصاره اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت گردید. آسکوربیک‌اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و در نهایت، مقدار به دام اندازی رادیکال $DPPH^0$ با فرمول زیر محاسبه شد.

درصد مهار رادیکال آزاد = $(Ao-As)/Ao \times 100$

Ao = جذب شاهد

As = جذب عصاره مورد آزمایش

پ: نگهداری و کشت سلولی

رده‌ی‌سلولی A549 به صورت فلاسک کشت از انستیتوپاستور ایران با مشخصه‌های موجود در جدول ۱ خریداری گردید و در محیط کشت DMEM با ۲۰ درصد سرم‌جنین گاوی (FBS) و۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/استرپتومایسین (جهت جلوگیری از رشد قارچ) نگهداری و پاساژ داده شد.

شرایط لازم برای رشد سلول‌ها دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، میزان CO_2 ۵٪ همراه با ۹۵٪ رطوبت است که این شرایط به وسیله انکوباتور(NÜVE مدلEC160) تأمین شد. برای انجام تست MTT، زمانی که سلول‌ها حداقل به ۷۰ درصد رشد سلولی رسیدند توسط تریپسین-اتیل دی آمین تترا استیک اسید[1] از ته فلاسک جدا شده و در دور ۱۷۰۰ rpm به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی در یک سی‌سی محیط کشت به حالت سوسپانسیون تهیه شد و درصد زنده بودن سلول‌ها در سوسپانسیون سلولی با مخلوط کردن آن با نسبت مساوی از تریپان بلو، و شمارش آن‌ها توسط لام نئوبار در زیر میکروسکوپ نوری تعیین شد.

پس از اطمینان، از عدم آلودگی سلول‌ها، برای انجام تست از سلول‌های با درصد زنده بودن بالای ۹۰ درصد استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات رده‌ی‌سلولی A549

نام رده‌سلولی	Code NCBI	منشا	محیط کشت
A549	C137	ریه	DMEM

ت: بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه دوپایه:

به منظور بررسی اثر عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه دو پایه بر تکثیر سلول‌های سرطانی A549 از روش رنگ‌سنجی نمک تترازولیوم (MTT) استفاده شد.

1 Trypsin-EDTA(1X)

برای این تست تعداد 10^4 سلول به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون غلظت‌های ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی سلول‌های سرطانی A549تیمار شد. پس از طی زمان‌های مذکور ۱۰ میکرولیتر محلول MTT و ۱۰۰میکرولیتر محیط کشت پایه به هر چاهک اضافه شد. پلیت به مدت ۴ ساعت در تاریکی درون انکوباتور CO_2 با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعداز گذشت این زمان به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیترDMSO اضافه شد و برای خواندن با جذب نوری ۴۹۲ و ۶۳۰ نانومتر در دستگاه الیزا ریدر (DANA مدلDA3200) قرار داده شد.

درصد زنده بودن سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{توانایی زیستی سلول‌ها} = \frac{OD\ \text{نمونه}}{OD\ \text{کنترل}} \times 100$$

برای مقایسه نتایج علاوه بر فرمول اشاره شده در بالا که به صورت میانگین ۹ بار تکرار آزمایشات محاسبه گردید. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شد و اختلاف آماری میان تیمارها توسط آزمون تی بررسی گردید و(P<۰/۰۵) به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش $DPPH^0$

نتایج حاصل از ارزیابی قدرت مهار رادیکال‌آزاد عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه در جدول۲ ارائه شده است. طبق نتایج مشخص گردید که درصد مهار رادیکال‌آزاد $DPPH^0$ ۶۷/۷۹ درصد و هم‌چنین مقدار IC_{50} ۴/۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می باشد.

جدول ۲: نتایج آزمون $DPPH^0$ عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه جمع‌آوری شده از ارتفاعات سه هزاردرشهرستان تنکابن

درصد مهار رادیکال‌آزاد $DPPH^0$	۶۷/۷۹
IC_{50}	۴/۳۰

نتایج سمیت‌سلولی عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بر روی رده سلولی سرطانی A549 توسط روشMTT

میزان درصد زنده بودن سلول‌های A549 با غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج به صورت میانگین ۹ بار تکرار آزمایش می‌باشد.

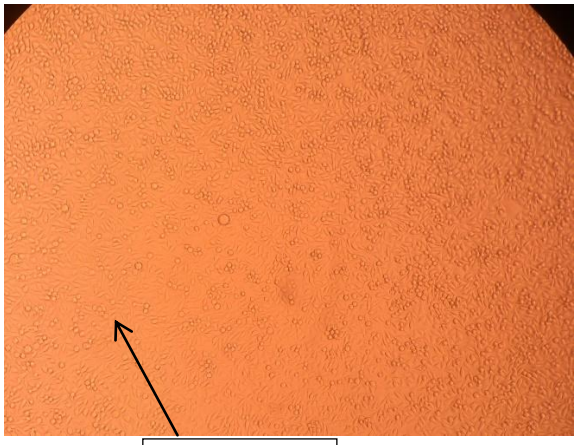
جدول۳: میانگین‌کل درصد سلول‌های زنده در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه برروی رده‌ی‌سلولی A549

میزان غلظت میلی‌گرم برمیلی‌لیتر	میانگین توان زیستی		
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
کنترل	۱۰۰ ± ۰	۱۰۰± ۰	۱۰۰ ± ۰
سلول+ عصاره	۸۲/۱۲± ۰/۱۹	۹۰/۴۱ ± ۰/۱	۱۰۰ ± ۰
غلظت ۵	۴۱/۸۲ ± ۰/۱	**۵۱/۵۸± ۰/۰۱**	۴۹/۴۷± ۰/۲
غلظت ۲/۵	۵۷/۵۵±۰/۰۳	۸۵/۰۹±۰/۰۰۱	۸۵/۹۷±۰/۰۴
غلظت ۱/۲۵	۸۹/۰۷ ± ۰/۰۵	۹۰/۰۶ ± ۰/۰۳	۱۰۰ ± ۰
غلظت ۰/۵	۹۷/۰۶ ± ۰/۰۶	۱۰۰ ± ۰	۱۰۰ ± ۰

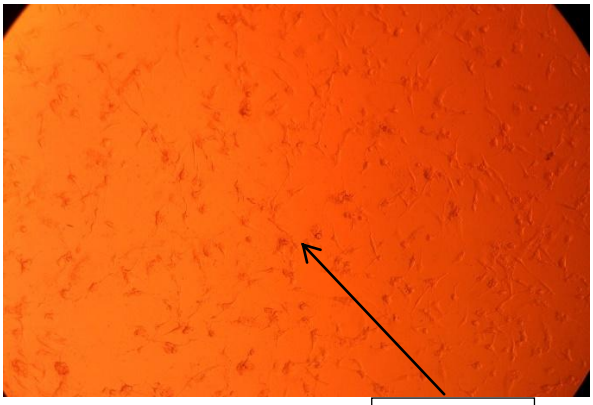
*مقادیر به صورت میانگین ± انحراف از معیار بوده و تفاوت میانگین‌ها در سطح $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شده‌است.

نتایج سمیت سلولی غلظت‌ها و زمان‌های مختلف عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه برروی رده سلولی A549 در جدول ۳ نشان داد که ۵۰ درصد از سلول‌ها (شکل۲) در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت نسبت به کنترل (شکل۳و۴) از بین رفته‌اند. از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که IC_{50} عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه برای رده سلولی A549 غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت می‌باشد.

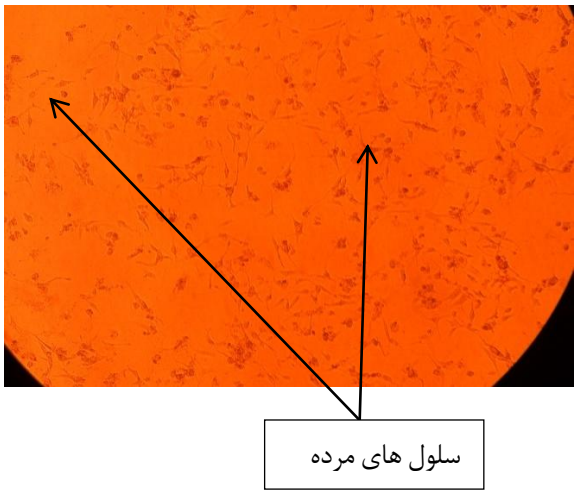
شکل۲: تصویر میکروسکوپی از سلول‌های کنترل بعداز گذشت ۴۸ ساعت



شکل۳: تصویر میکروسکوپی از سلول‌های تحت تاثیر با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بعداز گذشت ۴۸ ساعت



شکل۴: تصویر میکروسکوپی از سلول‌های تحت تأثیر با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بعداز گذشت ۷۲ ساعت



بحث:

در سال‌های اخیر استفاده از محصولات گیاهی با توجه به محتویات متابولیت‌های متنوع گیاهی و ساختارهای شیمیایی مختلف و فعالیت‌های بیولوژیکی، در درمان بیماری‌ها رو به افزایش می‌باشد. هم‌چنین نگرانی در مورد ایمنی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان مصنوعی باعث شده تا محققان به اکتشاف ترکیب‌های گیاهان عالی و آروماتیکبه طور معمول در آنتی‌اکسیدانی از منابع طبیعی بپردازند (۳۱).

اثرهای آنتی‌اکسیدانی با توجه به مشاهده‌های مهار اکسیداسیون از یک سوبسترای مناسب، اندازه‌گیری می‌شود. طیف گسترده‌ایی از روش‌ها در شرایط آزمایشگاهی برای ارزیابی توانایی مهار رادیکال آزاد، می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (۳۷).

از جمله این آزمون‌ها سنجش توان آنتی‌اکسیدانی به روش $DPPH^0$ (ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد) می‌باشد.

گیاه گزنه که متعلق به خانواده اورتیکاسه می‌باشد به عنوان یک گیاه دارویی مهم در رژیم غذایی انسان توصیه می‌شود که منبعی از مواد معدنی (آهن، منگنز، پتاسیم، کلسیم) کلروفیل، اسیدهای آمینه، کاروتنوئید، ویتامین‌ها و هم‌چنین تانن‌ها، استرول‌ها، پلی‌ساکاریدها و لکتین می‌باشد (۱۶).

عصاره اتانولی گیاه گزنه به دلیل داشتن طیف گسترده‌ای از ترکیب‌های بیولوژیکی از مدت‌ها پیش در طب سنتی استفاده شده است .این ترکیب‌های بیولوژیکی شامل: فنل‌ها، فلاون‌ها، فلاونول‌ها، آلکالوئیدها، کاروتنوئیدها، تری‌ترپن‌ها، کاروتن و گزانتوفیل‌ها می‌باشد. به دلیل ترکیب‌های فوق در برگ گیاه گزنه پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آن افزایش یافته و این در مهار رادیکال آزاد و درمان سرطان می‌تواند مفید باشد. گیاه گزنه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود نقش مهمی را در فعالیت ضد باکتریایی و ضد توموری بازی می‌کنند (۳).

محقق‌های مختلف اعلام کرده‌اند که استفاده از گزنه (دانه و برگ) با و یا بدون گیاهان دیگر دارای اثرهای مفید در درمان برخی از بیماری‌ها مانند دیابت، اگزما، بواسیر، التهاب‌کبد، کم خونی، روماتیسم و سرطان پروستات بوده است (۶).

مرینال و ویجستلا نشان دادند که عصاره اتانولی نسبت به عصاره‌های آبی و متانولی دارای ترکیب‌های فنلی‌کل بالاتری می‌باشد که این نشان دهنده این مورد است که حلال اتانولی قابلیت خارج کردن ترکیب‌های فنلی بیش‌تری را نسبت به حلال‌های دیگر دارد و بر همین اساس در این مطالعه از حلال اتانولی استفاده شد (۲۴).

در زمینه استخراج ترکیب‌های فنلی از بافت‌های گیاهی شی و همکارانش بیان نموده‌اند که افزایش دمای استخراج به طور مطلوبی میزان استخراج ترکیب‌های فنلی از بافت گیاهی را افزایش می‌دهد و دلیل این افزایش را نرم شدن بافت‌ها گیاهی، ضعیف شدن برهم‌کنش ترکیب‌های فنلی با پروتئین و پلی‌ساکاریدها و در نتیجه خروج مقدار بیش‌تری از این ترکیب‌های فنلی به درون حلال دانست که با توجه به این موارد، در این مطالعه از روش استخراج جوشاندن استفاده گردید(۳۲).

به حداقل غلظتی از عصاره که باعث مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد شود IC_{50} گفته می‌شود که در این مطالعه مقدار ۴/۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گشت.

تاکنون مطالعه‌ای درمورد بررسی خواص ضد سرطانی عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بر روی رده سلولی A549 صورت نگرفته است، لذا مطالعه حاضر اولین مطالعه در این زمینه می‌باشد و نتایج به دست آمده با نتایج دیگری قابل مقایسه نیستند، اما مطالعه های دیگری در این خانواده انجام شده است از جمله میرزایی و همکاران نیز به بررسی اثر سمیت

سلولی عصاره اتانولی گیاه گزنه برداشت شده از قائم شهر بر روی رده سلولی HeLa پرداختند. نتایج حاصل نشان داد که، عصاره اتانولی گیاه گزنه تکثیر سلول‌ها را به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش داده‌است (۴).

کنراد و همکارانش فعالیت سایتوتوکسیک عصاره متانولی ریشه گزنه روی سلول‌های پروستات را بررسی نمودند. این پژوهش نشان داد که عصاره ریشه گیاه گزنه باعث کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی پروستات می‌شود (۲۲).

فتاحی و همکاران اثر عصاره آبی برگ گیاه گزنه را بر روی رده سلولی HeLa بررسی کردند. عصاره آبی برگ گیاه گزنه برداشت شده از بابل، هیچ مهار معناداری ، از اثر ضدتکثیری در دوره‌های زمانی مختلف نشان نداد (۱۲).

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر نشان داده شد که عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه برداشت شده از ارتفاعات سه‌هزار تنکابن در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر و در مدت زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت باعث مرگ۵۰ درصد از سلول‌های رده سلولی A549 می‌گردد. بنابراین می‌توان نتیجه گیری کرد که عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه ممکن است اثر قابل توجهی در درمان سرطان ریه داشته باشد. برای چنین نتیجه‌گیری انجام آزمایش‌های تکمیلی به صورت برون‌تن[1] و درون‌تن[2] مورد نیاز می‌باشند.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن می‌باشد. لذا از مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن تشکر و قدردانی می‌گردد.

[1] In Vitro
[2] In vivo

منابع

۱. امامی ج، امامی ح، بابازاده ش، تجویدی م، جلیلیان م، حاج احمدیان ح، طاهری م، علیان ب، گوکی زاده ع، همتی س، ده سرطان شایع، چاپ اول، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان اصفهان، ۱۳۸۵، ۴۵۰ صفحه.

۲. لونگو د، کاسپر د، جمسون ل، فوسی آ، هوسر ا، لوسکالزو ج، اصول طب داخلی هاریسون بیماریهای دستگاه تنفس، ترجمه قربانی م، ارباب م، رزاقی س، چاپ اول، ویراستهیجدهم، کتابارجمند(با همکاری انتشارات ارجمند و نسل فردا)، ۲۰۱۲، ۳۵۲ صفحه.

۳. مدرسی چهاردهی ا، ابراهیم د، فریضا سلیما ش، ابوالحسنی ف. بررسی اثر عصاره الکلی گیاه گزنه (Urtica dioica L.) بر تعدادی باکتری گرممنفی و گرممثبت.فصلنامه‌گیاهان‌دارویی.۱۳۹۱؛شماره۴۲(دوره۱۱):۹۸-۱۰۴.

۴. میرزایی م، سلطانی س، خان بابایی ر. بررسی نوع مرگ القا شده توسط گیاه گزنه بر روی سلول‌های سرطانی هلا. همایش ملی‌گیاهان‌دارویی.۱۳۹۲؛ ۱۵-۲۱.

5. Amin A, Gali-Muhtasib H, Ocker M, Stock RS. Overview of Major Classes of Plant-Derived Anticancer Drugs. IJBS, 2009; 5(1): 1-11.
6. Amini K, Hemmatpoor B, Moradi P, Nazari Z, Mahvar T. Antibacterial activity of the ethanol and water extracts and investigating the chemical composition of different parts Urtica dioica L .SRJ, 2014; 02(02): 57-65 .
7. Attanoos R L. Asbestos-Related Lung Disease. Surg Pathology Clinics, 2010; 3: 109-127.
8. Bodros E, Baley C. Study of the tensile properties of stinging Nettle fibres (Urtica dioica). Materials Lett, 2008; 62(14): 2143-2145.
9. Cousens C, Thonur L, Imlach S, Crawford J, Sales J, Griffiths D J. Jaagsiekte sheep retrovirus is present at high concentration in lung fluid produced by ovine pulmonary adenocarcinoma affected sheep and can survive for several weeks at ambient temperatures. Res Vet Sci, 2009; 87: 154-156.
10. Emami A, Ahi A. Medical botany. 1st ed. Tehran: Iran University of Medical Sciences and Health Services. 2008, 534. [Persian in text full].
11. Farzami B, Ahmadvand D, Vardasbi S, Majin F J, Khagani S h. Induction of insulin secretion by a component of Urtica dioica leave extract in perifused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. J Ethnopharmacol, 2003; 89(1): 47-53.
12. Fattahi S, Zabih E, Abedini Z, Pourbagher R, Ardekani A, Mostafazadeh A, Akhavan H. Total Phenolic and Flavonoid Contents of Aqueous Extract of Stinging Nettle and In Vitro Antiproliferative Effect on Hela and BT-474 Cell Lines. Int J mol cell med spring, 2014; 3(2): 1- 6.
13. Fauci A S, Braunwald E, Kasper D L, Hauser S L, Longo D L, et al. Har-rison's Principles of internalmedicine. 17th ed. Philadelphia: Mc Graw Hill, 2008, 551-562.
14. Gordaliza M. Natural products as leads to anticancer drugs. Clin Transl Oncol, 2007, 9: 767-776.
15. Groves-Kirkby C J, Timson K, Shield G, Denman AR, Rogers S, Phillips P S. Lung-cancer reduction from smoking cessation and radon remediation: a preliminary cost-analysis in Northamptonshire, UK. Environ Int, 2011; 37: 375-382.
16. Gutowska I, Jakubczyk K, Dec K, Baranowska -Bosiacka I, Drozd A, Janda K , Wolska J, Lukomska A, Debia K, Chlubek D. effect of the extract from nettle (urtica dioica l.) fruit cluster on the synthesis of pro- inflammatory agents in hepatocytes treated with fluoride . Research report Fluoride, 2014; 47(2): 109 – 118.
17. Hajian K FA, Kia M T. Pattern of age distribution of different cancers in Babol in 2001. Pajouhesh Dar Pezeshki. 2003; 27 (3): 239-245.[Persian in text full].
18. Horn L, Pao W, Johnson DH, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine. 2012; (89): 18-100.

19. Jafarnia S, Khosroshahi S, Ghasemi M. Medicinal plants. 1st ed. Mashhad: Sokhan-Gostar Publications, 2007; 179. [Persian in text full].
20. James A, Duke B. Phytochemical and ethnochemial databases, Beltsvilla Argriculture Researh Center. Green Farmacy Garden, 2005; 26: 193-200.
21. Kavalali G, Tuncel H, Goksel S, Hatemi H H. Hypoglycemic activity of Urtica pilulifera in streptozotocin-diabetic rats. J Ethnopharmacol, 2003; 84(2-3): 241-5.
22. Konrad H, Muller C, Laubinger H, Aumaller G, Lichius J. Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (Urtica dioica) extract. lanta Medica, 2000; 66(6): 44–47.
23. Kountouri MP, Mammas IN, Spandidos DA. Human papilloma virus (HPV) in lung cancer: Unanswered questions. Lung Cancer, 2010; 67: 125.
24. Merinal S, viji stella G. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of leaf extracts of Limonia crenulata (Roxb.). journal of national product and plant resourse, 2012; 2(1): 209-214.
25. Noguchi N, Niki E. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. Free Rad Biol Med, 2000; 28 (10): 1538-1546.
26. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA: Cancer J Clin, 2005; 55(2): 74-108.
27. Rao B. Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. Asia Pac J Nutr, 2003; 12: 9-22.
28. Repace JL, Jiang RT, Acevedo-Bolton V, Cheng KC, Klepeis NE, Ott W R, Hildemann LM. Fine particle air pollution and secondhand smoke exposures and risks inside 66 US casinos. Environ Res, 2011; 111: 473-484.
29. Samy R P, Gopalakrishnakone P, Ignacimuthu S. Anti-tumor promoting potential of luteolin against 7,12- dimethylbenz (a) anthraceneinduced mammary tumors in rats. Chemico-Biological Interactions, 2006; 164: 1 - 14.
30. Shahraki M R, Mirshekari H, Shahraki A R, Shahraki E, Divband K H. Effect of Urtica dioica boiling on serum glucose, insulin and lipids in fructose-fed male rats. Ofoghe Danesh, 2008; 14(3): 10-15. [Persian in text full].
31. Sharma M, Govind P. Ethnomedicinal plants for prevention and treatment of tumors.IJGP, 2009; 2- 5.
32. Shi J, Yu J, Pohorly J, Young C, Bryan M, Wu Y. Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. Food, Agriculture and Enviroment, 2003; 1(2): 42-47.
33. Silvestri G A, Alberg A J, Ravenel J. The changing epidemiology of lung cancer with a focus on screening. Brit Med J, 2009; 339: 451-54.
34. Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol, 1999; 299: 152-178.
35. Testai T, Chericoni S, Calderone V at all. Cardiovascular effects of Urtica dioica L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. Journal of Ethnopharmacology, June 2002; 81(1): 105-109.
36. Thun M J, Hannan L M, Adams-Campbell L L, Boffetta P, Buring J E, Feskanich D, Flanders W D, Jee S H, Katanoda K, Kolonel L N, Lee I M, Marugame T, Palmer J R, Riboli E, Sobue T, Avila-Tang E, Wilkens L R, Samet J M. Lung cancer occurrence in never-smokers: an analysis of 13 cohorts and 22 cancer registry studies. PLoS Med, 2008; 5: e185.
37. Villa˜no D, Pach´on M, Moy´a M, Troncoso A, Parrilla M . Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta, 2007; 71: 230–235.