

بررسی اثر مهارى عصاره آبى سير (*Allium sativum* L.) بر رشد سلول‌هاى سرطان حنجره نوع SCC (Hep-2) و سلول‌هاى غيرسرطانى (L929)

موسى الرضا حاج‌زاده^{۱*}، جليل توکل افشارى^۲، احمد قربانى^۳، محمدتقى شاکرى^۴

۱- دانشيار، گروه فيزيولوژى، دانشکده پزشکى، دانشگاه علوم پزشکى مشهد

۲- استاديار، گروه ايمنولوژى، دانشکده پزشکى، دانشگاه علوم پزشکى مشهد

۳- کارشناس ارشد، گروه فيزيولوژى، دانشکده پزشکى، دانشگاه علوم پزشکى مشهد

۴- استاديار، گروه پزشکى اجتماعى، دانشکده پزشکى، دانشگاه علوم پزشکى مشهد

* آدرس مکاتبه: بخش فيزيولوژى، بیمارستان قائم، مشهد، ايران

تلفن: ۰۵۱۱) ۸۴۴۰۳۵۰، نمابر: ۰۵۱۱) ۸۴۱۳۵۷۹

پست الکترونیک: MS.Hajzadeh@MUMS.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۳/۵/۱۱

تاریخ تصویب: ۸۴/۷/۳

چکیده

مقدمه و هدف: کاربردهای درمانی سير از قرن‌ها پیش شناخته شده است. از این گیاه به طور گسترده‌ای به خاطر اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضد‌دبابی، ضد‌آترواسکلروزی و ضدسرطانی آن استفاده می‌شود. اثرات ضدسرطانی ترکیبات سير به علت اثرات مهارى و سيتوتوکسیک مستقیم آن می‌باشد که در شرایط *in vitro* نشان داده شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر مهارى عصاره آبى سير بر رشد سلول‌هاى سرطانى نوع SCC (Hep-2) و غيرسرطانى سالم (L929) می‌باشد.

روش بررسی: غلظت‌هاى ۰/۵، ۱، ۴، ۸، ۱۰، ۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبى سير در محیط کشت، روی سلول‌ها اثر داده شد و پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده با میکروسکوپ معکوس ارزیابی گردید. همچنین با آزمون MTT اثر این غلظت‌هاى عصاره بر درصد سلول‌هاى زنده هر دو رده سلولى در زمان‌هاى مذکور، از نظر کمی بررسی شد.

نتایج: نتایج نشان داد که غلظت‌هاى ۸، ۱۰، ۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره، پس از ۲۴ ساعت موجب تغییرات مورفولوژیک در هر دو رده سلولى، می‌شود و این تغییرات پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت تشدید می‌گردد. هم‌زمان نتایج آزمون MTT نشان داد که همه غلظت‌هاى عصاره موجب کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌هاى زنده Hep-2 و L929 می‌گردد، به طوری که پس از ۷۲ ساعت کاهش درصد سلولى نسبت به سلول‌هاى که تحت تاثیر عصاره نبودند در سطح $p < 0.001$ معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این پژوهش عصاره آبى سير در غلظت‌هاى استفاده شده، دارای اثر مهارى بر رشد سلول‌هاى سرطانى نوع SCC و نیز سلول‌هاى سالم غير سرطانى نوع L929 می‌باشد و در استفاده‌هاى درمانى سير علیه سرطان یا به منظور پیشگیری از سرطان باید از انواع دیگر عصاره سير که تنها بر سلول‌هاى سرطانى اثر سيتوتوکسیک داشته باشند استفاده شود.

کل واژگان: سير، عصاره آبى، سلول‌هاى L929، سلول‌هاى Hep-2، سرطان حنجره، سيتوتوکسیک



مقدمه

کاربردهای درمانی سیر از قرن‌ها پیش شناخته شده است [۱]. از این گیاه به طور گسترده‌ای به خاطر اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضددیابتی، ضدآترواسکلروزی و ضدسرطانی آن استفاده می‌شود [۱،۲،۳]. در پژوهش‌های متعدد مشخص شده است که سیر و ترکیبات ارگانوسولفور^۱ آن خطر بروز سرطان در پستان، کولون، پوست، رحم، مری و ریه را کاهش می‌دهند [۴]. مطالعات اپیدمیولوژیک نیز نشان داده است که ارتباط معکوسی میان مصرف سیر و بروز سرطان وجود دارد. اثرات ضدسرطانی ترکیبات موجود در سیر مربوط به اثرات مهارى و سیتوتوکسیک مستقیم آن است و این ویژگی‌ها با استفاده از مدل‌های سرطانی در حیوانات مختلف و در مطالعات *in vitro* با کشت رده‌های سلول‌های سرطانی نشان داده شده است [۵]. خواص مفید سیر مربوط به ترکیبات ارگانوسولفور^۱ موجود در این گیاه است که این ترکیبات یا به صورت محلول در آب و یا محلول در چربی می‌باشند. هنگامی که سیر خرد یا له شود، S-آلیل سیستئین سولفوکساید (آلین)^۱ تحت تاثیر آنزیم آلیناز به آلیسین^۲ تبدیل می‌شود [۶]. آلیسین مهار کننده پرولیفراسیون بسیاری از سلول‌های بدخیم انسانی است. آجوئن^۳ یک ترکیب مشتق از سیر است که پایداری بیشتری نسبت به آلیسین دارد و اخیراً نشان داده شده است که پرولیفراسیون سلول‌های لوسمی انسانی را مهار نموده و سبب القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی^۴ در آنها می‌شود [۷]. تاکنون در مورد اثرات عصاره آبی سیر بر کارسینوم سلول سنگفرشی^۵ گزارشی منتشر نشده است، بنابراین در این مطالعه اثر این نوع عصاره سیر بر رشد سلول Hep-2 که از رده سلولی SCC سرطان حنجره می‌باشد، بررسی شد. همچنین اثر عصاره مورد نظر بر رشد سلول L929 (سلول فیروبیلاست موش) به عنوان سلول غیرسرطانی نیز بررسی و با اثرات عصاره بر سلول Hep-2 مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری: در این پژوهش از سیر تازه همدان که از مرغوب‌ترین گونه‌های سیر در ایران است، استفاده شد. پس از آنکه قطعات سیر با چاقو کاملاً خرد گردید، از ۵۰ گرم آن با استفاده از ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط دستگاه سوکسله عصاره‌گیری انجام شد. سپس حجم عصاره حاصل را با دستگاه حذف حلال به حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و این حجم عصاره از فیلتر سرنگی $0.2\mu\text{m}$ عبور داده شد تا استریل گردد. برای تعیین وزن خشک عصاره استریل، ۱۰ میلی‌لیتر از آن در پلیت با وزن معلوم ریخته و روی بن ماری ۷۰ درجه سانتی‌گراد آب آن تبخیر شد و سپس با ترازوی دیجیتال سارتریوس با دقت 0.001 g (Sartorius-آلمان) توزین گردید. عصاره استریل غلظتی معادل 129 mg/ml داشت.

بررسی مورفولوژیک: ابتدا هر دو رده سلولی از تانک ازت خارج و مرحله یخ‌زدایی سلول‌ها انجام شد. پس از انجام یک دوره پاساژ سلولی و تعیین *viability* سلول‌ها با استفاده از تست تریپان بلو، ۷ فلاسک کشت ۲۵ میلی‌لیتری برای سلول‌های Hep-2 و ۷ فلاسک کشت مشابه نیز برای سلول‌های L929 در نظر گرفته و در هر فلاسک تعداد 5×10^5 سلول ریخته شد. محیط کشت فلاسک‌ها از نوع (DMEM) Dulbeccos modified Eagle's medium، حاوی ۱۰ درصد FCS و ۱ درصد پنی‌سیلین - استرپتومایسین بود [۹]. فلاسک‌های کشت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد CO_2 قرار داده شدند [۳،۹،۱۰،۱۱،۱۲]. پس از ۲۴ ساعت [۳،۸،۱۲،۱۳،۱۴،۱۵] که سلول‌ها به کف فلاسک کشت چسبیدند مرحله اثر دادن عصاره بر سلول‌ها به این ترتیب انجام شد: ابتدا محیط کشت قبلی همه فلاسک‌ها خالی و به جای آن $4/5$ میلی‌لیتر محیط کشت تازه با ویژگی قبلی اضافه شد. سپس با استفاده از آب مقطر استریل غلظت‌های ۵، ۱۰، ۴۰، ۸۰، ۱۰۰ و 120 ml/mg از عصاره مورد نظر تهیه شد و $0/5$ میلی‌لیتر از هر یک از این ۶ غلظت به ۶ فلاسک کشت سلول‌های L929 و ۶ فلاسک کشت سلول‌های Hep-2 اضافه گردید. به فلاسک کشت هفتم از هر رده سلولی که فلاسک‌های کنترل محسوب می‌شد، $0/5$ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به جای عصاره اضافه

¹ (S-allylcysteine Sulfoxide) (alliin)² alliin³ ajoene⁴ apoptosis⁵ (SCC) Squamous cell carcinoma

برداشته و محیط کشت خانه‌های آن خالی شد و در عوض ۲۰۰ میکرولیتر محیط تازه همراه با ۲۰ میکرولیتر رنگ 4,5-dimethyl diphenyl tetrazolium bromide (MTT) 3-(thiazol-2-yl)-2,5-dimethyl (DMSO) خالی و ۲۰۰ میکرولیتر (DMSO) dimethyl sulfoxide و ۲۵ میکرولیتر بافر گلایسین جایگزین آن شد و جذب نوری هر خانه توسط دستگاه Eliza reader و در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۳،۱۶]. مراحل اخیر برای پلیت دوم پس از ۲۴ ساعت و برای پلیت سوم پس از ۷۲ ساعت از هنگام مجاورت دادن سلول‌ها با عصاره انجام شد.

آزمون‌های آماری: با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS آنالیز واریانس یک‌طرفه، آزمون تعقیبی Tukey و آنالیز همبستگی بر روی داده‌ها انجام شد. برای اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها آزمون K-S (Kolmogorov-Smirnov Test) انجام شد و $p < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج بررسی مورفولوژیک: براساس مشاهده سلول‌های Hep-2 با میکروسکوپ، مشخص گردید که پس از ۲۴ ساعت، عصاره آبی سیر در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۴ mg/ml در مقایسه با سلول‌های فلاسک کنترل، اثری بر سلول‌ها نداشته است. تاثیر غلظت ۸ mg/ml بر مورفولوژی سلول‌ها اندک بود، اما در غلظت ۱۰ mg/ml و به ویژه ۱۲ mg/ml سلول‌ها از بستر خود کنده شده و از حالت دوکی شکل به صورت گرد درآمدند و گرانولاسیون سلولی دیده می‌شد. نتایج ۴۸ و ۷۲ ساعت مشابه روز نخست و لیکن تغییرات در غلظت ۱۰ و ۱۲ mg/ml شدیدتر بود (شکل شماره ۱).

ارزیابی مورفولوژی سلول‌های L929 یعنی سلول‌های غیر سرطانی نتایجی مشابه سلول‌های سرطانی Hep-2 به همراه داشت. به طوری که پس از ۲۴ ساعت، عصاره در غلظت‌های ۸ mg/ml و به ویژه ۱۰ و ۱۲ mg/ml سبب غیرطبیعی شدن مورفولوژی سلول‌ها در مقایسه با سلول‌های فلاسک کنترل گردید. اما در سایر غلظت‌ها، سلول‌ها وضعیت طبیعی داشتند و

شد. به این ترتیب برای هر رده سلولی ۷ فلاسک حاوی غلظت‌های مورد نظر یعنی ۰، ۰/۵، ۱، ۴، ۸، ۱۰ و ۱۲ mg/ml تهیه گردید. سپس کلیه فلاسک‌ها در انکوباتور قرار داده شد و پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، مورفولوژی سلول‌ها با میکروسکوپ معکوس بررسی و مشاهدات ثبت گردید. این‌گونه ارزیابی مورفولوژیک سلولی، برای هر غلظت از عصاره ۳ بار تکرار شد تا اطمینان کافی از نتایج به دست آمده حاصل گردد.

آزمون MTT: از هر رده سلولی، پس از انجام پاساژ و تعیین viability، یک سوسپانسیون سلولی در محیط کشت با همان ویژگی‌های قبلی تهیه شد که در هر میلی لیتر آن $10^4 \times 2/5$ سلول وجود داشت. برای این آزمون ۳ پلیت ۹۶ خانه‌ای در نظر گرفته شد و ۴۲ خانه از پلیت انتخاب گردید. سپس ۷ گروه سه تایی^۱ از خانه‌ها به سلول‌های Hep-2 و ۷ گروه سه تایی از خانه‌ها به سلول‌های L929 اختصاص داده شد و در هر خانه ۰/۲ ml از سوسپانسیون سلول‌های مربوط اضافه گردید [۹]. بنابراین هر خانه حاوی 5×10^3 سلول بود. پلیت‌ها ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند تا سلول‌ها به بستر خود بچسبند [۱۲،۱۳]. پس از طی این مدت، مرحله مجاور کردن سلول‌ها با عصاره به این ترتیب انجام شد: نخست محیط کشت‌های هر سه پلیت خالی و ۱۸۰ میکرولیتر محیط تازه در خانه‌ها ریخته شد. سپس از ۶ غلظت مختلف از عصاره که در بخش بررسی مورفولوژیک با آب مقطر تهیه شده بود؛ ۲۰ میکرولیتر به ۶ گروه سه تایی از خانه‌های مربوط به سلول‌های Hep-2 و ۶ گروه سه تایی از خانه‌های مربوط به سلول‌های L929 اضافه گردید. به گروه سه تایی هفتم از هر رده سلولی نیز که خانه‌های کنترل محسوب می‌شد، ۲۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شد. بنابراین ۳ پلیت با این مشخصات به دست آمد که: ۷ گروه سه تایی از هر پلیت حاوی غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۴، ۸، ۱۰ و ۱۲ mg/ml برای سلول‌های Hep-2 و ۷ گروه سه تایی هم حاوی این غلظت‌ها برای سلول‌های L929 بود. این پلیت‌ها در انکوباتور قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت یکی از پلیت‌ها به صورت راندام

^۱ Triplicate

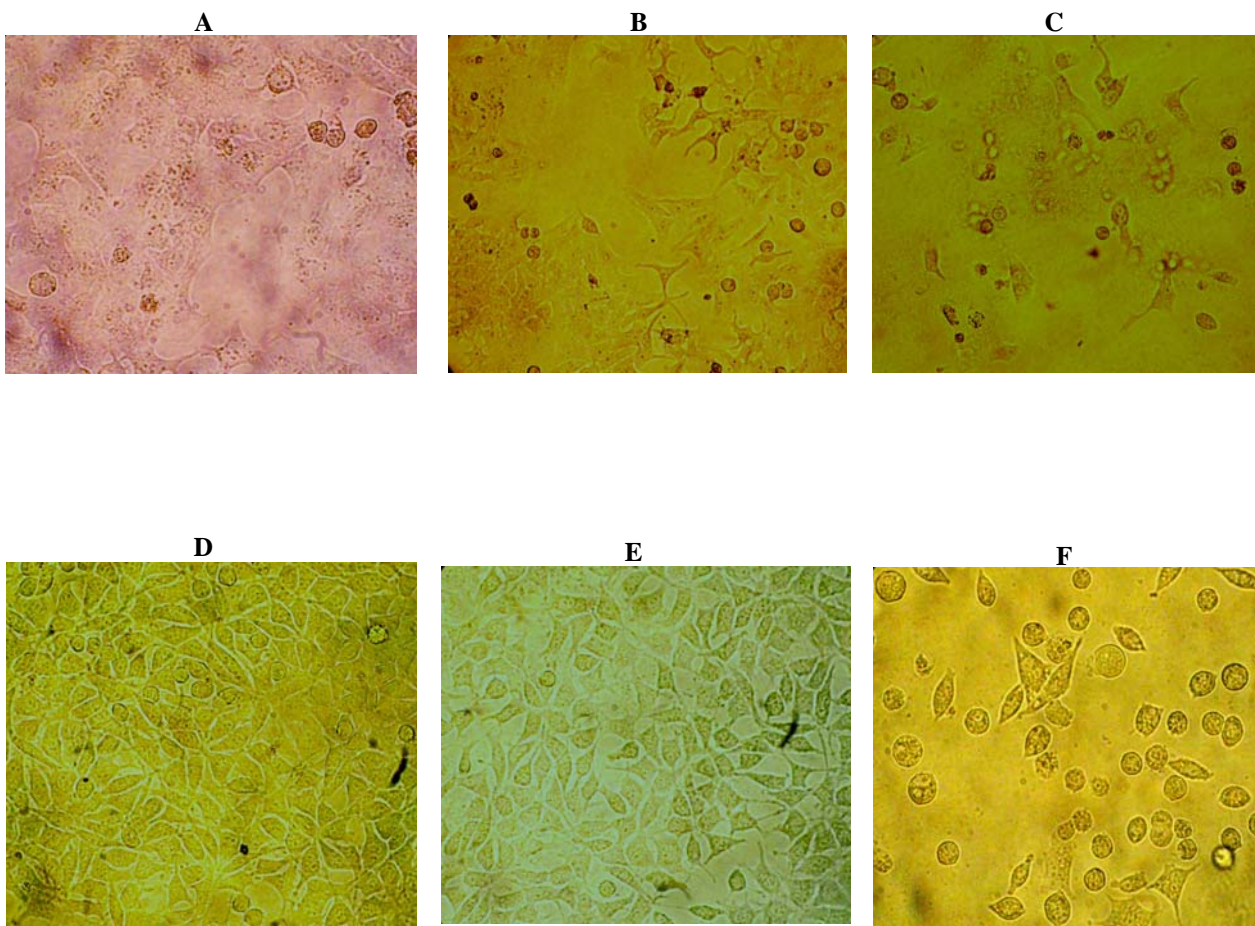


حاوی سلول‌هایی که در مجاورت عصاره بودند، با جذب نوری خانه‌هایی که تحت تاثیر عصاره نبودند (خانه‌های کنترل) مقایسه گردید و درصد سلول‌های زنده با فرمول زیر محاسبه گردید [۱]:

به بستر فلاسک چسبیده، شکل طبیعی خود را حفظ کرده و گرانولاسیون یا رژنراسیون سلولی نشان ندادند. پس از گذشت ۴۸ و ۷۲ ساعت، اثرات عصاره در غلظت‌های ۸، ۱۰ و ۱۲ mg/ml تشدید شده بود (شکل شماره ۱).

نتایج آزمون MTT: جذب نوری ثبت شده از خانه‌های

$$100 \times \frac{\text{جذب نوری سلول‌های تحت اثر عصاره در هر خانه}}{\text{میانگین جذب نوری خانه‌های حاوی سلول‌های کنترل}} = \text{درصد سلول‌های زنده نسبت به سلول‌های کنترل}$$



شکل شماره ۱- تصویر سلول‌ها در زیر میکروسکوپ ۷۲ ساعت پس از مجاورت با عصاره آبی سیر

A - سلول‌های Hep-2 کنترل (X۴۰)، B - سلول‌های Hep-2 تحت تاثیر غلظت ۴ mg/ml (X۲۰)، C - سلول‌های Hep-2 تحت تاثیر غلظت ۱۲ mg/ml (X۲۰)،
D - سلول‌های L929 کنترل (X۴۰)، E - سلول‌های L929 تحت تاثیر غلظت ۴ mg/ml (X۴۰)، F - سلول‌های L929 تحت تاثیر غلظت ۱۲ mg/ml (X۴۰)



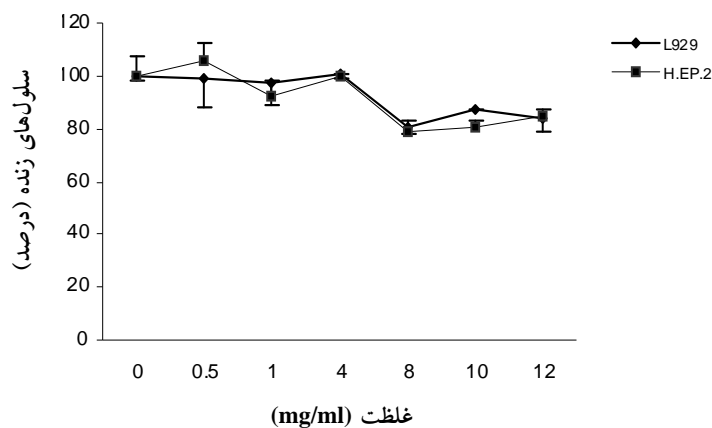
($p < 0/001$). در مورد سلول‌های L929 نیز در غلظت‌های ۸، ۱۰ و ۱۲ mg/ml درصد سلول‌های زنده، در مقایسه با سلول‌های کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/005$) (شکل شماره ۴).

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش اثر مهاره عصاره آبی سیر بر رشد سلول‌های سرطانی را نشان می‌دهد. براساس نتایج مورفولوژیک و نتایج آزمون MTT، اثر عصاره بر سلول‌های سرطانی در غلظت ۸ mg/ml و بالاتر، از همان ۲۴ ساعت نخست شروع شده و بیشترین اثر مهاره در ۷۲ ساعت دیده می‌شود. کاهش در درصد سلول‌های زنده، به ویژه در غلظت‌های بالای عصاره (۱۰ و ۱۲ mg/ml) کاملاً مشهود است. در نتایج مربوط به بررسی‌های مورفولوژیک بیشترین اثر عصاره در بالاترین غلظت دیده می‌شود، اما در آزمون MTT غلظت ۸ mg/ml بیشترین اثر مهاره بر رشد را ایجاد نمود.

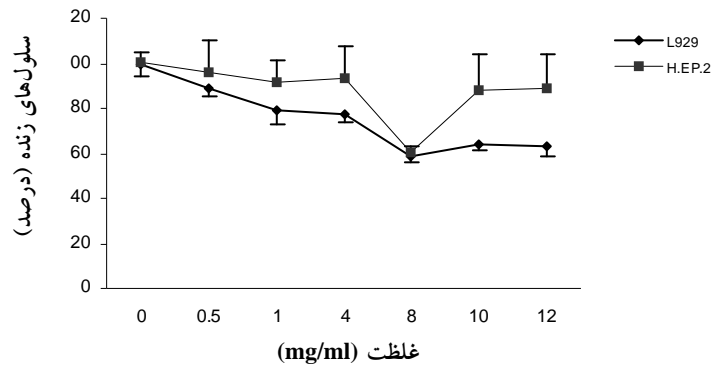
در این پژوهش عصاره آبی سیر در غلظت‌های ۸ mg/ml و بالاتر بر روی سلول‌های فیروبلست موشی (L929) نیز اثرات مهاره و سیتوتوکسیک دارد که یافته‌ای نو و بسیار قابل تأمل است. در بررسی‌های انجام شده فقط یک مورد دیگر اثر

پس از گذشت ۲۴ ساعت، درصد سلول‌های زنده Hep-2 در مقایسه با سلول‌های خانه‌های کنترل در غلظت‌های ۸ mg/ml ($p < 0/05$) و ۱۰ mg/ml ($p < 0/05$) کاهش معنی‌داری نشان داد. همچنین، بین افزایش غلظت عصاره و کاهش درصد سلول‌های زنده همبستگی وجود داشت ($r = -0/823$). اما در همین زمان، اگرچه این همبستگی در مورد سلول‌های L929 نیز وجود داشت ($r = -0/823$) ولی کاهش ایجاد شده در درصد سلول‌های زنده L929 در هیچ یک از غلظت‌های عصاره معنی‌دار نبود (شکل شماره ۲). نتایج آزمون MTT پس از ۴۸ ساعت بیانگر این بود که بین افزایش غلظت عصاره و کاهش درصد سلول‌های زنده L929 همبستگی وجود دارد ($r = -0/880$). ولی این همبستگی در مورد سلول‌های Hep-2 دیده نشد ($r = -0/501$). بنابراین حداکثر کاهش درصد سلول‌های زنده در هر دو رده سلولی در غلظت ۸ mg/ml ایجاد گردید (شکل شماره ۳). پس از ۷۲ ساعت، هم در مورد سلول‌های Hep-2 ($r = -0/765$) و هم در مورد سلول‌های L929 ($r = -0/965$)، بین افزایش غلظت و کاهش درصد سلول‌های زنده همبستگی وجود داشت. همچنین در غلظت‌های ۸، ۱۰، و ۱۲ mg/ml کاهش قابل ملاحظه‌ای در درصد سلول‌های زنده Hep-2 ایجاد شد

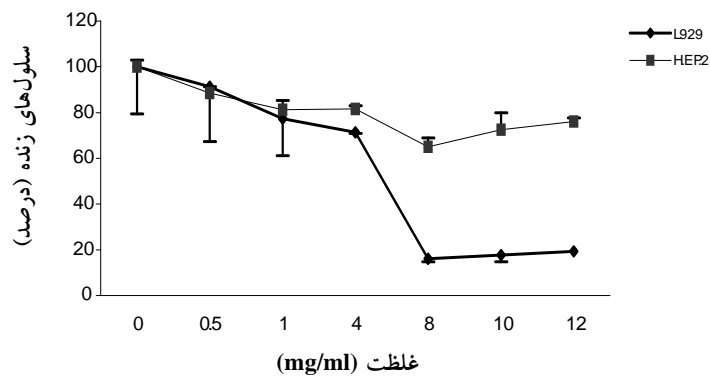


شکل شماره ۲- نتایج آزمون MTT در غلظت‌های مختلف عصاره آبی سیر بر درصد سلول‌های زنده Hep-2 و L929 پس از ۲۴ ساعت. هر نقطه بیانگر Mean \pm SD است. تعداد تکرار برای هر غلظت ۳ بار می‌باشد. تجزیه و تحلیل آماری با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی Tukey نشان داد که تنها در غلظت‌های ۸ و ۱۰ mg/ml کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) در درصد سلول‌های زنده HEP-2 دیده می‌شود.





شکل شماره ۳- نتایج آزمون MTT در مورد غلظت‌های مختلف عصاره آبی سیر بر درصد سلول‌های زنده Hep-2 و L929 پس از ۴۸ ساعت. هر نقطه بیانگر Mean ± SD است. در مورد هر دو نوع سلول حداکثر کاهش درصد سلول‌های زنده در غلظت ۸mg/ml دیده می‌شود.



شکل شماره ۴- نتایج آزمون MTT در غلظت‌های مختلف عصاره آبی سیر بر درصد سلول‌های زنده Hep-2 و L929 پس از ۷۲ ساعت. هر نقطه بیانگر Mean ± SD است. تجزیه و تحلیل آماری با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی Tukey نشان داد که درصد سلول‌های زنده Hep-2 در غلظت‌های ۱ (p < ۰/۰۵)، ۴ (p < ۰/۰۵)، ۸ (p < ۰/۰۰۱)، ۱۰ (p < ۰/۰۰۱) و ۱۲mg/ml (p < ۰/۰۰۱) و در مورد سلول‌های L929 در غلظت‌های ۸، ۱۰ و ۱۲ mg/ml (p < ۰/۰۵) در مقایسه با سلول‌های کنترل تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهند.

فرآورده‌های سیر بر سلول‌های سالم انسانی اثرات مهاری و سیتوتوکسیک داشته باشند در هنگام استفاده از این فرآورده‌ها به آن توجه شده و احیاناً مصرف نشوند. اثرات مهاری سیر خام، عصاره‌ها و اجزای مختلف سیر به ویژه ترکیبات ارگانوسولفور موجود در آن در مطالعات اپیدمیولوژیک انسانی و پژوهش‌های انجام شده بر روی چندین رده از سلول‌های سرطانی در بافت‌های مختلف انسان و حیوان نشان داده شده است [۲، ۴، ۷، ۱۱، ۱۲، ۱۷، ۱۸].

مهاری عصاره آبی سیر قرمز خراسان در غلظت ۱/۶ mg/ml بر سلول‌های سالم L929 گزارش شده است [۱۹]. در عین حال که اثر مهاری بر سلول‌های سالم L929 ممکن است منحصر به این رده سلولی فیروبلاست موشی باشد و تاکنون گزارشی از اثرات سیتوتوکسیک سیر بر سلول‌های سالم انسانی در دست نیست اما وجود چنین اثراتی برای عصاره‌های سیر بر سلول‌های سالم انسانی نیز می‌بایست مدنظر قرار گیرد و تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود تا چنانچه

سیستم‌های بدن ممکن است موجب تبدیل آمین‌ها به نیتروزآمین‌ها که مواد کارسینوژن هستند بشود. در همین راستا در مطالعه‌ی نشان داده شد که Disulfide Diallyl از ترکیبات موجود در سیر فعالیت نیتروزامین را مهار می‌کند [۲].

بالاخره ممکن است اثر سیر بر مهار رشد سلول‌های سرطانی ناشی از اثرات سیر بر تعدیل و تقویت سیستم ایمنی شامل هیپرتروفی و افزایش فعالیت T لنفوسیت‌ها باشد [۲۰، ۲۵].

نتیجه‌گیری: همان‌طور که نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد عصاره آبی سوکسله سیر سفید در غلظت‌های ۸ mg/ml و بالاتر موجب کاهش درصد سلول‌های زنده و مهار رشد هر دو رده سلول سرطانی Hep-2 و سلول‌های سالم L929 می‌شود و تفاوت چندانی در کاهش تعداد سلول‌های این دو رده سلولی در پژوهش حاضر دیده نمی‌شود. این عصاره می‌تواند در غلظت‌های ۸، ۱۰ و ۱۲ mg/ml رشد سلول‌های L929 را نیز پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت به طور معنی‌داری مهار کند. بنابراین در زمینه استفاده سیر به عنوان ماده پیش‌گیری‌کننده و یا درمان‌کننده سرطان بهتر است از انواع دیگری از عصاره‌های سیر که تنها بر سلول‌های سرطانی اثر سیتوتوکسیک داشته باشند، استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بخشی از هزینه این پژوهش توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تامین گردید که بدین‌وسیله تشکر و تقدیر می‌شود.

برای توجیه اثرات ضدسرطانی سیر و ترکیبات ارگانوسولفور موجود در آن، مکانیسم‌های مختلفی پیشنهاد شده است که بخشی از این موارد شامل: مهار جهش ژنی، اثر بر فعالیت آنزیم‌ها، مهار DNA adduct، اثر بر دفع رادیکال‌های آزاد، اثر بر پروليفراسیون سلولی، تغییر در میزان گلوکاتیون داخل سلولی و تغییر فعالیت آنزیم‌ها می‌باشند [۲۰، ۲۱، ۲۶]. در همین راستا Sengupta و همکاران نیز نشان دادند که خوردن سیر از آسیب کروموزومی جلوگیری می‌کند و خطر ایجاد سرطان را کاهش می‌دهد [۲۱]. به نظر می‌رسد که در کنار این مکانیسم‌ها، القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی از مهمترین مکانیسم‌های اثرات ضدسرطانی سیر باشد [۱۸، ۱۱]. در تایید این موضوع، اخیراً مشخص شده است که آجوئن اثرات دو داروی شیمی درمانی Fludarabine و Cytarabine را بر لوسمی میلوئید انسانی (human myeloid leukemia) از طریق مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی تقویت می‌کند [۷]. مکانیسم اخیر می‌تواند توجیهی برای کاهش درصد سلول‌های زنده L929 در پژوهش حاضر باشد، زیرا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در شرایط فیزیولوژیک در سلول‌های سالم نیز اتفاق می‌افتد و ممکن است که این اثر در مورد رده سلول‌های سرطانی استفاده شده در این تحقیق (Hep-2) نیز روی داده باشد. Ajoene - z که یک ایزومر Ajoene است دارای اثر مهاری قوی بر رشد سلول‌های توموری است که ممکن است به علت اثر بر میکروتوبول‌های موجود در سلول‌ها باشد [۱۷]. سیر ممکن است با جلوگیری از تجمع نیتريت در بافت‌ها از پیشرفت سرطان جلوگیری کند، چون نیتريت در غذاها و یا

منابع

1. Ghazanfari T, Hassan ZM and Ebrahimi M. Immunomodulatory activity of a protein isolated from garlic extract on delayed type hypersensitivity. *Int. Immunopharmacol.* 2002; 2: 1541-1549.
2. Augusti KT. Therapeutic values of onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.). *Indian J. Exp.* 1996; 34: 634-640.
3. Chiba K, Kawakami K and Tohyama K. Simultaneous evaluation of viability by neutral red, MTT and crystal violet staining assays of the same cells. *Toxicology in vitro.* 1998; 12: 251-258.
4. Milner JA. A historical perspective on garlic and cancer. *J. Nutr.* 2001; 131: 1027-1031.
5. Colic M, Vučević D, Kilibarda V, Radicević N and Savić M. Modulatory effects of garlic extracts



- on proliferation of T-lymphocytes *in vitro* stimulated with concanavalin A. *Phytomed.* 2002; 9: 117-125.
6. Bianchini F and Vainio H. *Allium* vegetable and organosulfur compounds: Do they help prevent cancer?. *Environmental Health Perspectives.* 2001; 109: 893-902.
 7. Ahmed N, Laverick J, Sammons J, Zhang H, Maslin DJ and Hassan HT. Ajoene, a garlic-derived natural compound, enhances chemotherapy-induced apoptosis in human myeloid leukaemia CD34-positive resistant cells. *Anticancer Res.* 2001; 21: 3519-3524.
 8. Whelan LC and Ryan MF. Ethanolic extracts of *euphorbia* and other ethnobotanical species as inhibitors of human tumour cell growth. *Phytomed.* 2003; 10: 53-58.
 9. Durmaz R, Deliorman S, Isiksoy S, Uyar R, Erol K and Tel E. Antiproliferative properties of the Lazaroids U-83836E and U-74389G on Glioma Cells *in vitro.* *Pathol. Oncology Res.* 1999; 5: 223-228.
 10. Freshney RI. Culture of animal cells: manual of basic technique. 4th ed. Wiley_ Liss. USA. 2000.
 11. Robert V, Mouille B, Mayeur C, Michaud M and Blachier F. Effects of the garlic compound diallyl disulfide on the metabolism, adherence and cell cycle of HT-29 colon carcinoma cells: evidence of sensitive and resistant sub-populations. *Carcinogenesis.* 2001; 22: 1155-1161.
 12. Sundaram SG and Milner JA. Impact of organosulfur compounds in garlic on canine mammary tumor cells in culture. *Cancer Lett.* 1993; 74: 85-90.
 13. Pinheiro ALB, Nascimento SCD, Vieira ALDB, Rolim AB, Silva PSD and Brugnera JRA. Does LLLT stimulate laryngeal carcinoma cells? An “*in vitro*” study. *Braz. Dent. J.* 2002; 13: 109-112.
 14. Klucar J and Al-Rubeai M. G2 cell cycle arrest and apoptosis are induced in Burkitt's lymphoma cells by the anticancer agent oracin. *FEBS Lett.* 1997; 400: 127-130.
 15. Thonemann B, Schmalz G, Hiller KA and Schweikl H. Responses of L929 mouse fibroblast, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell line to dental resin components. *dental materials.* 2002; 18: 318-323.
 16. Abe K and Matsuki N. Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction activity and lactate dehydrogenase release using MTT. *Neuroscience Res.* 2000; 38: 325-329.
 17. Li M, Ciu JR, Ye Y, Min JM, Zhang LH, Wang K, Gares M, Cros J, Wright M and Leung-Tack J. Antitumor activity of Z-ajoene, a natural compound purified from garlic: antimetabolic and microtubule - interaction properties. *Carcinogenesis.* 2002; 23: 573-579.
 18. Nakagawa H, Tsuta K, Kiuchi K, Senzaki H, Tanaka K, Hioki K and Tsubura A. Growth inhibitory effects of diallyl disulfide on human breast cancer cell lines. *Carcinogenesis.* 2001; 22: 891-7.
۱۹. طالبی سعید. بررسی اثر ضدسرطانی عصاره سير تازه (*Allium sativum*) روی رشد سلولهای سرطان مثانه. پایاننامه برای دریافت درجه دکترای پزشکی. دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، ۱۳۸۱.
20. Hofbauer R, Frass M, Gmeiner B, Kaye AD and Frost EAM. Effects of garlic extract (*Allium sativum*) on neutrophil migration at the cellular level. *Heart Dis.* 2001; 3: 14-17.
 21. Sengupta A, Ghosh S and Das S. Administration of garlic and tomato can protect from carcinogen induced clastogenicity. *Nut. Res.* 2002; 22: 859-866.

