

## بررسی خاصیت سیتوتوکسیک عصاره های آبی و هیدروالکلی میوه گواوا

(*Psidium guajava L.*) بر رده سلولی DU-145

شعله زعیمی برواتی<sup>1</sup>، کهنین شاهانی پور<sup>1</sup>، رامش منجمی<sup>2</sup>

1- گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران. [shahanipur\\_k@yahoo.com](mailto:shahanipur_k@yahoo.com)

2- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: 94/2/19 تاریخ پذیرش: 94/5/25

### چکیده

مقدمه و هدف: سرطان پروستات دومین سرطان شایع در مردان پس از سرطان پوست محسوب می گردد. گیاهان به عنوان منبع مهم ترکیبات آنتی اکسیدان و فنل محسوب می شوند. گیاه گواوا (*Psidium guajava L.*) یکی از میوه های درختی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری آمریکای جنوبی است، در این پژوهش خاصیت سیتوتوکسیک عصاره های آبی و هیدروالکلی میوه گواوا بر سرطان پروستات انسانی (DU145) مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار: میوه گواوا پس از جمع آوری عصاره های آبی و هیدروالکلی آن تهیه شد. رده سلولی DU-145 در محیط کشت RPMI-1640 حاوی 10% سرم گاوی در اتکوباتور با 5% CO<sub>2</sub> کشت و تحت تاثیر غلظت های مختلف عصاره های آبی و هیدروالکلی طی 24، 48 و 72 ساعت انکوبه شد. درصد بقاء سلول ها در حضور و فقدان عصاره ها با روش MTT و به کمک دستگاه الیزا با طول موج 540 نانومتر محاسبه شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS بررسی گردیدند (N=12, P-value < 0.05). یافته ها: نتایج نشان دهنده کاهش 50 درصدی بقاء سلول ها بود.

نتیجه گیری: نتایج مشخص نمود که عصاره های آبی و هیدروالکلی میوه گواوا دارای اثر سیتوتوکسیک می باشند. علاوه بر این مطالعات نشان داد که تاثیر سیتوتوکسیک عصاره های آبی بسیار قوی تر از عصاره های هیدروالکلی است.

واژه های کلیدی: سیتوتوکسیک، میوه گواوا، رده سلولی DU145، سرطان پروستات.

### مقدمه

سن، نژاد، وراثت و تاریخچه ی خانوادگی، عوامل ژنتیکی، رژیم غذایی، چاقی، عفونت و التهاب پروستات (پروستاتیت) و عوامل هورمونی می باشند (32).

سن: مهم ترین فاکتور موثر در سرطان پروستات است. احتمال ابتلا به سرطان پروستات بعد از سن 45 سالگی افزایش می یابد (3). نژاد: این نوع سرطان در مردان سیاه پوست آفریقایی-آمریکایی شایع تر از سایر نژادهاست. در این نوع نژاد، احتمال داشتن بیماری پیشرفته تر در زمان تشخیص و نیز مرگ و میر ناشی از بیماری بیش تر است، این نوع سرطان در آسیایی ها کم تر دیده می شود. علت این تفاوت های نژادی مربوط به عوامل ژنتیکی، محیطی و یا ترکیبی از این دو

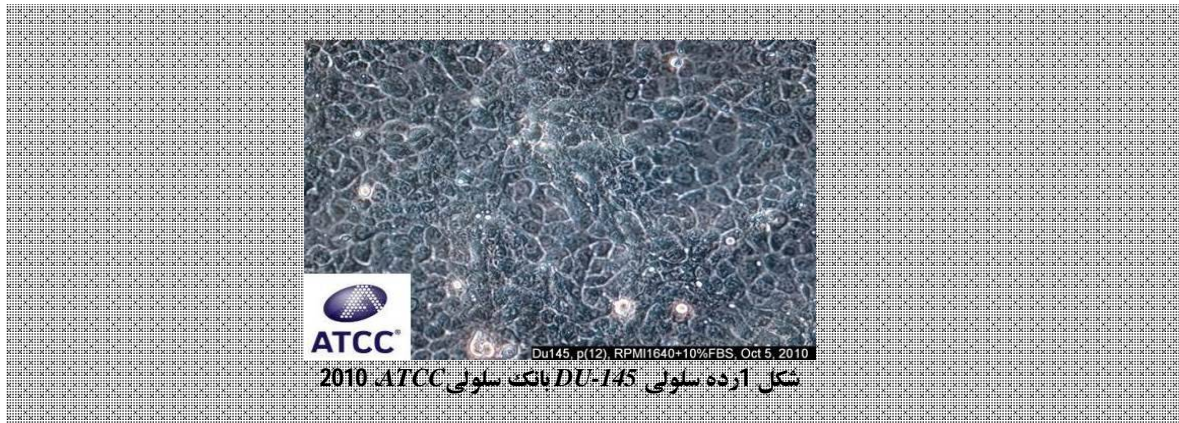
سرطان از شایع ترین علل مرگ و میر در جوامع بشری و طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، حدود 13 درصد از کل مرگ و میرها در سراسر جهان محسوب می باشد. سرطان پروستات شایع ترین نوع بدخیم در مردان و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در مردان بعد از سرطان پوست و مرگ آورترین سرطان در مردان پس از سرطان ریه است، شیوع این سرطان در ایران کمتر از کشورهای اروپایی و آمریکایی می باشد. بیشتر از 95 درصد موارد سرطان پروستات از نوع آدنوکارسینوم و بقیه موارد را کارسینوم سلول های ترانزیشنال، کارسینوم نرواندوکراین و سارکوم تشکیل می دهد (4). فاکتورهای خطر در سرطان پروستات شامل

معاینه انگشتی رکتوم (*Digital rectal examination*) که از الگوهای غربالگری سرطان پروستات، انجام می شود. در این روش پزشک از طریق مقعد، غده پروستات را معاینه می کند. وجود سطح خشن و نامنظم بافت از علائم هشدار دهنده سرطان پروستات محسوب می شود. در حال حاضر تشخیص بر پایه آزمون های هیستوپاتولوژیکی و یا نمونه های سیتولوژی از غده پروستات است (9). تشخیص سریع سرطان پروستات با اندازه گیری آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA) که از آزمایش های غربالگری این بیماری است، صورت می گیرد، در مراحل بعدی آزمون های دیگری مانند تصویرنگاری مغناطیسی (MRI) و توموگرافی کامپیوتری (CT)، سونوگرافی و نمونه برداری از غده نیز انجام می گیرد (32). راهکارهای درمانی سرطان پروستات شامل جراحی و برداشتن کامل غده پروستات یا پروستاتکتومی، کرایوتراپی (جراحی سرد) که روشی موثر برای درمان مراحل اولیه بیماری است و احتمال آسیب دیدگی مثانه و التهاب دستگاه تناسلی از عوارض جانبی این روش است (12). شیمی درمانی نیز پس از جراحی استفاده می شود در این زمان به عنوان یک درمان کمکی به جراحی و پرتو درمانی اضافه می گردد (8). آندروژن درمانی اثرات سلولی آندروژن توسط گیرنده آندروژن اعمال می شود که سرانجام به استیله شدن هیستون ها و رونویسی چندین ژن منجر می شود، نظر به این که رشد سلول های سرطان پروستات در آغاز وابسته به آندروژن است، درمان بر اساس آندروژن، شامل حذف کردن آندروژن های موجود در گردش خون است که به شکل استفاده دراز مدت از آنتاگونیست های آزاد کننده هورمون، استروژن و یا آنتی آندروژن ها مانند فلوتامید، نیلوتامید، سیپروترون استات انجام می گیرد. این روش درمانی، بیماری را در بسیاری از موارد متوقف

می باشد (5). وراثت و تاریخچه خانوادگی: احتمال ابتلا به سرطان پروستات در مردانی که خویشاوندان درجه اول آن ها مبتلا به سرطان پروستات هستند، (پدر و برادر) احتمال ابتلا آن ها به ویژه اگر خویشاوندان در سنین پایین به این بیماری دچار شده اند، بسیار بالاتر است از طرفی ژن های وراثتی متعددی شناسایی شده است که احتمال ابتلا به سرطان پروستات را افزایش می دهند (23). رژیم غذایی و چاقی: مردانی که مقدار زیاد گوشت قرمز و فرآورده های لبنی پرچرب مصرف می کنند، ریسک بالاتری برای ابتلا به سرطان پروستات دارند، این مردان معمولاً میوه و سبزیجات کمتری در رژیم غذایی خود دارند، مطالعات، بیان کننده این هستند که مردان چاق، ریسک بالاتری برای ابتلا به سرطان پروستات پیشرفته و مرگ ناشی از آن دارند (27). عفونت و التهاب پروستات: هم چنین التهاب غده پروستات با افزایش ریسک و احتمال سرطان پروستات همراه است (5). عوامل هورمونی: هورمون های مردانه به ویژه دی هیدروکسی تستوسترون نقش مهمی در رشد و گسترش سلول های سرطانی پروستات ایفا می کنند (25). سرطان پروستات یک بیماری چند عاملی است. سرطان پروستات با الگوهای رشد هتروژن مشخص می شود و محدوده ای است که شامل تومورهایی با رشد آهسته تا آسیب های متاستاتیک با رشد بسیار زیاد است (6). سرطان پروستات در واقع توموری وابسته به آندروژن است که محرومیت از آندروژن اغلب به عنوان اولین درمان برای بیماران دارای سرطان پیشرفته بکار می رود اما در 20 درصد موارد بیماران نسبت به درمان مقاوم می گردند به طوری که در مدت سه سال سرطان آن ها تبدیل به کارسینومای غیر وابسته به آندروژن می گردد که سریعاً منجر به مرگ می شود. سلول های غیر وابسته به آندروژن مانند DU-145 می توانند در ایجاد آن دخیل باشند (12). جهت تشخیص سرطان پروستات معاینه غده پروستات به کمک

رده سلولی توسط استون و همکارانش در سال 1978 از یک مرد بیمار 69 ساله‌ی قفقازی مبتلا به سرطان آدنوکارسینوم متاستاتیک پروستات جدا شد (شکل 1).

می‌کند، اما معمولاً برگشت بیماری دو تا سه سال بعد آغاز می‌شود که جزئیات آن ناشناخته است (11). در بانک سلولی ATCC رده‌ی سلولی سرطان متاستاتیک پروستات به نام DU-145 موجود است این



صورت مناسب بودن شرایط به کف فلاسک می‌چسبند و شروع به تقسیم شدن می‌کنند. سلول‌های DU-145 پس از 48 ساعت به طور کامل به کف ظرف چسبیده و کشیده شده و ظاهر آن سنگفرشی می‌شود (7). 40 تا 50 درصد از مبتلایان به سرطان پروستات در ایران، در مراحل ابتدایی تشخیص داده می‌گردد، اما صرف هزینه‌های زیاد برای پرتودرمانی، دارو درمانی و جراحی بافت مهاجم مشکلات زیادی را برای بیماران به وجود می‌آورد، لذا جایگزین کردن روش‌ها و ترکیبات جدید کم هزینه با اثرات جانبی کمتر می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد. تاکنون گیاهان دارویی متعددی شناسایی شده‌اند که دارای ویژگی‌های درمانی متنوعی می‌باشند (26). گیاهان دارویی می‌توانند در حفظ سلامت بدن نقش مهمی داشته باشند و از آن در مقابل انواع بیماری‌ها از جمله سرطان با عوارض جانبی کمتر محافظت نمایند (21). گیاه گواوا با نام علمی *Psidium guajava L.* یکی از میوه‌های درختی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و بومی آمریکای جنوبی، آمریکای مرکزی، پرو، برزیل و مکزیک است و به سیب گرمسیری (*Tropical apple*) مشهور می‌باشد (31). زادگاه اصلی این گیاه برزیل بوده

این رده سلولی 90 بار در شرایط آزمایشگاهی پاساژ و در طی دو سال این سلول‌های اپی‌تلالی در شرایط ایزوله رشد داده شدند. تجزیه و تحلیل کاربوتایی آن نشان می‌دهد که این سلول‌ها دارای 64 کروموزوم بوده و بسیار متاستاتیک و غیر حساس به آندروژن هستند و وجود *mRNA* و پروتئین *PTEN* در آن آشکار گردیده است، کد رده‌ی سلولی مورد استفاده بر اساس کاتالوگ سلولی *NCBI* که در بانک سلولی انستیتو پاستور نیز منتشر شده است برابر C428 بوده و از لحاظ مورفولوژی جزء سلول‌های اپی‌تلالی است و به صورت تک لایه رشد می‌نماید. محیط کشت اختصاصی آن *DMEM* (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) است. اما در محیط حاوی 90 درصد *RPMI1640* و 10 درصد *FBS* به خوبی رشد می‌کند و باید هر 3 روز یک بار واگشت داده شود. این سلول‌ها قادر هستند در موش نری که سیستم ایمنی آن سرکوب شده، موجب ایجاد تومور و متاستاز می‌شود. سلول‌های DU-145 بلافاصله پس از قرارگیری در محیط کشت و قبل از چسبیدن به کف فلاسک منظره‌ای گرد و شناور دارند. این سلول‌ها پس از 24 ساعت قرار گرفتن در محیط کشت در

ولی سال‌ها قبل به ایران وارد شده و به گونه پرورشی بیشتر در جنوب ایران کاشته می‌شود. کشت این درخت در ایران، در استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان از گذشته بسیار دور صورت گرفته و در میان مردم بومی این مناطق میوه آن به زیتون محلی یا گووین معروف می‌باشد، میوه گیاه گواوا دارای انواع تربنوئیدها، پکتین، روغن فرار و تانن است (19). هر 100 گرم از این میوه دارای 70 درصد آب، 6 درصد پروتئین، 2 درصد کربوهیدرات، 2 درصد چربی اشباع، 2 درصد چربی غیر اشباع، 5 درصد سدیم، 6 درصد پتاسیم، 1 درصد کلسیم، 1 درصد فسفر، 1 درصد آهن، 5 درصد لیکوپن و ویتامین های A، B1، B2 و C است (14). روش MTT روشی کمی، حساس و قابل اطمینان است، این روش بر فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز در میتوکندری سلول‌های زنده استوار است که ماده‌ی زرد رنگ و محلول در آب MTT را به کریستال‌های فورمازان به رنگ آبی تیره و نامحلول در آب تبدیل می‌کند. این روش به طور گسترده‌ای در ارزیابی میزان بقاء سلول در آزمون‌های غربالگری (NCI) (National Cancer Institute) به کار رفته است و این امکان را فراهم می‌آورد که تعداد زیادی نمونه را با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Elisa Reader) با دقت بالا پردازش نمود. میزان فورمازان تولید شده مستقیماً به نسبت سلول‌های زنده رده سلولی وابسته است، در این روش رسم منحنی استاندارد جذب در مقابل تعداد سلول‌ها ضروری می‌باشد. حلال مناسب برای حل کردن کریستال‌های فورمازان دی متیل سولفاکساید (Dimethyl sulfoxide) است که پس از استفاده از آن و حل کردن کریستال‌ها جذب محلول رنگی به وسیله دستگاه الایزا در طول موج 490 تا 600 نانومتر خوانده می‌شود. این روش نسبت به سایر روش‌های بررسی پرولیفراسیون سلولی ساده‌تر بوده و با امکانات موجود در اغلب آزمایشگاه‌ها قابل اجراست

(13). در این پژوهش اثر سیتوتوکسیک عصاره های آبی و هیدروالکلی میوه گواوا بر روی رده سلولی پروستات DU145 می‌باشد.

### مواد و روش ها

#### تهیه پودر میوه و عصاره‌ها

میوه گیاه گواوا (*Psidium guajava L.*) از طریق مرکز جهاد کشاورزی سیستان و بلوچستان تهیه و در تاریکی در مجاورت هوا به طور کامل در زیر سایه خشک و آسیاب شد. عصاره گیری با حلال های اتانول و آب به روش خیساندن انجام گرفت

**روش تهیه عصاره‌ی آبی:** برای تهیه عصاره آبی 10 گرم از پودر گواوا در 50 میلی لیتر آب دیونیزه استریل غوطه ور و به مدت 24 ساعت در تاریکی و در شرایط تکان مداوم روی شیکر با دور 120 قرار گرفت. محلول صاف شد در شرایط دمایی مطلوب خشک و عصاره‌ها در ویال‌های در بسته در تاریکی و در یخچال قرار داده شد.

**روش تهیه عصاره‌ی هیدروالکلی:** برای تهیه عصاره هیدروالکلی 10 گرم از پودر گواوا در 35 میلی لیتر اتانول 80 درصد و 15 میلی لیتر آب دیونیزه استریل به مدت 24 ساعت در تاریکی و در شرایط تکان مداوم روی شیکر با دور 120 قرار گرفت. محلول صاف شده تحت شرایط دمایی مطلوب خشک و در ویال‌های در بسته در تاریکی در یخچال قرار داده شد (29).

#### کشت سلول

رده سلولی DU-145 به صورت فلاسک از انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI1640 حاوی 10% سرم جنین گاوی (FBS) و آنتی بیوتیک کشت داده شد. محیط کشت RPMI1640 با نام تجاری Roswell Park Memorial Institute medium به صورت آماده از شرکت ایده زیست، تهیه و به منظور کامل شدن آن جهت استفاده در پژوهش به محلول RPMI 1640 با حجم 500 میلی لیتر، 5 میلی لیتر از محلول دو آنتی بیوتیک استرپتومایسین و پنی سیلین صاف شده و 50 میلی لیتر

زمانی ۲۴،۴۸،۷۲ ساعت انکوبه گردیدند. سپس 20 میکرولیتر محلول *MTT* به هر چاهک اضافه و به مدت 3 ساعت انکوبه شد. 200 میکرولیتر *DMSO* جایگزین محیط انکوبه شده با *MTT* و برای حل کردن کریستال‌های فورمازان به آرامی با پیست اضافه و جذب نوری در طول موج 560 نانومتر با دستگاه الیزا ریدر در سه بازه زمانی سنجیده و درصد بقاء سلولی در گروه کنترل منفی 100 منظور شد (22). جهت شمارش سلول‌ها از سوسپانسیون سلولی تهیه شده 100 میکرولیتر برداشته و با 300 میکرولیتر محیط کشت و 100 میکرولیتر تریپان بلو در ویال مخلوط و چندین بار پیتاژ شد. از این سوسپانسیون 20 میکرولیتر بر روی لام هموسیستم ریخته و با بزرگ نمایی 10 با 4 بار تکرار منطقه تعداد سلول‌ها شمارش گردید. در مورد سلول‌هایی که روی قسمت خارجی خطوط حایل خانه قرار می‌گیرند فقط سلول‌هایی که روی خطوط بالا و سمت راست قرار می‌گیرند، شمارش می‌شوند. سلول‌هایی که رنگ نمی‌گیرند را به- عنوان سلول‌های زنده در نظر گرفته می‌شود. از آنجایی که سوسپانسیون سلولی پنج بار رقیق شده مجموع سلول‌های 4 خانه را برابر تعداد سلول‌های موجود در سوسپانسیون ( $n$ ) در نظر گرفته، در نتیجه تعداد سلول‌ها در هر میلی لیتر معادل  $n \times 10^4$  می‌باشد (10). درصد بقاء سلول‌هایی که تحت تاثیر غلظتی خاص از دارو قرار گرفته اند با تقسیم جذب چاهک‌های تیمار شده به جذب کنترل منفی ضرب در 100 محاسبه شد. غلظتی از ترکیب مورد آزمایش که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل دهد به عنوان *LD50* در نظر گرفته و مقدار آن را از روی نمودار با استفاده از نرم افزار اکسل تعیین گردید (24).

#### تحلیل آماری

برای انجام آنالیز آماری اطلاعات گروه‌های آزمایشی مختلف از نرم افزار *SPSS* استفاده شد. نتایج گروه‌های

سرم گوساله (*Fetal Bovine Serum*) اضافه و *pH* محیط کشت تهیه شده با *NaOH* و *HCl* بین 7/3 تا 7/6 تنظیم و در دمای 4 درجه سانتی گراد نگهداری گردید، سپس سلول‌ها در انکوباتور  $CO_2$  دار و دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه، تعویض محیط کشت هر 2 روز یک بار انجام گردید (28).

#### بررسی اثر سیتوتوکسیک به روش *MTT*

در این پژوهش اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های تهیه شده بر روی سلول‌های سرطان پروستات انسانی *DU-145* با روش رنگ سنجی *MTT* (3-(4-5dimethyl) *thiazoly1*)-2,5 *diphenyl tetrazolium bromide* از طریق مقایسه با گروه کنترل بررسی شد. این روش بر فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز در میتوکندری سلول‌های زنده استوار است که محلول زرد رنگ *MTT* را به کریستال‌های نامحلول فورمازان بنفش رنگ تبدیل می‌کند، که می‌توان پس از حل کردن در محلول دی متیل سولفوکساید (*DMSO*) با دستگاه الیزا ریدر سنجش نمود (17). به طور خلاصه 200 میکرولیتر سوسپانسیون سلولی ( $5 \times 10^4$  سلول در هر میلی لیتر محیط کشت) در میکروپلیت‌های 96 خانه کشت داده و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه گردید. سپس 20 میکرولیتر غلظت‌های مختلف تهیه شده از عصاره‌ها به آن اضافه شد. برای تهیه غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بدین ترتیب عمل گردید، ابتدا 0/01 گرم از هر عصاره با *PBS* به حجم 10 میلی لیتر رسانده و غلظت 1000 میکروگرم بر میلی لیتر از هر عصاره به دست آمد. سپس با رقیق سازی توسط *PBS* غلظت‌های 100، 200، 500، 750 و 1000 میکروگرم بر میلی لیتر از هر عصاره تهیه و با 4 بار تکرار در 3 زمان مختلف به چاهک‌ها اضافه گردید. دو کسور بیسین به عنوان کنترل مثبت و به- عنوان کنترل منفی از محیط کشت فاقد عصاره استفاده گردید. میکروپلیت‌های حاوی عصاره و سلول در بازه

مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی دار بودن اختلافات  $P < 0/05$  در نظر گرفته، جداول مورد نظر، پس از انجام آزمون توکی و آنالیز واریانس رسم گردید.

### نتایج

#### مورفولوژی سلول های DU 145

سلول های DU145 بلافاصله پس از قرارگیری در محیط کشت و قبل از چسبیدن به کف منظره ای گرد و شناور دارند. این سلول ها پس از 24 ساعت قرار گرفتن در محیط کشت در صورت مناسب بودن شرایط به کف فلاسک می چسبند و شروع به تقسیم شدن می کنند (شکل 2).

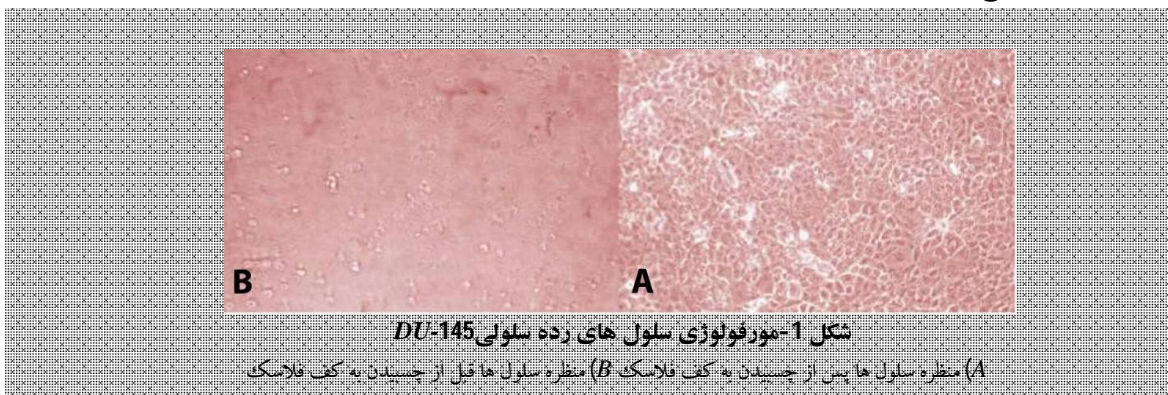
#### اثر سیتوتوکسیک عصاره های مختلف بر سلول های سرطان پروستات انسانی (DU145)

نمونه هایی که باعث حداقل مهار رشدی معادل 50 درصد گردیدند به عنوان نمونه های سیتوتوکسیک در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از این مطالعه این گونه

بیان می کند که عصاره ای آبی میوه گواوا در طی 72 ساعت بیشترین تاثیر سیتوتوکسیسیته را از خود نشان داده و به ترتیب عصاره های 48 و 24 ساعته از میزان سیتوتوکسیسیته کمتر برخوردار می باشند (جدول 1). نتایج حاصل از این مطالعه بیان می کند که عصاره ای هیدرو الکلی پس از 24 ساعت بیشترین اثر سیتوتوکسیسیته را روی سلول های سرطانی گذاشته است و به ترتیب عصاره های 48 و 72 ساعته اثر سیتوتوکسیسیته روی سلول های سرطانی داشته اند (جدول 2).

### بحث و نتیجه گیری

امروزه گیاهان دارویی نقش حیاتی در درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان دارند. گیاهان تنها دیگر فقط در طب سنتی مطرح نیستند بلکه آن ها توانسته اند، یک خط صنعتی از فرآورده های طبیعی را نیز به خود اختصاص دهند (1).



جدول 1- اثر عصاره آبی (با غلظت های مختلف) میوه گیاه گواوا بر میانگین درصد بقاء در طی ۸،۲۴ و 72 ساعت

زمان (ساعت)	24	48	72
غلظت (میکرو گرم / میلی لیتر)			
100	83/97 ± 0/06 <sup>b</sup>	63/52 ± 5/69 <sup>*</sup>	46/80 ± 6/93 <sup>*</sup>
250	89/93 ± 5/72	72/20 ± 5/46 <sup>*</sup>	50/81 ± 7/22 <sup>*</sup>
500	88/44 ± 1/91	75/32 ± 3/53 <sup>*</sup>	54/55 ± 7/69 <sup>*</sup>
750	85 ± 9/17	79/95 ± 7/50 <sup>*</sup>	56/08 ± 5/64 <sup>*</sup>
1000	94/58 ± 1/37	73/88 ± 5/91 <sup>*</sup>	60/18 ± 2/99 <sup>*</sup>

<sup>b</sup> میانگین درصد بقاء ± انحراف استاندارد

<sup>\*</sup> معناداری اختلاف میانگین درصد بقاء با میانگین گروه کنترل در سطح 5%

جدول 2- اثر عصاره هیدروالکلی (با غلظت های مختلف) میوه گیاه گواوا بر میانگین درصد بقاء در طی 72 و 48 ساعت

زمان (ساعت)	24	48	72
غلظت (میکروگرم/میلی لیتر)			
100	67/16 ± 1/24 <sup>*b</sup>	93/79 ± 7/74	98/01 ± 5/8
250	69/84 ± 2/81*	92/40 ± 9/68	104/60 ± 3/5
500	71/82 ± 5/15*	93/10 ± 4/96	98/08 ± 7/86
750	70/85 ± 1/26*	93/96 ± 10/95	94/45 ± 7/16
1000	81/29 ± 4/74*	86/30 ± 6/41*	100/31 ± 5/8

<sup>b</sup> میانگین درصد بقاء ± انحراف استاندارد

\* معناداری اختلاف میانگین درصد بقاء با میانگین گروه کنترل در سطح 5%

گواوا را بر سلول های فیروبلست و در محیط *MCF-7* و *CaCO3* بررسی کردند و آن را به اثبات رساندند (20). در مطالعه ای که به بررسی اثرات ضد سرطانی عصاره متانولی گواوا، بر سلول های سرطانی پستان انسان *MDA-MB231* و *MCF7* انجام گرفت، بررسی های سیتوتوکسیک و نتایج حاصل از آزمون *MTT* نشان دهنده اثر مهاري این عصاره بر رشد سلول های سرطانی بوده است (16). در بررسی اثر عصاره های آبی، دی کلرومتان و متانولی ریشه کاسنی بر سرطان پروستات در شرایط آزمایشگاهی بر روی سه دودمان سلولی سرطان پروستات (*PC-3*، *DU-145* و *AT3B-1*) مشخص گردید که این عصاره ها دارای اثرات ضد سرطانی هستند (30). از آن جایی که نتایج حاصل از مطالعه فوق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مشابه می باشد انتظار می رود وجود ترکیبات آنتی اکسیدان مشترک موجود در عصاره های این دو گیاه باعث مهار رشد سلول های سرطانی شده است. در مطالعه حاضر میزان مهار رشد سلول های رده سلولی *DU-145* با عصاره های آبی، هیدروالکلی میوه گیاه گواوا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه، این گونه بیان می کند که عصاره های آبی میوه گواوا در طی 72 ساعت بیشترین تاثیر سیتوتوکسیسیته را از خود نشان داده است و به ترتیب عصاره های 48 و 24 ساعته از میزان سیتوتوکسیسیته کمتر برخوردار بودند که نشان می دهد که ترکیبات

این ایده که بسیاری از داروهای مفید در درمان سرطان از گیاهان دارویی ساخته می شوند تا اثر جانبی کمتری داشته باشند.

بیان بالای آنزیم 15 لپوکسیژناز-1 (*15-LOX-1*) در تومورهای پروستات گزارش شده است. مشتقات کومارین با داشتن اثر مهاري بر این آنزیم، فعالیت ضد سرطانی دارند. اثرات ضد سرطانی دو ترکیب سنتزی 8 و 5- فارنسیل اکسی کومارین بر سلول های سرطان پروستات رده *DU-145* و رده سلولی نرمال *HFF3*، با تکنیک *MTT* بررسی شده و تفاوت *LD50* حاصل در این دو نوع سلول بیان گر نقش ضد سرطانی این دو ترکیب است. تغییر ساختار شیمیایی این ترکیبات و یا هم افزایی آن ها ممکن است نقش مؤثرتری در خاصیت ضد سرطانی آن ها در بررسی های *in vivo* و *in vitro* داشته باشد (2). از آن جایی که میوه گواوا دارای ترکیبات کومارینی (محصولات متابولیسم ثانویه رایج در واکوئل سلول های گیاهی) می باشد و این ترکیبات از خانواده ترکیبات فنلی رایج در گیاهان بشمار می روند، انتظار می رود که این مواد فنلی که از نظر فیزیولوژیکی فعال هستند و بر سلول های سرطانی اثرات سمی دارند، با ایجاد اختلال در تقسیم هسته ای و مهار رشد سلول های سرطانی عمل کرده و مهار رشد سلول های سرطانی را در مطالعه ای حاضر نشان دهد. در بررسی که توسط لیسبوا و همکارانش در سال 2011 انجام شد فعالیت ضد تکثیری

سیتوتوکسیک جدا شده در عصاره آبی با گذشت زمان اثر مهاری بیشتری بر رشد سلول ها داشته است و پس از گذشت مدت زمان بیشتر از 24 ساعت اثر سیتوتوکسیسته آن افزایش یافته است پس می توان این گونه استنباط کرد که عصاره آبی این گیاه به مرور زمان اثر سیتوتوکسیک بیشتری بر روی سلول های سرطانی داشته است در نتیجه می توان از این خاصیت در درمان سرطان پروستات بهره مند شود. آب یکی از بهترین حلال های موجود در طبیعت می باشد لذا زمانی که یک ترکیب ضد سرطانی محلول در آب قادر به از بین بردن سلول های ضد سرطانی می باشد این ترکیب می تواند در علم داروسازی بسیار حائز اهمیت باشد زیرا عوارض جانبی بسیار کمتری بر سلول های سالم بدن داشته و می توان راحت تر از آن به عنوان یک ترکیب ضد سرطان استفاده کرد و عصاره آبی نسبت به سایر عصاره ها ارجحیت دارد (18). عصاره ی هیدرو الکل برعکس عصاره آبی عمل کرده و نتایج حاصل از آن این گونه نشان می دهد که پس از 24 ساعت بیشترین اثر سیتوتوکسیسته را بر روی سلول های سرطانی گذاشته و به ترتیب عصاره های

#### منابع

- 1- جاهد، م. 1388. مطالعه اثر سیتوتوکسیک میوه گیاه *Ecballium elaterium* بر روی سه رده مختلف سلولی سرطانی. پایان نامه دکترای حرفه ای، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه اردبیل. 52-60.
- 2- حسینی مهر، م.، مقدم متین، م.، بهرامی، ا.، صادقیان، ح.، صبور ملکی، ص. 1391. بررسی اثرات ضد سرطانی دو ترکیب 8 و 5-فارنسیل اکسی کومارین در رده سلولی DU145 در شرایط *in vitro*. هفدهمین کنفرانس سراسری و پنجمین کنفرانس بین المللی زیست شناسی ایران. دانشگاه شهید باهنر کرمان. صفحه 102-112.
- 3- عبدالحسینی، ع.، توتونچی صراف، ک.، ایرانلو، ع.، جعفری مقدم، ن. 1391. رابطه بین سرم آنتی ژن اختصاصی

48 و 72 ساعته اثر سیتوتوکسیسته روی سلول های سرطانی داشته اند که نتایج فوق نشان می دهد اتانول موجود در عصاره هیدروالکلی باعث ناپایداری ترکیبات موجود در عصاره شده و تاثیر آن را پس از 24 ساعت کاهش یافته است. پس می توان نتیجه گرفت که ترکیبات ضد سرطانی موجود در این میوه در مجاورت با اتانول ناپایدار می شوند و در 24 ساعت اول بیشترین تاثیر را داشته اند و پس از آن به دلیل فرار بودن از ترکیب جدا شده اند پس می توان از این عصاره نیز برای درمان استفاده کرد اما در بازه زمانی کمتری اثر این عصاره مشاهده می شود در نتیجه این نکته باید در روند درمان سرطان پروستات به کمک عصاره ی هیدروالکلی مد نظر قرار گرفته شود (20). به طور کلی عصاره ی آبی و هیدروالکلی میوه گواوا دارای اثر سیتوتوکسیک می باشند. علاوه بر این مطالعات نشان دادند که تاثیر سیتوتوکسیک عصاره ی آبی بسیار قوی تر از عصاره ی هیدروالکلی است.

- پروستات PSA با اندازه پروستات و توده بدنی BMI. مرکز تحقیقات بیمارستان رضوی دانشگاه علوم پزشکی مشهد. شماره 56. ص 30-26.
- 4- نیازی، ع.، عبدالصمد شیخ زاده، ب.، نارویی، ح. 1388. بررسی فراوانی نقاط AgNOR در افتراق هایپرپلازی پروستات از آدنوکارسینوم پروستات. فصلنامه علمی پژوهشی فیض. شماره 25. ص 28-14.
  - 5- وصال زاده، م.، نوری دلویی، ر. 1388. ژنتیک مولکولی، تشخیص، پیشگیری و ژن درمانی در سرطان پروستات. مجله علوم پزشکی دانشگاه تهران. شماره 29. ص 14-1.
6. Abascal, J.M., Hevia, S.M, Garcia, J.M (2007). Brachytherapy in localized prostate cancer. *Actas Urol Esp*, 31; 617-625.
7. ATCC Cell Bank. (2012). Morphology of DU-145. Available from: <http://www.atcc.org/Products/All/HTB-81.aspx#documentation>.



8. Cansino, J.R., Martinez, L. (2006). *Molecular biology in prostate cancer*. Clin Transl Oncol, 8; 48-62.
9. Charrier, J.P. (1999). *Two-dimensional antigen in sera of men with prostate cancer or benign prostate hyperplasia*. Electrophoresis, 20(10); 75-81.
10. Davis, J.M. (2010). *Basic Cell Culture*. 2<sup>nd</sup> ed. London Oxford University Press, P; 112-123.
11. Damber, J.E., Aus, G. (2008). *Prostate cancer*. 2<sup>nd</sup> ed. Lancet, P; 10-51.
12. Elsadek, B., Graeser, R.N., Esser, N., Schafer, O.C., Tsurumi, C., Abuajaj, K. (2011). *In vivo evaluation of a novel albumin-binding prodrug of doxorubicin in an orthotopic mouse model of prostate cancer (LNCaP)*. Prostate Cancer and Prostatic Diseases, 14; 14-21.
13. Freshney, R.I. (2005). *Culture of animal cells*. 5<sup>th</sup> ed. Wiley; P.46-62.
14. Fuenmayor, M.E.P., Montero, N.J.M. (1997). *In vitro clonal propagation of guava (Psidium guajava L.) stem shoot of cv Mara*, Journal of Ethnopharmacology, 425; 47-52.
15. Kaighn, M.E. (1979). *Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC3)*. Invest, 17; 16-23.
16. Kaileh, M., Vanden, B., Berghe, W., Boonec, E., Essawib, T., Haegemana, G. (2007). *Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti inflammatory and cytotoxic activity*. Journal of Ethnopharmacology, 113; 510-516.
17. Khanavi, M., Moshteh, M., Manayi, A., Shams Ardekani, M.R., Vazirian, M., Ajani, Y. (2011). *Cytotoxic activity of Lythrum salicaria L.* Research Journal of Biological Sciences, 6 (2); 55-57.
18. Lampronti, I., Saab, A., Gambari, R. (2005). *Medicinal plants from Lebanon effects of essential oils from Pistacia palaestina on proliferation and erythroid differentiation of human leukemic K562 cells*. Minerva biotec, 17; 153-158.
19. Lee, W.C., Roziahanim, M., Pillai, S., Perumal, S. (2012). *Antioxidant activities of essential oil of Psidium guajava L. leaves*. APCBEE Procedia, 2; 86-91.
20. Lisboa, A., Haas, L. I. R., Chaves, F.C., Salvador, M. (2011). *Araca (Psidium cattleianum Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells*. Food Chemistry, 128; 916-922.
21. Madhuri, S., Pandey, G. (2009). *Some anticancer medicinal plants of foreign origin*. Current Science, 96; 779-783.
22. Meshkini, A., Yazdanparast, R. (2007). *Induction of megakaryocytic differentiation in chronic myelo genous leukemia cell k562 by 3-hydro genkwada phnin*, Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 40(6); 944-951.
23. Miller, G.J. (2000). *Prostate cancer among the Chinese pathologic epidemiologic and nutritional considerations in Resnick MI, Thompson IM, Advanced Therapy of Prostate Disease*. London Decker, 20; 18-27.
24. Miao, S., Shi, X., Zhang, H., Wang, S. (2011). *Proliferation-attenuating and apoptosis-inducing effects of tryptanthrin on human chronic myeloid leukemia k562 cell line in vitro*. International Journal of Molecular Sciences, 12; 331-345.
25. Muehlenbein, M.P., Bribiescas, R.G. (2005). *Testosterone mediated immune functions and male life histories*. Am J Hum Biol, 17; 52-58.
26. Singh, S.P. (2011). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: cocona to mango*. A volume in Wood head Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 213-245.
27. Sonoda, T., Nagata, Y., Mori, M., Miyanaga, N., Takashima, N., Okumura, K. (2004). *A case control study of diet and prostate cancer in Japan possible protective effect of traditional Japanese diet*. Cancer Sci, 95(2); 38-49.
28. Spector, D.L., Goldman, D., Leinwan, L.A. (1998). *Cells. first ed. cold spring harbor laboratory press; P.1-25*.
29. Subhash, C., Vivekananda, M., Anup Kumar Das, T. (2014). *Essentials of Botanical Extraction*. 2<sup>nd</sup> ed. Principles and Applications, 83-136.
30. Toyang, N., Waboc, H.K., Atehb, E.N., Davis, H., Tanec, P., Kimbud, S.F. (2012). *In vitro anti-prostate cancer and ex vivo antiangiogenic activity of Vernonia guineensis Benth. (Asteraceae) tuber extracts*. Journal of Ethnopharmacology, 41; 66-75.
31. Vos, J.E., Schoeman, H., Barjak, P., Watt, M.P., Toerien, A.J. (2000). *In vitro selection and commercial release of guava wilt resistant rootstocks*. Acta Hort, 513; 69-79.
32. Wilkinson, A.N., Brundage, M.D., Siemens, R. (2008). *Approach to primary care follow-up of patients with prostate cancer*. Can Fam Physician, 54; 12-25.

