# بررسی اثرسایتوتوکسیک عصاره تام هیدرومتانولی حاصل از چای سیاه ارتودکس ایرانی بر سلولهای سرطانی KB (مدل سلولی اسکواموس سل کارسینوما)

دکترامیرعلاآغبالی[۱] دکتر سپیده وثوق حسینی[۲] دکتر فرانک مرادی عباس آبادی[۳] لیلا محمدنژاد[۴] داریوش شانه بندی[۵]دکتر بهزاد برادران[۶#]

۱- دانشیار بخش آسیب شناسی دهان، فک وصورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۲- استاد بخش آسیب شناسی دهان، فک وصورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۳-دستیار تخصصی بخش آسیب شناسی دهان،فک وصورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۴- کارشناس پژوهشی مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۵-کارشناس ارشد بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات ایمونولوژی ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۶- استادیارگروه ایمونولوژی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** چای سیاه ارتودکس ایرانی متعلق به خانواده Theaceae می‌باشد که به طور گسترده در جامعه و طب سنتی ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سایتوتوکسیک عصاره هیدرومتانولی تام حاصل از چای ارتودکس ایرانی بر سلولهای سرطانی KB (مدل سلولی اسکواموس سل کارسینوما) و القای آپوپتوز بر روی آنها انجام گردید.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه بصورت تجربی و آزمایشگاهی بر روی سلول‌های سرطانی KB به عنوان مدل سلولی اسکواموس سل کارسینومای دهانی انجام شد. برگ‌های چای سیاه با روش ماسراسیون به کمک حلال هیدرومتانولی ۷۰ درصد عصاره‌گیری شدند. میزان سمیت و درصد بقای سلولی غلظت های مختلف عصاره تام بر روی سلولهای کشت داده شده، در طی ۲۴ ساعت با استفاده از روش MTT اندازه گیری شد. روش الایزا برای مطالعه القای آپوپتوز در زمان ۲۴ ساعت در غلظت های IC۵۰ از عصاره هیدرومتانولی انجام شد. علاوه بر این جهت تایید القای مرگ سلولی آپوپتوز در سلول‌های تیمار شده، تست الایزا وTUNEL انجام گردید. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون ANOVA استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج تست MTT نشان داد که عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی توانایی مهار رشد و خاصیت سایتوتوکسیک در سلولهای سرطانی KB را در تمام غلظت‌ها دارد. در بررسی۲۴ساعته غلظت IC ۵۰ برای عصاره هیدرومتانولی برابر با ۱۲/۴± ۴۴۶/۰۸میکروگرم بر میلی لیتر بود و القای آپوپتوز در سلول های سرطانی در این غلظت ۳۴ درصد گزارش شد.

**نتیجه‌گیری:** عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی در تمام غلظت‌ها موجب مهار رشد و مرگ سلول‌های رده سرطانی اسکواموس سل کارسینوم به شکل آپوپتوز می‌شود.

**کلید واژه‌ها:** چای ارتودکس، سمیت سلولی، آپوپتوز، رده سلولی KB، رده سلولی Hela KB

وصول مقاله: ۹۱/۱۲/۶ اصلاح نهایی: ۹۲/۳/۱ پذیرش مقاله: ۹۲/۳/۱۵

**مقدمه:**

سرطان دهان هشتمین سرطان شایع آقایان و پانزدهمین سرطان شایع در میان خانم ها است. تقریبا ۹۴ درصد بدخیمی های دهان را کارسینومای سلول سنگفرشی (SCC) تشکیل می دهد. متوسط بروز سالیانه و میزان مرگ و میر به طور قابل توجهی در بین نژادها و گروه های سنی و جنسی مختلف متفاوت می باشد و همچنین بسیاری از انواع سرطان ها با سنن غذایی، عادات خوردن و روش زندگی در ارتباط است.[۱]

درمان مرسوم این سرطان، با شیمی درمانی و جراحی رادیکال و در برخی از موارد، رادیوتراپی است. هنوز با وجود پیشرفت های اخیر، درمان های پیچیده و ترکیبی، شانس بقای بیماران مبتلا به اسکواموس سل کارسینوما در حد ۵۰ تا ۵۹ درصد باقی مانده است.[۱،۲] روش های درمان نوین، روش‌های پیشگیری و حتی راهکارهای مختلف تشخیص زود هنگام این بیماری مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. یکی از راه‌های

# نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر بهزاد برادران، استادیارگروه ایمونولوژی- مرکز تحقیقات کاربردی دارویی -دانشگاه علوم پزشکی تبریز. تلفن:۰۹۱۴۴۰۳۰۵۲۶
پست الکترونیک:behzad_im@yahoo.com

[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]

درمان سرطان استفاده از ترکیبات شیمیایی القا کننده آپوپتوز در سلول های سرطانی می‌باشد.[۲]

آپوپتوز مرگ برنامه ریزی شده سلول است،که در خلاف جهت تکثیر سلول تکامل یافته، و در پاسخ به برخی محرک‌ها و همچنین در طی فرایند تمایز مرفولوژیکی رخ می‌دهد. آپوپتوز همراه با چروکیدگی سلول، تراکم کروماتینی در کنار غشای سلول، چروکیدگی غشای سلول و سر انجام قطعه قطعه شدن سلول به اجسام آپوپتوتیک است.[۳]

ترکیبات ضد سرطانی مشتق از گیاهان، با کشف آلکالوئیدونیکا و استخراج ماده سایتوتوکسیک فیلوتوکسین، در سال ۱۹۵۰ آغاز شده است. [۴] این ترکیبات طبیعی مانند آلکالوئیدها، ترپن‌ها، لیگنان ها و فلاونوئیدها در گیاهان مختلف دارای اثرات ضد توموری مختلفی می باشند.[۵]

گیاه چای از خانواده Theaceae ، به صورت بوته، درختچه و یا درختی و با نام علمی Thea Sinensis یا Camelia می باشد. قسمت اصلی مورد استفاده ی بوته‌ی چای، برگ آن است که به روش‌های مختلف تبدیل به انواع چای می شود. بواسطه وجود ترکیبات فعال آنتی اکسیدانی (پلی فنل ها از جمله کاتپسین ها) چای، اثرات ضدسرطانی (آنتی موتاژنیک) چشمگیری با مصرف آن حاصل می گردد. [۶] تحقیقات در این راستا نشان داده است که فعالیت انواع سارکوما (که معمولاً ماهیچه‌ها، استخوانها و سایر نسوج ارتباطی، نسج مثانه، کلیه‌ها، کبد، ریه و طحال را در بر می‌گیرد) با مصرف چای سرکوب شده و میزان ابتلاء به انواع سرطان‌های دهان، کاهش می‌یابد. [۹-۶]

در طی مطالعاتی که بر روی چای ارتودکس ایرانی انجام گرفته، اثرات ضد باکتریایی این گیاه تایید شده است.[۱۰] با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای برای بررسی تاثیر عصاره چای ارتودکس ایرانی وترکیبات موجود در آن بر روی ویژگی‌های آپوپتوتیک و زیست پذیری کارسینوم سلول سنگفرشی دهان صورت نگرفته است، لذا این مطالعه، با هدف بررسی اثر عصاره هیدرومتانولی حاصل از چای سیاه ارتودکس ایرانی بر روی رده سلولی (KB) سرطان سلول سنگفرشی دهان انجام پذیرفت.

**مواد و روش‌ها:**

این تحقیق به روش تجربی و آزمایشگاهی انجام شد، جهت تهیه عصاره گیاهی، ابتدا چای سیاه توسط آسیاب مکانیکی به پودر کاملا ریزی تبدیل شده و سپس اقدام به چربی زدایی توسط حلال ان- هگزان با روش ماسراسیون گردید. پس از آن پودر حاصل کاملا خشک و عاری از حلال گردیده و عمل استخراج توسط حلال هیدرومتانلی ۷۰ درصد صورت گرفت. عصاره گیری سه بار تکرار، و عصاره ها جمع آوری گردیده و نهایتا توسط Rotary Evaporator در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد کاملا خشک گردیدند، عصاره خشک تا زمان بکارگیری در فریزر (دمای زیر صفر) نگهداری گردیدند. محلول ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر از آن در محیط (RPMI1640) Roswell Park Memorial Institute medium حاوی Dimethyl sulfoxide( DMSO) تهیه شد و با استفاده از فیلتر میلی پور ۰/۰۲ میکرومتری استریل شد ه و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری گردید.[۱۱]

**کشت سلول**

رده سلولی KB به عنوان مدل سلولی اسکواموس سل کارسینوم دهانی از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI-1640 (SIGMA, USA) حاوی ۱۰درصد سرم جنین گاوی FBS و آنتی بیوتیک های پنی سیلین 100 IU بر میلی لیتر و استرپتومایسین ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر (Invitrogen USA) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، محیط مرطوب حاوی ۵ درصدCO2 کشت داده شد.[۱۰]

**بررسی اثر سایتوتوکسیسیتی با روشMTT**

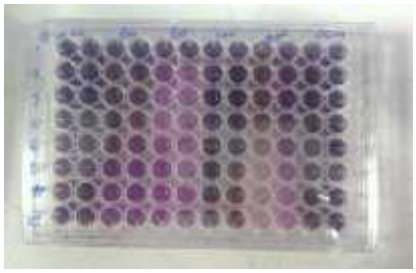
اثر سایتوتوکسیک عصاره هیدرومتانولی تام بر روی رده سلولی KB با روش رنگ سنجی، با استفاده از روش(MTT) یا Micro culture tetrazolium test بررسی شد. این تست براساس فعالیت سوکسینات دهیدروژناز در میتوکندری سلول های زنده استوار است، که محلول زرد رنگ MTT را به کریستال های نامحلول فورمازان بنفش رنگ تبدیل می کند،



[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]

که می توان پس از حل کردن در DMSO با دستگاه الایزا ریدر سنجش نمود. به طور خلاصه ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی ($5\times10^4$ سلول در هر میلی لیتر محیط کشت) در میکرو پلیت های ۹۶ خانه (Nunc, Denmark) کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید، سپس غلظت های مختلف عصاره اضافه شد. تاکسول به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و به عنوان کنترل منفی محیط کشت حاوی ۰/۵ درصد DMSO (Merck, Germany) فاقد عصاره به کار رفت. میکروپلیت های حاوی سلول و عصاره به مدت ۲۴ ساعت در شرایط یکسان انکوبه شدند علاوه بر این جهت بررسی اثر زمان بر سایتوتوکسیسیتی عصاره هیدرومتانولی، سلول های تیمار شده با این عصاره در زمان های مختلف انکوبه گردیدند.[۹] پس از ۲۴ ساعت محیط حاوی عصاره حذف شده و بجای آن ۱۰۰ میکرولیتر محیط RPMI1640 حاوی ۵۰ میکرولیتر MTT (2mg/ml) ریخته شد و به مدت ۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس ۲۰۰میکرولیتر DMSO جایگزین محیط انکوبه شده با MTT شد و برای حل کردن کریستال های فورمازان به آرامی پیپت گردید. جذب نور در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر سنجیده شد. اثر هر غلظت عصاره در ۳ چاهک و در زمان ۲۴ ساعت بررسی شد. درصد سایتوتوکسیسیتی سلولی در گروه کنترل منفی ۱۰۰ منظور شد. درصد سایتوتوکسیسیتی سلول هایی که تحت تاثیرغلظت خاصی از دارو قرار گرفته اند با تقسیم جذب چاهک های تیمار شده به جذب کنترل منفی ضرب در ۱۰۰ محاسبه گردید. غلظتی از ترکیبات مورد آزمایش که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل می دهد، به عنوان IC50 در نظر گرفته شد، این مقدار از روی نمودار با استفاده از نرم افزار اکسل مایکروسافت تعیین گشت.[۱۱]



**شکل۱- رنگ سنجی با استفاده از روش (MTT)**

### تست الایزا

از این تست برای سنجش میزان القای آپوپتوز توسط عصاره هیدرومتانولی تام بر روی سلول‌های سرطانی و با استفاده از دستورالعمل کیت شرکت سازنده (Roche Applied Science, Germany) انجام گرفت. ابتدا سلول ها به تعداد ۱۰۰۰۰ عدد به صورت تریپلیکیت در پلیت های ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند و در مدت زمان ۲۴ ساعت در مجاورت با عصاره در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و کنترل مثبت قرار گرفتند. سپس طبق دستور العمل کیت Cell Death Detection ELISA سلول‌ها با بافر لیز شده و برای مشخص شدن القای آپوپتوز جمع‌آوری گردیده و به میکروپلیت های آماده که حاوی دو نوع مونوکلونال آنتی بادی برعلیه هیستونهای هسته و DNA هستند، افزوده شدند. بعد از انکوباسیون، ۳ بار شستشو داده و سپس سوبسترا را اضافه نموده و مقدار جذب در ۴۰۵ نانومتر ثبت شد.[۱۱]

### بررسی تغییرات مورفولوژیک

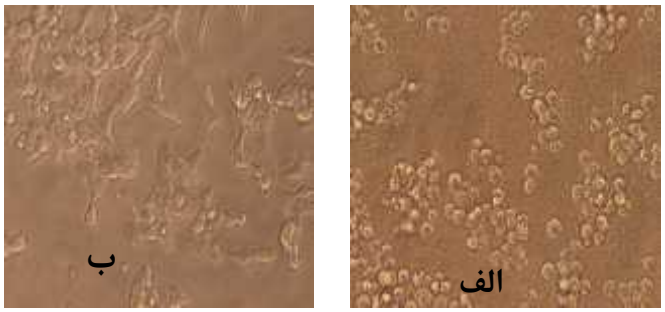
یک فلاسک حاوی $1\times10^6$ سلول های سرطانی در ۱۰ میلی لیتر محیط کشت تهیه گردید. پس از ۲۴ ساعت که از اتصال سلول ها اطمینان حاصل شد، عصاره هیدرومتانولی با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت تغییرات ایجاد شده ،با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست (Nikon, Japan) در بزرگنمایی ۲۰ مشاهده و سپس عکس برداری شد.[۱۲] (شکل۲)

[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]

**تستTunel**

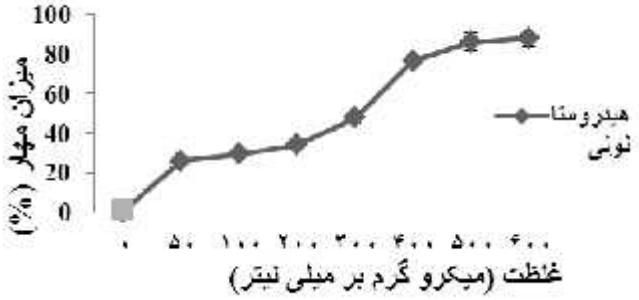
با استفاده از کیت TUNEL و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Roche Applied Science, Germany)مرگ سلولی در سلول‌های تمیار شده مورد بررسی قرار گرفت . به طور خلاصه، سلول های تیمار شده با فرمالدئید ۴ درصد در PBSدر دمای اتاق به مدت ۱ ساعت فیکس شدند و پس از شستشو با PBS در آب اکسیژنه ۳ درصد در متانول به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و پس از شستشو با PBS به مدت ۵ دقیقه در محلول تریتون ۱۰۰ X در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه در محلول تانل انکوبه شدند و سپس به مدت۱۵ دقیقه در محلول DAB در تاریکی قرار گرفتند. پس از آن سلول ها با میکروسکوپ نوری مشاهده گردیدند. در این رنگ آمیزی سلول‌های آپوپتوزی با هسته‌های قهوه‌ای رنگ مشخص گردیدند. [11] برای انجام آنالیز آماری، از نرم افزار SPSS ۲۰ استفاده گردید.




**شکل ۲- تغییرات مورفولوژیک سلول های سرطانی پس از تیمار با عصاره هیدرومتانولی. الف) سلولهای سرطانی در غلظت ۴۴۶/۰۸±۱۲/۴ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی بر سلولهای سرطانی KB (مدل سلولی اسکواموس سل کارسینوما) پس از ۲۴ ساعت ب) سلول های سرطانی KB بدون تیمار عصاره**

**یافته‌ها:**

نتایج حاصل از بررسی اثر سایتوتوکسیسیتی عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی بر سلولهای سرطانی KB (مدل سلولی اسکواموس سل کارسینوما) توسط تست MTT، در طی ۲۴ ساعت نشان داد که عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی در همه غلظت‌های بررسی شده، اختلاف معنی دار با گروه کنترل داشت وتوانایی مهار رشد و خاصیت سایتوتوکسیک در سلولهای سرطانی KB را دارد ( نمودار ۱). در بررسی ۲۴ ساعته، غلظت IC50 برای عصاره هیدرومتانولی برابر با ۴۴۶/۰۸±۱۲/۴ میکروگرم بر میلی لیتر است.




**نمودار ۱- اثر غلظت های مختلف عصاره هیدرو متانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی بر سلولهای سرطانی KB (مدل سلولی اسکواموس سل کارسینوما) توسط تست MTT در طی ۲۴ ساعت.**

با توجه به نتایج حاصل از آزمایشات MTT و تعیین میزان IC50 عصاره هیدرومتانولی تام بر روی سلول‌های سرطانی در زمان ۲۴ ساعت، مشخص شد این غلظت جهت تعیین نوع مرگ سلولی و بررسی میزان القای آپوپتوز مناسب می باشد. مقایسه شدت جذب سوپرناتانت و لایزت سلول‌ها با کنترل مثبت نشان داد، که نوع مرگ سلولی آپوپتوز می‌باشد. با افزایش غلظت عصاره هیدرومتانولی تام، شدت القای آپوپتوز افزایش یافت و در غلظت۴۴۶/۰۸±۱۲/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر برابر۳۴ درصد شد. نتایج حاصل از تیمار رده سلولی (KB) سلول‌های سرطان سنگفرشی دهان، با غلظت ۴۴۶/۰۸±۱۲/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر (IC50)، از عصاره

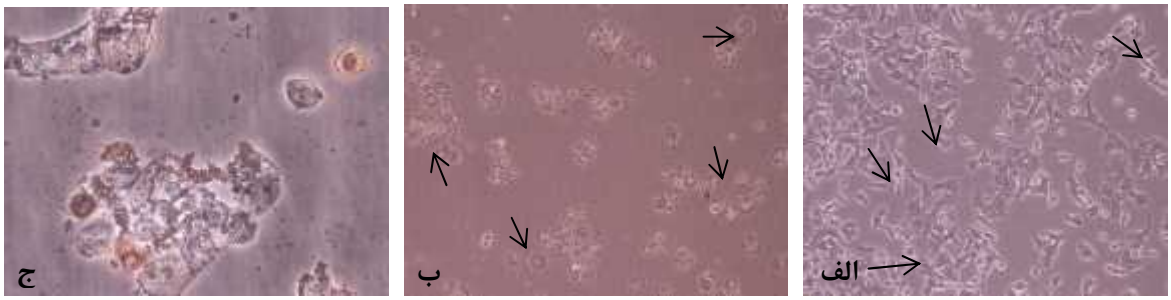


[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]

هیدرومتانولی نشان داد که پس از ۲۴ ساعت چروکیدگی و تغییر شکل در غشا سلول‌ها ایجاد شده و همچنین درصدی از سلول ها از بستر خود جدا شده اند. (شکل ۳)

**تایید اثر عصاره هیدرومتانولی بوسیله تستTUNEL**

تست تانل جهت بررسی القای مرگ سلولی و اثر القای آپوپتوز بر روی سلول های سرطانی انجام شد. نتایج نشان داد که رده سلولهای اسکواموس سل کارسینوم در غلظت ۴۴۶/۰۸±۱۲/۴ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره هیدرومتانولی پس از ۲۴ ساعت مشخصات ظاهری آپوپتوز را نشان می‌دهند. مشخصات اختصاصی سلول های آپوپتوز شده شامل: متراکم شدن هسته و قطعه قطعه شدن سلولها می‌باشد که در مقایسه با سلول های تیمار نشده که کروماتین هسته‌ای یکنواخت داشته قابل تفکیک می‌باشند و هسته سلول‌های آپوپتوزی رنگ قهوه‌ای تیره به خود گرفته است. شکل (ج- ۳) به خوبی تغییرات آپوپتوزی سلولهای سرطانی در غلظت ۴۴۶/۰۸±۱۲/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره هیدرومتانولی را پس از ۲۴ ساعت نشان می‌دهد.




**شکل ۳- تغییرات مورفولوژیک هسته سلول های سرطانی آپوپتوز شده پس از تیمار با عصاره هیدرومتانولی. الف) سلول های سرطانی KB بدون تیمار عصاره. ب) سلولهای سرطانی در غلظت 12.4 ±446.08 میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی بر سلولهای سرطانی KB (مدل سلولی اسکواموس سل کارسینوما) پس از ۲۴ ساعت بوسیله تست تانل. ج ) مشخصات اختصاصی سلول های آپوپتوز شده شامل هسته متراکم قهوه ای تیره ( با فلش نشان داده شده است) و قطعه قطعه شدن سلول است که در مقایسه با سلول های تیمار نشده که کروماتین هسته ای یکنواخت دارند، قابل تفکیک هستند.**

**بحث:**

سرطان یکی از عوامل عمده مرگ ومیر در سراسر جهان است. در آمار سازمان بهداشت جهانی تخمین زده شده است که سرطان عامل ۸۳/۲ میلیون مرگ در بین سال های ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۵ خواهد بود. [۱۳] بیماری سرطان، بدخیمی است که مشخصه بارز آن میزان پایین آپوپتوز است. چگونگی تنظیم آپوپتوز یکی از دغدغه های اصلی توسعه داروهای ضدسرطانی و شیمی درمانی سلول های بدخیم است. در سالهای اخیر استفاده از ترکیبات طبیعی برای مقابله با سرطان با توجه به عوارض جانبی کم و تاثیرات امید بخش مورد توجه واقع گشته است. [۱۴]

امروزه ترکیبات گیاهی فراوانی با اثرات بیولوژیک مختلف جداسازی شده و در علم داروسازی نوین وارد شده اند که در درمان سرطان های مختلف موثرند. [۱۵] چای غنی از ترکیبات آلکالوئیدها (کافئین) ، فلاونوئیدها (کاتپسین ها)، فنولیک اسیدها (گالیک اسید، کوماریک اسید، کافئیک اسید و کلروژیک اسید) بوده که عامل اثرات آنتی اکسیدانی، آنتی موتاژنیک، ضدسرطانی و حذف کنندگی رادیکالهای آزاد مضر می باشد. [۱۶]

در تحقیقاتی که در گذشته صورت گرفته است، نشان داده شده که تر کیبات فنولی به خصوص گالیک اسید بدست آمده از عصاره برگ چای سیاه، توانایی القای آپوپتوز در

[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]

سلولهای سرطانی معده، کولون ولوسمی را دارد ولی تاکنون تحقیقی درباره اثر عصاره چای سیاه بر روی رده سلول‌های سرطانی دهان انجام نگرفته است .[۱۹-۱۷]

در مطالعه ای که توسط Jiebolu وهمکارانش در سال ۲۰۰۸ انجام شد،برای ا ولین بار به این نتیجه رسیدند که پلی فنل های موجود در چای سیاه با ایجاد اختلال در مسیرهای رشد سلول و فعال سازی مسیرهای آپوپتوز، بطوربالقوه اثر ضدسرطانی داشته باشند. [۲۰]

همچنین در مطالعه دیگری که توسط Arindam Bha وهمکارانش در سال ۲۰۰۵ انجام شد، به این نتیجه رسیدند که چای سیاه باعث القای آپوپتوز در سلولهای کارسینوم پستان می‌شود.[۲۱]

تحقیق نشان داد که، مهار رشد وتکثیر سلولهای سرطانی سرطان دهان همراه با القای آپوپتوز در سلولهای سرطانی تیمارشده با عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی با تستهای اختصاصی انجام گرفت و نتایج بدست آمده، تایید کننده مطالعات دیگران درمورد مکانیسم اثرضدسرطانی چای سیاه با القای آپوپتوز می‌باشد.

اکثر مطالعات گذشته برروی سلولهای سرطان دهان توسط عصاره چای سبز صورت گرفته است.به عنوان مثال در مطالعه Hsuوهمکاران در سال ۲۰۰۲، به این نتیجه رسیدند که اثرات شیمیایی پلی فنل های چای سبز به خصوص Epigallocatachin-3-gallate(EGCG)در سلولهای سرطانی دهان منجر به فعال سازی مسیر آپوپتوتیک میشود.(۸) و مطالعه بسیار جدیدی که توسط Zlotogorskiو همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام گرفت ،نشان داد که پلی فنل های چای سبز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و میتوانند به طور بالقوه خاصیت درمانی در بدخیمی های انسان به ویژه اسکواموس سل کارسینومای سروگردن داشته باشند.[۲۲]

درمطالعه حاضر، نتایج نشان داد که عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی نیز با اثر برسلولهای سرطانی اسکواموس کارسینوما، منجربه کاهش رشد سلولهای سرطانی می‌شود.

همان طورکه مشاهده می شود یافته های این پژوهش با یافته های دیگران درمورد اثر ضدسرطانی ترکیبات موجود در چای سبز برروی سلولهای سرطانی دهان تاحدی مشابه اثرات ترکیبات موجود در چای سیاه بر روی سلولهای سرطانی دهان در این مطالعه می باشد و چای سیاه نیز مشابه چای سبز برروی سلولهای سرطانی دهان اثرات ضد سرطانی دارد.

با توجه به عدم بررسی اثرات ضد سرطانی عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی بر سرطان دهان، در مطالعه حاضر اثر عصاره هیدرومتانولی بر روی رده سلول‌های سرطانی KB در غلظت‌های مختلف با استفاده از تست MTTبررسی گردید و نتایج نشان داد، که عصاره هیدرومتانولی در زمان ۲۴ ساعت بر روی سلول های سرطانی منجر به کاهش رشد سلول های سرطانی همراه می شود. بنابراین ترکیبات ضد سرطان موجود در عصاره چای سیاه دارای اثر وابسته به غلظت بر روی سلول های سرطانی KB دارد.

مهار رشد و تکثیر سلولهای سرطانی همراه با القای آپوپتوز در سلول های سرطانی تیمار شده با عصاره با تست های اختصاصی تایید شد. مورفولوژی سلول های در حال آپوپتوز خصوصیاتی اختصاصی نظیر چروکیدگی سلول و آماس غشا را نشان می دهند که چروکیده شدن سلول های سرطانی تیمار شده با غلظت ۱۲/۴±۴۴۶/۰۸ میکروگرم در میلی لیترعصاره هیدرومتانولی، القای آپوپتوز را در طی مهار رشد تایید می کند .

## نتیجه گیری

بنظر می رسد که درصورت شناسایی ترکیبات فعال عصاره چای سیاه و مطالعات تکمیلی اثرات آن می توان در آینده از آن در درمان سرطان استفاده نمود. با توجه به نتایج حاصل،



[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]

عصاره هیدرومتانولی چای سیاه ارتودکس ایرانی حاوی ترکیبات سایتوتوکسیک و آپوپتوتیک بیشتر بوده و کاندید مناسبی برای شناسایی و خالص سازی ترکیبات فعال می‌باشد.

**تشکر و قدر دانی**

از حمایت های مالی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و تمامی همکاران عزیزی که ما را در جهت اجرای هر چه بهتر این تحقیق یاری نموده اند، نهایت تشکر را داریم . این طرح با کد طرح ۹۱/۶۲ در تاریخ ۹۱/۶/۶ در مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تصویب گردید.

## *References:*

1-Kacher JE. Oral and maxillofacial pathology.Case of the month.Histoplasmosis.Tex Dent J. 2013 Mar;130(3):198, 232.

2- Chin YW, Balunas MJ, Chai HB, Ringhorn AD. Drag discovery from natural sources . AAPS J. 2006 Apr 14;8(2):E239-53.

3- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol. 2007 Jun;35(4):495-516

4- Cragg GM, Newman DJ. Plant as source of anti cancer agents. J Ethnopharmacol. 2005 Aug 22;100(1-2):72-9.

5- Urueña C, Cifuentes C, Castañeda D, Arango A, Kaur P, Asea A,etal.Petiveria alliacea extracts uses multiple mechanisms to inhiloit growtts of human and mouse tumoral cells. BMC Complement Altern Med. 2008 Nov 18;8:60.

6- Mehta RG, Murillo G, Naithani R, Peng X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? Pharm Res. 2010 Jun;27(6):950-61.

7- Katiyar SK, Perez A, Mukhtar H. Green tea polyphenol tretament to human skin prevents formation of ultraviolet light β-induced pyrimidine dimers in DNA. Clin Cancer Res. 2000 Oct;6(10):3864-9

8- Hsu S, Lewis J, Singh B, Schoenlein P, Osaki T, Athar M,etal. Green tea poly phenol targets the mitochodria in tumor cells inducing caspase 3-dependent apoptosis. Anticancer Res. 2003 Mar-Apr;23(2B):1533-9.

9- Hsu S, Farrey K, Wataha J, Lewis J, Borke J, Singh B,etal. Rol of p21 WAF1 in Green tea polyphenol induced growth arrest and apoptosis of oral carcinoma cells. Anticancer Res. 2005 Jan-Feb;25(1A):63-7.

10- Valiyari S , Baradaran B, Delazar A , Pasdaran A, Zare M.Dichloromethane and Methanol Extracts of Scrophularia oxysepala Induces Apoptosis in MCF-7 Human Breast Cancer Cells. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2012; 2(2), 223-231.

11- Mc P. Basic techniques for mammalian to cell tissue culture. Current Protocols In Cell Biology. 1998; 7: 1-10.- Mosmann T .Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival:application to proliferation and cytotoxicity assays. J of Immunol Methods. 1998; 65: 55-63..

12-Kumar V, Abbas AK, Fauston. Robbins and cotran Pathologic Basic of Disease. 7nd ed. Philadelphia: W.B.Saunders Co;2007. p:19-20.

[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]

13- Landis MD, Lehmann BD, Pietenpol JA, Chang JC. Patient-derived breast tumor xenografts facilitating personalized cancer therapy. Breast Cancer Res. 2013 Jan 22;15:(1)

14-Sun SY, Hail JN, Lotan R. Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. J Nat Can Ins .2004; 96: 662-72.

15-Kinghorn AD, Farnsworth NR, Soejarto DD, Cordell GA, Swanson S.M., Pezzuto JM. Novel strategies for the discovery of plant-derived anticancer agents. Pharmaceutical Biol .2003; 41: 53-67.

16-Hudaykuliyev Y, Tastekin M, Poyrazoglu E, Baspinar E, Velioglua YS. Variables affecting fluoride in turkish black tea. Fluoride.2005;38(1):24–29.

17-Okabe S, Ochiai Y, Aida M, Park K, Kim SJ, Nomura T, Suganuma M, Fujiki H. Mechanistic aspects of green tea as a cancer preventive: effect of components on human stomach cancer cell lines. Jpn J Cancer Res .1999;90:733–9.

18-Lung HL, Ip WK, Chen ZY, Mak NK, Leung KN. Comparative study of the growth-inhibitory and apoptosis-inducing activities of black tea theaflavins and green tea catechin on murine myeloid leukemia cells. Int J Mol Med. 2004;13:465–71.

19-Weisburger JH, Rivenson A, Aliaga C, Reinhardt J, Kelloff GJ, Boone CW, Steele VE, Balentine DA, Pittman B, Zang E. Effect of tea extracts, polyphenols, and epigallocatechin gallate on azoxymethaneinduced colon cancer. Exp Lung Res. 1998;24:629–39

20-Jiebo Lu, Alexander G, Alice Yee-C L, Kuang Y C.PCR differential display-based identification of regulator of G protein signaling 10 as the target gene in human colon cancer cells induced by black tea polyphenol theaflavin monogallate. European Journal of Pharmacology. 2008; 601:66–72.

21-Arindam B, Lakshmishri L, Debaprasad M, Gaurisankar Sa and Tanya D. Black tea induces tumor cell apoptosis by Bax translocation,loss in mitochondrial transmembrane potential, cytochrome c release and caspase activation. Int. J. Cancer 2005;117: 308–315.

22-Ayelet Z, Aliza D, Dan D, Gavriel C, Tuula S, Marilena V. Nutraceuticals as new treatment approaches for oral cancer: II. Green tea extracts and resveratrol. Oral Oncology .2013; 49:502–506

[ Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084676.1392.10.2.8.3 ]