مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره چهاردهم، شمارهٔ ۶، آبان ۱۳۹۱، صفحه ۸۳-۷۷

مقایسه اثرات ضد توموری عصاره سیر خام و حرارت داده شده بر فیبروسارکومای القا شده در موش

هدایت الله شیرزاد (PhD)[۱]، فاطمه تاجی (MSc)[۲]، سمیه رئیسی (MSc)[۳]، بتول پور قیصری(PhD)[۱]، محمود رفیعیان کوپائی(PhD)[۱*]

۱- مرکز تحقیقات گیاهان داروئی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲- دانشگاه تربیت معلم تهران
۳- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک

دریافت: ۹۰/۱۱/۱۳، اصلاح: ۹۱/۲/۱۳، پذیرش: ۹۱/۴/۱۴

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به اثرات آنتی توموارل و آنتی متاستاتیک سیر در بعضی از انواع سرطانها بنظر می رسد که این ماده بر ممانعت رشد فیبروسارکوم نیز موثر باشد. سیر به اشکال مختلف توسط افراد مورد مصرف قرار می گیرد که هر یک از این اشکال دارای مواد موثره متفاوتی می باشند. تاثیر حرارت روی مواد مؤثره و یا خواص سیر مشخص نیست. این مطالعه به منظور بررسی اثر عصاره سیر، بر رشد سلولهای سرطانی فیبروسارکومای WEHI 164 در موش و اثر حرارت بر ظرفیت آنتی اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعهٔ مداخله ای، ۵ گروه ۸ تایی موش نر سوری وارد مطالعه شدند. تعداد 5×10^{6} cell/100 µl از سلّولهای ۱۶۴ WEHI در زیر پوست ناحیهٔ سینهٔ موش ها تزریق شد. گروههای یک، سه و پنج، دو هفته قبل و سه هفته بعد از تزریق سلولهای سرطانی، به ترتیب نرمال سالین (۰/۲ میلی لیتر)، عصارهٔ سیر حرارت ندیده و حرارت دیده (۲۰mg/kg) و گروههای دو و چهار، قبل از تزریق سلولهای سرطانی، نرمال سالین و بعد از تزریق سلولهای سرطانی به ترتیب عصارهٔ سیر حرارت ندیده و سیر حرارت دیده را دریافت کردند. مساحت تومورها، مقدار فنول کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی سیر حرارت دیده و ندیده اندازه گیری و با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته ها: اندازهٔ تومورها در گروههای سیر حرارت ندیده، در مقایسه با سیر حرارت دیده کوچکتر و در ۶ روز آخر آزمایش این اختلاف، معنی دار بود، بطوریکه در روز بیست و یکم در گروه حرات ندیده ۸۶±۱۱۰ میلی متر مربع و در گروه حرات دیده ۷۹±۷۶۰ میلی متر بود ($p<0/05$). تزریق عصاره سیر حرارت دیده (جوشانده شده)، تأثیری در مهار رشد سلول های سرطانی نداشت. ظرفیت آنتی اکسیدانی سیر حرارت ندیده، (۵۲/۶٪) و سیر حرارت دیده ۲/۰۷٪ بود ($p<0/05$). میزان فنول کل نیز در سیر حرارت ندیده (۱۲/۶۱ mg/gr) در مقایسه با سیر حرارت دیده (۱/۰۷ mg/gr) بیشتر بود ($p<0/05$).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد که مصرف سیر، می تواند نقش مهمی در کنترل و ممانعت از رشد فیبروسارکوما داشته باشد و حرارت دادن سیر، می تواند مواد مؤثره و اثر ضد سرطانی سیر را کم کند.

واژه های کلیدی: فیبروسارکوما، موش سوری، سیر، سیستم ایمنی.

مقدمه

نئوپلاسم، یک تودهٔ غیرطبیعی با رشد افزایش یافته و نا هماهنگ، با میزان رشد بافت های طبیعی بدن است (۱). نئوپلاسمی که خاستگاهش بافت فیبرو باشد، فیبروسارکوم نامیده می شود. تشخیص فیبروسارکوم به روش بیوپسی است. فیبروسارکوم با تمایز خوب، با برداشتن موضعی وسیع و در شیمی درمانی، از داروهای ضد سرطان استفاده می گردد. در پرتو درمانی با استفاده از اشعه، از رشد سریع سلول ها جلوگیری می کنند (۳-۱). رادیو تراپی نیز همراه با برداشتن توده، از طریق جراحی انجام می شود (۵و۴). تمام روشهای جراحی، قطع اندام، پرتو درمانی و شیمی درمانی عوارض زیادی از جمله ریزش مو، تهوع، استفراغ، خارش پوست، افزایش احتمال ابتلا به عفونت را در سیستم ایمنی به دنبال دارند (۳). یکی از روشهای مورد مطالعه و مؤثّر در درمان سرطانها، تقویت سیستم ایمنی (ایمونوتراپی) است. تقویت سیستم ایمنی، موجب کاهش رشد و جلوگیری از گسترش سلّولهای سرطانی می شود (۴). نشان داده شد که ایمنی سلولی و

▣ این مقاله حاصل پایان نامه دانشجو فاطمه تاجی و طرح تحقیقاتی به شماره ۶۵۸ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: شهرکرد، رحمتیه، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی، تلفن: ۳۳۴۶۶۹۲-۰۳۸۱
e-mail: rafieian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.6.10.6]

هومورال، دو جزء مهم سیستم ایمنی، دارای فعالیت ضد توموری هستند. نقش لنفوسیتهای T سیتوتوکسیک حساس شده در تومورهای ایجاد شده به طریق تجربی و همچنین نقش محافظتی آنها در مقابل نئوپلاسمها نشان داده شده است (۳). امروزه، از گیاهان دارویی در درمان بیمارهای مختلف همچون سرطان، استفاده می کنند (۶). سیر، گیاهی علفی، با پیاز مرکّب، متعلّق به تیره لیلیاسه و حاوی ترکیبات آلی گوگردی است که از اسید آمینه ای به نام آلئین، حاصل می گردند. این اسید آمینه، تحت اثر آلیناز، در هنگام خرد شدن، آلیسین تولید می نماید (۵). روغن فرّار، موسیلاژ، املاح معدنی، آلئین، آلیسین، آنزیم آلیناز، اینولین، ویتامین های A، B، C، از جمله مواد دارویی مؤثر در سیر، محسوب می شوند (۷). اثرات معرّق، خلط آور، ضد اسپاسم، ضد ویروس، ضد عفونی کننده، پایین آورنده فشار خون، ضدّ مالاریا، اشتها آور، صفرا آور سیر، ثابت شده است (۷و۵)، سیر همچنین حاوی ترکیبات ارگانوسولفور، دی آلیل و سلنیوم است (۷). آلیل تیوسولفینات های موجود در سیر تازه برای حداقل دو سال در دمای ۸۰- درجه پایدار می مانند (۸). اثر برخی از سبزیجات همچون سیر و پیاز بر برخی از انواع سرطان، اثبات شده است. تعدیل پاسخ ایمنی (۹)، افزایش و تکثیر سلّولهای T (T-cell) و سلّولهای طبیعی کشنده، (۱۰) از طریق عصارهٔ سیر، نشان داده شده است. با مصرف سیر، زمینه ابتلا به سرطان کولون و یا سرطان معده، کاهش می یابد که به اثر آنتی اکسیدان سیر نسبت داده شده است (۱۱).

از آنجاییکه روشهای درمانی موجود، به تنهایی در درمان فیبروسارکوما مؤثّر نبوده و نیاز به روشهای درمانی جدید کاملاً مشهود می باشد و همچنین اثر تعدیل پاسخ ایمنی (۹)، از طریق سیر و از طرفی توجه به اثر تضعیف کننده ای که با پیشرفت سرطان، بر روی سیستم ایمنی ایجاد می شود و توجّه به اثرات آنتی تومورال و آنتی متاستاتیک سیر در بعضی از انواع سرطان ها، به نظر می رسد که این ماده بر ممانعت از رشد فیبروسارکوم نیز، مؤثّر باشد. در ضمن سیر به اشکال مختلف توسط مردم مورد مصرف قرار می گیرد و قبلا مشخص شد که این اشکال مختلف ممکن است حاوی مقادیر متفاوتی ار مواد موثره باشند (۱۳و۱۲) که می تواند بر اثرات درمانی سیر تاثیر داشته باشد. از آنجاییکه تحقیقات زیادی بر اثر اشکال مختلف از جمله اثر سیر حرارت دیده بر سرطان صورت نگرفته است، لذا این تحقیق، با هدف تعیین اثر دو نوع عصارهٔ سیر، شامل سیر حرارت دیده و سیر حرارت ندیده، بر فیبروسارکومای WEHI 164 در موشهای مادهٔ inbred نژاد Balb/c انجام شد. همچنین با توجه به احتمال اثر آنتی اکسیدانی سیر بر سرطان و همچنین ارتباط بین ترکیبات فنولی با ظرفیت آنتی اکسیدانی، در نهایت میزان ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی سیر حرارت دیده و سیر حرارت ندیده نیز اندازه گیری شد.

مواد و روشها

در این مطالعهٔ تجربی۴۰ سر از موشهای کوچک آزمایشگاهی، نژاد Balb/c و یکسان، از نظر سن و جنس با محدودهٔ وزنی ۴±۲۵ گرم، در ۵ گروه ۸ تایی به روش نمونه گیری تصادفی، مورد استفاده قرار گرفتند. گروه های یک، سه و پنج، قبل و بعد از تزریق سلولهای سرطانی، به ترتیب نرمال سالین، عصارهٔ سیر حرارت ندیده و سیر حرارت دیده را دریافت کردند.

گروههای دو و چهار، قبل از تزریق سلول های سرطانی، نرمال سالین و بعد از تزریق سلول های سرطانی، به ترتیب عصارهٔ سیر حرارت ندیده و سیر حرارت دیده را دریافت کردند. گروه کنترل (گروه یک)، در طول کل دوره (قبل و بعد از تزریق سلولهای سرطانی) فقط نرمال سالین را به روش داخل صفاقی، به میزان ۰/۲ میلی لیتر دریافت کرد.

کاشت سلّولهای فیبروسارکومای WEHI 164: ردهٔ سلّولی فیبروسارکوما از انستیتو پاستور تهران تهیه شد. این سلّولها در محیط FCS(10%)+(90%) DMEM حاوی پنی سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور محتوی ۵ درصد CO2 در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کشت شد و با پر شدن سطح فلاسک تا سطح ۸۰ درصد، پاساژ سلّولها انجام شد (۱۴). به موشهای هر گروه تعداد cell/ 100 µl ۵×۱۰^{۶} سلّول توموری فیبروسارکومای WEHI 164، در زیر پوست ناحیهٔ سینهٔ حیوان تزریق گردید (۱۶و۱۵). تومورها از روز پنجم بعد از تزریق سلّولهای سرطانی، اندازه گیری شدند. قطر تومور با استفاده از یک کولیس با دقّت بالا، در طول مدّت سه هفته در ۹ نوبت، روزهای ۵، ۷، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۹، ۲۱ بعد از تزریق سلّولهای سرطانی اندازه گیری شد.

عصاره گیری: سیر **(Allium sativum)** از منطقه فریدون شهر اصفهان تهیه شد، بعد از شناسائی توسط کارشناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، نمونه هرباریوم آن (شماره ۲۹۷) در آنجا قرار گرفت. بعد از تمیز کردن، ۵۰ گرم از هر دو نوع بوتهٔ سیر حرارت دیده و حرارت ندیده، خرد (له) شد و سپس به مدّت نیم ساعت در درجه حرارت آزمایشگاه باقی ماند، سپس برای عصاره گیری استفاده شد. برای استخراج بهتر مواد از الکل با دو درجه مختلف استفاده شد، بدین ترتیب که ۵۰ گرم از سیر حرارت دیده یا سیر حرارت ندیده له شده در بالن یک لیتری، ریخته شد و مقدار ۴۰۰ سی سی الکل اتیلیک ۹۶ درجه، به آن اضافه گردید، به طوریکه پودر، کاملاً زیر الکل قرار گرفت. بعد از آن به مدّت ۲۴ ساعت روی دستگاه تکان دهنده، قرار داده شد. سپس عصارهٔ حاصل توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف و بر روی تفالهٔ باقی مانده، الکل اتیلیک ۷۰ درصد ریخته و مجدّداً به مدّت ۲۴ ساعت روی دستگاه تکان دهنده، قرار داده شد و دو باره عصارهٔ به دست آمده صاف و به عصارهٔ اول اضافه شد. به منظور جلوگیری از تخریب مواد موثره، تغلیظ عصاره ها در حرارات پایین و در خلا انجام شد. برای این منظور عصاره ها به دستگاه تقطیر در خلاً در دمای ۴۵-۴۰ درجه منتقل و با دور چرخش ۷۰ درجه تغلیظ شد، تا زمانیکه حجم باقی مانده، به یک پنجم حجم اولیه رسید. در این حالت مخزن عصاره، از دستگاه جدا و عصارهٔ باقی مانده بعد از سرد شدن، برای جداسازی مواد چرب سه مرتبه و هر بار با حجم ۵۰ سی سی کلروفرم دکانته و دور ریخته شد. باقی مانده در ظرف پتری با وزن معلوم، ریخته شد و در دمای ۵۰ درجه در دستگاه آون، خشک و وزن آن اندازه گیری شد. میزان عصارهٔ خشک حاصل، ۳ گرم بود که تا زمان استفاده، در دمای ۷۰- درجهٔ سانتی گراد، نگهداری شدند (۱۷). عصاره لازم با غلظت مشخص با سرم فیزیولوژی تهیه گردید.

تیمار حیوانات: موشهای نژاد Balb/c خالص (inbred) در محدوده وزنی ۳۰-۲۰ گرم که همهٔ آنها مادّه و ۶ تا ۷ هفته سن داشتند، از انستیتو رازی تهران، خریداری شدند. جهت ایجاد تطابق با محیط جدید، موش های خریداری شده در محل حیوان خانهٔ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، با رعایت دمای ۲۷-۲۱ درجهٔ سانتی گراد به مدّت یک هفته، نگهداری شدند. در طول دوره مطالعه، محدودیتی از نظر آب و غذای استاندارد (پلت) برای هیچ کدام از حیوانات گروهها، وجود نداشت. یک هفتهٔ بعد، وزن کلیهٔ موش ها (۴۰ سر) اندازه گیری و ثبت شد. موشها به طور تصادفی در ۵ گروه هشت تایی، در قفس هایی از جنس پلی اتیلن شفّاف

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.6.10.6]

جدا از هم، قرار گرفتند. تمام گروه ها در طول دوره آزمایش با غذای معمولی تغذیه شدند. علاوه بر آن گروه های دریافت کنندهٔ عصاره سیر و یا نرمال سالین، عصاره دریافتی را با دوز ۲۰mg/kg به روش داخل صفاقی و یا نرمال سالین را به میزان ۰/۲ میلی لیتر، همزمان با تغذیه با غذای معمولی دریافت کردند، همچنین در روز ۱۴ آزمایش به هر ۵ گروه، سلول های سرطانی تزریق شد. طول دوره آزمایش برای تمام گروه ها از ابتدای آزمایش، تا انتهای اندازه گیری تومورها، یک دوره ۳۵ روزه بود (۱۳).

اندازه گیری ترکیبات فنولی کل: با استفاده از روش رنگ سنجی فولین–سیوکالتیو (Folin-Ciocaltue) و بر حسب اسید گالیک، میزان ترکیبات فنولی کل، اندازه گیری شد (۱۹). ابتدا محلول های استاندارد با غلظت های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۶۲/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ ppm از اسید گالیک در محلول ۶۰٪ متانول تهیه شد. آنگاه از هر یک ۰/۱ میلی لیتر به لوله آزمایش منتقل و به آنها ۰/۵ میلی لیتر از محلول ۱۰٪ واکنشگر فولین–سیوکالتیو اضافه و پس از ۳ الی ۸ دقیقه به آن ۰/۴ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه شد. آنگاه لوله ها به مدّت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، نگهداری و پس از آن میزان جذب به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵nm و در سه تکرار اندازه گیری و منحنی استاندارد رسم شد. سپس ۰/۰۱ تا ۰/۰۲ گرم از نمونهٔ خشک عصاره ها را در متانول ۶۰٪ حل کرده و به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده و بر اساس روش فوق میزان جذب تعیین شد. با این تفاوت که به جای محلول استاندارد، ۰/۱ میلی لیتر از محلول عصاره اضافه گردید. آنگاه بر اساس میزان جذب قرائت شده، مقدار فنول کل (برحسب mg/g اسید گالیک) در عصاره بدست آمد (۱۸).

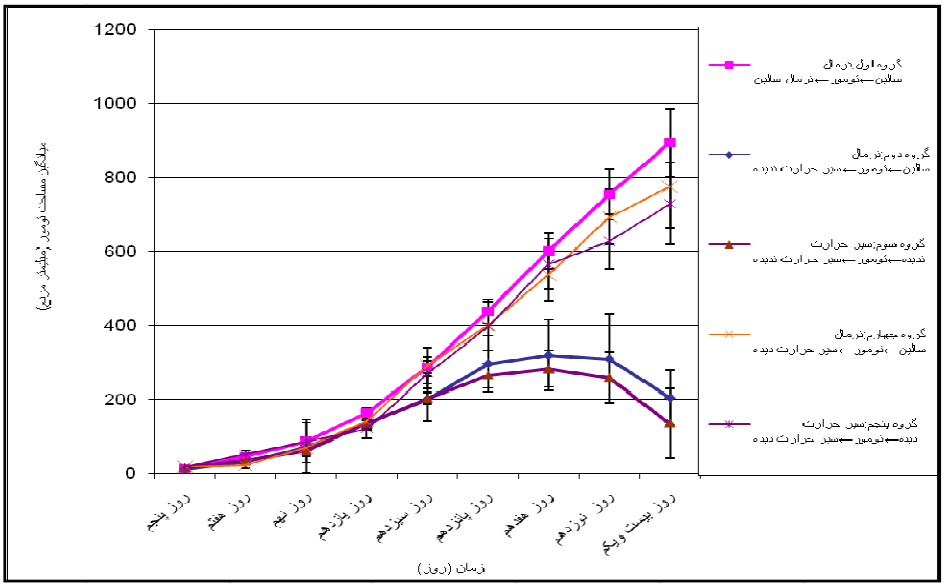
تعیین قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های سیر: با استفاده از مدل بتّا کاروتن لینولئات، قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های سیر تعیین شد. روش کار بدین ترتیب بود که امولسیون بتا کاروتن ۰/۲ میلی گرم در ۰/۲ میلی لیتر کلروفرم، لینولئیک اسید ۲۰ میلی گرم و ۴۰ میلی گرم پلی اکسی اتیلن سوربیتان و مونو پالمیتات ۲۰۰ میلی گرم به آب اکسیژنه به عنوان شروع کنندهٔ یک اکسیدانت، به میزان ۴۰ میلی لیتر اضافه شد. به نمونه های تست، ۴ میلی لیتر aliquots از این امولسیون اضافه شد. ارزیابی فعّالیت آنتی اکسیدانت این عصاره ها در پایان با بتّا کاروتن، انجام شد. در فاصلهٔ زمانی ۱۸۰ دقیقه در آزمایش، اندازه گیری جذب در ۴۷۰ نانومتر، در ۱۵ دقیقه فعّالیت آنتی اکسیدانی، برابر با ۱۰۰ که A0, A0 معیارهای جذب اندازه گیری در زمان صفر و A1, A0 معیارهای جذب اندازه گیری در نمونه های کنترل و تست به طور نسبی، بعد از تزریق برای ۱۸۰ دقیقه بودند، با استفاده از فرمول زیر انجام شد (۱۹).

$$AA\%=[1-A_{t}-A_{t1}]/[A_{0}-A_{tc}]$$

محاسبهٔ میانگین مساحت تومور: محاسبهٔ میانگین مساحت تومور از طریق اندازه گیری قطر تومور در دو جهت عمود بر هم، جمع حاصل آن و تقسیم به عدد ۴، رسیدن به توان دو و سرانجام، ضرب عدد حاصله در ۳/۱۴ انجام گرفت (۲۰). تجزیه و تحلیل اندازه های به دست آمده پس از ۹ نوبت اندازه گیری در ۵ گروه و با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون پارامتری ANOVA انجام شد و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج حاصل از رشد سلّولهای سرطانی WEHI 164 در موش Balb/c نشان داد که میانگین مساحت تومورها در دو گروه دریافت کنندهٔ سیر حرارت ندیده (گروههای دوم و سوم)، در مقایسه با گروه کنترل (گروه اول)، در روزهای ۱۷، ۱۹ و ۲۱ بعد از تزریق سلّولهای سرطانی، کاهش یافته است ($p<0/05$). مقایسهٔ دو گروه دریافت کنندهٔ سیر حرارت ندیده با یکدیگر نشان داد که در هیچ یک از روزهای مورد بررسی، تفاوت معنی دار آماری بین این دو گروه، وجود ندارد. رشد سلولهای سرطانی در گروههای دریافت کننده سیر حرارت دیده (گروههای چهارم و پنجم) دارای یک روند افزایشی بود و در هیچ یک از روزهای مورد بررسی، از نظر آماری تفاوت معنی داری با گروه کنترل را نداشت. بین گروههای چهارم وپنجم نیز از نظر آماری تفاوت معنی داری نبود. همچنین مقایسهٔ گروههای دوم و سوم (گروههای دریافت کنندهٔ سیر حرارت ندیده) با گروه های چهارم و پنجم (گروههای دریافت کنندهٔ سیر حرارت دیده) نشان داد که در روزهای ۱۷، ۱۹ و ۲۱ از نظر آماری، تفاوت معنی داری وجود دارد ($p<0/05$). (نمودار شمارهٔ ۱).



نمودار شمارهٔ ۱: مقایسه مساحت سلّولهای سرطانی (تومور) در گروههای مختلف آزمایشی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.6.10.6]

گروههای دریافت کننده سیر حرارت دیده نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی دار بودند و رشد سلولهای سرطانی در گروههای دریافت کننده این نوع عصاره، کاهش یافت (p<۰/۰۵). اما گروههای دریافت کننده سیر حرارت دیده نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری نداشت و رشد سلولهای سرطانی در گروههای دریافت کننده این نوع عصاره افزایش یافت.

نتایج، مربوط به ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های سیر نشان داد که بر اساس مدل بتا کاروتن لینولئات میزان قدرت آنتی اکسیدانی در عصارهٔ سیر حرارت ندیده (۵۲/۶ درصد)، بیشتر از عصارهٔ سیر حرارت دیده (۱/۰۷ درصد) بود (p<۰/۰۵).

مقایسهٔ میزان فنول موجود در عصاره ها نیز نشان داد که میزان این ترکیبات در عصاره سیر حرارت ندیده، (12/61mg/g)، بیشترین مقدار و در عصارهٔ سیر حرارت دیده (۰۹ mg/g ۱/)، کمترین مقدار بود (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که میانگین مساحت تومورها، در گروههای دریافت کنندهٔ سیر حرارت ندیده، در روزهای ۱۷، ۱۹، ۲۱ بعد از تزریق سلّولهای سرطانی، نسبت به گروه کنترل، کاهش یافته، ولی میانگین مساحت تومورها، در گروههای دریافت کنندهٔ عصارهٔ سیر حرارت دیده، نسبت به کنترل کاهش معنی داری را نشان نداد. در بررسی متون، مطالعه مشابهی که بدین شکل اثر عصارهٔ سیر حرارت دیده را در مقایسه با سیر حرارت ندیده، بر رشد تومور سرطانی فیبروسارکوما بررسی کند، یافت نشد. مطالعات قبلی رابطه بین افزایش مصرف سیر و کاهش ابتلا به سرطان معده و یا خطر ابتلا به سرطان کولون را نشان داده اند (۲۱). پیاز نیز که از همین خانواده است، از رشد سلّولهای سرطانی ممانعت می کند (۸). عصارهٔ سیر، از طریق افزایش تکثیر سلّولهای T (T-cell) و سلّولهای طبیعی کشنده (NK)، منجر به تعدیل پاسخ ایمنی می شود (۱۰). فعّالیت سیتوتوکسیک سلّولهای طبیعی کشنده علیه تعدادی از تومورها و در کنترل متاستاز آنها نقش مهمی داشته است (۲۳و۲۲). مطالعات قبلی نشان داده اند که مصرف عصارهٔ سیر تازهٔ خام با دوز mg/kg ۲۰ می تواند منجر به افزایش فعّالیت سلّولهای طبیعی کشنده، در موش Balb/c شود (۲۴). بنابراین احتمال دارد حداقل قسمتی از اثر ضد سرطانی سیر ناشی از تقویت سیستم ایمنی باشد.

در مطالعهٔ Leonard فراوانی آنتی اکسیدان ها در میوه ها و سبزیجات و توانایی خنثی کردن رادیکالهای آزاد و تبدیل آنها به مولکولهای بی ضرر، نشان داده شده است (۲۵). در این مطالعه نیز نشان داده شد که سیر دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی خوبی بوده و توان خنثی کردن رادیکال های آزاد را در حد نسبتا بالائی دارد. با توجه به نقش رادیکال های آزاد در ایجاد سرطان، به نظر می رسد قسمتی از اثرات ضد سرطانی سیر، ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی این گیاه باشد.

فعّالیت آنتی اکسیدانی سیر به عواملی همچون فیبرهای تغذیه ای، میکرو المانتها، به ویژه سلنیوم و پلی فنولها، بخصوص ترکیبات فنولی ارتباط داده شده است. با استناد به مطالب فوق، فعّالیت بالای آنتی اکسیدان سیر حرارت ندیده در مطالعهٔ حاضر، میتواند به دلیل بالا بودن ترکیبات فنولی موجود در آن باشد. همانطور که گفته شد آنتی اکسیدان های موجود در سیر، توانایی خنثی کردن رادیکالهای آزاد را دارند و می توانند آنها را به مولکولهای بی ضرر، تبدیل کنند (۲۵).

به نظر می رسد علت پائین بودن ظرفیت آنتی اکسیدانی سیر حرارت دیده، علاوه بر آسیب دیدن ترکیبات فنولی موجود در آن، از دست دادن ترکیباتی همچون کاروتنوئیدها و ویتامینها، از جمله ویتامین های C, B, A باشد. مطالعات گوناگون فعّالیتهای آنتی اکسیدان مواد غذایی گیاهی را در حد زیادی نتیجهٔ وجود ویتامینهایی همچون A، C، E دانسته اند که از بین آنها ویتامینهای A و C در سیر، موجود هستند. مکانیسم فعّالیتهای آنتی اکسیدانی از سوی ویتامینهای فوق با اعمال اثر رباینده‌گی یا جذب کنندگی مؤثّر رادیکالهای آزاد بوده و از این رو می توانند بیومولکولهایی چون پروتئینها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک را از آسیب اکسیداتیو، محافظت کنند و بدین وسیله مقدار بازهای تغییر یافتهٔ اسیدهای نوکلئیک بالقوهٔ موتاژنیک ناشی از اکسیداتیو را کاهش دهند (۱۳).

نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف سیر جوشانده شده، چه قبل و چه بعد از تزریق سلّولهای سرطانی، اثر زیادی بر مهار رشد سلّولهای سرطانی ندارد. گرما می تواند اثرات متفاوتی بر مواد غذائی داشته باشد. توانایی زیستی لیکوپن، با گرما دادن عصارهٔ گوجه، بهبود بخشیده می شود (۲۶). این در حالی است که جوشاندن سیر در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتیگراد برای مدّت ۲۰ دقیقه، فعّالیت های ضدّ میکروبی سیر را به طور کامل، متوقّف می کند (۲۷). همچنین حرارت ۶۰ تا ۱۰۰ درجهٔ سانتیگراد، کاهش دلالت کننده ای در ممانعت از اثر جوانه های سیر، علیه تست قارچی، تولید کرده است (۲۸). مطالعات قبلی نیز نشان داده اند که گرما دادن سیر، تا ۱۰۰ درجهٔ سانتیگراد برای مدّت زمان ۲۰ دقیقه یا بیشتر، منجر به کاهش فعّالیت آنتی اکسیدان سیر می شود (۲۹). اثرات مفید قلبی- عروقی، قدرت مهار فعّالیت سیکلواکسیژناز (۳۰) و یا لیپواکسیژناز (۳۱) نیز در سیر حرارت دیده کمتر است. به نظر می رسد اجزاء فعّال سیری که جوشانده می شود، در حرارت بالا تخریب می شوند (۳۳و۳۲). بطوریکه قبلا مشخص شده که این اشکال مختلف ممکن است حاوی مقادیر متفاوتی ار مواد موثره باشند (۱۳و۱۲) که می تواند بر اثرات درمانی سیر تاثیر داشته باشد.

احتمالاً از دست رفتن آنزیم آلیناز در اثر حرارت و عدم اثر آن بر روی آلئین که باعث مهار تولید مواد فعال گوگردی بخصوص آلیسین می شود (۸)، عامل دیگری برای اثر نکردن سیر حرارت دیده بر جلوگیری از رشد تومورها بوده است. سیر اثر ضد سرطان دارد ولی به نظر می رسد حرارت منجر به تخریب یا مهار تولید مواد فعال سیر شده و اثر مفید ضد سرطان آنرا کاهش می دهد. لذا توصیه می شود حتی الامکان از سیر حرارت ندیده استفاده گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که در انجام این تحقیق با ما همکاری داشته اند، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.6.10.6]

Comparison of Antitumour Activities of Heated and Raw Garlic Extracts on Fibrosarcoma in Mice

H. Shirzad (PhD) [1], F. Taji (MSc) [2], B. Pourgheysari (PhD)[1], S. Raisi (MSc) [3], M. Rafieian-Kopaei (PhD) [1*]

1. Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2. Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran
3. National Institute of Genetic Engineering, Tehran, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(6); Nov 2012; pp: 77-83

Received: Feb 2nd 2012, Revised: May 2nd 2012, Accepted: Jul 4th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Garlic has been shown to have anti-tumoral and anti-metastatic activities in some kinds of cancer. Therefore, it may be effective against fibrosarcoma. The effect of heating on garlic ingredients and its benefits are not clear. Therefore, in this study the effect of heating of garlic on the growth of WEHI-164fibrosarcoma cells in Balb/c mice was examined. The amounts of phenolic compounds and antioxidant capacity of heated and unheated garlic were also determined.

METHODS: In an experimental study 40 inbred Balb/c mice were divided into 5 groups of 8 each. A single aliquot of 5×10^6 cells/100 µl WEHI-164 cells was injected subcutaneously in the chest of each animal. Groups 1, 3 and 5 received normal saline (0.2 ml), heated and unheated garlic (20 mg/kg) for two weeks before and three weeks after cell injection, and groups 2 and 4 received unheated and heated garlic, respectively. The mean size of tumors, antioxidant activity and phenolic compounds were measured and compared with each other.

FINDINGS: The mean size of tumor in groups which received unheated garlic extract was smaller than that of heated group. Significant differences could be seen in the final last 6 days of experiment, so that the mean sizes of tumors on the 21st day of study was110±86 mm^2in heated and 760±79 mm^2in raw garlic groups ($p<0.05$). However, no significant effect could be seen on the growth of cancer cells in animals which received heated garlic extract. Antioxidant capacity of unheated and heated garlic was 52.6% and 2.07%, respectively ($p>0.05$). The amount of total phenolic compounds in raw garlic (12.61 mg/gr) was more than heated garlic (1.07 mg/gr) ($p>0.05$).

CONCLUSION: Garlic consumption may have important role in control and prevention of fibrosarcoma growth. But heating may decrease the phenolic compounds, antioxidant capacity and anticancer effect of garlic.

KEY WORDS: *Fibrosarcoma, Balb/c mice, Garlic, Immune system.*

[*] **Corresponding Author;**
Address: Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Science, Rahmatieh St., Shahrekord, Iran
Tel: +98 381 3346692
E-mail: Rafieian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.6.10.6]

References

1. Wong SL. Diagnosis and management of desmoids tumors and fibrosarcoma. J Surg Oncol 2008;97(6):554-8.
2. Loh ML, Ahn P, Perez Atayde AR, Gebhardt MC, Shamberger RC, Grier HE. Treatment of infantile fibrosarcoma with chemotherapy and surgery: results from the Dana-Farber Cancer Institute and Children's Hospital, Boston. J Pediatr Hematol Oncol 2002;24(9):722-6.
3. Mirra JM, Marcove RC. Fibrosarcomatous dedifferentiation of primary and secondary chondrosarcoma. Review of five cases. J Bone Joint Surg Am 1974;56(2):285-96.
4. Mark RJ, Sercarz JA, Tran L, Selch M, Calcaterra TC. Fibrosarcoma of the head and neck: the UCLA experience. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1991;117(4):396-401.
5. Kabiri P. The possibility of omission of essence from garlic without deletion of its active compounds, Pharm. D Thesis. Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran 1995. [in Persian]
6. Khajehdehi P. Turmeric: Reemerging of a neglected Asian traditional remedy. J Nephropathology 2012;1(1):17-22.
7. British Herbal Pharmacopeia. British Herbal Medicine Association, Bournemouth, Dorset, England 1983; p: 20.
8. Lawson LD, Gardner CD. Composition, stability, and bioavailability of garlic products used in a clinical trial. J Agric Food Chem 2005;53(16):6254-61.
9. Lau BH, Yamasaki T, Gridley DS. Garlic compounds modulate macrophage and T-lymphocyte functions. Mol Biother 1991;3(2):103-7.
10. Kyo E, Uda N, Kasuga S, Itakura Y. Immunomodulatory effects of aged garlic extract. J Nutr **2001;**131(3):**1075S-9S**.
11. Modem S, DiCarlo SE, Reddy TR. Fresh garlic extract induces growth arrest and morphological differentiation of MCF7 breast cancer cells. Genes & Cancer 2012;3(2):177-86.
12. Shirzad H, Taji F, Rafieian M. The effect of heating on useful components of garlic. Armaghane-danesh, J Yasuj Univ Med Sci 2011;16(1):9-20. [in Persian]
13. Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. J Med Food 2011;14(9):969-74.
14. Shariftabrizi A, Nifli A, Ansari M, Saadat F, et al. Matrix metalloproteinase 2 secretion in WEHI 164 fibrosarcoma cells is nitric oxide-related and modified by morphine. Eur J Pharmacol 2006;530(1-2):33-9.
15. Hassan ZM, Yaraee R, Zare N, Ghazanfari T, Sarraf Nejad AH, Nozari B. Immunomodulatory affect of R10 fraction of garlic extract on natural killer activity. Int Immunopharmacol.2003;3(10-11):1483-9.
16. Darani, HY, Shirzad H, Mansoori F, Zabardast N, Mahmoodzadeh M. Effects of Toxoplasma gondii and Toxocara canis antigens on WEHI-164 fibrosarcoma growth in a mouse model. Korean J Parasitol 2009;47(2):175-7.
17. Bahmani M, Rafieian-Kopaei M, Parsaei P, Mohsenzadegan A. The anti-leech effect of Peganum harmala L. extract and some anti-parasite drugs on Limnatis Nilotica. Afr J Microbiol Res 2012;6(10):2586-90.
18. Sharafati Chaleshtori R, Sherafati Chaleshtori F, Rafieian M. Biological characterization of Iranian walnut (Juglans regia) leaves. Turk J Biol 2011;35:635-9.
19. Akhlaghi M, Shabanian G, Rafieian-Koupaei M, Parvin N, Saadat M, Akhlaghi M. Citrus aurantium blossom and preoperative anxiety. Rev Bras Anestesiol 2011;61(6):702-12.
20. Shariftabrizi A, Nifli A, Ansari M, et al. Matrix metalloproteinase 2 secretion in WEHI 164 fibrosarcoma cells is nitric oxide-related and modified by morphine. Eur J Pharmacol 2006;13(1-2):33-9.
21. Steinmetz KA, Kushi LH, Bostick RM, Folsom AR, Potter JD. Vegetables, fruit, and colon cancer in the Iowa woman´s health study. Am J Epidemiol 1994;139(1):1-5.
22. Gao CM, Takezaki T, Ding JH, Li MS, Tajima K. Protective effects of allium vegetables against both esophageal and stomach cancer: a simultaneous case-referent study of a high-epidemic area in Jiangsu province, China. Jpn J Cancer Res 1999;90(6):614-21.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.6.10.6]

23. Sundaram SG, Miolner JA. Diallyl disulfide suppresses the growth of human colon tumor cell xenografts in athymic nude mice. J Nutr 1996;126(5):1355-61.
24. Ghazanfari T, Hassan ZM, Ebrahimi M. Immunomodulatory activity of a protein isolated from garlic extract on delayed type hypersensitivity. Int Immunopharmacol 2002;2(11):1541-9.
25. Leonard SS, Cutler D, Ding M, Vallyathan V, Castranova V, Shi X. Antioxidant properties of fruit and vegetablejuices: more to the story than ascorbic acid. Ann Clin Lab Sci 2002;32(2):193-200.
26. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. J Nutr 1992;122(11):2161-6.
27. Chen HC, Chang MD, Chang TJ. Antibacterial properties of some spices plants before and after heat treatment. Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi 1985;18(3):190-5.
28. Yin MC, Cheng WS. Inhibition of Aspergillus niger and Aspergillus flavus by some herbs and spices. J Food Prot 1998;61(1):123-5.
29. Prasad K, Laxdal VA, Yu M, Raney BL. Evaluation of hydroxyl radical-scavenging property of garlic. Mol Cell Biochem 1996;154(1):55-63.
30. Ali M. Mechanism by which garlic (Allium sativum) inhibits cyclooxygenase activity. Effect of raw versus boiled garlic extract on the synthesis of prostanoids. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1995;53(6):397-400.
31. Milner JA. Mechanisms by which garlic and allyl sulfur compounds suppress carcinogen bioactivation. Garlic and carcinogenesis. Adv Exp Med Biol 2001;492:69-81.
32. Filomeni G, Aquilano K, Rotilio G, Ciriolo MR. Reactive oxygen species-dependent c-Jun NH2-terminal kinase/c-Jun signaling cascade mediates neuroblastoma cell death induced by diallyl disulfide. Cancer Res 2003;63(18):5940-9.
33. Song K, Milner JA. The influence of heating on the anticancer properties of garlic. J Nutr 2001;131(3):1054S-7S.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.6.10.6]