بررسی اثرعصاره برگ تلکا برسمیتt-بوتیل هیدروپراکسید بر رده سلولی hela

فریده الهی منش*، داوود حسن زاده ، نیر سیفی زاده، جمیل عبدالمحمدی، مظفر محمودی

چکیده

مقدمه وهدف:درخت تلکا از گونه درختان گلابی است که در مناطق جنگلی شمال کشور می روید. برگ این نوع درخت سرشار از آربوتین می باشد که از جوشانده آن برای درمان التهاب استفاده می شود، همچنین در مواردی از قبیل درمان تکرر ادرار و فشار خون بالا و کاهش قند خون کاربرد دارد. در این مطالعه ابتدا سمیت سلولی عصاره برگ تلکا و همچنین اثر آن بر درصد حیات سلول های آسیب دیده درحضور ماده یt- بوتیل هیدرو پراکسید(t-BHP)رامورد بررسی قرار داده ایم .

مواد و روشها: مطالعه از نوع تجربی است. بعد از تهیه عصاره برگ تلکا ، سلول های هلا در RPMI 1640 در پلیت های ۲۴ خانه طبق شرایط استاندارد کشت داده شدند .غلظت های مختلف از عصاره برگ تلکا به محیط کشت اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت سمیت سلولی به روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت،سپس غلظت های (۲۰۰،۱۵۰،۱۰۰،۲۵۰ میکرو مولار) از ماده اکسیده t-BHP به محیط کشت اضافه گردیده و خاصیت آنتی اکسیدانی و محافظتی عصاره برگ تلکا بر سلول های Hela آسیب دیده بررسی شد. بقای سلول ها پس از مجاورت با عصاره برگ تلکا و ماده اکسیدان به روش رنگ سنجی MTT بررسی گردیده و در محیط کشت فوقانی سلولها فعالیت آنتی اکسیدانی به روش (FRAP (ferric reducing antioxidant power اندازه گیری شد. نتایج به صورت mean±SEM گزارش شد و P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: یافته ها نشان می دهد که این عصاره در غلظت ۲ درصد سمی می باشد ،. هیچ تفاوت معنی داری بین غلظت های زیر۰/۲ درصد با گروه کنترل وجود نداشت.، میزان آنتی اکسیدان توتال گروه کنترل نسبت به گروه "عصاره برگ تلکا صفر +۲۵۰ t-BHP میکرومولار"، تفاوت معنی دار داشت (P= ۰/۰۰۱). با اضافه کردن t-BHP در مقایسه با گروه کنترل میزان FRAP کم شد.

نتیجه گیری: پره انکوباسیون سلول ها با غلظت های مختلف عصاره برگ تلکا، فعالیت آنتی اکسیدانی توتال محیط کشت را به صورت معناداری افزایش داد.بنابراین از این عصاره می توان به عنوان یک انتی اکسیدان طبیعی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: عصاره برگ تلکا، سمیت سلولی، Hela cell line، تست MTT ، تستFRAP

فریده الهی منش*
مربی ، گروه رادیولوژی ، دانشکده پیراپزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (نویسنده مسئول).
f.elahimanesh@gmail.com
شماره تماس:

داوود حسن زاده
مرکز مطالعات و تحقیقات سلول های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

نیر سیفی زاده
مرکز مطالعات و تحقیقات سلول های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

جمیل عبدالمحمدی
مربی ،گروه رادیولوژی ، دانشکده پیراپزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

مظفر محمودی
مربی ، گروه رادیولوژی، دانشکده پیراپزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

دریافت: ۹۳/۴/۱۸
اصلاح نهایی: ۹۳/۴/۳۰
پذیرش: ۹۳/۵/۲

[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]

مقدمه

همه موجودات در معرض گونه های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) و متابولیت های فعال اکسیژن (ROM) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، آنیون سوپر اکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروژن و ... می باشند (ROS). به عنوان پیامبرهای سلولی در فرآیندهای پیچیده سلولی در mitogenic signal transduction، بیان ژن و تکثیر سلولی نقش دارند واکنش رادیکالهای آزاد با DNA و RNA باعث تغییرات مولکولی و تفکیک نادرست کروموزوم ها در طی تقسیم میتوز می شود. علاوه بر این، آسیب های اکسیداتیو سلولی به واسطه تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS)، منجر به تغییرات در عملکرد میتوکندری، فعال سازی و یا غیر فعال سازی گونه های پروتئین موجود در فرآیند آپوپتوز (مرگ سلولی) می شود(۱). هنگامی که سلول های سالم (عادی) در معرض اکسیدان ها قرار می گیرند، از طریق فعال سازی مکانیسم های محافظتی درون سلولی مانند سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون کهDNAو سایر اجزای سلولی را از اثرات تخریبی رادیکال های آزاد محافظت می کند. گرچه این مکانیزم های تقویتی و محافظتی برای سلول ها کارآمد هستند، اما آنها قادر به دفع تمام آسیب ها نیستند که در نتیجه منجر به از بین رفتن بافت های عادی می شود (۲). تا کنون مطالعات چنین نشان داده اند که بسیاری از بیماری ها مانند آلزایمر، تخریب و تحلیل نورون ها ، بیماریهای قلبی و عروقی و کبدی و... در اثر استرس اکسیداتیو ایجاد می شوند . از آن جا که بسیاری از آسیب های سلولی ناشی از واکنش های بین رادیکال های آزاد و بیو مولکول ها است، پس ترکیباتی که توانایی تضعیف رادیکال های را دارند، می توانند سبب ایجاد محافظت در برابر این ترکیبات شوند. گیاهان یکی از عمده ترین منابع گلیکوزیدهای تری ترپن فعال زیستی موجود می باشد که خواص دارویی بی شماری نظیر خواص ضد التهابی، التیام زخم، درمان برخی بیماری های کبدی، فعالیت های ضد ویروسی و محافظتی در برابر رادیکال های آزاد را دارا می باشد (۳). آنتی اکسیدانها به طریق آنزیمی و یاغیرآنزیمی می توانند رادیکالهای آزاد را از بین ببرند. آنزیمها شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و غیره می باشد و مواد غیر آنزیمی شامل ویتامینهای C،A، E و ترکیبات فنلی موجود در گیاهان می باشد (۴).

در سال های اخیر توجه بیشتری به محتوای آنتی اکسیدانی در میوه ها گردیده است، چرا که مطالعات اپیدمیولوژیکی به رابطه بین مصرف بالای میوه و سبزیجات و کاهش مرگ و میر و شیوع بیماری های قلبی عروقی و سرطان پی برده است. مواد گیاهی به واسطه داشتن ترکیبات فنلی فراوان، اثرات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی آنها بوضوح ثابت گردیده است (۵). تاکنون مطالعات زیادی در زمینه فعالیت آنتی اکسیدانی میوه ها به ویژه مرکبات انجام شده است که میتوان به نارنج و لیمو ترش اشاره کرد (۶). در کنار آنتی اکسیدان های کلاسیک ، ترکیبات فنولیک به عنوان آنتی اکسیدان های موثر در میوه ها شناخته شده اند (۷). با توجه به این که گیاه تلکا منبع غنی از ترکیبات فنلی می باشد و با توجه به تاکید بر استفاده از منابع گیاهی در پیشگیری از بیماریها و این مسئله که شمال کشورمان دارای منبع عظیمی از گیاه تلکا می باشد، ما در این تحقیق بر آن شدیم تاابتدا اثر سمیت عصاره برگ تلکا را بر روی رده سلولی هلا و در مرحله بعد اثر آنتی اکسیدانی آن را در سلول های آسیب دیده توسط t –بوتیل هیدروپراکسید مورد ارزیابی قرار دهیم.

مواد و روشها

جهت انجام این مطالعه ، در مدل سلولی ابتدا عصاره گیری تحت شرایط ذکر شده انجام گرفت و در مرحله بعد اثر عصاره بر روی سلول های کاشته شده هلا بررسی گردید.

عصاره گیری

۲۰ گرم پودر برگ تلکا را در ۱۶۰ میلی لیتر اتانول (Merck آلمان) ۷۰ درصد مخلوط گردید و به مدت ۳ ساعت در بن ماری با دمای 80^0c قرار داده شد (۵).

[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]

سوسپانسیون حاصل در لوله های آزمایش ریخته شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. مایع رویی با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شده و تفاله باقیمانده تحت شرایط ذکر شده مجدداً عصاره گیری شد. در مرحله بعد محلول های به دست آمده (حاصل از فیلتراسیون) با هم مخلوط شد و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء (IKA-Werk) تغلیظ گردید . ماده تغلیظ شده، در زیر هود و در دمای اتاق خشک گردید و سپس تا زمان مصرف در فریزر با دمای $-20^{0}C$ نگهداری شد.

کشت سلول:

ردهی سلولی Hela: از سلول های سرطانی دهانه رحم انسان منشا گرفته بنابراین یکی از مناسب ترین مدل ها برای مطالعه متابولیسم و بررسی سمیت انواع مواد اکسیدان، گزنوبیوتیک ها وآنتی اکسیدان هاوهمچنین بررسی روشهای درمانی در شرایط in-vitro است(۱۴).در این مطالعه سلولهای Hela در پلیت های ۲۴ خانه (۱۰۵ × ۱۰۵ سلول در هر چاهک) کاشته شد، بعد از ۲۴ ساعت زمانی که تراکم سلول های چسبیده (confluency) به ۶۰٪ رسید، عصاره برگ تلکا با غلظت های زیر به محیط کشت سلول ها اضافه گردید، تست ها در تمام غلظت ها به صورت سه تایی (triplicate)انجام شد.

گروه ۱- گروه کنترل
گروه۲- گروهی که تحت غلظت ۰/۰۲ درصد عصاره برگ تلکا قرار گرفتند
گروه۳- گروهی که تحت غلظت ۰/۰۵ درصد عصاره برگ تلکا قرار گرفتند
گروه ۴- گروهی که تحت غلظت ۰/۱ درصد عصاره برگ تلکا قرار گرفتند
گروه ۵- گروهی که تحت غلظت ۰/۲ درصد عصاره برگ تلکاقرار گرفتند
گروه ۶ - گروهی که تحت غلظت۰/۵ درصد عصاره برگ تلکا قرار گرفتند
گروه ۷- گروهی که تحت غلظت ۱ درصد عصاره برگ تلکا قرار گرفتند
گروه ۸- گروهی که تحت غلظت ۱/۵ درصد عصاره برگ تلکا قرار گرفتند
گروه۹- گروهی که تحت غلظت ۲ درصد عصاره برگ تلکا قرار گرفتند

سمیت سنجی و محاسبه درصد حیات به روش رنگ سنجی MTT :بعد از اینکه سلول های Hela در پلیت ۲۴ خانه کاشته شد عصاره برگ تلکا به ترتیبی که قبلا توضیح داده شد افزوده گشت، سپس جهت انجام تست MTT ، سطح سلول ها دوبار با PBS شستشو و به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر MTT استریل (با غلظت5 mg/mlدر PBS) اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتورCO_2 در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. میزان رنگ تولید شده با تعداد سلولهایی که از نظر متابولیکی فعال هستند، رابطه مستقیم دارد. کریستالهای فومارازان حاصل از تأثیر MTT بر سلول ها، در آب غیرمحلول هستند، بنابراین قبل از رنگ سنجی، توسط ماده حلالی نظیر DMSO به همراه ایزوپروپانول اسیدی بحالت محلول درآمدند. در نهایت جذب نوری محلول بدست آمده در طول موج ۵۷۰ نانومتر و طول موج ۶۳۰ (با اسپکتروفتومتر مدل – M501 CAMSPEC-M501) به عنوان رفرانس قرائت گردید (۸).

t-BHP(ترشری بوتیل هیدروپراکسید)اغلب به عنوان یک مدل مناسب برای تحقیق مکانیسم آسیب های سلولی ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو حاد استفاده می شود. این ماده یک هیدروپراکسیدان آلی است و موجب تولید حدواسط رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن می گردد (9). ما در این مطالعه در پی آن بودیم تا اثر پیش درمانی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ تلکا را بر روی سلول Helaآسیب دیده با یک ماده اکسیدان (tert-butyl hydroperoxid) بررسی نماییم.

نحوه مجاورت سلول Hela با عصاره برگ تلکا و t-BHP:در این مرحله دوباره سلولهای Helaدر پلیت های ۲۴ خانه (۱۰۵ × ۱۰۵ سلول در هر چاهک) کاشته شد، بعد از ۲۴ ساعت سلول ها با غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲درصد عصاره برگ تلکا پیش درمانی شدند، ۲۴ ساعت پس از افزودن عصاره برگ تلکا، غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰،۲۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار t- BHP به صورت تک غلظت و به صورت ترکیبی با غلظت های مختلف عصاره برگ تلکا اضافه گشت. به گروه کنترل هیچ نوع ماده ای اعم ازعصاره برگ تلکا و t-BHP اضافه نشد . ۲۴ ساعت پس از افزودن ماده اکسیدان، محیط کشت روی سلول های Hela برای انجام تست FRAP ذخیره شد و سلول ها برای تست MTT مورد استفاده قرار گرفتند .

[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]
[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]

اندازه گیری سطح آنتی اکسیدانهای توتال با روشFRAP:آزمایش Frap یک روش در ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی می باشد(۱۰.۱۱) . استانداردهای مورد استفاده شامل FeSO4 و در غلظتهای مختلف ۱۰۰۰ (µMو ۲۵۰،۵۰۰، ۱۲۵) بوده و منحنی استاندارد بدست آمده بصورت خطی بود.

روش آزمایش FRAP:

CC ۱/۵ معرف آماده کار FRAP (شامل بافراستات، معرف TPTZ و محلول کلرور فریک به نسبت به ترتیب ۱:۱:۱۰) به تمام لوله های آزمایش اضافه شده و در مرحله بعد ۵۰ میکرولیتر از نمونه (محیط کشت روی سلول های helaکه تحت تاثیر آربوتین و t-BHP بوده اند) به لوله های مربوطه اضافه شد و پس از طی مراحلی، شدت رنگ در طول موج ۵۹۳ با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Jenway اندازه گیری شد.

نتایج

شاخصFRAP درمحیط کشت سلولهایHela : مقادیرFRAPبدست آمده درگروههای مختلف نشان دهنده افزایش سطح این شاخص درفاصله زمانی ۴۸ ساعت پس ازافزودن عصاره برگ تلکامیباشد. افزایش مقدارعددی حاصل ازتستFRAPباافزایش غلظت عصاره برگ تلکا نسبت مستقیم داشت.نتایج مطالعه ما نشان داد عصاره برگ تلکا میزان آنتی اکسیدان توتال را افزایش می دهد، طبق مطالعه دوز موثر عصاره برگ تلکا بین ۱، ۱/۵درصدبود.t-BHP هم در غلظت ۱۵۰ تا ۲۵۰ میکرومولار به کار گرفته شد، غلظت های بالای ۲۵۰ میکرومولار بسیار سمی و غلظت های پایین تر از ۱۵۰ میکرو مولار تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشتند که در نمودار شماره یک نشان داده شده است. نتایج سمیت سنجی و محاسبه درصد حیات به روش رنگ سنجی MTT:

یافته ها نشان می دهد که این عصاره در غلظت ۲ درصد سمی می باشد ،همچنین هیچ تفاوت معنی داری بین غلظت های زیر۰/۲ درصد با گروه کنترل وجود نداشت. همچنین در نمودار شماره ۲ قسمت اول آن که شامل چهار گروه از سلولها بعد از مجاورت با عصاره برگ تلکا (گروه اول(کنترل)، گروه دوم با غلظت ۰/۵ درصد ، گروه سوم با غلظت ۱ درصد ، گروه سوم با غلظت ۱/۵ درصد) نشان داده شده است در این بخش فقط سمیت عصاره برگ تلکا و اثر آن بر زنده ماندن سلولها نشان داده شده است که در غلظتهای ذکر شده بر روی سلولها سمیتی ایجاد نمی کند .در قسمتهای دوم و سوم و چهارم منحنی اثر آنتی اکسیدانی عصاره برگ تلکا نشان داده شده است.

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه ما نشان داد که عصاره برگ تلکا با دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی وبالا بردن شاخص آنتی اکسیدانهای توتال سرم (FRAP) در سلول های Hela پیش درمانی شده، با ایجاد استرس اکسید اتیو توسط ماده اکسیدان t- بوتیل هیدروپراکسید (tert- butyl hydro peroxide) مقابله نموده و تخریب این سلولها توسط این ماده را کاهش داد. در مطالعه حاضر برای اوّلین بار نشان داده شد که عصاره برگ تلکا می تواند در برخی از غلظتها از سمّیت t- BPH بر سلول های Hela کاسته و میزان رشد این سلولها را بهبود ببخشد. یکی از مکانیسم های آنتی اکسیدان ها در رویایی با شرایط استرس اکسیداتیو، مهار تولید رادیکال ها می باشد که نقش مهمی در حفاظت از سلولها در برابر آسیب ها واسترس اکسیداتیو دارد. مکانیسم دیگر جمع آوری یا خنثی کردن رادیکال های آزاد است (۱۲).

یکی دیگر از مکانیسم های تخریبی و ایجاد حالت استرس اکسیداتیو، تولید رادیکال های آزاد است که خود این رادیکال های آزاد علاوه بر واکنش های التهابی و اتوایمیون باعث افزایش پتانسیل نفوذپذیری غشای میتوکندری گشته و از این طریق سیتوکروم c خارج

[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]

گشته و پدیده آبشار کاسپازی آغاز می گردد که ماحصل این وقایع آپوپتوزیس سلول ها می باشد. علت دیگر تخریب سلول ها توسط t-BHP، به هم خوردن هموستاز یون کلسیم می باشد. رادیکال های آزادی مانند پراکسیل و آلکوکسیل که توسط آنزیم های مسیر سیتوکروم P450 و واکنشهای آزاد وابسته به آهن از ماده اکسیدان t-BHP تولید می شوند، پراکسیداسیون لیپیدی را آغاز کرده و با انواع ماکرومولکول ها پیوند کووالان تشکیل می دهند و همین طور سطح GSH را کاهش داده و با تغییر پتانسیل غشا میتوکندری و تغییر تعادل یون کلسیم منجر به مرگ سلول می شوند(۱۷). ترکیبات فنلی و پلی فنلی مسئول خاصیت آنتی اکسیدانی بسیاری از غذاها و گیاهان می باشد. این ترکیبات ریسک بیماریهایی مانند بیماریهای قلبی و عروقی، سرطان و بیماریهای مزمن را کاهش داده و با خاصیت آنتی اکسیدانی خود حالت استرس اکسیداتیو را تا حد ممکن از بین می برند(۱۱).

ترکیبات فنلی به دو طریق خاصیت آنتی اکسیدانی خود را اعمال می کنند:

۱- به طور مستقیم: در این روش ترکیبات فنلی رادیکال های آزاد را جمع آوری و خنثی می کنند و یا این که با شلاته کردن یون های فلزی، از تشکیل رادیکال های آزاد جلوگیری می کنند.

۲- به طورغیرمستقیم: با تغییر فعالیت آنزیم ها و یا تغییر بیان پروتئین های مهمی مانند آنزیم های آنتی اکسیدان و آنزیم های سم زدا، نقش آنتی اکسیدانی خود را اعمال می کنند(۱۵و۱۶).

در تحقیقی که توسط خانم سیفی زاده و همکاران در سال ۲۰۱۲بر روی اثر آربوتین بر سمیت t – بوتیل هیدرو پراکسید در رده سلولی HepG2 انجام شد به این نتیجه رسیدند آربوتین به طور معنی داری موجب افزایش بقائ سلولهای Hep-G2 آسیب دیده با عامل اکسیدان (t-BPH) میگردد(۱۸). در مطالعه ای که توسط دکتر مهدی پورامیر و همکارانش در سال ۲۰۱۱ که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست نارنج و اثر آنتی اکسیدانی آن بر اکسیداسیون لیپیدی در مدل بیولوژیک انجام شد به این نتیجه رسیدند که این عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار بالایی دارد و باعث کاهش اکسیداسیون لیپیدی می گردد.(۱۹).

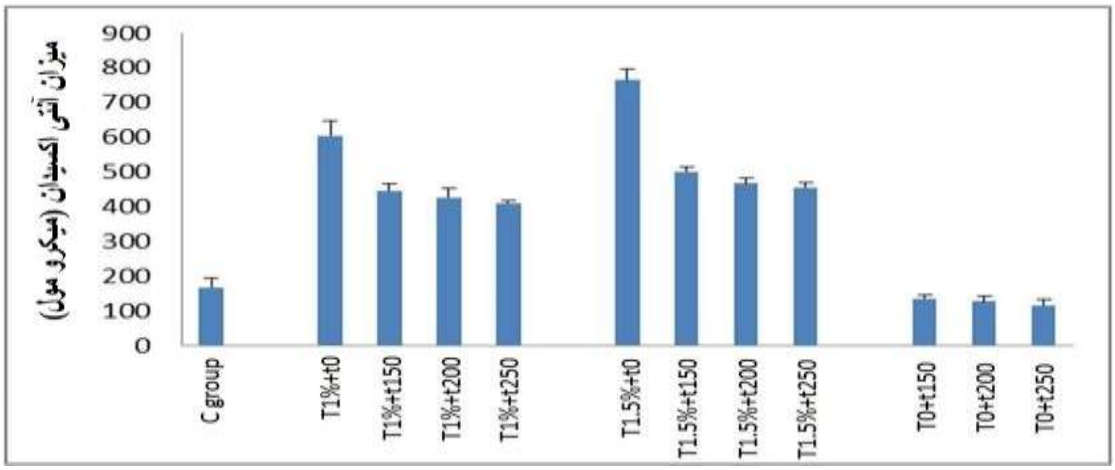
نتایج مطالعه ما نشان داد عصاره برگ تلکا میزان آنتی اکسیدان توتال را افزایش می دهد، طبق مطالعه دوز موثر عصاره برگ تلکا بین ۰/۵، ۱، ۱/۵درصدبود.t-BHP هم در غلظت ۱۵۰ تا ۲۵۰ میکرومولار به کار گرفته شد، غلظت های بالای ۲۵۰ میکرومولار بسیار سمی و غلظت های پایین تر از ۱۵۰ میکرو مولار تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشتند. بر اساس این یافته ها نتیجه گرفته می شود عصاره برگ تلکا مانند سایر ترکیبات فنلی خاصیت آنتی اکسیدانی داردو ازآن می توان به عنوان یک داروی آنتی اکسیدان برای درمان مسمومیت با برخی موادو همچنین بیماریهای حاصل از استرس اکسیداتیو استفاده کرد، لازم به ذکر است از این ماده می توان در جهت کاهش عوارض رادیوتراپی در بافتهای سالم استفاده کرد ،البته این امر مستلزم مطالعات بیشتری در فاز in vivo نیز می باشد.

تشکر و قدردانی

در پایان از مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی- مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل و همچنین آقای دکتر ابراهیم ذبیحی جهت انجام و حمایت مالی از این طرح قدردانی می گردد.

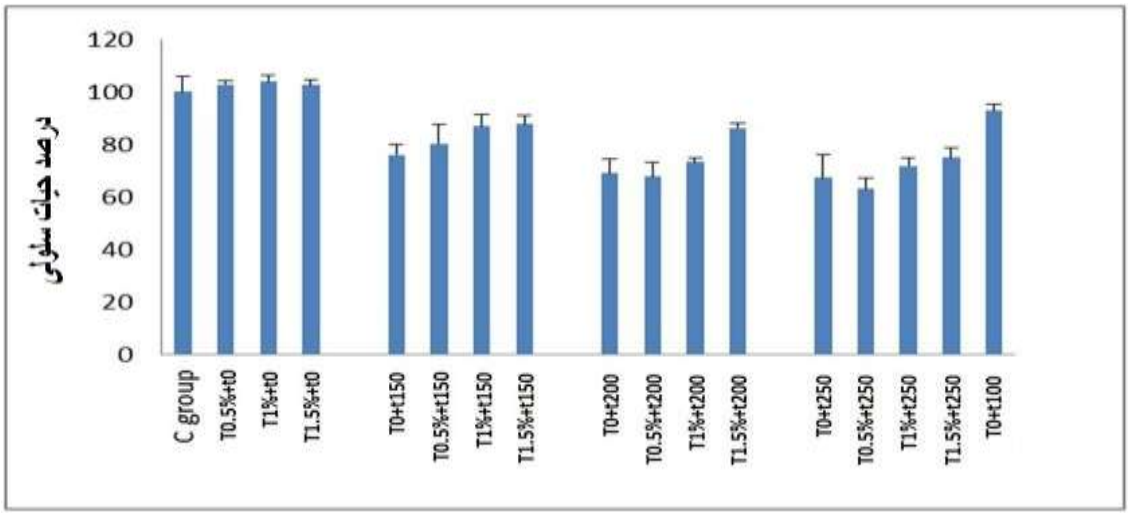
[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]



نمودار۱: میانگین شاخصFRAPبرحسب میکرومولاردرسلولهای Helaپیش درمانی شده باعصاره برگ تلکا، ۲۴ ساعت پس ازافزودنt-BHP

T = (1 % and1/5%عصاره برگ تلکاµM) t = t- BHP (150, 200 and 250 (ترشری بوتیل هیدروپراکسید: C
(Telka = 0 and t-BHP = 0)=نمونه کنترل)



نمودار۲: میانگین درصدحیات سلولهایHelaپیش درمانی شده باعصاره برگ تلکابه روشMTTبعدازگذشت ۲۴ساعت پس ازافزودنt-BHP

[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]

Reference

1.Jonathan EC, Bernhard EJ, McKenna WG. How does radiation kill cells? CurrOpinChem Biol. 1999; 3: 77-83.

2. Jongmans W and Hall. G Cellular Responses to Radiation and Risk of Breast Cancer. European Journal of Cancer, 1999: 35 (4): 540-548
3.Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007;39(1):44-84.
4. Integrated Laboratory Systems, I. and R.T. Park, Chemical Information Review Document for Arbutin and Extracts from Arctostaphylosuva-ursi.CAS2006;497:76-70.
4.Kang HJ, Chawla SP, Jo C, Kwon JH, Byun MW.Studies on the development of functional powder from citrus peel.Bioresour Technol. 2006;97(4):614-20.
5.Li BB, Smith B, HossainMdM. Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. Separation and Purification Technology, 2006;48:182-8.
6. liB.B , smith B. Extraction of phenolics from citrus peels.I . Solvent extraction ,ethodseppur, 2006 48:182-188.
7. Guo C , Yang J, Antioxidant activities of peel, puipand seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutr res,2003 23:1719-1726
8.Mosmann, T, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of immunological methods 1983. 65(1-2): p. 55-63.
9. Rush, G.F, Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. Toxicology and applied pharmacology 1985. 78(3): 473-83.
10. KriengsakThaiponga U.B, , Kevin Crosbyb, and D.H.B. Luis Cisneros-Zevallosc Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimatingantioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis 2006: p. 669–675.
11. Benzie, I.F. and J.J. Strain, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry 1996. 239(1): p. 70-6.
12 .Sohn, J.H, Protective effects of panduratin A against oxidative damage of tert-butylhydroperoxide in human HepG2 cells.Biological & pharmaceutical bulletin 2005. 28(6): 1083-6.
13. Lima, C.F., M. Fernandes-Ferreira, and C. Pereira-Wilson, Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels. Life Sciences, 2006. 79(21): 2056-2068.
14..Nasir A. , Hedayatolla Sh., Morteza Y. ,Effect of different hydatid cyst molecules on Hela and Vero lines growth in vitro , Journal of immunodeficiency and disorders 2013;10(2):703-140
15. Lima, C.F., M. Fernandes-Ferreira, and C. Pereira-Wilson, *Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels.* Life Sciences 2006. 79(21): 2056-2068**.**
16. Ferguson, LR. *Role of plant polyphenols in genomic stability.* Mutation research 2001. 475(1-2): 89-111**.**
17. Mothanna Al-Qubaisi 1 R, Swee-Keong Yeap, Abdul-Rahman Omar, and Abdul-Manaf Ali and Noorjahan B. Alitheen *Selective Cytotoxicity of Goniothalamin against HepatoblastomaHepG2 Cells***.**Molecules, 2011:16:. 2944-2959.
18. Seyfizadeh N,Mahjoub S,Zabihi E , Evaluation effects of Arbutin against tert-butyl hydroperoxid induced cytotoxicity to Hep-G2 cell line World Applied Sciences Journal 2012:3() 8:55-60
19. Poramir M ,Goli Z , Evaluation of Antioxidant activity ofsour orange peel extractandantioxidant effectonraw and cook fish, 18th National Congress On Food Technology.

[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]

The effects of Pyrus Biossieriana Bushe leaf extract on the cytotoxicity of tert-butyl hydroperoxide in HeLa cells

Elahimanesh F ,
Instructor,Radioligy Department, Kurdistan university of medical sciences, sanandaj, Iran.
F.elahimanesh@gmail.com

Hassanzadeh D,
Study and Re search center of stem cells Tbriz university of medical sciences, Tbriz Iran.

Sayfzadeh N,
Study and Re search center of stem cells Tbriz university of medical sciences, Tbriz Iran.

Abdolmohammadi J,
Instructor,Radioligy Department, Kurdistan university of medical sciences, sanandaj, Iran.

Mahmodi M,
Instructor,Radioligy Department, Kurdistan university of medical sciences, sanandaj, Iran.

Background and Aim: The *Pyrus Biossieriana Bushe* tree (Telka) belongs to pyrus genus and is found in northern Iran. The leaves of this tree are rich in arbutin and are used for alleviating inflammation, urinary frequency, hypertension, and hyperglycemia. In this study, we first determined the toxic dose of the Telka leaf extract and then assessed its preventive effects on the viability of HeLa cells exposed to tert-butyl hydroperoxide.

Materials and: This was an experimental study. HeLa cells were cultured under standard conditions in the medium culture of RPMI 1640 in 24-well plates. Then, the Telka leaf extract was added to the medium culture and cytotoxicity of the extract was evaluated 24 hours later by using the MTT technique. Thereafter, 100, 150, 200, and 250 micromolar concentrations of tert-butyl hydroperoxide were added to the medium culture and the preventive antioxidant effects of the extract were assessed. The viability of HeLa cells and the antioxidative effects of the Telka leaf extract were evaluated by using respectively the MTT and the Ferric Reducing Antioxidant Power techniques. Mean and standard error of mean measures (Mean±SEM) were used for reporting the study results. The level of significance was set at below 0.05.

Findings: Study findings revealed that the Telka leaf extract is cytotoxic at doses of 2% and higher. The differences between the less-than-2% doses of the extract and the control group were not statistically significant. The antioxidative power of the control group significantly differed from the "Telka leaf extract + tert-butyl hydroperoxide" group (P value = 0.001). After adding tert-butyl hydroperoxide, the Ferric Reducing Antioxidant Power was significantly reduced compared with the control group.

Conclusion: Pre-incubation of cells at different doses of the Telka leaf extract increases the total antioxidative activity of the medium culture. Consequently, this extract can be used as a natural antioxidant.

Keywords: *Pyrus Biossieriana Bushe* (Telka) leaf extract, Cytotoxicity, HeLa cell line, MTT test, FRAP test

[Downloaded from sjnmp.muk.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.29252/sjnmp.1.1.48]