مقاله پژوهشی

# بررسی اثرات سایتوتوکسیک فراکشن‌های استخراج شده از قارچ صدفی پلئوروتوس فلوریدا بر رده‌های سلولی سرطانی

دکتر طوبی غضنفری[1]، شهرزاد زمانی تقی زاده رابع[2]، دکتر رویا یارایی[3]، زهرا سیادت[4]، دکتر محمود محمودی[5]

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۱٤ تاریخ پذیرش: ۸۸/۷/۱۳

## چکیده

**پیش زمینه و هدف:** امروزه از روش‌های درمانی متعددی برای درمان سرطان‌های مختلف استفاده می‌شود. عدم پاسخ مطلوب به درمان و رشد سریع این بیماری محققان را به تلاش جهت دستیابی به داروهای مؤثرتر با اثرات جانبی کم‌تر برانگیخته است. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر سمیت سلولی فراکشن‌های جدا شده از قارچ صدفی پلئوروتوس فلوریدا بر سلول‌های سرطانی مختلف طراحی گردیده است.

**مواد و روش کار:** فراکشن‌های R5، F5، R10، R30 و R100 از عصاره بدنه قارچ پلئوروتوس فلوریدا جدا شدند. تاثیر بازدارندگی این فراکشن‌ها بر رشد و تکثیر سلولی‌های سرطانی مختلف توسط روش کالریمتری MTT بررسی شد.

**یافته‌ها:** طبق نتایج حاصله، تمامی فراکشن‌های مورد بررسی به‌طور وابسته به غلظت تاثیر مهاری قابل توجهی بر سلول‌های سرطانی داشتند. بعضی از این فراکشن‌ها مثل R100 و R30 بیشترین تاثیر مهاری را بر سلول‌های سرطان کولون (HT-29) داشتند. از میان سلول‌های سرطانی مورد بررسی، سلول‌های HT-29 بیش از سایرین به این فراکشن‌ها حساس بود.

**بحث و نتیجه گیری:** نتایج حاصل از این بررسی تاثیر ضد سرطانی فراکشن‌های جدا شده از قارچ صدفی خوراکی پلئوروتوس فلوریدا را بر سلول‌های سرطانی کولون انسانی نشان داد. فراکشن R100 بیشترین تاثیر سمیت سلولی را داشت. مطالعات بیشتری جهت تعیین مکانیسم‌های تاثیر فراکشن R100 مورد نیاز است.

**کلید واژه‌ها:** پلئوروتوس فلوریدا، رده سلول‌های سرطانی، سمیت سلولی

**مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و یکم، شماره اول، ص ۶۰-۵۴، بهار ۱۳۸۹**

**آدرس مکاتبه:** مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، پژوهشکده بوعلی، تلفن: ۰۹۳۵۴۲۶۲۹۶۰

Email: mahmoudim@mums.ac.ir

## مقدمه

قارچ‌ها از نظر تغذیه ای جزو غذاهای عملکردی بوده و منبع داروهای غیرسمی هستند که از نظر فیزیولوژیکی مفید می‌باشند (۱). قارچ‌ها در طب باستانی در سرتاسر جهان استفاده می‌شدند. در بسیاری از نقاط جهان سعی شده است تا از قارچ‌ها و متابولیت‌های آن‌ها در درمان بیماری‌های مختلف انسان استفاده شود. بارزترین تاثیر پزشکی قارچ‌ها و متابولیت‌های آن‌ها که توجه عموم را به خود جلب کرده است، تاثیر ضد توموری آن‌ها می‌باشد. متابولیت‌های قارچی عموماً به عنوان عوامل آداپتوژن و محرک سیستم ایمنی استفاده شده و یکی از موثرترین

[1] دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

[2] کارشناس ارشد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

[3] دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

[4] کارشناس ارشد تغذیه، گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

[5] استاد گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد (نویسنده مسئول)

عوامل ضدتوموری برای استفاده کلینیکی به شمار می‌روند (۲). بنابراین جستجو جهت یافتن قارچ‌های ضد توموری موثر و نیز بررسی خواص آن‌ها همچنان ادامه دارد. گونه‌های پلئوروتوس عمدتا قارچ‌های صدفی نامیده می‌شوند. حدود ۴۰ گونه از این قارچ وجود دارد. این قارچ‌ها در سرتاسر جهان می‌رویند به‌طوری‌که امروزه قارچ‌های صدفی در رده دوم قارچ‌های زیر کشت در دنیا قرار دارند (۴،۳). تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن از جمله رادیکال آنیون سوپراکساید ($O^{\bullet-}$)، رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) و پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) فاکتورهای مهمی در شرایط پاتولوژیکی مختلف از جمله سرطان محسوب می‌شوند که در آن‌ها موتاسیون ناشی از مواد سرطان‌زا و پیشرفت توموری نقش مهمی دارد (۶،۵).

ترکیبات آنتی اکسیدان به‌عنوان دفاع اصلی علیه توکسیسیتی ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد محسوب می‌شوند و این عمل را از طریق محافظت در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد اعمال می‌کنند. بنابراین ترکیبات مهارکننده تولید رادیکال‌های آزاد و یا مهارکننده تاثیر آن‌ها می‌توانند از ایجاد سرطان جلوگیری کنند (۷). نتایج حاصل از یک بررسی نشان داده است که تزریق عصاره متانلی قارچ پلئوروتوس فلوریدا[1] می‌توانند به‌طور وابسته به دوز، تومور القا شده توسط رده سلولی EAC را در موش‌ها مهار کرده و به عنوان رفتگر رادیکال‌های آزاد عمل کرده و نیز از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی جلوگیری کند (۹،۸). در یک مطالعه تاثیر ضد تکثیری و نیز پیش آپوپتوتیک فراکشن‌های جدا شده از قارچ پلئوروتوس استراتوس[2] بر سلول‌های سرطان کولون HT-29 در شرایط برون تنی بررسی شده است.

سلول‌ها با غلظت‌های مختلف فراکشن محلول در آبگرم این قارچ تیمار شدند و مهار قابل توجه تکثیر این سلول‌ها به‌طور وابسته به دوز مشاهده گردید. همچنین در این بررسی مشخص شد که این مهار از طریق القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و تنظیم افزایشی مولکول‌های پیش التهابی Bax و سایتوکروم c سیتوزولی صورت می‌گیرد (۱۰).

در یک تحقیق از عصاره آبی این قارچ، ترکیب گلوکانی محلول در آب جداسازی شد و تاثیر تقویت کنندگی سیستم ایمنی این ترکیب بر افزایش تولید نیتریک اکساید از ماکروفاژها مشخص شد (۱۱). در یک گزارش نیز یک فراکشن حاوی پروتئین از این قارچ جدا شده است و نشان داده شده است که این فراکشن تاثیر کشندگی بر رده‌های سلولی سرطانی DL، S-180، B16-FO، Hela و HT-29 دارد و مقدار $IC_{50}$ برای رده سلولی HT-29، ۵۵.۲ میکرو گرم در میلی لیتر گزارش شده است (۱۲). در مطالعات قبلی ما، فعالیت تحریک کنندگی ایمنی از طریق افزایش فعالیت ماکروفاژها در موش‌های تیمار شده با عصاره آبی این قارچ نشان داده شد (۱۳) ولی جداسازی این فراکشن‌ها و نیز بررسی تاثیر ضد سرطانی این فراکشن‌ها صورت نگرفته بود.

در پژوهش حاضر تاثیر سمیت سلولی فراکشن‌های R5، F5، R10، R30 و R100 جدا شده از عصاره بدنه قارچ پلئوروتوس فلوریدا کشت داده شده در ایران بر سلول‌های سرطانی مختلف بررسی شد.

## مواد و روش کار

*تهیه فراکشن از قارچ خوراکی پلئوروتوس فلوریدا*

ابتدا قارچ صدفی پلئوروتوس فلوریدا تهیه شد و پس از خشک کردن پودر شد. سپس ۴۲/۵ گرم از قارچ فلوریدا با ۱۵۵ سی سی آب دیونیزه مقطر مخلوط شد. محلول حاصله به مدت ۲۰ دقیقه با دور g ۱۴۰۰۰ سانتریفوژشد و ذرات نا محلول حذف شدند. عصاره حاصله توسط سیستم‌های فیلتر سانتریفوژی Amicon Ultra-4 (ACFD) فراکشنه شد.

بدین منظور، عصاره فلوریدا از فیلترهای ۱۰۰k، ۳۰k، ۱۰k و ۵k عبور داده شدند و سوپ رویی آن‌ها برای انجام مطالعات بعدی استفاده شد. در هر مرحله سوپ رویی جمع آوری شده و محلول از یک فیلتر به فیلتر بعدی عبور داده شد.

*کشت سلول*

رده سلول‌های سرطانی معده (AGS)، کولون (HT-29)، سرویکس (Hela) و سلول‌های فیبروبلاستی L929 از بانک سلولی انستیتوپاستورایران خریداری گردیدند. سلول‌ها در فلاسک‌های حاوی محیط کشت DMEM غنی شده با FCS ۱۰درصد، ۱۰۰U/ml پنی سیلین، ۱۰۰ µg/ml استرپتومایسین کشت داده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور $CO_2$ دار نگهداری شدند. برای انجام تست‌های مختلف سلول‌ها توسط تریپسین-EDTA ۰/۱ درصد از ته فلاسک جدا شده و با دور rpm ۱۱۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. رسوب سلولی در ۱ سی سی محیط کشت به حالت سوسپانسیون درآورده شد و درصد زنده بودن سلول‌های موجود درسوسپانسیون سلولی با مخلوط شدن نسبت مساوی از تریپان بلو توسط هموسیتومتر تعیین شد.

*سنجش میزان سمیت سلولی*

به‌منظور بررسی تاثیر فراکشن‌های جدا شده از عصاره بدنه قارچ صدفی پلئوروتوس فلوریدا بر سمیت سلول‌های سرطانی مورد

[1] Pleurotus florida
[2] Pleurotus ostreatus

بررسی از روش کالریمتری MTT استفاده شد (۱۴). اساس این تست شکستن نمک تترازولیوم MTT توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده است. نتیجه این فعالیت ایجاد بلورهای فورمازان ارغوانی رنگ می‌باشد که توسط دی متیل سولفوکساید به صورت محلول در می‌آیند. هر چه سلول‌ها فعال‌تر و تعدادشان بیشتر باشد میزان رنگ ایجاد شده بیشتر است. این روش بر روش LTT که با مواد رادیواکتیو کار می‌کند مزیت دارد.
بدین منظور تعداد $۲ \times ۱۰^{۴}$ عدد سلول در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه ای ریخته شده و در حجم نهایی ۲۰۰ میکرولیتر با غلظت‌های مختلف فراکشن‌های فراکشن‌های (R5، F5، R10، R30 و R100) جدا شده (V/V) (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۵ درصد) تیمار شدند. برای هر غلظت سه چاهک اختصاص داده شد. سه چاهک نیز به عنوان کنترل بدون دارو مورد بررسی قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون آزمون MTT انجام شد.

بدین منظور، ۲۵ میکرولیتر از محلول MTT ( شرکت سیگما) با غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر به هر چاهک افزوده شد و پلیت به مدت ۳ ساعت دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در تاریکی انکوبه شد. سپس مایع رویی هر چاهک خارج شده و ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (DMSO) به هر چاهک اضافه شد تا بلورهای تشکیل شده در ته چاهک به‌طور کامل حل شوند. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شده و سپس جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه خواننده الایزا در طول موج ۵۴۵ نانومتر در مقابل بلانک (DMSO) قرائت شد. جذب نوری ثبت شده توسط دستگاه خواننده الایزا توسط فرمول زیر به درصد مرگ سلولی تبدیل شد:

$$\text{درصد مرگ سلولی} = \frac{\text{جذب تست} - ۱}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

## یافته‌ها

جداول ۱ الی ۵ و نمودار ۱ درصد مرگ سلولی به دنبال انکوباسیون ۲۴ ساعته غلظت‌های مختلف فراکشن‌های (R5، F5، R10، R30 و R100) جدا شده از عصاره بدنه قارچ صدفی پلئوروتوس فلوریدا با سلول‌های سرطان کولون (HT-29)، کلیه (ACHN)، رحم (Hela)، معده (AGS) و سلول‌های فیبروبلاستی (L929) را نشان می‌دهند. در این تجربیات غلظت‌های مختلفی (V/V) (۲۰،۱۰،۳۰،۵۰ و ۷۵ درصد) از این فراکشن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و میزان مهار رشد و یا مرگ سلول‌ها بصورت درصد مرگ سلولی مشخص شد.

همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، فراکشن R5 در غلظت ۷۵ درصد بیشترین درصد کشندگی را بر سلول‌های سرطانی Hela با ۰/۹ ± ۷۱ درصد، AGS با ۱/۷ ± ۶۴ درصد و HT-29 با ۰/۹ ± ۶۲ درصد داشت. اما در غلظت‌های پایین‌تر ۲۰ درصد بیشترین کشندگی را بر سلول‌های HT-29 (۱/۳ ± ۲۷درصد) و در غلظت ۱۰ درصد بیشترین کشندگی (۰/۹ ± ۱۲ درصد) را بر سلول‌های Hela داشت.

نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان می‌دهد که فراکشن F5 در غلظت ۷۵ درصد بیشترین درصد کشندگی را بر سلول‌های سرطانی HT-29 با ۰/۹ ± ۷۱ درصد، ACHN با ۱/۹ ± ۶۸ درصد داشت ولی در غلظت‌های ۲۰ درصد کشندگی سلولی بر سلول‌های ACHN بیشتر ( ۱/۲ ± ۲۸ درصد) و در غلظت ۱۰ درصد کشندگی بر سلول‌های AGS ( ۱/۳ ± ۶ درصد) بیشتر بود.

تاثیر کشندگی فراکشن R10 جدا شده بر رده سلول‌های سرطانی مورد بررسی در جدول ۳ نشان داده شده است. فراکشن R10 در غلظت ۷۵ درصد بیشترین درصد کشندگی را بر سلول‌های سرطانی HT-29 با ۱/۵ ± ۹۳ درصد، AGS با ۰/۲ ± ۸۸ درصد و ACHN با ۰/۷ ± ۸۶ درصد داشت. در غلظت‌های پایین‌تر یعنی ۲۰ درصد و ۱۰ درصد نیز بیشترین کشندگی را بر سلول‌های HT-29 به ترتیب با ۰/۷ ± ۲۴ درصد و ۰/۷ ± ۱۹ داشت.

بر طبق نتایج جدول ۴ که تاثیر کشندگی فراکشن R30 در آن مشخص شده است، تمام غلظت‌های این فراکشن بیشترین تاثیر کشندگی را بر سلول‌های HT-29 داشتند. درصد مرگ سلول در بالاترین غلظت ۷۵ درصد به میزان ۰/۲ ± ۸۸ درصد و در غلظت‌های پایین‌تر یعنی ۲۰ درصد و ۱۰ درصد به ترتیب ۰/۳ ± ۶۹ و ۰/۷ ± ۶۳ درصد بود.

همان‌طور که در جدول ۵ نشان داده شده است، فراکشن R100 نیز همانند فراکشن R30 تاثیر کشندگی قابل توجهی بر سلول‌های سرطان کولون (HT-29) داشت. درصد مرگ سلول در بالاترین غلظت ۷۵ درصد به میزان ۰/۴ ± ۹۲ درصد و در غلظت‌های پایین‌تر یعنی ۲۰ درصد و ۱۰ درصد به ترتیب ۰/۶±۸۶ و ۱ ± ۸۲ درصد بود.

نمودار۱ خلاصه ای از تاثیر کشندگی فراکشن‌های بررسی شده را بر سلول‌های سرطانی مورد بررسی نشان می‌دهد.

**جدول شماره (۱):** درصد مرگ سلول‌های سرطانی (AGS، ACHN، Hela و HT-29) و سلول‌های فیبروبلاستی (L929) تیمار شده با غلظت‌های مختلف فراکشن R5*.

| غلظت (حجمی/حجمی) درصد | AGS | ACHN | Hela | HT-29 | L929 |
|---|---|---|---|---|---|
| ۷۵ | ۶۴±۱/۷ | ۲۹ ± ۲/۱ | ۷۱ ± ۰/۹ | ۶۰ ± ۰/۹ | ۶۹ ± ۰/۹ |
| ۵۰ | ۲۷ ±۱/۹ | ۲۳ ± ۲/۲ | ۲۸ ± ۱/۳ | ۵۶ ± ۰/۳ | ۴۸ ± ۰/۳ |
| ۳۰ | ۱۷ ± ۱/۴ | ۱۶ ± ۲/۳ | ۲۴ ± ۲/۱ | ۳۳ ± ۱ | ۳۸ ± ۱/۷ |
| ۲۰ | ۹ ± ۱/۳ | ۱۱ ± ۱/۳ | ۱۶ ± ۰/۸ | ۲۷ ± ۱/۳ | ۲۰ ± ۰/۶ |
| ۱۰ | ۴ ± ۱/۷ | ۱ ± ۰/۳ | ۱۲ ± ۰/۹ | ۱ ± ۰/۵ | ۴ ± ۰/۲ |

*مقادیر به‌صورت میانگین ۳ بار آزمایش ± S.E.M. ارائه شده اند.

**جدول شماره (۲):** درصد مرگ سلول‌های سرطانی (AGS، ACHN، Hela و HT-29) و سلول‌های فیبروبلاستی (L929) تیمار شده با غلظت‌های مختلف فراکشن F5*.

| غلظت (حجمی/حجمی) درصد | AGS | ACHN | Hela | HT-29 | L929 |
|---|---|---|---|---|---|
| ۷۵ | ۵۲ ±۱/۳ | ۶۸ ± ۱/۹ | ۵۴ ± ۱/۷ | ۷۱ ± ۰/۹ | ۵۹ ± ۱ |
| ۵۰ | ۳۰ ± ۱/۱ | ۴۶ ± ۲/۳ | ۴۸ ± ۱ | ۲۸ ± ۱/۳ | ۴۱ ± ۱ |
| ۳۰ | ۲۶ ± ۱/۷ | ۳۸ ± ۱/۹ | ۳۶ ± ۲ | ۲۴ ± ۱/۱ | ۲۴ ± ۰/۹ |
| ۲۰ | ۲۱ ± ۰/۷ | ۲۸ ± ۱/۲ | ۱۱ ± ۱/۵ | ۱۶ ± ۱/۵ | ۹ ± ۰/۶ |
| ۱۰ | ۱۶ ± ۱/۳ | ۳ ± ۱ | ۱ ± ۰/۷ | ۱۲ ± ۰/۹ | ۰ |

*مقادیر به‌صورت میانگین ۳ بار آزمایش ± S.E.M. ارائه شده اند.

**جدول شماره (۳):** درصد مرگ سلول‌های سرطانی (AGS، ACHN، Hela و HT-29) و سلول‌های فیبروبلاستی (L929) تیمار شده با غلظت‌های مختلف فراکشن R10*.

| غلظت (حجمی/حجمی) درصد | AGS | ACHN | Hela | HT-29 | L929 |
|---|---|---|---|---|---|
| ۷۵ | ۸۸ ± ۰/۲ | ۸۶ ± ۰/۷ | ۷۱ ± ۰/۹ | ۹۳ ± ۱/۵ | ۶۵ ± ۰/۴ |
| ۵۰ | ۷۴ ± ۰/۹ | ۵۹ ± ۰/۲ | ۲۷ ± ۰/۶ | ۵۸ ± ۰/۶ | ۴۷ ± ۰/۷ |
| ۳۰ | ۴۹ ± ۰/۹ | ۳۳ ± ۰/۹ | ۲۲ ± ۰/۹ | ۲۸ ± ۰/۵ | ۲۳ ± ۰/۶ |
| ۲۰ | ۰ | ۱۸ ± ۰/۵ | ۱۶ ± ۰/۴ | ۲۴ ± ۰/۷ | ۱ ± ۰/۵ |
| ۱۰ | ۰ | ۵ ± ۰/۵ | ۰ | ۱۹ ± ۰/۷ | ۰ |

*مقادیر به‌صورت میانگین ۳ بار آزمایش ± S.E.M. ارائه شده اند.

**جدول شماره (۴):** درصد مرگ سلول‌های سرطانی (AGS، ACHN، Hela و HT-29) و سلول‌های فیبروبلاستی (L929) تیمار شده با غلظت‌های مختلف فراکشن R30*.

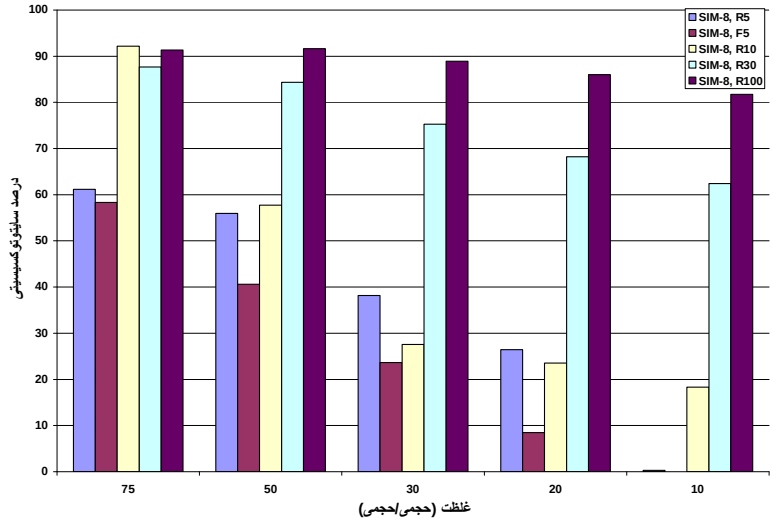
| غلظت (حجمی/حجمی) درصد | AGS | ACHN | Hela | HT-29 | L929 |
|---|---|---|---|---|---|
| ۷۵ | ۷۵ ±۰/۷ | ۵۲ ± ۰/۳ | ۵۴ ± ۰/۶ | ۸۸ ± ۰/۲ | ۶۱ ± ۰/۳ |
| ۵۰ | ۷۵ ± ۰/۸ | ۲۵ ± ۰/۵ | ۲۵ ± ۰/۴ | ۸۵ ± ۰/۳ | ۵۱ ± ۰/۹ |
| ۳۰ | ۵۳ ± ۱ | ۱۶ ± ۰/۲ | ۲۱ ± ۰/۷ | ۷۶ ± ۰/۹ | ۳۸ ± ۰/۲ |
| ۲۰ | ۴۵ ± ۰/۴ | ۵ ± ۰/۶ | ۱۲ ± ۰/۲ | ۶۹ ± ۰/۳ | ۲۵ ± ۰/۷ |
| ۱۰ | ۲۶ ± ۰/۳ | ۲ ± ۰/۹ | ۳ ± ۰/۶ | ۶۳ ± ۰/۷ | ۳ ± ۱/۶ |

*مقادیر به‌صورت میانگین ۳ بار آزمایش ± S.E.M. ارائه شده اند.

**جدول شماره (۵):** درصد مرگ سلول‌های سرطانی (AGS، ACHN، Hela و HT-29) و سلول‌های فیبروبلاستی (L929) تیمار شده با غلظت‌های مختلف فراکشن R100*

| غلظت (حجمی/حجمی) درصد | AGS | ACHN | Hela | HT-29 | L929 |
|---|---|---|---|---|---|
| ۷۵ | ۷۵ ± ۰/۷ | ۵۲ ± ۰/۳ | ۵۴ ± ۰/۶ | ۹۲ ± ۰/۴ | ۶۱ ± ۰/۳ |
| ۵۰ | ۷۹ ± ۰/۸ | ۲۵ ± ۰/۵ | ۲۵ ± ۰/۴ | ۹۲ ± ۰/۴ | ۵۱ ± ۰/۹ |
| ۳۰ | ۷۵ ± ۱ | ۱۶ ± ۰/۲ | ۲۱ ± ۰/۷ | ۸۹ ± ۰/۸ | ۳۸ ± ۰/۲ |
| ۲۰ | ۴۵ ± ۰/۴ | ۵ ± ۰/۶ | ۱۲ ± ۰/۲ | ۸۶ ± ۰/۶ | ۲۵ ± ۰/۷ |
| ۱۰ | ۲۶ ± ۰/۳ | ۲ ± ۰/۹ | ۳ ± ۰/۶ | ۸۲ ± ۱ | ۸ ± ۰/۷ |

*مقادیر به‌صورت میانگین ۳ بار آزمایش ± S.E.M. ارائه شده اند.




**نمودار شماره (۱):** درصد مرگ سلول‌های سرطان کولون (HT-29) تیمار شده با غلظت‌های مختلف فراکشن‌های جدا شده از قارچ پلئوروتوس فلوریدا (R5، F5، R10، R30 و R100).

## بحث

یک استراتژی برای پیشگیری از ایجاد سرطان کولون جستجو برای یافتن ترکیبات خوراکی است که منجر به مرگ سلول‌های سرطانی شده کولون شوند (۱۷-۱۵). قارچ‌ها از نظر تغذیه ای جزو غذاهای عملکردی بوده و بارزترین تاثیر پزشکی قارچ‌ها و متابولیت‌های آن‌ها که توجه عموم را به خود جلب کرده است، تاثیر ضد توموری آن‌ها می‌باشد (۲،۱). زیر گونه‌های پلئوروتوس عمدتاً قارچ‌های صدفی نامیده می‌شوند و عصاره اتیل استاتی و متانولی قارچ خوراکی پلئوروتوس فلوریدا می‌توانند به‌طور وابسته به دوز تکثیر سلول‌های سرطانی EAC را در مدل موشی مهار کرده و به عنوان رفتگر رادیکال‌های آزاد عمل کرده و نیز از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی جلوگیری کنند (۸). همچنین در یک مطالعه تاثیر ضد تکثیری و نیز پیش آپوپتوتیک فراکشن‌های پلی ساکاریدی جدا شده از قارچ پلئوروتوس استراتوس بر سلول‌های سرطان کولون HT-29 در شرایط برون تنی نشان داده شده است.

در مطالعه حاضر تاثیر غلظت‌های مختلف (V/V) (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۵ درصد) فراکشن‌های (R5، F5، R10، R30 و R100) جدا شده از عصاره بدنه قارچ صدفی پلئوروتوس فلوریدا بر سلول‌های سرطان کولون (HT-29)، کلیه (ACHN)، رحم (Hela)، معده (AGS) و سلول‌های فیبروبلاستی (L929) ارزیابی شد. برطبق نتایج حاصله، فراکشن‌های R100 و R30 بیشترین تاثیر کشندگی بر سلول‌های سرطانی داشتند. حساس ترین سلول سرطانی به این فراکشن‌ها سلول‌های سرطان کولون (HT-29) بود.

در یک گزارش فراکشن حاوی پروتئین از این قارچ جدا شد و نشان داده شد که این فراکشن تاثیر کشندگی بر رده‌های سلولی

سرطانی DL، S-180، B16-FO، Hela و HT-29 دارد و مقدار $IC_{50}$ آن برای رده سلولی HT-29، ۵۵/۲ میکرو گرم در میلی لیتر گزارش شده بود (۱۲) در حالی که مقادیر $IC_{50}$ فراکشن‌های R30 و R100 بر رده سلولی سرطان کولون (HT-29) کم‌تر از ۱۰ درصد، برای فراکشن‌های R5 و R10 بین ۳۰ تا ۵۰ درصد و برای فراکشن F5 بین ۵۰ تا ۷۵ درصد بود. بنابراین فراکشن‌های R30 و R100 تاثیر کشندگی قابل توجهی بر این سلول‌های سرطانی نشان دادند.

به‌طور خلاصه، در این تحقیق فراکشن‌های جدیدی از قارچ خوراکی پلئوروتوس فلوریدا جداسازی شد که تاثیر ضد سرطانی امیدوار کننده ای داشتند. به خصوص دو فراکشن R30 و R100 تاثیر کشنده قابل توجهی بر سلول‌های سرطان کولون (HT-29) داشتند و این میزان با افزایش غلظت ارتباط مستقیم داشت. در حالی که این اثر برای سلول‌های استاندارد L929 بسیار کم‌تر بود. نتایج این مطالعه جای امیدواری برای دستیابی به موادی که به طور اختصاصی سلول‌های سرطانی را مورد هدف قرار می‌دهند، فراهم کرده است. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که مطالعات بیش تری در خصوص مکانیسم‌های تاثیر قارچ‌های خوراکی، جداسازی فراکشن‌های مختلف از آن‌ها و بررسی تاثیر ضد سرطانی و مکانیسم تاثیر آن‌ها بر سلول‌های سرطانی و سپس در مدل‌های حیوانی انجام گردد و در نهایت با کارآزمایی بالینی در انسان اثرات دقیق آن مشخص شود، تا ضمن اثبات اثرات آن در انسان، با مطالعات بیشتر و جداسازی و شناسایی مواد موثره ضد سرطانی در آن‌ها بتوان اقدام به تهیه فرمولاسیون‌های دارویی خاص نمود.

## نتیجه گیری

در این مطالعه نشان داده شد که فراکشن‌های R5، F5، R10، R30 و R100 جدا شده از قارچ خوراکی پلئوروتوس فلوریدا بطور وابسته به غلظت سبب مرگ سلول‌های سرطانی مختلف شدند. دو فراکشن R100 و R30 تاثیر کشندگی قابل توجهی بر سلول‌های سرطان کولون (HT-29) داشتند در حالی که این اثر برای سلول‌های استاندارد L929 بسیار کمتر بود.

## قدردانی و تشکر

نویسندگان از معاونین محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و دانشگاه شاهد برای حمایت مالی این پژوهش تشکر می‌نمایند.

## References:

1. Wasser SP, Weis AL. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms. Int J Med Mushrooms 1999; 1:31-62.
2. Franz G. Polysaccharides in pharmacy: current applications and future concepts. Plant Med 1989; 55:493-7.
3. Chang ST. Cultivated mushrooms. In: Arora DK, Mukerji KG, Marth EH, Editors. Handbook of applied mycology: foods and feeds. New York: Marcel Dekker Inc; 1991.
4. Poucheret P, Fons F, Rapiors S. Biological and pharmacological activity of higher fungi: 20-Year retrospective analysis. Mycologie2006;27:311-33.
5. Hemnani T, Parihar MS. Reactive oxygen species and oxidative DNA damage. India J Pharmacol 1989; 42: 440-52.
6. Clayson DB, Mehta R, Iversin F. Oxidative DNA damage: the effects of certain genotoxic. Mutat Res 1994; 317: 25-42.
7. Troll W, Lim JS, Frenkel K. Prevention of cancer by agents that suppress production of oxidants. In: Ho CT, Osawa T, Huang MT, Rosen RT, Editors. Food phytochemicals for cancer prevention II, teas, spices, and herbs. American Chemical Society; 1994. P.116-21.
8. Jose N, Janardhanan KK. Antioxidant and antitumour activity of Pleurotus florida. Curr Sci 2000; 79: 941-3.
9. Ajith TA, Anardhanan KKJ. Indian medicinal mushrooms as a source of antioxidant and antitumor agents. J Clin Biochem Nutr 2007; 40: 157-2.
10. Lavi I, Friesem D, Geresh S, Hadar Y, Schwartz B. An aqueous polysaccharide extract from the edible mushroom Pleurotus ostreatus induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects on HT-29 colon cancer cells. Cancer Lett 2006; 244: 61-70.
11. Roy SK, Das D, Mondal S, Maiti D, Bhunia B, Maiti TK, et al. Structural studies of an immunoenhancing water-soluble glucan isolated

from hot water extract of an edible mushroom, Pleurotus florida, cultivar Assam Florida. Carbohyd Res 2009; 344: 2596-601.

12. Maiti S, Bhutia SK, Mallick SK, Kumar A, Khadgi N, Maiti TK. Antiproliferative and immunostimulatory protein fraction from edible mushrooms. Environ Toxicol Pharmacol 2008; 26: 187-91.
13. Ghazanfari T, Yaraee R, Farahnejad Z, Rahmati B, Hakimzadeh H. Macrophages activation and nitric oxide alterations in mice treated with Pleurotus florida. Immunopharm Immunot 2010; 32: 47-50.
14. Mosmann T. Rapid colometric assay for cellular growth and survival: application to proliferation cytotoxicity assay. J Immunol Method 1983; 65: 55-63.
15. Lee YL, Kim HJ, Lee MS, Kim JM, Han JS, Hong EK. Oral administration of agaricus blazei (H1 strain) inhibited tumor growth in a sarcoma 180 inoculation model. Exp Anim 2003; 52: 371–5.
16. Kidd PM. The use of mushroom glucans and proteoglycans in cancer treatment. Alternative Med Rev 2000; 5: 4–27.
17. Zusman I, Reifen R, Livni O, Smirnoff P, Gurevich P, Sandler B. Role of apoptosis, proliferating cell nuclear antigen and p53 protein in chemically induced colon cancer in rats fed corncob fiber treated with thefungus Pleurotus ostreatus. Anticancer Res 1997; 17: 2105-13.