www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 56, No. 5 P: 283-288
Nov-Dec 2013

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ٥٦، شماره ٥
آذر- دی ٩٢ ، صفحه ٢٨٣-٢٨٨

مقاله اصلی

تاثیرات ممانعت کنندگی عصاره زعفران در جلوگیری از رشد سلولهای سرطانی آدنوکارسینوم کولون

تاریخ دریافت: ٩٢/٤/٢- تاریخ پذیرش:٩٢/٨/٧

[1] احمد خسروی
[2] رضا فرید حسینی*
[3] فرحزاد جباری آزاد
[4] حدیث یوسف زاده
[5] تکتم مقیمان
[6] محمد واعظ طبسی
[7] جلیل توکل افشاری

۱-دانشیار گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۲-استاد بیماری های ریه، مرکز تحقیقات آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳- دانشیار آلرژی و ایمونولوژی بالینی ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴-دانشجوی دوره دکتری پژوهشی ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۵،۶- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۷-استاد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

*مشهد- بیمارستان قائم، بخش آلرژی و ایمونولوژی بالینی، مشهد، ایران
تلفن: ۸۴۰۰۰۰۱-۵۱۱-۹۸+
email:faridhosseinir@mums.ac.ir

خلاصه

مقدمه

این مقاله با هدف بررسی اثرات آنتی ژنوتوکسیک و سیتوتوکسیک زعفران به عنوان یک گیاه بومی ایران انجام شده است.

روش کار

این مطالعه توصیفی تحلیلی آزمایشگاهی در تابستان سال ۱۳۸۷ در پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. سلولهای انسانی سرطان آدنوکارسینوما و سلولهای کلون در محیط کشت Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) شامل ۱۰٪ FBS در شرایط استاندارد دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در انکوباتور دی اکسید کربن ۵٪ کشت داده شدند. تعداد ۲×۱۰^{۵} سلول در هر ۲۰۰ ul از محیط کشت به هر چاهک انتقال داده شد. اطلاعات با استفاده از آزمون تی زوجی و SPSS تجزیه و تحلیل شد. در نهایت تغییرات سلولی توسط تست MTT برای غلظت های ۲۰۰۰، ۱۲۰۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره در سه رده سلولی مورد مطالعه AGS, HT125 و L929 اندازه گیری شد.

نتایج

رده سلولی L929 تغییرات اندکی را در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت اول در غلظتهای سلولی ۲۰۰۰ و ۱۶۰۰ به ترتیب نشان داد. اما در طی ۷۲ ساعت نیز تغییرات قابل توجهی از مرفولوژی را در غلظتهای مشابه نیز نشان داد. در حالی که کاهش در سلولهای سرطانی آدنوکارسینوما بسیار مشهود بود ولیکن در غلظتهای ۲۰۰۰ جمعیت سلولی زنده تا حد ۴۵٪ کاهش پیدا کرد. نتایج معنی داری از مرفولوژی و تحلیل MTT تست برای سلولهای HT125 مشاهده نشد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر موید شواهد روز افزون نقش عصاره زعفران به عنوان یک ترکیب پیشگیری کننده از سرطان به صورت اثر مهاری بر روی رشد و یا پیشرفت تومور می باشد..

کلمات کلیدی: آدنوکارسینوما، پیشگیری از سرطان، زعفران، سیتوتوکسیک

مقدمه

امروزه به نقش گیاهان و ترکیبات طبیعی در پیشگیری از بسیاری از بیماریها شامل سرطان توجه بسیاری می شود. با توجه به اینکه ۸۰٪ زعفران تولیدی دنیا در ایران بخصوص استان خراسان تولید می شود، لذا به نظر می رسد مطالعه اثرات آنتی ژنوتوکسیک و سیتوتوکسیک زعفران این منطقه از اهمیت خاصی برخوردار باشد. زعفران با نام علمی(Crocus sativus L) به عنوان یکی از گیاهان طبی محسوب می شود و حاصل کشت در محیطهای خشک و خنک می باشد. کلاله های قرمز رنگ آن به عنوان ادویه و در تهیه خوراکیهای رنگی و همچنین در تهیه عطر استفاده می شود (۱). همچنین زعفران به عنوان یکی از مهمترین ترکیبات صادراتی محسوب شده که سالانه ارز زیادی به واسطه صادرات این محصول وارد چرخه اقتصاد کشورمان می شود. در سالهای اخیر مطالعات در مدلهای حیوانی و همچنین کشت رده سلولهای بدخیم سرطانی تاثیرات ضد توموری و پیشگیری کننده سرطانی زعفران و اجزای اصلی آن را نشان داده است. بدنه اصلی این پژوهشها حاکی از این است که خود عصاره زعفران و احزای اصلی تشکیل دهنده آن یا همان کارتنوئیدها دارای خاصیت پیشگیری کننده سرطان می باشند. همچنین عصاره گیاه زعفران دارای خاصیت ضد فعال کنندگی لوکمی، استئوسارکوما، فیبروسارکوما و سرطان تخمدان می باشد. همچنین جلوگیری از فعالیت سلولهای سرطان سینه توسط دو گونه زعفران به اثبات رسیده است. سرطان کولورکتال به عنوان دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در دنیا می باشد و در بسیاری از افراد دارای اتیولوژی ناشناخته است و از پولیپ های آدنوماتو نشات می گیرد (۳،۲). آدنوکارسینوما شامل ۸۵٪ تمامی انواع سرطان دستگاه گوارشی است (۴). همچنین مشخص شده است که مصرف نیترات زیاد، سیگار یا غذاهای شور خطر ابتلابه سرطان را افزایش می دهند. شواهد اپیدمیولوژیک نشان می دهند که رژیم های حاوی کالری بالا بویژه حاوی چربی حیوانی نقش مهمی در پیشرفت سرطان کولورکتال دارند. امروزه ترکیبات زیادی به عنوان جلوگیری گننده و یا پیشگیری کننده های اولیه این نوع سرطان مطرح هستند که یکی از مهمترین این ترکیبات شامل آسپرین و دیگر خانواده NSAIDS ها می باشند که گویا نقش خود را با مهار تولید پروستاگلندین ها ایفا می کنند (۴). در دیگر کارآزماییهای بالینی ترکیبات حاوی اسید فولیک و یا کلسیم خوراکی مشاهده شده که خطر پولیپ های آدنوکارسینوم و سرطان کولورکتال را کاهش می دهند. درمان با استروژنها نیز در زنان احتمالا به دلیل تاثیر آن بر تولید و ساختار اسیدهای صفراوی، میزان سرطان کولورکتال را کاهش می دهد (۴). فعالیت های ضد توموری به صورت گسترده ای در بسیاری از مدلهای سلولی بررسی شده است. نقش آنتی اکسیدانی کارتنوئیدها در عصاره زعفران و تاثیرات وابسته به غلظت آن در مهار سلول های توموری مشخص شده است (۵،۴).

در مطالعات گذشته نشان داده شده است که عصاره زعفران که در محیط آزمایشگاهی می تواند از تشکیل سلولهای توموری و ساخت DNA و RNA سلولی به وسیله سلولهای Hela ممانعت به عمل آورد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره Crocus sativus و کوروسین آن به صورت قابل ملاحظه ای رشد سلولهای کولورکتال را بدون تاثیر گذاری بر رشد سایر سلولها مهار می کند (۶).

به دنبال این مطالعه، مطالعه حاضر با هدف بررسی حساسیت سلولهای بدخیم و خوش خیم نسبت به زعفران و تاثیرات ممانعتی عصاره زعفران بر ساخت درشت مولکولها در سه رده سلولی شامل سلولهای آدنوکارسینوم معده (AGS)، سلولهای کولون در محیط آزمایشگاهی (HT125) و سلولهای طبیعی (L929) می باشد.

روش کار

این مطالعه توصیفی تحلیلی آزمایشگاهی در تابستان سال ۱۳۸۷ در پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

سلولهای آدنوکارسینوما (AGS) و سلولهای کولون در محیط Dulbecco's modified Eagle's (DMEM) حاوی ۱۰٪ FBS تحت شرایط استاندارد و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور حاوی ۵٪ دی اکسید کربن کشت داده شدند.

کلاله های زعفران Crocus sativus کشت داده شده از شهرقائن (استان خراسان جنوبی، ایران) جمع آوری شدند و در دمای اتاق خشک شدند. شناسایی نوع گونه گیاه توسط هرباریوم

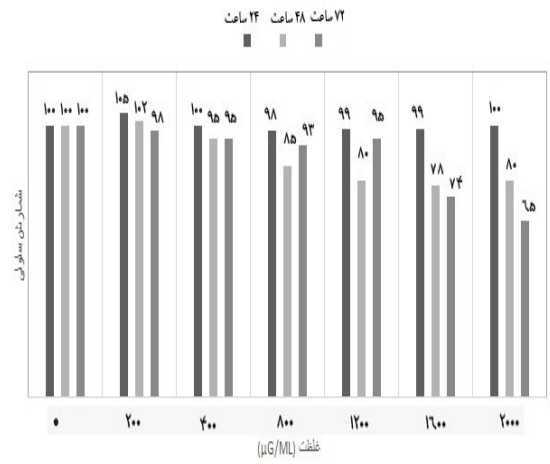
دانشگاه فردوسی مشهد تایید شد. پنج گرم از عصاره کلاله Crocus sativus در دمای ۳۰ درجه و در طی ۲۴ ساعت کوبیده و توسط دستگاه شیکر به صورت محلول درآمد. محلول حاصل سپس فیلتر شد و در آون ۴۰درجه خشک شد. عصاره خشک شده در آب مقطر حل شد و سپس مورد اتوکلاو قرار گرفت. در نهایت فرآورده در دمای منهای ۲۰درجه در غلظتهای ۲۰۰۰، ۱۲۰۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۰، ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر نگهداری شد. رده های سلولی مورد مطالعه (AGS, HT125 و L929) در پلیت های ۶ چاهکی کشت داده شدند،به طور خلاصه ۵۰۰۰ سلول به هر چاهک به همراه ۵ سی سی از محیط کشت کامل انتقال داده شد. در نهایت میزان ۲۰۰۰، ۱۲۰۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره اتوکلاو شده به هر چاهک اضافه گردید. در نهایت ازدیاد سلولی به صورت کمی توسط تست MTT با کمک الیزا خوان در طول موج ۷۵۰ نانومتر (MR600, Micro plate reader, A DYNA tech, Elisa plate reader) اندازه گیری شد. برای سنجش تاثیرات سیتوتوکسیکی غلظتهای مختلف عصاره هر رده سلولی تعداد $۲ ۱۰^{۵}$ سلول به همراه ۲۰۰میکرولیتر از محیط کشت کامل به درون هر یک از چاهک های پلیت های ۹۶ خانه ای انتقال داده شد. سپس غلظتهای مختلف عصاره به هر چاهک انتقال داده شد و به مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت انکوبه شد. بعد از گذشت این زمان تست MTT برای تعیین تاثیرات سیتوتوکسیک هر غلظت در سه رده سلولی مورد مطالعه AGS, HT125 و L929 انجام شد.

تغیرات در ازدیاد سلولی و تاثیرات سیتوتوکسیکی قبل و بعد از درمان با غلظتهای مختلف عصاره Crocus sativus توسط آزمون تی زوجی مورد تحلیل قرار گرفت. سطح آماره ۹۵٪ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد و کلیه تحلیل های آماری با کمک نرم افزار SPSS انجام شد.

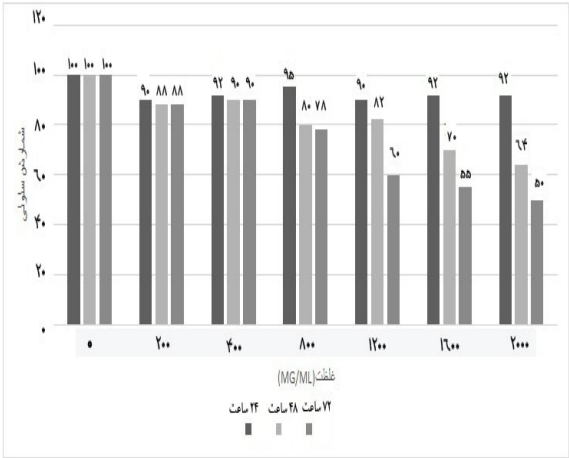
نتایج

نتایج در دو قسمت بحث شد، ۱-کیفی (تغییرات مرفولوژی در سلولهای سرطانی و غیر سرطانی بعد از افزودن عصاره با غلظت خاص و مقایسه آن با گروه شاهد) ۲- کمی (اندازه گیری ازدیاد سلولی در تست MTT برای غلظت های خاص عصاره در سه رده سلولی مورد مطالعه AGS, HT125 و L929.

تغییرات مرفولوژیک پس از اضافه کردن عصاره در غلظتهای مختلف از نظر شکل سلولی، چسبندگی به سطح،تعداد سلولی، تشکیل گرانول و انهدام سلولی سنجیده شد. در مورد نتایج کیفی این مطالعه، نشان داده شد که نتایج بارزی در مرفولوژی و MTT برای رده سلولی HT125 مشاهده نشد. به علاوه در غلظتهای مختلف و انکوباسیون های مختلف، عصاره زعفران تام اثری بر این رده سلولی HT125 نیز نداشت. لذا حداقل نتیجه این بود که در این غلظتها عصاره تام زعفران بر سلولهای TH125 بی اثر است. ولیکن در رده سلولی L929 در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت اول در عصاره های با غلظت ۲۰۰۰ و ۱۶۰۰تغییرات اندکی نشان داده شده است. اما در طی ۷۲ ساعت فاصله زمانی تغییرات قابل توجهی در مرفولوژی در این غلظتها مشاهده شد. چنانچه در غلظت ۲۰۰۰ شکل سلولها تغییر فرم داده و چسبندگی به سطح و تعداد سلولها به طور بارزی کاهش داشته است. اما در رده سلولی AGS در طی ۲۴ ساعت تغییرات اندکی در مرفولوژی (تغییر جزئی شکل سلول) در غلظتهای ۱۶۰۰ و ۲۰۰۰ مشاهده شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت تغییرات مشابهی در غلظت ۱۲۰۰ رخ داد در حالی که انکوباسیون ۷۲ ساعته در غلظتهای۲۰۰۰، ۱۶۰۰ و ۱۲۰۰ تغییرات بارزی مشاهده شد. در مورد بررسی کمی، نتایج حاصل از MTT برای رده سلولی L929 در طی۲۴ ساعت اول در غلظت ۲۰۰ میکروگرم نشان داد که افزایش اندکی در تعداد سلولها وجود دارد در حالی که در غلظتهای بالاتر کاهش اندکی وجود دارد تا حدی که تعداد سلولها به نزدیک مقادیر اولیه می رسد. در حالت کلی تغییر قابل ملاحظه ای در انکوباسیون ۲۴ ساعته مشاهده نشد. پس از گذشت ۴۸ ساعت افزایش اندکی در جمعیت سلولی در غلظتهای۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره مشاهده شد. به ترتیب اززغلظت ۲۰۰ تا۴۰۰،۴۰۰ تا ۱۲۰۰ و ۱۲۰۰ تا ۲۰۰۰ به ترتیب میزان ۹۰٪، ۸۰٪ و ۷۵٪ کاهش در جمعیت سلولی زنده اتفاق افتاد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت درصد سلولهای زنده کاهش بارزتری را نشان داد. درصد سلولهای زنده L929 میزان ۸۰٪ کاهش را در غلظتهای ۸۰۰ تا ۱۲۰۰ نشان داد در حالی که این میزان در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم به ۶۰٪ کاهش پیدا کرده بود (نمودار۱).



نمودار۱- نتایج حاصل از MTT برای رده سلولی L929 در غلظتهای مختلف طی گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت



نمودار۲- نتایج حاصل از MTT برای رده سلولی AGS در غلظتهای مختلف طی گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

جمعیت سلولهای AGS پس از گذشت ۲۴ ساعت اول کاهش اندکی پیدا کرده بود ولی سپس در غلظت ۲۰۰ به بالا درصد سلولهای زنده به ۸۰ تا۹۰٪ افزایش یافت. در طی ۴۲ ساعت انکوباسیون تعداد سلولهای AGS میزان۸۰٪ در غلظت ۱۲۰۰ کاهش یافت درحالی که با افزایش در غلظت عصاره تا میزان ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر کاهش۶۰٪ در جمعیت سلولهای زنده مشاهده شد. در طی گذشت ۷۲ ساعت، کاهش در جمعیت سلولی AGS قابل ملاحظه تر بود در حالی که در غلظتهای ۲۰۰۰ جمعیت سلولی زنده به میزان ۴۵٪ کاهش پیدا کرده بود (نمودار۲).

بحث

اثرات پیشگیری کننده شیمیایی[1] به صورت استفاده از ترکیبات طبیعی یا مواد سنتزی در پیشگری با قطع پیشرفت سرطان در جمعیت انسانی اطلاق می شود که امروزه در مبحث پیشگیری از سرطان به آن نگاه دوباره ای شده است. همچنین مکانیسم بیوشیمی مولکولی مهار تومورها و تومورزایی نیز از موضوعات مورد توجه پژوهشی محققان است. ایجاد سرطان به عوامل مختلفی بستگی دارد که از این میان می توان از شیوه زندگی فرد، محیط و ژنتیک به عنوان سه فاکتور مهم که هر یک به تنهایی و یا در ترکیب با همدیگر در ایجاد سرطان نقش دارند یاد کرد (۷). ازآنجایی که سرطانها به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر در دنیا مجسوب می شوند لذا سهولت استفاده از ترکیبات طبیعی، سبزیجات و گیاهان در پیشگیری از سرطان نگاههای محققان را به سمت خود جلب نموده است. مواد شیمیایی متعددی در کنار عصاره های افزودنی به عنوان کارسینوژن مطرح هستند. گرچه موتاژن ها و غذاهای سرطان زا یا رژیم های فقیر غذایی شامل رژیم های دارای فیبر کم اما غنی از چربی و کالری در افزایش شیوع سرطان های مختلفی موثر بوده اند، اما مکانیسم دقیق آن به صورت کامل مشخص نشده است. بدنه اصلی شواهد نشان می دهد که کارتنوئیدها به عنوان ترکیبات ضد سرطان، ضد موتاژن و ایمونومدلاتور در محیطهای برون تنی و درون تنی مطرح هستند (۸). مهمترین فاکتورهای شیمیایی که از ایجاد سرطان جلوگیری می کند شامل آنتی اکسیدانها، اشکال رادیکالهای آزاد، ویتامین C، ویتامین E و A ، مهارکننده های پروتئاز، رتنوئیدها و فلاونوئیدها می باشند. بیشتر این عوامل مهاری تاثیرات خود را به واسطه فعالیتشان در مراحل پیشرفته سرطان دارند در حالی که تعدادی از آنها نیز تاثیرات مهاری خود را در مراحل اولیه سرطان زایی ایفا می کنند (۹). مهمترین

[1]Chemoprevention

مکانیسم که به عنوان مهار شیمیایی مواد سرطان زا مطرح هست تاثیر مهاری بر سلولهای توموری می باشد که ازدیاد و تکثیر آنها را مهار کند و به دنبال آن پیشرفت سلولهای جهش یافته را مهار کند (۹). ترکیبات شاخص زعفران شامل آلفاکروسین، کارتنوئیهای محلول در آب، پیکروکروسین و سافرانال می باشند. یکی از مهمترین و قوی ترین تاثیرات بیوشیمیایی زعفران اثر مهاری آن در سنتز DNA و RNA می باشد در حالیکه هیچگونه تاثیری بر سنتز پروتئین سلولی ندارد (۱۰). در حالت کلی یافته ها نشان می دهد که تاثیرات مهاری زعفران در سنتز نوکلئیک اسیدها یک پایه بیوشیمیایی برای اثرات مهاری آن بر تکثیر سلولهای توموری ایفا می کند. به منظور درک اینکه آیا مهار سنتز اسیدهای نوکلوئیک یکی از تاثیرات مستقیم عصاره زعفران است یا در نتیجه تاثیرات متعدد اولیه دیگری بر روس سلولها است، این حقیقت مورد مطالعه قرار گرفت به صورتی که اثر زعفران بر سنتز DNA و RNA در محیط خارج سلولی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره زعفران هیچگونه تاثیری را بر سنتز DNA و RNA در هسته سلولهای جدا شده نداشته، لذا بر این نکته تاکید شد که عصاره زعفران هیچگونه تاثیر مستقیمی را بر واکنشهای سنتزی ندارد (۹،۱۰). از سویی دیگر، رشد سلولی و تکثیر نمونه نقش وسیع و گسترده ای است که سیستم ژنتیکی DNA در بسیاری از روندهای حیاتی ایفا می کند.

با توجه به مطالعه نیر[1] و همکاران، اثرات ضد توموری زعفران در هنگامی مشاهده شد که تجویز دارو به صورت خوراکی صورت گرفت اما در موارد اینتراپریتونئال این تاثیر به دست نیامد. بنابراین نظریه پیشنهادی بیان می کند که متابولیسم اولیه اجزای فعال می تواند به عنوان فعالیت ضد توموری لازم باشد. همچنین پیشنهاد شده است که یکی از اجزای زعفران به نام کروسین می تواند تاثیرات ضد توموری را ایفا کند گرچه متابولیسم معکوسی با رتنوئیدها دارد (۱۱). دومین مکانیسم پیشنهادی برای تاثیرات ضد توموری کارتنوئیدها بر اساس فرضیه مورد قبول استوار است که بیان می کند بعضی از اجزای ساختاری می توانند واکنشهای حلقه رادیکالهای آزاد را مهار کنند. بیشتر کارتنوئیدها محلول در چربی هستند بنابراین انتظار می رودکه آنها به عنوان اجزای پاک کننده در همکاری فعال با غشا برای رادیکالهای آزاد مطرح شوند (۱۲). اثر کارتنوئیدها به عنوان یک نیروی بالقوه در حصار رادیکال های آزاد به روش اثبات شده مدلسازی مولکولی است. مکانیسم سوم بر اساس بر هم کنش بین کارتنوئیدها و یک آنزیم که مسئول پاسخ DNA سلولی است و توپی ایزومراز ۲ نامیده می شود مخصوصا که مهار استخراجی اثر مستقیم بر ساخت DNA نیست، بر اثر متابولیتیک ها ایجاد می شود. مکانیسم پیشنهادی چهارم این است که عصاره زعفران اثرش را از طریق آپوپتوز سلولی اعمال می کند که یک نوع برنامه ریزی شده مرگ سلولی است. حلالیت کارتنوئیدها در آب علت قدرت آنها می باشد. زعفران حل شده در آب کروسین نامیده می شود که این خصوصیت را به علت ساختار گلوکوساید دارد. این پدیده علاوه بر دارا بودن اثر مهار کنندگی بر سلولهای توموری، کارایی زعفران را در معالجه سرطان ارزیابی می کند. مطالعات دیگر نیز نشان دادند که فعالیت مهار کنندگی در استخراج کامل زعفران بیشتر به علت کروسین می باشد. مخصوصا که عناصر تشکیل دهنده کروسین سیتوتوکسیسته خیلی کمی را دارا هستند. گرچه فرضیات متنوعی ارائه شده اند اما هنوز مکانیسم واقعی زعفران و عناصرش- ضد سایتو ژنی و ضد توموری- واضح مشخص نیست. در مطالعه حاضر که در پژوهشکده بوعلی انجام گرفت ثابت شد که در آزمایشگاه و بر رده سلولهای آدنوکارسینوم تا غلظتهای زیر μg/m ۲۰۰۰ ، عصاره تام زعفران تاثیردارد. عصاره تام زعفران همان اثر را بر سلول های طبیعی داشت در حالیکه افزایش رشد سلولی به تنهایی تا μg/ml ۲۰۰ مشاهده شد. از طرفی دیگر دررده سلولی آدنوکارسینوم کولون این عصاره اثری را تا غلظت μg/ml ۲۰۰۰ نداشت. با در نظر گرفتن این نتایج باید توجه داشت که ۱) عصاره تام زعفران در این مطالعه در حالی به کار رفت که زعفران دارای عناصر فراوانی است بنابراین مطالعات بیشتری نیازمند این است که جزئی ساختاری در زعفران یافت شود که نقش اساسی در این فرآیند داشته باشد. ۲) با توجه به مطالعه بر رده سلولی سرطان کولون (HT125)، و تکرار سه بار تست و

[1]Neyer

با در نظر گرفتن طبیعت سلولهای روده بزرگ، لذا غلظت های بالاتر از ۲۰۰۰ μg/ml باید مد نظر قرار گیرند. ۳) این مطالعه در محیط کشت سلولی و در آزمایشگاه (برون تنی) انجام گرفت، برای عمومیت دادن نتایج به انسان، عناصر اساسی باید به طور کامل بر حیوانات آزمایشگاهی در مطالعات مشابه بررسی شوند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه دلالت بر این دارد که عصاره زعفران ممکن است به صورت طبیعی بر روی رشد یا پیشرفت تومور اثر مهاری داشته باشد و شاید بتواند در شیمی پیشگیری از سرطان نقشی ایفا کند که نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه می باشد.

تشکر قدردانی

نویسندگان از پرسنل پژوهشکده بوعلی به خاطر کمک های بی دریغشان در فرآیند آنالیزهای آزمایشگاهی تقدیر می کنند. همچنین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد برای حمایت مالی این تحقیق قدردانی می شود.

References:

1.Abdullaev FI, Riverón-Negrete L, Caballero-Ortega H, Manuel Hernández J, Pérez-López I, Pereda-Miranda R, *et al*. Use of *in vitro* assays to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (Crocus sativus L.). Toxicol In Vitro 2003; 17:731-736.

2.Aung HH, Wang CZ, Ni M, Fishbein A, Mehendale SR, Xie JT, *et al.* Crocin from Crocus sativus possesses significant anti-proliferation effects on human colorectal cancer cells. Exp Oncol 2007; 29:175-180.

3.Tavakkol-Afshari J, Brook A, Mousavi SH. Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. Food Chem Toxicol 2008; 46:3443-3447.

4. Harrison's.Principles of Internal Medcine. 16 th ed. Braunwald, Eugene; 2005.

5. Abdullaev FI. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (Crocus sativus L.) Exp Biol Med 2002; 227:20-25.

6. Abdullaev FI, Frenkel GD. The effect of saffron on intracellular DNA, RNA and protein synthesis in malignant and non-malignant human cells. Biofactors 1992; 4:43-45.

7. Onrust S, Lamb H. Valrubicin. Drugs Aging 1999; 15:69-75.

8. Habs M, Schmahal D. Diet and cancer. J Cancer Res Clin Oncol 1980; 96:2-8.

9. Cummings K, Barone J, Ward W. Diagnosis and staging bladder cancer. Urol Clin North Am 1992; 19:455-465.

10. Abdullaev FI, MacVicar C, Frenkel GD. Inhibition by selenium of DNA and RNA synthesis in normal and malignant human cells *in vitro*. Cancer lett 1992; 65:43-49.

11.Nair SC, Kurumboor SK, Hasegawa JH. Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. Cancer Biother 1995; 10:257-264.

12. Junqueira L. Basic histology.8th ed. Washington DC: Medtech;1995.

13. Abdullaev FI. Inhibitory effect of crocetin on intracellular nucleic acid and protein synthesis in malignant cells. Toxicol Lett 1994; 70:243-251

14. Dufresene C, Comrmier F, Dorion S. *In vitro* formation of crocetin glucosylesters by crocus sativus extract. Planta Med 1997; 63:150-153.