مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت) دوره ۸ شماره ۵ آذر و دی ۱۳۹۳، ۴۲۶-۴۱۵

مقاله پژوهشی

اثر عصاره‌ی گیاه یونجه بر سرطان پستان: یک مطالعه آزمایشگاهی

سید مجید حسینی آغوزی[۱]، دکتر فریبا نباتچیان[۲]، علیرضا مردادی[۳]، فاطمه خداوردی[۱]

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایعترین نوع سرطان در میان زنان است. ایزوفلاون‌ها زیرمجموعه‌ای از فیتواستروژن‌ها هستند که دارای خواصی شبیه استروژن پستانداران می‌باشند. گیاه یونجه دارای ایزوفلاون بالایی است. هدف مطالعه‌ی حاضر تعیین اثر ایزوفلاون‌های گیاه یونجه روی سرطان پستان و پروفیل لیپید در این بیماران است.

روش بررسی: ۳۰ رأس موش آزمایشگاهی BALB-C انتخاب و به چهار گروه دسته‌بندی شدند. گروه اول و دوم به روش کاشت سلولی به سرطان پستان مبتلا گشتند. گروه سوم و چهارم سالم ماندند. عصاره‌ی یونجه به روش تقطیر در خلأ تهیه شد و گروه‌های اول و سوم عصاره‌ی یونجه را دریافت نمودند. گروه دوم و چهارم(شاهد) هیچ دارویی دریافت نکردند. بعد از ۶ هفته از خون تمامی موش‌ها سرم تهیه گردید. غلظت استرادیول، LDL- کلسترول، HDL - کلسترول و کلسترول تام در سرم اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری داده‌ها با آزمون t-student و برنامه آماری Graphpad انجام شد. سطح معنی‌داری برابر P=۰/۰۵ بود.

یافته‌ها: میزان استرادیول در گروه اول نسبت به دوم کاهش معنی‌داری پیدا کرد(P=۰/۰۰). میزان کلسترول تام در گروه اول نسبت به دوم کاهش معنی‌داری پیدا نمود(P=۰/۰۰). LDL- کلسترول در گروه اول نسبت به دوم کاهش معنی‌داری نشان داد(P=۰/۰۰). HDL- کلسترول در گروه اول نسبت به دوم افزایش نشان داد که این مقدار، معنی‌دار نبود(P=۰/۰۹).

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی یونجه با اثر بر روی میزان استرادیول و پروفیل لیپید در موشهای مبتلا به سرطان پستان می‌تواند در بهبود شرایط بیماری مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، یونجه، ایزوفلاوین

* نویسنده مسئول :
دکتر فریبا نباتچیان ؛
دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
Email :
Nabatchi@tums.ac.ir

- دریافت مقاله : تیر ۱۳۹۳ پذیرش مقاله : مهر ۱۳۹۳

مقدمه

سرطان پستان شایعترین نوع سرطان در میان زنان با تخمین ۱/۳۸ میلیون مورد جدید در سال ۲۰۰۸(۲۳٪ تمام انواع سرطان) و رتبه دوم کل(۱۰/۹٪ تمام سرطان‌ها) به شمار می‌آید.

به تازگی مشخص شده است که شیوع سرطان پستان در کشورهای توسعه یافته و توسعه نیافته با حدود ۶۹۰.۰۰۰ مورد جدید در هر ناحیه(نسبت جمعیتی ۴ : ۱)، می‌باشد. شدت‌های شیوع از ۱۹/۳ در ۱۰۰.۰۰۰ زن در آفریقای شرقی تا ۸۹/۷ در ۱۰۰.۰۰۰ زن در اروپای غربی و با شیوع بالاتر در نواحی توسعه یافته‌ی جهان(به جز ژاپن) و شیوع پایین(کمتر از ۴۰ در ۱۰۰.۰۰۰ زن) در اغلب نواحی در حال توسعه، متفاوت است. شیوع بالای سرطان در نواحی

[۱] دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲] استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

جغرافیایی معین، نقش فاکتورهای خطر محیطی را در پاتوژنز سرطان پستان نشان می‌دهد(۱). بخشی از این افزایش شیوع را می‌توان به تغییر در الگوی تولید مثل مانند: باروری با تأخیر و داشتن تعداد فرزند کمتر نسبت داد(۲). اگرچه افزایش شیوع آن در ایران در ۴ دهه ی اخیر، میزان کمتری نسبت به سایر کشورها داشته اما هنوز هم از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در زنان ایرانی به شمار می‌آید(۳).

بافت پستان به طور عمده توسط هورمون‌های جنسی استروژن و پروژسترون تنظیم می‌شود و تکثیر سلول‌های اپی تلیال پستان به طور گسترده به عنوان نشانگر مواجهه با هورمون یا اثرات‌آن مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آنجا که اثرات شبه استروژنیک ایزوفلاون‌ها(Isoflavones) مورد توجه است. دانستن رابطه ی بین استروژن و سرطان پستان می‌تواند سبب ایجاد یک چشم‌انداز مناسب در این زمینه شود (۵و۴). ایزوفلاونها، زیر مجموعه‌ای از استروژن‌ها می‌باشند. فیتواستروژن‌ها ترکیبات طبیعی هستند که در گیاهان یافت می‌شوند. ایزوفلاون‌ها، کومستان‌ها(Comstans) و لیگنان‌ها(Lignans) سه زیرمجموعه‌ی مهم فیتو استروژن‌ها به حساب می‌آیند.

ایزوفلاون‌ها که بیش از دیگر فیتواستروژن‌ها مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، دارای خواصی شبیه استروژن پستانداران به حساب می‌آیند(۶). ایزوفلاون‌ها به مقادیر زیاد در سویا و فرآورده‌های آن و همچنین در گیاه یونجه(Alfalfa) یافت می‌شوند. گیاه یونجه از جمله گیاهانی است که بیشترین مطالعه روی آنها انجام گرفته است و ترکیبات شیمیایی آن مشخص هستند که از جمله آنها، فلاون‌ها(Flavones) و ایزوفلاون‌ها می‌باشند. ایزوفلاون‌های گیاه یونجه شامل: تریسین(Tricin)، جنیستئین(Genistein)، دیادزئین(Diadzein)، بیوکانین A، فرمونونتین (Formononetin) و ′۵-متوکسی ساتیوان (5′-methoxysativan)، مشتقات کومارین کومسترول(Coumestrol)، مدیکاگُل(Medicagol)، ساتیول(Sativol)، تری فولیول(Trifoliol)، لوسرنول(Lucernol) و دافنورتین(Daphnoretin)] و پکتین متیل استراز است(۷).

سطوح پلاسمایی ایزوفلاون‌ها در افراد آسیایی حدوداً ۵۰۰ نانومول در لیتر در حالت ناشتا می‌باشد و نیمه عمر آنها حدود ۹-۶ ساعت است. عمده ایزوفلاون‌ها در پلاسما به صورت فرم متصل به اسید گلوکورونیک بوده و تنها ۳٪ به صورت آزاد در پلاسما در گردش است.

ایزوفلاون‌ها هنگام هضم و جذب در بدن انسان و حیوانات به فرم فعال در می‌آیند. این تبدیل توسط باکتری‌های موجود در روده کوچک انجام می‌شود. سپس فرم فعال شده‌ی ایزوفلاون‌ها از روده کوچک جذب می‌شود و عمده آن پس از ورود به بدن توسط کبد برداشت می‌شود و مقدار کمی از آن توسط کلیه از طریق ادرار دفع می‌شود(۱۰-۸).

فیتوستروژن‌ها به لحاظ ساختمانی و عملکردی مشابه با ۱۷β-استرادیول می‌باشند. فیتوستروژن‌ها در جریان خون، به گیرنده استروژنی متصل می‌شوند. این اتصال در مقایسه با استروژن آندوژن بدن، کمتر است. در هر حال این ترکیبات قادر به تولید اثرات استروژنی هستند. نقش ایزوفلاوین در درمان سرطان، به ویژه تومورهای تحت کنترل غدد درون ریز(پستان و پروستات)، محافظت در برابر سرطان سینه است، اما اینکه آنها به عنوان استروژن عمل می‌کنند یا ضد استروژن، هنوز مشخص نشده است(۱۱). با درنظر گرفتن اینکه گیاه یونجه دارای محتوای ایزوفلاون بالایی است(۱۳و۱۲)، هدف مطالعه‌ی حاضر تعیین و تخمین اثرات ایزوفلاون‌های یونجه روی میزان لیپید

در جانداران مبتلا به سرطان سینه است.

روش بررسی

این تحقیق یک مطالعه‌ی بنیادی است که در آن از ۳۰ رأس موش آزمایشگاهی BALB/C در محدوده وزن ۲±۱۷ گرم به عنوان مدل حیوانی استفاده گردید. موش‌ها از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور کرج تهیه شد. دمای محل نگهداری حیوانات در شرایط ۲۳±۲°C و محدوده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود و موش‌ها از غذای فشرده مخصوص جوندگان(ساخت شرکت دام پارس تهران) تغذیه شدند. این موش‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه دسته بندی شدند: گروه بیمار و دریافت کننده‌ی دارو(۱۰ موش)، گروه بیمار بدون دریافت دارو(۱۰ موش)، گروه کنترل دریافت کننده‌ی دارو(۷ موش) و گروه کنترل بدون دریافت دارو(۳ موش). گروه اول و دوم به روش کاشت سلولی (Cell Implant)(۱۴)، به بیماری سرطان پستان مبتلا شدند. در این روش یک موش BALB/C مبتلا به سرطان سینه انتخاب شد و پس از تأیید موش توموری و مدل سرطان خودبخودی(Spontaneous) پستان، تومور به صورت استریل از بدن موش مذکور خارج شده و داخل سرم فیزیولوژی استریل قرار داده شد. تومور در داخل سرم به قطعات به اندازه ۳ میلی‌متر مکعب تقسیم شد. پس از آنکه موش‌های گروه اول و دوم با تزریق داخل صفاقی داروی بیهوشی محلول کتامین(با میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گزیلین(با میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند، قطعات آماده شده تومور با روش جراحی در زیر پوست ناحیه فلانک(Flank) چپ موش پیوند شد و عمل جراحی با کلیپس مخصوص بخیه زده شد(۱۵). ۱۰ روز بعد از پیوند، رشد تومورها قابل لمس بود. به گروه اول(بیمار و دریافت کننده دارو) و گروه سوم(کنترل و دریافت کننده دارو) روزانه ۰/۱ میلی لیتر عصاره گیاه یونجه تزریق گردید. تزریق از نوع صفاقی و به مدت ۶ هفته(تزریق روزانه) ادامه یافت.

برای تهیه‌ی عصاره‌ی گیاه یونجه، ابتدا گیاه یونجه از باغ دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران تهیه شد. این گیاه به مدت ۷۲ ساعت جهت خشک شدن در معرض نور و جریان هوا قرار گرفت. سپس برگ و گل گیاه توسط آسیاب در آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران به صورت پودر درآمد. پودر گیاه به مدت ۴۸ ساعت در اتانول ۷۰٪ خیسانده شد. در این مدت ۳ بار اتانول ۷۰٪ تجدید گردید. بعد از این مرحله عصاره‌ی گیاه توسط دستگاه تقطیر به روش تقطیر در خلأ(۱۶) در آزمایشگاه شیمی تجزیه‌ی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران گرفته شد.

این عصاره به مدت ۶ هفته به موش‌های گروه اول و سوم به طور روزانه تزریق گردید. پس از این مدت، ۳ میلی لیتر خون از قلب موش‌ها به وسیله‌ی سرنگ ۵ میلی لیتری تهیه شد. سرم موش‌های مذکور با استفاده از سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا گردید و جهت انجام آزمایش در فریزر ۲۰°C- نگهداری شد.

میزان غلظت کلسترول تام بر مبنای هیدرولیز استرهای کلسترول توسط آنزیم‌ها و اندازه‌گیری کلسترول آزاد شده به صورت زیر اندازه‌گیری گردید و جذب نوری محصول رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید:

استرهای کلسترول $\xrightarrow{\text{کلسترول استراز}}$ اسیدهای چرب + کلسترول

کلسترول + O_2 $\xrightarrow{\text{کلسترول اکسیداز}}$ کلستنون + H_2O_2

H_2O_2 + ۴- آمینو آنتی پیرین $\xrightarrow{\text{پرأکسیداز}}$ Quinoneimine dye+2H20

میزان LDL - کلسترول با استفاده از روش مستقیم اندازه‌گیری شد. در این روش نیاز به آماده سازی

نمونــه نیســت. نمونــه مســتقیماً و در ۲ مرحلــه در مجاورت معرف‌ها قرار می‌گیرد.

$$\text{شیلومیکرون / VLDL/HDL-Cholesterol} \xrightarrow{\text{کلسترول اکسیداز}} \text{کلستنون} + H_2O_2$$

$$\text{کلسترول - LDL} \xrightarrow{\text{کلسترول اکسیداز}} \text{کلستنون} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{۴-آمینو آنتی پیرین} \xrightarrow{\text{پر اکسیداز}} \text{کمپلکس آبی} + 3H_2O$$

جذب نوری محصول رنگـی در طـول مـوج ۵۴۶ نانومتر قرائـت گردیـد. میـزان HDL – کلسـترول بـا استفاده از روش مستقیم اندازه‌گیری شد. جذب نوری محصول رنگـی در طـول مـوج ۶۰۰ نـانومتر قرائـت گردید. هر سـه پـارامتر بـا اسـتفاده از کیـت شـرکت زیست شیمی اندازه‌گیری شد.

استرادیول با استفاده از کیـت DRG-Estradiol ELISA (DRG Instruments GmbH, Germany) (Cat. No. EIA-2693) اندازه‌گیری شد. این کیت براسـاس روش ELISA بـا فاز جامد و بر طبق اتصـال رقـابتی عمـل مـی‌نمایـد. دیـواره‌ی چاهـک بـا یـک آنتـی بـادی پلـی کلونـال خرگـوش پوشـیده شـده اسـت. نمونـه‌ی اسـترادیول آندوژن حیوان بـا اسـترادیول کونژوگـه بـرای اتصـال به‌آنتی بادی پوشـانده شـده رقابـت مـی‌کنـد. بعـد از افزودن سوبسترا، شـدت رنـگ ایجـاد شـده بـه طـور معکوس متناسب با غلظت استرادیول در نمونه خواهد بود(۱۸و۱۷).

یافته‌ها

میـــزان کلســـترول، لیپـــوپروتئین بـــا دانســـیته زیـاد(HDL)، لیپـوپروتئین بـا دانسـیته کـم(LDL) و استرادیول موش‌ها در ۴ گروه به صورت زیر بررسـی شدند:

گروه اول: تعداد ۱۰ موش که با کاشت سلولی بـه سرطان مبتلا گشته بودند و به مدت ۶ هفتـه بـه طـور روزانه ۵۰ میلی گرم عصاره‌ی یونجـه را بـه صـورت تزریق صفاقی دریافت نمودند.

گروه دوم: تعداد ۱۰ موش که با کاشت سلولی بـه سـرطان مبـتلا شـده امـا عصـاره‌ی یونجـه و ترکیـب دارویی دیگری دریافت نکردند.

گروه سوم: تعـداد ۷ مـوش کـه بـه عنـوان گـروه دارونما به مدت ۶ هفته روزانه ۵۰ میلی گرم عصاره‌ی یونجه را به صورت تزریق صفاقی دریافت نمودند.

گروه چهارم: تعداد ۳ موش کـه بـه عنـوان گـروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند.

در گروه اول، دو موش در روزهـای اول و پـنجم بعد از پیونـد بـر اثـر نپـذیرفتن پیونـد از بـین رفتنـد. همچنین در گروه دوم نیز یک موش در روز چهارم و یک موش در روز پانزدهم از بین رفت.

جدول ۱: میزان تغییرات استرادیول در گروه‌های مختلف بعد از ۶ هفته

	استرادیول (pg/ml)				
	گروه چهارم	گروه سوم	گروه دوم	گروه اول	
	۲۳/۵۵	۲۲/۹۷	۳۰/۵	۳۰/۱۴	
	۱۵/۷۹	۲۶/۰۸	۳۱/۰۱	۲۸/۳۳	
P=۰/۰۰	۲۱/۴۵	۲۴/۷۱	۲۹/۱۳	۲۱/۷۳	
		۲۵/۴۹	۲۷/۳۱	۲۰/۷۹	
		۲۸/۵۸	۳۱/۳	۱۹/۴۹	
t=۰/۰۱					
		۲۱/۷۶	۳۰/۵۷	۲۹/۵۶	
		۲۳/۵۴	۳۰/۲۱	۲۷/۶۸	
			۳۰/۸۶	۲۷/۳۹	
	۳	۷	۸	۸	تعداد

با توجه به جدول بالا، اختلاف میانگین‌های گروه‌های اول و دوم معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۲: میزان تغییرات کلسترول در گروه‌های مختلف بعد از ۶ هفته

	کلسترول تام (mg/dl)			
	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم	گروه چهارم
	۱۶۷/۲	۲۳۱/۲	۱۶۶/۴	۱۱۲/۸
	۱۶۹/۶	۲۱۲	۱۶۳/۲	۱۲۶/۴
P=۰/۰۰	۹۶	۲۸۵/۶	۲۱۹/۲	۱۴۷/۲
	۱۰۸	۲۹۷/۶	۱۹۲/۴	
	۲۰۸/۸	۲۵۰/۴	۱۳۶	
	۱۲۸/۸	۲۵۶/۶	۱۶۲/۴	
t=۰/۰۱	۱۷۴/۴	۲۲۹/۶	۱۲۶/۴	
	۱۲۵/۶	۲۳۶		
تعداد	۸	۸	۷	۳

جدول بالا نشان می‌دهد اختلاف میانگین‌های گروه‌های اول و دوم معنی‌دار است.

جدول ۳: میزان تغییرات LDL - کلسترول در گروه‌های مختلف بعد از ۶ هفته

	میزان LDL اندازه گیری شده (mg/dl)			
	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم	گروه چهارم
	۱۶۱/۱۱	۲۳۴/۷۶	۱۲۷/۷۸	۱۱۷/۵۶
	۱۳۴/۴۱	۱۴۲/۷	۱۱۹/۶۸	۱۳۷/۸۷
P=۰/۰۰	۱۳۸/۱	۱۶۴/۵۳	۱۳۸/۰۵	۱۱۸/۳۸
	۱۰۵/۸۷	۲۳۹/۳۷	۱۲۸/۸۹	
	۱۰۳/۳۶	۲۷۶/۱۹	۱۷۴/۹۲	
	۱۴۲/۶۹	۱۸۳/۳۶	۱۲۴/۹۵	
t=۰/۰۰۱	۱۱۵/۰۸	۱۹۲/۳۵	۱۴۲/۲۲	
	۱۲۹/۷۵	۱۷۴/۸۱		
تعداد	۸		۷	۳

همانگونه که در جدول بالا دیده می‌شود اختلاف میانگین‌های گروه‌های اول و دوم معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۴: میزان تغییرات HDL-کلسترول در گروه‌های مختلف بعد از ۶ هفته

	میزان HDL اندازه گیری شده (mg/dl)			
	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم	گروه چهارم
	۶۶/۸۶	۵۳/۹۲	۳۰/۱۹	۳۵/۵
	۴۵/۲۹	۴۷/۴۵	۲۸/۰۳	۵۱/۷۶
	۵۸/۲۳	۶۹/۰۱	۷۷/۶۴	۴۷/۴۵
	۸۴/۱۹	۷۵/۴۹	۳۶/۶۶	
	۹۰/۵۸	۴۰/۹۸	۴۷/۴۵	
	۶۹/۰۱	۶۰/۳۹	۸۱/۹۶	
	۵۶/۰۸	۴۹/۶	۴۰/۱۸	
	۷۶/۶۴	۳۴/۵		
تعداد	۸	۸	۷	۳

P=۰/۰۹

t=۰/۳

همانگونه که در جدول بالا مشخص است اختلاف میانگین‌های گروه‌های اول و دوم معنی‌دار نیست.

براساس آزمون T-test ، تفاوت میان اختلاف میانگین‌های استرادیول گروه اول و دوم برابر ۱/۵۷۴ ± ۴/۴۷۳- است. این اختلاف در میزان استرادیول دو گروه معنی‌دار است(P= ۰/۰۰). نتیجه T-test گروه‌های اول و دوم برابر با ۰/۰۱ می‌باشد. اختلاف میانگین‌های کلسترول تام گروه‌های اول و دوم برابر با ۱۷/۲۱±۱۰۳/۷- می‌باشد. این اختلاف نشان می‌دهد میزان کلسترول تام دو گروه معنی‌دار است(P= ۰/۰۰). همچنین اختلاف میانگین‌های لیپوپروتئین با دانسیته پایین(LDL- کلسترول) گروه اول و دوم برابر با ۱۷/۳۱±۷۲/۲۱- است. این اختلاف در میزان LDL- کلسترول معنی‌دار است(P= ۰/۰۰۱). میزان T-test در گروه‌های اول و دوم برابر با ۰/۰۰۱ می‌باشد. اختلاف میانگین‌های لیپوپروتئین با دانسیته بالا(HDL- کلسترول) گروه اول و دوم برابر با ۷/۲۴۷±۱۴/۴۴ می‌باشد. همانطور که در جدول ۴ دیده می‌شود، افزایش HDL- کلسترول در گروه اول حادث شده است اما این اختلاف معنی‌دار نیست(P= ۰/۰۹). همچنین T-test گروه‌های اول و دوم برابر با ۰/۳ است.

بحث

در ایران سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در مقایسه با زنان جهان و دومین سرطان مهلک در زنان بعد از سرطان ریه می‌باشد. میزان بروز این بیماری به سرعت در حال افزایش است، بخشی از این افزایش را می‌توان به تغییر در الگوی تولیدمثل مانند: باروری با تأخیر و داشتن فرزندان کمتر نسبت داد(۲۰و۱۹). مجموع مبتلایان به سرطان پستان در ایران ۴۰ هزار نفر است و سالیانه بیش از هفت هزار بیمار نیز به این تعداد افزوده می‌شود(۳).

بسیاری از عوامل خطر اپیدمیولوژی عمده سرطان پستان به مواجهه با استروژن درونزاد وابسته‌اند. به

طور مثال، مواجهه‌ی طولانی‌تر با استروژن درونزاد در طول دوره‌ی زندگی که در شرایطی مانند یائسگی دیررس یا قاعدگی زودرس اتفاق می‌افتد، سبب افزایش خطر سرطان پستان می‌شود(۲۳-۲۱). از سوی دیگر برداشت تخمدان قبل از یائسگی سبب کاهش خطر سرطان پستان می‌شود(۲۴).

ایزوفلاوین‌ها، ترکیبات فعال بیولوژیکی هستند که به طور طبیعی در مواد غذایی با منشأ گیاهی وجوددارند. ایزوفلاوین‌ها دارای ساختار و عملکرد مشابه ۱۷-بتا استرادیول هستند و قادر به تولید اثرات استروژنی می‌باشند(۲۵). این مواد به دلیل خواص دارویی بالای خود از جمله پیشگیری و درمان سرطان، بیماری‌های قلبی و همچنین پوکی استخوان و کمک به رفع علائم یائسگی در کانون توجهات قرارگرفته‌اند(۲۶).

ایزوفلاوین‌ها مانند یک هورمون استروژنی عمل می‌نمایند و با اشغال گیرنده‌های استروژنی می‌توانند باعث تغییر رونویسی ژن یا سیگنالینگ مسیر سلولی شوند و یا به طور مستقل از گیرنده‌ی استروژنی عمل کنند. از آنجایی که وجود رسپتورهای استروژن در پاسخ به درمان و پیش آگهی سرطان پستان مؤثر می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد تا تأثیرات ثانویه و عوارض احتمالی عوامل ضدسرطانی گیاهان مورد مطالعه و تحقیق بیشتری قرار گیرد. طبق بررسی‌های انجام شده تاکنون مطالعه‌ای بر روی عصاره‌ی یونجه در راستای بهبود سرطان صورت نگرفته است.

در مطالعه‌ی Terzic و همکاران و همچنین مطالعات دیگر روی شبدر قرمز(Red Clover) که بین کاهش خطر بروز سرطان سینه و همچنین بدخیمی آندومتر رحمی صورت گرفته، مشاهده شده است که اگر این استروژن‌ها به بیماران بدون هسیترکتومی(برداشتن رحم) تجویز شود، علیرغم هورمون درمانی مرسوم (Hormone Replacement Therapy) (HRT)، هماهنگی بین مصرف بالای فیتوستروژن‌ها و ریسک پایین سرطان سینه و رحم دیده می‌شود(۲۹-۲۷و۱۳). این اثر به وسیله‌ی اتصال فیتوستروژن‌های ویژه به گیرنده‌ی استروژن توجیه‌پذیر است. دو نوع گیرنده‌ی استروژن (Estrogen Receptor) (ER) درون سلولی وجود دارد: گیرنده‌ی استروژن α (ERα) و گیرنده‌ی استروژن β (ERβ).

فیتوستروژن‌ها به طور ضعیفی به گیرنده‌های ERα و به طرز محکمی به گیرنده‌های ERβ وصل می‌شوند و دارای اثرات ویژه اندام(Organ - Specific) و ضد استروژنی هستند، به این ترتیب که در بعضی از بافت‌ها دارای اثرات آگونیستی و در بعضی دیگر دارای اثرات آنتاگونیستی می‌باشند. گیرنده‌های ERβ در دیوارهٔ عروق و سلول‌های استخوانی جای دارند، در حالی‌که گیرنده‌های ERα در آندومتر و بافت پستانی یافت می‌شوند. بنابراین، زنانی که فیتوستروژن‌ها را دریافت می‌کنند، دو نوع بهره می‌برند؛ اول با افزایش HDL – کلسترول روبرو می‌شوند و ثانیاً تنظیم کاهشی(Down regulation) گیرنده‌ی ERα به دلیل فیتوستروژن‌های متصل شده به گیرنده‌های ERβ(۳۲-۳۰)، در آنها دیده می‌شود. به این ترتیب اثرات مطلوب فیتوستروژن‌ها روی لیپیدهای سرم مورد تأیید قرار می‌گیرد.

مطالعات نشان می‌دهند که اثرات بیولوژیکی ایزوفلاون‌ها بستگی به منبع آنها دارد. ایزوفلاون‌های مشتق از Cohosh سیاه پتانسیل ضعیفی برای برطرف ساختن علائم منوپوز دارد و همچنین تأثیر ضعیفی روی لیپیدهای خون اعمال می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که ایزوفلاون‌های مشتق از شبدر قرمز، دارای اثرات بیولوژیکی مفیدی هستند(۳۳). این مشتقات

دارای تأثیر مثبت روی سطوح چربی در خانم‌های منوپوز می‌باشند. در عین حال، Tomar و همکار نشان داده‌اند که ایزوفلاوین موجود در شبدر قرمز، استروژن ضعیفی است که به تنهایی قادر به پیشگیری از سرطان پستان نیست(۳۴). Engelhardt و همکار نشان داده‌اند که مصرف روزانه ۶۰ میلی گرم ایزوفلاوین استخراج شده از شبدر قرمز علاوه بر خواص درمانی هیچ‌گونه عارضه‌ی جانبی در پی ندارد(۳۵). Chedraui و همکاران نیز نشان داده‌اند که ایزوفلاوین مشتق شده از شبدر قرمز گزینه‌ی درمانی مناسبی برای افراد مستعد از جمله زنان بعد از یائسگی(منوپوز) است که از تولید لیپیدها و افزایش توده بدن جلوگیری می‌نماید(۳۶).

عسگری و همکاران گزارش کردند که استفاده از رژیم غذایی شبدر قرمز در خرگوش‌های با چربی خون بالا، می‌تواند به عنوان کاهنده‌ی تری گلیسرید، کلسترول تام و LDL معرفی شود، در حالی که این امر افزاینده‌ی HDL می‌باشد(۳۷).

Khan و همکاران نشان داده‌اند که مکمل‌های دارای ایزوفلاون سویا، تکثیر سلولی در سرطان سینه را کاهش نمی‌دهد(۳۸). همچنین مطالعه دیگر مشخص کرد که مصرف غذای دارای سویا، خطر برگشت سرطان یا مرگ را افزایش نخواهد داد(۳۹).

در مطالعه‌ی حاضر، این اثرات به وسیله‌ی عصاره‌ی گیاه یونجه مورد بررسی قرار گرفت. گیاه یونجه(Alfalfa) دارای تعداد قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات ایزوفلاون است که شامل: تریسین، جنیستئین، دیادزئین، بیوکائین A، فرمونونتئین و ۵′ – متوکسی ساتیوان، مشتقات کومارین مانند: کومسترول، مدیکاگل، ساتیول است.

تحقیق حاضر نیز نشان می‌دهد که موش‌های بیمار مبتلا به سرطان پستان که عصاره‌ی گیاه یونجه را دریافت نموده‌اند به دلیل داشتن ترکیبات ایزوفلاون از میزان استرادیول پایین‌تری برخوردار هستند که این میزان در مقایسه با گروه دوم که عصاره‌ی گیاه یونجه را دریافت نکرده‌اند دارای اختلاف معنی‌دار است(P= ۰/۰۰). تأثیر معنی‌دار عصاره‌ی گیاه یونجه بر کاهش میزان استرادیول در موش‌های بیمار با نتیجه‌ی تحقیق Terzic و همکاران(۱۳)، Glazier و همکار(۲۷) و Tomar و همکار(۳۴) مطابقت دارد و آن اثرات را به وسیله‌ی عصاره‌ی گیاه یونجه کسب می‌نماید.

Terzic و همکاران نشان دادند که تجویز ایزوفلاون‌های شبدر قرمز باعث کاهش کلسترول تام در خانم‌های بعد از دوره یائسگی(منوپوز) می‌گردد(۱۳). مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که عصاره‌ی گیاه یونجه باعث کاهش کلسترول تام در موش‌های گروه اول که عصاره را دریافت نموده‌اند نسبت به گروه دوم که عصاره را دریافت نکرده‌اند، شده است که این اختلاف معنی‌دار می‌باشد(P= ۰/۰۰).

تحقیق حاضر نشان می‌دهد که عصاره‌ی گیاه یونجه روی مقادیر لیپید و مشتقات آن تأثیر معنی‌دار دارد. این عصاره به طور معنی‌دار میزان کلسترول تام و LDL– کلسترول را کاهش داده است. این نتایج با مطالعات De Klejn و همکاران(۳۳)، Chedraui و همکاران(۳۶) و عسگری و همکاران(۳۷) مطابقت دارد و همان اثرات شبدر قرمز را به وسیله‌ی عصاره‌ی گیاه یونجه تأمین می‌نماید. تفاوتی که نتایج تحقیق پژوهش حاضر با تحقیق گروه عسگری وجود دارد در این است که در مطالعه حاضر، عصاره گیاه یونجه باعث افزایش معنی‌دار HDL– کلسترول نشده است.

Kamal Eldin و همکاران نشان داده‌اند که کلسترول تام و LDL– کلسترول به طور معنی‌داری در

بیمار مبتلا به سرطان پستان افزایش می‌یابد، در حالی که مقادیر HDL- کلسترول تغییر چندانی نمی‌کند(۴۰). تحقیق ما در مقایسه با مطالعه Kamal Eldin و همکاران نشان می‌دهد که عصاره گیاه یونجه مانع از افزایش کلسترول تام و LDL- کلسترول در موش مبتلا به سرطان پستان گشته است، اما مطابق همان تحقیق، روی HDL- کلسترول تأثیر چندانی نداشته است.

Yancey و همکاران نشان داده‌اند که مقادیر HDL- کلسترول در این بیماران به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد(۴۱). به این ترتیب اثرات عصاره‌ی گیاه یونجه روی موش‌های مبتلا به سرطان پستان در این تحقیق، مورد بررسی قرار گرفت. این عصاره با اثر بر روی استرادیول و میزان پروفیل لیپید در موش‌های مبتلا به بیماری می‌تواند در بهبود شرایط بیماران مفید باشد.

نتیجه‌گیری

عصاره‌ی گیاه یونجه برای اولین بار در ایران مورد مطالعه قرار گرفته است. لذا این عصاره باید به لحاظ تأثیرات دارویی و اثرات جانبی آن بر روی بیماران مورد مطالعه فارماکولوژیک قرار گیرد. در صورت عدم ممانعت دارویی، مورد استفاده بیمار واقع گردد.

اگر چنین شرایطی حاصل آید، این عصاره به دلیل دسترسی آسان به منابع آن، می‌تواند منبع مفیدی برای تهیه‌ی داروهای احتمالی درمان سرطان پستان باشد. همچنین این مطالعه می‌تواند راهگشای بررسی گیاهان دارویی در جهت درمان سرطان پستان واقع شود.

تشکر و قدردانی

مجریان طرح لازم می‌دانند تا بدینوسیله از معاونت و تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران که هزینه‌های طرح را فراهم نمودند صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی نمایند. ضمناً این مقاله نتیجه‌ی طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۹۲-۰۱-۳۱-۱۸۸۸۱ می‌باشد.

منابع

1. Kang HB, Zhang YF, Yang JD & Lu KL. Study on soy isoflavone consumption and risk of breast cancer and survival. Asian Pac J Cancer Prev 2012; 13(3): 995-8.

2. Goya MM, Alavian SM & Ramezani R. National cancer registration programme. Available at: http://vch.iums.ac.ir/uploads/ncr_guideline.pdf. 2012.

3. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: An epidemiological review. Breast J 2007; 13(4): 383-91.

4. Xu WH, Liu ZB, Yang C, Qin W & Shao ZM. Epxression of Dickkopf-1 and Beta-Catenin related to the prognosis of breast cancer patients with triple negative phenotype. PLoS One 2012; 7(5): 37624.

5. Kimiagar M & Hejazi E. Soy and its isoflavones and breast cancer risk. Pajuhandeh 2011; 16(2): 52-8[Article in Persian].

6. Peeters PH, Keinan Boker L, Van der Schouw YT & Grobbee DE. Phytostrogens and breast cancer risk. Review of the epidemiological evidence. Breast Cancer Res Treat 2003; 77(2): 171-83.

7. Anonymous. Chemical composition of Alfalfa. http://www.answers.com/topic/chemical-composition-of-alfalfa-1. 2010.

8. Cerrato PL. Can plant estrogens help fight cancer? RN 1998; 61(10): 59-60.

9. Adlercruetz H. Phytoestrogens: Epidemiology and a possible role in cancer protection. Environ Health Perspect 1995; 103(7): 103-12.

10. Adlercreutz H & Mazur W. Phyto-oestrogens and western diseases. Ann Med 1997; 29(2): 95-120.

11. Hall WL, Hallun J, Bugel S, Zunft HJ, Ferrari M, Dadd T, et al. Soy-isoflavone-eniched foods and markers of lipid and glucose metabolism in postmenopausal women: Interactions with genotype and equol production. AM J Clin Nutr 2006; 83(3): 592-600.

12. Reinli K & Block G. Phytoestrogen content of foods-a compendioum of literatue values. Nutr Cancer 1996; 26(2): 123-48.

13. Terzic MM, Dotlic J, Maricic S, Mihailovic T & Tosci-Race B. Influence of red clover-derived isoflavones on serum lipid profile in postmenopausal women. J Obstet Gynaecol Res 2009; 35(6): 1091-5.

14. Ghezelbash B, Zahir MH, Ghaderi Pakdel F & Zaare S. Synergistic inhibitory effect of Lactobacillus rhamnosus and cisplatin on proliferation of tumor cells in mice BALB/C with breast cancer. Journal of the Yazd University of Medical Sciences 2011; 19(5): 701-10[Article in Persian].

15. Soltan Dallal MM, Yazdi MH, Zahir MH, Holakooi M, Abedi T, Amin Harati F, et al. Effect of Lactobacillus acidophilus on increasing the efficiency of the immune system and increase the lifespan of mice with breast cancer. Journal of School of Medicine 2009; 67(11): 753-8[Article in Persian].

16. Takasy S, Rashed Mohassel MH & Banayan M. Evaluation of allelopathic potential of aqueous extracts on germination and seedling growth of alfalfa shoots four weed. Journal of Iranian Field Crop Research 2011; 9(1): 60-9[Article in Persian].

17. Gore-Langton RE & Armstrong DT. Folicular stroidogenesis and its control. In: The physiology of reproduction. New York: Ravaen Press; 1988: 331-85.

18. Ratcliff WA, Carter GD, Dowsett M, Hillier SG, Middle JG & Reed MJ. Oestradiol assays: Applications and guidelines for the provision of clinical biochemistry service. Ann Clin Biochem 1988; 25(5): 466-83.

19. Mardani Hamule M & Shahraky Vahed A. The assessment of relationship between mental health and quality of life in cancer patients. Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences 2009; 16(2): 33-8[Article in Persian].

20. Pedram M, Mohammadi M, Naziri GH & Aeinparast N. Effectiveness of cognitive behavioral group therapy on the treatmentof anxiety and depression disorders and on raising hope in women with breast cancer. Journal of Woman & Society 2010; 1(4): 61-75[Article in Persian].

11. Key TJ, Verkasalo PK & Banks E. Epidemiology of breast cancer. Lancet Oncol 2001; 2(3): 133-40.

22. Russo J & Russo IH. The role of estrogen in the initiation of breast cancer. J Steroid Biochem Mol Biol 2006; 102(1-5): 89-96.

23. Chlebowski RT, Anderson GL, Lane DS, Aragaki AK, Rohan T, Yasmeen S, et al. Predicting risk of breast cancer in postmenopausal women by hormone receptor status. J Natl cancer Inst 2007; 99(22): 1695-705.

24. Kauff ND & Barakat RR. Risk-reducing salpingo-oophorectomy in patients with germline mutations in BRCA1 or BRCA2. J Clin Oncol 2007; 25(20): 2921-7.

25. Geller SE & Studee L. Soy and red clover for midlife and aging. Climacteric 2006; 9(4): 245-63.

26. Cooke GM. A review of the animal models used to investigate the health benefits of soy isoflavones. J

AOAC Int 2006; 89(4): 1215-27.

27. Glazier MG & Bowman MA. A review of the evidence for the use of phytoestrogens as a replacement for traditional estrogen replacement therapy. Arch Intern Med 2001; 161(9): 1161-72.

28. Goodman MT, Wilkens LR, Harkin JH, Lyu LC, Wu AH & Kolonel LN. Association of soy and fiber consumption with the risk of erdomentrial cancer. Am J Epidemiol 1997; 146(4): 294-306.

29. Powles TJ, Howell A, Evars DG, Ashley S, Greenhalgh R, Affen J, et al. Red clover isoflavones are safe and well tolerated in women with a family history of breast cancer. Menopause Int 2008; 14(1): 6-12.

30. Rohan TE, Negassa A, Chlebowski RT, Habel L, McTiernan A, Ginsberg M, et al. Conjugated equine estrgen and risk of benign proliferative breast disease: A randomized controlled trial. J Natl Cancer Inst 2008; 100(8): 563-71.

31. Jefferson A. Dietery phytoestrogens a role in women's health. Nutr Food Sci 2003; 33(1): 16-22.

32. Mendelsohn ME & Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. N Engl J Med 1999; 340(1): 1801-11.

33. De Kleijn MJ, Van der schouw YT, Banga JD & Van der Graaf Y. The effect of menopause on risk factors for ischemic diseases. Ned Tijdschr Genneeskd 1996; 140(9): 478-82.

34. Tomar RS & Shiao R. Early life and adult exposure to isoflavones and breast cancer risk. Journal of Environmental Science and Health C 2008; 26(2): 113-73.

35. Engelhardt PF & Riedl CR. Effect of one-year treatment with isoflavone extract from red clover on prostate, liver function, sexual function, and quality of life in men with elevated PSA levels and negative prostate bipsy findings. Urology 2008; 71(2): 185-90.

36. Chedraui P, San Miguel G, Hidalgo L, Morocho N & Ross S. Effect of trifolium pratense derived isoflavones on the lipid profile of postmenopausal women with increased body mass index. Gynecol Endocrinol 2008; 24(11): 620-4.

37. Asgary S, Moshtaghian J, Naderi G, Fatahi Z, Hesseini M & Adibi S. Effects of dietary red clover on blood factors and cardiovasular fatty streak formation in hypercholesterolemic rabbits. Phytother Res 2007; 21(8): 768-70.

38. Khan SA, Chatterton RT, Michel N, Bryk M, Lee O, Ivancic D, et al. Soy isoflavone supplementation for breast cancer risk reduction: A randomized phase II trial. Cancer Prevention Research 2012; 5(2); 309-19.

39. Zine JO. International oncology network-cancer & hematology news. Available at: http://oncozine.com/profiles/comment/list?attachedToType=User&attachedTo=0y27zi17ezlyk&commentId=283029%3AComment%3A361. 2009.

40. Kamal Eldin AA, Ikhlas KH & Isam AS. The role of developing breast cancer in alteration of serum lipid profile. J Res Med Sci 2012 Jun; 17(6): 562-5.

41. Yancey PG, Jerome GW, Yu H, Griffin EE, Cox BE, Babaev VR, et al. Severely altered cholesterol homeostasis in macrophages lacking apoE and SR-BI. J Lipid Res 2007; 48(5): 1140-9.

Evaluation Of Effects Of Alfalfa Extract And Risk Of Breast Cancer

Hosseini Aghoosi Seyed Majid[1](BSc. Student) - Nabatchian Fariba[2](Ph.D)
Mordadi Alireza[3](BSc.) - Khodaverdi Fatemeh[1](BSc. Student)

1 Bachelor of Sciences Student in Medical Laboratory Scinces, School of Allied Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 Assistant Professor, Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3 Master of Sciences Student in Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

Abstract

Received : Jun 2014
Accepted : Oct 2014

*** Corresponding Author:**
Nabatchian F;
E -mail:
Nabatchi@tums.ac.ir

Background and Aim: Breast cancer is the most common type of cancer among women. A subset of isoflavones such as phytoestrogens (plant estrogens) have mammalian estrogen-like properties. Alfalfa has high isoflavone content. The aim of this study was to examine the effect of alfalfa's isoflavones on breast cancer and lipid profile in these patients.

Materials and Methods: Thirty BALB-C mice (17±2 gr weight range) were selected. The rats were divided into four groups. The first and second group triggered to breast cancer by implanting cell lines. The third and fourth groups were healthy. Alfalfa extract was prepared by vacuum distillation.

Groups I and II received extract of alfalfa. Groups II and IV (control) received no treatment. After 6 weeks the blood serum of all mice were prepared. Concentration of estradiol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and total cholesterol were measured.

Statistical analysis was performed by t-student and Graphpad statistical software. The significance level was set at P=0.05.

Results: The level of estradiol, total cholesterol, and LDL-cholesterol decreased significantly in the first group versus the second group (P<0.00 for all). The level of HDL-cholesterol increased insignificantly in the first group when compared to the second group (P=0.09).

Conclusion: Alfalfa extract with effect on esteradiol levels and lipid profile in mice with breast cancer could be useful in improving the patient's condition.

Key words: Breast Cancer, Alfalfa, Isoflavin