



Original Article

Evaluation of the effects of *Moringa oleifera* extract on viability and caspase 3 activity in EL4 lymphoma cell line

Shekarabi Seyedeh Delaram¹; Safi Shahabeddin^{1*}; Mortazavi Pejman¹

1. Department of Pathobiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 2024.11.29

Accepted: 2025.02.04

Revised: 2025.02.02

Published: 2025.10.01

* 0042876508@iau.ac.ir

Abstract

Introduction: Lymphoma is one of the types of malignant cancers in veterinary medicine and has a high prevalence rate in dogs and cats that are involved in weak immune systems. Due to the side effects of chemotherapy drugs, the use of plants with medicinal properties has received much attention from researchers. The *Moringa oleifera* plant has been found to have anti-inflammatory properties. **Objectives:** The purpose of this study was to investigate the toxicity effect of moringa plant extract on the EL4 cell line from murine lymphoma in order to investigate the anticancer effects within the scope of this research. **Materials and methods:** In this study, after preparing *Moringa oleifera* plant powder extract, EL4 cells were exposed to different concentrations of Moringa plant at 24, 48, and 72 hours. The survival rate of cell groups was firstly analyzed by the trypan blue staining method and then by MTT broth cytotoxicity, and the next step was the expression of the caspase-3 gene by the real-time PCR method. Data analysis was done using GraphPad Prism9 software and a one-way ANOVA test. **Results:** Cell line treatment with Moringa plant powder extract in all studied concentrations led to inhibition of cancer cell growth. The highest level of effectiveness was observed at different times and at a concentration of 40 µg/ml, and its IC 50 was above 50%. **Conclusion:** *Moringa oleifera* plant extract, especially at a concentration of 40 µg/ml and a duration of up to 72 hours, can inhibit the growth of EL4 lymphoma cancer.

Keywords: EL4 cell line, caspase 3, *Moringa oleifera*



Authors retain the copyright and full publishing rights.

Published by [Razi Vaccine & Serum Research Institute](#) This article is an open access article licensed under the [Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](#)

مقاله کامل

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

ارزیابی اثرات عصاره گز روغنی (*Moringa oleifera*) بر میزان زندهمانی و فعالیت کاسپاز ۳ در رده سلولی لنفوم EL4

سیده دلارام شکرابی، شهاب الدین صافی^۱، پژمان مرتضوی

۱. گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۱/۱۴ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۷/۰۱



* 0042876508@iau.ac.ir

چکیده

مقدمه: لنفوم یکی از انواع سرطان های بدخیم در دامپزشکی محسوب می شود و میزان شیوع بالایی در سگ سانان و گربه سانانی دارد که درگیر ضعف سیستم ایمنی هستند. به علت عوارض جانبی داروهای شیمی درمانی، امروزه استفاده از گیاهانی با خاصیت دارویی بسیار مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. مشخص شده که گیاه مورینگا ایفرا خواص ضدالتهابی دارد. هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر سمیت عصاره گیاه مورینگا بر رده سلولی EL4 از لنفوم موشی است تا اثرات ضدسرطانی نیز در محدوده این تحقیق بررسی شود.

مواد و روش ها: در این مطالعه پس از تهیه عصاره پودر گیاه مورینگا ایفرا، سلول های رده EL4 با غلظت های مختلفی از گیاه مورینگا در زمان های ۲۷، ۸۴ و ۲۷ ساعت مواجه شدند. میزان زندهمانی گروه های سلولی ابتدا در روش رنگ آمیزی تریپان بلو و سپس سمیت سلولی به روش MTT انجام و در مرحله بعد بیان ژن کاسپاز ۳ به روش Real-Time PCR بررسی شد. تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار گرافپد پریسم 9 و آزمون ANOVA یک طرفه انجام شد.

یافته ها: تیمار رده سلولی با عصاره پودر گیاه مورینگا در تمامی غلظت های مورد مطالعه به مهار رشد سلول های سرطانی منجر شد. بالاترین میزان اثرگذاری در زمان های مختلف و در غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد که میزان IC 50 آن نیز بالای 05% بود. نتیجه گیری: عصاره گیاه مورینگا ایفرا، به ویژه در غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر و مدت زمان تا ۷۲ ساعت می تواند به مهار رشد سلول های سرطانی رده EL4 لنفوم منجر شود.

کلمات کلیدی: رده سلولی EL4، کاسپاز 3، مورینگا ایفرا

۱- مقدمه

ضد توموری گیاه مورینگا ایفرا، به طور کامل شناخته نشده است، اما احتمال می رود که اثرات ضد تکثیر سلولی (آنتی پرولیفراتیو) گیاه در ارتباط با کاهش تولید فاکتور نسخه برداری NF- κ B از طریق افزایش القای پروتئین های I κ B α (پروتئین مهارکننده NF- κ B) باشد. فعالیت زیاد از حد NF- κ B، یکی از سازوکارهای بیماری هایی است که با آپوپتوز یا التهاب همراه اند (۴). همچنین حسب شواهد به دست آمده از مطالعات گذشته، گیاه مورینگا ایفرا، با القای کاسپازها آپوپتوز را فعال می کند (۵). از آنجاکه تاکنون خواص ضدسرطانی گیاه مورینگا ایفرا به طور دقیق بر روی لنفوم رده EL4 بررسی نشده است، در این مطالعه به بررسی اثرات آپوپتوتیک گیاه مورینگا ایفرا بر سرطان لنفوم رده سلولی EL4 پرداختیم.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه عصاره گیاه مورینگا ایفرا

به منظور انجام مطالعه تجربی، گیاه مورینگا ایفرا به صورت پودر گیاه از بندرعباس تهیه شد. برای تهیه عصاره آبی گیاه، ۱۰۰ گرم از پودر در یک لیتر آب مقطر، و برای تهیه عصاره اتانولی گیاه ۲۰۰ گرم از آن در یک لیتر اتانول ۹۶ درصد خیسانده و به مدت ۸۴ ساعت بر روی شیکر حرارتی با دور ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس عصاره ها صاف و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ (Rotary evaporator) حلال اضافی تبخیر و تغلیظ شد و عصاره خالص حاصله، در ظروف شیشه ای در بسته جمع آوری و تا روز شروع کار در یخچال نگهداری شدند (۶).

۲-۱-۱- حل کردن عصاره گیاه و تهیه غلظت های مورد نظر

برای تهیه عصاره اتانولی از ترکیب دی متیل اکسید (DMSO) استفاده شد. از آنجاکه DMSO خود دارای اثرات سمیت سلولی است، برای حذف اثر این ماده بر سلول های تیمار شده، غلظت آن در محلول نهایی ۰/۲ درصد (فاقد سمیت) در نظر گرفته شد. پس از استریل کردن عصاره ها با استفاده از فیلترهای سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر، از عصاره اتانولی، غلظت های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه شد. انتخاب دامنه غلظت های مورد مطالعه، براساس نتایج مطالعه های مشابه صورت گرفت (۶).

مطالعات انجام شده نشان می دهد که بیشتر تومورها به دنبال مجموعه ای از اختلالات ژنتیکی پیش سرطانی پدید می آیند. در واقع با پیشرفت علم امکان بررسی سکانس های ژنومی فراهم شده است. یکی از انواع نئوپلازی، سرطان های خونی مانند لنفوماست که از سلول های رده لنفوئید منشأ می گیرد. در موارد لنفوم مقاومت به داروی شیمی درمانی به وجود می آید، که همین موضوع شانس درمان را کاهش می دهد. با وجود درمان حتی ممکن است بسیاری از بیماران تحت تأثیر عوارض طولانی مدت داروهای شیمی درمانی به مخاطرات جدی گرفتار شوند (۱). بنابراین رویکرد هرروزه و پیش رونده ای در تحقیق روی محوریت طب سنتی در سراسر دنیا آغاز شده است و گیاهان به عنوان داروهای اولیه و اصلی درمان کم کم پا به عرصه وجود می گذارند. داروهای گیاهی بر خلاف داروهای شیمی درمانی ضرر و عوارضی بسیار کمتر از داروهای شیمی درمانی دارند. از طرفی به علت دارا بودن ترکیبات بیولوژیکی فعال، به ویژه آنتی اکسیدان ها می توانند با داروهای شیمی درمانی در تجویز هم زمان کوکتل شوند. این ارتباط و تعامل در مورد گیاهان با خواص آنتی اکسیدانی به مراتب بیشتر است، زیرا آنتی اکسیدان ها می توانند در به حداقل رساندن عوارض شیمی درمانی تأثیر کارآمدی داشته باشند و با تقویت سیستم ایمنی بدن، آسیب اکسیداتیو را کاهش دهند. بیشتر ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان از جمله کاروتنوئید، اسیدهای فنولیک، فلاونوئید و آلکالوئیدها، اثرات مفیدی بر سلامتی و جلوگیری از بدخیمی دارند (۲). یکی از گیاهانی که پتانسیل آنتی اکسیدانی آن ها مشخص شده است، گیاه گز روغنی یا مورینگا ایفرا (Moringa oleifera) است و تمامی قسمت های آن از جمله برگ، ریشه و ساقه دارای ترکیبات ضدسرطانی یافت شده است. مورینگا ایفرا یکی از شناخته شده ترین گیاهان خانواده مورینگاسه است که به علت قدرت بالای آنتی اکسیدانی اش، پتانسیل درمانی آن به طور کامل مشخص شده است. مورینگا ایفرا به علت مقاومت در مناطق خشک و مرطوب و بسیاری از مناطق گرمسیری، و در انواع مختلفی از خاک ها مانند جنوب ایران و به ویژه بندرعباس در ایران قابلیت رشد دارد. از این گیاه در درمان سنتی بسیاری از بیماری های التهابی و عفونی، مشکلات پروستات، عفونت های قارچی، سرطان ها و مانند آن ها استفاده می شود (۳). سازوکار دقیق

۲-۵- سنجش سمیت سلولی

بررسی اثر سمیت سلولی عصاره‌ها با روش آزمون رنگ‌سنجی MTT (Methyl Thiazole Tetrazolium) انجام شد. MTT یک نمک تترازولیوم زردرنگ محلول در آب است. در اثر فعالیت آنزیم‌های سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی که فقط در سلول‌های زنده فعال است، در حلقه MTT شکستی ایجاد شده و بلورهای بنفش‌رنگ فورمازان که توسط DMSO به شکل محلول درآمده، تبدیل و اندازه‌گیری می‌شود. به منظور انجام این آزمایش، تعداد ۲۰۰۰۰ سلول در چاهک پلیت ۹۶ خانه استریل برده شد و با غلظت‌های مختلف دارو تیمار شد. برای هر غلظت، آزمایش سه بار در سه چاهک جداگانه تکرار شد. چاهک‌های کنترل دارو افزوده نشد. از چاهک‌هایی که حاوی غلظت‌های مختلف دارو و محیط کشت بودند (چاهک‌های عاری از سلول) به عنوان بلانک استفاده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت انکوباسیون در انکوباتور، به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در PBS) اضافه و پس از ۴ ساعت انکوباسیون مجدد در انکوباتور، به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق انکوبه شد. جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر و با دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. سپس از جذب نوری خانه‌های تکرار شده برای هر غلظت، میانگین گرفته شد و از میزان جذب چاهک بلانک کم شد و OD هر غلظت به دست آمد. برای تبدیل OD به درصد سلول‌های زنده (Viability) از فرمول آزمایش OD / کنترل OD $\times 100$ استفاده شد (۸).

۲-۶- بررسی میزان بیان ژن‌ها

۲-۶-۱- آزمایش‌های RCP و RCP emiT-laeR برای بررسی بیان

ژن کاسپاز ۳

در این مطالعه به منظور بررسی روند آپوپتوز، از بیان ژن‌های کاسپاز ۳ استفاده شد. شایان ذکر است هریک از نمونه‌ها به صورت ۳ تکراری برای هر ژن سنجش شد. برای استخراج RNA از کیت (Total RNA Extraction-A101231) ساخت کشور انگلستان استفاده شد. RNA استخراج شده توسط کیت (RevertAid First Strand cDNA Thermo cycler) به cDNA تبدیل شد. از دستگاه (CFX96-Real-Time system) برای بررسی بیان ژن‌های مورد نظر

۲-۲- کشت سلولی

در مطالعه حاضر، رده سلولی EL4 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت سلولی RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) غیرفعال شده و ۵۰۰ میکرولیتر آنتی‌بیوتیک (محلول پنی‌سیلین و استرپتومایسین)، در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس با ۵٪ دی‌اکسیدکربن و ۵۹٪ رطوبت، کشت و پاساژهای مکرر داده شد تا سلول‌ها از نظر مورفولوژی و زنده‌مانی به حد مطلوب برسند. همچنین، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به عنوان گروه کنترل استفاده شد. برای جداسازی سلول‌های خون محیطی، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از خون فرد سالم در ضد انعقاد هپارین ریخته و به نسبت برابر با PBS استریل رقیق شد. خون رقیق شده به آرامی با سمپلر بر روی ۱۰ میلی‌لیتر فایکول داخل لوله فالكون ریخته شد و ۲۵ دقیقه با دور ۶۰۰g تحت سانتریفیوژ قرار گرفت. سپس لایه با بافی‌کوت حاوی سلول‌های تک‌هسته‌ای، جدا شده و پس از انتقال به فالكون دیگر و افزودن PBS، به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰g سانتریفیوژ شد. برای شست‌وشو و خروج کامل فایکول، این کار سه بار تکرار شد (۶).

۲-۳- تعیین درصد سلول‌های زنده با رنگ آمیزی تریپان بلو

به منظور شمارش و تعیین درصد سلول‌های زنده، پس از سانتریفیوژ سلول‌ها به مدت ۴ دقیقه با دور ۱۶۰۰ rpm و پیتاژ کردن آن‌ها با یک میلی‌لیتر محیط تازه، ۱۰ میکرولیتر از مخلوط سلول و رنگ تریپان‌بلو (با نسبت برابر) روی لام هموسایتومتر قرار داده و زیر میکروسکوپ معکوس، سلول‌های مستقر در ۴ خانه ۱۶ تایی در ۴ طرف لام شمارش شد. سلول‌های زنده (دارای غشای ناتراوا به رنگ تریپان بلو) بی‌رنگ و سلول‌های مرده (دارای غشای تراوا برای ورود رنگ) به رنگ آبی مایل به بنفش دیده شدند (۷).

۲-۴- شمارش تعداد سلول‌ها

تعداد سلول‌ها در هر میلی‌لیتر براساس فرمول محاسبه تعداد سلول به دست آمد. تعداد سلول در هر میلی‌لیتر = میانگین تعداد سلول‌های شمارش شده در مربع‌ها $\times$ ضریب رقت $\times 10000$ بود. همچنین درصد زنده‌مانی سلول‌ها نیز براساس فرمول درصد زنده‌مانی = میانگین تعداد سلول‌های زنده تقسیم بر کل سلول‌ها $\times 100$ به دست آمد (۸).

به آن اضافه و یک دقیقه با همان دور و دمای ۴ درجه سانتیفریوژ شد. در نهایت تیوب زیرین حاوی RNA مورد نظر شد. مولکول RNA حاصل تا زمان تبدیل به cDNA در دمای ۲۰- درجه قرار داده شد (۹، ۱۰).

۲-۶-۳- روش استخراج cDNA از RNA

به منظور تبدیل RNA به cDNA از کیت RevertAid Synthesis Kit First Strand cDNA شرکت فرمنتاز (Thermo) استفاده شد. برای شروع این مرحله، ابتدا مجموعه‌ای از RNA الگو و نهایی (با حجم ۰/۵ - ۰/۱ میکروگرم) و یک میکرولیتر از پرایمر برداشته و تا حجم ۱۲ میکرولیتر از محلول DEPC-treated water پر کردیم، سپس به آرامی به میکروتیوب به مدت ۳۰ ثانیه ضربه زده شد. بعد از آن میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه روی hit block ۶۵ درجه سلسیوس قرار دادیم و بلافاصله به روی یخ منتقل کردیم. سپس به ترتیب محلول بافر با رقت ۵ (۴ میکرولیتر)، مهارکننده RNA (۱ میکرولیتر)، dNTP 10 Mm (۲ میکرولیتر)، آنزیم رونویسی معکوس (۱ میکرولیتر) به آن اضافه شد. بعد از اضافه کردن ترکیبات یادشده به مدت ۳۰ ثانیه به میکروتیوب ضربه زده و مدت زمان کوتاهی روی سانتیفریوژ قرار داده شد. بعد از آنکه ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه قرار گرفت، سپس ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده و بعد به مدت یک ساعت در دمای ۴۲ درجه سلسیوس نگه داشته شد (۹، ۱۰).

۲-۶-۴- مراحل انجام آزمون PCR با ژن‌های مورد نظر

به منظور بررسی بیان ژن از پرایمرهای مربوطه طبق توالی زیر استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱- توالی پرایمرهای استفاده شده در پژوهش حاضر

پرایمر	۵' → ۳' ترادف
کاسپاز ۳	Forward: CAG TGGAGGCCGACT TCTTG Reverse: TGGCACAAAGCGACTGGAT
GAPDH	Forward: AACGGATTTGGTCGTATTGG Reverse: TTTGGAGGGATCTCGCTCCT

به وسیله پرایمرهای کاسپاز ۳ استفاده شد. شایان ذکر است از ژن GAPDH به عنوان ژن رفرانس در ارزیابی روند استخراج cDNA و بیان ژن استفاده شد. در نقطه ذوب یک مولکول DNA دورشته‌ای، ۵۰ درصد از پیوندهای هیدروژنی از هم جدا می‌شود. این باعث تغییر ناگهانی در میزان فلورسانس می‌شود. پیک‌های تشکیل شده در دمای پایین مربوط به مقدار محصولات غیراختصاصی است که در پایان فرایند PCR رخ می‌دهد. هر ژن منحنی ذوب خود را دارد و منحنی‌های یک ژن در همه نمونه‌ها باید مطابقت داشته باشد و دارای یک پیک واحد باشد. در مطالعه ما منحنی مذاب تک‌قله است و با یکدیگر منطبق‌اند (شکل ۳).

۲-۶-۲- مراحل استخراج RNA

به منظور استخراج RNA سلولی از کیت تجاری شرکت پارس توس استفاده شد. ابتدا غلظت همه نمونه‌های RNA استخراج شده با دستگاه نانودراپ تعیین و سپس غلظت همه نمونه‌های RNA یکسان شد. به منظور تبدیل RNA به cDNA از کیت RevertAid Synthesis Kit First Strand cDNA شرکت فرمنتاز (Thermo) استفاده شد. برای شروع کار، ۷۵۰ میکرولیتر از محلول RL به داخل میکروتیوب حاوی سلول اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه روی شیکر قرار گرفته شد تا الکل و کلروفرم با هم مخلوط و رنگ محلول نهایی شیری‌رنگ شود. بعد از سه دقیقه استراحت در دمای اتاق، به مدت ۱۲ دقیقه با دور ۱۳۰۰g در دمای ۴ درجه سانتیفریوژ شد. بعد از این مرحله دو فاز تشکیل شد که ۴۰۰ میکرولیتر از فاز رویی برداشته و به یک میکروتیوب RNAase-DNase free 1/5 منتقل شد. ۴۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰٪ اضافه و کمی مخلوط شد. در این مرحله محتویات میکروتیوب به یک تیوب فیلتردار موجود در کیت منتقل و یک دقیقه با دور ۱۳۰۰g در دمای ۴ درجه سانتیفریوژ شد. مایع تیوب زیرین تخلیه و ۷۰۰ میکرولیتر از محلول PW بر روی آن اضافه شد. یک دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۱۳۰۰g مجدد سانتیفریوژ و مایع زیرین تخلیه شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محلول PW بر روی آن اضافه و یک دقیقه با همان دور سانتیفریوژ و مایع تیوب زیرین تخلیه شد. تیوب به مدت دو دقیقه سانتیفریوژ و سپس تیوب زیرین با یک میکروتیوب جدید RNAase-DNase free 1/5 تعویض شد. برای جدا شدن RNA از فیلتر ۵۰۰ میکرولیتر DEPC

جدول ۲- برنامه دمایی دستگاه Thermo cycler استفاده شده در پژوهش حاضر

Initial denaturation	Denaturation	Annealing	Extension	Amplification
95°C 5 min	95°C 30 sec	58°C 1 min	72°C 1 min	40 Cycles

توسط محلول تریپسین با رقت ۵ برابر، سلول‌ها از کف چاهک جدا شد. دقت در زمان‌بندی هنگام استفاده از تریپسین بسیار اهمیت دارد، زیرا زمان کم سبب جدا نشدن سلول‌ها از کف چاهک‌ها و زمان بالا سبب از بین رفتن سلول‌ها می‌شود. پس از اضافه کردن تریپسین و سپری شدن زمان مناسب چاهک‌ها زیر میکروسکوپ با عدسی ۱۰ بررسی و از جدا شدن سلول‌ها اطمینان حاصل شد. اگر سلول‌ها از کف چاهک‌ها جدا شده باشند به حالت کروی درمی‌آیند. در این مرحله به منظور خشتی‌سازی اثر تریپسین به میزان چهار برابر تریپسین مصرفی به هر چاهک محیط کشت اضافه شد. تمامی این مراحل زیر هود لامینار انجام گرفت. سوسپانسیون حاصل به میکروتیوب RNase-Free DNase-متقل و به مدت ۵ دقیقه در ۱۵۰۰g سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته و رسوب حاصل در دمای ۷۰- نگهداری شد. در روز استخراج میکروتوپ‌ها از ۷۰- خارج گردید و در بن‌ماری که از قبل به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسیده بود قرار داده شد. این کار به این دلیل حائز اهمیت است که سلول‌ها نباید در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد بمانند.

۲-۷- تحلیل آماری

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون یک‌طرفه ANOVA صورت گرفت و سطح معنادار آزمون $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. طبق اعداد به‌دست‌آمده و نمودارها، غلظتی از عصاره با قدرت مهار ۵۰ درصدی رشد سلول‌های سرطانی به‌عنوان IC50

همچنین برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر نیز طبق برنامه زیر تعیین شد (جدول ۲).

۲-۶-۵- Real-Time PCR

به‌منظور بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه از پرایمرهای یادشده (جدول ۱) در این روش استفاده شد. کیت Real-Time PCR حاوی ۲۱/۵ میکرولیتر محلول Master mix، ۵ میکرولیتر آب مقطر، ۰/۵ میکرولیتر Forward primer، ۰/۵ میکرولیتر Reverse primer، ۱/۵ میکرولیتر cDNA در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر بود که تمامی این مراحل بر روی یخ انجام شد. نمونه‌های حاصل به دستگاه ABI منتقل و آزمون طبق برنامه دمایی دستگاه Thermo cycler به انجام رسید. نمونه کنترل شامل سلول‌های تیمارنشده در مقایسه با نمونه‌های تیمارشده در روزهای ۲۴، ۲۸ و ۷۲ ساعت بود و کنترل منفی شامل تمامی موارد استفاده‌شده در PCR به غیر از cDNA است. روش انجام کار دستگاه ABI طبق جدول زیر راه‌اندازی شد (جدول ۳). پس از اتمام کار دستگاه Thermo cycler محصول Real-Time PCR توسط نرم‌افزار Reaset 2006 آنالیز شد.

۲-۶-۵-۱- آماده‌سازی سلول‌های کشت‌شده برای انجام

Real-Time PCR:

ابتدا به‌وسیله سمپلر محیط کشت داخل هر چاهک تخلیه شد. در مرحله بعد چاهک‌ها با محلول PBS شست‌وشو داده شد. سپس

جدول ۳- روش انجام کار دستگاه ABI استفاده شده در پژوهش حاضر

Step	Time	Temperature
Initial Denaturation	2 minutes	95°C
Denaturation	10 seconds	94°C
Annealing	15 seconds	60°C
Extension	30 seconds	72°C
	40 cycles	

ساعت‌ها به‌طور معناداری نسبت به گروه غلظت ۴۰ میکرومولار عصاره مورینگا کمتر بود ($P < 0/0001$). جالب توجه اینکه غلظت ۴۰ میکرومولار نسبت به وین کریستین در ساعت‌های ۲۴ و ۴۸ بیشتر و در ساعت ۷۲ کمتر بود ($P < 0/0001$) (شکل ۳).

بحث

شیمی درمانی شایع‌ترین درمانی است که برای از بین بردن سلول‌های لنفوم و جلوگیری از پیشرفت آن استفاده می‌شود (۸). با وجود اثربخشی داروهای شیمی درمانی عوارضی همچون آسیب به بافت‌های سالم در حال تکثیر، بر شکلی ساختاری و مقاومت سلول‌های توموری در برابر دارو، نیاز به درمان‌های جایگزین یا درمان‌های مکمل را مطرح می‌سازد. یکی از کم‌خطرترین درمان‌ها با کمترین اثر سمی در سلول‌های طبیعی، درمان به کمک داروهای گیاهی است. استفاده از گیاهان دارویی، به‌تنهایی یا در ترکیب با شیمی درمانی، عوارض جانبی ناشی از شیمی درمانی را کاهش می‌دهد. همچنین گفته شده که گیاهان دارویی قابلیت غلبه بر مقاومت دارویی و از بین بردن سلول‌های مقاوم را دارند (۲). طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی، برخی کشورها از درمان‌های گیاهی، به‌عنوان منبع اصلی دارو بهره می‌برند و کشورهای در حال توسعه از مزایای ترکیبات طبیعی به‌طور فزاینده‌ای برای اهداف درمانی استفاده می‌کنند. از طرفی، برخی داروهای ضدسرطان که از منابع طبیعی مشتق شده‌اند، به داروهای فعلی ضدسرطان مانند وین کریستین و وین بلاستین تبدیل شده‌اند. در این پژوهش، گیاه مورینگا الیفا به‌علت داشتن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، خواص دارویی متعدد و همچنین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، برای بررسی اثر سمیت سلولی بر سلول‌های لنفوم مورد توجه قرار گرفت. در مطالعه حاضر، بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره گیاه مورینگا الیفا بر زنده‌مانی سلول‌های لنفوم نشان داد که عصاره گیاه مورینگا الیفا به مهار رشد وابسته به غلظت و زمان سلول‌های لنفوم منجر شد. مطالعات زیادی توانایی گیاه مورینگا الیفا را در محافظت از بدن و سلول‌ها را در برابر استرس اکسیداتیو نشان داده‌اند. نتایج این تحقیقات نشان می‌دهد که گیاه مورینگا الیفا با توانایی مهار تولید رادیکال‌های آزاد، آسیب به گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش استرس اکسیداتیو، یک آنتی‌اکسیدان قوی است. مطالعات انور و همکاران بر روی برگ و ساقه گیاه مورینگا الیفا

در نظر گرفته شد. همچنین غلظتی از عصاره با بیشترین اثر مهاري روی زنده‌مانی سلول‌های تیمار شده، حداکثر دوز عصاره‌ها در نظر گرفته شد.

۳- نتایج

۳-۱- درصد سلول‌های زنده

چهره رنگ گرفته سلول‌های مرده در صفحه مربع نئوبار شمارش شد. پس از اطمینان از زنده بودن بیش از ۹۷ درصد سلول‌ها سنجش MTT انجام شد.

۳-۲- سنجش MTT

سنجش MTT در گروه‌های کنترل منفی (مایع کشت)، گروه وین کریستین (وین کریستین) و غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار انجام و میانگین و خطای استاندارد میانگین در نمودار مربوط نشان داده شد (شکل ۱). نتایج حاصل از تست MTT نشان داد که اثرات مهارکنندگی بر سلول‌های سرطانی به‌طور نسبی دارای اثر وابسته به دوز و زمان است. به این معنی که بهترین نتیجه کشندگی سلولی در غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میکرومولار در هر سه زمان قابل مشاهده بود، ولی دوز ۲۰ در زمان ۲۴ ساعت به‌طور معناداری خاصیت ضد حیات سلولی ضعیف‌تری را نسبت به دوز ۱۰ نشان داد.

۳-۳- بیان ژن کاسپاز ۳ با استفاده از Real Time PCR

در نمودار منحنی ذوب (melt curve) مشخص شد که روند کار ریل تایم آلودگی محیطی یا پروتئین ناخواسته نداشت (شکل ۲). این مطالعه با هدف اندازه‌گیری سطح بیان ژن کاسپاز ۳ پس از قرار گرفتن در معرض دوزهای مختلف ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار عصاره مورینگا انجام شد. نتایج نشان داد که پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در معرض عصاره مورینگا سطح بیان ژن آپوپتوزدهنده کاسپاز ۳ در همه تیمارها، به‌ویژه در دوز ۰۴ میکرومولار نسبت به کنترل افزایش یافت ($P < 0/05$). علاوه بر این، عصاره مورینگا در دوز ۲۰ میکرومولار پس از ۴۸ ساعت بیشترین بیان ژن آپوپتوزدهنده را داشت، به‌طوری که نسبت به کنترل نزدیک به دو برابر گروه وین کریستین افزایش یافت ($P < 0/05$). در ساعت ۷۲ بیشترین بیان ژن آپوپتوزدهنده کاسپاز ۳ در گروه وین کریستین مشاهده شد و سپس در گروه ۴۰ میکرومولار بیشتر از بقیه معنادار بود (شکل ۳). بیان ژن کاسپاز ۳ در غلظت ۸۰ میکرومولار عصاره مورینگا در همه



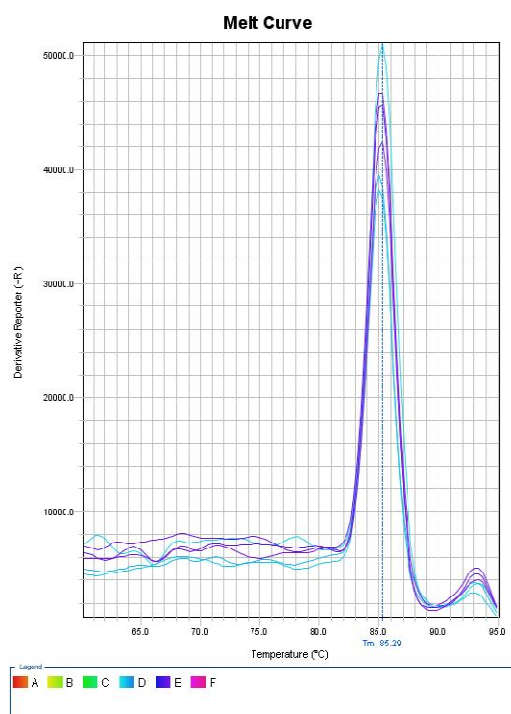
شکل ۱- مقایسه سنجش میزان زنده مانی سلولی به وسیله روش MTT. همان طور که مشاهده می شود گروه کنترل بدون مادهٔ توکسیک بیشترین زنده مانی را در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از آغشته شدن کشت سلول نشان می دهد. گروه وینکریستین نیز مانند گروه های دریافت کنندهٔ عصاره از درصدهای متفاوتی در ممانعت از رشد و زنده مانی سود برده است. ۱۰ μ گروه: ۲۰ μ گروه: ۲۰ میکرومول، ۴۰ μ گروه: ۴۰ میکرومول و ۸۰ μ گروه: ۱۰ میکرومول هستند.

NF- κ B، اثر سلول‌کشی داروهای شیمی‌درمانی را در سلول‌های سرطان پانکراس افزایش دهد (۱۳)، که نتایج حاصل از تحقیقات ما با کار برکوویچ تا حدی همخوانی دارد.

همچنین الاسمیری و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثر عصاره برگ، ساقه و دانه گیاه مورینگا را بر مهار رشد سلول‌های سرطانی پستان و کلورکتال بررسی کردند. نتایج حاکی از آن بود که میزان بیان پروتئین‌های آپوپتوزدهنده کاسپازها و ضد آپوپتوز BCL2 به وسیله کورکومین تنظیم می‌شود. همچنین ترکیبات ضدسرطانی مانند لیکوپین باعث سرکوب مسیر پیام‌رسان PI3K/AKT در مسیر آپوپتوز سرطانی می‌شود. در این تحقیق نشان داده شد که عصاره برگ و ساقه گیاه مورینگا اثرات قابل توجهی بر دو رده سلولی MDA-MB-231 (سرطان پستان) و HCT (سرطان کولون) دارد. عصاره گیاه مورینگا باعث افزایش قابل توجه میزان آپوپتوز با افزایش G2/M در سلول‌های سرطانی پستان و کلورکتال می‌شود. پس می‌توان گفت گیاه مورینگا توان افزایش فعالیت ژن‌های مخرب سلول‌های سرطانی را دارد (۶).

یونگ و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثرات گیاه مورینگا را بر سرطان کبد انسان با روش بررسی فعالیت و بیان کاسپاز و فاکتور رونوشت‌برداری بررسی کردند. با بررسی سیگنال‌های آپوپتوتیک، از جمله القای فعالیت کاسپاز یا فعال‌کننده فاکتور تسهیل‌کننده رونویسی، مشخص شد که عصاره گیاه مورینگا الیغرا توان بالایی در ایجاد سایتوتوکسیسیته سلول‌های سرطانی دارد. طی تحقیقات تجربی مشخص شد خوراندن عصاره گیاه مورینگا الیغرا به بیماران مبتلا به سرطان کبد به‌طور چشمگیری (حدود ۵۰-۴۴ درصد) باعث کاهش سلول‌های سرطانی رده HePG2 می‌شود. همان‌طور که در تحقیقات ما نشان داده شد با مواجهه سلول‌ها با عصاره گیاه مورینگا میزان بیان ژن‌های سرطانی کاهش می‌یابد (۷).

Abdu Rabu و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ اثر ریشه گیاه مورینگا را بر دو رده سلولی HCT116 و Caco-2 از سرطان روده پرداختند. سطح آنتی‌اکسیدانی گیاه مورینگا در بخش‌های مختلف این گیاه به‌طور مشخصی متفاوت است. عصاره‌گیری از ریشه گیاه به‌وسیله روش اتانولی انجام شد. نتایج نشان داد که ریشه گیاه مورینگا به‌طور قابل توجهی باعث سرکوب تولید سلول‌های سرطان روده می‌شود. سیتوتوکسیسیته مورینگا بر سلول‌های HCT116 و Caco-2 در

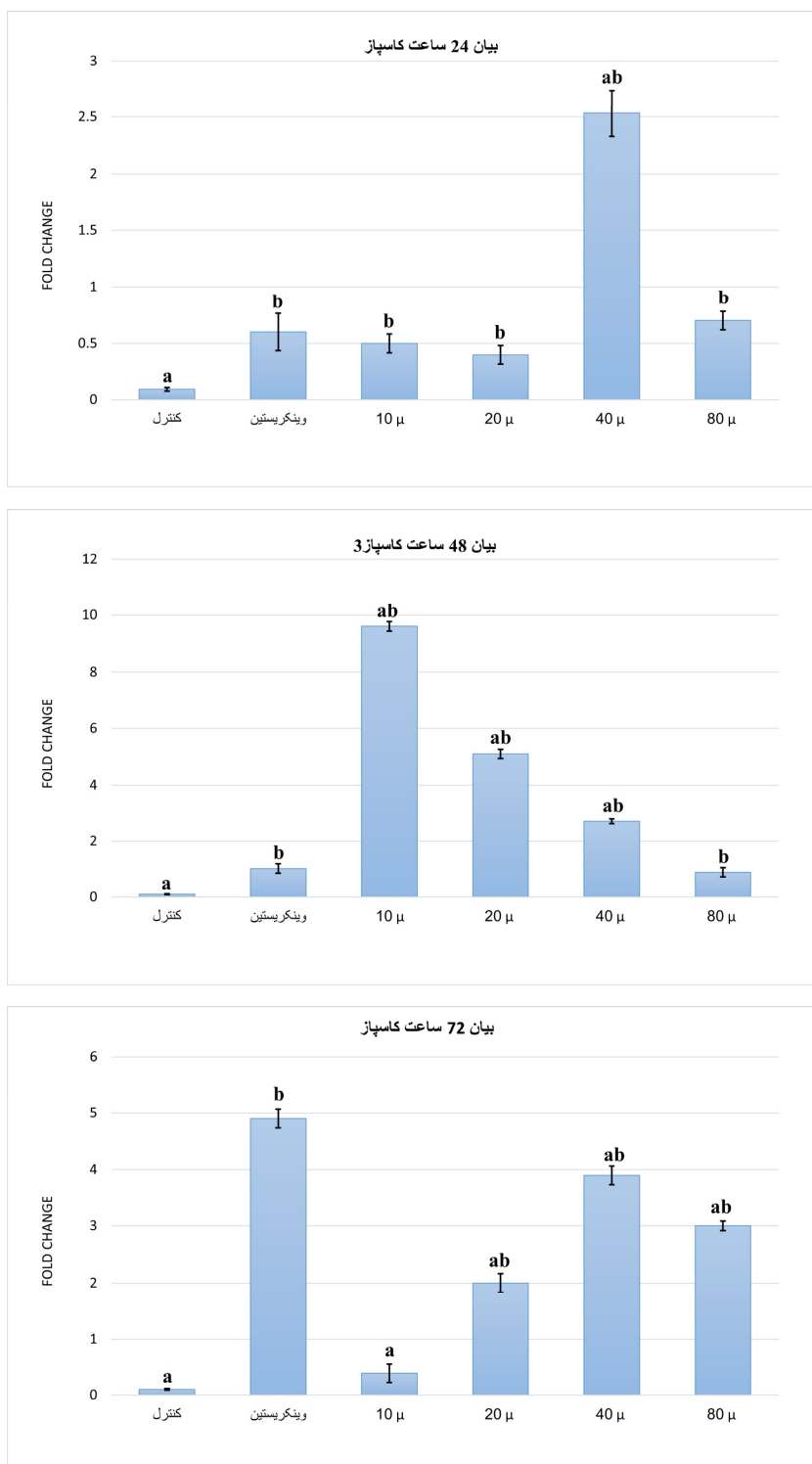


شکل ۲- نمودار منحنی ذوب (melt curve) بیانگر نظم عمومی در نقطه ذوب است.

نشان داد که این گیاه دارای ترکیبات فلاونویدی و فنولی بسیاری است که توان مهار و کنترل آسیب‌های اکسیداتیو و بروز خواص ضدسرطان و کنترل التهاب را دارد. همان‌طور که در مطالعه ما از این خاصیت استفاده شد (۱۱).

خلف‌اله و همکاران چندین سال بعد بر پایه همین پژوهش‌ها، به بررسی اثر گیاه مورینگا الیغرا بر لوسمی حاد و کارسینومای کبدی پرداختند. این مطالعه بر روی سلول‌های جمع‌آوری‌شده از بیماران مبتلا به لوسمی طی روش رنگ‌آمیزی MTT بررسی شد و درصد زنده ماندن سلول‌ها تخمین زده شد. تأثیر عصاره گیاه بر میزان تزیاد و درصد کشندگی سلولی در سرطان لنفوم میلونیدی حاد نشان داد که گیاه مورینگا تا ۷۷ درصد توان مهار آزادسازی رادیکال‌های آزاد را دارد. ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی گیاه در نتیجه تجمع مقادیر بالایی از ترکیبات فنولیک است (۱۲).

برکوویچ و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی اثر عصاره آبی برگ مورینگا الیغرا بر روی فاکتور هسته‌ای NF- κ B پرداختند و متوجه شدند که مورینگا می‌تواند هم‌زمان با کاهش دادن سطح بیان



شکل ۳- مقایسه سنجش میزان بیان ژن کاسپاز ۳ (TT) همان طور که مشاهده می شود گروه کنترل بدون ماده توکسیک از نظر میزان بیان کاسپاز ۳ کمترین و سایر گروه ها، به ویژه وینکریستین بیشترین میزان بیان را در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از آغشته شدن کشت سلول نشان می دهد. ۱۰ μm: گروه ۱۰ میکرومول، ۲۰ μm: گروه ۲۰ میکرومول، ۴۰ μm: گروه ۴۰ میکرومول و ۸۰ μm: گروه ۸۰ میکرومول هستند.

غلظت‌های مختلف ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ بررسی شد. ارزیابی میزان زنده بودن سلول‌ها با رنگ‌آمیزی MTT بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که اثرات مورینگا به صورت وابسته به دوز است و هرچه دوز مورینگا در مواجهه با سلول‌ها بالاتر می‌رود، میزان اثرات سیتوتوکسیکسیتیه آن نیز بیشتر می‌شود. به طور کلی مورینگا باعث افزایش خواص ضدسرطان با القای آپوپتوز و مهار تزايد سلول‌ها می‌شود. این اثرات در ارتباط با ریشه گیاه مورینگا به دلیل بالاتر بودن مواد آنتی‌اکسیدان بیشتر است، ولی به طور کلی مورینگا با ایجاد روند آپوپتوز، نقش مهمی در مهار تزايد سلول‌های سرطانی دارد. این تحقیق نیز با مطالعه ما مبنی بر اثرات وابسته به دوز و غلظت گیاه مورینگا همخوانی دارد.

وانگ و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۰ خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد تزايدی عصاره گیاه مورینگا الیغرا بر روی سرطان سر و گردن بررسی کردند. گیاه مورینگا به عنوان منبع غنی از فلاوونوئید، آنتوسیانین، فنولیک اسید آلکالوئید و اسیدهای چرب نقش مهمی در درمان و پیشگیری این بیماری‌ها دارد. در مطالعه وانگ خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه مورینگا بعد از تهیه عصاره گیاه انجام و کار کشت سلول بر رده سلولی HNC شروع شد. بررسی‌های انجام شده نشان داد که مورینگا باعث مهار رشد تزايد سلول‌های سرطانی در همان ۲۴ ساعت اولیه انکوباسیون سلول‌ها می‌شود و این اثرگذاری وابسته به زمان و دوز است. بنابراین می‌توان گفت گیاه مورینگا خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد تزايدی قوی‌ای با ایجاد روند آپوپتوز دارد. هرچه زمان و میزان مواجهه این سلول‌ها با عصاره گیاه بیشتر بود، اثرگذاری آن نیز بیشتر شد (۱۴).

در تحقیق حاضر نیز روند مهار رشد سلول‌های سرطانی مشاهده شد، ولی نوع سلول‌ها و محیط کشت نیز بی‌اثر نیست. به همین دلیل است که در تحقیقات ما بیشترین میزان اثرگذاری در دوز و زمان متوسط بود.

کومار و همکاران در سال ۲۰۲۳ اثر عصاره گیاه مورینگا را بر روی سلول‌های دالتون لئوفا بررسی شدند. این بررسی ۱۴ ترکیب بیولوژیک مختلف را نشان داد. این ترکیبات عبارت بودند از بتولین، جیتوکسیژنین، بروموپروپیل فینیل اتر، لوپپول، سدران دیول، الین، لانوستا، مونولینوگلسیرول، متیل پانتوتینیک اسید و ... میزان بقای سلول‌ها و اثرات سمی آن با استفاده از روش MMT ارزیابی شد.

بعد از انجام این تحقیق مشخص شد که بروز فعال شدن اکسیژن‌های آزاد در فرایند آپوپتوز نقش مهمی در بروز اثرات سمی و سرکوب فعالیت توموری دارد که این اثرات همگی وابسته به غلظت‌اند. بالاترین میزان اثرگذاری در غلظت ۴۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر مورینگا مشخص شد که این مطالعه نیز با مطالعه ما که اثر وابسته به دوز و زمان گیاه مورینگا را تأیید می‌کند، همخوانی دارد (۱۵).

کریشنامورتی و همکاران در سال ۲۰۱۵ به طور اختصاصی به بررسی خواص ضدسرطانی عصاره برگ گیاه مورینگا بر سرطان ریه رده A549 پرداختند. بررسی مورفولوژی سلول‌های سرطانی تحت تیمار نشان داد، که غلظت‌های ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر از عصاره در ظرف ۴۸ ساعت به طور معناداری روی سلول‌های سرطانی اثرات کشنده دارد. بدین صورت که سلول‌های تحت تیمار با عصاره، حالت چروکیدگی و کاهش حجم سلول، از دست دادن ارتباط و تعامل سلولی را نشان می‌دهند، که بیانگر تحت تأثیر سمی عصاره قرار گرفتن سلول‌ها و از بین رفتن آن‌هاست (۱۶). تحقیق حاضر از جهت ایجاد مرگ سلولی در مدت زمان ۴۸ ساعت مشابه نتایج تحقیق کریشنامورتی است.

Badhresha و همکاران در سال ۲۰۲۲ در پژوهشی به بررسی اثرات ضدسرطان برگ گیاه مورینگا بر سرطان ریه از طریق بروز آپوپتوز پرداختند. اثرات سمی این گیاه در غلظت‌های ۱۰۰ میکروگرم تا ۵۰۰ میکروگرم بررسی شد. تغییرات قابل توجه بعد از گذشت ۲۴ ساعت از انکوباسیون سلول‌ها مورد مشاهده قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثرات سمی و کاهش بقای سلول‌ها وابسته به دوز و زمان است. بیشترین میزان اثرگذاری در دوزهای ۴۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم گزارش شد. در دوزهای یادشده، شکل ظاهری سلول‌ها نیز با شکست دیواره سلولی و تغییرات هسته نیز مشخص شد. ژن‌های BAX و BCL-2 در بررسی‌ها نیز تغییرات مشخصی را نشان دادند. این ژن‌ها نقش مهمی در بروز تغییرات آپوپتوزی دارند. با بالا رفتن دوز عصاره گیاه میزان بیان ژن نیز افزایش داشت. بنابراین می‌توان گفت عصاره برگ گیاه مورینگا الیغرا نقش مهمی در سیتوتوکسیسیتی و القای فرایند آپوپتوز در سلول‌های رده سرطانی دارد (۱۷). تحقیق حاضر از جهت ایجاد آپوپتوز سلولی و بررسی ژن‌های مربوط به آن ولی از نوع دیگر مشابه نتایج تحقیق Badhresha است.

همچنین در سال‌های اخیر، مطالعه لای و همکاران در سال ۲۰۲۳

منابع

1. Chun R. Lymphoma: which chemotherapy protocol and why? *Top Companion Anim Med.* 2009;24(3):157-62.
2. Marino P, Pepe G, Basilicata MG, Vestuto V, Marzocco S, Autore G, et al. Potential Role of Natural Antioxidant Products in Oncological Diseases. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(3).
3. Abdull Razis AF, Ibrahim MD, Kntayya SB. Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(20):8571-6.
4. Tan WS, Arulselvan P, Karthivashan G, Fakurazi S. *Moringa oleifera* Flower Extract Suppresses the Activation of Inflammatory Mediators in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7 Macrophages via NF- κ B Pathway. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:720171.
5. Siddiqui S, Upadhyay S, Ahmad I, Hussain A, Ahamed M. Cytotoxicity of *Moringa oleifera* fruits on human liver cancer and molecular docking analysis of bioactive constituents against caspase-3 enzyme. *J Food Biochem.* 2021;45(5):e13720.
6. Al-Asmari AK, Albalawi SM, Athar MT, Khan AQ, Al-Shahrani H, Islam M. *Moringa oleifera* as an Anti-Cancer Agent against Breast and Colorectal Cancer Cell Lines. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135814.
7. Jung IL, Lee JH, Kang SC. A potential oral anticancer drug candidate, *Moringa oleifera* leaf extract, induces the apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Lett.* 2015;10(3):1597-604.
8. Baldisserotto A, Buso P, Radice M, Dissette V, Lampronti I, Gambari R, et al. *Moringa oleifera* Leaf Extracts as Multifunctional Ingredients for "Natural and Organic" Sunscreens and Photoprotective Preparations. *Molecules.* 2018;23(3).
9. Abd-Rabou AA, Abdalla AM, Ali NA, Zoheir KM. *Moringa oleifera* Root Induces Cancer Apoptosis more Effectively than Leave Nanocomposites and Its Free Counterpart. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017;18(8):2141-9.
10. Nugraha AP, Triwardhani A, Sitalaksmi RM, Ramadhani NF, Luthfi M, Ulfa NM, Tengku Ahmad Noor T. Phytochemical, antioxidant, and antibacterial activity of *Moringa oleifera* nanosuspension against peri-implantitis bacteria: An in vitro study. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2023;13(6):720-6.
11. Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res.* 2007;21(1):17-25.
12. Khalafalla MM, Abdellatef E, Dafalla HM, Nassrallah AA, Aboul-Enein KM, Lightfoot DA, et al. Active principle from *Moringa oleifera* Lam leaves effective against two leukemias

بر روی نانوزیکول‌های استخراج‌شده از گیاه مورینگا و اثربخشی آن بر سرطان پستان انجام شد. نانوزیکول‌ها در واقع ساختارهای غشایی استخراج‌شده از سلول‌های گیاهی هستند، که نقش مهمی در القای عملکردهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک بر عهده دارند. در تحقیق لای از ریشه گیاه مورینگا استفاده شد. بعد از استخراج عصاره آن، به رده سلولی سرطان پستان اضافه شد و انکوباسیون سلول‌ها در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام شد. مطالعه لای نشان داد که هرچه زمان مجاورت سلول‌های سرطانی پستان با نانوزیکول‌های حاوی ترکیبات آپتوزدهنده بیشتر باشد میزان مرگ این سلول‌ها (سایتوکسیسیت سلولی) نیز بیشتر می‌شود. بنابراین تأثیر مثبت نانوزیکول‌های استخراج‌شده از گیاه مورینگا بر کاهش فعالیت سلول‌های سرطانی توسط لای و همکاران مشاهده شد (۸۱). تحقیق حاضر از جهت ایجاد آپتوز سلولی مشابه نتایج تحقیق لای است.

نتیجه‌گیری کلی

دوز IC50 در سلول‌های لنفوم تیمارشده با عصاره اتانولی گیاه مورینگا الیفا در دوز ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر حاصل شد. میزان کشندگی عصاره علیه سلول‌های لنفوم از دوز ۲۰ میکروگرم به تدریج بالای ۵۰ درصد شد. در مقایسه میزان زنده‌مانی بین غلظت‌های مختلف مشخص شد که عملکرد سیتوتوکسیسیتی عصاره اتانولی گیاه مورینگا، وابسته به غلظت است، ولی نه حداکثر دوز (۸۰ میکرومولار)، بلکه روی ۴۰ میکرومولار بیشترین کشندگی را داشت. با توجه به آزمایش‌های انجام‌شده، عصاره گیاه مورینگا تأثیر بسزایی در کاهش رشد سلول‌های توموری داشت و این اثرگذاری در دوز ۴۰ میکرومولار و زمان کوتاه‌تر مشخص بود.

سپاسگزاری

نویسندگان از گروه پاتوبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات تهران تشکر می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

- and a hepatocarcinoma. *Afr J Biotechnol.* 2010;9(49):8467-71.
13. Berkovich L, Earon G, Ron I, Rimmon A, Vexler A, Lev-Ari S. *Moringa Oleifera* aqueous leaf extract down-regulates nuclear factor-kappaB and increases cytotoxic effect of chemotherapy in pancreatic cancer cells. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13:212.
 14. Wang F, Long S, Zhang J, Yu J, Xiong Y, Zhou W, et al. Antioxidant activities and anti-proliferative effects of *Moringa oleifera* L. extracts with head and neck cancer. *Food Bioscience.* 2020;37:100691.
 15. Kumar S, Verma PK, Shukla A, Singh RK, Patel AK, Yadav L, et al. *Moringa oleifera* L. leaf extract induces cell cycle arrest and mitochondrial apoptosis in Dalton's Lymphoma: An in vitro and in vivo study. *J Ethnopharmacol.* 2023;302:115849.
 16. Krishnamurthy PT, Vardarajulu A, Wadhwani A, Patel V. Identification and characterization of a potent anticancer fraction from the leaf extracts of *Moringa oleifera* L. *Indian J Exp Biol.* 2015;53(2):98-103.
 17. Bhadresha K, Thakore V, Brahmbhatt J, Upadhyay V, Jain N, Rawal R. Anticancer effect of *Moringa oleifera* leaves extract against lung cancer cell line via induction of apoptosis. *Advances in Cancer Biology-Metastasis.* 2022;6:100072.
 18. Ly NP, Han HS, Kim M, Park JH, Choi KY. Plant-derived nanovesicles: Current understanding and applications for cancer therapy. *Bioact Mater.* 2023;22:365-83.