مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۴۰۰، دوره ۲۳، صفحه ۲۸۸-۲۸۰

مقایسه تاثیر غلظت های مختلف عصاره آبی و هیدروالکلی لارو *Zophobas morio* (Col: Tenebrionidae) بر سلول های سرطان سینه و سلول های اندوتلیال جدار داخل رگ های بند ناف انسانی

مریم درب امامیه (PhD)[1*]، لیلا سلطانی (PhD)[2]

۱-گروه گیاه پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۲-گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳، اصلاح: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳، پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۲۱

خلاصه

سابقه و هدف: سرطان یکی از چالش های جهان پزشکی است. اخیراً، در جستجوی ترکیبات جدید با ویژگی‌های ضد سرطانی توجه به ترکیبات طبیعی افزایش یافته است. هدف از این مطالعه تجربی، بررسی خواص ضد سرطانی غلظت های مختلف عصاره آبی و هیدروالکلی لارو *Zophobas morio* به عنوان یک حشره قابل پرورش انبوه و در دسترس، بر سلول های سرطان سینه می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی حشره مورد نظر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۶۰٪ روی سبوس گندم پرورش یافت. در مرحله لارو کامل، حشرات خشک شده، پودر شدند. سلول های سرطان سینه (MCF-7) و سلول های سالم (HUVEC) خریداری شده از انستیتو پاستور، با غلظت های مختلف عصاره های آبی و هیدروالکلی (صفر، ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) برای ۲۴ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. از آب به عنوان شاهد استفاده شد. میزان زنده مانی سلول ها به وسیله آزمون MTT، اندازه گیری شد. در پنج گروه تیماری هر عصاره ۱۰۰۰۰ سلول در ۳ تکرار کشت شدند.

یافته‌ها: افزودن حداکثر غلظت عصاره هیدروالکلی (۴/۴۸±۳۹/۴۲ در ساعت ۲۴، ۱/۸۲±۲۳/۵۲ در ساعت ۷۲) نسبت به عصاره آبی (۹/۴۳±۵۶/۰۲ در ساعت ۲۴، ۴/۰۷±۳۶/۵۲ در ساعت ۷۲) تأثیر بهتری بر مهار تکثیر سلول های سرطانی از خود بر جای گذاشته بود ($p<0.05$). تأثیر این عصاره ها بر سلول های سالم فقط در غلظت‌های بالا مشاهده شد و میزان آن کمتر از سلول های سرطانی بود (به ترتیب عصاره آبی و هیدروالکلی ۳/۴۴±۶۱/۷۷ و ۱/۱۰±۵۷/۲۱ در ساعت ۲۴ و ۶/۵۳±۳۹/۲۵ و ۱/۳۸±۲۷/۱۴ در ساعت ۷۲) ($p<0.05$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که حداکثر غلظت عصاره هیدروالکلی لارو *Z. morio* بر مهار سلول های سرطان سینه نقش مؤثری ایفا کرد، بدون آنکه اثر قابل توجهی بر سلول های سالم بگذارد.

واژه‌های کلیدی: سوسک های تاریکی، سلول های سرطان سینه، سمیت سلولی، عصاره آبی و هیدروالکلی.

مقدمه

گزارشات ابتلا به سرطان سالانه در حال افزایش است به طوریکه ۱۸/۱ میلیون نفر ابتلای جدید و حدود ۹/۶ میلیون مرگ ناشی از آن در سال ۲۰۱۸ روی داده است. شناخته ترین انواع سرطان ها در زنان سرطان های سینه، سرویکس، کولورکتال، ریه و تیروئید هستند (۱). از درمان های مرسوم سرطان می توان به پرتو درمانی، شیمی درمانی یا جراحی برای حذف بخش های آسیب دیده اشاره کرد (۲). درمان های مرسوم شیمیایی با خود اثرات جانبی به همراه دارند (۳)، درمان های جدید برای کنترل بیماری، به ویژه در زمان شکست روش های مرسوم شیمی درمانی، می تواند کارساز باشد. بنابراین، اتخاذ استراتژی های جدید درمان سرطان جهت کنترل نرخ مرگ و میر ناشی از بیماری ضروری است. حشرات با حدود ۵۵٪ تنوع زیستی در کل کره زمین از موفق ترین موجودات هستند و منبعی از ترکیبات ضد میکروبی و ضد سرطانی هستند (۴). از ویژگی های حشرات، می توان به موفقیت آنها در پروسه تکامل و غلبه آنها بر رقبای پارازیتی و انگلی خود اشاره کرد (۶و۵). در طب سنتی چینی و سایر مناطق جهان از حشرات برشته آسیاب شده و ترشحات زنبورها و پارازیتوئیدها پماد تهیه می شود (۹-۷). از عسل در درمان زخم، عفونت ها (سل، آنفولانزا و سرماخوردگی) و سرطان استفاده می شود. در طب چینی، از کانتاریدین مشتق شده از سوسک های تاول زا و سایر ترشحات دفاعی حشرات برای درمان سرطان استفاده می شود. عصاره های بدن بسیاری از حشرات مانند زنبورهای عسل، زنبورهای شکارگر و پارازیتوئید، سوسک‌ها و غیره دارای اثرات ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد سرطانی است. از لارو مگس های گوشت و مگس های خانگی برای درمان زخم و کاهش عفونت ها

*مسئول مقاله: دکتر مریم درب امامیه
آدرس: کرمانشاه، دانشگاه رازی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه گیاه پزشکی. تلفن: ۰۸۳-۳۸۳۲۴۸۲۰
E-mail: m.darbemamieh@razi.ac.ir

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]

استفاده می شود و از بزاق حشرات خون خوار برای درمان مشکلات خونی استفاده می گردد (۱۰). سوسک های تاریکی از خانواده Tenebrionidae در مناطق محفوظ و تاریک از دانه های شکسته غلات، آرد، سبوس و محصولات مشابه تغذیه می کنند و جزو آفات انباری هستند. این حشرات افزون بر اهمیت اقتصادی به عنوان آفت، به دلیل سهولت تکثیر در شرایط آزمایشگاهی، برای بررسی های بیوفیزیولوژیک کاربرد دارند. همچنین به دماهای بالا و پایین و بی غذایی مقاوم هستند. چنانچه می توانند ۶ تا ۸ ماه بدون غذا زنده بمانند (۱۱).

به دلیل اندازه درشت، کیفیت بالای پروتئین ها و اسیدهای چرب موجود در بدن، کیتین موجود در پوستشان و ضریب تبدیل بالای مواد غذایی در بدنشان، این حشرات در خوراک دام، طیور، آبزیان و حیوانات خانگی استفاده می شوند. پودر و روغن بدن آنان مغذی بوده و در خوراک انسان در برخی کشورها استفاده می شود (۱۲). سوپرورم ها *Zophobas morio* (Fabricius) یکی از حشرات این خانواده هستند که به دلیل جثه بزرگشان به این نام مشهور شده‌اند. آنها بومی ایران نیستند ولی امروزه در ایران برای خوراک خزندگان، پرندگان و حیوانات اهلی پرورش داده می شوند. اندازه بدن لارو کامل این سوسک ها به ۵۰ تا ۶۰ میلی‌متر می رسد و بندهای انتهایی بدنشان برخلاف میلورم ها قهوه ای است. خواص آنتی باکتریایی، آنتی اکسیدانتی، ضد حساسیتی، ضد سرطانی و پروبیوتیکی برای عصاره این حشره گزارش شده است (۱۳).

بررسی های اندکی در ارتباط با نقش ترکیبات استخراجی از لارو *Z. morio* بر سلول های سرطانی وجود دارد. تنها در یک مطالعه، اثر غلظت های متفاوت عصاره های اتانولی و ایزوپروپانولی لارو این حشره بر سلول‌های سرطان سینه بررسی و مشاهده شده بود (۱۴). Darbemamieh و همکاران در بررسی نقش عصاره آبی و الکلی *T. molitor* (حشره مشابهی از همین خانواده) نقش بازدارندگی غلظت های بالای عصاره حشره بر سلول های سرطان سینه را گزارش کردند (۱۵). هدف از این مطالعه بررسی سمیت سلولی غلظت های مختلف عصاره های آبی و هیدروالکلی (۰، ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) لارو *Z. morio* بر سلول های سرطان سینه MCF-7 و سلول های اندوتلیال جدار داخلی رگ های بند ناف HUVEC به عنوان سلول سالم در دو ساعت ۲۴ و ۷۲ می باشد.

مواد و روش ها

مواد: در این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه رازی کرمانشاه با کد IR.RAZI.REC.1399.019 مواد مورد استفاده از شرکت سیگما خریداری شد.

پرورش لارو *Zophobas morio*: لارو حشره از یک سری تخم هم سن، در یک مرکز پرورش حشرات مفید در دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۶۰٪ پرورش یافت (شکل ۱). برای تغذیه آنها، از سبوس گندم استفاده شد. تکه های سیب زمینی به عنوان منبع آب هر سه روز یک بار در ظرف های نگهداری قرار داده شد (۱۲). لاروهای سن آخر برای استخراج عصاره به صورت تک تک، در ظروف جداگانه به مدت ۲۴ ساعت تحت گرسنگی قرار گرفتند تا محتویات روده آنها تخلیه گردد. به دلیل رفتار همخواری (Canibalism)، در صورت نگهداری در شرایط بی غذایی در کنار یکدیگر، از بدن همنوعشان تغذیه می کنند. لاروها جهت کاهش تحرک، نیم ساعت در فریزر قرار گرفتند و پس ازآن دو بار به وسیله آب مقطر و یک بار به وسیله اتانول ۷۰٪ شستشو شدند تا آلودگی های خارجی آنها برطرف شوند. سپس توسط دستمال کاغذی خشک شدند تا اتانول زدوده شود. لاروها در مرحله بعد به مدت یک ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد قرار گرفتند تا کشته شوند. سپس در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در آون خشک شدند. لاروهای خشک شده برای انجام عصاره گیری، آسیاب شدند (۱۴).



شکل ۱. لارو Zophobas morio

حجم نمونه: تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک و سه چاهک به عنوان تکرار، به ازای هر تیمار استفاده شد. ۵ گروه تیماری عبارت بودند از غلظت های صفر (شاهد)، ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر هر عصاره آبی یا الکلی و در زمان های ۲۴ و ۷۲ ساعت بر روی دو نوع سلول (سالم و سرطانی) استفاده شد. برای تیمارهای شاهد از آب مقطر استفاده شد.

تهیه عصاره های آبی و هیدروالکلی:

عصاره آبی: ۱۰ گرم از پودر لارو خشک سوپرورم به آب مقطر استریل منتقل، برای ۱۰ دقیقه جوشانده و سپس سانتریفیوژ شد. محیط رویی از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و عصاره آبی در آون خشک شد. پودر آن جداسازی و برای استفاده های بعدی در فریزر نگهداری شد (۱۶).

عصاره هیدروالکلی: ۱۰ گرم از پودر لارو خشک *Z. morio* به ۱۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰٪ منتقل شد، به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق هم زده شد و سپس سانتریفیوژ گردید. محیط رویی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. فاز آبی از الکل با کمک روتاری جدا شد، سپس خشک شد و برای استفاده های بعدی در فریزر نگهداری شد (۱۶).

بررسی سمیت سلولی با کمک آزمون MTT: سلول‌های MCF-7 و HUVEC توسط دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، از انیستیو پاستور ایران خریداری شد. این رده های سلولی در محیط DMEM مکمل شده با ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی بیوتیک (Pen/Strep) در انکوباتور ۵٪ دی اکسید کربن، رطوبت ۹۵٪ و ۳۷ درجه سانتیگراد کشت شدند و پس از رسیدن به تراکم سلولی حدود ۸۰٪، با کمک Trypsin-EDTA از کف فلاسک جدا شدند و برای آزمایش ها استفاده شدند (۱۷). سلول های سرطانی و سالم با غلظت ۱۰۰۰۰ سلول به هر چاهک

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]

پلیت ۹۶ خانه با حداقل ۳ تکرار اضافه شدند. پس از ۲۴ ساعت از کشت و چسبیدن سلول ها به کف پلیت، محیط رویی خارج شد و محیط جدید با غلظت های مختلف عصاره های آبی و الکلی *Z. morio* (صفر، ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) اضافه گردید. در اتمام دوره حدود ۲۰ میکرولیتر محلول آماده MTT اضافه و برای مدت زمان ۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. در پایان، محیط رویی حذف و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO اضافه شد. خوانش توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر انجام گرفت (۱۸) و درصد سلول های زنده محاسبه شد.

بررسی میزان زنده مانی با میکروسکوپ فلورسنت: پس از اتمام دوره کشت، محیط رویی سلول های MCF-7 و HUVEC تیمار شده با غلظت های مختلف عصاره آبی و هیدروالکلی لارو *Z. morio* خارج شد. سپس سلول ها با پارافرم آلدهید ۴٪ فیکس شدند و با رنگ آکریدین نارنجی- اتیدیوم بروماید با نسبت ۱:۱ رنگ آمیزی شدند. میزان زنده مانی با کمک میکروسکوپ فلوروسنت با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر بررسی شد (۱۹).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: داده های به دست آمده در این آزمایش با نرم افزار SPSS ورژن ۱۶ آنالیز شدند. برای آنالیز داده ها از آزمون آماری طرح فاکتوریل کامل تصادفی استفاده شد. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن بررسی شد. حداقل سه تکرار برای آزمایش ها مورد استفاده قرار گرفت. داده ها به صورت Mean±SD بیان شدند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج بررسی آزمون سمیت پس از ۲۴ ساعت نشان داد که با افزودن غلظت بالای دو عصاره آبی و هیدروالکلی لارو سوپرورم (۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) کاهش تکثیر سلولی در سلول‌های HUVEC مشاهده شد (۶۱/۷۷±۳/۴۴ و ۵۷/۲۱±۱/۱۰ درصد به ترتیب) (جدول ۱). هر چند که این روند کاهش در مقایسه با سلول های سرطانی کمتر بود، ولی اختلاف با گروه شاهد معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) (جدول ۱). افزودن حداکثر غلظت عصاره آبی لارو سوپرورم ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر (۵۶/۰۲±۹/۴۳ درصد) سبب کاهش معنی دار تکثیر سلول های سرطانی در مقایسه با گروه شاهد و سایر غلظت های همین عصاره و سایر غلظت های عصاره هیدروالکلی لارو سوپرورم به غیر از غلظت های ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره هیدروالکلی شده بود ($p<۰/۰۵$). افزودن غلظت ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره هیدروالکلی لارو سوپرورم سبب کاهش معنی دار تکثیر سلول های سرطانی (۳۹/۴۲±۴/۴۸ درصد) در مقایسه با شاهد و تمامی غلظت های عصاره آبی و هیدروالکلی لارم سوپرورم شده بود ($p<۰/۰۵$) (جدول ۱).

افزودن ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره هیدروالکلی و آبی لارو سوپرورم سبب کاهش معنی دار تکثیر سلول های سالم (۲۷/۱۴±۱/۳۸ و ۳۹/۲۵±۶/۵۳ درصد، به ترتیب) در مقایسه با تمامی گروه های تیماری و شاهد شد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲). این کاهش در پی افزودن عصاره هیدروالکلی (۱۲۰۰ میکروگرم) بیشتر از آبی بود و این اختلاف نیز معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). افزودن غلظت ۱۲۰۰ میکروگرم عصاره هیدروالکلی لارو سوپرورم (۲۳/۵۲±۱/۸۲) سبب کاهش تکثیر سلول های سرطانی شد که نسبت به گروه شاهد و سایر گروه های تیماری اختلاف معنی داری نشان می داد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲).

تصاویر میکروسکوپ فلورسنت بیانگر شدت آپاپتوز سلول ها در غلظت ۱۲۰۰ هر دو نوع عصاره برای هر دو نوع سلول است. با افزایش غلظت عصاره، آپاپتوز سلولی شدت یافت (شکل ۲). این اثر در عصاره آبی کمتر، ولی قابل مشاهده بود. چنین روند افزایشی وابسته به غلظت پس از ۷۲ ساعت نیز با شدت بیشتری مشاهده شد و البته در عصاره هیدروالکلی نسبت به عصاره آبی قابل رؤیت تر بود (شکل۳). میزان و شدت آپاپتوز و نکروز سلولی در سلول های اندوتلیال جدار داخل رگ های بند ناف که به عنوان یک سلول سالم و غیر سرطانی در این آزمایش استفاده شده اند، به مراتب کمتر از سلول های سرطان سینه دیده شد و در غلظت های پایین و متوسط آسیب چندانی دیده نشد.

جدول ۱. بررسی میزان سمیت سلولی غلظت های مختلف عصاره آبی و الکلی سوپرورم- با کمک آزمون MTT (ساعت ۲۴)

تیمار	درصد سلول های زنده Huvec پس از آزمون MTT (ساعت ۲۴)	درصد سلول های زنده MCF-7 پس از آزمون MTT (ساعت ۲۴)
شاهد	۱۰۰^{b}	۱۰۰^{ed}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۲۵ µg/ml	۱۲۲/۳۶±۱۲/۰۷^{c}	۸۸/۷۱±۹/۹۶^{cd}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۱۰۰ µg/ml	۱۳۳/۳۲±۸/۱۵^{d}	۹۶/۸۲±۹/۸۰^{cde}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۴۰۰ µg/ml	۱۲۰/۴۹±۴/۷۸^{c}	۱۰۶/۴۳±۸/۵۵^{e}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۱۲۰۰ µg/ml	۶۱/۷۷±۳/۴۴^{a}	۵۶/۰۲±۹/۴۳^{b}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۲۵ µg/ml	۱۰۷/۱۱±۳/۴۸^{b}	۸۴/۲۷±۴/۹۱^{c}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۱۰۰ µg/ml	۹۷/۷۶±۵/۱۹^{b}	۸۳/۲۹±۹/۱۱^{c}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۴۰۰ µg/ml	۹۶/۴۴±۴/۷۶^{b}	۶۱/۲۷±۷/۱۷^{b}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۱۲۰۰ µg/ml	۵۷/۲۱±۱/۱۰^{a}	۳۹/۴۲±۴/۴۸^{a}

میانگین های دارای حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی دار دارند. اختلافات در سطح ۵٪ بررسی‌شده اند و میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین گروه های تیماری است.

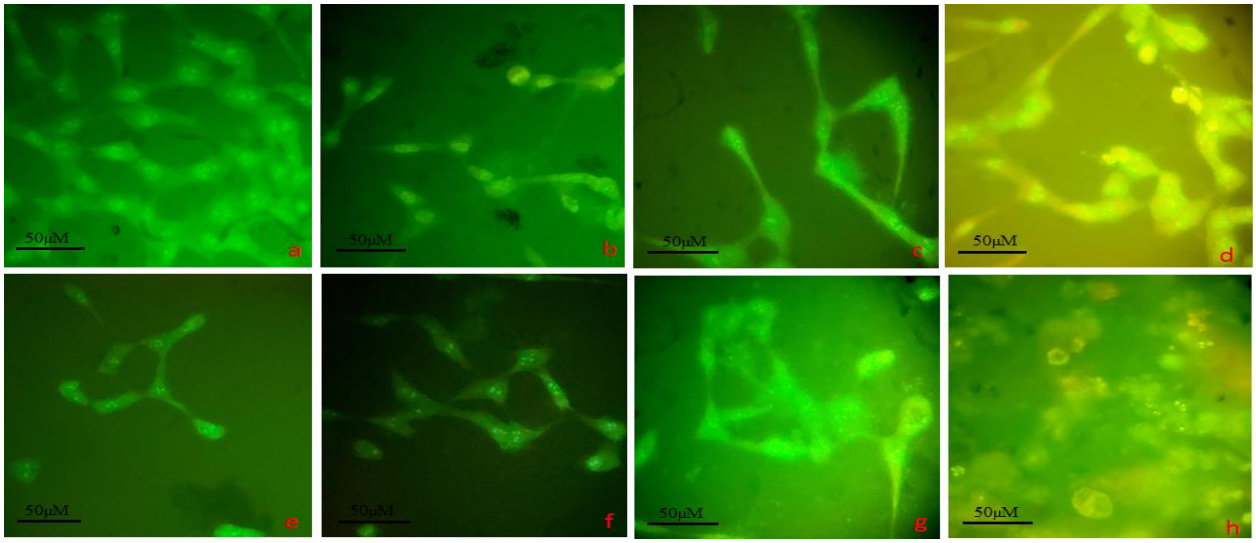
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]

جدول ۲. بررسی میزان سمیت سلولی غلظت های مختلف عصاره آبی و الکلی سوپرورم- با کمک آزمون MTT (ساعت ۷۲)

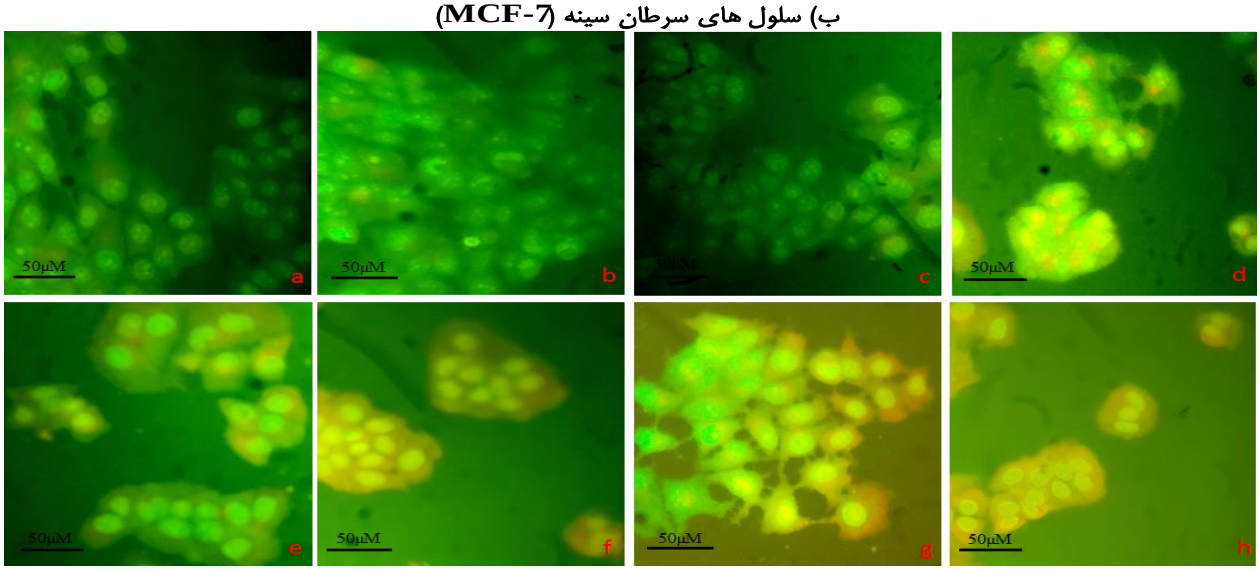
تیمار	درصد سلول های زنده Huvec پس از آزمون MTT (ساعت ۷۲)	درصد سلول های زنده MCF-7 پس از آزمون MTT (ساعت ۷۲)
شاهد	۱۰۰^{c}	۱۰۰^{d}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۲۵ µg/ml	۱۲۴/۳۲±۸/۶۴^{d}	۱۲۱/۱۹±۱۴/۰۹^{e}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۱۰۰ µg/ml	۱۴۳/۸۶±۳/۶۰^{e}	۱۲۴/۶۴±۱۰/۲۵^{e}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۴۰۰ µg/ml	۱۵۷/۷۳±۶/۲۲^{f}	۱۱۳/۷۴±۹/۲۹^{de}
عصاره آبی سوپرورم غلظت ۱۲۰۰ µg/ml	۳۹/۲۵±۶/۵۳^{b}	۳۶/۵۲±۴/۰۷^{b}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۲۵ µg/ml	۱۰۶/۷۲±۰/۷۹^{c}	۸۴/۰۲±۹/۹۸^{c}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۱۰۰ µg/ml	۹۹/۲۸±۸/۲۰^{c}	۷۴/۲۷±۷/۹۶^{c}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۴۰۰ µg/ml	۱۰۰/۲۰±۸/۸۶^{c}	۵۱/۸۰±۴/۶۴^{b}
عصاره الکلی سوپرورم غلظت ۱۲۰۰ µg/ml	۲۷/۱۴±۱/۳۸^{a}	۲۳/۵۲±۱/۸۲^{a}

میانگین های دارای حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی دار دارند. اختلافات در سطح ۵٪ بررسی‌شده اند و میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین گروه های تیماری است.

الف) سلول های نرمال (HUVEC)

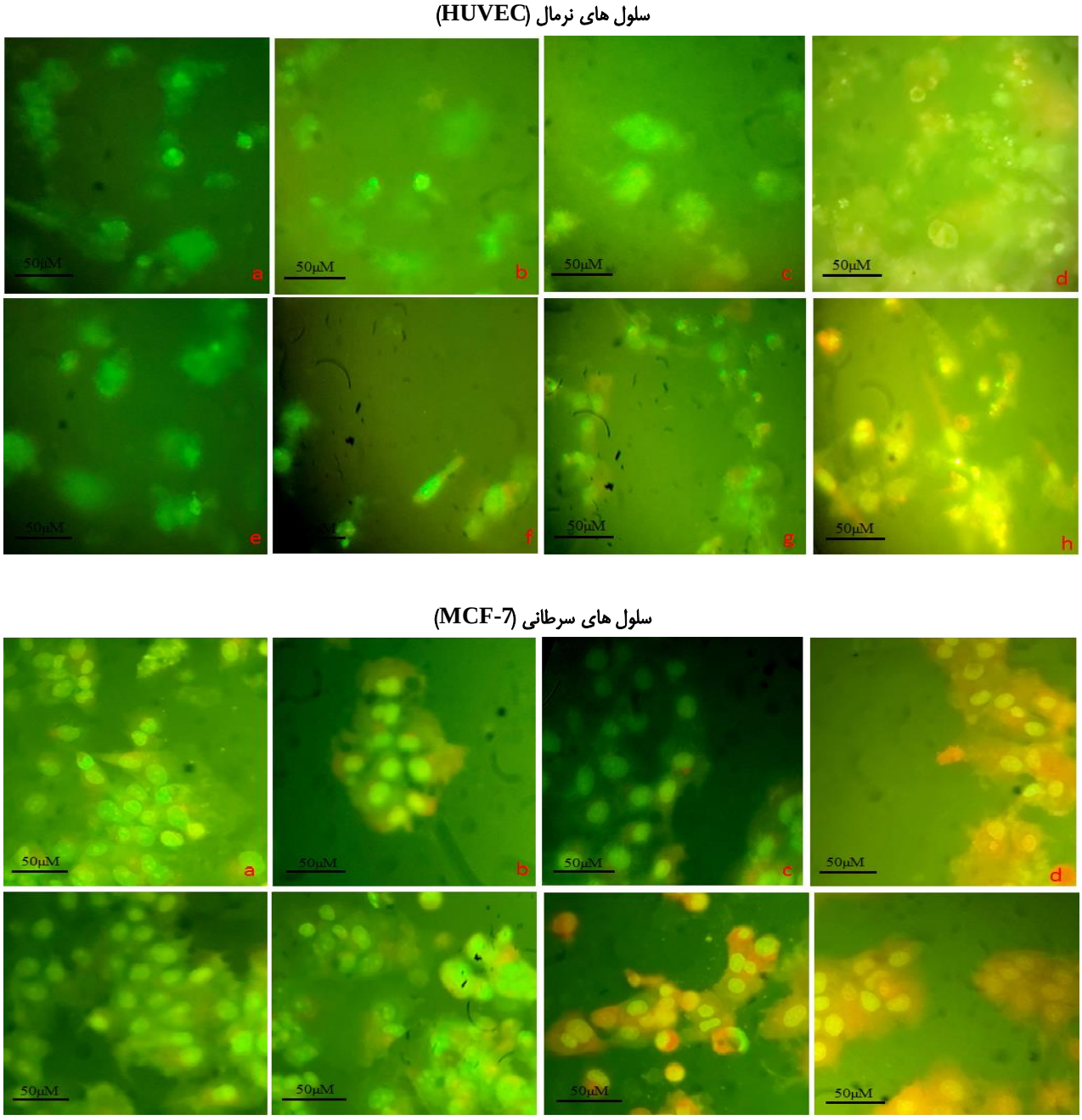


ب) سلول های سرطان سینه (MCF-7)



شکل ۲. رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید- آکریدین نارنجی سلول های سالم (الف) و سرطانی (ب) تیمار شده با غلظت های مختلف عصاره آبی و هیدروالکلی لارو سوپرورم در ساعت ۲۴. a-d) به ترتیب ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیترعصاره آبی، e-h) به ترتیب ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیترعصاره هیدروالکلی.

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]



شکل ۳. رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید- آکریدین نارنجی سلول های سالم (الف) و سرطانی (ب) تیمار شده با غلظت های مختلف عصاره آبی و هیدروالکلی لارو سوپرورم در ساعت ۷۲. a-d) به ترتیب ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیترعصاره آبی، e-h) به ترتیب ۲۵، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیترعصاره هیدروالکلی

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که هر دو نوع عصاره در غلظت بالای خود سبب القای مرگ و مهار تکثیر در این سلول های سرطان سینه شدند. عصاره هیدروالکلی در غلظت های ۲۵، ۱۰۰ و ۴۰۰ نیز روند کاهش تکثیر را بر سلول های سرطانی، برخلاف عصاره آبی نشان می داد. مطالعات اندکی به بررسی نقش عصاره ها و ترکیبات مستخرج از این لارو پرداخته اند. مشابه مطالعه حاضر، فعالیت ضد سرطانی عصاره اتانولی و ایزوپروپانولی لارو *Z. morio* بر سلول های سرطان سینه از اثر مستقیم آنها حکایت می کند. این اثر مهاری برای عصاره ایزوپروپانولی به مراتب قوی‌تر از عصاره اتانولی بود (۱۴). در مطالعه Hou و همکاران که از عصاره لارو مگس خانگی *Musca domestica L.* علیه سلول های سرطان کولون استفاده شده بود. این عصاره اثرات نامطلوبی بر سلول های سالم نداشته بود، در حالیکه سبب مهار تکثیر سلول های سرطانی شده بود (۲۰). Hasaballah و همکاران، اثرات ضد سرطانی غلظت های مختلف عصاره لاروهای دوبالان *Musca domestica*، *Lucilia sericata* و *Chrysomya albiceps* را علیه سلول های سرطانی کولون انسان مورد بررسی قرار دادند. بیشترین اثر علیه سلول های سرطان کولون مربوط به عصاره متانولی گونه های *L. albiceps*

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]

و *M. domestica* بود (۶). نوعی پپتید استخراجی از *Calliphora vicina* موسوم به alloferon اثرات سمی بر سلول های سرطانی نشان داده است (۲۱). اثرات ضد سرطانی عصاره اتانولی، و بخش های هگزان و اتیل استات لارو *T. molitor* (حشره‌ای بسیار مشابه سوپرورم) علیه سلول های سرطان پروستات، سرویکس، کبد، کولون، ریه، سینه و تخمدان بررسی شده و اثرات مهاری مشاهده شد (۲۲). Darbemamieh و همکاران در بررسی نقش عصاره آبی و الکلی *T. molitor* بر سلول های سرطان سینه، تأثیر نسبی عصاره هیدروالکلی در غلظت بالا بر سلول های سرطان سینه مشاهده کردند (۱۵).

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره هیدروالکلی نسبت به عصاره آبی تأثیر بهتری بر مهار سلول های سرطانی خصوصاً در حداکثر غلظت خود بر سلول های سرطانی بر جای گذاشته بود. اطلاعات بیشتری در ارتباط با ترکیبات مؤثره این لارو و جداسازی و استفاده از این ترکیبات در مطالعات آزمایشگاهی و درون تنی لازم است تا شرایط ساخته شدن داروهای جدید مؤثر بر سرطان سینه و سایر سرطان ها از یافته های این پژوهش فراهم گردد. خواص ضد سرطانی عصاره این حشره بر سایر انواع سلول های سرطانی نیز نیازمند بررسی است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه رازی به جهت حمایت معنوی از این تحقیق، تقدیر و تشکر می گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]

Comparison of the Effect of Different Concentrations of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of *Zophobas Morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) Larvae on Breast Cancer Cells and Human Umbilical Vein Endothelial Cells

M. Darbemamieh (PhD)*[1], L. Soltani (PhD)[2]

1.Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, I.R.Iran

2.Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 23; 2021; PP: 280-288

Received: Jan 2nd 2021, Revised: Mar 13rd 2021, Accepted: Apr 10th 2021.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Cancer is one of the challenges of the medical world. Recently, in the search for new compounds with anti-cancer properties, attention to natural compounds has increased. The aim of this experimental study was to investigate the anti-cancer properties of various concentrations of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae, as a mass-rearing and available insect, on breast cancer cells.

METHODS: In this experimental study, the insect was reared at a temperature of 25 °C and a relative humidity of 60% on wheat bran. At the final larval stage, the insects were dried and pulverized. Breast cancer cells (MCF-7) and normal cells (HUVEC) purchased from Pasteur Institute, were treated for 24 and 72 hours by different concentrations of aqueous and hydroalcoholic extracts (zero, 25, 100, 400 and 1200 µg/ml). Water was used as a control. Cell viability was measured by MTT assay. In five treatment groups, 10,000 cells of each extract were cultured in three replicates.

FINDINGS: Adding high concentration of hydroalcoholic extract (39.42±4.48 in 24 hours, 23.52±1.82 in 72 hours) compared to aqueous extract (56.02±9.43 in 24 hours, 36.52±4.07 at 72 hours) had a better effect on inhibiting the proliferation of cancer cells ($p<0.05$). The effect of these extracts on normal cells was observed only in high concentrations and its amount was lower than cancer cells (aqueous and hydroalcoholic extracts [61.77±3.44 and 57.21±1.10 in 24 hours] and [39.25±6.53 and 27.14±1.38 in 72 hours], respectively) ($p<0.05$).

CONCLUSION: The results showed that the high concentration of hydroalcoholic extract of *Z. morio* larvae played an effective role in inhibiting breast cancer cells, without having a significant effect on normal cells.

KEY WORDS: *Darkling Beetles, Breast Cancer Cells, Cytotoxicity, Aqueous and Hydroalcoholic Extracts.*

Please cite this article as follows:

Darbemamieh M, Soltani L. Comparison of the Effect of Different Concentrations of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of *Zophobas Morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) Larvae on Breast Cancer Cells and Human Umbilical Vein Endothelial Cells. J Babol Univ Med Sci. 2021; 23: 280-8.

***Corresponding Author: M. Darbemamieh (PhD)**

Address: Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, I.R.Iran

Tel: +98 83 38324820

E-mail: m.darbemamieh@razi.ac.ir

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]

References

1.Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018;68(6):394-424.

2.Karpuz M, Silindir-Gunay M, Ozer AY. Current and Future Approaches for Effective Cancer Imaging and Treatment. Cancer Biother Radiopharm. 2018;33(2):39-51.

3.Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, et al. Natural compounds for cancer treatment and prevention. Pharmacol Res. 2009;59(6):365-78.

4.Faruck MO, Yusof F, Chowdhury S. An Overview of Antifungal Peptides Derived from Insect. Peptides. 2016;80:80-88.

5.Nasir Uddin Ahamad M, Mojumder S, Asing, Sikdar D. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Larval Extract of *Musca domestica* (House Fly). Int J Curr Res Rev. 2012;4(4):63-9.

6.Hasaballah AI, Shehata AZI, Shehab AM. Antioxidant and Anticancer Activities of Some Maggots Methanol Extracts. Egypt Acad J Biol Sci. 2019;12(1):111-9.

7.Feng Y, Zhao M, He Z, Chen Z, Sun L. Research and utilization of medicinal insects in China. Entomol Res. 2009;39:313-6.

8.Costa-Neto EM. The use of insects in folk medicine in the state of Bahia,Northeastern Brazil, with notes on insects reported elsewhere in Brazilian folk medicine. Hum Ecol. 2002;30:245-63.

9.Dossey AT. Insects and their chemical weaponry: new potential for drug discovery. Nat Prod Rep. 2010;27(12):1737-57.

10.Ratcliffe NA, Mello CB, Garcia ES, Butt TM, Azambuja P. Insect natural products and processes: new treatments for human disease. Insect Biochem Mol Biol. 2011;41(10):747-69.

11.Bagheri-Zenouz E. Pests of Stored Products and Management to Maintain, Bio-ecology of Insects, Acari and Microorganism. Tehran: University of Tehran; 2007.p. 449. [In Persian]

12.Arbab A. Industrial insects: Yellow mealworm, Introduction, rearing, processing, usages. Tehran: Islamic Azad University; 2018.p. 206. [In Persian]

13.Rumbos CI, Athanassiou CG. The Superworm, *Zophobas morio* (Coleoptera:Tenebrionidae): A 'Sleeping Giant' in Nutrient Sources. J Insect Sci. 2021;21(2):1-11.

14.Yusof F, Chowdhury S, Faruck M O, Sulaiman N. Anticancer peptides derived from supermeal worm (*Zophobas morio*) larvae. Int Food Res J. 2017;24(Suppl):S451-6.

15.Darbemamieh M, Soltani L. Evaluation of anticancer and apoptotic properties of aqueous and ethanolic extracts of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae on breast cancer cells. Stud Med Sci. 2020;31(5):354-63. [In Persian]

16.Mohtar JA. Isolation of low molecular mass antibacterial compound from supermeal worm *zophobas morio* fabricius [MSc Thesis]. Kuala Lumpur: International Islamic University Malaysia; 2015. Available from: https://lib.iium.edu.my/mom/services/mom/document/getFile/BArgVoJMbbH5iTz0iBspbC0pKD7agOol20160202151934304

17.Shafaghi M, Salehzadeh A, Moshfegh A. Anticancer effects of *Laurencia caspica* extract on breast cancer T47D cell line. Aquat Physiol Biotechnol. 2016;4(1):69-83. [In Persian]

18.Jabbari N, Zarei L, Esmaeili Govarchin Galeh H, Mansori Motlagh B. Assessment of synergistic effect of combining hyperthermia with irradiation and calcium carbonate nanoparticles on proliferation of human breast adenocarcinoma cell line (MCF-7 cells). Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2018;46(sup2):364-72.

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]

19.Esmaili Gourvarchin Galeh H, Delirezh N, Abtahi Froushani S M, Afzale Ahangaran N. The Effect of Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells Pulsed with Vitamin D3 on the Function of Peripheral Blood Neutrophils in Rat. Qom Univ Med Sci J. 2014;8(5):1-8. [In Persian]

20.Hou L. Shi Y, Zhai P, Le G. Antibacterial activity and in vitro anti-tumor activity of the extract of the larvae of the housefly (*Musca domestica*). J Ethnopharmacol. 2007;111(2):227-31.

21.Chernysh S, Kim SI, Bekker G, Pleskach VA, Filatova NA, Anikin VB, et al. Antiviral and antitumor peptides from insects. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(20):12628-32.

22.Lee J-E, Lee A-J, Jo D-E, Cho J-H, Youn K, Yun E-Y, et al. Cytotoxic Effects of *Tenebrio molitor* Larval Extracts against Hepatocellular Carcinoma. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2015;44(2):200-7.

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.280]