

بررسی تأثیر عصاره بدن حشرات (تولیدات آنها) و برخی بندپایان در مهار رشد سلول‌ها یا تومورهای سرطانی (رده سلول‌های سرطان پستان MCF7)

چکیده

دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۳ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۸ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۳/۰۸/۰۱

زمینه و هدف: حشرات و بندپایان و تولیدات آنها به‌عنوان منابع دارویی از تمدن‌های قدیم مورد استفاده قرار می‌گرفتند. سرطان یکی از معضلات بزرگ علم پزشکی است که دارویی تاکنون برای کنترل سریع و دقیق آن کشف نشده است. در این تحقیق به بررسی تأثیر عصاره بدن حشرات (تولیدات آنها) و برخی بندپایان در مهار رشد سلول‌ها یا تومورهای سرطانی (رده سلول‌های سرطان پستان MCF7) پرداخته شد.

روش بررسی: مطالعه پایه و تجربی در اصفهان و از ۱۳۹۷ تا ۱۴۰۲ انجام شد. در این پژوهش از عصاره بدن شش جنس از حشرات: آبدزدک با اسم علمی *Gryllotalpa sp.* مورچه با اسم علمی *Polyrhachis sp.* زنبور زرد با اسم علمی *Dolichovespula sp.* زنبور عسل با اسم علمی *Apis mellifera*، سوسری آمریکایی با اسم علمی *Periplaneta americana* مگس سرکه با اسم علمی *Drosophila melanogaster* و یک جنس از چیلوپودا صدپا با اسم علمی *Scolopendra sp.* با آب مقطر و الکل ۷۰٪ شستشو داده شد سپس فریزداری و پودر شد. تست MTT برای بررسی میزان تأثیر دوزها انجام شد. دوزهای مورد تأثیر از حشرات و صدپا در شش تکرار و سه بار به سلول‌های MCF-7 انجام شد.

یافته‌ها: جنس‌های *Apis*، *Polyrhachis sp.*، *Periplaneta americana*، *Scolopendra sp.*، *Drosophila melanogaster*، *Gryllotalpa sp.*، *mellifera*، به ترتیب دارای بیشترین اثر و در نهایت *Dolichovespula sp.* کمترین اثر را در القای آپوپتوز و مرگ سلولی در لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 داشته *Scolopendra sp.* از غلظت ۵۰۰ $\mu\text{g/l}$ باعث القای مرگ سلولی در بالای ۵۰٪ سلول‌های سرطانی MCF-7 شده است.

نتیجه‌گیری: دستاورد اعمال هفت جنس متفاوت از بندپایان و حشرات بود، نشان داد که این جنس‌ها دارای پتانسیل درمانی عالی به‌ویژه در درمان سلول‌های سرطانی MCF-7 می‌باشد.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، حشره‌درمانی، صدپا، عصاره، سلول‌های سرطانی، MCF-7

بهار رستمی زاده^۱، علیرضا جلالی زند^{۲*}، کامران قایدی^۳، رزیتا نصیری^۳

۱- گروه حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲- گروه حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۳- گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و صنعت زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

* نویسنده مسئول: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، گروه حشره‌شناسی.

تلفن: ۰۳۱-۳۵۳۵۴۰۰۱
E-mail: arJalalizand@gmail.com

مقدمه

بدن رشد کرده و در نهایت ارگان‌های دیگر را درگیر می‌سازند و این سرطان از جمله سرطان‌هایی است که در بافت‌های توپر ایجاد می‌شود.^۱ این بیماری بیشتر در زنان دیده می‌شود اما مردان نیز می‌توانند به آن مبتلا شوند.^۲ در بیماران دچار متاستاز، دردهای استخوانی، تورم و بزرگی گره‌های لنفاوی، تنگی نفس یا زردی

سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان و علت اصلی مرگ در میان زنان سراسر دنیا می‌باشد در بیشتر موارد سلول‌های سرطانی توده توموری ایجاد می‌کنند و به واسطه گردش سلول‌های سرطانی خون در سراسر

برای درمان کم خونی مناسب است. پودر سوسری در درمان غش و گوش خیزک برای درمان گوش درد استفاده می‌شد.^{۱۸} اکنون استفاده از حشرات در داروسازی مورد توجه قرار گرفته است.^{۱۹} حشرات زیادی در طب سنتی ثبت شده‌اند که فعالیت‌های ضدسرطانی از خود نشان می‌دهند. این کاربردها شامل استفاده از *Bombyx mori* و *Apis mellifera* برای سرطان ریه، *Tabanus mandarinus* (مگس اسب چینی) و *Cyclopelta parva* (حشره dadap) برای سرطان مری، *Hueckys sangua* (حشره بانوی قرمز) برای سرطان پوست، *Blatta orientalis* (سوسری شرقی) برای سرطان کلیه و *Cryptotympana japonensis* (سیکادای سیاه) برای سرطان تیروئید.^{۲۰} هدف از این تحقیق بررسی تأثیر عصاره‌های حشرات در کنترل سرطان پستان با منشا ایتلیال MCF-7 به‌عنوان نمونه از لاین‌های سلول‌های سرطانی انجام شد. در این تحقیق ترکیبات کل بدن حشرات انتخابی به‌عنوان متغیر اصلی که در کنترل رشد سلول سرطانی در نظر گرفته شده است.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون به‌همراه گروه شاهد و از لحاظ هدف از نوع تحقیقات بنیادی کاربردی بود که به‌شيوه آزمایشگاهی در دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان (واحد خوراسگان) و دانشگاه اصفهان انجام گرفت. در تمام مراحل، پژوهش مطابق پروتکل استاندارد کار با حشرات و سلول‌های سرطانی و با رعایت ملاحظات اخلاقی با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1404.113 انجام شد. تعداد هفت جنس از بندپایان و حشرات شامل صدپا به تعداد ۱۲ عدد، آبدزدک به تعداد ۱۲ عدد، زنبور عسل به تعداد ۲۵ عدد، مگس سرکه به تعداد ۶۰ عدد، سوسری آمریکایی به تعداد ۱۲ عدد، مورچه به تعداد ۲۵ عدد و زنبور زرد به تعداد ۲۵ عدد، مطابق تحقیقات گذشته انتخاب شدند. باتوجه به جنه این حشرات تعداد هر کدام از آنها متفاوت بود و از نقاط مختلف استان اصفهان (شاهین‌شهر، زیار و سمیرم) جمع‌آوری شدند. حشرات و بندپایان پس از جمع‌آوری شسته فریزدراپر و پودر شدند. سپس پس از انجام پروسه عصاره‌گیری روی جامعه آماری سلول‌های سرطانی و MCF-7 به تعداد 1×10^6 در پلیت ۹۶ چاهک در سه تکرار انجام شد. سلول‌های سرطانی MCF-7

(یرقان) هم ممکن است دیده شود.^۳ مرگ سلولی به‌صورت کلاسیک به دو نوع، آپوپتوزیس و نکروزیس، تقسیم می‌شود. تشخیص و تعیین نوع مرگ سلولی در ارایه راهکارهای درمانی نقش اساسی دارد.^۴ سلول‌های سرطانی پستان لاین MCF-7 سلول‌های ایتلیال هستند که در اثر موتازن‌های متفاوت و عامل ژنتیکی به رده سلولی نامیرا تبدیل می‌شوند. در نتیجه جهش، پیری و مرگ طبیعی سلولی از بین رفته و قدرت رشد و تکثیر سلولی افزایش می‌یابد و چرخه طبیعی سلول مختل می‌شود.^۵ تشخیص سرطان پستان از طریق انجام بیوپسی یا نمونه‌برداری از بافت مشکوک امکان‌پذیر است.^۶ در مبتلایان به سرطان پستان از درمان‌هایی چون جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی، هورمون‌درمانی و درمان هدفمند استفاده می‌شود هرچه میزان رشد سلولی بالاتر باشد، توده مهاجم‌تر است و سرطان پستان بسته به نوع سرطان، مرحله و میزان پیش‌روی سرطان و سن فرد متغیر است.^{۷،۸} نرخ بقا در کشورهای توسعه یافته بالاتر است، به‌گونه‌ای که ۸۰٪ و ۹۰٪ از افراد در انگلستان و آمریکا حداقل پنج سال زنده هستند.^{۹،۱۰} این سرطان از هر هفت زن در سراسر جهان، یک نفر (۱۴٪) را مبتلا می‌کند.^{۱۱} در ایران سالانه هشت هزار نفر به سرطان پستان مبتلا می‌شوند و شیوع ابتلا به سرطان پستان در ایران حدود ۳۰ تا ۳۵ مورد در ۱۰۰ هزار نفر است.^{۱۱}

در گذشته گونه‌های مختلف حشرات همچون لارو کرم ابریشم، ملخ، سوسری، آبدزدک و غیره برای درمان برخی بیماری‌ها استفاده می‌گردید.^{۱۲} این داروها به‌صورت خوراکی، تزریق، پماد، حشرات پخته و زنده مورد استفاده قرار می‌گرفت.^{۱۳} در صنایع داروسازی نیز از بعضی از بی‌مهرگان مثل عقرب و رتیل استفاده می‌شوند. درمان بیماری‌ها توسط حشرات را علم انتوموتراپی (Entomotherapy) یا حشره درمانی می‌گویند.^{۱۴} در سال ۱۹۸۸، ۵۴ نوع داروی خام که از حشرات گرفته شده را در کتاب هربال (Herbal) آورده‌اند. نسخ چینی به ۷۳ گونه از حشرات که برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفتند اشاره کرده‌اند.^{۱۵} امروزه در چین ۱۴۳ دارو از حشرات تهیه شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد، که ۱۳ راسته و ۴۸ فامیل را در بر می‌گیرند.^{۱۶} در طول قرن ۱۷ مردم اروپا عقیده داشتند که بسیاری از انواع حشرات قدرت شفا دارند.^{۱۷} به‌طور مثال روغنی که از لارو مولونتا وولگاریس (*Melolontha vulgaris* L.) گرفته شده که در درمان زخم و رماتیسم و حشره بالغ آن که در شراب خیس‌خورده

پودرهای حشرات در شرایط نور ماوای بنفش به مدت چهار ساعت سترون و استریل و از پودرها، محلول (آب RNA asefree و DMSO ۱٪) عصاره جهت تزریق در سلول‌های سرطانی آماده‌سازی شد.

تهیه غلظت‌های لازم عصاره حشرات: محلول عصاره حشرات از پودر سترون شده در حلال‌های مختلف مثل آب مقطر، الکل اتانول، DMSO و غیره امتحان و بهترین حلال (براساس کدورت و رنگ) انتخاب گردید.

۰/۰۱ میکرولیتر DMSO بهترین حلال برای پودر سترون حشرات و صدپا بود که به آن مدیوم اضافه شد و غلظت‌های ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۸۰۰۰ µg/ml از پودر جهت تزریق به چاهک‌های سلول‌های سرطانی MCF-7 آماده شد.

تست MTT یا ارزیابی سمیت: ۱۰ تیمار برای انجام تست در نظر گرفته شد و از پلیت‌های ۹۶ ول یا خانه حاوی سلول استفاده گردید که شامل بدون سلول یا بلانک و حاوی مدیوم خالی بدون سلول و صورتی رنگ بود، دومین تیمار شاهد که Untreated شامل مدیوم و

پژوهشگاه رویان خریداری شد. مشخصات علمی رده سلول‌های سرطانی MCF-7 در زیر قابل‌ملاحظه است.

آماده‌سازی حشرات و صدپا: آبدزدک از پارک‌های فضای سبز شاهین‌شهر، زنبور عسل از کندوی زنبورعسل اطراف شاهین‌شهر، مگس سرکه از خانه‌های چوبی شاهین‌شهر، صدپا از اطراف زیار، سوسری آمریکایی، از پارک‌های شاهین‌شهر، مورچه و زنبور زرد از دامنه‌های اطراف شهر سمیرم جمع‌آوری شدند و در ظروف در بسته مجهز به منافذ ورود و خروج هوا (جهت زنده ماندن حشره) قرار داده شد تا پس از شناسایی به دستگاه فریزدرایر منتقل گردد.

نمونه‌ها به‌صورت مکانیکی آسیاب و پودر و الک (الک آزمایشگاهی ۳۰ مش) شدند. محصول نهایی منجمد خشک شده به‌صورت اختصار POL (Polyrhachis sp.)، GRYL (Gryllotalpa)، (sp.) API (Apis mellifera)، DROS (Drosophila melanogaster)، SCOL (Scolopendra sp.)، PRIP (Periplaneta americana)، DOVES (Dolichovespula sp.) نام‌گذاری شدند. در مرحله نهایی

جدول ۱: مشخصات رده سلول‌های سرطانی MCF-7

اختصار و مشخصات رده سلولی / سلول استخراج شده از بافت	(C135) MCF-7
گونه جانوری و بافت منشا استخراج سلول	انسان/پستان (پستان)
مورفولوژی و نوع کشت سلول (چسبنده، سوسپانسیون)	سلول‌ها اپیتلیال
محیط کشت مصرفی جهت تکثیر و نگهداری سلول	DMEM + ۱۰٪ FBS + پنی‌ستریپ ۱٪ + NEAA ۱٪
آنزیم پیشنهادی جهت پاساژ و فریز سلول	تریپسین ۰/۰۵٪
نوع محلول فریز مورد استفاده جهت فریز سلول	۱۰٪ DMSO + ۹۰٪ FBS

جدول ۲: اسامی گونه‌ها و خانواده‌ی حشراتی که در آزمایش از آنها استفاده شد

ردیف	نام حشره	راسته	خانواده	اسم علمی
۱	آبدزدک	Orthoptera	Gryllotalpidae	<i>Gryllotalpa</i> sp.
۲	مورچه	Hymenoptera	Formicidae	<i>Polyrhachis</i> sp.
۳	زنبور زرد	Hymenoptera	Vespidae	<i>Dolichovespula arenaria</i>
۴	زنبور عسل	Hymenoptera	Apidae	<i>Apis mellifera</i>
۵	سوسری آمریکایی	Blattodea	Blattidae	<i>Periplaneta americana</i>
۶	مگس سرکه	Diptera	Drosophilidae	<i>Drosophila melanogaster</i>
۷	صدپا	Scolopendromorpha	Scolopendridae	<i>Scolopendra</i> sp.

بیشترین قابلیت زنده‌مانی حدود ۱۰٪ می‌باشد. این قابلیت زنده‌مانی نسبت به ۱۰۰٪ کنترل یا شاهد بسیار معنادار می‌باشد.

نمونه *Dolichovespola sp.*: پس از بررسی سمیت سلولی و نرمال‌سازی که در سه بار آزمایش که هر کدام شش تکرار انجام شد مشخص شد، نمونه *Dolichovespola sp.* از غلظت ۶۲/۵ تا دوز ۲۰۰۰ µg/ml دارای اثر سمیت تدریجی روی رشد و تکثیر لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 است. اثر معنادار نمونه *Dolichovespola sp.* در غلظت ۵۰۰ µg/ml شروع می‌شود و در غلظت ۴۰۰۰ µg/ml به اثر ۵۰٪ در القای آپوپتوز و مرگ سلولی می‌شود و در غلظت ۸۰۰۰ µg/ml بیشترین تأثیر را در مرگ سلولی القا می‌کند.

نمونه *Gryllotalpa sp.* بررسی تست سمیت روی لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 نشان‌دهنده شروع تأثیر معنادار این عصاره از غلظت ۶۲/۵ µg/ml می‌باشد. کاهش معنادار ۵۰٪ قابلیت زنده‌مانی سلول‌ها از غلظت ۱۰۰۰ µg/ml می‌باشد و در غلظت ۸۰۰۰ µg/ml حدود ۲۵٪ قابلیت زنده‌مانی مشهود است یعنی حدود ۷۵٪ القای آپوپتوز و مرگ سلولی در لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 دیده می‌شود.

نمونه *Polyrhachis sp.* پس از بررسی تست سمیت و نرمال‌سازی آن در سه بار آزمایش هر کدام در شش تکرار در نمونه *Polyrhachis sp.* مشاهده شد که اثر معنادار کاهش معنادار در رشد و تکثیر لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 از غلظت ۲۵۰ µg/ml

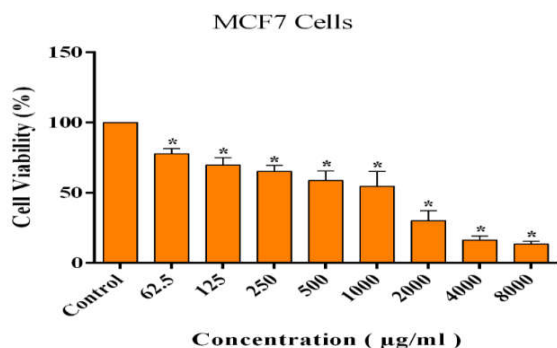
سلول دست نخورده بدون هیچ ماده اضافی بود و سلول‌های سرطانی مورد مطالعه در آن صددرصد رشد کردند. هشت تیمار بعدی شامل هشت غلظت ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ µg/ml در شش تکرار قرار داده شد. تست MTT برای هر سلول، سه بار به مدت سه هفته تکرار شد جذب توسط دستگاه ریزخوان یا میکروپلت خوان (BioRad) در ۵۷۰ nm اندازه‌گیری شد. سلول‌های MCF-7 غیر تیمار شده به‌عنوان شاهد با ۱۰۰٪ زنده‌مانی و محیط کشت به‌عنوان خالص در نظر گرفته شد. نتایج به‌عنوان مقادیر میانگین Mean انحراف معیار از چهار اندازه‌گیری مستقل بیان شد. در مقایسه با گروه کنترل غیر تحت درمان، جمعیت زنده ماندن سلول‌ها (درصد) با استفاده از معادله زیر به‌دست آمد.

$$100 \times (OD570 \text{ (شاهد)}) / (OD570 \text{ (نمونه)}) = \text{ماندگاری سلول (\%)}$$

محاسبه IC50: تجزیه و تحلیل آماری برای به‌دست آوردن نیمه حداکثر غلظت مهاری (IC50) از طریق نرم‌افزار Graph Pad Prism software, version.6 (Prism GraphPad, Academic, Dotmatics, UK) انجام شد. رگرسیون‌های غیرخطی لگاریتمی (بازدارنده) در مقابل پاسخ با چهار پارامتر برای تعیین IC50 انتخاب شدند. پارامترهای بالا و پایین به‌ترتیب ۱۰۰ و صفر درصد برای محاسبه IC50 محدود شدند. تخمین LD50 براساس مقادیر IC50 در آزمایشگاه LD50 (۵۰٪ دوز کشنده) در بدن انسان از فرمول زیر به‌دست آمد:

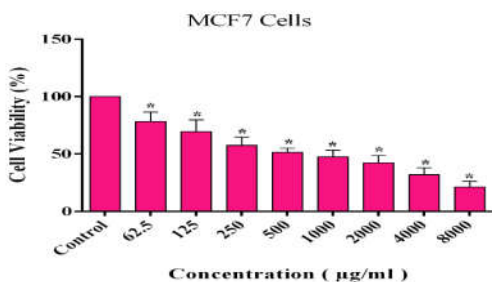
$$[\log LD50 = 0.372 \times \log IC50 (\mu\text{g/ml}) + 2.024]$$

یافته‌ها

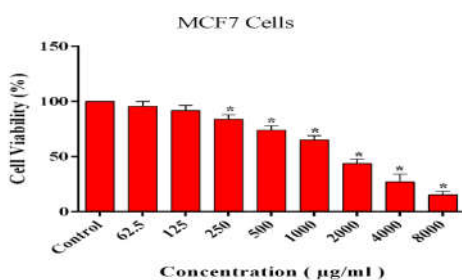


نمودار ۱: تست MTT، *Apis mellifera* روی لاین سلولی MCF7

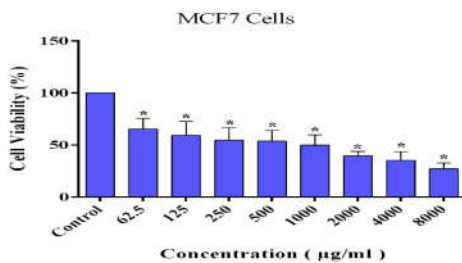
نمونه *Apis mellifera* تأثیر معنادار از غلظت ۲۰۰۰ µg/ml که دارای اثری حدود ۲۵ تا ۵۰٪ سمیت برای لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 شروع شده است و به‌ترتیب غلظت ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ µg/ml بیشترین سمیت معنادار را نشان داده‌اند. سمیت نمونه مذکور از دوز ۶۲/۵ µg/ml به‌تدریج خود را نشان می‌دهد و سبب القای آپوپتوز و مرگ‌ومیر سلول‌های سرطانی MCF-7 می‌شود. نمونه *Peripelaneta americana* تأثیر معناداری را در القای آپوپتوز و مرگ سلولی از غلظت ۱۲۵ تا ۸۰۰۰ µg/ml روی لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 داشتند. کاهش معنادار قابلیت زنده‌مانی سلول‌ها و رشد و تکثیر آنها در حدود ۵۰٪ از غلظت ۲۰۰۰ µg/ml دیده می‌شود و در غلظت ۸۰۰۰ µg/ml



نمودار ۴: تست MTT، *Gryllotalpa sp.* روی لاین سلولی MCF7



نمودار ۵: تست MTT، *Polyrhachis sp.* روی لاین سلولی MCF7



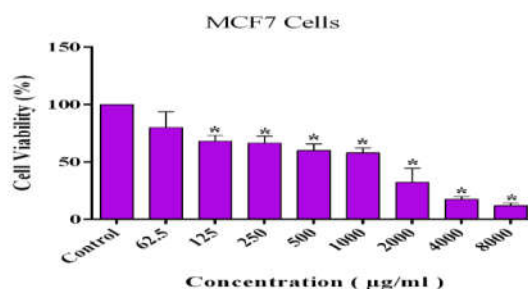
نمودار ۶: تست MTT، *Drosophila melanogaster* روی لاین سلولی MCF7

دیده شد. مشخص شد تأثیر معنادار نمونه *Scolopendra sp.* در افزایش مرگ سلولی و القای آپوپتوز در لاین آپوپتوز و مرگ سلولی

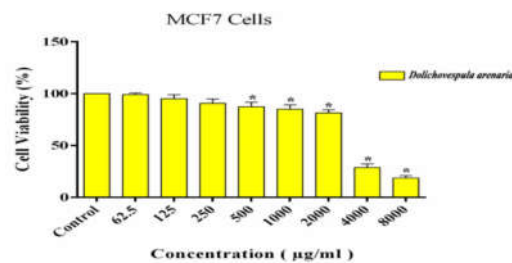
آغاز شده و در غلظت ۲۰۰۰ µg/ml کاهش معنادار مرگومیر سلولی و القای آپوپتوز به ۵۰٪ می‌رسد. در غلظت ۸۰۰۰ µg/ml بیشترین تأثیر در مرگومیر سلولی حدود ۹۰٪ القای آپوپتوز دیده می‌شود.

نمونه *Drosophila melanogaster*: بررسی سمیت در نمونه *Drosophila melanogaster* نشان می‌دهد که کاهش معنادار در قابلیت زنده‌مانی لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 از غلظت ۶۲/۵ µg/ml بسیار ملموس است و در حدود ۲۵٪ کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی MCF-7 را در این غلظت نشان می‌دهد و در غلظت ۱۰۰۰ µg/ml به حدود ۵۰٪ القای آپوپتوز و مرگومیر سلولی نسبت به کنترل یا شاهد مشاهده می‌شود. در غلظت ۸۰۰۰ µg/ml کاهش معنادار ۷۰٪ در قابلیت زنده‌مانی لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 دیده می‌شود.

نمونه *Scolopendra sp.*: بررسی تست سمیت و مرگومیر سلولی در نمونه *Scolopendra sp.* پس از نرمال‌سازی نشان‌دهنده کاهش فوق‌العاده معناداری در حدود ۵۰٪ در القای در غلظت ۶۲/۵ µg/ml



نمودار ۲: تست MTT، *Periplaneta americana* روی لاین سلولی MCF7

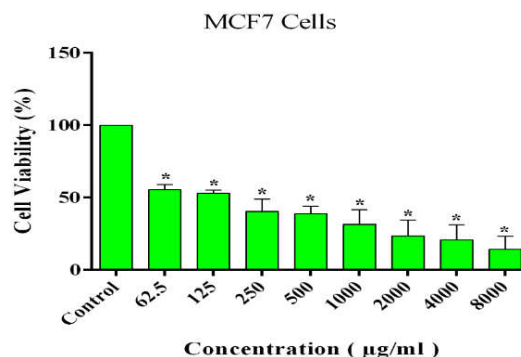


نمودار ۳: تست MTT، *Dolichovespula sp.* روی لاین سلولی MCF7

سلولی MCF-7: باتوجه به نمودار ۷ مقایسه تست سمیت ۷ جنس از حشرات و صدپا حاکی از این است که بهترین تاثیر معنادار در کاهش قابلیت زنده‌مانی لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 متعلق به گونه *Scolopenra sp.* می‌باشد که در کمترین غلظت $62/5 \mu\text{g/ml}$ کاهش معنادار ۵۰٪ قابلیت زنده‌مانی و باعث مرگ سلولی به میزان ۵۰٪ نسبت به نمونه کنترل یا شاهد را داشته است.

پس از *Scolopenra sp.*، *Drosophila melanogaster* این کاهش معنادار قابلیت زنده‌مانی را در غلظت پایین یعنی $62/5 \mu\text{g/ml}$ حدود ۶۰٪ نشان داده و در رتبه‌های بعد به ترتیب *Apis mellifera* و *Gryllotalpa sp.* و *Periplaneta americana* قرار می‌گیرند و در رتبه‌های آخر به ترتیب *Polyrhachis sp.* و *Dolichovespula sp.* قرار می‌گیرند.

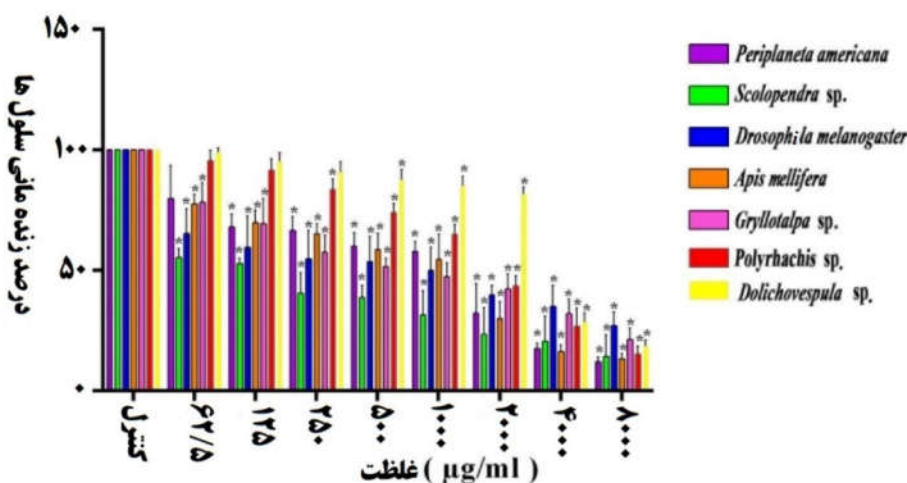
قابل توجه است که در غلظت‌های $4000 \mu\text{g/ml}$ تاثیر معنادار در القای مرگ سلولی ابتدا در نمونه *Apis mellifera* و سپس *Periplaneta americana* و در غلظت $8000 \mu\text{g/ml}$ ابتدا در نمونه *Periplaneta americana* و سپس *Apis mellifera* بیشتر از *Scolopenra sp.* می‌باشد.



نمودار ۷: تست MTT، *Scolopenra sp.* روی لاین سلولی MCF7

سلول‌های سرطانی MCF-7 از غلظت $62/5 \mu\text{g/ml}$ شروع شده و تا غلظت $8000 \mu\text{g/ml}$ به اوج خود به مقدار حدود ۹۰٪ می‌رسد. این نمونه بهترین تاثیر را در غلظت پایین نشان روی مرگ سلولی نشان داده است. مقایسه تست MTT کلیه عصاره‌های حشرات روی لاین

لاین سلول‌های سرطانی MCF7



نمودار ۸: مقایسه تست MTT کلیه عصاره‌های حشرات روی لاین سلولی MCF7

بحث

دو غلظت ۴۰۰۰، ۸۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ نسبت به سایر نمونه‌ها القای آپوپتوز بیشتری در سلول‌های سرطانی MCF-7 نشان داده است. Apis mellifera در چهار غلظت اول اثر برابر با Periplaneta Americana در القای مرگ سلولی روی سلول‌های سرطانی MCF-7 داشته است. اما در غلظت ۴۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ ، اثر بهتری در القای آپوپتوز نسبت به Scolopendra sp. و در غلظت ۸۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ اثر برابر با Scolopendra sp. روی سلول‌های سرطانی MCF-7 نشان داده است.

Gryllotalpa sp. در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ از دو نمونه Apis mellifera و Periplaneta Americana در القای مرگ سلولی روی سلول‌های سرطانی MCF-7 اثر بهتری داشته است.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از رساله دکتری تحت عنوان "بررسی تأثیر عصاره بدن حشرات و برخی بندپایان در مهار رشد سلول‌ها یا تومورهای سرطانی (رده سلول‌های سرطانی پستان یا سینه MCF-7 و معده AGS) در مقطع دکتری تخصصی حشرشناسی (انتوموتراپی) در سال ۱۳۹۷ با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) اجرا شده است.

اهمیت بالای این پژوهش در استفاده از دارو با پایه بیولوژیک حشرات و بندپایان است که باتوجه به تکثیر فراوان این موجودات زنده این داروها از لحاظ برای بیماران مقرون به صرفه‌تر می‌باشد. دستاورد اعمال هفت جنس متفاوت از بندپایان و حشرات بود، نشان داد که این جنس‌ها دارای پتانسیل درمانی عالی به‌ویژه در درمان سلول‌های سرطانی MCF-7 می‌باشد. Scolopendra sp. بهترین اثر را در هشت غلظت به‌صورت پیوسته روی لاین سلول‌های سرطانی MCF-7 نسبت به سایر نمونه‌ها داشته است. Drosophila melanogaster از غلظت ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ تأثیر عالی و پیوسته در القای آپوپتوز و مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی MCF-7 داشته است، اما در غلظت‌های بالاتر نسبت به سایر نمونه‌ها اثر کمتری داشته است.

Periplaneta Americana در غلظت‌های اولیه نسبت به Apis mellifera، Gryllotalpa sp. اثر یکسان در القای آپوپتوز داشته اما در

References

- Amooei M, Meshkati Z, Nasiri R, Dakhili AB. Cognitive decline prevention in offspring of Pb (+2) exposed mice by maternal aerobic training and Cur/CaCO₃@Cur supplementations: in vitro and in vivo studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf* 2021; (209):111785-111803.
- Boyle P, Ngoma T, Sullivan R, Brawley O. Cancer in Africa: the way forward. *Journal of Ecancer Medicinal Science International Prevention Research Institute* 2019; 13:953-961.
- Panahi R, Ebrahimie E, Niazi A, Afsharifar A. Integration of meta-analysis and supervised machine learning for pattern recognition in breast cancer using epigenetic data. *Inform. Med. Unlocked* 2021; 24: 7-14.
- Nik-Nafs B, Ghanbari A, Al-Tarihi T. 1381. Determination of cell death in breast cancer cell line MCF-7 due to Cisplatin by electron microscope. *Daneshvar Medical Journal*, 40: 57-62.
- Wild, C. World cancer report 2014. Eds. Christopher P. Wild, and Bernard W. Stewart. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2014.
- Asadi M, Ghahari M, Hassanzadeh-Tabrizi S A, Arabi A M, Nasiri R. Studying the toxicity effects of coated and uncoated NaLuF₄: Yb³⁺, Tm³⁺ upconversion nanoparticles on blood factors and histopathology for Balb/C mice's tissue. *Mater. Res. Express*, 2020; 6: 125421-125433.
- Abbasi F, Porjabali M, Javanmard F, Fatahi H. 1400. Examining the difference between pathologists regarding the histological grading of breast cancer, papillary bladder and soft tissue sarcoma. *Journal of Medical Science Studies*, 6: 427-419.
- Rock CL, Thomson CA, Sullivan KR, Howe CL, Kushi LH, Caan BJ, & McCullough ML. American Cancer Society nutrition and physical activity guideline for cancer survivors. *CA: a cancer j. for clinicians*, 2022; 72(3): 230-262.
- Whitehead S. Cancer Survival in England Patients Diagnosed: 2007-2011 and Followed up to 2012 report, Product by London School of Hygiene and Tropical Medicine, 2014, 11.
- Balasubramanian R, Rolph R, Morgan C, Hamed H. Genetics of breast cancer: management strategies and risk-reducing surgery. *Br. J. Hosp. Med* 2019; 12: 720-725.
- Abachizadeh K, Moradi Kouchi A, Ghanbari Motlagh A, Kousha A, Shekarriz-Foumani R, Erfani A. Breast Cancer in Iran: levels, Variations and Correlates. *J. Community Health* 2018; 1: 11-21.
- Costa-Neto EM. Entomotherapy or the medicinal use of insect. *J. Ethnobiol* 2009; 25: 93-114.
- Carrera M. A entomologyana historia natural de plinio. *Rev. Bras. Entomol* 1993; 37(2): 387-396.
- Costa-Neto EM. The use of insect in folk medicine in the state of Bahia, northeastern Brazil, with notes on insects reported elsewhere in Brazilian folk medicine. *Hum. Ecol* 2002; 30:245-263.
- Chen Y. Ants used as food and medicine in China. *The Food Insects Newsletter*, 1994; 7(2):1-8-10.
- Zimian D, Zhao Y, Gao X. Medicinal insects in china. *Ecol Food Nutr* 1997; 36: 209-220.
- Wigglesworth VB. Insects and The Life of Man. *Halsted Press, NewYork*, 1976, 217.
- Ratcliffe BC. The significance of scarab beetles in the ethnoentomolog of non-industrial indigenous peoples. *In the Proceedings of the first International Congress of Ethnobiology 2*, July22, Brazil, 1990, 159-185.
- Kai T, Zoski C G, Bard A J. Scanning electrochemical microscopy at the nanometer level. *J. Chem. Soc., Chem. Commun* 2018; 54: 1934-1947.
- Dossey A T. Insects and their chemical weaponry: new potential for drug discovery. *Nat. Prod. Rep* 2010; 27: 1737-1757.

Investigating the effect of insect body extracts (their products) and some arthropods in inhibiting the growth of cancer cells or tumours (breast cancer cell line/MCF7)

Bahar Rostamizadeh Ph.D.
Student¹

Alireza Jalali-Zand Ph.D.^{2*}

Kamran Qhaedi Ph.D.³

Rosita Nasiri Ph.D.³

1- Department of Entomology,
Faculty of Agriculture,
Isfahan(Khorasgan) Branch,
Islamic Azad University, Isfahan,
Iran.

2- Department of Entomology,
Faculty of Agriculture,
Isfahan(Khorasgan) Branch,
Islamic Azad University, Isfahan,
Iran.

3- Department of Cell and
Molecular Biology and
Microbiology, Faculty of Biological
sciences, University of Isfahan,
Isfahan, Iran.

* Corresponding author: Department of
Entomology, Faculty of Agriculture,
Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic
Azad University, Isfahan, Iran.
Tel: +98-31-35354001
E-mail: arJalalizand@gmail.com

Abstract

Received: 24 Aug. 2024 Revised: 29 Aug. 2024 Accepted: 14 Oct. 2024 Available online: 22 Oct. 2024

Background: Insects and arthropods, along with their products, have been used as medicinal sources since ancient times, that is called entomotherapy. Cancer is one of the major problems in medical science, for which a drug has not yet been discovered to control it quickly and accurately. Arthropods have been medicinal sources since ancient times and they especially Insects have a high potential for insect therapy because of the biodiversity. This research investigates the effect of insect body extracts and arthropods in inhibiting the growth of cancer cells or tumours, specifically on the breast cancer cell line, MCF7002E

Methods: The basic and applied study was conducted in Isfahan from 2018 to 2023. In this research, six species of insects, namely *Grylotalpa* sp., *Polyrhachis* sp., *Dolichovespula* sp., *Apis mellifera*, *Periplaneta americana*, *Drosophila melanogaster*, and one species of Chilopoda, *Scolopendra* sp., were used. The samples were washed with distilled water and 70% alcohol, then frozen and powdered and prepared in 1% DMSO at eight concentrations of 62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 µg/ml and were evaluated for the control of two lines of breast cancer cells MCF-7 by the MTT test was performed to check the effect of doses. The affected doses of insects and centipedes were performed in 6 replicates and three times to MCF-7 cells. IC50 and LD50 were calculated by Prism version six software to check the effect of concentrations determine the effective dose and choose the best extract to control the growth of MCF-7 breast cancer cells.

Results: *Scolopendra* sp., *Drosophila melanogaster*, *Periplaneta americana*, *Polyrhachis* sp., *Apis mellifera*, and *Grylotalpa* sp. are the most effective species, respectively, in inducing apoptosis and cell death in MCF-7 cancer cell line. *Dolichovespula* sp. had the least effect. *Scolopendra* sp. at a concentration of 500 µg/litre induced cell death in more than 50% of MCF-7 cancer cells.

Conclusion: The results of the application of seven different genera of arthropods and insects showed that these genera have excellent therapeutic potential, particularly in the treatment of MCF-7 cancer cells.

Keywords: breast cancer, centipede, extract, entomotherapy, MCF-7 cells.

