# بررسی اثرات عصاره های آبی، اتانولی و استونی داروا‌ش بر تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی در محیط کشت سلولی

طاهره ناجی*[1]، رحیم احمدی[2]

۱- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران.

یافته / دوره بیستم / شماره ۴ / زمستان ۹۷ / مسلسل ۷۸

## چکیده

دریافت مقاله: ۹۷/۸/۱ پذیرش مقاله: ۹۷/۹/۱۲

**مقدمه: مطالعات نشان می‌دهند که عصاره داروا‌ش در ترمیم التهاب و زخم موثر است. هدف اصلی این تحقیق، بررسی اثرات عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی گیاه داروا‌ش بر تکثیر سلول‌های فیبروبلاست می باشد.**

**مواد و روشها: عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی داروا‌ش تهیه گردیدند. سلول‌های فیبروبلاستی از انستیتو پاستور تهیه شده و در شرایط استاندارد نگهداری شدند. سلول‌ها به گروه‌های شاهد، شم و گروه‌های در مواجهه با دوزهای ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلیگرم/میلی لیتر عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی داروا‌ش تقسیم‌بندی شدند. متعاقباً اثر عصاره‌ها بر تکثیر سلول‌ها با استفاده از سنجش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت داده‌ها با استفاده از روش آماری آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.**

**یافته ها: نتایج نشان دادند که تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی در گروه مواجهه با دوز ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره آبی و اتانولی عصاره داروا‌ش نسبت به گروه کنترل دچار کاهش معنادار شده ($P<$ ۰/۰۰۱)، اما در گروه مواجهه با دوز ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره استونی عصاره داروا‌ش نسبت به گروه کنترل دچار افزایش معنادار گردید ($P<$ ۰/۰۰۱). غلظتهای ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره‌ها اثر معناداری بر تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی نداشتند.**

**بحث و نتیجه گیری: عصاره استونی داروا‌ش در دوز بالا می‌تواند سبب تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی در محیط کشت سلولی گردد و از این نظر می‌تواند در ترمیم التهاب و زخمها نقش قابل توجهی داشته باشد.**

**واژه های کلیدی: داروا‌ش، سلول فیبروبلاست، تکثیر.**

***آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی،دانشکده داروسازی، گروه علوم پایه.**

**پست الکترونیک: tnaji2002@gmail.com**

## مقدمه

سلول‌های فیبروبلاست در بسیاری از بافت‌های بدن و به صورت گسترده ای حضور دارند. این سلول‌ها با توجه به ویژگی‌های ژنتیکی و قدرت تکثیری و تمایزی بسیار قابل توجه، نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن ایفا می‌نمایند. سلول‌های فیبروبلاست با تولید و ترشح کلاژن که منبع اصلی ماتریکس خارج سلولی است، نقش مهمی در ایجاد استحکام بافتی دارند. بر این اساس، سلول‌های فیبروبلاست در ترمیم زخم نیز تاثیر دارند. همچنین این سلول‌ها در رفع التهاب نیز نقش آفرین هستند (۱،۲). در این راستا، رده سلولی L929 از رده سلولی مشهور فیبروبلاستی است که به صورت گسترده‌ای در مطالعات مربوط به بررسی تکثیر و زنده مانی سلول‌های فیبروبلاستی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳،۴).

از دیگر سوی و از دیر باز تأثیر عصاره‌های مختلف گیاهی در درمان بیماری‌ها مورد توجه بوده است. گیاهان دارویی به ویژه در درمان آسیب‌های بافتی و تومورها دارای تاریخچه طولانی هستند و در روند بهبود و توسعه داروهای امروزی نقش بسزایی داشته‌اند. در این حوزه، گیاه داروش (*Viscum album*)، یک گیاه نیمه انگلی راسته سندل (Santalales) است که در فارسی به علف درخت نیز موسوم است. چند صد گونه داروش در دنیا وجود دارند که غالباً در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری رشد می کنند. در ایران نیز به ویژه در جنگلهای شمال، گونه داروش اروپایی (*Viscum album*) و در غرب ایران گونه موخور (Loranthus europaeus) دارای گستردگی قابل توجهی است. این گیاه نیمه انگلی است و روی ساقه درختان رشد می‌کند. ساقه‌های آن حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی متر است (۵-۷).

مطالعات بیانگر آنند که عصاره داروش دارای خواص ضد اسپاسمی و آرام بخش است. همچنین عصاره این گیاه در درمان بیماری‌های مربوط به اعصاب مانند صرع، هیستری، سرگیجه و ... به کار می رود (۸،۹). عصاره گیاه داروش در درمان دیابت، عفونت‌های ویروسی و اختلالات دستگاه گوارشی کاربرد قابل توجهی دارد (۱۰،۱۱). عصاره این گیاه می‌تواند در افزایش تکثیر سلول‌های ایمنی نیز نقش داشته باشد (۱۲). عصاره داروش دارای ترکیبات لکتین، پلی‌پپتید، فنیل‌پروپان، لیگنین، مشتقات اسیدکافییک، فلاوونوییدها، تیرامین و پلی‌ساکاریدهای متعدد می‌باشد (۱۶-۱۳) که وجود این ترکیبات سبب ویژگی‌های خاصی از جمله اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی و یا اثر بر سیستم ایمنی و روند بهبود زخم می‌گردد.

مطالعات پیشین درباره اثرات عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی و یا دیگر انواع عصاره‌های داروش بر تکثیر سلولی بسیار متناقض می‌باشند. در این راستا، تحقیقات نشانگر آنند که عصاره آبی داروش سبب تکثیر سلول‌های ایمنی می‌گردد (۱۲). همچنین، مطالعات نشان داده اند که عصاره لیپوفیلیک داروش بر مهاجرت سلول‌های فیبروبلاستی تأثیر گذار می‌باشد (۱۷). گرچه برخی تحقیقات نشان می‌دهند که عصاره داروش می‌تواند فعالیت ضد تکثیری نیز داشته باشد (۱۸). اخیراً مشاهده شده است که غلظت‌های بالای عصاره داروش دارای اثرات ضد تکثیری در سلول‌های سرطانی مثانه است (۱۹). همچنین مطالعات نشان می‌دهند که عصاره داروش دارای اثرات آپوپتوزی بر برخی سلول‌های سرطانی است (۲۰).

با توجه به اهمیت عملکرد فیبروبلاست‌ها و نقش بی‌بدیل این سلول‌ها در سیستم ایمنی و همچنین با توجه به استفاده از عصاره گیاهان دارویی در تقویت سیستم ایمنی و از طرفی نظر به وجود مطالعات محدود در زمینه اثرات تکثیری عصاره گونه‌های داروش رونده در ایران به ویژه از دیدگاه نوع عصاره مورد استفاده، این مطالعه به بررسی اثرات عصاره‌های مختلف آبی، اتانولی و استونی داروش بر تکثیر و زنده مانی سلول‌های فیبروبلاستی رده L929 می‌پردازد. نتایج حاصل از این تحقیق می‌توانند در

پروتکل‌های درمانی و بهبود سیستم ایمنی بالاخص از نظر نوع عصاره مصرفی، حایز اهمیت باشند.

## مواد و روش‌ها

طی این مطالعه‌ی تجربی- آزمایشگاهی برحسب افزایش قطبیت حلال، به ترتیب عصاره‌های استونی، آبی و الکلی (اتانولی) داروا‌ش مورد نظر قرار گرفتند. جهت تهیه عصاره، بر مبنای مطالعات پیشین (۲۱)، از روش پرکولاسیون استفاده گردید. در این راستا، نمونه گیاه داروا‌ش از جنگل‌های غرب استان مازندران تهیه شد و متعاقباً از نظر جنس و گونه توسط متخصصان گیاه‌شناسی مرکز گیاه‌شناسی جهاد دانشگاهی مورد تأیید قرار گرفت. پس از خشک کردن گیاه در سایه، مطابق روش‌های استاندارد، نمونه‌های خشک شده آسیاب گردیدند. پودر تهیه شده با حلال‌های استون، آب یا اتانول مخلوط شده و سپس به کمک دستگاه تقطیر عصاره‌گیری انجام شد. عصاره‌های حاصل، خشک شده و غلظتهای مختلف از آنها تهیه و مورد استفاده قرار گرفتند.

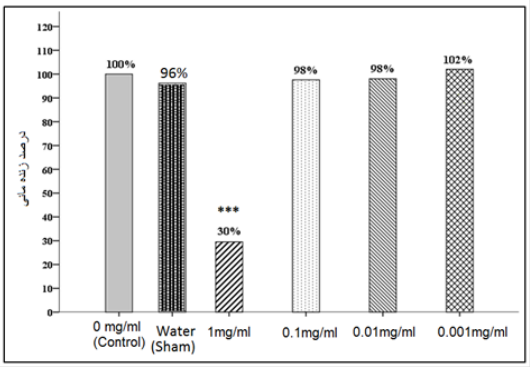
از سویی، سلول‌های سرطانی L929 از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. کرایوتیوب سلولی تهیه شده پس از خروج از حالت منجمد در فلاسک‌های مخصوص کشت داده شدند. متعاقباً سلول‌ها در انکوباتور تحت شرایط آزمایشگاهی استاندارد تکثیر گردیدند. جهت کشت سلول‌ها از محیط کشت سلولی RPMI-1640 استفاده شد و علاوه بر محیط کشت، به منظور غنی‌سازی محیط، سرم گاوی جنینی مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه جهت بررسی اثر سیتوتوکسیک غلظت‌های مختلف عصاره بر سلول‌های فیبروبلاستی از روش سنجش MTT استفاده شد. در این راستا، سلول‌های L929 به طور تصادفی به گروه شاهد و گروه‌های در مواجهه با دوزهای ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره‌های مختلف داروا‌ش تقسیم‌بندی شدند. ۲۴ ساعت پس از کشت سلولی، محیط کشت رویی سلول‌ها تخلیه شد. سپس غلظت‌های مختلف از عصاره‌های آبی و اتانولی و استونی داروا‌ش به محیط افزوده شد. از طرفی، مطابق با مطالعات قبلی (۲۱)، در چاهک‌های کنترل، ماده‌ای افزوده نشده و محیط کشت به عنوان یک ماده‌ی بدون خصلت سمی، در نظر گرفته شد. همچنین در چاهک‌های مربوط به گروه شم آب، اتانول و یا استون افزوده شد. در نهایت، ۲۴ ساعت پس از مواجهه با عصاره، زنده مانی سلول‌ها با استفاده از روش کالریمتری MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. در مسیر سنجش MTT با در نظر گرفتن محیط کشت کافی برای سلول‌ها و همچنین در نظر گرفتن حداقل۶ بار تکرار، دوزهای مختلف عصاره‌ها به چاهک‌های حاوی سلول‌ها اضافه شده و پلیت‌ها درون انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. به دنبال سپری شدن زمان مورد نظر، مایع موجود از پلیت تخلیه شده و رنگ MTT اضافه گردید. متعاقباً ۴ الی ۶ ساعت پس از اضافه شدن رنگ، محلول MTT تخلیه شده و ماده DMSO اضافه شد و پس از حل شدن کامل، میزان جذب نوری محلول‌ها با استفاده از طول موج‌های ۵۷۰ نانومتر و ۶۳۰ نانومتر خوانده شد و آنگاه بر اساس جذب نوری نمونه‌ها، درصد زنده‌مانی سلول‌ها در هر گروه محاسبه گردید.

### آنالیز آماری

به منظور آنالیز آماری، با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت و پس از اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی (Bonferoni) جهت مقایسه زنده مانی میان گروه‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری در این مطالعه ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

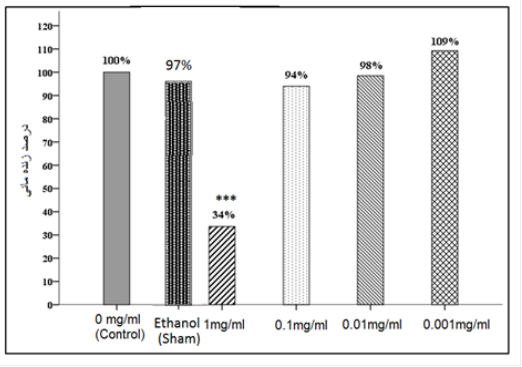
## یافته‌ها

نمودار ۱ نشانگر اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی داروا‌ش بر زنده مانی سلولهای L929 در مقایسه با گروه کنترل در محیط کشت سلولی است. مطابق نمودار ۱ و با توجه به نتایج تحلیل آماری آزمون تعقیبی، زنده‌مانی سلول‌های L929 تنها در گروه در مواجهه با دوز ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر نسبت به گروه کنترل دچار کاهش معنادار شده (P<۰/۰۰۱) اما در گروه‌های دیگر نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری مشاهده نگردید.



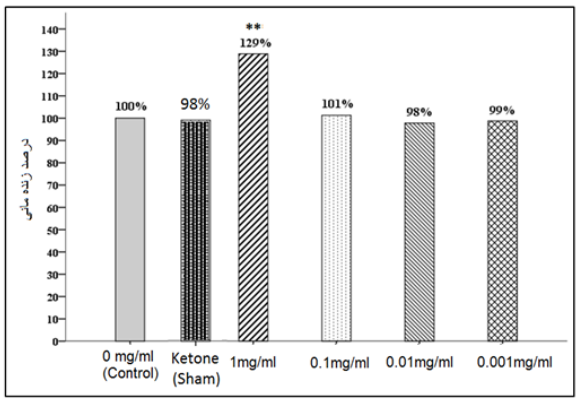

**نمودار ۱. درصد زنده‌مانی سلول‌های L929 در گروه کنترل، شم و گروه‌های تحت اثر عصاره آبی با غلظت‌های ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره داروا‌ش. *** نشانگر تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل در P<۰/۰۰۱ است.**

نمودار ۲ نشانگر اثر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی داروا‌ش بر زنده‌مانی سلول‌های L929 در مقایسه با گروه کنترل در محیط کشت سلولی است. مطابق نمودار ۲ و با توجه به نتایج تحلیل آماری آزمون تعقیبی، زنده مانی سلول‌های L929 تنها در گروه در مواجهه با دوز ۱ میلی گرم/ میلی لیتر نسبت به گروه کنترل دچار کاهش معنادار شده (P<۰/۰۰۱) اما در گروه‌های دیگر نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری مشاهده نگردید.




**نمودار ۲. درصد زنده‌مانی سلول‌های L929 در گروه کنترل، شم و گروه‌های در مواجهه با عصاره اتانولی با غلظت‌های ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره داروا‌ش. *** نشانگر تفاوت معنادار در مقایسه با گروه کنترل در P<۰/۰۰۱ است.**

نمودار ۳ نشانگر اثر غلظتهای مختلف عصاره استونی داروا‌ش بر زنده‌مانی سلول‌های L929 در مقایسه با گروه کنترل در محیط کشت سلولی است. مطابق نمودار ۳ و با توجه به نتایج تحلیل آماری آزمون تعقیبی، زنده‌مانی سلول‌های L929 در گروه در مواجهه با دوز ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر نسبت به گروه کنترل دچار افزایش معنادار شده (P<۰/۰۵) اما در گروه‌های دیگر نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری مشاهده نگردید.




**نمودار ۳. درصد زنده‌مانی سلول‌های L929 در گروه کنترل، شم و گروه‌های در مواجهه با عصاره استونی با غلظت‌های ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره داروا‌ش. ** نشانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل در P<۰/۰۱ می باشد.**

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر آن بودند که دوز بالای عصاره آبی و اتانولی داروash دارای اثرات سیتوتوکسیک بر سلول‌های فیبروبلاستی می‌باشد و بر این مبنا، اثرات ضد تکثیری بر فیبروبلاست‌ها داشته و می تواند سیستم ایمنی وابسته به فیبروبلاست را تضعیف نماید، حال آنکه دوز بالای عصاره استونی سبب تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی شده و بر این اساس، می‌تواند در تقویت سیستم ایمنی وابسته به فیبروبلاست نقش آفرین باشد. گرچه دوزهای پایینتر اصولاً اثری بر تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی نداشته‌اند. مطالعات بسیاری به بررسی اثرات عصاره داروash بر تکثیر سلولی پرداخته‌اند، اما بررسی اثرات عصاره داروash بر سلول‌های فیبروبلاست بسیار محدود است و تا حد اطلاع نگارندگان این مقاله، گزارش قابل توجهی در این خصوص قبلا" ارایه نشده است. امروزه، مطالعات داروشناسی تمرکز خاصی بر اثرات درمانی عصاره‌های داروash دارند. در این راستا و موافق با یافته‌های این پژوهش، مطالعات دیگری نیز نشانگر اثرات درمانی و بهبود دهندگی گونه‌های مختلف داروash می‌باشد. نتایج تحقیقات نشانگر آنند که عصاره داروash قادر است در ترمیم تومورهای آدنوکارسینومایی نقش داشته باشد (۲۱). همچنین پژوهش‌ها بیانگر آنند که عصاره داروash در پیشگیری از ابتلا به سرطان مثانه نیز نقش دارد (۱۸). از سویی، اثرات ضد توموری و تقویت سیستم ایمنی عصاره داروash در مطالعات کارآزمایی بالینی نیز به اثبات رسیده است (۱۷). در واقع مطالعات زیادی نشانگر اثرات تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی توسط عصاره داروash می‌باشند (۲۲). همچنین تحقیقات نشان داده‌اند که عصاره داروash اثر بهبودبخشی و تقویت سیستم ایمنی در بیماران سرطانی دریافت کننده شیمی درمانی دارد (۲۳). از سویی، مطالعات نشانگر آنند که عصاره داروash دارای اثرات سیتوتوکسیک بر سلول‌های لنفوما در محیط کشت سلولی می باشد (۲۴). در مطالعه دیگری اثرات مهاری عصاره داروash به همراه کورکومین بر زنده‌مانی و تکثیر سلول‌های مختلف سارکومایی مشاهده شده است (۲۵).

از نظر مکانیسم عمل اثر عصاره داروash بر سلول‌های سرطانی، مطالعات انجام یافته نشانگر آنند که ترکیبات موجود در عصاره داروash عمدتاً اثر سیتوتوکسیک دارند (۶،۲۷). همچنین، تحقیقات بیانگر آنند که لکتین موجود در عصاره داروash دارای اثر سیتوتوکسیک فوق‌العاده‌ای است. اما در تحقیقی نشان داده شده است به کارگیری حرارت سبب از بین رفتن خاصیت سیتوتوکسیک آن می‌گردد (۲۸). از طرفی، مطالعات نشان می‌دهند که عصاره لیوفیلیک داروash حاوی تری‌ترپن‌های پنتاسیلیک فعال از نظر فارماکولوژیک است که می تواند اثرات التیامی بر زخم داشته باشد (۱۷). همچنین، تحقیقات نشان می‌دهند که عصاره آبی داروash سبب توقف چرخه سلولی در مرحله G1 در برخی سلول‌های سرطانی شده و از این طریق قادر است اثرات ضد سرطانی خود را ایفا نماید (۲۹).

نتایج این تحقیق نشان دادند که علیرغم عصاره‌های آبی و اتانولی، عصاره استونی داروash در دوز بالا سبب افزایش تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی می گردد. این امر نشانگر آن است که عصاره‌های مختلف داروash می‌توانند رفتار متفاوتی بر سلول‌ها داشته باشد. در این راستا، پژوهشها نشان می‌دهند که عصاره الکلی داروash اصولاً به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی عمل می‌نماید (۳۰). همچنین نتایج تحقیقات بیانگر آنند که عصاره آبی داروash به طور گسترده‌ای در طب مکمل سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۱). هر چند بسته به نوع عصاره، داروash می‌تواند اثرات متضاد بر زنده‌مانی رده‌های مختلف سلولی داشته باشد (۲۴،۲۶،۲۹). با توجه به آنکه در اغلب مطالعات عصاره داروash اثرات سیتوتوکسیک داشته که

این امر در خصوص عصاره‌های آبی و الکلی داروا‌ش در این مطالعه نیز مشاهده شد، اما از آنجا که در مطالعه حاضر عصاره استونی اثر تکثیری بر سلول‌های فیبروبلاست گذاشته است، می‌توان بر مبنای مطالعات پیشین (۲۸) چنین پنداشت که به کارگیری استون سبب غیرفعال شدن اجزای سیتوتوکسیک در عصاره شده و از این جهت اثر تکثیردهندگی بر جای گذاشته است. قابل ذکر است که تحقیق حاضر اساساً به بررسی اثرات عصاره‌های مختلف داروا‌ش بر زنده‌مانی سلول‌های L929 در سطح سلولی و در حیطه سنجش MTT پرداخته و نتایج تنها در این محدوده قابل تفسیر می باشند. امید است در آینده امکان بررسی‌های مولکولی در این حوزه برای محققین این پژوهش فراهم آید.

در مجموع، نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که عصاره داروا‌ش بسته به نوع آن می‌تواند اثرات مهاری و یا تحریکی بر تکثیر سلول‌های L929 در محیط کشت سلولی داشته باشد. در این راستا، دوز بالای (۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) عصاره‌های آبی و اتانولی عصاره داروا‌ش دارای اثرات مهاری بر تکثیر سلول‌های L929 بوده و دوز بالای عصاره استونی اثر تحریکی بر تکثیر سلول‌های L929 دارد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی با عنوان "بررسی اثرات مختلف بیوشیمیایی عصاره داروا‌ش بر بقاء سلول‌های سرطانی L929 در محیط کشت سلولی" مصوب معاونت پژوهش و فناوری واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهش و فناوری واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی ابراز می‌نمایند.

## References


1. Evans RA, Tian YC, Steadman R, Phillips AO. TGF-beta1-mediated fibroblast-yofibroblast terminal differentiation- the role of Smad proteins. Exp Cell Res. 2003; 282(2):90-100.
2. Helary C, Ovtracht L, Coulomb B, Godeau G, Giraud-Guille MM. Dense fibrillar collagen matrices: a model to study myofibroblast behaviour during wound healing. Biomaterials. 2006; 27(25):4443-4452.
3. Stojkovic R, Ivankovic S, Ivankovic D, Attias L, Mantovani A, Fucic A. Testosterone- nduced micronuclei and increased nuclear division rate in L929 cell line expressing the androgen receptor. Toxicol In Vitro. 2015;29(5):1021-1025.
4. Prendecka M, Mlak R, Jaszek M, Osińska-Jaroszuk M, Jakubiak-Hulicz M, Leibold C, et al. Effect of exopolysaccharide from Ganoderma applanatum on the electrical properties of mouse fibroblast cells line L929 culture using an electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) - Preliminary study. Ann Agric Environ Med. 2016;23(2):280-284.
5. Kienle GS, Glockmann A, Schink M, Kiene H. Viscum album L. extracts in breast and gynaecological cancers: a systematic review of clinical and preclinical research. Journal of experimental & clinical cancer research. 2009;28(1):79.
6. Böhling N, Greute W, Raus T, Snogerup B, Snogerup S, Zuber D. Notes on the Cretan mistletoe, Viscum album subsp. creticum subsp. nova (Loranthaceae/Viscaceae). Israel J. Pl. Sci. 2003; 50 (Suppl.): 77-84
7. Khan T, Ali S, Qayyum R, Hussain I, Wahid F, Shah A J. Intestinal and vascular smooth muscle relaxant effect of Viscum album explains its medicinal use in hyperactive gut disorders and hypertension. BMC Complement Altern Med. 2016;16:251
8. Von Schoen-Angerer T, Madeleyn R, Kienle G, Kiene H, Vagedes J. Viscum album in the Treatment of a Girl With Refractory Childhood Absence Epilepsy. J Child Neurol. 2015;30(8):1048-52.
9. Gupta G, Kazmi I, Afzal M, Rahman M, Saleem S, Ashraf MS, et al. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of Viscum album L. (Loranthaceae) in mice and rats. J Ethnopharmacol. 2012;41(3):810-816.
10. Kim KW, Yang SH, Kim JB. Protein fractions from Korean mistletoe (Viscum album coloratum) extract induce insulin secretion from pancreatic beta cells. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2014;2014:703624.
11. Tusenius KJ, Spoek, JM, Kramers CW. Iscador Qu for chronic hepatitis C: an exploratory study. Complement Ther Med. 2001;9(1):12-16.
12. Bussing A. Immune modulation using mistletoe (Viscum album L.) extracts Iscador. Arzneimittelforschung. 2006;56(06):508-515.
13. Nazaruk J, Orlikowski P. Phytochemical profile and therapeutic potential of Viscum album L. Natural product research. 2016;30(4):373-385.

14. Kunze E, Schulz H, Gabius HJ. Inability of galactoside-specific mistletoe lectin to inhibit N-methyl-N-nitrosourea-induced tumor development in the urinary bladder of rats and to mediate a local cellular immune response after long-term administration. J Cancer Res Clin Oncol. 1998;124(2):73-87.
15. Wójciak-Kosior M, Sowa I, Pucek K, Szymczak G, Kocjan R, Luchowski P. Evaluation of seasonal changes of triterpenic acid contents in Viscum album from different host trees. Pharmaceutical biology. 2017;55(1):1-4.
16. Ma Y, Fan R, Duan M, Yu Z, Zhao Y. A study of pharmacokinetic interactions among co-existing ingredients in Viscum coloratum after intravenous administration of three different preparations to rats. Pharmacognosy magazine. 2015 Jul;11(43):455.
17. Kuonen R, Weissenstein U, Urech K, Kunz M, Hostanska K, Estko M, Heusser P, Baumgartner S. Effects of Lipophilic Extract of Viscum album L. and Oleanolic Acid on Migratory Activity of NIH/3T3 Fibroblasts and on HaCat Keratinocytes. Evid Based Complement Alternat Med.2013;7)18):105.
18. Stan RL, Hangan AC, Dican L, Sevastre B, Hanganu D, Catoi C, et al. Comparative study concerning mistletoe viscotoxins antitumor activity. 2013;64(3):279-887.
19. Von Schoen-Angerer T, Wilkens J, Kienle GS, Kiene H, Vagedes J. High-Dose Viscum album Extract Treatment in the Prevention of Recurrent Bladder Cancer: A Retrospective Case Series. Perm J. 2015;19(4):76-83.
20. Khil LY, Kim W, Lyu S, Park WB, Yoon JW, Jun HS. Mechanisms involved in Korean mistletoe lectin-induced apoptosis of cancer cells. World J Gastroenterol. 2007;13(20):2811-2818.
21. Cebović T, Spasić S, Popović M. Cytotoxic effects of the Viscum album L. extract on Ehrlich tumour cells in vivo. Phytother Res. 2008 ;22(8):1097-1103.
22. Jurin M, Zarković N, Hrzenjak M, Ilić Z. Antitumorous and immunomodulatory effects of the Viscum album L. preparation Isorel. Oncology. 1993;50(6):393-398.
23. Weissenstein U, Kunz M, Urech K, Baumgartner S. Interaction of standardized mistletoe (Viscum album) extracts with chemotherapeutic drugs regarding cytostatic and cytotoxic effects in vitro. BMC Complement Altern Med. 2014;14:6.
24. Kovacs E, Link S, Toffol-Schmidt U. Comparison of Viscum album extract with vincristine in an in vitro model of human B cell lymphoma WSU-1. Arzneimittelforschung. 2008;58(11):592-597.
25. Harati K, Behr B, Daigeler A, Hirsch T, Jacobsen F, Renner M, et al. Curcumin and Viscum album Extract Decrease Proliferation and Cell Viability of Soft-Tissue Sarcoma Cells: An In Vitro Analysis of Eight Cell Lines Using Real-Time Monitoring and Colorimetric Assays. Nutr Cancer. 2017;69(2):340-351.
26. Onay-Uçar E, Erol O, Kandemir B, Mertoğlu E, Karagöz A, Arda N. Viscum

album L. Extracts Protects HeLa Cells against Nuclear and Mitochondrial DNA Damage. Evid Based Complement Alternat Med. 2012;958740.
27. Twardziok M, Kleinsimon S, Rolff J, Jäger S, Eggert A, Seifert G, et al. Multiple Active Compounds from Viscum album L. Synergistically Converge to Promote Apoptosis in Ewing Sarcoma. PLoS One. 2016;11(9):e0159749.
28. Park JH, Hyun CK, Shin HK. Cytotoxic effects of the components in heat-treated mistletoe (Viscum album). Cancer Lett. 1999 ;139(2):207-13.
29. Dela Cruz JF, Kim YS, Lumbera WM, Hwang SG. Viscum Album Hot Water Extract Mediates Anti-cancer Effects through G1 Phase Cell Cycle Arrest in SK-Hep1 Human Hepatocarcinoma cells. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(15):6417-6421.
30. Kang SN. Ethanol Extracts from Mistletoe (Viscum album L.) Act as Natural Antioxidants and Antimicrobial Agents in Uncooked Pork Patties during Refrigerated Storage. Asian-Australas J Anim Sci. 2016;29(1):109-18.
31. Delebinski CI, Twardziok M, Kleinsimon S, Hoff F, Mulsow K, Rolff J, et al. A Natural Combination Extract of Viscum album L. Containing Both Triterpene Acids and Lectins Is Highly Effective against AML In Vivo. PLoS One. 2015 ;10(8):e0133892.

# The Effects of Aqueous, Alcoholic and Acetone Extracts of *Viscum album* on Fibroblast Cell Proliferation in Cell Culture

***Tahereh Naji*[1*], *Rahim Ahmadi*[2]**

*1. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Pharmacy Faculty and Pharmaceutical Sciences, Tehran Medial Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran, tnaji2002@gmail.com.*

*2.Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran.*

Received: *23 Oct 2018* Accepted: *3 Dec 2018*

## Abstract

***Background*:** Studies have demonstrated the healing effects of *Viscum album* on sites of inflammation and injury. The aim of this study was to investigate the effects of *Viscum album* aqueous, alcoholic and acetone extracts on fibroblast cell proliferation in cell culture.

***Materials and Methods:*** Aqueous, alcoholic and acetone extracts of *Viscum album* were prepared. Fibroblast cells were obtained from the Pasteur Institute (Tehran, Iran) and kept under standard conditions. The cells were divided into control and test groups, and the groups were exposed to 1, 0.1, 0.01 and 0.001 mg/ml of aqueous, alcoholic and acetone extracts of *Viscum album*. The effect of the extracts on fibroblast cell proliferation was evaluated using MTT assay. The data were analyzed using ANOVA.

***Results:*** The results indicated that fibroblast cell proliferation decreased significantly compared with the control group ($P<0.001$) when exposed to 1mg/ml of aqueous and ethanol extracts of *Viscum album*. However, fibroblast cell proliferation increased significantly compared with the control group ($P<0.001$) when exposed to 1mg/ml of acetone extracts of *Viscum album*.

Extract concentration of 0.1, 0.01 and 0.001 mg/ml had no significant effect on L929 cell proliferation.

***Conclusion:*** A high appropriate dose of acetone extract of *Viscum album* has stimulatory effects on L929 cell proliferation in cell culture. Therefore, it could play a significant role in the healing of sites of inflammation and injury

***Keywords:*** *Viscum album*, Fibroblast cell, Proliferation.

***Citation:*** Naji T, Ahmadi R. The effects of aqueous, alcoholic and acetone extracts of Viscum album on fibroblast cells proliferation in cell culture. Yafte. 2019; 20(4):30-39.