مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و چهارم/شماره‌ی ۳۹۴/هفته‌ی دوم مهر ماه ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۲۷

بررسی اثر سمیت سلولی عصاره‌ی آناناس بر روی رده‌ی سلول سرطانی پستان 4T1

فرزانه رئیسی[۱]، الهام رئیسی[۲]، داریوش شهبازی گهرویی[۳]، اسفندیار حیدریان[۴]، محمد امیری[۵]، مصطفی غلامی[۶]

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: عصاره‌ی آناناس (بروميلين) به صورت گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود و دارای اثرات ضد سرطانی بر لوسمی، لنفوما، سارکوما و ملانوما می‌باشد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر ضد سرطانی این عصاره بر روی رده‌ی سلولی سرطان پستان (4T1) بود.

روش‌ها: رده‌ی سلولی سرطان پستان (4T1) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف بروميلين و در زمان‌های متفاوت ۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. سپس، رشد و تکثیر آن‌ها با روش سنجش 3 (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide (MTT) بررسی شد. برای مقایسه‌ی نتایج گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون‌های غیر پارامتریک Kruskall-Wallis و آزمون تکمیلی Dunn استفاده شد.

یافته‌ها: رشد و بقای سلول‌های 4T1 وابسته به غلظت‌های مختلف بروميلين و در زمان‌های متفاوت، به طور قابل توجهی کاهش یافت، اما در زمان انکوباسیون کوتاه ۲ ساعت، منجر به افزایش رشد و بقای سلول‌های سرطانی شد.

نتیجه‌گیری: بروميلين در زمان‌های طولانی انکوباسیون، دارای اثرات سمیت سلولی بر رشد و تکثیر سلول‌های 4T1 می‌باشد. این مطالعه، به منظور تعیین مکانیسم عمل این عصاره ادامه دارد.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی آناناس (بروميلين)، رده‌ی سلولی سرطان پستان 4T1، سمیت سلولی

ارجاع: رئیسی فرزانه، رئیسی الهام، شهبازی گهرویی داریوش، حیدریان اسفندیار، امیری محمد، غلامی مصطفی. **بررسی اثر سمیت سلولی عصاره‌ی آناناس بر روی رده‌ی سلول سرطانی پستان 4T1.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۹۴): ۹۵۱-۹۴۶

مقدمه

در حال حاضر، سرطان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جوامع صنعتی و پیشرفته می‌باشد (۱). در میان روش‌های شناخته شده برای درمان سرطان، پرتودرمانی به همراه عوامل دارویی کاربرد فراوانی دارد (۱)؛ چرا که در تحقیقات اخیر، از عوامل دارویی و یا شیمیایی (مقاوم کننده و حساس کننده‌ی پرتوی) همراه با پرتودرمانی استفاده‌های زیادی می‌شود. میزان موفقیت درمان، مستلزم افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی به عوامل درمانی است که البته، تغییراتی را در غلظت انواع عناصر و هورمون‌های بدن به همراه دارد (۳-۲).

از عوامل دارویی، می‌توان عصاره‌ی آناناس (بروميلين) را نام برد که به صورت گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود و در فعالیت‌هایی نظیر هضم، ترمیم زخم، دبریت های سوختگی و افزایش جذب آنتی‌بیوتیک نقش مؤثری ایفا می‌کند. همچنین، دارای فعالیت‌هایی نظیر تنظیم کننده‌ی سیستم ایمنی، ضد التهابی (٤)، اثرات ضد سرطانی بر لوسمی، لنفوما، سارکوما، ملانوما، اثرات سمیت سلولی و سیتواستاتیک بر روی کارسینومای ریه‌ی موش (۷-۵)، کارسینومای معده، کولون (۹-۸)، گلایوما (٤)، سرطان پستان (۷)، کارسینومای اپیدموئید، ملانوما (۱۰) و مزوتلیوم بدخیم داخل صفاقی (۱۱، ۸) می‌باشد.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی و گروه فیزیک پزشکی و پرتوشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استاد، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۵- مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۶- متخصص رادیوتراپی- انکولوژی، بخش رادیوتراپی، کلینیک پارسیان، شهرکرد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: داریوش شهبازی گهرویی
Email: shahbazi@med.mui.ac.ir

بر اساس مطالعات سلولی، حیوانی و کلینیک بروملین از طریق مسیرهای متفاوتی می‌تواند بدخیمی‌ها را کنترل کند و از طریق اثر مستقیم بر سلول‌های سرطانی و یا محیط پیرامون سرطان و یا اثر غیر مستقیم بر تعدیل کننده‌های سیستم ایمنی، عفونی و خون‌ساز این عمل را انجام می‌دهد. بروملین در ترکیب با دیگر داروهای ضد سرطانی مانع رشد، تکثیر و بقای سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۲-۱۱).

با توجه به قابلیت‌های بروملین و تعداد اندک مطالعات پیرامون سلول‌های سرطانی، هنوز مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان قابلیت‌های این ترکیب را بررسی کرد. با توجه به دانش ما، هنوز مطالعه‌ای بر روی اثر سمیت بروملین بر سلول‌های سرطانی به صورت گسترده صورت نگرفته است. بنابراین، مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی اثر ضد سرطانی بروملین بر روی سلول‌های 4T1 انجام شد.

روش‌ها

مواد: در این مطالعه‌ی تجربی، رده‌ی سلول‌های 4T1 از انستیتو پاستور ایران و تریپسین ۰/۲۵ درصد، Fetal bovine serum (FBS)، محیط کشت Roswell Park memorial institute-1640 (RPMI-1640)، و قرص Phosphate buffer saline (PBS) از شرکت Gibco خریداری شد. Dimethyl sulfoxide (DMSO) و 3 (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide (MTT) از شرکت Sigma خریداری گردید و بروملین از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

دارو: بروملین در محیط کشت حل شد و استوک اولیه تهیه گردید. سپس، در حین آزمایش، محلول استوک با محیط کشت رقیق شد تا غلظت‌های نهایی برای گروه‌های درمانی به دست آید.

کشت سلولی: سلول‌ها در محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱ درصد محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/استرپتومایسین کشت داده شدند و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 نگهداری شدند.

بررسی سمیت سلولی بروملین با روش MTT: به منظور بررسی اثر عصاره‌ی آناناس بر رشد و تکثیر سلول‌های 4T1، از روش سنجش MTT استفاده شد (۱۵-۱۳). در این روش، ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی تعداد ۵×۱۰^۳ سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از بروملین به سلول‌ها اضافه شد (۸) و با توجه به مطالعات قبلی (۱۵، ۸) و نیز مطالعه‌ای که به عنوان پایلوت صورت گرفت، زمان‌های متفاوت ۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. سپس، ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (شرکت Sigma و در غلظت ۱۲ میلی‌مولار) به هر چاهک از پلیت اضافه و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. بعد از طی زمان پیش‌گفته، ۲۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید اضافه شد. بعد از ۲۰ دقیقه انکوباسیون در انکوباتور، جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Stat Fax-2100, Spain) در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج به صورت درصد بقای سلول در برابر غلظت‌های بروملین طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

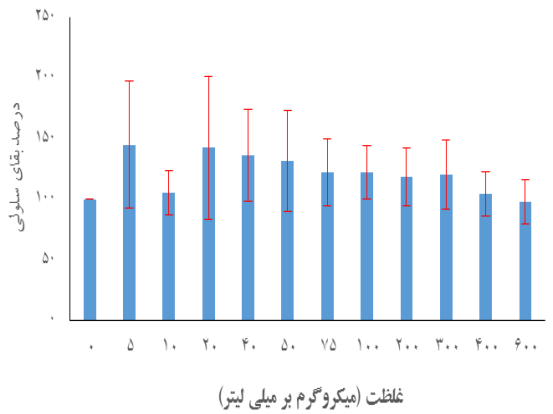
درصد بقای سلول = (جذب نوری گروه شاهد/جذب نوری گروه درمانی) ×۱۰۰

سپس، از روی منحنی رسم شده، میزان درصد زیست‌پذیری (IC_{50} یا Half maximal inhibitory concentration)، غلظتی از عصاره‌ی آناناس که منجر به مهار ۵۰ درصد سلول‌های تحت درمان می‌شود، محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تمامی آزمایش‌ها حداقل سه بار تکرار شدند. با استفاده از نرم‌افزار Prism graph pad Ver.5 برای مقایسه‌ی نتایج گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون‌های غیر پارامتریک Kruskall-Wallis و آزمون تکمیلی Dunn استفاده شد. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارایه گردید.

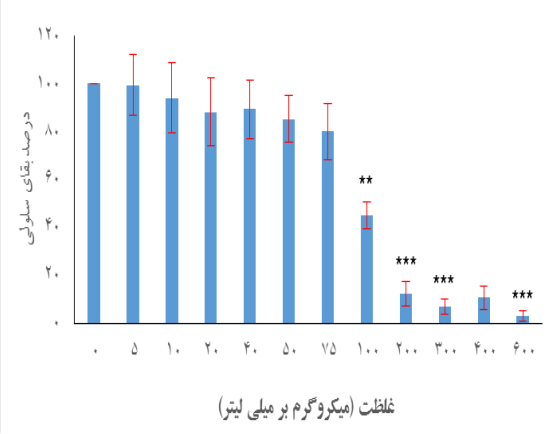
یافته‌ها

در شکل‌های ۱ تا ٤، نتایج به صورت درصد بقای سلول‌ها بر حسب غلظت‌های متفاوت بروملین و در زمان‌های متفاوت انکوباسیون (۲، ۲٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت) آمده است. در زمان انکوباسیون ۲ ساعت، بین غلظت‌های مختلف به کار برده شده از بروملین و درصد بقای سلول‌های 4T1 اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P = ۰/۵۲۰$) (شکل ۱).



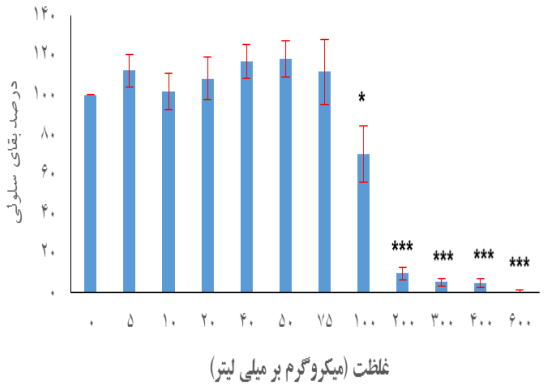
شکل ۱. نمودار تغییرات درصد بقای سلول‌ها بر حسب غلظت‌های متفاوت عصاره‌ی آناناس در زمان‌های انکوباسیون ۲ ساعت

در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت، بین غلظت‌های کم بروملین (۷۵-۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و بقای سلول‌های 4T1 اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵۰$) (به ترتیب شکل‌های ۲ و ۳)؛ اما در غلظت‌های بالای بروملین (۶۰۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، بقای سلول‌های 4T1 به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P > ۰/۰۵۰$).



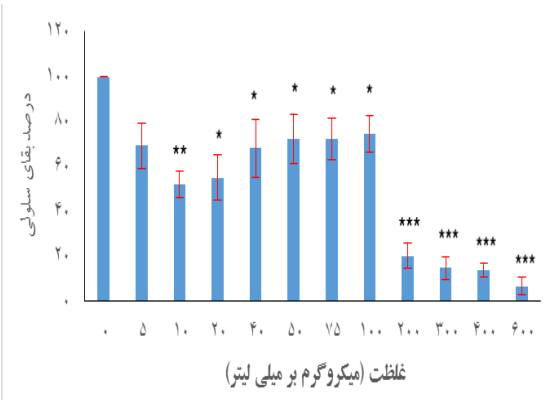
شکل ۲. نمودار تغییرات درصد بقای سلول‌ها بر حسب غلظت‌های متفاوت عصاره‌ی آناناس در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ ساعت

در ۷۲ ساعت انکوباسیون، بین غلظت‌های مختلف بروملین و بقای سلول‌های 4T1، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۵۰$) (شکل ٤).



شکل ۳. نمودار تغییرات درصد بقای سلول‌ها بر حسب غلظت‌های متفاوت عصاره‌ی آناناس در زمان‌های انکوباسیون ۴۸ ساعت

میزان درصد زیست‌پذیری بروملین بر روی سلول‌های 4T1 در زمان‌های انکوباسیون ۲، ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱۲۵۰/۷۰، ۱۵۳/۹۸، ۱٤۹/۰۲ و ۱٤۲/۵۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج مقایسه‌ی غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد (IC50 یا Half maximal inhibitory concentration IC50) بروملین بر روی سلول‌های 4T1 نشان داد که در داده‌های پیش‌گفته، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < ۰/۰۵۰$).



شکل ۴. نمودار تغییرات درصد بقای سلول‌ها بر حسب غلظت‌های متفاوت عصاره‌ی آناناس در زمان‌های انکوباسیون ۷۲ ساعت

بحث

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر سمیت سلولی بروملین بر روی سلول‌های سرطانی پستان موش (4T1) در شرایط آزمایشگاهی بود. اثر ضد سرطانی بروملین در تعداد محدودی از مطالعات بررسی شده است. این مطالعات، بر روی تعدادی از سلول‌های سرطانی موشی و انسانی نظیر ملانوما، کولون و معده بررسی و مشاهده شده است که اثرات ضد سرطانی بروملین به دلیل ترکیبات پروتئاز آن می‌باشد (۷). در مطالعه‌ی Tysnes و همکاران، بروملین منجر به کاهش چسبندگی و تهاجمی شدن سلول‌های گلایوما شد، اما تأثیری بر بقا و تقسیم سلولی آن‌ها نگذاشت (٤). Bhui و همکاران، با بررسی اثر عصاره‌ی آناناس بر روی تکثیر سلول‌های کارسینومای اپیدرموئید و ملانومای انسانی و مشاهده‌ی آپوپتوز، این عصاره را به یک ضد سرطان بالقوه معرفی کردند (۱۱).

در مطالعه‌ی امینی و همکاران، اثر ضد سرطانی عصاره‌ی آناناس بر روی سلول‌های کارسینومای انسانی کولون (HT29-5F12 و HT29-5M21) و معده (MKN45 و KATO-III) باعث مهار رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی شد و مکانیسم اثر ضد سرطانی بروملین از طریق فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوز وابسته به کاسپاز و آپوپتوز p53 مستقل از رونویسی و مهار هم‌زمان بقای سلول شناخته شد (۸).

Pillai و همکاران، اثر ترکیبی بروملین و ان- استیل سیستئین را برای درمان آسیت موسینوس حاصل از سرطان Pseudomyxoma peritonei بررسی کردند. بر اساس نتایج این مطالعه‌ی سلولی و حیوانی، ترکیب

موجب از بین رفتن میوسین در ۷۲ ساعت شد (۱۶). آن‌ها اثر ضد سرطانی بروميلين را به صورت تنها و یا در ترکیب با داروهای شیمی‌درمانی سیس‌پلاتین و یا فلوئوروراسیل در سلول‌های سرطانی مزوتلیوم صفاقی مطالعه کردند. آن‌ها در مطالعه‌ی دیگری دریافتند که عصاره‌ی آناناس، باعث کاهش بقای این سلول‌های سرطانی از طریق آپوپتوز و اتوفاژی شد و در ترکیب با سیس‌پلاتین، سیتوتوکسیسیتی سلول‌های سرطانی را افزایش داد، اما در ترکیب با فلوئوروراسیل، اثر هم‌افزایی مشاهده نشد (۱۲).

امینی و همکاران، اثر بروميلين را به صورت درمان تنها و یا در ترکیب با ان- استیل سیستئین بر روی سلول‌های سرطانی معده- روده‌ای نوع انسانی بررسی کردند. مکانیسم اثر از طریق آپوپتوز و اتوفاژی بود (۱۳). عصاره‌ی آناناس بر روی سلول‌های سارکوما (L-1 یا Line-1) منجر به کاهش اثر سرطان‌زایی و تهاجم سلول‌ها شد و همچنین، در سلول‌های سرطانی P-388، S-37، LLC، MB-F10 و ADC-755 اثر سمیت زیادی نشان داده است (۷).

مکانیسم عمل عصاره‌ی آناناس از طریق افزایش ژن‌های القا کننده‌ی آپوپتوز (P53 و Bax) و کاهش ژن‌های القا کننده‌ی بقای سلول (Akt و Erk) می‌باشد. در مطالعات انجام شده، اثر ضد سرطانی در زمان‌های طولانی انکوباسیون و بیشتر از ۷۲ ساعت بررسی شده بود. در مطالعه‌ی حاضر، میزان بقای سلول‌های سرطانی 4T1 در حضور بروميلين در زمان‌های انکوباسیون متفاوت (۲، ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت) بررسی شد. بر اساس نتایج این مطالعه، در زمان‌های انکوباسیون ۲٤ و ٤۸ ساعت، عصاره‌ی آناناس در غلظت‌های بالای ۶۰۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به کاهش فراوان بقای سلول‌های سرطانی شد و اثر سمیت بالایی داشت. نتایج حاصل از ۲٤ ساعت انکوباسیون در مطالعه‌ی حاضر، با مطالعه‌ی Tysnes و همکاران (٤) از توافق بالایی برخوردار بود.

در این مطالعه، برای اولین بار زمان انکوباسیون ٤۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون، غلظت‌های پایین بروميلين همانند غلظت‌های بالا، بقای سلول‌های سرطانی را کاهش داد و اثر سمیت بالایی از خود نشان داد.

در مطالعات امینی و همکاران، غلظت‌های بالای بروميلين (۶۰۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بعد از ۷۲ ساعت، اثر سمیت بالایی در سرطان کولون ایجاد کرد، اما در غلظت‌های پایین بدون اثر سمی بود (۱۳). در سرطان معده، در غلظت‌های بالا و پایین (۶۰۰-٤۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اثر سمیت بالایی از بروميلين گزارش شد. نتایج این مطالعه در غلظت‌های بالا مشابه با مطالعه‌ی امینی و همکاران (۱۳) بود، اما در غلظت‌های پایین‌تر (٤۰-۵ میکروگرم برمیلی‌لیتر)، اثر سمیت بروميلين در رده‌ی سلول‌های سرطانی 4T1 مشاهده شد؛ در صورتی که در مطالعه‌ی امینی و همکاران (۱۳)، اثر سمیت این غلظت‌های پایین مشاهده نشد. این تفاوت، ناشی از تفاوت سلول‌های سرطانی در منشأ و مورفولوژی آن‌ها می‌باشد.

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، در زمان‌های درمانی طولانی، بروميلين بر روی ژن‌های القا کننده‌ی آپوپتوز اثر می‌گذارد و باعث افزایش فعالیت این ژن‌ها می‌شود که منجر به مرگ سلولی می‌گردد. مکانیسم اثر سمیت سلولی بروميلين از طریق افزایش بیان ژن‌های فعال کننده‌ی آپوپتوز نظیر Bax و p53 و کاهش ژن‌های فعال کننده‌ی بقای سلول نظیر extracellular signal–regulated kinase (Erk) و Akt (Protein kinase B یا PKB) می‌باشد. در زمان‌های درمانی طولانی‌تر با افزایش غلظت بروميلين، اثر سمیت سلولی بیشتری مشاهده می‌شود؛ چرا که با افزایش غلظت، فعالیت کاسپاز-۳، کاسپاز-۹ و هم‌زمان سیتوکراتین-۱۸ در سلول‌های سرطانی افزایش می‌یابد و به طور متقابل، میزان آپوپتوز بیشتری در سلول‌های سرطانی روی می‌دهد (۱۰).

از طرفی، در زمان انکوباسیون ۲ ساعت، بقای سلول‌های سرطانی در حضور عصاره‌ی آناناس نه تنها کاهش نیافت، بلکه افزایش نشان داد؛ اگر چه این افزایش، از لحاظ آماری با درصد کمی معنی‌دار شده است. بر اساس جستجوهای پژوهشگران، مطالعه‌ای بر روی زمان انکوباسیون کوتاه صورت نگرفته است. بر اساس نتایج این مطالعه، این گونه استنباط می‌شود که بروميلين در زمان بسیار کوتاه انکوباسیون، باعث فعال‌سازی ژن و یا ژن‌های القا کننده‌ی بقای سلول سرطانی 4T1 می‌شود و بر خلاف زمان‌های طولانی انکوباسیون (فعال‌سازی ژن‌های القا کننده‌ی آپوپتوز) عمل می‌کند. از این رو، مطالعه‌ی حاضر، به منظور بررسی مکانیسم دقیق بروميلين در زمان‌های کوتاه و طولانی و در سلول‌های سرطانی دیگر ادامه دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل نتایج پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی به شماره‌ی ۳۹۵۱۷٤ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. همچنین، از مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (طرح شماره‌ی ۲۰۷٤) که قسمتی از حمایت مالی این مطالعه را تقبل نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Shahbazi-Gahrouei D. Radiobiological modeling in radiation oncology. J Radiobiol 2014; 1(1): 17-8.
2. Ahmadi Z, Shahbazi-Gahrouei D, Hashmi-Beni B, Karbalaee M. Effects of exposure to 900-mhz mobile-

telephony radiation on growth and metabolism of human-adipose-derived stem cells. J Isfahan Med Sch 2015; 32(316): 2268-78. [In Persian].
3. Shahbazi-Gahrouei D, Asgarian M, Setayeshi S, Jafari S. The influence of low-frequency electromagnetic fields (ELFs) on MCF-7 cancer cells. J Isfahan Med Sch 2016; 33(362): 2137-42. [In Persian].
4. Tysnes BB, Maurer HR, Porwol T, Probst B, Bjerkvig R, Hoover F. Bromelain reversibly inhibits invasive properties of glioma cells. Neoplasia 2001; 3(6): 469-79.
5. Taussig SJ, Szekerczes J, Batkin S. Inhibition of tumour growth in vitro by bromelain, an extract of the pineapple plant (Ananas comosus). Planta Med 1985; (6): 538-9.
6. Eckert K, Grabowska E, Stange R, Schneider U, Eschmann K, Maurer HR. Effects of oral bromelain administration on the impaired immunocytotoxicity of mononuclear cells from mammary tumor patients. Oncol Rep 1999; 6(6): 1191-9.
7. Chobotova K, Vernallis AB, Majid FA. Bromelain's activity and potential as an anti-cancer agent: Current evidence and perspectives. Cancer Lett 2010; 290(2): 148-56.
8. Amini A, Ehteda A, Masoumi MS, Akhter J, Pillai K, Morris DL. Cytotoxic effects of bromelain in human gastrointestinal carcinoma cell lines (MKN45, KATO-III, HT29-5F12, and HT29-5M21). Onco Targets Ther 2013; 6: 403-9.
9. Romano B, Fasolino I, Pagano E, Capasso R, Pace S, De RG, et al. The chemopreventive action of bromelain, from pineapple stem (Ananas comosus L.), on colon carcinogenesis is related to antiproliferative and proapoptotic effects. Mol Nutr Food Res 2014; 58(3): 457-65.
10. Dhandayuthapani S, Perez HD, Paroulek A, Chinnakkannu P, Kandalam U, Jaffe M, et al. Bromelain-induced apoptosis in GI-101A breast cancer cells. J Med Food 2012; 15(4): 344-9.
11. Bhui K, Tyagi S, Srivastava AK, Singh M, Roy P, Singh R, et al. Bromelain inhibits nuclear factor kappa-B translocation, driving human epidermoid carcinoma A431 and melanoma A375 cells through G(2)/M arrest to apoptosis. Mol Carcinog 2012; 51(3): 231-43.
12. Pillai K, Ehteda A, Akhter J, Chua TC, Morris DL. Anticancer effect of bromelain with and without cisplatin or 5-FU on malignant peritoneal mesothelioma cells. Anticancer Drugs 2014; 25(2): 150-60.
13. Amini A, Masoumi-Moghaddam S, Ehteda A, Morris DL. Bromelain and N-acetylcysteine inhibit proliferation and survival of gastrointestinal cancer cells in vitro: significance of combination therapy. J Exp Clin Cancer Res 2014; 33: 92.
14. Kotake-Nara E, Kushiro M, Zhang H, Sugawara T, Miyashita K, Nagao A. Carotenoids affect proliferation of human prostate cancer cells. J Nutr 2001; 131(12): 3303-6.
15. Arab-Bafrani Z, Shahbazi-Gahrouei D, Abbasian M, Fesharaki M. Multiple MTS assay as the alternative method to determine survival fraction of the irradiated HT-29 colon cancer cells. J Med Signals Sens 2016; 6(2): 112-6.
16. Pillai K, Akhter J, Chua TC, Morris DL. A formulation for in situ lysis of mucin secreted in pseudomyxoma peritonei. Int J Cancer 2014; 134(2): 478-86.

Journal of Isfahan Medical School Received: 31.07.2016

Vol. 34, No. 394, 2nd Week, October 2016 Accepted: 17.09.2016

Cytotoxicity Effect of Pineapple Extract on Breast Cancer Cells (4T1)

Fazane Raeisi[1], Elham Raeisi[2], Daryoush Shahbazi-Gahrouei[3], Esfandiyar Heidarian[4], Mohammad Amiri[5], Mostafa Gholami[6]

Short Communication

Abstract

Background: Aqueous extract of pineapple (Bromelain) is used in medicine. Bromelain has anticancer effect on leukemia, lymphoma, sarcoma and melanoma. The purpose of this study was to evaluate the anticancer effect of bromelain on mouse breast cancer (4T1) cells under in-vitro conditions.

Methods: Mouse breast cancer (4T1) cells were incubated with different concentrations of the bromelain for 2, 24, 48 and 72 hours. The growth-inhibitory was investigated via 3 (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide (MTT) assay. Kruskal-Wallis and Dunn's tests were used to evaluate the statistical significance of the difference between the experimental and control groups.

Findings: Bromelain significantly inhibited proliferation of 4T1 cells in a concentration-dependent manner. In all concentrations, cell viability decreased with respect to the control incubated cells in the absence of extract ($P < 0.05$). Bromelain exerted highest antiproliferative effects on 4T1 cells for concentrations of 100, 200, 300, 400 and 600 μg/ml ($P < 0.05$) for 24, 48 and 72 hours, while cell viability increased for times shorter than 2 hours. The half maximal inhibitory concentration (IC50) value of 142.6 μg/ml was obtained from treating 4T1 cells.

Conclusion: Results showed that bromelain has cytotoxic effects on the growth and proliferation of 4T1 cells for 24, 48 and 72 hours of incubation. This study is ongoing to assess the extract mechanism of action.

Keywords: Pineapple extract (Bromelain), Breast cancer (4T1) cells, Cytotoxicity

Citation: Raeisi F, Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian E, Amiri M, Gholami M. **Cytotoxicity Effect of Pineapple Extract on Breast Cancer Cells (4T1).** J Isfahan Med Sch 2016; 34(394): 946-51.

1- MSc Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Clinical Biochemistry Research Center AND Department of Medical Physics and Radiology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
3- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Professor, Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
5- Researcher, Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
6- Radiation Oncologist, Department of Radiation Oncology, Parsian Clinic, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Daryoush Shahbazi-Gahrouei, Email: shahbazi@med.mui.ac.ir