مقاله پژوهشی

# بررسی تاثیر روغن پالم بر بقای سلول‌های سرطان خون رده K562

کیمیا فرخی بهار[1] و آزاده حکمت[1*]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: آزاده حکمت، دکتری تخصصی، hekmat@ut.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۳/۳ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۵/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۶/۲۸

**چکیده**

**پیشینه و هدف:** روغن نخل یا روغن پالم دومین روغن نباتی جهان از نظر مقدار تولید به شمار می‌آید و دارای مقدار فراوانی ترکیبات فیتوشیمیایی مانند ویتامین E، کاروتنوئید و فیتواسترول است. هدف از این پژوهش بررسی اثر بازدارندگی رشد سلولی روغن پالم برروی رده سلولی K562 به عنوان مدل سرطانی است.

**روش کار:** دراین مطالعه سلول‌های سرطان خون رده K562 با غلظت‌های ۵ و ۲۵ و ۵۰ و ۷۵ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر روغن پالم به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شد. سپس از تست MTT، تست NAC و همچنین مشاهدات سلولی جهت بررسی تغییرات سلولی و مرگ/زنده‌مانی سلول‌ها استفاده شد.

**یافته ها:** روغن پالم در غلظت های بالای ۵ میکروگرم در میلی لیتر موجب القای مرگ سلولی قابل توجه شد. تصاویر میکروسکوپی نیز مرگ سلولی پس از تیمار با روغن پالم را نشان داد.همچنین میزان بازدارندگی رشد سلولی روغن پالم پس از ۲۴ ساعت بیشتر از ۴۸ ساعت بود. پس از تیمار با NAC ٪۸۱ بقای سلولی و زنده‌مانی مشاهده شد ($P<0.001$).

**نتیجه گیری:** با توجه به اثر بازدارندگی رشد سلولی روغن پالم بر رده سلولی K562، روغن پالم می‌تواند به عنوان یک کاندید بالقوه برای درمان سرطان در نظر گرفته شود.

**واژه‌های کلیدی:** روغن پالم، لوسمی میلیوئیدی مزمن، قدرت مهاری، NAC

## مقدمه

روغن پالم از میوه درخت نخل روغنی (*Elaeis guineensis*) بومی غرب آفریقا استخراج می‌شود (Shimizu and Desrochers, 2012). گیاه پالم تا ارتفاع ۳۰ متر رشد کرده و هر دو جنس نر وماده برروی یک پایه قرار دارند و جزو گیاهان چند ساله طبقه بندی می‌شود که عمر مفید آن بین ۲۰ تا ۲۵ سال است (Obahiagbon, 2012). زیستگاه طبیعی این گیاه در جنگل‌های آب شیرین غرب آفریقا است (Obahiagbon, 2012). تاریخچه استفاده از روغن پالم به ۵۰۰۰ سال پیش در مصر بر می‌گردد، اما فقط یک قرن است که این ماده به صورت جهانی مورد استفاده قرار گرفته است (Shimizu and Desrochers, 2012). روغن پالم به عنوان یک محصول تجاری از ۱۹۱۱ به بهره برداری رسید. با توجه به آمار منتشر شده توسط USDA، از سال ۱۹۸۰ تا ۲۰۱۱ تولید روغن پالم از ۴/۵ میلیون تن در سال به ۵۵ میلیون تن رسیده است. در ۲۰۱۲-۲۰۱۱ این فراورده ۳۲٪/۷ از عرضه روغن های نباتی جهان به خود اختصاص داده است که بخش عمده آن ۸۵-۸۳٪ در مالزی و اندونزی تولید می‌شود که این دو کشور تامین کننده ۸۹٪ از نیاز جهانی می‌باشند (Shimizu and Desrochers, 2012). بر اساس بررسی‌های به عمل آمده مصرف روغن پالم از سال ۲۰۱۰ تا سال ۲۰۱۲، ٪۳۶ افزایش یافته است (Oguntibeju *et al.*, 2009). روغن نخل یا روغن پالم دومین روغن نباتی جهان از نظر مقدار تولید به شمار می‌آید، ضمن آنکه بالاترین میزان صادرات را در میان روغن‌های نباتی به خود اختصاص داده است. این روغن از

قسمت گوشتی میوه بدست می‌آید. ولی روغن هسته پالم از مغز هسته‌های میوه پالم استخراج و از نظر ترکیب و خصوصیات فیزیکی با روغن پالم متفاوت و مصارف و بازار جداگانه‌ای دارد (Oguntibeju *et al.*, 2009; Hekmat *et al.*, 2023). روغن استخراج شده از میوه به طور عمده در مواد غذایی استفاده می‌شود. روغن استخراج شده از هسته کاربردی‌های غیرخوراکی دارد (Basiron and Weng, 2004). از تجزیه روغن پالم عمدتا دو بخش پالم اولئین (بخش مایع) و پالم استئارین (بخش جامد) تولید می‌شود. نقطه دود درجه حرارتی است که در آن از سطح روغن دود متصاعد و بوی تندی ایجاد می‌شود و این شاخص برروغن های نباتی بالاتراز روغن های حیوانی می‌باشد. حرارت زیاد در هنگام سوختن و دود کردن روغن‌ها، گلیسرول به آکرولئین تبدیل می‌کند و نقطه دود روغن ها به میزان اسیدهای چرب آزاد حاضر در ترکیب آنها بستگی داشته و با افزایش آن دود کردن روغن ها در دمای پایین‌تری به وقوع پیوست. دراثر شرایط نگهداری (نامناسب) روغن مقادیر اسیدهای چرب آزاد افزایش یافته که نوبه خود منجر به کاهش نقطه دود روغن خواهد شد. این روغن تقریبا ۲۳۰ درجه سانتیگراد دارد. این ترکیب در دمای اتاق نیمه جامد است زیرا ۵۰٪ آن اسیدچرب اشباع و ۵۰٪ دیگرآن غیراشباع است (Nagendran *et al.*, 2000).

روغن خام دارای طعم و بو بسیار قوی بوده و پایدار نیست که به دلیل وجود اسیدهای چرب آزاد و سایر ناخالصی‌ها می‌باشد. روغن پالم قرمز تصفیه شده، روغنی بی بو، بی مزه و بسیار پایدار می‌باشد که حاوی ۸۰٪ از محتوای کاروتنویید و ویتامین E اولیه می‌باشد (Benade, 2003). با تصفیه بیشتر روغن پالم می‌توان به اولئین و سوپر اولئین دست یافت که دارای مقادیر بالاتری از اسید اولئیک و همچنین مقادیر کمتری از اسید های چرب اشباع را دارا می‌باشد (Obahiagbon, 2012). امروزه روغن پالم به دلایلی همچون عدم نیاز یا نیاز جزیی به هیدروژناسیون، عمر انبارمانی بالای آن در محصولات مختلف کاربرد گسترده ای در صنعت غذا دارد (Mukherjee and Mitra, 2009). بیش از ۸۰٪ از تولیدات روغن پالم جهت مصارف خوراکی از قبیل افزودن به مواد غذایی و یا به عنوان یک عنصر در فرمولاسیون طیف گسترده ای از محصولات غذایی به کار برده می‌شود (Shimizu and Desrochers, 2012). به عنوان مثال شیره حاصل از خراشیده شدن میوه پالم نقش دارویی در درمان مالاریا، سرخک، زردی و همچنین افزایش شیر در مادران شیرده است. ۱۰٪ باقیمانده دارای کاربردهای غیرخوراکی می‌باشد (Basiron and Weng, 2004). مطالعات اخیر نشان داده است روغن پالم در دارورسانی بسیار مفید است. اثرات نانوامولسیون با غلظت‌های مختلف روغن و دارو بر اندازه قطرات با استفاده از طیف سنجی پراکندگی لیزر (نانوفوکس) مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که با افزایش غلظت روغن و غلظت دارو، اندازه قطرات افزایش می‌یابد (MHF, 2011). مطالعه دیگر نیز تاثیر میوه درخت پالم بر سرطان پانکراس مورد بررسی قرار گرفت و تاثیر ضد سرطانی آن آشکار شد (Al Alawi *et al.*, 2020).

لوسمی یا سرطان خون یکی از شایع و مهلک سرطان‌ها است. گلبول‌های سفید خونی معمولا در صورت نیاز بدن، به طریقی منظم و کنترل شده رشد وتقسیم می‌شوند. اما در بیماری لوسمی دراین روند اختلال ایجاد شده و رشد سلول‌های خونی از کنترل خارج می‌شوند. با توجه به اهمیت درمان این سرطان و تلاش برای یافتن روش‌های درمانی جدید، در این مطالعه به بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف روغن پالم بر رشد سلول‌های سرطان خون رده K562 پرداخته شد. امید است نتایج حاصل از این مطالعه جهت طراحی روش درمانی جدید در درمان سرطان بر پایه روغن خوراکی پالم به کار رود.

## روش مطالعه

**مواد:** پودر MTT، پنی سیلین و استرپتومایسین از شرکت سیگما آلدریچ (آمریکا) خریداری شدند. محیط کشت RPMI و سرم جنین گاوی از شرکت Gibco-Invitrogen (آمریکا) خریداری شدند. رده سلولی K562 از مرکز تحقیقات فناوری بن یاخته (ایران) خریداری گردید. روغن پالم خالص از شرکت لادن (ایران) خریداری شد.

**تیمار سلول‌ها با پالم رقیق شده:** مقدار ۵۰ میکروگرم روغن پالم خام توسط ترازو وزن شد و در ۱ میلی لیتر اتانول حل شد. سپس بعد از شمارش سلولی در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه استریل ۱۰۰ میکرولیتر سلول ریخته شد. سپس غلظت‌های مختلف روغن پالم به سلول‌ها اضافه شد. غلظت‌ها به ترتیب عبارتند از: ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر، ۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر، ۵ میکروگرم در میلی لیتر، ۷/۵ میکروگرم در میلی لیتر و ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر. سپس سلول‌ها به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور انکوبه شدند.

**سنجش بقای سلول:** بعد از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت از زمان تیمار و سانتریفیوژ سلول‌ها، ۲۵ میکرولیتر رنگ MTT به تمام چاهک‌هایی

که قبلا سلول در آن‌ها کشت داده شده بود، اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. بعد از گذشت زمان انکوباسیون، به هر کدام از چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط مشابه شرایط کشت سلول قرار داده شد . سپس جذب نوری با استفاده از اندازه‌گیری شد ( Hekmat *et al.*, 2022; Taherkhani *et al.*, 2023). مقادیر جذب نوری (OD) برای هر چاهک توسط دستگاه ELISA reader الایزاریدر Model Expert 96, Asys Hitchech (ساخت استرالیا)، در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانش شد.

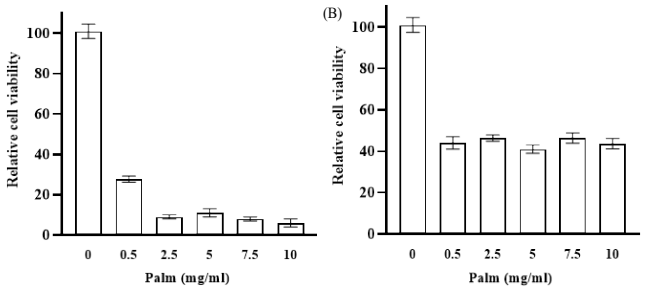
**مشاهده سلول‌ها با میکروسکوپ نوری:** سلول‌ها تیمار شده با روغن پالم (۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) پس از ۲۴ ساعت توسط میکروسکوپ اینورت بررسی شد.

**تست N- استیل سیستئین یا NAC:** ابتدا ۱۰۰میکرولیتر سلول در پلیت ۹۶ کشت می‌شود. یک ساعت قبل از تابش لیزر، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول NAC به هر چاهک افزوده شد و بعد از گذشت یک ساعت NAC تخلیه شد. سپس سلول‌ها با لیزرکم توان با طول موج ۶۵۵ نانومتر و پالم رقیق شده تیمار شد و به مدت ۲۴ ساعت پلیت‌ها انکوبه شد. بعداز گذشت زمان مورد نظر به هریک از چاهک‌ها محلول۲۵ میکرولیتر MTT افزوده و ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. پس از گذشت زمان به پلیت‌ها DMSO به مقدار ۵۰ میکرولیترافزوده شد و پس از ۲۰ دقیقه پلیت‌ها شیک شد. سپس برای خوانش در دستگاه الایزاریدر با طول موج ۵۷۰ نانومتر قرار داده شد.

**بررسی آماری داده‌ها:** نرم افزار GraphPad Prism ورژن ۹ جهت ترسیم نمودارها به کار رفت. همه آزمایش ها سه بارتکرار شدند. برای بررسی معنی‌دار بودن آماری داده‌ها از روش Two-tailed student t-test استفاده شد و تغییراتی با $***P<0.001$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

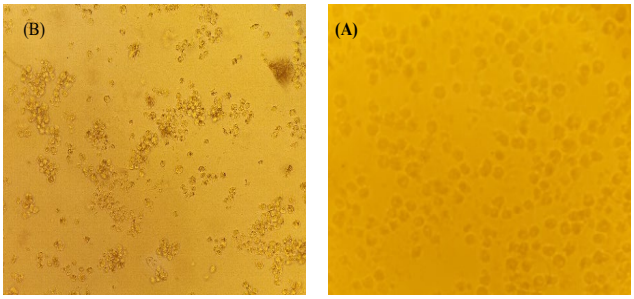
## نتایج

**بررسی میزان تکثیر سلولی تیمار شده با روغن پالم با تست MTT:** زنده‌مانی سلول‌های رده سلولی K562 پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار با غلظت‌های مختلف روغن پالم، ارزیابی شد (شکل ۱). نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت روغن پالم کاهش رشد سلولی پس از گذشت هر دو زمان مشاهده می‌شود. همچنین قابل ملاحظه است که ۲۴ ساعت تیمار روغن پالم تاثیر بازدارندگی بیشتری بر رشد سلول‌ها نسبت به ۴۸ ساعت تیمار دارد.



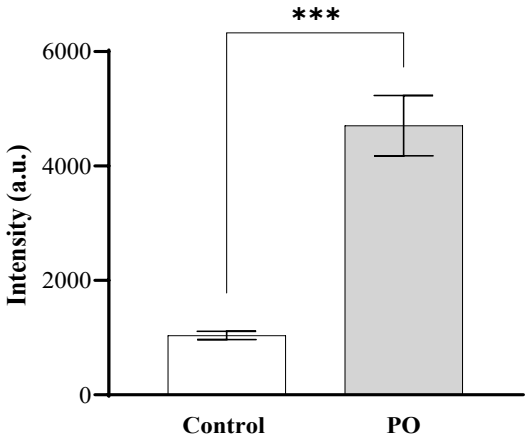

**شکل ۱.** درصد بقای سلول‌های K562 پس از ۲۴ (A) و ۴۸ (B) ساعت تیمار با روغن پالم (آزمایش‌ها سه بار تکرار شده است)

**مورفولوژی سلول‌ها:** همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد، سلول‌های K562 پس از ۲۴ ساعت رشد کمتری نسبت به نمونه کنترل دارند.




**شکل ۲.** سلول‌هایK562 قبل (A) و پس از تیمار با روغن پالم (B) پس از ۲۴ ساعت (بزرگنمایی X ۴۰)

**نتایج تست NAC:** طبق شکل ۳، NAC که یک بی اثر کننده ی گونه‌های فعال اکسیژن است توانست باعث کاهش اثرگذاریروغن پالم شود و درصد نسبی زنده‌مانی سلول‌ها به ۸۱٪ رسید.




**شکل ۳.** نمودار بقای سلولی تیمارشده با NAC بر میزان زنده مانی نسبی سلول‌ها پس از تیمار با روغن پالم به مدت ۲۴ ساعت ($***P<0.001$)

## بحث

با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، روغن پالم در غلظت‌های بالای ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب القای مرگ سلولی در سلول‌های سرطان خون رده K562 می‌شود. همچنین میزان بازدارندگی رشد سلولی روغن پس از ۲۴ ساعت بیشتر از ۴۸ ساعت می‌باشد. در مطالعه‌ای تاثیر بازدارندگی سلولی پانیسیک اسید روغن هسته انار بر روی سلول‌های سرطانی رده K562 بررسی شد و نشان داده شد پانیسیک اسید دارای اثرات بازدارندگی بر روی سلول‌های سرطانی K562 است (Vazirijavid *et al.*, 2017). این نتایج با مطالعه Ji و همکاران مبنی بر القای مرگ سلولی وابسته به غلظت در روغن پالم در سلول‌های سرطان پانکراس تطابق دارد (Ji *et al.*, 2015). آنها همچنین نشان دادند که روغن پالم از طریق مهار مسیر NF-κB موجب القای مرگ سلولی می‌گردد. این مطالعه همچنین با نتایج Al Alawi و همکاران مبنی بر تاثیر میوه درخت پالم بر کاهش رشد سلول‌های سرطان پانکراس کاملا تطابق دارد (Al Alawi *et al.*, 2020). مطالعات Elena, and Fanelli حاکی از آن است که دلیل اصلی بازدارندگی رشد سلولی روغن پالم، وابسته به میزان نسبتا بالای اسیدهای چرب اشباع شده به ویژه اسید پالمتیک است. آنها بیان داشتند که گونه‌های فعال اکسیژن با اسیدهای چرب اشباع نشده واکنش می‌دهد و موجب القای مرگ سلولی می‌گردند.

## نتیجه‌گیری

بنابراین با توجه به مشاهدات این پژوهش مبنی بر تاثیر روغن پالم بر کاهش رشد سلولی در رده K562، می‌توان اینگونه بیان داشت که روغن پالم نقش درمانی در سرطان خون دارد. با اینحال نحوه دقیق مکانیسم عمل این ترکیب بر سلول‌های سرطان خون و همچنین امکان سنجی ورود این دارو به فازهای کلینیکال و صنعتی باید مورد بررسی دقیق‌تر قرار بگیرد.

## تقدیر و تشکر

بدین وسیله از کارکنان مجتمع آزمایشگاهی رازی تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

## مراجع

Al Alawi, R., Alhamdani, M.S.S., Hoheisel, J.D. and Baqi, Y. 2020. Antifibrotic and tumor microenvironment modulating effect of date palm fruit (phoenix dactylifera l.) extracts in pancreatic cancer. Biomedicine & Pharmacotherapy, 121: 109522.

Basiron, Y .and Weng, C.K. 2004. The oil palm and its sustainability. Journal of Oil Palm Research, 16(1).

Benade, A. 2003. Place for palm fruit oil to eliminate vitamin a deficiency. Asia Pacific journal of clinical nutrition, 12.(۳)

Hekmat, A., Bahar, K.F. and Hajebrahimi, Z. 2023. Antiproliferative effects of palm oil in the presence of photobiomodulation against k562 cancer cells. 6 Persiaran Institusi, Bandar Baru Bangi 43000 Kajang, Selangor, Malaysia Tel: 603-8769 4400, 35(3): 426-436.

Hekmat, A., Hatamie, S .and Saboury, A.A. 2022. The effects of synthesized silver nanowires on the structure and esterase-like activity of human serum albumin and their impacts on human endometrial stem cells. Inorganic and Nano-Metal Chemistry: 1-14.

Ji, X., Usman, A., Razalli ,N.H., Sambanthamurthi, R. and Gupta, S.V. 2015. Oil palm phenolics (opp) inhibit pancreatic cancer cell proliferation via suppression of nf-κb pathway. Anticancer research, 35(1): 97-106.

MHF, S. 2011. Effects of oil and drug concentrations on droplets size of palm oil esters (poes) nanoemulsion. Journal of oleo science, 60(4): 155-158.

Mukherjee, S. and Mitra, A. 2009. Health effects of palm oil. Journal of human Ecology, 26(3): 197-203.

Nagendran, B., Unnithan, U., Choo, Y. and Sundram, K. 2000. Characteristics of red palm oil, a carotene-and vitamin e–rich refined oil for food uses. Food and nutrition bulletin, 21(2): 189-194.

Obahiagbon, F. 2012. A review: Aspects of the african oil palm (elaeis guineesis jacq.) and the implications of its bioactives in human health. American Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2(3): 106-119.

Oguntibeju, O.O., Esterhuyse, A.J. and Truter, E.J. 2009. Red palm oil: Nutritional, physiological and therapeutic roles in improving human wellbeing and quality of life. British journal of biomedical science, 66(4): 216-222.

Shimizu, H. and Desrochers, P. 2012. The health, environmental and economic benefits of palm oil. IEM's Economic Note: 1-4.

Taherkhani, N., Piri, H., Hekmat, A. and Haghbeen, K. 2023. Humic and fulvic acids induced

Vazirijavid, R., maghsodi, H. and hajihosseini, r. 2017. Cytotoxic effect of punisic acid of pomegranate seed oil on the cellular line of blood cancer (k652). Pejouhesh dar Pezeshki (Research in Medicine), 41(2): 97-111.

thermodynamic and structural instability of tyrosinase with antiproliferative effect on a375 melanoma cancer cell line. Journal of Inflammatory Diseases, 26(4): 183-192..

Research in Cell &Tissue, Volume 3, Issue 2, 2022, Pages 25-29

Article

# The effects of Palm oil on human chronic leukemia cells (K562) growth

**Kimia Farokhi Bahar[1] and Azadeh Hekmat[1,*]**

[1] Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Correspondence to Azadeh Hekmat, Ph.D., hekmat@ut.ac.ir

Received 24th May 2021 Revised 4th Aug 2022 Accepted 19th September 2022

**Abstracts**

**Introduction and aim:** Palm oil (PO) is the second largest vegetable oil in the world and contains large quantities of phytochemicals, for example, vitamin E, carotenoids, and phytosterols. This study aimed to investigate the effect of Palm oil on the cellular growth of K652 blood cancer, as a model of cancer cells.

**Methods:** In this study, K562 leukemia cells were treated with concentrations of 5, 25, 50, 75, and 100 µg per mL of PO for 24 and 48 hours. MTT assay, NAC assay, and microscopic observations were used to evaluate cell changes and cell death/survival.

**Results**: PO at concentrations above 5 µg per ml induced significant cell death. Microscopic observations also confirmed cell death in cells that were treated with PO. Also, the rate of inhibition of cell growth of PO after 24 hours was more than 48 hours. After NAC treatment, 81% cell survival was observed ($P$ <0.001).

**Conclusion**: According to the results of this study, PO has a great inhibitory effect on K562 leukemia cells and could be a good candidate for cancer therapy.

***Keywords:*** Palm oil, Chronic myeloid leukemia, Inhibitory effect, NAC