**Chiết xuất lá thô ăn được ( *Ficus carica* ) Ngăn chặn Diethylstilbestrol (DES) - Sự đứt gãy sợi DNA trong điện di gel đơn tế bào (SCGE) / Thử nghiệm sao chổi: Tổng quan tài liệu và Nghiên cứu thí điểm**

## **trừu tượng**

Hình ( Ficus carica) cây là một trong những cây lâu đời nhất trên trái đất. Các đặc tính ngăn ngừa hóa học của polyphenol và chất xơ cấu thành liên quan đến việc quả sung có vai trò chức năng trong việc ngăn ngừa ung thư vẫn chưa được làm sáng tỏ đầy đủ. Do đó, chúng tôi đưa ra giả thuyết rằng chiết xuất lá sung sẽ ức chế (hoặc làm suy giảm) sự đứt gãy sợi đơn DNA do DES gây ra trong tế bào biểu mô vú MCF10A của con người. Để kiểm tra giả thuyết này, các tế bào MCF10A được xử lý bằng DES (1, 10, 100 μM), chiết xuất lá sung thô (5, 10, 15 μL), hoặc đồng thời với liều DES (100 μM) / chiết xuất lá sung (5, 10 , 15 μL). Các tế bào được phân tích sự đứt gãy sợi DNA bằng cách sử dụng xét nghiệm SCGE / COMET với thời điểm đuôi ô liu trung bình như một dấu hiệu của tổn thương DNA. Sợi DNA do DES gây ra bị đứt ở tất cả các cấp độ xử lý so với DMSO và đối chứng không điều trị. DES ở nồng độ 1, 10,và 100 μM tạo ra mô men đuôi ô liu trung bình lần lượt là 1,2082 (177,6%), 1,2702 (186,7%) và 1,1275 (165,7%), cao hơn có ý nghĩa thống kê (p <0,05) so với giá trị đối chứng DMSO (0,6803). Tiếp xúc với chiết xuất lá sung không tạo ra tổn thương DNA. Thay vào đó, sự giảm đứt gãy sợi DNA do DES gây ra phụ thuộc vào liều lượng mong muốn đã được quan sát thấy. Điều trị tổng hợp tế bào MCF10A với DES và chiết xuất lá sung làm giảm độc lực đứt gãy sợi DNA do DES gây ra. Tổng hợp lại, những kết quả này cho thấy một cơ chế tiềm năng để phòng ngừa ung thư. Các nghiên cứu bổ sung là cần thiết để xác định các thành phần hoạt tính có liên quan, xác nhận cơ chế hoạt động và làm sáng tỏ thêm tiềm năng điều trị của chiết xuất lá sung đối với phòng ngừa ung thư vú giai đoạn đầu.cao hơn có ý nghĩa thống kê (p <0,05) so với giá trị đối chứng DMSO (0,6803).

## **Giới thiệu**

Ung thư, được xếp hạng là nguyên nhân gây tử vong thứ hai ở Hoa Kỳ và Florida, được tách riêng ra để gán ung thư vú là nguyên nhân gây tử vong số 1 ở phụ nữ. Số liệu thống kê về ung thư toàn cầu gần đây nhất (ngày 12 tháng 9 năm 2018) chỉ ra một mô hình gia tăng tỷ lệ mắc và tử vong do ung thư dựa trên 36 loại ung thư được đo lường ở 185 quốc gia trên thế giới. Chỉ tính riêng trong năm 2018, toàn cầu có khoảng 18,1 triệu ca mắc mới và 9,6 triệu ca tử vong do ung thư. Trong số những trường hợp này, tỷ lệ mắc và tử vong do ung thư ở châu Mỹ (Bắc, Nam và Trung Mỹ, và vùng Caribê), ước tính là 21,0% ( ~ 3,8 triệu) và 14,4% ( ~1,4 triệu) trường hợp, tương ứng. Tỷ lệ mắc ung thư vú đứng thứ hai (11,6%) và tử vong đứng thứ năm (6,6%) trong số các bệnh ung thư được chẩn đoán phổ biến nhất (phổi, vú, đại trực tràng, dạ dày, gan và tuyến tiền liệt) ở cả hai giới. Các nạn nhân nữ của bệnh ung thư chiếm 24,2% (8,6 triệu) trường hợp mắc mới và khoảng 15,0% (4,2 triệu) trường hợp tử vong. Nhìn chung, từ năm 2017-2018, các trường hợp tại chỗ là dạng chính (28%) của ung thư vú ở phụ nữ từ 50-69 tuổi; các trường hợp xâm lấn chiếm ưu thế (27%) từ 60-69 tuổi; và tử vong phổ biến nhất (27%) ≥ 80 tuổi.

## **Nguyên liệu và phương pháp**

### **Tế bào và hóa chất**

Tế bào biểu mô vú ở người (MCF10A) bất tử, không biến đổi, không gây khối u (lành tính) có nguồn gốc từ một phụ nữ da trắng 36 tuổi mắc bệnh vú xơ nang được mua từ Bộ sưu tập nuôi cấy tế bào loại Mỹ (ATCC), Rockville, MD). Các hóa chất được sử dụng bao gồm Phương tiện Đại bàng Biến đổi (DMEM) của Dulbecco, streptomycin, dung dịch đệm phốt phát (PBS) và trypsin, và được mua bằng nguồn cung cấp dùng một lần từ Công ty Hóa chất Sigma (St. Eouis, MO). Tất cả các dung dịch làm lạnh đều được đưa về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

### **Nuôi cấy tế bào**

Tế bào biểu mô vú ở người (MCF10A) được nuôi cấy phụ hai lần mỗi tuần trong môi trường không có huyết thanh của Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) có bổ sung streptomycin. Cài đặt tủ ấm là 5% CO 2 , 95% không khí ở 37 ° C và 100% độ ẩm. Các tế bào được duy trì dưới dạng đơn lớp phát triển theo cấp số nhân cho đến khi đạt được sự hợp lưu. Các tế bào được rửa trong PBS, trypsinized và tiếp tục lại trong DMEM trước khi xử lý.

### **Chiết xuất nước của lá Ficus carica**

Chiết xuất lá vả đã được chuẩn bị và bảo quản lạnh để sử dụng trong các thí nghiệm nghiên cứu trong tương lai. Theo quy trình phòng thí nghiệm, lá sung được cân và đun sôi hai lần trong nước trong 30 phút và chiết xuất được lọc chân không. Dịch chiết được xử lý bằng 3 ml HCl 1% trên gam lá, ly tâm ở tốc độ 3000 vòng / phút trong 10 phút, và phần nổi phía trên được lọc bằng cách lọc chân không. Dịch chiết được cô đặc đến 50 ml và điều chỉnh pH đến 7,4.

### **Kính hiển vi tương phản pha**

Sự phát triển của các tế bào MCF10A và sao chổi phát triển từ quá trình xử lý hóa chất được quan sát bằng kính hiển vi tương phản pha sử dụng kính hiển vi huỳnh quang Zeiss. DNA được nhuộm bằng propidium iodide được lọc bằng ánh sáng xanh (kích thích ≈546 nm). Ở những nơi có thể, các bức ảnh về sao chổi được chụp để xác định tổn thương và / hoặc sửa chữa DNA, và để hình dung sự di chuyển của các đoạn đuôi, hình thành nên mẫu của một sao chổi trong quá trình điện di trên gel.

## **Thảo luận**

Đây in vitro nghiên cứu thí điểm được thiết kế độc đáo để điều tra các tiện ích của Ficus Carica L. (vả) chiết xuất từ lá trong việc làm giảm nguy cơ ung thư vú ở người. Chúng tôi đưa ra giả thuyết rằng chiết xuất lá sung sẽ ức chế sự đứt gãy sợi đơn DNA do DES gây ra ở các tế bào biểu mô vú bình thường (MCF10A) tại thời điểm mà khả năng chống đột biến của quả sung mới chỉ được đề xuất nhưng chưa được nghiên cứu đầy đủ trong các tài liệu mở. Nghiên cứu thử nghiệm khẳng định giả thuyết của chúng tôi, cung cấp dữ liệu thí nghiệm sơ bộ đầu tiên rằng chiết xuất lá sung làm giảm đứt gãy sợi DNA do DES gây ra trong tế bào biểu mô vú MCF10A ở người trong giai đoạn phát triển ung thư ban đầu.

Trong mô hình nhiều bước của quá trình sinh ung thư, tổn thương axit deoxyribonucleic (DNA) trong nhân là một sự kiện khởi đầu cần thiết cho việc tạo ra các tổn thương di truyền dẫn đến sự mất ổn định của bộ gen. Tiếp xúc với các tác nhân gây ung thư có thể gây đột biến và thay đổi các gen sửa chữa DNA và kiểm soát chu kỳ tế bào. Diethylstilbestrol (DES) là một ví dụ về một loại hormone estrogen tổng hợp có đặc tính độc học là một chất gây ung thư hoàn chỉnh. Nó được biết là gây ra và thúc đẩy sự phát triển của các khối u ác tính trong các tế bào biểu mô vú của con người cũng như các mô hình động vật gặm nhấm. DES được biến đổi sinh học tích cực bởi các enzym chuyển hóa thuốc cytochrome P450 thành chất trung gian có hoạt tính chuyển hóa chính của nó, DES-4,4'-quinone (DESQ). Sự tương tác của DESQ với DNA dẫn đến việc hình thành các sản phẩm bổ sung DNA và đứt gãy sợi .

## **Phần kết luận**

Diethylstilbestrol, estrogen tổng hợp đầu tiên có khả năng gây ung thư không steroid, đã được chứng minh là phá vỡ tính toàn vẹn của bộ gen và hình thái của các tế bào khối u biểu mô ở người không biến đổi (lành tính) (MCF10A), gây ra tổn thương DNA trên diện rộng (đứt và phân mảnh). về sự khởi phát của bệnh ung thư. Sự chuyển hóa tế bào của chất gây ung thư này thành chất trung gian quinone oxy hóa của nó (DESQ) cũng có tác động mạnh đến tế bào MCF10A.

Sự đóng góp tiềm năng của phytoestrogen trong việc giảm bớt gánh nặng sức khỏe cộng đồng của bệnh ung thư vú đang tăng lên. Nghiên cứu thử nghiệm này đặc biệt nhắm mục tiêu vào giai đoạn bắt đầu của quá trình sinh ung thư, mà các tác nhân ngăn ngừa hóa học tự nhiên không có trong tài liệu mở tại thời điểm nghiên cứu này. Từ nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo rằng điều trị bằng chiết xuất lá Ficus carica ức chế tổn thương DNA tự phát và đảo ngược sự đứt gãy sợi DNA do estrogen không steroid (DES) gây ra trong các tế bào khối u biểu mô vú ở người, không biến đổi (lành tính) (MCF10A). Ficus caricakhác biệt thúc đẩy quá trình sửa chữa DNA và cải thiện sự hình thành sao chổi do sự tương tác không thể đảo ngược của các chất chuyển hóa quinine oxy hóa của DES (DESQ) với bộ máy nhân. Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên cho thấy chiết xuất lá Ficus carica có cả vai trò ngăn ngừa hóa học và điều trị ung thư đối với ung thư vú giai đoạn đầu.