بررسی سیتوتوکسیسیتی آلفاتوکوفرول بر رده سلولی سرطان غدد پستانی سگ (CF41.Mg) ـ مطالعه *invitro*

ریحانه سفیدابی[۱]، پژمان مرتضوی[۲*]

چکیده

تومورهای غدد پستانی، شایع‌ترین تومورها از بین انواع تومورها هستند که کل سگ‌های ماده را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. جهش‌های ایجاد شده در ژن‌های وابسته به سرطان و تغییر اکسیداتیو پروتئین‌ها و آلدئیدهای واکنش پذیر از رخدادهای کلیدی بوده که می‌توانند مخاطره‌ی سرطان را افزایش دهند. نقش آنتی اکسیدان‌ها در پیشگیری و درمان سرطان‌ها توسط مطالعات بسیاری گزارش شده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر آلفاتوکوفرول بر تکثیر رده‌ی سلولی سرطانی پستان سگ (CF41.Mg) انجام شد. در این مطالعه، رده‌ی سلولی CF41.Mg در محیط RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute medium) کشت داده شد. سپس اثرات ضدتکثیری غلظت‌های مختلف آلفاتوکوفرول در زمان‌های ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از سنجش MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-tetrazolium bromide)، مورد بررسی قرار گرفت. آلفاتوکوفرول در غلظت ۱۰۰ میکرومولار پس از مدت ۷۲ ساعت بیشترین تأثیر ضدتکثیری را داشت. در این مطالعه آلفاتوکوفرول در مدت ٤۸ ساعت تأثیر کمتری را نشان داد. نتایج مطالعه، تأیید کننده‌ی اثر مهاری آلفاتوکوفرول بر تکثیر رده‌ی سلولی CF41.Mg می‌باشد.

واژگان کلیدی: *سیتوتوکسیسیته، آلفاتوکوفرول، سرطان غده پستانی، سگ.*

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/٤ تاریخ پذیرش: ۹٤/۸/۲۱

مقدمه

بدن موجود زنده، مجموعه‌ای از سلول‌هایی است که هر کدام وظیفه‌ی خاصی بر عهده دارند. اگر سلولی به صورت غیرقابل کنترل رشد و تکثیر پیدا کند، مشکلات متعددی برای خود و دیگر سلول‌ها ایجاد خواهد کرد (۱۰). سرطان در واقع رشد غیر قابل کنترل سلول است. تکثیر سلولی، منجر به تشکیل توده‌ای موسوم به «نئوپلاسم» یا «تومور» می‌شود که ممکن است با انتشار به محل‌های دورتر به متاستاز منجر گردد. اساس ایجاد تمام نئوپلاسم‌ها فقدان پاسخ به مهارهای طبیعی رشد و همچنین فقدان کنترل چرخه‌ی سلولی است.(۱) تومورهای غدد پستانی، شایع‌ترین تومورها از بین انواع تومورها هستند که کل سگ‌های ماده را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. شیوع این تومور در سگ‌ها سه برابر انسان‌ها است. به طور کلی وقوع سرطان پستان هم در جنس نر و هم ماده اتفاق می‌افتد ولی ۹۹٪ موارد ابتلا به تومورهای پستانی در جنس ماده دیده می‌شوند. امروزه تومورهای پستان، ۵۰٪ کل تومورهای سگ‌های ماده را شامل می‌شوند که ٤۱ تا ۵۳٪ آنها به شکل بدخیم تظاهر می‌یابند(٦). علت بروز تومورهای پستانی در سگ ناشناخته است با این وجود، فاکتورهایی که به روند ایجاد و تکامل این تومورها کمک می‌کنند تا حد زیادی شناخته شده‌اند؛ مثل برخی از عوامل معمول که خطر ابتلا به تومور پستان را افزایش می‌دهند. دو مورد از مهم‌ترین آن‌ها سن و هورمون‌ها هستند. نژاد، رژیم غذایی و چاقی نیز از دیگر عوامل خطر برای توسعه‌ی تومورهای پستانی در سگ‌ها می‌باشند(۱۸).

از نقطه نظر اهمیت آسیب DNA در سرطان‌زایی باید خاطر نشان کرد که هر ماده‌ی قادر به واکنش با DNA و تغییر شیمیایی آن می‌تواند سرطان‌زا باشد. محتمل است که انواع اکسیژن واکنش‌پذیر (Reactive Oxygen Species; ROS)، مثل آنیون سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید، رادیکال هیدروکسیل و... به این گروه از مواد تعلق دارند که باعث تغییرات اسید نوکلئیک و پروتئین‌ها شده و به‌عنوان اتیولوژی شروع سرطان مطرح می‌باشند. همچنین پیشرفت سرطان پستان وابسته به درجه‌ی

۱- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*۲- گروه آموزشی پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (sp.mortazavi@gmail.com)

استرس اکسیداتیو و خصوصاً عدم تعادل بین گونه‌های اکسیژن فعال و دفاع اکسیداتیو است. اهداف ROS را DNA، پروتئین‌ها، RNA و لیپیدها تشکیل می‌دهند(۲). در شرایط طبیعی، بین تولید رادیکال‌های آزاد و تخریب آن به کمک سیستم آنتی‌اکسیدان سلولی، تعادل ثابتی وجود دارد، بنابراین هرگونه عدم تعادل بین سطح اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها باعث آسیب DNA و پیشرفت سرطان می‌شود.

فرض بر اینکه آسیب DNA به‌وسیله‌ی ROS به‌طور قابل اهمیتی در توسعه سرطان مؤثر بوده، عوامل کاهش‌دهنده‌ی شکل‌گیری آن‌ها می‌بایستی مخاطره‌ی سرطان را تقلیل دهند. علاوه بر آن، نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در پیشگیری و درمان سرطان‌ها توسط مطالعات بسیاری گزارش شده‌است (۲). از طرفی مولکول‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی می‌توانند بیش از یک عملکرد داشته باشند. به‌عنوان مثال بسیاری از مولکول‌هایی که به‌طور بالقوه ربایندهی رادیکال‌های آزاد هستند و به صورت آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند می‌توانند به عنوان لیگاند برای فاکتورهای رونویسی، تنظیم‌کننده‌ی فعالیت آنزیم‌ها و یا اجزای ساختمانی ایفای نقش کنند (۲۰). یکی از این مولکول‌ها ویتامین E است که به‌عنوان مهم‌ترین عامل جمع‌آوری کننده‌ی رادیکال پراکسید و آنتی‌اکسیدان شکننده‌ی زنجیر (chain- breaking antioxidant) در غشاء سلول و بافت چربی، ایفای نقش می‌کند که می‌تواند با دادن یک اتم هیدروژن به مواد اکسیدکننده، باعث خنثی شدن آنها شود(٤).

ویتامین E یک اصطلاح عمومی برای خانواده‌ای از ترکیبات است که به دو زیر گروه به نام‌های توکوفرول (Tocopherol) و توکوتری‌انول (Tocotrienols) تقسیم شده‌اند. ویتامین E در گیاهان به هشت شکل مختلف (آلفا، بتا، گاما و دلتا توکوفرول/ توکوتری‌انول) با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کمتر، بیشتر و یا مساوی وجود دارد که در بین آن‌ها آلفا توکوفرول اصلی‌ترین شکل ویتامین E در طبیعت است و بیشترین فعالیت ویتامین E را دارا می‌باشد (۱۹). در حال حاضر ویتامین E به‌صورت معادل توکوفرول (Tocopherol Equivalents) سنجیده می‌شود. یک میلی‌گرم از α–RRR– توکوفرول به‌عنوان یک معادل آلفاتوکوفرول و یک میلی‌گرم از آلفاتوکوفرول صناعی (all-rac-α-tocopherol) برابر نیم معادل آلفاتوکوفرول می‌باشد(۱۲). در سیستم‌های بیولوژیکی، ویتامین E به‌عنوان مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان لیپوفیل، خط مقدم دفاع در برابر پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در فسفولیپید غشاهای سلولی و درون سلولی است (۱۹).

آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی مانند ویتامین E، ممکن است بافت پستان را از تخریب اکسیدان‌ها که نهایتاً به گسترش سرطان منجر می‌شود، محافظت کند. با توجه به اینکه اسیدهای‌چرب غیر اشباع که بیشتر آن‌ها در غشاهای سلولی قرار گرفته‌اند، به پراکسیداسیون خیلی حساس‌اند، هرچه تعداد باندهای دوگانه بیشتر شود حساسیت آن‌ها بیشتر می‌شود. بنابراین ویتامین E برای انجام عملکرد خود باید در غشای سلول قرار بگیرد و بتواند به‌خوبی رادیکال‌ها را خنثی نماید. ویژگی آنتی اکسیدانی ویتامین E از طریق گروه هیدروکسیل فنلی اعمال می‌گردد. زیرا می‌توانند از طریق انتقال یک هیدروژن به رادیکال‌ها اسیدهای چرب دارای چند پیوند غیر اشباع و پراکسید شده و تبدیل آن‌ها به متابولیت‌های بی‌خطر، خود به رادیکال‌های توکوفروکسیل تبدیل شده و به این طریق واکنش‌های زنجیره‌ای ریشه آزاد را قطع کنند (٤).

ویتامین E مشخصاً برای تعدیل خصوصیات فیزیولوژیکی ضروری می‌باشد و می‌تواند از طریق خنثی کردن و حذف رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیدان‌ها، اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را داخل سلول نشان دهد. همچنین گونه‌های خاصی از ویتامین E، فعالیت آپوپتوتیک بالقوه‌ای را در برابر طیف وسیعی از سلول‌های توموری مختلف نشان داده‌اند، در حالی‌که بر روی عملکرد و بقای سلول‌های طبیعی فاقد چنین اثری بوده‌اند. در این مطالعه به بررسی اثر α–

توکوفرول به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان طبیعی بر روی تکثیر رده‌ی سلولی سرطان پستان سگ در محیط *invitro* پرداخته شده است.

مواد و روش کار

آماده‌سازی سلول سرطانی غدد پستانی سگ برای تیمار با آلفاتوکوفرول

در این تحقیق، ابتدا رده سلولی سرطان پستان سگ (NCBI Code: CF41.Mg) از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید و به منظور انجام آزمایش، سلول‌ها در فلاسک حاوی محیط کشت RPMI1640 (Gibco, USA) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS; Fetal Bovine Serum) و ۲٪ آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین-استرپتومایسین در فشار ۵٪ CO_2 و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. وقتی تعداد سلول‌ها به حد مطلوب رسید، سلول ها با استفاده از ترکیب Trypsin-EDTA که از قبل گرم شده بود، جداسازی شدند. به منظور مطالعه‌ی اثر سایتوتوکسیک آلفاتوکوفرول بر سلول‌های CF41.Mg، این سلول‌ها با تریپان بلو شمارش و به تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند؛ سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، با ۵٪ CO_2 و ۹۵٪ هوای مرطوب انکوبه شدند تا به رشد کافی برسند.

تیمار و بررسی بقای سلول‌ها

پس از آماده‌سازی، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار آلفاتوکوفرول (DL-all-*rac*-α-Tocopherol، Sigma-Aldrich, Germany)، تیمار شدند و بعد از طی بازه‌های زمانی مشخص (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) جهت تعیین اثر سایتوتوکسیک آلفاتوکوفرول بر بقای این سلول‌ها از روش رنگ‌آمیزی MTT (Sigma-Aldrich, Germany) استفاده شد. MTT نمک محلول زرد رنگی است که میتوکندری‌های سلول توانایی احیاء آن را دارند که از احیاء آن، کریستال‌های بنفش رنگ نامحلولی به نام فورمازان تولید می‌شود. به منظور بررسی بقای سلول‌ها با تست MTT در پایان بازه‌های زمانی، ابتدا محتویات هر خانه با محلول MTT با غلظت نهایی ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر در ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI فاقد فنول‌رد جایگزین گردید. پس از ۴ ساعت انکوباسیون در تاریکی، محلول MTT با DMSO تعویض گردید و سپس جذب نوری در طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر قرائت شد. از محیط کشت خالی برای صفر کردن دستگاه و محیط کشت دارای سلول بدون حضور دارو به‌عنوان گروه کنترل استفاده شد.

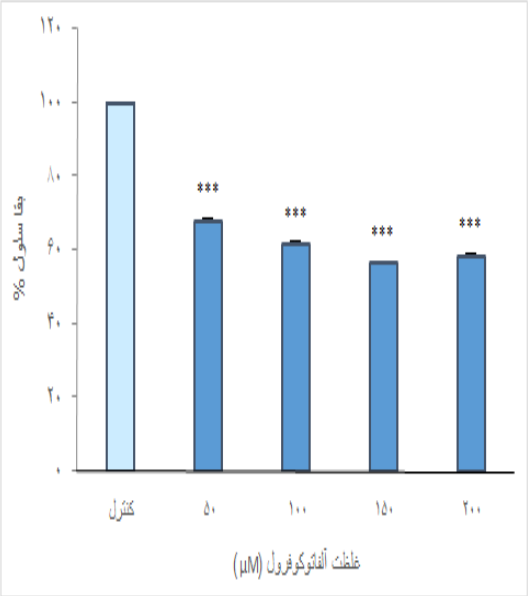
در نهایت درصد سلول‌های زنده با فرمول $(OD_{exp}/OD_{con}) \times 100 = (\%)$ محاسبه گردید. OD_{exp} و OD_{con} به ترتیب جذب نوری گروه مواجه یافته و گروه کنترل است. میزان جذب به طور مستقیم با تعداد سلول‌های زنده متناسب است.

آنالیز داده‌ها

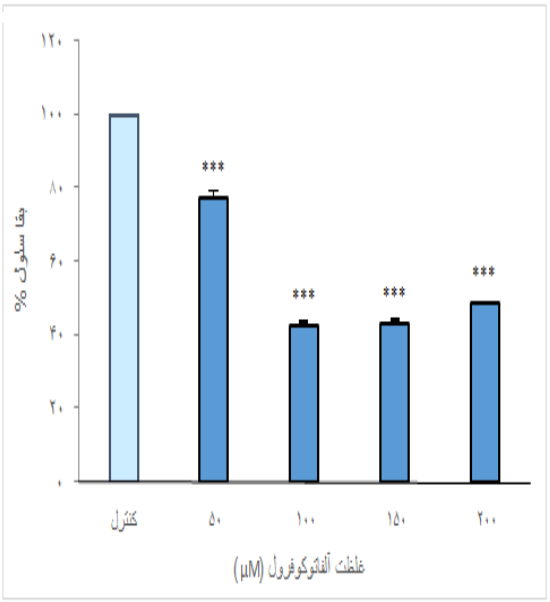
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 تجزیه و تحلیل شدند و نمودارها از طریق نرم‌افزار Excel رسم شدند و $P<۰/۰۰۵$ به عنوان اختلاف آماری معنی دار در نظر گرفته شده است.

نتایج

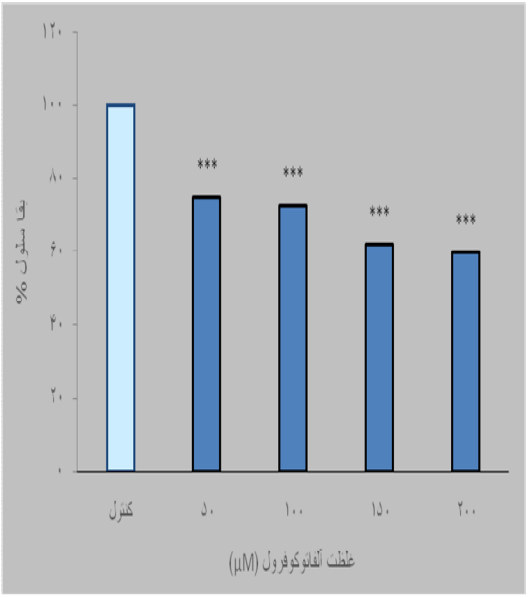
نمودارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب اثر غلظت‌های مختلف آلفاتوکوفرول را بر رده‌ی سلولی سرطان غدد پستانی سگ پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان می‌دهد و نمودار ۴ بیانگر تأثیر غلظت‌های مختلف آلفاتوکوفرول بر روی سلول‌های CF41.Mg در بازه‌های زمانی مختلف می‌باشد. به‌طوری‌که در غلظت ۱۵۰ میکرومولار بعد از گذشت ۲۴ ساعت و در غلظت ۲۰۰ میکرومولار بعد از گذشت ۴۸ ساعت و در غلظت ۱۰۰ میکرومولار پس از گذشت ۷۲ ساعت، بقای سلولی بیشترین کاهش را داشته است و مهار تکثیر نسبت به نمونه‌ی کنترل در سطح $p < ۰/۰۰۵$ معنی‌دار بود.



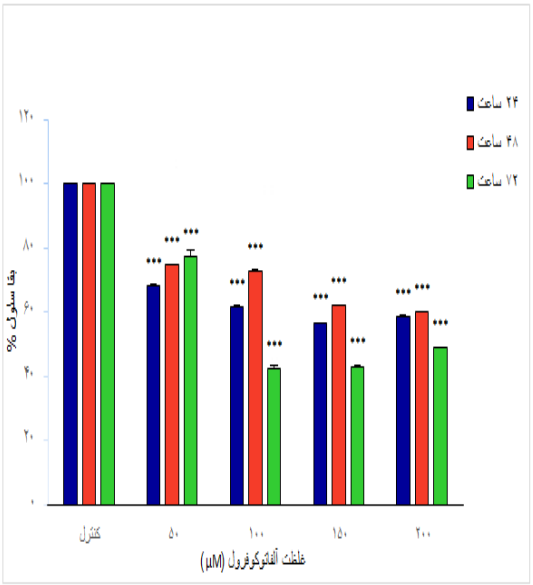
نمودار ۱: اثر غلظت‌های مختلف آلفا توکوفرول (ویتامین E) بر تکثیر سلول‌های CF41.Mg پس از طی ۲٤ ساعت با استفاده از سنجش MTT.
*** p < ۰/۰۰۵ . در مقایسه با گروه کنترل، Mean ± SEM



نمودار ۳: اثر غلظت‌های مختلف آلفا توکوفرول (ویتامین E) بر تکثیر سلول‌های CF41.Mg پس از طی ۷۲ ساعت با استفاده از سنجش MTT.
*** p < ۰/۰۰۵ . در مقایسه با گروه کنترل، Mean ± SEM



نمودار ۲: اثر غلظت‌های مختلف آلفا توکوفرول (ویتامین E) بر تکثیر سلول‌های CF41.Mg پس از طی ٤۸ ساعت با استفاده از سنجش MTT.
*** p < ۰/۰۰۵ . در مقایسه با گروه کنترل، Mean ± SEM



نمودار ٤: اثر غلظت‌های مختلف آلفا توکوفرول (ویتامین E) بر تکثیر سلول‌های CF41.Mg پس از طی ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از سنجش MTT. *** p < ۰/۰۰۵ . در مقایسه با گروه کنترل، Mean SEM

بحث

نقش مواد اکسیدان و رادیکال‌های آزاد در مراحل دژنراتیو مرتبط با افزایش سن و بیماری‌هایی نظیر سرطان اثبات شده است. رادیکال‌های آزاد اندوژن به‌طور مداوم در بدن موجود زنده تولید شده و همچنین می‌توانند از منابع اگزوژن وارد سلول شوند. سیستم آنتی‌اکسیدان اندوژن برای پاکسازی تمامی آن‌ها ناکافی بوده و واکنش‌های آن‌ها با اجزاء متشکله‌ی سلولی ممکن است به آسیب بیومولکول‌ها، از جمله DNA، منجر شود (۲).

عملکرد ROS در مکانیسم آسیب‌شناسی، نقش بنیادین را در زمینه‌های مختلف مطالعات بیومدیکال، از جمله تحقیقات در مورد سرطان، ایفا می‌کند. ROSs در خلال تغییر و تبدیل متابولیک نرمال مواد غذایی تشکیل می‌شوند. مواجهه با آلاینده‌های محیطی و سرطان‌زاهای غذایی نیز نمونه‌هایی از تولیدکنندگان استرس اکسیداتیو خارجی وابسته به غذا می‌باشند. DNA مهم‌ترین هدف بیولوژیک حمله‌ی اکسیداتیو است. حد متوسط چند صد «ضربه‌ی ژنوتوکسیک» (Genotoxic hits) در روز برای DNA هرکدام از سلول‌های بدن تخمین زده شده است (۸). آسیب اکسیداتیو DNA ناشی از ROS تعداد زیادی از اکسیداسیون‌های مختلف بازها را در برمی‌گیرد. علاوه بر آن، پروتئین‌هایی چون پروتئین‌های درگیر در ترمیم DNA یا انتقال پیام، تغییردهندگان آپوپتیک (مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول)، پروتئین P53، یا پلیمرازهای DNA، در مواجهه با ROS می‌توانند از دو نظر ساختاری و عملکردی تغییر یابند. از این‌رو، علاوه بر آسیب DNA، ROS مشوق توسعه‌ی سرطان به‌وسیله چند مکانیسم اپی‌ژنتیک (پیدایش تدریجی) بوده، که برخی از این مکانیسم‌ها ناشی از تغییر اکسیداتیو پروتئین‌ها با نتیجه‌ی غیرمستقیم افزایش میزان موتاسیون‌ها می‌باشند (۱٤).

آسیب اکسیداتیو DNA بالقوه موتاژنیک بوده و تراکم یا انباشتگی آن نقش مهمی در آثار متعدد پاتولوژیک، همچون سرطان، ایفا می‌کند (۲). مسلم است که بسیاری از سلول‌های توموری در شرایط پرواکسیدانی ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا کاهش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قرار دارند.

مولکول‌های آنتی اکسیدانی می‌توانند نقش مهمی در رفع آثار مضر رادیکاهای آزاد در سلول‌ها، بافت‌ها و مایعات خارج سلولی ایفا کنند و تخریب آن‌ها منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۳).

اثر آنتی اکسیدان توکوفرول در غلظت‌های بالای اکسیژن مؤثر است و توکوفرول در آن دسته از ساختمان‌های لیپیدی تغلیظ می‌شود که در معرض فشار بالای اکسیژن هستند. توکوفرول‌ها به آسانی اکسید می‌شوند و به این طریق میزان اکسیژن در دسترس را برای سایر مواد که ممکن است در اثر اکسیژن از بین بروند یا تغییر یابند کاهش می‌دهد. بنابراین چربی‌های حاوی ویتامین E از چربی‌های بدون ویتامین E کمتر اکسید می‌گردند. چربی‌های بافتی نیز در صورت حضور ویتامین E کمتر مستعد پراکسیداسیون هستند.

اثرات درمانی برخی از داروهای ضدسرطان به کمک مواد آنتی‌اکسیدان در مطالعات پیشین، مشخص شده است (۷). برای اولین بار نقش ضد سرطانی ویتامین E در سال ۱۹٦۰ نشان داده شده است. Jenifer و همکارانش نشان دادند که آلفاتوکوفرول سوسکسینات (α-tocopherol succinate) در غلظت ۱۵ پس از ٤۸ ساعت بقاء سلولی را به ٦۰٪ می‌رساند. این غلظت از آلفاتوکوفرول سبب توقف سلول‌ها در فاز G_2/M چرخه‌ی سلولی می‌شود (۱۵).

نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که آلفاتوکوفرول اثر مهاری بالقوه‌ای بر سلول‌های CF41.Mg داشت که باعث کاهش رشد و تکثیر سلولی شد. به این صورت که آلفاتوکوفرول در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار اثر سیتوتوکسیسیتی بالاتری بر روی سلولهای CF41.Mg داشت که این امر می‌تواند به علت القای آپوپتوز در این سلول‌ها باشد؛ همچنین در مطالعه‌ی حاضر آلفاتوکوفرول در بازه‌های زمانی

۷۲ ساعت اثر مهاری بالاتری بر تکثیر سلول‌های CF41.Mg نشان داد؛ که با نتایج نبیونی و همکاران در سال ۱۳۹۱ که به منظور بررسی اثرات ضدتکثیری و کشندگی زهر زنبور عسل و D– آلفاتوکوفرول سوکسینات (ویتامین E) در ساعات ۲٤، ٤۸ و ۷۲ بر روی سلول سرطانی پرومیلوسیت انسانی HL-60 انجام شد و ویتامین E بالاترین اثر سایتوتوکسیسیتی خود را پس از ۷۲ ساعت نشان داد، هم‌راستاست(۳). مطالعه‌ی دیگری با عنوان اثرات مهاری آسکوربیک اسید، آلفاتوکوفرول و سلنیت سدیم بر پرولیفراسیون رده‌ی سلولی سرطان پستان انسان که توسط Ludewige و همکاران، صورت گرفت نشان داد که بقای سلول‌های T47D پس از ۷ روز مواجهه با غلظت‌های مختلف آلفاتوکوفرول، در غلظت $۱۰^{-٤}$ مولار بیشترین کاهش را داشته است (۷).

مهم‌ترین مکانیسم که به‌عنوان مهار شیمیایی مواد سرطان‌زا مطرح است تأثیر مهاری بر چرخه‌ی سلول‌های توموری می‌باشد که ازدیاد و تکثیر آن‌ها را مهار کند و به دنبال آن مانع پیشرفت سلول‌های جهش‌یافته شود(۱۱). اگرچه مکانیسم مرگ سلولی القاء شده توسط توکوفرول هنوز ناشناخته است، اما احتمالاً ایزومرهای توکوفرول بیان ژن‌های دخیل در نکروز و آپوپتوز را به طور متفاوت تنظیم می‌کنند. القای آپوپتوز انتخابی در سلول‌های توموری با کمترین اثر روی سلول‌های طبیعی برای مدیریت، درمان و پیشگیری از سرطان بسیار مفید است (۵).

دو روش برای عمل ویتامین E بر فیزیولوژی مولکول‌ها بیان شده‌است: آنتی اکسیدانی و غیر آنتی‌اکسیدانی. اگرچه اثر توکوفرول بر بیان ژن با واسطه عملکرد غیراکسیدانی آن انجام می‌گیرد، اما ویتامین E بیان ژن را به وسیله تنظیم مستقیم ROS نیز تغییر می‌دهد، و دیده شده‌است که ROS مسیرهای سیگنالی و درنتیجه فعال‌شدن فاکتور نسخه‌برداری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (٤).

ROS باعث القاء پراکسیداسیون لیپیدشده و منجر به فعال‌سازی متقابل یا سرکوب بعدی افکتور بیان ژن می‌شود، در نتیجه موجب آسیب سلولی به علت استرس اکسیداتیو می‌گردد (٤).

به هر حال مکانیسم‌های مولکولی سیگنالینگ سلولی که طی آن‌ها ویتامین E سبب مهار تکثیر و القای مرگ سلولی در رده‌های مختلف سلولی می‌شود، به‌طور واضح مشخص نیست. در سال ۲۰۰۷، Crispen و همکارانش پیشنهاد نمودند که ویتامین E از طریق مهار فعالیت فاکتور هسته‌ای kappa-β(NF-$_k$β) و مهار رونویسی AP-1 سبب مهار تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود (۹). اثر ویتامین E منجر به کاهش بیان بعضی TF ها همانند کاهش پاسخ به فاکتورهای رشد خاص می‌شود، بنابراین پیشرفت مراحل چرخه‌ی سلولی را تعدیل می‌کند. پروستاگلاندین‌ها، فاکتورهایی هستند که تکامل سرطان و پیشرفت آن را به‌طور اختصاصی در بافت افزایش می‌دهند، همچنین افزایش بیان پروتئین Cox-2 در انواع سرطان‌ها مشاهده شده است. ویتامین E با مهار فاکتور هسته‌ای kappa-β، به‌عنوان تنظیم‌کننده‌ی بیان بسیاری از ژن‌ها از جمله آنزیم سیکلواکسیژناز-۲، در تکثیر سلولی، پاسخ‌های التهابی و آپوپتوز دخیل است. بیان بالای این فاکتور در رده‌های مختلف سلول توموری دیده شده است (۱۷).

بررسی دیگری بر روی رده خاصی از سرطان سینه BT20 نشان داده است که ویتامین E فسفریلاسیون و فعال سازی متقابل TF و E_2F را که در تنظیم سیکل سلولی نقش دارند، کاهش می‌دهد. با این وجود، تغییرات در اتصال سلکتین A (Selectina A) افزایش یافته E_2F_1 (که به طور منفی عمل E_2F_1 را تنظیم می‌نماید) همانند افزایش اتصال P_{21} به سلکتین A و به کیناز وابسته به سلکتین ۲ (CdK_2) می‌تواند مانع توقف سیکل سلولی شود. پیشنهاد شده است که نقش ویتامین E دریافت کردن رادیکال‌های پراکسید در فسفریلاسیون است و منجر به تغییرات در فعالیت‌های کینازی که نسخه‌برداری ژن را تحت تأثیر قرار

می‌دهند، می‌شود. همچنین ویتامین E می تواند فعال سازی نسخه برداری ژن پاسخ به E_BF_1 و C-myc را مهار نماید (٤).

Ni و همکارانش نشان دادند که ویتامین E از طریق مهار بیان پروتئین‌های تنظیمی چرخه‌ی سلولی از جمله Cyclin D ،E، CDK 2,4 و کاهش فسفریلاسیون Rb سبب توقف سلول‌ها در فاز G1/S می‌شود (١٦).

در یک رده سلولی سرطان سینه دیگر MCF-T دیده شده است که ویتامین E باعث توقف سنتز DNA، مهار تکثیر سلولی و القاء آپوپتوز می گردد (٤).

نتایج حاصل از این پژوهش تأیید کننده‌ی اثر مهاری آلفاتوکوفرول بر تکثیر رده‌ی سلولی CF41.Mg می‌باشد. اثر مهاری آلفاتوکوفرول بر تکثیر سلول‌های سرطانی غدد پستانی سگ تا کنون در هیچ مطالعه‌ای بررسی نشده و برای اولین بار در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفته است. لازم به ذکر است که نتایج این مطالعه حاصل کار در محیط آزمایشگاهی است و لزوم تحقیقات بیشتر از نظر شناخت مکانیسم اثر، دوز و دفعات مصرف در این زمینه لازم به نظر می‌رسد.

تشکر و سپاسگزاری

نویسندگان لازم می‌دانند از زحمات آقای دکتر سعید حسینی که در انجام این مطالعه، همکاری صمیمانه‌ای داشتند تشکر و قدردانی نمایند.

فهرست منابع

١. پکورینو، ل. (١٣٩١): زیست شناسی مولکولی سرطان، ویرایش دوم، ترجمه‌ی امیری نودیجه، ع.، داوری، م.، نشر خانه‌ی زیست‌شناسی، تهران، ایران،: ١٠-١١.

٢. ذوقی، الف.، سالار آملی، ج. (١٣٨٧): ترکیبات غذایی سرطان‌زا و ضدسرطان، چاپ اول، انتشارات پردیس باوران، تهران، ایران،: ٩٥، ١٥١، ١٦٦.

٣. نبیونی، م.، یاراحمدی، الف.، دلفان، ب.، میرسپاسی، س.، آذری، س.، غلامی، ص.، رمضانی، ط. (١٣٩١): اثرات ضدتکثیری و کشندگی زهر زنبور عسل و ویتامین E بر روی رده ی سلول سرطانی پرومیلوسیت انسانی HL-60، مجله سلول و بافت، ٣ (٤): ٢٨٧-٢٩٦.

٤. نورمحمدی، ع. (١٣٨٧): ویتامین در سلامت و بیماری، چاپ اول، انتشارات بشری با همکاری نشر تحفه، تهران، ایران،: ١٤١، ١٥١-١٥٥.

5. Amit, K.T., Madhumita, R., Bhattacharya, R.K. (2001): Natural products as inducerb of apoptosis: Implication for cancer therapy and prenvention. Curr Sci. 80(11): 1387-1396.
6. Andrade, F., Figueiroa, F., Bersano, P., Bissacot, D., Rocha, N. (2010): Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants. Diagnostic Pathology. 5(45): 1596-1746.
7. Azizi, E., Shoaibi, Sh., Ludewige, G., Oveisi, M.R. (2003): The Inhibitory Effects of Ascorbic Acid, α-Tocopherol, and Sodium Selenite on Proliferation of Breast Cancer Cell Lines. IJPR. 2: 173-177.
8. Cadet, J., Douki, T., Ravanta, J.L. (2003): The human genome as a target of oxidative modification: damage to nucleic acids, in Redox Genome Interactions and Disease. Fuchs, J., Packer, L., Eds., Marcel Dekker, Inc., New York. P: 145.
9. Crispen, P.L., Uzzo, R.G., Golovine, L. (2007): Vitamin E succinate inhibits NF-Kappaβ and prevents the development of metastatic phenotype in prostate cancer cells: implication for chemoprevention. Prostate. 67(6): 582-590.
10. Croce, C.M. (2008): Oncogenes and cancer. The New England journal of medicine. 358(5): 502–11.
11. Cummings, K., Barone, J., Ward, W. (1992): Diagnosis and staging bladder cancer. Urol Clin North Am. 19: 455-465.

12. Escott-Stump, S., Mahan, L.K., Raymond, J. (2012): Krause's Food and the Nutrition Care Process. 13th edition. Elsevier, USA. P: 71.
13. Figueroa-Romero, C., Sadidi, M., Feldman, E.L. (2008): Mechanisms of disease: The oxidative stress theory of diabetic neuropathy. Rev Endocr Metab Disord. 9: 301-14.
14. Hussain, S.P., Hofseth, L.J., Harris, C.C. (2003): Radical causes of cancer, Nature Rev. Cancer. 3:276.
15. Turley, J.M., Sanders B.G., Kline, K. (1992): RRR-α-tocopheryl succinate modulation of human promyelocytic leukemia (HL-60) cell proliferation and differentiation. Nutr Cancer. 18(3): 201-213.
16. Ni, J., Chen, M., Zhang, Y., Li, R., Huang, J., Yeh, Sh. (2003): Vitamin E succinate inhibits human prostate cancer cell growth via modulating cell cycle regulation machinery. Biochem Biophys Res Commun. 300: 357-363.
17. Loganthan, R., Selvadury, K.R., Nesaretnam, K., Radhakrishan, A.K. (2013): Tocotrienols promote apoptosis in human breast cancer cells by inducing poly (ADP-ribose) polymerase cleavage and inhibiting nuclear factor kappa-B activity. Cell Prolif. 46(2): 203-13.
18. Slatter, D. (2003): Text Book of Small Animal Surgery, Third Edition, Elsevier Science, chap: 25: 349-350.
19. Sylvester, P.W. (2007): Vitamin E and Apoptosis. Vitam Horm. 76:329-56.
20. Zingg, J.M., Azzi, A. (2004): Non-antioxidant activities of vitamin E. Curr Med Chem. 11(9): 1113-33.