مشاهده اثرات ضد سرطانی آفلاتوکسین B1 در تومور پستانی رده T14 موش با تزریق اطراف توموری

رویا موسی زاده[1]، سعید حصارکی*[2]، منصور بیات[2]، علیرضا جهاندیده[3]، جمال هاشمی[4]

چکیده

درمان سرطان پستان به دلیل اثرات سیستمیک شیمی درمانی دارای مشکلات زیادی است. استفاده از برخی مولکول ها با اثرات سلول کشی مثل آفلاتوکسین B1، می تواند اثرات مهلک روی سلول های سرطان پستان داشته باشد. در این مطالعه، اثر مهاری استفاده موضعی آفلاتوکسین B1 برروی سرطان پستان را بررسی کردیم. سلول های سرطانی رده T14 به صورت زیر جلدی در موش های ماده تلقیح شدند. سپس دوز های ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از آفلاتوکسین B1 در مقایسه با دوکسوروبیسین در اطراف تومورها تزریق گردید. ارزیابی نسبت اندازه تومور به وزن حیوان در گروه های مختلف همراه با انجام هیستوپاتولوژی به روش ایمنوفلورسانس روی شاخص Ki-67 و VEGF صورت گرفت. آفلاتوکسین B1 به طور معنی داری باعث کوچک شدن حجم، نکروز و سرکوب رگزایی در تومور می شود. با این وجود، متاستاز کبدی در همه گروه ها اتفاق افتاد. آفلاتوکسین B1 در تزریق موضعی ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در اطراف تومور دارای اثرات ضد سرطانی پستان است. ولی نمی تواند مانع وقوع متاستاز شود.همچنین هپاتوتوکسیسیتی ناشی از سم آفلاتوکسین نیز مشاهده گردید.اثرات و بررسی اثرات در یک مطالعه تجربی صورت می گیرد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، آفلاتوکسین B1، Ki-67، VEGF

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۳۱

مقدمه

سرطان از جمله بیماریهای مزمن و غیرواگیری است که گروه وسیعی از بیماری ها را شامل می شود. این بیماری در هر فرد، گروه سنی و هرنژادی رخ می دهدوبه عنوان یک معضل عمده بهداشتی و تاثیر گذار بر سلامت جامعه محسوب می شود.(۱)در بین انواع مختلف سرطان، سرطان پستان ۲۳٪ از سرطانها را شامل می شودوشایع ترین سرطان و کشنده ترین بدخیمی در بین زنان محسوب می م شود.(۲) و یکی از مهمترین عوامل نگران کننده سلامتی زنان در جهان می باشد.(۳) میزان بروز سرطان پستان بطور پیوسته در کشورهای توسعه یافته ودر حال توسعه در حال افزایش است.(٤) ریسک فاکتورهای مهم سرطان پستان را علاوه بر زمینه های ژنتیکی (۵)، تاریخچه خانوادگی (٦) برخورد بافت پستانی با استروژن ، اختلال در عملکرد غدد مترشحه داخلی (اندوکرین) خصوصا فعالیت های استروژنیک می دانند که یکی از دلایل بروز افزایش سرطان پستان می باشد.(۷) تحلیل تومور پدیده ای پیچیده و ناشناخته ای است که پس از آسیب بافت های بدن صورت می‌گیرد و گاها برای مدت طولانی ادامه می یابد. در طی روند ترمیم، فرایندهای مشخص و هماهنگی از قبیل بازسازی، آپوپتوز و مرگ سلولهای پارانشیمی تومور صورت می گیرد. آفلاتوکسین B1 متابولیت ثانوی است که توسط قارچ آسپرژیلوس فلاووس تولید می شود .این مایکوتوکسین در محصولات غله ای خصوصا در محصولاتی که در کشورهای درحال توسعه به عنوان غذا به طور پیوسته ذخیره می شود ودر شرایط نامطلوب عمل آوری می شود وجود دارد. بر اساس تحقیقات انجام شده توسط عبدالرحیم مکی و همکارانش بر روی کبد موش نقش آپوپتوزی آفلاتوکسین B1 بروی سلول های کبدی مشخص گردید.(۸) در تحقیقات دیگری که توسط مزدک رازی و همکارانش انجام گرفت، تاثیر آفلاتوکسین B1 را بر اسپرماتوژنز، اسپرمیوژنز و آپوپتوز سلولی در بافت بیضه موش سوری بررسی کردند و دریافتند آفلاتوکسینB1 با افزایش آسیب های وارده به DNA آپوپتوز سلولی را در بیضه موش افزایش می دهد.(۹)

۱- دانش آموخته قارچ شناسی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی،تهران، ایران
*۲- گروه پاتوبیولوژی ، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی،تهران، ایران s.hesaraki@srbiau.ac.ir
۳- گروه علوم درمانگاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
٤- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی ،دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

همچنین براساس تحقیقات انجام شده دیگر محققین دریافتندآفلاتوکسین B1 با تنظیم بیان متیل ترانسفرازهای DNA، آنزیم های اصلاح کننده هیستون ها و پروتئین های پلی کامپ باعث مرگ سلولی و یا حتی دگرگونی در سلول می شود(۱۰). با توجه به نقش آپوپتوزی آفلاتوکسین B1 و با در نظر گرفتن میزان بروز تومور ناشی ازعلل مختلف ناشناخته، که یکی از مشکلات مهم درمانی برای بیماران و دست اندرکاران درمانی می باشد، لزوم درک بهتر از بکارگیریِ توانمندی های بالقوه، و تحقیق در رابطه با تاثیر آفلاتوکسین B1 بر روی تومورها در جهت کاستن درد و تسریع روند تحلیل تومور ضروری می باشد. در این پژوهش هم با توجه به خاصیت آپوپتوزی آفلاتوکسین B1 بر آن شدیم تا تاثیر این توکسین را در زنده مانی سلول های توموری در تزریق داخل توموری ، توانایی آن را در ممانعت از تکثیر سلول های توموری ، کاهش تعداد عروق بستر تومور و تحلیل پیکره تومور مورد ارزیابی قرار دهیم و هدف از پژوهش حاضر معرفی وتوسعه راهی جهت استفاده بهینه از خاصیت سمی آفلاتوکسین B1 در تسریع روند تحلیل تومور می باشد.

مواد و روش کار

جداسازی قارچ

در این مطالعه فعالیت‌ها و مراحل اجرایی تحقیق به صورت زمان بندی شده انجام گرفت (جدول شماره ۱). برای انجام آزمایش ۱۸ موش بالبسی ماده با وزن ۲±۱۸ گرم انتخاب گردید و $۱×۱۰^{۵}$ سلول 4T1 معلق در ۲۰۰ میکرولیتر محیط RPMI 1640 به صورت زیرجلدی تزریق شد. وقتی در روز دهم پس از تزریق، حجم تومورها به حدود 20 mm3~ رسید بعنوان روز اول تحقیق در نظر گرفته شد(۱۱). تزریق بین گردن و شانه انجام شد. معمولا در بررسی تومورهای پستانی در مدل موشی، سلول های توموری به درون بافت چربی پستان تزریق می شود. ولی به دلیل خاصیت تحریک کنندگی آفلاتوکسین B1 و امکان خاراندن توسط پاهای موش وجود داشت، سلول های توموری در فاصله بین گردن و شانه ها تزریق گردید.

بطور کلی موش ها به ٤ گروه مطالعاتی تقسیم شدند. در گروه اول که شاهد بود، ۲۰۰ میکرولیتر محلول PBS در اطراف تومور و به روش تیمارها تزریق می شد. در دو گروه تیمار بترتیب ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 در اطراف تومور تزریق گردید. تزریقات یکبار در هفته و برای سه هفته متوالی انجام شد. در گروه کنترل نیز ۱ میلی گرم بر میلی لیتر داروی ضد سرطان رایج دکسوروبیسین بصورت تزریقات اطراف توموری یکبار در هفته و برای سه هفته متوالی انجام شد(۱۳،۱۲).

جدول ۱: زمان‌بندی فعالیت‌ها و مراحل اجرایی تحقیق

شرح فعالیت	زمان کل (ماه)	زمان اجرا به ماه
تهیه آفلاتوکسین B1	۱	**فروردین**
تهیه سلول توموری و کشت آن	۱	**اردیبهشت**
عملیات جراحی، کاشت و پیگیری رشد	۱	**خرداد**
جمع آوری نمونه	۱	**تیر**
تهیه لام و رنگ آمیزی هماتوکسیلین –ا	۱	**مرداد**
تهیه عکس از تغییرات بافتی	۱	**مهرو شهریو**

بررسی مهار رشد تومورها : برای بررسی اثر مهاری توکسین بر رشد تومورها، بعد از اولین روز تحقیق به مدت ۲۸ روز سایز تومورها با کالیبر دیجیتالی اندازه گیری و حجم تومورها با فرمول $V= L×W2/2$ محاسبه شد سپس برای مقایسه حجم تومورها نسبت VT/V0 لحاظ گردید (۱۱).

جدول ۲ – گروه ها و نحوه کاربرد مواد مختلف موثر در تومور

شماره	نام گروه	عملیات انجام شده روی گروه ها
۱	کنترل PBS	۲۰۰ میکرولیتر محلول PBS در اطراف تومور
۲	دوکسوروبیسین	هفته ای یکبار ۱ میلی گرم دوکسوروبیسین به مدت سه هفته در اطراف تومور تزریق شد
۳	۵۰ میکروگرم	هفته ای یکبار ۵۰ میکرو گرم آفلاتوکسین B1 به مدت سه هفته در اطراف تومور تزریق شد
٤	۵۰۰ میکروگرم	هفته ای یکبار ۵۰۰ میکرو گرم آفلاتوکسین B1 به مدت سه هفته در اطراف تومور تزریق شد

بررسی آسیب شناسی: بعد از ۲۸ روز همه موش ها بوسیله داروی بیهوشی مهرین کشی (euthanasia) شدند و کبد، ریه و تومورهای آنها جهت بررسی های آسیب شناسی و روش ایمنوفلورسانس در فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند و پس از رنگ آمیزی H&E میزان هپاتوتوکسیسیتی و متاستاز در کبد و ریه ها بررسی گردید (۱٤،۱۵).

بررسی میکروسکوپی ایمنوفلورسانس :در این تحقیق بیان فاکتور تکثیر شونده (Ki-67) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در بافت تومور به روش ایمنوفلورسانس بررسی شد. جهت تهیه لام ایمنوفلورسانس، ابتدا برش ها از موم خارج و آبدهی شد و پس از اینکه تحت تاثیرمایکروویو قرار داده شدند، در دو سری لام مجزی با آنتی Ki-67 و آنتی VEGF موشی (ZSGB-BIO, Beijing, China) با رقت ۱/۲۰۰) در طول شب انکوبه شدند. سپس نمونه ها با آنتی بادی ثانویه FITC-anti mouse antibody مواجه گردیده شد و پس از شستشو در PBS با رنگ زمینه ای برای هسته ها بنام DAPI (۱ میلی گرم بر میلی لیتراز محلول آبی رقیق شده با غلظت یک به هزار ۱/۱۰۰۰ در اتانول خالص)رنگ آمیزی شدند در پایان لام ها پس از شستشو در آب، فیکس شدند و توسط پاتولوژیست با استفاده از یک میکروسکوپ AX 70 Olympus با نرم افزار SIS، تصاویر متوالی در همان منطقه گرفته شد که با فیلترهای طول موج فلوئوروکروم مختلف تجزیه و تحلیل شدند. برای هر منطقه انتخاب شده، تصاویر متوالی روی هم قرار گرفتند. سلول‌هایی که VEGA را بیان کردند، سلول‌های اندوتلیال در نظر گرفته شدند و سلول‌هایی که Ki-67 را بیان کردند، سلول‌های در حال تکثیر در نظر گرفته شدند(۱٦).

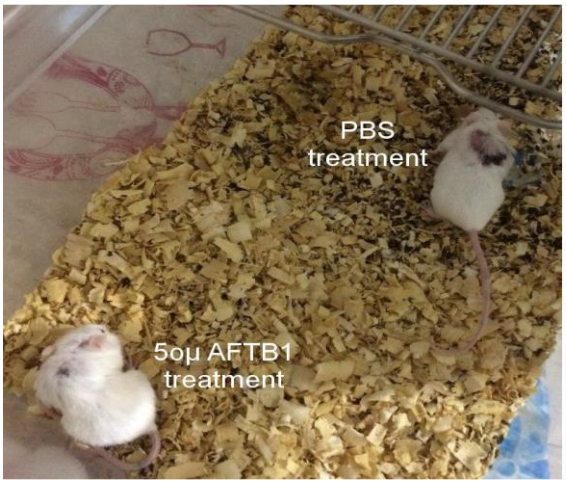
درصد سلول های Ki-67 و میزان VEGF با Image J software مشخص گردید. هر چقدر میزان بیان این دو مارکر بافتی کمتر بود دلالت بر محدود شدن رشد تومور می کرد(۱۷).

روش جمع آوری و تجزیه و تحلیل داده ها: داده های به دست آمده با برنامه نرم افزاری SPSS و به کمک آزمونهای آماری پیرسون دو طرفی برای مقایسه روابط نسبت حجم تومور به وزن بدن و ANOVA یک طرفه با تست کروسکالوالیس در گروههای مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

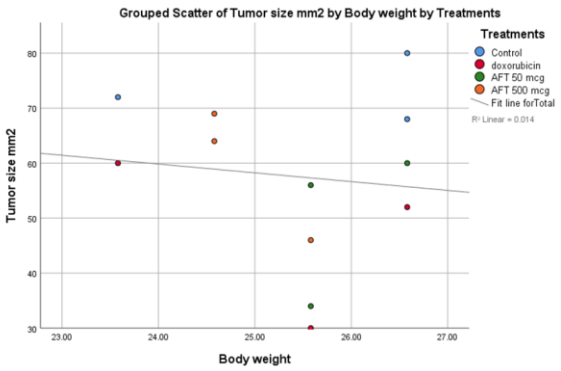
نتایج

نسبت اندازه تومور به وزن بدن در هفته چهارم: این نسبت در گروه تحت درمان با ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 در مقایسه با گروه کنترل، کاهش داشت ولی معنی دار نبود (شکل۱). در گروه های تیمار با تزریق ۵۰ و

۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 نسبت به گروه دوکسوروبیسین به طور معنی داری کاهش نداشت (نمودار ۱). همچنین اختلاف معنی داری در کاهش اندازه تومور ها بین گروه های تیمار با تزریق۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده نشد ($p<0.05$).



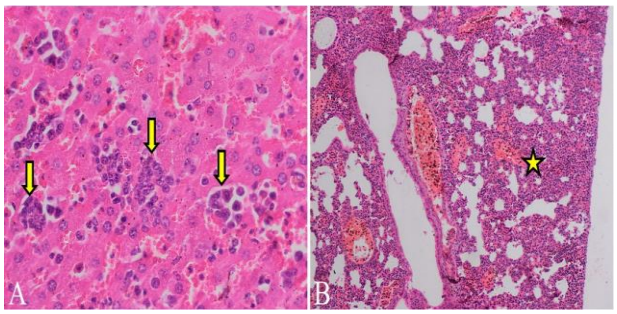
نگاره ۱: مقایسه سایز تومور در گروهی که PBS و گروهی که ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 دریافت کردند. حجم تومور در گروهی که ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 دریافت کردند کاهش داشت.



نمودار ۱: مقایسه بین اندازه تومور و وزن بدن در هفته چهارم پس از شروع مطالعه نشان می دهد که هیچ ارتباط معنی داری بین این دو مولفه دیده نمی شود (پیرسون دو طرفی – نرم افزار SPSS 26).

تظاهرات آسیب شناسی : در بررسی بعمل آمده مشخص شد که میزان نکروز سطح تومور به درصد در گروه های دوکسوروبیسین، ۵۰ میکروگرم، ۵۰۰ میکروگرم و شاهد بترتیب ٪۶۱ ، ٪۶۳، ٪۵۸ و ٪۲۱/۲۵ است. میزان نکروز گروه های درمان در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری بیشتر بوده است ولی نسبت به گروه دوکسوروبیسین معنی دار نبودند ($p<0.05$).

متاستاز کبدی در همه گروه های بافتی مشاهده شد (نگاره۲). متاستاز ریه در هیچ گروهی مشاهده نشد. فقط در ریه گروه هایی که آفلاتوکسین B1 دریافت کردند پنومونی بینابینی مشاهده گردید (نگاره۲). با اینکه متاستاز به کبد در گروه تیمار ۵۰ میکروگرم نیز مشابه سایر گروه ها اتفاق افتاد، ولی شدت و وسعت آن مقداری کمتر از کبد گروه شاهد بود. در بین گروه های دکسوروبیسین، ۵۰ و۵۰۰ میکروگرم از نظر متاستاز کبد اختلاف خاصی دیده نشد. روی هم رفته مشاهدات ما نشان داد که آفلاتوکسین B1 خاصیت محافظت کننده ای بر علیه متاستاز کبد ندارد.



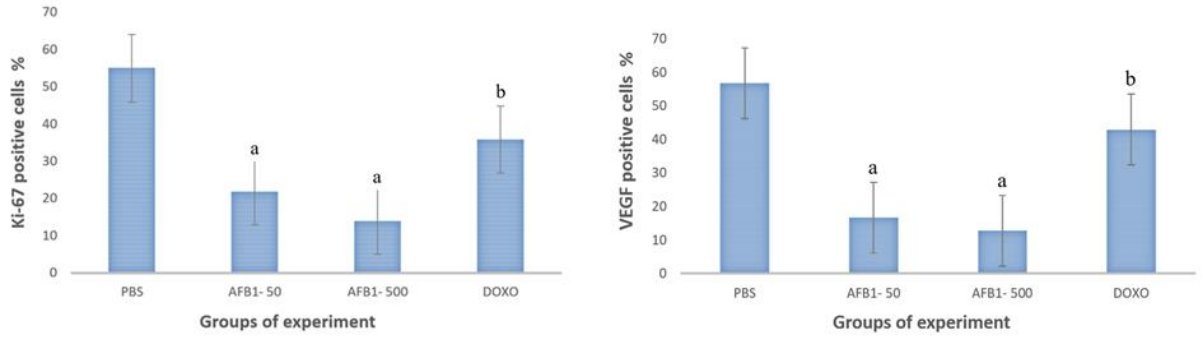
نگاره ۲: مقطع بافتی از کبد (A) و ریه (B) موش گروه ۵۰ میکروگرم. متاستاز سلول های توموری در گروهی که ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 دریافت کردند مشاهده شد در حالیکه به ریه متاستاز نداشت (هماتوکسیلین–ائوزین، کبد۴۰۰× و ریه ۴۰×).

روش ایمنوفلورسانس

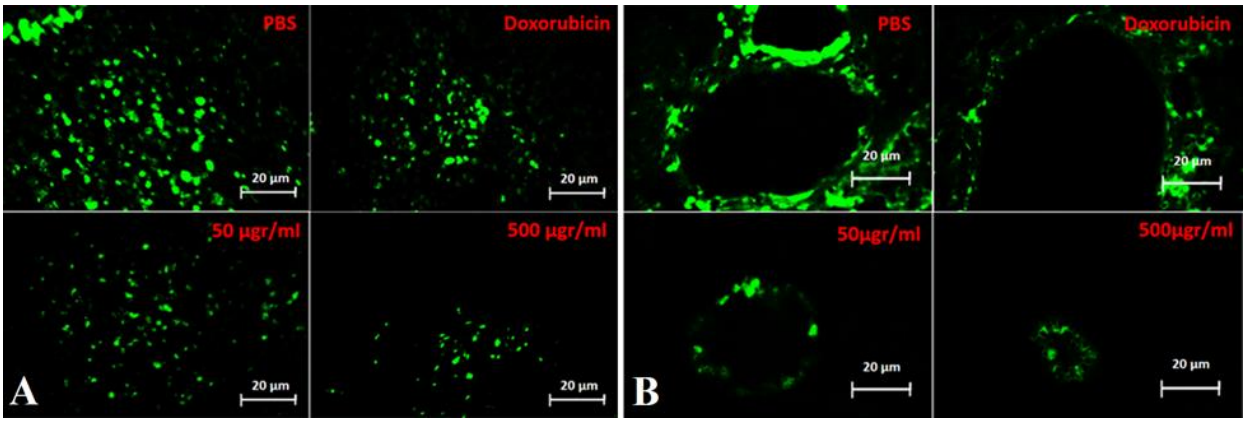
Ki-67 : در گروه شاهد، درصد بیان Ki-67 به طور معنی داری بیشتر از سایر گروه ها بود. جالب اینکه بیان Ki-67 در گروه های تیمار با آفلاتوکسین B1، حتی کمتر از گروه

دوکسوروبیسین بود ($p<0.05$). با این وجود در گروه های تیمار ۵۰ و۵۰۰ میکروگرم اختلاف معنی داری از لحاظ میزان بیانKi-67 دیده نشد (نمودار ۲، نگارهA۳).

VEGF : بیان VEGF و درنتیجه آنژیوژنزیس، در گروه های تیمار با آفلاتوکسین B1 و گروه دکسوروبیسین کمتر از گروه شاهد شد. درگروه های تیمار با تزریق ۵۰ و۵۰۰ میکروگرم برمیلی لیتر آفلاتوکسین B1 اختلاف معنی داری از نظر کاهش میزان بیان VEGF وجود نداشت (نمودار ۲، نگارهB۳).



نمودار ۲: در صد مثبت شدن سلول های بافت توموری از نظر دو مارکر VEGF و Ki-67 در هفته چهارم پس از شروع مطالعه نشان می دهد گروه های ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم تاثیرات مهاری زیادی روی تومور دارد. a = تفاوت با b / PBS = تفاوت با a و PBS (کروسکالوالیس – نرم افزار SPSS 26).



نگاره۳: مقطع بافتی از کبد (A) و ریه (B) موش گروه ۵۰ میکروگرم. متاستاز سلول های توموری در گروهی که ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 دریافت کردند مشاهده شد در حالیکه به ریه متاستاز نداشت (هماتوکسیلین–ائوزین، کبد٤٠٠× و ریه ٤٠×).

بحث

تحقیقات نشان داده اند در موش هایی که دارای تومور هستند ولی تحت درمان نیستند، وزن و حجم تومور افزایش می یابد در حالیکه قوای بدنی حیوان افت می کند. اگر دارویی برعلیه تومور موثر باشد می تواند از این حالت جلوگیری کند و مهم هست دارویی استفاده شود که ضرر کمتری داشته باشد. در مطالعه حاضر سعی کردیم از یک عامل بیولوژیک و سیتوتوکسیک برای درمان موضعی سرطان استفاده کنیم و چون مهم بود که بر علیه سلول های توموری یک عامل کشنده را در نظر بگیریم به همین علت توکسین

بیولوژیکی به نام آفلاتوکسین B1 را انتخاب کردیم. این توکسین بر روی کشت سلول های کبدی و سایر سلول ها حتی کشت سلولی سرطان پستان 4T1 اثر کشنده دارد (۱۳).

تحقیقات Ruggeberg و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داد تزریق داخل عروقی آفلاتوکسین B1 به میزان ۰/۵ تا ۱ میلی گرم بر کیلو گرم در موش های اسپراگدولی کشنده است(۱۸). بنابراین ما از دوز ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین استفاده کردیم. در این مطالعه تزریق ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسینB1 نسبت به دکسوروبیسین به طور معنی داری باعث کاهش حجم تومور در موش های تیمار شده است. ولی اختلاف معنی داری از لحاظ کاهش حجم تومور در بین گروه های با تزریق ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 وجود نداشت.
برای پی بردن به این مطلب که آیا میتوان از اثرات سمی آفلاتوکسین جهت از بین بردن سلول های توموری استفاده کرد، تحقیق حاضر را انجام دادیم. در شرایط طبیعی، interleukin-1β به سبب ایجاد واکنش های التهابی خاصیت ضد توموری دارد و اینترلوکین ۱۰ با سرکوب ایمنی باعث پیشرفت تومورها می شود(۲۰،۱۹). در تحقیق حاضر نیز ممکن است با آزاد شدن سایتوکاین های فعال کننده ایمنی نظیر TNFα و IL1β از لکوسیت ها بعلت حضور سم و نیز تاثیر مستقیم آن روی حیات سلولی خاصیت ضد توموری موضعی توجیه شود. Meiyanto و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که بعضی از بیومولکول های استخراج شده از گیاهان و میوه ها مثل زردچوبه بر روی سلول های 4T1 تومور موشی دارای خاصیت سیتوتوکسیک و ضد متاستاز دارد(۲۱). سرکه آب نارگیل با تحریک تولید سایتوکاین های ضد سرطانی می تواند پیشرفت سرطان پستان 4T1 و متاستاز را به تاخیر بیاندازد(۲۲). و ما در این بررسی سعی کردیم با تحریک تولید سایتوکاین ها توسط آفلاتوکسین B1 فعالیت ضد سرطانی آن را مورد ارزیابی قرار دهیم.

تحقیق انجام شده Qin و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد پلی ساکارید Yulangsan در تومورها باعث تحریک آپوپتوز می شود و بیان VEGF را در آنها کاهش می دهد(۲۳). یک پروسه از رشد تومورها پیشرفت رگزایی جدید می باشد. آنتی بادی های اختصاصی ضد VEGF بر روی رشد تومور و متاستاز موثر هستند(۲٤). در این تحقیق مشاهده شد بیان VEGF عروق کوچک بافت توموری کاهش یافته است .چنین اتفاق مشابهی توسط عوامل بیولوژیک دیگر نیز به اثبات رسیده است.
نتایج به دست آمده ازیک تحقیق نشان داد LPS (7.4 x 106 EU/kg) یا AFTB1 (1 mg/kg) با تحریک ترشح TNFα از ماکروفاژها باعث مسمومیت کبدی می شوند. جالب بود بدانیم آیا آفلاتوکسین B1 می تواند برای کشتن سلول های توموری مورد استفاده قرار گیرد یا خیر. ما دریافتیم که این توکسین می تواند باعث مرگ سلول های توموری شود. علاوه بر آن این توکسین دارای فعالیت التهابی و ضد رگزایی بود. ژن های آپوپتوز در کبد حیواناتی که غذای آلوده به آفلاتوکسین B1 می خورند بیان می شود(۲۵). بیان خیلی کم 67-Ki روی سلول های 4T1 توموری در تحقیق حاضر، بیانگر این است که آفلاتوکسین B1 مانع تکثیر سلول های توموری می شود. به سبب تاثیر آفلاتوکسین B1 لخته های خونی زیادی درتومور تشکیل شدند که منجر به پیشرفت نکروز و آپوپتوز سلول های توموری شد.
Chen و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند سلنیت سدیم ، یک سلنیوم غیرآلی ، در کاهش زخم های ناشی از آفلاتوکسین B1 در تیموس جوجه نقش دارد. همچنین ترکیب ملاتونین با آفلاتوکسین B1 شدت زخم های کبدی را کاهش می دهد(۲٦). کاربرد بعضی آنتی اکسیدان ها نظیر نمک های سلنیوم یا ویتامین ها در کنترل اثر سمی آفلاتوکسین B1 بر روی سلول های پارانشیمال مفید است

ولی با میزان دوزی که ما جهت اثر روی سرطان وارد کردیم، ممکن است که از هپاتوکسیسیتی ممانعت نکند.

درگیری لنف و گره های لنفاوی نشان از متاستاز سرطان دارد. مشاهدات آسیب شناسی علاوه بر نکروز تومور، تهاجم سلول ها به عروق لنفاوی را نشان داد. جهت تعیین میزان متاستاز، بافت های کبدی و ریوی از لحاظ آسیب شناسی بررسی گردید . متاسفانه متاستاز در تومورهای موشی اتفاق افتاد و درمان دارویی با توکسین نتوانستند مانع از متاستاز کبد شوند. سلول های توموری حتی در گروه های تحت درمان به راحتی و به سرعت متاستاز شدند و نتایج نشان داد که آفلاتوکسین B1 اثر مهاری بر روی متاستاز سلول های توموری ندارد. البته نکروز، ترومبوز و التهاب در گروههای تیمار با ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود، اما در مورد متاستاز تفاوتی بین این گروه ها وجود نداشت. متاستاز و التهاب ایجاد شده در دو گروه تیمار با ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 مشابه یکدیگر بود. بیان زیاد VEGF دلالت بر وجود رگزایی زیاد در بافت های سرطانی پستان دارد. سلول های سرطانی که VEGF را بیان می کنند نشان دهنده کاهش رشد و آپوپتوزیس نیستند(۲۷،۲٤). درمطالعه حاضر بیان VEGF در گروه های تیمار با ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 خیلی کمتر از گروه های شاهد و حتی گروه دوگسوروبیسین بود. این یافته ها دلالت بر اثرات ضد آنژیوژنیک قوی آفلاتوکسین B1 دارد که به موجب آن گسترش عروق خونی در بافت توموری کاهش می یابد. به طور کلی نتایج بدست آمده از این بررسی نشان دهنده آن می باشد که استفاده از آفلاتوکسین B1 به طور موضعی اثر ضد سرطانی قوی بر روی سرطان پستان دارد. ولی مسئله اصلی اثر آفلاتوکسینB1 بر متاستاز کبد می باشد که نمی تواند مانع متاستاز گردد.با این وجود میتوان روی سمیت آن روی تومور حساب باز کرد به شرط اینکه پیرو آزمایشات نانو با دوز خیلی کم و همراه با تجویز همزمان آنتی اکسیدان ها تحقیق شود.

تعارض منافع: بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

فهرست منابع

1. Siegel R, Brawley O. cancer statistics. 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths .CA cancer j clin.2011:61(4)212-36.
2. Nafissi N, Saghafinia M, Akbari ME . A survey of breast cancer knowledge and attitude in Iranian women . J Cancer Res Ther.2012; 8(1):46-9.
3. Banegas MP, Bird Y, Moravos J. Breast cancer knowledge.attitudes and early detection practices in United States-Mexico border Latinas. J Womens Healt .2012;21(1):101-7.
4. Ferlay JS, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. GLOBOCAN 2012 v1. 0. Cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase. 2013;11.
5. Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Teare MD, Ponder BA, Easton DF. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 1999 Oct 1;8(10):843-54.
6. Shantakumar S, Terry MB, Teitelbaum SL, Britton JA, Millikan RC, Moorman PG, Neugut AI, Gammon MD. Reproductive factors and breast cancer risk among older women. Breast cancer research and treatment. 2007 May;102(3):365-74.
7. Paffenbarger Jr RS, Kampert JB, Chang HG. Characteristics that predict risk of breast cancer before and after the menopause. American Journal of Epidemiology. 1980 Aug 1;112(2):258-68.

8. Meki A, El-Gibaly I. Melatonin reduces apoptosis rate induced by aflatoxin B1 in rat
9. Mazdak Razi , Shapour Hassanzadeh , Toraj Zamir Nasta . Effect of Aflatoxin B1 on Histo morphometric Parameters of Testis in Male Mature Albino Mouse. Qom Uni Med Sci 2017 March
10. Zhang YJ, Chen Y, Ahsan H, Lunn RM, Lee PH, Chen CJ, et al. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation and its relationship to aflatoxin B1-DNA adducts and p53 mutation in hepatocellular carcinoma. International journal of cancer. 2003;103(4):440-4.
11. Yousefi F, Siadat SD, Saraji AA, Hesaraki S, Aslani MM, Mousavi SF, et al. Tagging staphylococcal enterotoxin B (SEB) with TGFaL3 for breast cancer therapy. Tumor Biology. 2016;37(4):5305-16.
12. Xu J, Koizumi K, Liu M, Mizuno Y, Suzaki M, Iitsuka H, et al. Shikonin induces an anti‐tumor effect on murine mammary cancer via p38‐dependent apoptosis. Oncology reports. 2019;41(3):2020-6.
13. Xin Y-F, Wan L-L, Peng J-L, Guo C. Alleviation of the acute doxorubicin-induced cardiotoxicity by Lycium barbarum polysaccharides through the suppression of oxidative stress. Food and Chemical Toxicology. 2011;49(1):259-64.
14. King PD, Perry MC. Hepatotoxicity of chemotherapy. The oncologist. 2001;6(2):162-76.
15. Gao ZG, Tian L, Hu J, Park IS, Bae YH. Prevention of metastasis in a 4T1 murine breast cancer model by doxorubicin carried by folate conjugated pH sensitive polymeric micelles. J Control Release. 2011;152(1):84-9.
16. De Francesco EM, Lappano R, Santolla MF, Marsico S, Caruso A, Maggiolini M. HIF-1α/GPER signaling mediates the expression of VEGF induced by hypoxia in breast cancer associated fibroblasts (CAFs). Breast Cancer Research. 2013;15(4):1-18.
17. Shi Y, Tong M, Wu Y, Yang Z, Hoffman RM, Zhang Y, et al. VEGF-C ShRNA inhibits pancreatic cancer growth and lymphangiogenesis in an orthotopic fluorescent nude mouse model. Anticancer research. 2013;33(2):409-17.
18. Ruggeberg K-G, O'Sullivan P, Kovacs TJ, Dawson K, Capponi VJ, Chan PP, et al. Hemoadsorption Improves Survival of Rats Exposed to an Acutely Lethal Dose of Aflatoxin B 1. Scientific reports. 2020;10(1):1-13.
19. Bent R, Moll L, Grabbe S, Bros M. Interleukin-1 beta—a friend or foe in malignancies? International journal of molecular sciences. 2018;19(8):2155.
20. Sato T, Terai M, Tamura Y, Alexeev V, Mastrangelo MJ, Selvan SR. Interleukin 10 in the tumor microenvironment: a target for anticancer immunotherapy. Immunologic research. 2011;51(2):170-82.
21. Meiyanto E, Putri H, Larasati YA, Utomo RY, Jenie RI, Ikawati M, et al. Anti-proliferative and anti-metastatic potential of curcumin analogue, pentagamavunon-1 (PGV-1), toward highly metastatic breast cancer cells in correlation with ROS generation. Advanced pharmaceutical bulletin. 2019;9(3):445.
22. Mohamad NE, Yeap SK, Abu N, Lim KL, Zamberi NR, Nordin N, et al. In vitro and in vivo antitumour effects of coconut water vinegar on 4T1 breast cancer cells. Food & nutrition research. 2019;63.
23. Qin N, Lu S, Chen N, Chen C, Xie Q, Wei X, et al. Yulangsan polysaccharide inhibits 4T1 breast cancer cell proliferation and induces apoptosis in vitro and in vivo. International journal of biological macromolecules. 2019;121:971-80.
24. Ellis LM, Hicklin DJ. VEGF-targeted therapy: mechanisms of anti-tumour activity. Nature reviews cancer. 2008;8(8):579-91.
25. Ribeiro DH, Ferreira FL, Da Silva VN, Aquino S, Corrêa B. Effects of aflatoxin B1 liver. Neuroendocrinology letters.2001;22:417-426.

and fumonisin B1 on the viability and induction of apoptosis in rat primary hepatocytes. International journal of molecular sciences. 2010;11(4):1944-55.
26. Chen K, Shu G, Peng X, Fang J, Cui H, Chen J, et al. Protective role of sodium selenite on histopathological lesions, decreased T-cell subsets and increased apoptosis of thymus in broilers intoxicated with aflatoxin B1. Food and chemical toxicology. 2013;59:446-54.
27. Wang F, Xu P, Xie KC, Chen XF, Li CY, Huang Q. Effects of tumor microenviromental factors on VEGF expression. Biomedical reports. 2013;1(4):539-44.