

بررسی اثرات سمیت و مهار متاستازی نانو ذرات اکسید سریم در دو رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF-7 و T47D

شیوا زمانی ^۱M.Sc، فهیمه باغبانی آرانی ^۲Ph.D، سیدعطا اله سادات شاندریز ^۳Ph.D

- ۱- کارشناس ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، ورامین- پیشوا، ایران
- ۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، ورامین- پیشوا، ایران
- ۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۸

چکیده

هدف: در تحقیق حاضر، به مطالعه اثرات ضد متاستاتیک و کشندگی نانو ذرات اکسید سریم در دو رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF-7 و T47D پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: رده‌های سلولی سرطان پستان T47D، MCF-7 و سلول نرمال HEK293 تحت تیمار با غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم، ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم، ۶۵ و ۶۵۰ نانوگرم، نانو ذرات اکسید سریم قرار گرفتند و آنالیز MTT برای بررسی سمیت نانو ذرات انجام شد. سپس میزان بیان ژن‌های NM23 و KAI-1 با روش Real time PCR اندازه‌گیری شد.

نتایج: غلظت ۶۵۰ میکروگرم و ۶/۵ میلی‌گرم از CNP به ترتیب باعث مرگ تقریباً ۶۰ درصد از سلول‌های MCF-7 و T47D شد. همچنین در تیمار سلول‌های نرمال با غلظت ۶/۵ میلی‌گرم CNP کاهش بقای ۲۵ درصدی مشاهده شد. نتایج آنالیز بیان ژن نیز نشان داد دو ژن سرکوبگر توموری NM23 و KAI-1 تحت اثر CNP دچار افزایش بیان نمی‌شوند.

نتیجه‌گیری: بر طبق نتایج این تحقیق، نانو ذرات اکسید سریم دارای اثر سمیت بر سلول‌های سرطان پستان می‌باشد. هر چند این تاثیر بسته به دوز و نوع رده سلولی متغیر می‌باشد. از طرفی بررسی بیان ژن‌های ضد متاستازی نشان داد که این نانوذره قادر به افزایش بیان این ژن‌ها نیست و بنابراین در کنترل تهاجم سلولی بی تاثیر است و احتمالاً اثر ضد سرطانی خود را از طریق القا مرگ سلولی اعمال می‌کند.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، متاستاز، نانو ذرات اکسید سریم، MCF-7، T47D

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین انواع سرطان است که هر ساله باعث مرگ و میر فراوانی در بین زنان می‌شود و علی‌رغم پیشرفت‌های بسیاری که در مورد تشخیص زود هنگام و درمان این بیماری صورت گرفته است، کماکان سردسته علل مرگ به علت سرطان در بین زنان است (۱). انواع سرطان پستان شامل کارسینوم درجای داکتال، کارسینوم درجای لوبولار، سرطان پستان التهابی و سرطان پستان راجعه می‌باشد. روش‌های درمانی متفاوتی برای سرطان پستان وجود دارد که چهار نوع روش درمانی متداول برای سرطان پستان شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و هورمون درمانی می‌باشد (۲ و ۳).

امروزه واژه نانو، یکی از مهم‌ترین فناوری‌ها در علوم کاربردی بخصوص تولیدات دارویی به‌شمار می‌رود. کاربرد نانوتکنولوژی در درمان سرطان یکی از جدیدترین مطالعاتی است که دانشمندان علوم پایه و بالینی به آن روی آورده‌اند (۴). نانو ذرات اکسید فلزی (Metal Oxide Nanoparticles) یکی از مهم‌ترین ترکیبات در حیطه‌ی تولید نانو ذرات هستند که مدتی است که به‌عنوان یکی از کاندیدای درمان سرطان مورد چالش قرار گرفته‌اند. نانو ذرات اکسید سریم که با نام اختصاری CNP (Cerium Oxid Nanoparticles) شناخته می‌شوند در هسته‌ی فلزی خود دارای هر دو ترکیب Ce^{3+}/Ce^{4+} می‌باشند که با اتم‌های اکسیژن احاطه شده‌اند. هر کدام از این کاتیون‌ها نقش خاصی به این نانو ذره می‌دهند. Ce^{3+} منجر به فعالیت احیاکنندگی نانو ذره CNP می‌شود و Ce^{4+} فعالیت اکسیدکنندگی دارد. نسبت Ce^{3+}/Ce^{4+} در سطح CNP به ریز محیط اطراف نانو ذره وابسته است و مکانیسم عمل این نانو ذره از طریق القای واکنش‌های اکسایش-کاهش است، در نتیجه مهم‌ترین کاربرد این نانو ذرات در پاسخ به مکانیسم‌های سلولی ROS (Reactive Oxygen Species) است که در تولید رادیکال‌های آزاد نقش بسیار مهمی دارند. در

بیولوژی سرطان این مکانیسم در تولید انرژی و تنظیم فعالیت‌های داخل سلولی مطرح می‌شود و از آنجاکه سرطان تکثیر غیرقابل کنترل و بی برنامه سلول است لذا این مسیر نیز در سرطان دچار اختلال شده است. تاثیر ضد آنتی اکسیدان‌تی نانو ذرات اکسید سریم که باعث ایجاد فعالیتی مشابه سوپراکسید دیسموتاز شده و از فعالیت کاتالاز تقلید می‌کند، به اثبات رسیده است. جذب این نانو ذرات در سلول‌های سالم و توموری به اثبات رسیده است و حداکثر تا سه ساعت بعد از تجویز، سلول‌ها می‌توانند این نانو ذرات را برداشت کنند. در یکی از مطالعات به اندوسیتوز با واسطه کلاترین این ذرات اشاره شده است. سایر بررسی‌ها نشان داده است که این ذرات می‌توانند به تمام اندامک‌ها از جمله هسته و میتوکندری نفوذ کنند و با توجه به تفاوت pH محیط داخل این اندامک‌ها نقش آنتی اکسیدان‌تی و یا پرواکسیدان‌تی آن متغیر است (۵).

متاستاز در سرطان، به‌عنوان یکی از علل مهم مرگ و میر بیماران سرطانی محسوب می‌شود. بیش از ۲۰ ژن به‌عنوان مهار کننده‌های فرایند متاستاز شناخته شده‌اند. که در این میان بیان ژن‌های ضد متاستازی NM23 و KAI-1 در سلول‌های سرطانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. مهم‌ترین نقش ژن NM23 در تولید ATP از سایر نوکلئوتیدهاست و در پردازش و عملکرد آنزیم‌هایی نظیر نوکلئوزید دی فسفات کیناز، کینازهای اختصاصی سرین/ترئونین، فانسیل فسفات کیناز و اگزونوکلئازها می‌باشد (۶). مطالعات مروری سیستماتیک نشان می‌دهد که افزایش بیان این ژن در بیماران مبتلا به سرطان پستان با پیش‌آگهی خوب و افزایش بقای بیماران ارتباط مستقیم دارد (۴ و ۷). همچنین در افرادی که توده بدخیم در آن‌ها متاستاز داده است، میزان بیان این ژن به‌طور معنی‌داری با افراد سالم و یا افراد با توده‌های خوش خیم تفاوت داشته و کمتر است. و نبود بیان آن در غدد لنفاوی در افرادی که متاستاز به غدد لنفاوی مثبت بود دیده شده

دستگاه قرائت گر الایزا (DNM-9602G) در طول موج ۵۷۰ نانومتر درصد بقای سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times (\text{جذب نوری کنترل/جذب نوری تست}) = \text{میزان بقای سلولی}$$

در این تست برای هر غلظت ۸ بار تکرار در نظر گرفته شد.

به منظور اندازه گیری بیان ژن ها، استخراج RNA از رده های سلولی سرطانی MCF-7 و T47D تیمار شده با غلظت IC50 نانوذره انجام شد و سنتز cDNA صورت گرفت. جهت استخراج RNA از واکنش گر Trizol Invitrogen ساخت کشور آمریکا استفاده شد و به منظور بررسی کمی و کیفی RNA، از روش اسپکتوفتومتری استفاده شد. بعد از استخراج RNA سنتز cDNA با استفاده از کیت Transgene Biotech AE301-02 صورت پذیرفت.

به منظور انجام واکنش Real Time PCR حجم نهایی هر میکروتیوپ ۲۰ میکرولیتر لحاظ شد که حاوی ۱۰ پیکومول از پرایمرهای جلوبر و برگشتی مربوط به ژن، ۳۵ نانوگرم cDNA، ۱۰ میکرولیتر Master mix و ۷ میکرولیتر آب RNase free بود. در این واکنش ژن های NM23 و KAI-1 به عنوان ژن هدف و ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع در نظر گرفته شدند. توالی پرایمرهای به کار گرفته شده در این واکنش در جدول ۱ مشخص شده است.

است (۴ و ۵). بیان ژن KAI-1 نیز با مهار متاستاز در ارتباط است. بیان این ژن در مراحل پیشرفته سرطان و با گسترش متاستاز کاهش می یابد. مطالعات نشان می دهد که فعال شدن پروتئین محافظ ژنوم p53 با افزایش بیان KAI-1 مرتبط است.

هدف از این مطالعه بررسی اثر نانو ذرات اکسید سریم بر سمیت و بیان ژن های سرکوبگر متاستازی NM23 و KAI-1 در دو رده سلولی سرطان پستان MCF-7 و T47D می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی کاربردی از فروردین تا اسفند سال ۱۳۹۶ انجام پذیرفت. رده های سلولی سرطانی MCF-7 و T47D و نرمال HEK293 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و سپس سلول ها در شرایط استاندارد مطابق با پروتکل در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و شرایط ۵ درصد CO₂، کشت و تکثیر شدند. نانو ذرات اکسید سریم نیز از شرکت US Research Nanomaterials, Inc. خریداری شد. به منظور اطمینان از سایز و بار نانو ذرات آنالیز توزیع سایز و زتا صورت پذیرفت و مشخص شد میانگین سایز نانو ذرات حدود ۳۰۰ نانومتر بوده و دارای بار منفی می باشند. سپس میزان سمیت سلولی نانو ذرات اکسید سریم، با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. به طوری که رده های سلولی با غلظت های ۶/۵ میلی گرم، ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم و ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم، نانو ذرات اکسید سریم به مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. سپس با استفاده از رنگ MTT و بررسی میزان شدت رنگ حاصل از حل شدن کریستال های فورامازان تولید شده توسط سلول های زنده در ایزوپروپانول، توسط

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای استفاده شده در Real Time PCR

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه قطعه تکثیر شده
<i>NM23</i>	F: ATGGCCAAGTGTGAGCGTACC R: CATGTATTTCCACCAGGCCGGC	۲۰۴ جفت باز
<i>KAI-1</i>	F: CTCAGCCTGTATCAAAGTCACCA R: CCCACGCCGATGAAGACATA	۱۸۳ جفت باز
<i>GAPDH</i>	F: CCCACTCCTCCACCTTTGAC R: CATAACCAGGAAATGAGCTTGACAA	۷۴ جفت باز

تیمار دو رده سلولی سرطان پستان شامل MCF-7 و T47D و همچنین یک رده سلولی نرمال HEK293 با نانو ذرات اکسید سربیم نشان داده که این نانوذره اثر سمیت وابسته به دوز در هر دو رده سلولی دارد. طبق شکل ۱ نتایج سمیت به دست آمده برای رده سلولی MCF-7 حاکی از آن است که نانو ذرات اکسید سربیم پس از بازه زمانی ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم، ۶۵۰ و ۶۵ میلی‌گرم، باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0.001$). بقای سلولی در رده سلولی MCF-7 می‌شوند.

نتایج آزمون MTT برای بررسی اثرات سمیت نانو ذرات اکسید سربیم بر رده سلولی سرطانی T47D (شکل ۱) نیز نشان داد که غلظت ۶۵۰ میکروگرم، نانوذره باعث کاهش بقای ۴۰ درصد از سلول‌ها شد و با افزایش غلظت به ۶/۵ میلی‌گرم از نانوذره، کاهش بقای ۶۰ درصدی رده سلولی T47D را شاهدیم که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.001$).

اثرات سمیت نانو ذرات اکسید سربیم بر رده سلولی سرطانی HEK-293 به عنوان رده سلولی نرمال (شکل ۱) نیز نشان داد که تنها غلظت ۶/۵ میلی‌گرم نانو ذرات اکسید سربیم باعث مرگ ۲۵ درصدی سلول‌های HEK293 می‌شود ($p < 0.001$). در غلظت‌های دیگر نانو ذرات تغییری در بقای سلول‌های HEK293 ایجاد نمی‌شود.

در این تحقیق برنامه زمانی دمایی دستگاه PCR (مدل Applied Biosystems, Foster, ABI 7300, City, CA, USA) به صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه، مرحله دوم ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله آخر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در آخر آنالیز نتایج Real Time PCR با استفاده از روش $\Delta\Delta Ct$ طبق فرمول‌های زیر صورت گرفت:

$$\Delta Ct = Ct_{\text{target}} - Ct_{\text{reference}}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_T - \Delta Ct_C$$

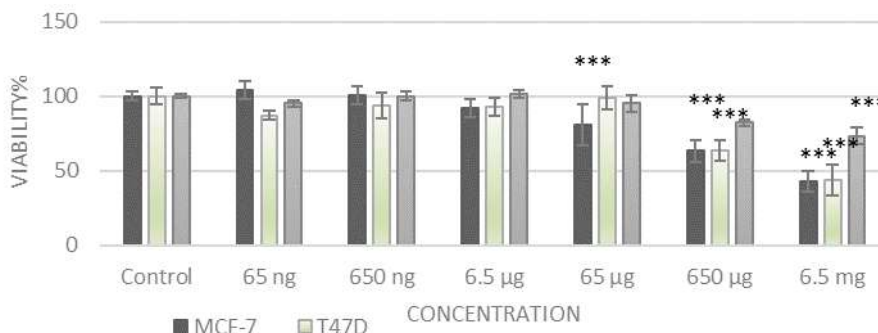
$$\Delta\Delta Ct - RQ = 2$$

در این فرمول ΔCt_T اختلاف بین سیکل‌های آستانه ژن هدف و کنترل داخلی در نمونه مورد آزمون و ΔCt_C نیز اختلاف میان سیکل‌های آستانه ژن هدف و کنترل داخلی در نمونه کنترل می‌باشد. این روش کارایی پرایمرها را کامل در نظر گرفته، به این صورت که میزان محصول در تمام سیکل‌ها دو برابر می‌باشد.

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) و تست Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و محاسبه P value با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت. مقدار $p < 0.05$ در هر تست معنی‌دار در نظر گرفته شد.

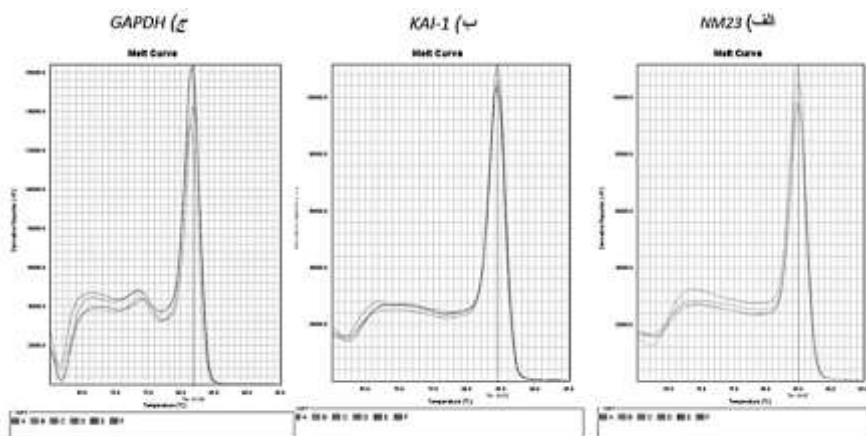
نتایج



شکل ۱: اثر غلظت‌های متفاوت نانو ذرات اکسید سریم بر سمیت رده سلولی سرطانی MCF-7، T47D، و رده سلولی نرمال HEK293. نتایج به صورت درصد بقا در مقایسه با نمونه‌های کنترل و به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است. $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شده است. (***: $p < 0.001$).

می‌باشد. همچنین نمودار تکثیر هرکدام از ژن‌ها در هر واکنش PCR مورد بررسی قرار گرفت و Ct به دست آمده، ثبت شد. منطبق بودن نمودار تکثیر مربوط به سه تکرار هرکدام از ژن‌ها در هر آزمون PCR نیز کنترل شد.

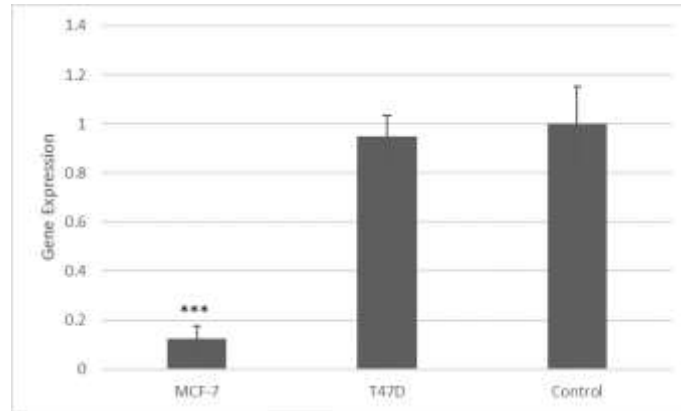
پس از انجام Real Time PCR، به منظور تأیید اینکه آیا قطعات ژنی به صورت اختصاصی، بدون آلودگی و دایمر پرایمر تکثیر شده است، از آنالیز منحنی ذوب استفاده شد. طبق شکل ۲ وجود تنها یک پیک برای ژن‌های NM23، KAI-1 و GAPDH در دمای ذوب ویژه آن‌ها، تأییدکننده اختصاصی بودن محصول تکثیر واکنش



شکل ۲: منحنی ذوب ژن‌های مورد بررسی: الف) منحنی ذوب NM23 (ب) منحنی ذوب KAI-1 (ج) منحنی ذوب GAPDH. تک قله بودن و دمای ذوب یکسان منحنی‌های مربوط به ژن‌ها نشان دهنده اختصاصیت محصول تکثیر شده و صحت واکنش می‌باشد.

اکسید سریم کاهش بیان معنی‌داری دارد ($p < 0.001$). این در حالی است که بیان این ژن در رده سلولی T47D پس از تیمار با نانوذره تغییری را نشان نداد.

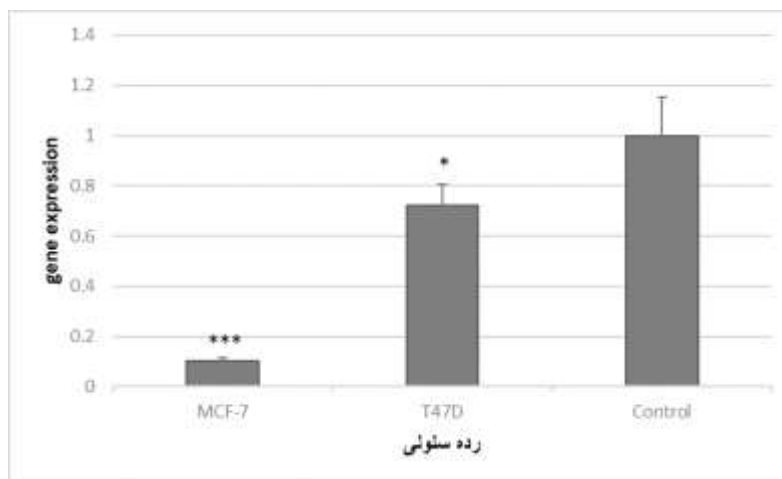
بعد از تیمار سلول‌ها با غلظت ۶۰۰ میکروگرم نانو ذرات اکسید سریم به مدت ۴۸ ساعت، بیان ژن NM23 در رده سلولی MCF-7 و T47D بررسی شد. طبق آنچه در شکل ۳ نشان داده شده بیان ژن NM23 نسبت به ژن مرجع در رده سلولی MCF-7 تیمار شده با نانو ذرات



شکل ۳: بررسی بیان ژن NM23 در رده‌های سلولی MCF-7 و T47D: (الف) بیان ژن NM23 در رده سلولی سرطانی پستان MCF-7 کاهش یافته و آنالیز آماری تفاوت معناداری را نشان داد. (ب) بیان ژن NM23 در رده سلولی T47D تفاوتی را نشان نمی‌دهد. (***) $p < 0.001$.

هر دو رده سلولی کاهش معناداری دارد. اما میزان این کاهش بیان در رده سلولی MCF-7 بیشتر می‌باشد.

شکل ۴ نیز میزان تغییرات بیان ژن KAI-1 در هر دو رده سلولی MCF-7 و T47D را پس از تیمار با نانوذره اکسید سریم نشان می‌دهد. به طوری که بیان این ژن در



شکل ۴: بررسی بیان ژن KAI-1 در رده‌های سلولی MCF-7 و T47D بعد از تیمار با نانو ذرات اکسید سریم: (الف) بیان ژن KAI-1 در رده سلولی T47D (ب) بیان ژن KAI-1 در رده سلولی MCF-7 $p < 0.05$ (*), $p < 0.001$ (***)

ذرات اکسید سریم بر سمیت و کشندگی دو رده سلولی مختلف از سرطان پستان و رده سلول نرمال بررسی شد و سپس نقش احتمالی این نانو ذرات روی مهار متاستاز از طریق تاثیر روی بیان ژن‌های سرکوبگر متاستازی NM23 و KAI-1 بررسی شد.

نتایج مطالعه حاضر بیانگر اثرات کاهنده بقای سلولی نانوذره در غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم و ۶۵۰ میکروگرم در رده سلولی T47D و غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم، ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم، در رده سلولی MCF-7 است که می‌توان گفت

بحث

نانو ذرات اکسید سریم یک هسته سریم دارد که توسط اتم‌های اکسیژن احاطه شده است. مطالعات نشان دادند که شرایط محیط اطراف سلول‌ها و نیز شرایط داخلی آن‌ها اثر مهمی در تعیین نقش این ترکیبات دارد، به طوری که اثرات کشندگی این نانو ذرات بسته به نوع سلول متغیر است (۸). همچنین تاکنون چندین مطالعه اثر ضد سرطانی و ضد متاستازی این نانو ذرات را متذکر شده اند (۹). لذا در پژوهش حاضر در مرحله اول اثر نانو

سوپر اکسید دیسموتاز است و می‌تواند باعث مهار آسیب‌های شدید DNA شود. نتایج مطالعات پاتولوژیک نیز نشان داد که استفاده از نانو ذرات باعث افزایش بروز آپوپتوزیس در سلول‌های توموری شده و باعث افزایش مقاومت سلول‌های سالم در برابر پرتوهای یونیزان می‌شود. نتایج مطالعه حاضر تاییدی است بر این مطالعات بوده که اثر ضد سرطانی این نانوذره را نشان دادند. هرچند در مطالعه حاضر اثرات حفاظتی و یا آپوپتوتیک نانوذره در سرطان پستان بررسی نشد که لازم است در ادامه این مطالعه تکمیل شد.

ژن NM23 به‌عنوان ژن سرکوبگر متاستاز شناخته می‌شود و میزان بیان این ژن در سلول‌هایی که سرطانی شده‌اند کاهش می‌یابد. بیان این ژن ارتباط مستقیمی با ایجاد متاستاز در سرطان پستان نشان داده است بنابراین می‌توان میزان بیان این ژن را به‌عنوان نشانه‌ای از درجه متاستاز و سرطان در نظر گرفت. هرچند گزارش‌ها متفاوت نیز وجود دارد. برای مثال کوبوکو و همکاران (۱۲ و ۱۳) گزارش دادند که ارتباط معنی‌داری بین بیان ژن NM23 اندازه‌گیری شده با روش ایمنوهیستوشیمی و سرطان پستان مشاهده نکردند.

همچنین ژن KAI-1 با مهار متاستاز در ارتباط است به‌طوری‌که نشان داده شده بیان این ژن در مراحل پیشرفته سرطان و گسترش متاستاز کاهش می‌یابد (۱۳ و ۱۴). بنابراین می‌توان میزان بیان این ژن‌ها را به‌عنوان نشانه‌ای از درجه متاستاز و سرطان در نظر گرفت. با توجه به اینکه چندین مطالعه اثر ضد متاستازی نانو ذرات اکسید روی را متذکر شدند (۱۵ و ۱۶). در این مطالعه نیز با بررسی اثر نانوذره مذکور روی بیان این دو ژن تأثیر نانوذره سریم روی متاستاز سلول‌های سرطان پستان بررسی شد. به‌طوری‌که نتایج نشان داد که بیان ژن NM23 و KAI-1 در هر دو رده سلولی تیمار شده با نانو ذرات اکسید سریم نسبت به سلول‌های تیمار نشده دچار افزایش بیان نشدند در صورتی‌که اگر نانوذره اکسید سریم باعث مهار متاستاز

نانو ذرات اکسید سریم در یک فرایند وابسته به دوز و نوع سلول می‌تواند اثر کشندگی روی سلول‌های سرطان پستان داشته باشد. همچنین در این مطالعه رده سلولی HEK293 نیز به‌عنوان رده نرمال تحت تیمار با نانو ذرات سریم قرار گرفتند و آنالیز نتایج MTT نشان داد که تنها در غلظت ۶/۵ میلی‌گرم نانوذره سریم، سلول‌های HEK293 مرگ ۲۵ درصدی را نشان می‌دهند، به‌عبارتی نانوذره سریم تنها در غلظت‌های بالا دارای اثرات سمی برای سلول‌های نرمال است اما در غلظت‌های پایین‌تر مانند غلظت ۶۵۰ میکروگرم که نانو ذرات اکسید سریم باعث مرگ بیش از ۵۰ درصد سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 و T47D شدند، اثرات سمیتی بسیار پایینی برای سلول‌های HEK293 دارند. بنابراین در صورت فرمولاسون نانوذره اکسید سریم به‌عنوان یک داروی ضد سرطان با بهینه کردن غلظت می‌توان به یک داروی با اثرات جانبی کم رسید. این مساله جهت درمان سرطان بسیار مهم است زیرا در حال حاضر معضل اصلی درمان سرطان اثرات جانبی منفی داروها روی سلول‌های طبیعی است.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ روی بیماران مبتلا به سرطان پانکراس انجام شد مشخص شد که نانو ذرات اکسید سریم (CONP) علاوه بر نقش حمایتی سلول‌های غیر سرطانی در برابر اثر اکسیداتیو رادیودرمانی، سبب افزایش pH و باعث افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی به رادیودرمانی شده و باعث افزایش آپوپتوزیس می‌شود. در این بررسی از موش‌های سرطانی شده استفاده شد و همین‌طور در یک مرحله این دارو به بیماران قبل و بعد از رادیوتراپی تجویز شد (۱۰). هم‌چنین در مطالعه ای که Colon J و همکارانش (۱۱) روی سرطان GI (Gastro-Intestinal cancer) داشتند گزارش کردند که CONP در pH کمتر از ۴/۳ که در اثر برخورد پرتو‌ها در محیط اطراف سلول‌های توموری ایجاد می‌شود فعال شده و نقش کاتالاز را ایفا می‌کند. همین‌طور فعالیت آن مشابه

زمانی) می‌باشد. نویسندگان اعلام می‌دارند که تضادی در منافع وجود ندارد.

منابع

1. Li CI, Weiss NS, Stanford JL, Daling JR. Hormone replacement therapy in relation to risk of lobular and ductal breast carcinoma in middle aged women. *Cancer*. 2000; 88(11): 2570-7.
2. Katz SJ, Lantz PM, Janz NK, Fagerlin A, et al. Patient involvement in surgery treatment decisions for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005; 23(24): 5526-33.
3. Han W, Zhang C, Cao F-y, Cao F, et al. The prognostic role of Sirt1 expression in solid malignancies: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017; 8(39): 66343-51.
4. Duan S, Nordmeier S, Buxton IL. Exploring the metastatic potential of exosomal NM23 signaling using a triple negative breast cancer model in mice. *Cancer Research*. 2016;76(14 Supplement): 4275-.
5. Lacombe M-LL, Milon L, Munier A, Mehus JG, et al. The human Nm23/nucleoside diphosphate kinases. *J Bioenerg Biomembr*. 2000; 32(3): 247-58.
6. Steeg PS, De La Rosa A, Flatow U, MacDonald NJ, et al. Nm23 and breast cancer metastasis. *Breast Cancer Res Treat*. 1993; 25(2): 175-87.
7. Asati A, Santra S, Kaittanis C, Nath S, et al. Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2009; 48(13): 2308-12.
8. Alili L, Sack M, Karakoti AS, Teuber S, et al. Combined cytotoxic and anti-invasive properties of redox-active nanoparticles in tumor-stroma interactions. *Biomaterials*. 2011; 32(11): 2918-29.
10. Wason MS, Colon J, Das S, Seal S, et al. Sensitization of pancreatic cancer cells to

در سرطان پستان می‌شد انتظار می‌رفت این دو ژن دچار افزایش بیان شوند. بنابراین می‌توان چنین استدلال کرد که یا CONP در سرطان پستان اثر ضد متاستازی ندارد یا اینکه این اثر را از مسیرهای سیگنالینگ دیگری که در آن‌ها این دو ژن دخالت ندارند اعمال می‌کند. در تایید این استدلال می‌توان به مطالعه جیری و همکاران (۱۷) در اشاره کرد که نشان دادند نانو ذرات اکسیدسیریم از طریق مهار رگ‌زایی در سرطان تخمدان می‌توانند با مهاجرت و تهاجم رده سلولی سرطان تخمدان مقابله کند. بنابراین لازم است مطالعات بیشتری در این زمینه روی سرطان پستان صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشاهده شد که نانو ذرات اکسیدسیریم در یک روند وابسته به دوز و نوع سلول می‌تواند اثر سمی روی رده‌های سلولی سرطان پستان داشته باشد. بنابراین نتایج استفاده از نانو ذرات اکسید سیریم برای درمان سرطان پستان امیدوارکننده است ولی از طرف دیگر دیده شد تأثیر این نانوذره بر ژن‌های سرکوب‌کننده متاستاز که یکی از مهم‌ترین مراحل سرطان است، کاهشدهنده است و در نتیجه حداقل در مورد ژن‌های بررسی شده در این پژوهش می‌توان گفت نانو ذرات اکسیدسیریم نمی‌تواند باعث سرکوب متاستاز نر سرطان پستان شود. برای پی بردن به دلیل این خواص نانو ذرات اکسید سیریم نیاز به مطالعات بیشتر است به‌طور مثال می‌توان با ارزیابی دیگر ژن‌های مهم در مسیر آپوپتوزیس و متاستاز در سلول‌های تیمار شده با نانو ذرات سیریم و یا افزایش کارایی نانو ذرات از طریق کاندومگیشن با عوامل ضد سرطانی، ارزیابی دقیق‌تری از مکانیسم‌های ضد سرطانی این نانوذره در سرطان پستان به‌دست آورد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین -پیشوا (شیوا

radiation by cerium oxide nanoparticle-induced ROS production. *Nanomedicine*. 2013; 9(4):558-69.

11. Colon J, Hsieh N, Ferguson A, Kupelian P, et al. Cerium oxide nanoparticles protect gastrointestinal epithelium from radiation-induced damage by reduction of reactive oxygen species and upregulation of superoxide dismutase 2. *Nanomedicine*. 2010; 6(5): 698-705.

12. Cubukcu E, Kanat O, Fatih Olmez O, Kabul S, Canhoroz M, Avci N, et al. Prognostic significance of estrogen receptor, progesterone receptor, HER2/neu, Ki-67, and nm23 expression in patients with invasive breast cancer. *J BUON*. 2013; 18(2): 359-65.

13. Yamauchi H, Cristofanilli M, Nakamura S, Hortobagyi GN, et al. Molecular targets for treatment of inflammatory breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2009; 6(7): 387-94.

14. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. 1994; 266(5182): 66-71.

15. Liu WM, Zhang XA. KAI1/CD82, a tumor metastasis suppressor. *Cancer Lett*. 2006; 240(2): 183-94.

16. Ouyang Z, Mainali MK, Sinha N, Strack G, et al. Potential of using cerium oxide nanoparticles for protecting healthy tissue during accelerated partial breast irradiation (APBI). *Phys Med*. 2016; 32(4): 631-5.

17. Giri S, Karakoti A, Graham RP, Maguire JL, et al. Nanoceria: a rare-earth nanoparticle as a novel anti-angiogenic therapeutic agent in ovarian cancer. *PLoS One*. 2013; 8(1): e54578.

Evaluation of toxicity and anti-metastatic effects of Cerium oxide on human breast cancer MCF-7 and T47D cell lines nanoparticles

Zamani Sh, M.Sc¹, Baghbani-Arani F, PhD², Sadat Shandiz SA, PhD³

1. Department of Genetics and Biotechnology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2. Department of Genetics and Biotechnology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
3. Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

* Email corresponding author: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

Received: 29 Jun. 2018

Accepted: 11 Sep. 2018

Abstract

Aim: In the present study, The anti-metastatic and cytotoxicity effects of cerium oxide nanoparticles on two MCF-7 and T47D breast cancer cell lines have been studied.

Material and methods: MCF-7 and T47D breast cell lines and normal HEK293 cells were treated with 6.5 mg, 650µg, 65µg, 650ng, 65 ng of cerium oxide nanoparticles and MTT analysis was performed to investigate the toxicity of nanoparticles. Then, NM23 and KAI-1 genes expression were measured by real-time PCR method.

Results: Concentrations of 650 µg and 6.5 mg of CNP resulted in approximately 60% death of MCF-7 and T47D cells. Also, in treatment of normal cells with a concentration of 6.5 mg of CNP, Reduced survival of 25% was observed. Gene expression analysis showed that the two anti-metastatic NM23 and KAI-1 genes did not increase expression under CNP treatment.

Conclusion: According to the results of this study, the cerium oxide nanoparticles have toxic effects on breast cancer cells, However, this effect varies dose and type of cell line dependent. On the other hand, the study of the anti-metastatic expression of genes showed that this nanoparticle is not capable of enhancing the expression of these genes and therefore is ineffective in controlling cell invasion and is likely to exert its anticancer effect through induction of cell death.

Keywords: Breast cancer, metastasis, Cerium oxide nanoparticles, MCF-7, T47D