(مقالهٔ پژوهشی)

بررسی اثر محافظت‌کنندگی لیکوپن، بر آسیب‌های کروموزومی و مرگ سلولی ناشی از تابش پرتوهای یونیزان در سلول‌های فیبروبلاست انسانی در محیط کشت

علی‌حسین صابری[1*]، مجید کوثری[2]

۱- استادیار گروه ژنتیک.

۲- کارشناس ارشد فیزیک پزشکی.

۱- گروه ژنتیک، دانشکدهٔ پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.

* نویسندهٔ مسؤول:
گروه ژنتیک، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۱۱۳۳۴۸۸
Email: ahsaberi70@hotmail.com

چکیده

زمینه و هدف: لیکوپن یکی از مؤثرترین آنتی‌اکسیدان‌ها است. به‌علاوه لیکوپن، یک رنگدانهٔ قرمز و محلول در چربی است که در برخی از گیاهان و میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شود. مطالعات متعددی توانایی لیکوپن را برای حفاظت از سلول در مقابل آسیب‌های ناشی از پرتوهای یونیزان نشان داده اند، اما مکانیسم عمل حفاظتی آن به‌خوبی روشن نیست. در این مطالعه، اثر لیکوپن برای مقابله با سیتوتوکسیسیتی و ژنوتوکسیسیتی ناشی از تابش پرتوهای گاما بر سلول‌های فیبروبلاست انسانی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: سه گروه از سلول‌ها، تحت تابش دوزهای ۱، ۲ و ۴ گری قرار داده شدند و سه گروه دیگر از سلول‌ها قبل از تابش هر دوز، تحت تیمار با غلظت‌های مختلف لیکوپن (۲، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) واقع شدند. سیتوتوکسیسیتی سلول‌ها با استفاده از آزمایش بقاء کولونی و ژنوتوکسیسیتی سلول‌ها با استفاده از آنالیز گسترهٔ کروموزومی در مرحلهٔ متافاز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: آزمایش بقای سلولی نشان داده است که با افزایش دوز پرتوهای گاما (۱، ۲ و۴ گری) مرگ سلولی نیز افزایش یافته است، درحالی که تیمار سلول‌ها با لیکوپن (۲، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) قبل از تابش اشعه، موجب کاهش مرگ سلولی و حفاظت آنها در مقابل پرتوهای گاما شده است. لیکوپن، همچنین موجب کاهش شکست‌های کروماتیدی و کروموزومی شده است. بیشترین تأثیر لیکوپن در محافظت از سلول‌ها و کروموزوم‌ها، در غلظت ۱۰ میکرومولار بوده است.

نتیجه‌گیری: این نتایج، نشان می‌دهد که تیمار سلول‌ها قبل از تابش پرتوهای یونیزان با لیکوپن از مرگ سلولی و آسیب به DNA، محافظت می‌کند و این خاصیت محافظت‌کنندگی به غلظت لیکوپن نیز بستگی دارد. بنابراین، لیکوپن از ناپایداری ژنتیکی ناشی از تأثیر پرتوهای یونیزان، جلوگیری می‌کند و از این طریق می‌تواند در کاهش اثر سرطان‌زایی پرتوهای یونیزان نیز مؤثر باشد.

م ع پ ۱۳۹۰؛۱۰(۵): ۵۷۳-۵۸۱

کلید واژگان: لیکوپن، شکست‌های کروموزومی، شکست‌های کروماتیدی، فیبروبلاست انسانی، پرتوهای یونیزان، آزمایش بقای کولونی.

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۸/۲۷ **دریافت مقالهٔ اصلاح شده**: ۱۳۹۰/۵/۱۷ **اعلام قبولی**: ۱۳۹۰/۷/۵

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

پرتوهای یونیزان به‌طور وسیعی در صنعت و پزشکی مورد استفاده هستند اگرچه استفاده از آنها با خطرات قابل توجهی همراه است. این پرتوها سبب آسیب‌هایی در سطح میکروسکوپی به بافت‌ها می‌شوند که در دوزهای بالا، باعث سوختگی پوستی و بیماری اشعه می‌شوند و در دوزهای پایین، موجب آسیب‌های ژنتیکی و سرطان می‌شوند (۱). پرتوهایی با LET پایین، مثل: پرتوهای X و γ ، به‌طور عمده از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن (reactive oxygen species یا ROS) عمل می‌کنند (۲). رادیکال‌های آزاد اکسیژن با مولکول‌های بیولوژیک بر همکنش کرده و ترکیبات سمی تولید می‌کنند. ترکیبات سمی حاصل از این برهمکنش موجب پراکسیداسیون چربی و آسیب به DNA می‌شوند (۳). آسیب‌های DNA، از نوع شکست رشته‌های DNA است که در اثر تهاجم رادیکال‌های OH^o و سایر عوامل اکسیدان مشابه، به‌وجود می‌آید (۴). بنابراین، ترکیبات فعالی که در اثر تابش پرتوهای یونیزان به وجود می‌آیند، از طریق آسیب به DNA، موجب موتاسیون ژنتیکی و مرگ سلولی می‌شوند(۵). برای مقابله با استرس اکسیداتیو، سلول‌های بدن دارای مجموعه ای از مواد آنتی‌اکسیدانی هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها، حاوی ترکیبات درون‌سلولی(endogenous) و برون سلولی (exogenous) هستند که در جهت کاهش تشکیل رادیکال‌های آزاد و یا واکنش با آنها و خنثی کردن این رادیکال‌ها، عمل می‌کنند. بنابراین، اثر رادیکال‌ها را به حداقل می‌رسانند و سلول‌ها را در مقابل استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند(۶). آنتی‌اکسیدان‌های درون سلولی، سه گروه هستند: آنزیم‌ها (مثل: کاتالازها و سوپراکسید دیسمیوتازها) پروتئین‌های متصل به عناصر فلزی (مثل: فریتین) و ترکیبات با وزن مولکولی پایین (مثل: ویتامین A، ویتامین E و غیره) (۷). در شرایط طبیعی، بین مواد اکسیدان و آنتی‌اکسیدان، تعادل برقرار است، اما در شرایط پاتولوژیک یا پس از تابش پرتوهای یونیزان، آلودگی محیط و غیره، این تعادل از بین می‌رود و به تأمین مواد آنتی‌اکسیدانی بیشتری نیاز است (۸). به‌همین دلیل، انجام این تحقیق برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های مؤثر و مفید برای به حداقل رساندن استرس اکسیداتیو، در موارد متنوع کلنیکی و پاتولوژیکی بسیار حائز اهمیت است. پژوهش‌های انجام شده در این زمینه نشان می‌دهد که میوه‌ها و سبزی‌های غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها، خطر استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد(۹). یک مولکول آنتی‌اکسیدان مؤثر، همانند یک ترکیب کارتنوئید، باید قادر باشد تا رادیکال‌های آزادی مثل OH^o را از سیستم بیولوژیک حذف کند که این عمل می‌تواند با ترکیب با آن رادیکال و تولید یک محصول بی‌ضرر برای سلول، و یا توقف زنجیرهٔ واکنش‌های رادیکالی همراه باشد.

لیکوپن یک کارتنوئید غذایی است که به‌وسیلهٔ گیاهان و میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شود و به‌طور عمده در میوه‌های قرمز، سبزیجات، گوجه‌فرنگی، هندوانه، انگور قرمز و زردآلو وجود دارد (۱۰). لیکوپن از کارتنوئیدهایی است که در سرم، بیضه‌ها، غدد فوق‌کلیوی و پروستات یافت شده است (۱۱). برخلاف دیگر کارتنوئیدها، مقدار لیکوپن در سرم، در اثر مصرف الکل و استعمال دخانیات کاهش پیدا نمی‌کند، اما با افزایش سن مقدار آن تقلیل می‌یابد (۱۲). لیکوپن به‌خاطر خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، مورد توجه و مطالعهٔ زیادی قرار گرفته است. وجود تعداد زیادی پیوند دوگانه در ترکیب لیکوپن، باعث شده است که یکی از مؤثرترین کارتنوئیدهایی باشد که رادیکال‌های اکسیژن را خنثی می‌کند (۱۳).

مطالعه‌های اپیدمیولوژی اخیر نشان داده است که رژیم غذایی غنی از لیکوپن، خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند: سرطان و بیماری‌های قلبی را کاهش می‌دهد (۱۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی لیکوپن به‌طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است و نشان داده شد که در کشت سلولی و مدل‌های حیوانی، لیکوپن قادر است رادیکال‌های آزاد را خنثی کند (۱۵). همچنین شواهد

Archive of SID
www.SID.ir

تجربی مبنی بر توانایی لیکوپن برای خاموش کردن رادیکال اکسیژن O^{-o}_2، نیتروژن دی اکسید $(NO_2)^o$، تیول $(RS)^o$ و سولفونیل $(RSO2^o)$ وجود دارد (۱۶). در رابطه با اثر محافظت‌کنندگی لیکوپن در سلول‌های فیبروبلاست انسانی از نظر سیتوکسیسیتی و ژنوتوکسیسیتی، اطلاعات زیادی وجود ندارد. در این مطالعه، توانایی لیکوپن برای مهار اثر سیتوکسیسیتی و ژنوتوکسیسیتی پرتوهای یونیزان در سلول‌های فیبروبلاست انسانی در محیط کشت، مورد بررسی قرار گرفته است. در این پژوهش از آزمایش بقای کولونی(سلولی) برای ارزیابی اثر محافظت‌کنندگی لیکوپن بر مرگ سلولی و آنالیز متافاز به روش رنگ آمیزی توپر(Solid) برای ارزیابی اثر محافظت‌کنندگی لیکوپن از DNA، استفاده شده است. به طور حتم، داده‌های این پژوهش به درک بهتر ما از مکانیسم محافظت کنندگی لیکوپن کمک می کند

روش بررسی

کشت سلولی: ردهٔ سلولی فیبروبلاست (HNFF-p18) گرفته شده از پوست ساعد انسان، از بانک سلولی ملی انستیتوپاستور ایران خریداری شده است. سلول‌ها در محیط کشت DMEM (شرکت گیبکو)، کشت داده شدند. پس از اضافه کردن ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، پنی‌سیلین و استرپتومایسین در دمای ۳۷°C، ۵ درصد Co_2 و ۹۵ درصد هوا، کشت داده شدند.

تیمار سلول‌ها و آماده‌سازی محلول‌ها: لیکوپن از شرکت سیگما خریداری شده است (Cat No: ۹۸۹۷ /S)، شرکت سیگما، آمریکا). ۵ میلی‌گرم از لیکوپن در ۲۵ میکرولیتر از دی‌میتل‌سولفاکسید (DMSO)، حل شد و حجم آن با آب دوباره تقطیر C^o ۳۷ درجهٔ سانتیگراد، به ۵ میلی‌لیتر رسید. در این صورت غلظت لیکوپن به mg/ml ۱ و ۰/۵ درصد DMSO رسید. از ۳ غظلت متفاوت این محلول، سی دقیقه قبل از تابش پرتوهای گاما ۲، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار به محیط کشت سلول‌ها اضافه شد. به‌عنوان کنترل، تأثیر لیکوپن با غلظت‌های فوق به سلول‌ها، بدون تابش پرتوهای یونیزان، مورد مطالعه قرار گرفت و هیچگونه اثری بر رشد سلول‌ها مشاهده نشد.

گروه‌های مورد آزمایش: سلول‌های فیبروبلاست در ۵ گروه مختلف و ۹ زیرگروه به شرحی که درجدول ۱ آمده است، مورد آزمایش قرار گرفتند. برای هرگروه، سه نوبت آزمایش تکرار شده است و نتایج به‌دست آمده، میانگین هرسه نوبت است. آزمایش بقای کولونی (colony survival assay) : ابتدا سلول‌ها با استفاده از یک هموسیتومتر شمارش شده و کشت داده شدند، سه ساعت بعد و ۳۰ دقیقه قبل از تابش اشعهٔ گاما، لیکوپن با غلظت‌های ۲، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار به محیط کشت سلول‌ها اضافه شد، سپس سلول‌ها به مدت دو هفته در انکوباتر برای تشکیل کولونی قرار داده شدند و هر ۲۴ ساعت مورد بازدید قرار می‌گرفتند. بعد از دو هفته، محیط کشت را خارج کرده و با استفاده از متانول سلول‌ها فیکس شدند. پس از رنگ آمیزی با گیمسا کولونی‌هایی که تعداد سلول‌های آنها بیش از ۵۰ سلول بود، شمارش شدند (۱۷). درصد بقای سلولی، با استفاده از مقایسهٔ بین سلول‌های تحت تابش، با و بدون لیکوپن و سلول‌هایی تابش ندیده، محاسبه و به‌دست آمد.

بررسی کروموزومی: شکست‌های کروموزومی با استفاده از تهیهٔ گسترهٔ کروموزومی در مرحله متافاز، مورد بررسی قرار گرفتند (۱۸). بلافاصله پس از تابش، پرتوهای یونیزان کلسمید با غلظت ۰/۱ میکروگرم در هر میلی‌لیتر به محیط کشت سلول‌ها اضافه شد و ۳ ساعت پس از افزودن کلسمید، سلول‌ها در انکوباتر CO_2 نگهداری شدند. پس از سانتریفیوژ و دور ریختن محیط رویی سلول‌ها، کلریدپتاسیم ۷۵ میلی‌مولار، به سلول‌ها اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند، سپس با استفاده از محلول متانول و اسید استیک (به نسبت ۳ به ۱)، سلول‌ها فیکس شدند. در مرحلهٔ بعد، از این سوسپانسیون سلولی لام تهیه شد و با استفاده از محلول ۳ درصد گیمسا در بافر PBS با PH برابر با ۶/۴،

Archive of SID
www.SID.ir

رنگ‌آمیزی لام‌ها انجام شد. شکست‌های کروموزومی و کروماتیدی با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ و طبق پروتکل استاندارد(۱۹)، شمارش شدند.

تابش پرتوهای گاما به سلول‌ها: دستگاه درمانی کبالت (تیراترون ^{c}۷۸۰، کبالت ۶۰) بیمارستان گلستان برای تابش پرتوهای گاما به سلول‌ها، مورد استفاده قرار گرفت. پرتوهای گاما، با آهنگ دوز ۸۱/۷ سانتی‌گری در هر دقیقه به سلول‌ها با دوزهای مختلف تابیده شدند، پس از تابش، بلافاصله سلول‌ها به آزمایشگاه منتقل و در انکوباتر C^{o} ۳۷ و فشار CO^{2} ۵ درصد قرار داده شدند.

یافته‌ها

نتایج این پروژه نشان داده است که مرگ سلولی وسیتوتوکسیسیتی ناشی از دوزهای مختلف پرتوهای گاما، به طور قابل توجهی تحت تأثیر لیکوپن است. اثر محافظت کنندگی لیکوپن بر کاهش مرگ سلولی ناشی از تابش پرتوهای گاما، در شکل ۱ نشان داده شده است. با افزایش دوز اشعهٔ گاما (۱، ۲ و ۴ گری) بقای سلولی کاهش یافته است و حداقل بقای سلولی پس از تابش دوز ۴ گری، مشاهده شده است. تیمار سلول‌ها با لیکوپن قبل از تابش پرتوها، نسبت بقای سلولی را افزایش داده است و سطح افزایش بقای سلولی با افزایش غلظت لیکوپن، بیشتر شده است. غلظت‌های مختلف لیکوپن ۲، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار، نسبت بقای سلولی را پس از تابش 1Gy، به مقدار قابل توجهی افزایش داده است. پس از تابش ۲ گری، غلظت‌های بالاتر لیکوپن (۱۰ و ۲۰ میکرومولار) سطح بقای سلولی را به حد نرمال افزایش داده است.

متعاقب تابش ۴ گری نیز نسبت بقای سلولی پس از تیمار سلول‌ها با لیکوپن، افزایش یافته است، بنابراین تیمار سلول‌ها با لیکوپن، قبل از تابش موجب حفاظت سلول‌ها در مقابل هر ۳ دوز اشعهٔ گاما شده است.

به منظور بررسی مکانیسم محافظت‌کنندگی لیکوپن، تأثیر آن بر آسیب‌های کروموزومی ناشی از تابش دوزهای مختلف اشعهٔ گاما (۱، ۲ و ۴ گری) را مورد بررسی قرار دادیم. در گروه‌های کنترل بدون تابش، تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۲، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار از لیکوپن، در تعداد آسیب‌های کروموزومی تغییری ایجاد نکرد و از این بابت شبیه سلول‌های طبیعی بوده است شکل ۲ (داده‌ها فقط برای غلظت ۲۰میکرومولار نشان داده شده است).

در گروه‌های سلولی تحت تابش اشعهٔ گاما، تعداد شکست‌های کروموزومی و کروماتیدی با اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل ($P< ۰/۰۰۰۱$)، افزایش یافته است و بر این موضوع دلالت دارد که آسیب‌های DNA، عامل اصلی مرگ و میر سلولی و کاهش نسبت بقاء است. تیمار سلول‌ها با لیکوپن قبل از تابش پرتوهای گاما موجب کاهش تعداد شکست‌های کروموزومی و کروماتیدی شده است. بیشترین کاهش تعداد شکست‌های کروموزومی و کروماتیدی، پس از افزودن لیکوپن با غلظت ۱۰ میکرومولار مشاهده است (شکل ۲A و ۲B). تمام این داده‌ها نشان‌دهندهٔ این مطلب است که لیکوپن اثر سیتوتوکسیسیتی و ژنوتوکسیسیتی پرتوهای یونیزان را کاهش می‌دهد و از سلول محافظت می‌کند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: گروه‌های سلولی مورد بررسی

Groups	treatment
1. normal control	No radiation, no lycopene
2. lycopene control	Normal fibroblast+ lycopene(20µM)
3. 1Gy	1Gy γ-irradiated fibroblasts
A. 1Gy+2µM	1Gy γ-irradiated + Lycopene (2µM) pretreated fibroblats
B. 1Gy+10µM	1Gy γ-irradiated+ lycopene(10µM) pretreated fibroblasts
C. 1Gy+20µM	1Gy γ-irradiated +lycopene (20µm) pretreated lycopene
4. 2Gy	
A. 2Gy+2µM	
B. 2Gy+10µM	
C. 2Gy+20µM	2Gy γ-irradiated fibroblasts
	2Gy γ-irradiated + Lycopene (2µM) pretreated fibroblats
5. 4Gy	
A. 4Gy+2µM	2Gy γ-irradiated+ lycopene(10µM) pretreated fibroblasts
B. 4Gy+ 10µM	
C. 4Gy+ 20µM	2Gy γ-irradiated +lycopene (20µm) pretreated lycopene
	4Gy γ-irradiated fibroblasts
	4Gy γ-irradiated + Lycopene (2µM) pretreated fibroblats
	41Gy γ-irradiated+ lycopene(10µM) pretreated fibroblasts
	4Gy γ-irradiated +lycopene (20µM) pretreated lycopene

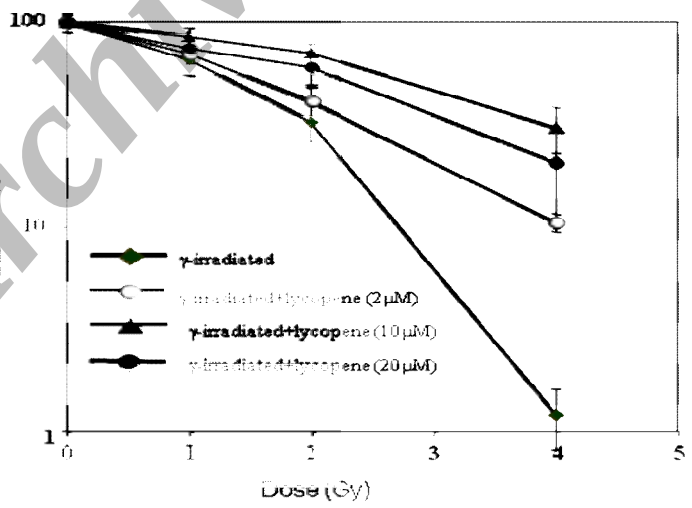

Fig.1

شکل ۱: تغییرات بقای سلولی در سلول‌های طبیعی، سلول‌های تحت تابش پرتوهای گاما و سلول‌های تحت تابش پرتوهای گاما و تیمار با لیکوپن. نسبت کولونی‌های باقی مانده پس از تابش پرتوهای گاما در مقایسه با گروه‌های کنترل و گروه‌هایی از سلول‌ها که قبل از تابش تحت تیمار لیکوپن قرار گرفته بودند. هرکدام از آزمایش‌ها سه بار تکرار شده است و انحراف معیار نشان داده شده و انحراف از میانگین به‌دست آمده، در سه نوبت آزمایش است.

Archive of SID
www.SID.ir

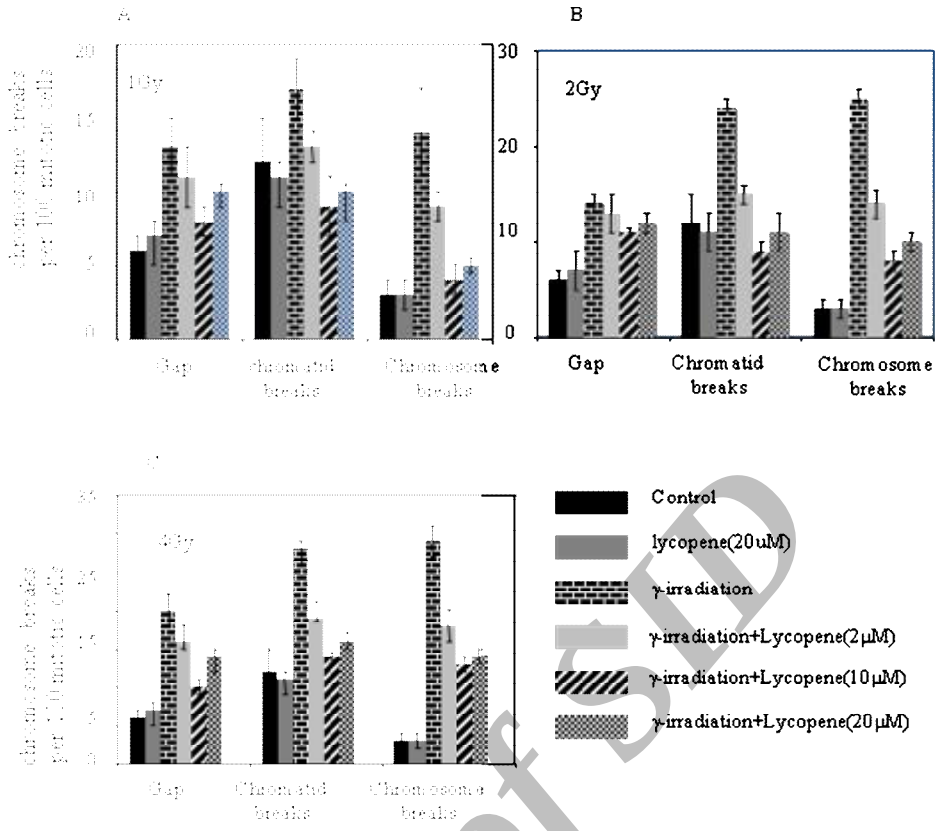

Fig. 2

شکل ۲: تغییرات در فراوانی شکست‌های کروموزومی و کروماتیدی در سلول‌ها قبل از تابش پرتوهای گاما، پس از تابش پرتوهای گاما به تنهایی و پس از تابش با پرتوهای گاما و تیمار با لیکوپن. داده‌های نشان داده شده در هیستوگرام نوع و فراوانی شکست‌های کروموزومی را در ۱۰۰ متافاز، در هر گروه نشان می‌دهد. هر آزمایش سه بار انجام شده است و انحراف معیار نشان داده شده با توجه به میانگین به‌دست آمده در سه نوبت آزمایش شده است.

بحث

در مطالعه‌های منتشر شده، گزارش شده است که پرتوهای گاما، از طریق تولید ترکیبات فعال اکسیژن (ROS)، موجب استرس اکسیداتیو می‌شوند و این افزایش ROS منجر به آسیب کروموزومی، موتاسیون ژنتیکی و مرگ سلولی می‌شود (۲۰). در این پژوهش مشاهده شده است که لیکوپن، سلول را در مقابل پرتوهای یونیزان از این آسیب‌ها محافظت می‌کند. این اثر محافظت‌کنندگی، ممکن است ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی لیکوپن و ممانعت از آثار تخریبی ROS باشد (۲۱). در مطالعه‌های قبلی مشاهده شده است که لیکوپن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌هایی مثل: SOD، CAT، GPX را در هپاتوسیت‌های موش پس از تابش پرتوهای یونیزان افزایش می‌دهد (۲۲). تعادل این آنزیم‌ها در هر سلول خاص و در کل بدن موجود زنده برای حداکثر محافظت در مقابل پرتوها، ضروری است. آتساهین گزارش کرده است که در موارد درمان موش‌های بزرگ (rat) با سیس‌پلاتین، تجویز لیکوپن قبل و پس از درمان، سیس‌پلاتین سطح آنزیم گلوتاتیون (GSH) را افزایش می‌دهد (۲۳). به‌علاوه، در بسیاری از در مطالعه‌های دیگر گزارش شده است که کاروتنوتیدهایی مانند لیکوپن و کاروتن، فراوانی آسیب‌های کروموزومی را در سلول‌های برخی از موجودات زنده کاهش می‌دهد

Archive of SID
www.SID.ir

(۲۴). به عنوان مثال، در مطالعه‌ای مشاهده شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی انسان موجب کاهش آسیب‌های کروموزومی می‌شود (۲۵). الهاشمی، در یک مطالعهٔ مشابه، اثر محافظت‌کنندگی عصارهٔ دانه‌های انگور را بر آسیب‌های کروموزومی در مغز استخوان موش، پس از تجویز جنتامایسین گزارش کرده است (۲۶). در مطالعهٔ دیگری مشاهده شد که مصرف مشتقات گوجه‌فرنگی، آسیب‌های اکسیداتیو DNA را در لنفوسیت‌ها کاهش داده است (۲۷). سیلوا، پیشنهاد کرده است که تجویز کارتنوئیدها قبل از درمان موش‌های بزرگ (rat) با سیس‌پلاتین، تعداد آسیب‌های کروموزومی را کاهش داده است(۲۸). در پژوهشی که توسط کاووس‌اگلو و یالسین انجام شد، اثر محافظت‌کنندگی لیکوپن بر آسیب‌های کروموزومی در لنفوسیت‌های خون محیطی گزارش شده است (۲۹) که با داده‌های به‌دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد، اگر چه غلظت مورد استفاده از لیکوپن در مطالعهٔ کاووس‌اگلو، کمتر از غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعه است، اما داده‌های این مطالعه با غلظت‌های مورد استفاده در مطالعهٔ سرینیواسان مطابقت دارد (۷). مقایسهٔ نتایج این مطالعه‌ها نشان می‌دهد که سیتوتوکسیسیتی و ژنوتوکسیسیتی ناشی از تأثیر پرتوهای یونیزان بر سلول‌های فیبروبلاست انسانی و اثر محافظت‌کنندگی لیکوپن در این مطالعه، با نتایج به‌دست آمده در مدل‌های بیوشیمیایی و بیولوژیکی دیگر مطابقت دارد. هر چند استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند یک اثر بازدارندگی برای کاهش آثار استرس اکسیداتیو ناشی از تابش پرتوهای یونیزان داشته باشد، اما سمّی بودن خود آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند خطراتی را برای بافت زنده به همراه داشته باشد. در این مطالعه، هر سه غلظت مورد استفاده از لیکوپن (۲، ۱۰و ۲۰ میکرومولار)، هیچگونه آسیبی در سلول ایجاد نکرده‌اند.

نتیجه‌گیری

از داده‌های این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که تیمار سلول‌ها و بافت زنده، قبل از تابش پرتوهای یونیزان با لیکوپن از مرگ سلولی و ناپایداری ژنتیکی جلوگیری می‌کند و لیکوپن این اثر محافظت‌کنندگی را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌ها و مواد آنتی‌اکسیدانی درون سلولی اعمال می‌کند، اگر چه ممکن است خود لیکوپن هم به طور مستقیم موجب خنثی کردن عوامل فعال اکسیدان شود. بنابراین، با بررسی‌های بیشتر، می‌توان امکان استفاده از لیکوپن را به عنوان یک محافظت‌کننده در بیماران پرتودرمانی، افراد پرتوکار و سایر موارد تابش‌گیری انسانی مدنظر قرار داد.

قدردانی

از زحمات خانم دهباشی، کارشناس مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی و پرسنل بخش رادیوتراپی بیمارستان گلستان اهواز که در اجرای کارهای آزمایشگاهی و تابش اشعهٔ گاما به سلول‌ها، نهایت همکاری را داشته‌اند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

1-Salvo N, Barnes E, Van Draanen J, Stacey E, Mitra G, Breen D, et al. Prophylaxis and management of acute radiation-induced skin reactions: A systematic review of the literature. Curroncol. 2010; 17: 94-112. [PMID: 20697521]
2-Pandey BN, Lathika KM, Mishra KP. Modification of radiation-induced oxidative damage in liposomal and microsomal membrane by eugenol. Radiat Phys Chem. 2006; 75: 384-91.
3-Jagetia GC, Reddy TK. Modulation of radiation-induced alteration in the antioxidant status of mice by naringin. Life Sci. 2005; 77(7): 780-94. [PMID: 15936352]
4-Mahoney BL, Meek K, Lees-Miller SP. Repair of ionizing radiation-induced DNA double strand breaks by non-homologus end-joining. Biochem J. 2009; 417(3): 639-50. [PMID: 19133841]

Archive of SID
www.SID.ir

5-Nair C, Parida D, Nomura T. Radioprotectors in radiotherapy. Journal of Radiation Research. 2001; 42: 21-37. [PMID: 11393887]
6-Delanty N, Dichter MA. Antioxidant therapy in neurologic disease. Arch Neurol. 2000; 57: 1265-70 [PMID: 109987892]
7-Srinivasana M, Ram SA, Raveendran PK, Raghu KP, Sudhakarand PR, Menon VP. Lycopene as a natural protector against γ-radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes in, vitro. Biochim Biophys Acta. 2007; 1770(4): 659-65. [PMID: 17189673]
8-Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007; 39: 44-84. [PMID: 16978905]
9-Yoshihara D, Fujiwara N, Suzuki K. Antioxidants: Benefits and risks for long-term health. Maturitas. 2010; 67(2): 103-7. [PMID: 20627629]
10-Holic CN, Giovannucci EL, Ronser B, Stampfer MJ, Michaud DS. Prospective study of intake of fruits, vegatables and carotenoids and the risk of adult glioma. Am J Nutr. 2007; 85(3): 864-77. [PMID= 17344512]
11-Rao AV, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. J Am Coll Nutr. 2000; 19: 563-69. [PMID: 9795972]
12-Boonsiri P, Poart J, Tangrassameeprasert R, Hongsprabhas P. Serum beta-carotene, lycopene and alpha-tocopherol levels of healthy people in northeast Thailand. Asia Pac J Clin Nutr. 2007; 16(1): 47-51. [PMID:17392076]
13-Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the united states. J Agric Food Chem. 2004; 52(12): 4026-37. [PMID: 15186133]
14-Arab L, Steck S. Lycopene and cardiovascular disease. Am J Clin Nutr. 2000; 71(6): S1691-5. [PMID:10837319]
15-Cohen LA. A reviw of animal model studies of tomato carotenoids, lycopene and cancer chemoprevention. Exp Biol Med. 2002; 227: 864-8. [PMID:12424327]
16-Yaping Z, Suping Q, Wenli Y, Zheng X, Hong S, Side Y, et al. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxyl radical CCl3O2. Food Chemistry. 2002; 77: 209-12.
17-Saberi A, Hochegger H, Szuts D, Lan L, Yasui A, Sale JE, et al. RAD18 and poly (ADP-ribose) polymerase independently suppress the access of nonhomologous end joining to double-strand breaks and facilitate homologous recombination-mediated repair. Mol Cell Biol. 2007; 27: 2562-71. [PMID: 17242200]
18-Dracopoli NC, Bruns GA, Brodeur GM, Landes GM, Matise TC, Seldin MF, et al. Report and abstracts of the First International Workshop on Human Chromosome 1 Mapping 1994. Bethesda, Maryland, March 25-27. Cytogenet Cell Genet. 1994; 67: 144-65. [PMID: 8062592]
19-Testard I, Ricoul M, Hoffschir F, Flury-Herard A, Dutrillaux B, Fedorenko B, et al. Radiation-induced chromosome damage in astronaut's lymphocyte. Int J Radiat Biol. 1996; 70(4): 403-11. [PMID: 8862451]
20-Halliwell B. Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker?. Free Radic Biol Med. 2002; 32: 968-74. [PMID: 12008112]
21-Rao A, Agarwal S. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. Nutr Cancer. 1998; 31. [PMID: 9795972]
22-Kumar KB, Kuttan R. Protective effect of an extract of Phyllanthus amarus against radiation-induced damage in mice. J Radiat Res. 2004; 45:133-9. [PMID: 15133301]
23-Atessahin A, Karahan I, Turk G, Gur S, Yilmaz S, Ceribasi AO. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. Reprod Toxicol. 2006; 21(1): 42-7. [PMID:15979841]
24-Aslanturk OS, Celic TA. Preventive Effect of Lycopene on Chromosome Aberrations in Allium cepa. Pak J Biol Sci. 2005; 8: 482-6.
25-Dusinská M, Kazimírová A, Barancoková M, Beno M, Smolková B, Horská A, et al. Nutritional supplementation with antioxidants decreases chromosomal damage in human. Mutagenesis. 2003; 18(4): 371-6. [PMID: 12840111]
26-EL-Ashmawy IM, El-Nahas AF, Salama OM. Grape seed extract prevents gentamicin-induced nephrotoxicity and genotoxicity in bone marrow cells of mice. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006; 99(3): 230-6. [PMID: 16930296]
27-Riso P, Pinder A, Santangelo A, Porrini M. Does tomato consumption effectively increase the resistance of lymphocyte DNA to oxidative damage?. Am J Clin Nutr. 1999; 69:712-8. [PMID: 10197573]
28-Silva CR, Antunes LM, Bianchi ML. Antioxidant action of bixin against cisplatin-induced chromosome aberrations and lipid peroxidation in rats. Pharmacol Res. 2001; 43: 561-60. [PMID: 11419966]
29-Cavusoglu K, Yalcin E. Radioprotective effect og lycopene on chromosome aberrations (CAs) induced by gamma radiation in human lymphocyte. J Environ Biol. 2009; 30(1): 113-7. [PMID: 20112872]

Archive of SID
www.SID.ir

Protective Effects of Lycopene on the γ-radiation Induced Chromosomal Damage and Cell Killing in Cultured Human Fibroblast Cells

Saberi AH[1*], Kowsari M[2]

1-Assistant Professor of Medical Genetic
2-M.Sc. of Medical Physics.

1-Department of Medical Genetic, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

**Corresponding author: Department of Medical Genetic, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.*
Tel: ++989161133488
Email: ahsaberi70@hotmail.com

Abstract

Background and Objectives: Lycopene is one of the most potent antioxidants. It is a red, fat soluble pigment found in certain plants and microorganisms. Several studies have demonstrated the ability of lycopene to protect the cells from ionizing radiation induced damage, however, the mechanisms involved are remained to be clear. In the present study, we investigated the radioprotective effect of lycopene on γ-radiation induced cytotoxicity and genotoxicity in human cultured fibroblasts.

Subjects and Methods: In irradiated groups fibroblast cells were irradiated with 1, 2 and 4Gy. In lycopene groups fibroblast cells were pretreated with different concentrations of lycopene (2, 10 and 20uM) then exposed to different doses of gamma radiation. The extent of cytotoxicity was determined by colony formation assay. The level of genotoxicity was detected by analysis of chromosmome breaks.

Results: Using colony formation assay, we observed the increase in cell killing with the increase in γ-radiation dose (1, 2 and 4Gy). Pre-treatment with lycopene (2, 10 and 20μM) restored the cell survival, suggesting that lycopene can protect the cells from killing by ionizing radiation. Similarly, lycopene significantly diminished the level of chromosome and chromatid breaks induced by gamma radiations. The maximum protection of fibroblast cells was observed at 10μM of lycopene pretreatment.

Conclusion: Data showed that pretreatment with lycopene reduced the level of cell killing and chromosomal breaks and this protecive activity was dependent on the concentration of lycopene. Our finding indicate that lycopene protects human cells from radiation-induced genomic instability, and can reduce the cancerogenic effect of ionizing radiation.
Sci Med J 2011;10(5):573-81

Keywords: lycopene/ chromosome breaks/chromatid breaks/ human fibroblast/ ionizing radiation/ colony survival assay

Received: Nov 18, 2009 **Revised: Aug 8, 2011** **Accepted: Sep 27, 2011**

Archive of SID
www.SID.ir