اثر آلیسین بر روی تکثیر سلول‌های سرطان سینه MCF-7 حساس به تاموکسیفن

پروانه رحیمی‌مقدم[1*]، هاجر هاشمی ستوبادی[2]، فاطمه قاضی نژادیان شوشتری[2]

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات سرطان و آسیب‌شناسی و گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
*آدرس مکاتبه: تهران، بزرگراه همت، جنب برج میلاد، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، طبقه همکف، گروه فارماکولوژی، تلفن: ۸۶۷۰۳۱۳۹ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۶۲۲۶۹۶ (۰۲۱)
پست الکترونیک: rahimi.p@iums.ac.ir، parrahmog@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲٤ تاریخ تصویب: ۹۳/٦/۲

چکیده

مقدمه: یک هشتم زنان در طول عمر خود مبتلا به سرطان سینه می‌شوند و در نتیجه سالیانه درحدود یک میلیون زن در دنیا سرطان سینه تشخیص داده خواهد شد. حدود ۷۰ درصد سرطان‌های سینه گیرنده استروژن آلفا (ER-α) مثبت می‌باشند. حضور گیرنده ER-α با پیش آگهی بهتر همراه است و معمولاً مشخص می‌کند که آیا سرطان به داروهای ضداستروژن از جمله تاموکسیفن پاسخ می‌دهد یا نه. با این وجود، تعداد قابل ملاحظه‌ای از سرطان‌های سینه ER-α مثبت به تاموکسیفن پاسخ کافی نمی‌دهند. علت مقاومت به تاموکسیفن در این گونه موارد و نحوه‌ی حساس کردن مجدد به تاموکسیفن هنوز معلوم نمی‌باشد. مطالعات اولیه نشان می‌دهد که سیر و مشتقات آن از جمله آلیسین در مواردی از بدخیمی‌ها اثر ضدسرطان دارد.

هدف: هدف این مطالعه این است که آیا آلیسین می‌تواند روی تکثیر سلول‌های MCF-7 حساس به تاموکسیفن اثری داشته باشد یا نه.

روش بررسی: برای بررسی این تئوری، اثر آلیسین بر سلول‌های حساس به تاموکسیفن (MCF-7) و مقاوم به تاموکسیفن (Sk-Br-3) در حضور و عدم حضور تاموکسیفن و ۱۷- بتا استرادیول مورد بررسی قرار گرفت. اثر تاموکسیفن، ۱۷- بتا استرادیول و آلیسین بر روی میزان زنده بودن سلول‌ها با استفاده از تست MTT در زمان‌های ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت بررسی شد.

نتایج: مطالعه حاضر نشان داد که در سلول‌های MCF - 7 آلیسین باعث تشدید اثر تاموکسیفن در حضور و عدم حضور ۱۷ بتا استرادیول شد.

نتیجه‌گیری: ممکن است آلیسین بتواند به عنوان مکمل تاموکسیفن در حساس کردن سلول‌های سرطان سینه به تاموکسیفن مؤثر باشد.

گل‌واژگان: آلیسین، تاموکسیفن، رده سلولی MCF-7، سرطان سینه، گیاه سیر

www.SID.ir

مقدمه

سرطان سینه یک بدخیمی شایع در زنان می‌باشد و بعد از سرطان ریه، دومین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان آمریکایی می‌باشد [۲، ۱]. بر طبق آمار انستیتو ملی سرطان آمریکا، از هر ۸ زن، یک زن گرفتار سرطان سینه می‌شود و این نشان می‌دهد که تقریباً تمامی خانواده‌های آمریکایی می‌توانند درگیر سرطان سینه شوند. شیوع جهانی سرطان سینه بخصوص در کشورهای با درآمد پایین در حال افزایش می‌باشد [۳]. در فاصله‌ی سال‌های ۱۹٦۵ تا ۲۰۰۰، شیوع سرطان سینه در میان زنان ایرانی بیشتر شده است [٤]. بر طبق آخرین آمار وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران، در سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰٦ شیوع سرطان سینه حدود ۲۱/٤ تا ۲٤/٤ درصد بوده که در واقع شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده و پنجمین علت مرگ ناشی از سرطان بوده است [۹ – ۵]. همچنین زنان ایرانی حداقل ۱۰ سال زودتر از زنان در کشورهای پیشرفته دچار سرطان سینه می‌شوند [۱۰]. حدود ٦۰ درصد موارد سرطان سینه تبدیل به موارد پیشرفته کشنده نمی‌شوند [۱۱]. علیرغم پیشرفت‌های زیاد در درمان سرطان سینه، بسیاری از بیماران با مقاومت دارویی روبرو می‌شوند که منجر به عود بیماری و مرگ بیش از ٤۰۰۰۰ مورد از سرطان سینه می‌شود. بر همین اساس، پیدا کردن داروهای جدید یک اولویت مهم در تحقیقات مربوط به سرطان سینه می‌باشد.

سرطان سینه از نظر بافت‌شناسی، تومورهای مشابه‌ای هستند ولی از نظر بالینی، تظاهرات متفاوتی دارند که منجر به پاسخ‌های مختلفی به درمان می‌شود. به نظر می‌رسد این اختلاف به علت تفاوت در ساختار مولکولی این تومورها باشد. بر همین اساس، سرطان سینه بر اساس الگوی بیان ژن به چهار گروه تقسیم می‌شود که شامل شبه اپی‌تلیال لومینال، شبه طبیعی، Her/neu مثبت (human epidermal growth factor receptor/Neural) و شبه اپی‌تلیال پایه می‌باشد [۱۵ – ۱۲]. روش‌های درمانی متفاوتی برای درمان سرطان پستان وجود دارد که شامل عمل جراحی، رادیوتراپی و شیمی درمانی می‌باشد. شیمی درمانی روشی برای درمان سرطان است که در آن از داروهای سیتوتوکسیک برای جلوگیری از گسترش سرطان، متوقف کردن آن و یا حتی کشتن سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. شیمی درمانی در سرطان پستان از جایگاه بسیار مهمی برخوردار است و استفاده صحیح از آن در مراحل اولیه و پیشرفته‌تر سرطان پستان می‌تواند موجب بهبود طول عمر بیماران و به تأخیر انداختن زمان عود بیماری شود. دو گروه عمده از داروهای شیمی درمانی به نام آنتراسیکلین‌ها (دوکسوروبیسین، اپیروبیسین) و تاکسان‌ها موجب بهبود بقاء بیماران شده‌اند. در درمان سرطان پستان در حالت متاستاتیک نیز داروهای مختلفی همچون تاکسان‌ها، جمسیتابین، وینورلبین و کاربوپلاتین کاربرد دارند که هر یک ویژگی‌ها و موارد استفاده خاص خود را دارا هستند [۱٦]. سرطان سینه شبه اپی‌تلیال لومینال اکثراً ER-α مثبت (دارای گیرنده استروزن آلفا) و Her/neu منفی هستند. این نوع سرطان‌ها که حدود ۸۵ درصد سرطان‌های سینه تشخیص داده شده را تشکیل می‌دهند، معمولاً تحت تأثیر استوژن داخلی (ترشح شده از غدد داخلی بدن) و یا خارجی (تجویز داروهای ضدحاملگی خوراکی و هورمون درمانی) می‌باشند [۱۷]. اکثر این سرطان‌ها با تاموکسیفن درمان شده‌اند به طوری که درمان ۵ ساله با تاموکسیفن، میزان سالانه سرطان سینه را به ۳۱ درصد کاهش داده است. متأسفانه مقاومت به تاموکسِفن و عوارض آن، درمان با این دارو را محدود نموده است. بنابراین ارائه داروهای جدید برای تقویت اثر تاموکسیفن و کاهش عوارض استروژنی آن در سرطان‌های وابسته به تاموکسیفن ضروری به نظر می‌رسد.

در سال‌های اخیر، درمان‌های مکمل در درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است [۱۸]. تعداد زیادی داروهای گیاهی در سلول‌های سرطانی در کشت سلولی و یا مدل‌های حیوانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از زمان‌های باستان سیر *Allium sativum* در سراسر دنیا برای اهداف پزشکی مورد استفاده بوده است. دو ترکیب عمده در سیر دست نخورده گاما گلوتامیل الیل سیستئین و الیل سیستئین سولفوکسید (آلئین alliin) می‌باشد. ترکیب عمده سیر له شده و عصاره سیر تیوسولفونات‌هایی مثل آلیسین می‌باشد که ناپایدار می‌باشد و به ترکیباتی مانند دی‌الیل دی‌سولفید، دی‌الیل سولفید، دی‌الیل تری‌سولفید و سولفور دی‌اکسید تبدیل می‌شود [۱۹].

www.SID.ir

پژوهش‌های بسیاری بر اثرات ضدمیکروبی، ضدانعقادی، ضدسرطانی، ضدپلاکتی و آنتی‌اکسیدانی سیر دلالت دارند. عصاره گیاه سیر و ترکیبات مشتق از سیر دارای خاصیت ضدتکثیری در سلول‌های سرطانی مختلف می‌باشند [۱۹]. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند در افرادی که سیر بیشتری مصرف می‌کنند، ریسک ابتلا به سرطان معده کاهش می‌یابد. بخش عمده اثرات دارویی سیر به ترکیبات ارگانوسولفور آن نسبت داده می‌شود. آلیسین (Allicin) یا دی‌آلیل تیوسولفونات شناخته شده‌ترین ترکیب ارگانوسولفور از نظر فعالیت بیولوژیک در عصاره تازه سیر می‌باشد. آلیسین در گیاه آسیب ندیده سیر وجود ندارد، بلکه متعاقب له کردن حبه‌های سیر و در اثر یک واکنش آنزیمی بین آنزیم آلیناز و اسید آمینه غیرپروتئینی آلئین که پیش ساز آلیسین است به وجود می‌آید [۲۰].

در مطالعات مربوط به بررسی اثر دارو بر روی سلول‌های سرطان سینه معمولاً سه رده سلولی مختلف که از نظر نوع گیرنده استروژنی (ER)، پروزسترونی (PR) و Her2 متفاوت هستند مورد استفاده قرار می‌گیرند. این سه رده عبارتند از: رده سلولی MDA-MB-231 که هر سه گیرنده در آن منفی هستند، رده سلولی MCF-7 که در آن گیرنده‌های ER و PR مثبت ولی Her2 منفی می‌باشد و رده سلولی SK-BR-3 که در آن گیرنده‌های ER و PR منفی ولی Her2 مثبت می‌باشد. سلول‌های MCF-7 به تاموکسیفن حساس هستند در حالی که دو رده سلولی دیگر مقاوم می‌باشند. در این مطالعه از سلول‌های MCF-7 به عنوان سلول‌های حساس به تاموکسیفن و از سلول‌های Sk-Br-3 به عنوان سلول‌های مقاوم به تاموکسیفن استفاده شده است [۲۱].

اخیراً پژوهش‌هایی برای یافتن موادی که بتوانند مقاومت اکتسابی سلول‌های سرطانی به تاموکسیفن را کاهش دهند صورت گرفته و موفقیت‌هایی در این زمینه به دست آمده است که نشان می‌دهند موادی وجود دارند که قادرند حساسیت سلول‌های سرطانی به تاموکسیفن را افزایش دهند [۲۳، ۲۲]. با توجه به نقش مهم تاموکسیفن در درمان سرطان پستان و همچنین اثرات شناخته شده ضدسرطانی آلیسین، بر آن شدیم اثر آلیسین بر روی سلول‌های MCF-7 و SK-BR-3 در حضور و عدم حضور تاموکسیفن و استروژن را بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

مواد: محیط کشت RPMI-1640 جهت کشت سلول‌های MCF-7 و محیط کشت DMEM جهت کشت سلول‌های Sk-Br-3 از شرکت سیگما (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) استفاده شد. سرم جنینی گوساله (FBS) از شرکت Hyclone Laboratories (Logan, UT, USA) تهیه شد. تاموکسیفن، ۱۷- بتا استرادیول و تمامی مواد شیمیایی دیگر از شرکت سیگما (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) تهیه شد. آلیسین از شرکت LKT Laboratories (St. Paul, MO, USA) تهیه شد.

کشت سلول‌ها: سلول‌های MCF-7 و Sk-Br-3 از بانک سلولی ایران (انستیتو پاستور، تهران، ایران) تهیه شد. سلول‌های MCF-7 در محیط کشت RPMI-1640 همراه ۵ درصد FBS و پنی‌سیلین در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 کشت داده شد [۲۱]. سلول‌های Sk-Br-3 در محیط کشت DMEM همراه ۱۰ درصد FBS و پنی‌سیلین در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ در صد CO_2 کشت داده شد [۲۱]. تاموکسیفن، ۱۷- بتا استرادیول و آلیسین در DMSO حل شدند. پس از آن که سلول‌ها ۷۰ درصد سطح فلاسک را اشغال نمودند، سلول‌ها به پلیت ۹۶ خانه منتقل شدند و سلول‌ها با غلظت‌های مختلف داروها و در زمان‌های لازم بر اساس طراحی مطالعه درمان شدند. ابتدا غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار تاموکسیفن و غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰ و ۵۰ آلیسین بر روی رشد سلول‌ها در سلول‌های MCF-7 و Sk-Br-3 بعد از ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. سپس اثر ۱ میکرومولار تاموکسیفن، ۱۰ میکرومولار آلیسین یا ۱۰ نانو مولار ۱۷- بتا- استرادیول به صورت تنهایی و یا ترکیبی بر روی سلول‌های MCF-7 در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفت.

Archive of SID
www.SID.ir

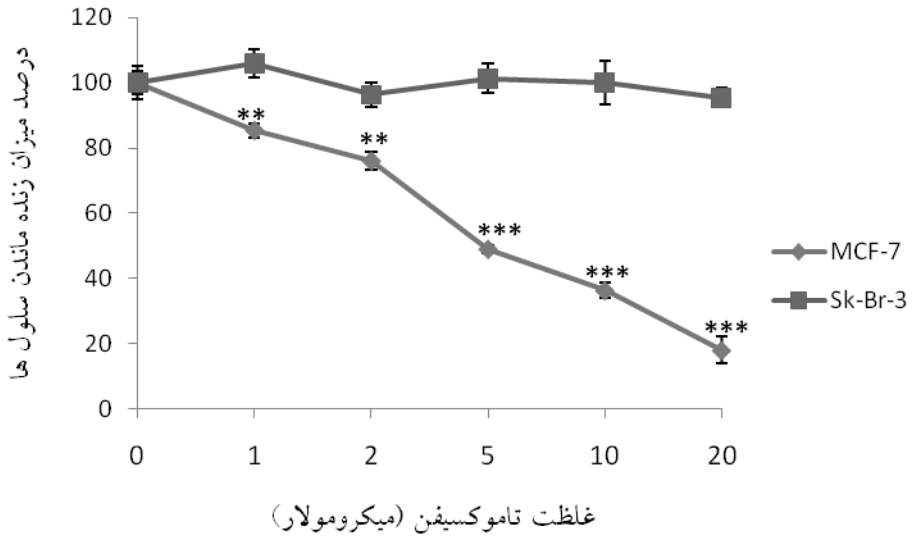
بررسی میزان زنده ماندن سلول‌ها به استفاده از روش MTT: روش MTT با استفاده از ماده رنگی تترازولیوم یک روش آزمایشگاهی مناسب بر اساس رنگ‌سنجی است که میزان حیات سلولی رامشخص می‌نماید. این آزمون بر اساس روش Mosmann انجام شد [۲٤]. محلول MTT (۵ mg/mL) در آب دیونیزه تهیه شد. ۲٤ ساعت بعد از شرایط درمانی لازم برای هر گروه از سلول‌ها، به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده MTT اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شدند. سپس باقیمانده محیط خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفو اکسید (DMSO) اضافه شد تا فورمازان حاصل حل شود. پس از ۱۰ دقیقه تکان دادن پلیت‌ها جذب نوری فورمازان در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از خوانشگر پلیت خوانده شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: اطلاعات گردآوری شده در چک لیست‌ها وارد نرم‌افزار آماری EXCEL شده و آنالیز شده است. شاخص‌های مرکزی میانگین و شاخص پراکندگی انحراف معیار نیز محاسبه شده است. از آزمون آماری Student T test و ANOVA جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد و نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شد و p value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

اثر تاموکسیفن بر روی رشد سلول‌ها در سلول‌های MCF-7 و Sk-Br-3: تاموکسیفن به صورت وابسته به دوز توانست تکثیر سلول‌های MCF-7 را نسبت به سلول‌هایی که درمان را نگرفته‌اند، مهار کند، در حالی‌که در سلول‌های Sk-Br-3، تاموکسیفن نتوانست تغییری در میزان تکثیر سلول‌ها دهد (شکل شماره ۱).

اثر آلیسین بر روی رشد سلول‌ها در سلول‌های MCF-7 و Sk-Br-3: آلیسین در غلظت‌های ۱ تا ۵۰ میکرومولار هیچ اثری روی رشد سلول‌های MCF-7 و Sk-Br-3 نداشت (شکل شماره ۲). ترکیب این دو دارو نیز اثری روی این سلول‌ها اعمال نکرد (داده‌ها نشان داده نشده است).



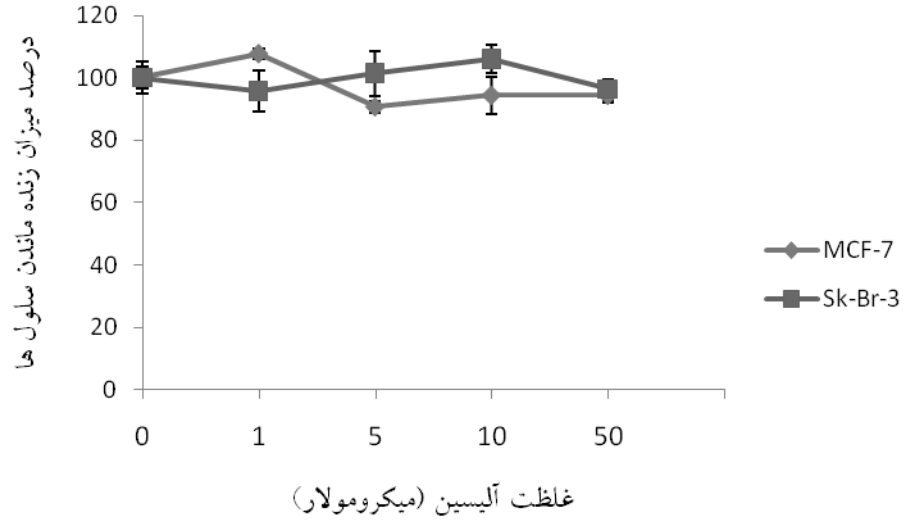
شکل شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف تاموکسیفن بر روی میزان زنده بودن سلول‌های MCF-7 و Sk-Br-3 بعد از ۷۲ ساعت.

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد (SE) از سه سری آزمایش می‌باشد.

****: p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن)**

*****: p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن)**

www.SID.ir



شکل شماره ۲- اثر غلظت‌های مختلف آلیسین بر روی میزان زنده بودن سلول‌های MCF-7 و Sk-Br-3 بعد از ۷۲ ساعت.
داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد (SE) از سه سری آزمایش می‌باشد.

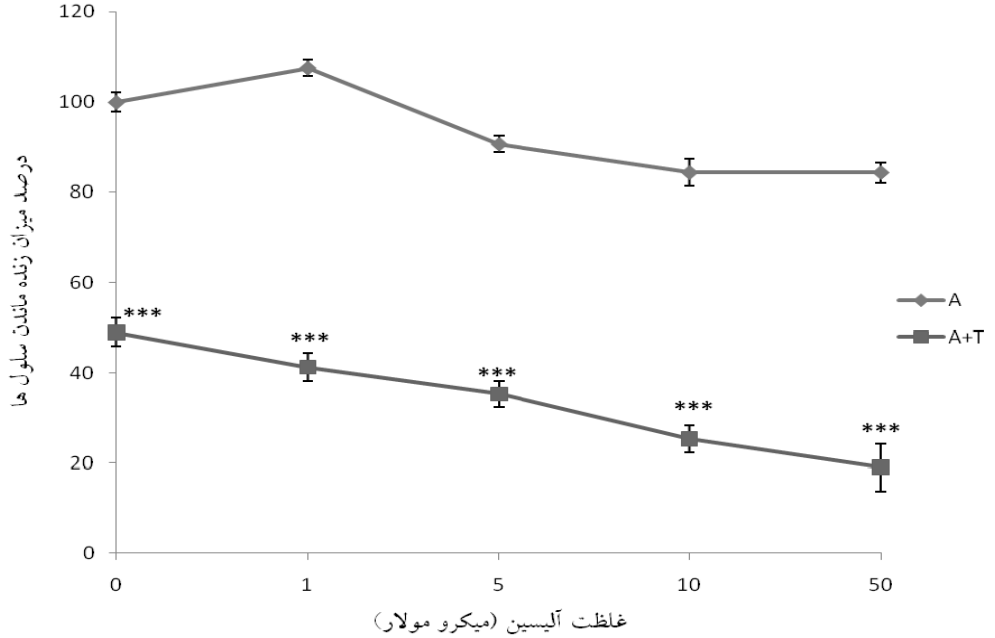
اثر آلیسین همراه تاموکسیفن بر روی رشد سلول‌ها در سلول‌های MCF-7: آلیسین در غلظت‌های ۱ تا ۵۰ میکرومولار توانست در حضور ۱ میکرومولار تاموکسیفن، به صورت وابسته به دوز رشد سلول‌های MCF-7 را مهار کند (شکل شماره ۳).

اثر تاموکسیفن و آلیسین بر رشد سلول‌های MCF-7 در حضور و عدم حضور استروژن: سلول‌های MCF-7 حساس به تاموکسیفن در محیط حاوی استروژن رشد قابل ملاحظه‌ای دارند و ثابت شده است که استروژن یک عامل میتوژن در این سلول‌ها می‌باشد و این عمل میتوژن با تاموکسیفن مهار می‌شود [۲۷ - ۲۵]. همچنین تاموکسیفن روی رشد ذاتی سلول‌های MCF-7 بدون حضور استروژن نیز اثر مهاری دارد [۲۶]. بنابراین در این مطالعه، اثر آلیسین روی اثر مهاری تاموکسیفن روی سلول‌های MCF-7 در حضور و عدم حضور استروژن مورد بررسی قرار گرفت. همان طوری که در شکل شماره ٤ نشان داده شده است ۱۰ نانومولار ۱۷- بتا - استرادیول به طور مشخص رشد سلول‌های MCF-7 را در مقایسه با گروه کنترل (عدم حضور استروژن) افزایش داد. تاموکسیفن به طور واضح رشد سلول‌های MCF-7 در حضور استروژن را کاهش داد درحالی که آلیسین به تنهایی هیچ اثری روی این سلول‌ها نداشت. ترکیب تاموکسیفن و آلیسین باعث تشدید اثر مهاری تاموکسیفن روی این سلول‌ها شد. تقویت اثر تاموکسیفن توسط آلیسین در عدم حضور استروژن نیز بارز بود (شکل شماره ۵). شکل شماره ٦ مقایسه اثر تاموکسیفن در حضور و عدم حضور ۱۷- بتا استرادیول در زمان ٤٨ ساعت می‌باشد. آلیسین به تنهایی هیچ اثر مهاری روی رشد سلول‌های MCF-7 نداشت ولی اثر مهاری تاموکسیفن را در حضور و عدم حضور ۱۷- بتا استرادیول تقویت کرد.

بحث

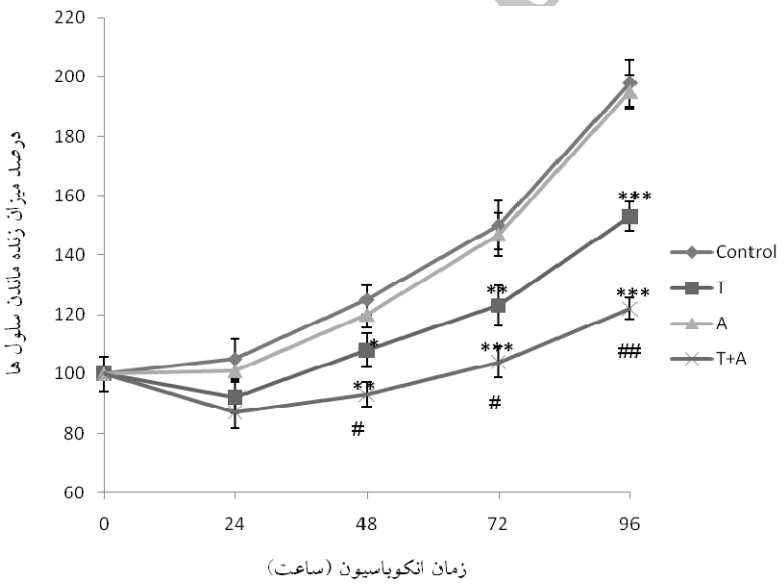
مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که آلیسین اثر مهاری روی رشد سلول‌های سرطان سینه MCF-7 ندارد ولی می‌تواند اثر مهاری تاموکسیفن را در حضور و عدم حضور ۱۷- بتا استرادیول تقویت کند. تاموکسیفن دارویی است که برای درمان سرطان سینه از طریق مداخله در اثر استروژن عمل می‌کند. استفاده اصلی این دارو در فاز اولیه و مراحل متاستاتیک سرطان سینه می‌باشد. همچنین تاموکسیفن به زنان در معرض خطر سرطان سینه، برای پیشگیری از بروز سرطان داده می‌شود [۳۰ - ۲۸]. اگر چه مکانیسم دقیق عملکرد تاموکسیفن در مهار رشد سلول‌های سرطانی سینه هنوز مشخص نمی‌باشد، ولی مطالعات اولیه نشان داده است که

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۳- اثر غلظت‌های مختلف آلیسین بر روی میزان زنده بودن سلول‌های MCF-7 به تنهایی (A) و در مجاور ۱ میکرو مولار تاموکسیفن (A+T) بعد از ۷۲ ساعت. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد (SE) از سه سری آزمایش می‌باشد.

*****: $p < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن)**



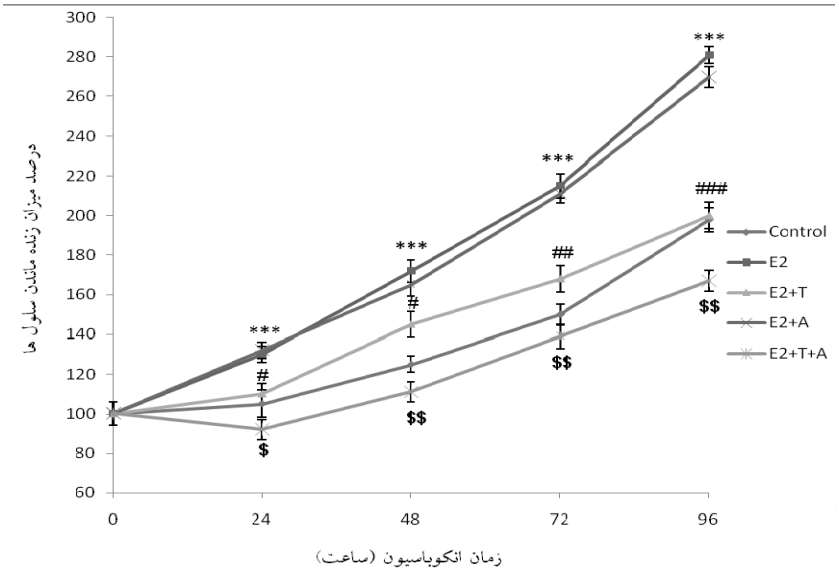
شکل شماره ٤- اثر ۱ میکرومولار تاموکسیفن (T) و ۱۰ میکرومولار آلیسین (A) بر روی میزان زنده بودن سلول‌های MCF-7 در زمان‌های مختلف. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد (SE) از سه سری آزمایش می‌باشد.

***: $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن و آلیسین)، **: $p < ۰/۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن و آلیسین)**

*****: $p < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن و آلیسین)، #: $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه تحت درمان با تاموکسیفن**

##: $p < ۰/۰۱$ در مقایسه با گروه تحت درمان با تاموکسیفن

www.SID.ir



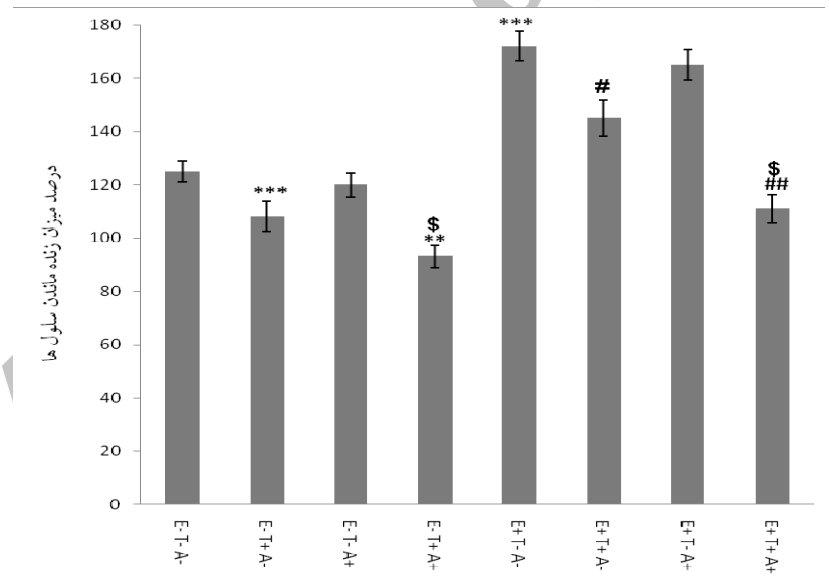
شکل شماره ۵- اثر ۱ میکرومولار تاموکسیفن (T) و ۱۰ میکرومولار آلیسین (A) بر روی میزان زنده بودن سلول‌های MCF-7 در حضور و عدم حضور ۱۰ نانومولار ۱۷ – بتا استرادیول (E_2) در زمان‌های مختلف.

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد (SE) از سه سری آزمایش می‌باشد.

*****: ۰/۰۰۱ > p در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن و آلیسین)، #: ۰/۰۵ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با ۱۷- بتا استرادیول**

##: ۰/۰۱ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با ۱۷- بتا استرادیول، ###: ۰/۰۰۱ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با ۱۷- بتا استرادیول

$: ۰/۰۵ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با ۱۷- بتا استرادیول و تاموکسیفن، $$: ۰/۰۱ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با ۱۷- بتا استرادیول و تاموکسیفن



شکل شماره ٦- اثر ترکیب‌های مختلف ۱ میکرومولار تاموکسیفن (T) و ۱۰ میکرومولار آلیسین (A) و ۱۰ نانومولار ۱۷ – بتا استرادیول (E_2) بر روی میزان زنده بودن سلول‌های MCF-7 در ۷۲ ساعت.

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد (SE) از سه سری آزمایش می‌باشد.

****: ۰/۰۵ > p در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن و آلیسین و استروژن)، ***: ۰/۰۱ > p در مقایسه با گروه کنترل (بدون تاموکسیفن و آلیسین و استروژن)**

#: ۰/۰۵ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با ۱۷- بتا استرادیول، ##: ۰/۰۱ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با ۱۷- بتا استرادیول

$: ۰/۰۵ > p در مقایسه با گروه تحت درمان با تاموکسیفن در حضور و عدم حضور۱۷- بتا استرادیول

گروه‌ها در محور افقی: درعدم حضور ۱۷ بتا استرادیول (-E)، در حضور ۱۷ بتا استرادیول (+E)، درعدم حضور تاموکسیفن (-T)، در حضور تاموکسیفن (+T)، در عدم حضور آلیسین (-A)، در حضور آلیسین (+A)

www.SID.ir

تاموکسیفن می‌تواند اثرات پرولیفراتیو استرادیول و بیان Bcl-2 در سلول‌های سرطان سینه دارای گیرنده استروژن را با مهار تداخل استرادیول و گیرنده آن اجرا کند [۳۱].

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ۱۷- بتا استرادیول می‌تواند تکثیر سلول‌های MCF-7 را تحریک کند و این اثر با تاموکسیفن مهار می‌شود. این نتیجه در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است [۳۲، ۳۱]. در مطالعه حاضر آلیسین به تنهایی اثری روی تحریک رشد سلول‌های MCF-7 توسط استرادیول نداشت ولی توانست همراه تاموکسیفن، باعث تقویت اثر مهاری تاموکسیفن روی رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 شود.

اگرچه تاموکسیفن یک داروی استاندارد برای درمان و جلوگیری از سرطان سینه با گیرنده استروژن مثبت می‌باشد [۳۳]، مقاومت به تاموکسیفن بسیار شایع است [۳۵، ۳٤] و درمان با دوزهای بالای دارو نیز عوارض شدیدی را برای بیماران ایجاد می‌کند [۲۸]. در نتیجه اقدام در جهت حساس‌سازی سلول‌های سرطانی سینه مقاوم به تاموکسیفن لازم به نظر می‌رسد. اضافه کردن یک داروی دیگر به تاموکسیفن برای افزایش اثر دارو و یا کاهش عوارض آن از راه‌های پیشنهادی در درمان سرطان می‌باشد. در این مطالعه نشان دادیم که آلیسین اگرچه به تنهایی اثری روی رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 نداشت ولی توانست اثر مهاری تاموکسیفن روی رشد این سلول‌ها را به طور مشخص افزایش دهد.

خواص ضدسرطان سیر و ترکیبات آن در کنترل سرطان‌های مختلف قبلاً گزارش شده است. در یک پژوهش انکوباسیون سلول‌های سرطانی سینه (MCF-7)، اندومتر (Ishikawa) و کولون (HT-29) با آلیسین به مدت ۳ - ۲ روز منجر به مهار شدید تکثیر این سلول‌ها به صورت وابسته به دوز شد [۳۷، ۳٦]. نکته جالب در این مطالعه آن است که آلیسین توانسته است به تنهایی باعث مهار رشد سلول‌های MCF-7 شده است درحالی‌که در مطالعه حاضر این اثر دیده نشد. علت این تفاوت، شاید اختلاف در روش اندازه‌گیری میزان زنده ماندن سلول‌ها باشد. در این مطالعه از تست MTT استفاده شده است در صورتی که در مطالعه هیرسچ (Hirsch) و همکاران [۳۷]، از روش میزان اتصال تیمیدین نشاندار با $[^3H]$ استفاده شده است. در پژوهش دیگری آلیسین با القای یک فاکتور مؤثر در چرخه سلولی موسوم به Nrf-2 موجب آپوپتوز رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی کولون شد [۳۸].

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این کار، آلیسین می‌تواند به عنوان داروی کمکی جهت افزایش اثر تاموکسیفن در درمان اکثر سرطان‌های پستان مورد استفاده قرار گیرد. عیب عمده این ماده قیمت بالا و تجزیه سریع آن می‌باشد. مطالعات بیشتر برای درک مکانیسم اثر و تثبیت خواص آلیسین مورد نیاز است تا بتوان آن را در درمان سرطان سینه به عنوان داروی مکمل استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

هزینه این پژوهش توسط مرکز تحقیقات سرطان و آسیب‌شناسی در معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ایران تحت طرح پژوهشی کد ۹۰-۰٤-۱۲-۱٦٤۸۲ تأمین شده است که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Crowe DR, Lampejo OT. Malignant tumor of the breast. In: Blackwell RE, Grotting JC (eds) Diagnosis and management of breast cancer. England, Blackwell Sciences 1996, pp: 103 - 34.

2. Bartow SA. The breast. In: Rubin E, Farber JL (eds) Pathology. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1999, pp: 1029 - 48.

3. Montazeri A, Vahdaninia M, Harirchi I, Harirchi AM, Sajadian A, Khaleghi F, Ebrahimi M, Haghighat S and Jarvandi S. Breast cancer in Iran: need for greater women awareness of warning signs and effective screening methods.

Archive of SID
www.SID.ir

Asia. Pac. Fam. Med. 2008; 7: 6.

4. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M and Ebrahimi M. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. *Breast J*. 2007; 13: 383 - 91.

5. Lamyian M, Hydarnia A, Ahmadi F, Faghihzadeh S and Aguilar-Vafaie ME. Barriers to and factors faciliating breast cancer screening among Iranian women: a qualitative study. *East. Medit. Health J*. 2007; 13: 1160 - 9.

6. Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N and Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. *Ann. Oncol*. 2009; 20: 556 - 63.

7. Babu GR, Samari G, Cohen SP, Mahapatra T, Wahbe RM, Mermash S and Galal OM. Breast cancer screening among females in Iran and recommendations for improved practice: a review. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2011; 12: 1647 - 55.

8. Noroozi A, Jomand T and Tahmasebi R. Determinants of breast self-examination performance among Iranian women: an application of the health belief model. *J. Canc. Educ*. 2011; 26: 365 - 74.

9. Taghavi A, Fazeli Z, Vahedi M, Baghestani AR, Pourhoseingholi A, Barzegar F and Pourhoseingholi MA. Increased trend of breast cancer mortality in Iran. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2012; 13: 367 - 70.

10. Harirchi I, Karbakhsh M, Kashefi A and Momtahen AJ. Breast cancer in Iran: results of a multi-center study. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2004; 5: 24 - 7.

11. Tavassoli FA. Pathology of breast. McGraw-Hill, New York, 1999.

12. Kok M, Linn SC. Gene expression profiles of the oestrogen receptor in breast cancer. *Netherlands J. Med*. 2010; 68: 291 - 302.

13. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, Hess KR, Stec J, Ayers M, Wagner P, Morandi P, Fan C, Rabiul I, Ross JS, Hortobagyi GN and Pusztai L. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin. Cancer Res*. 2005; 11: 5678 - 85.

14. Pechoux C, Gudjonsson T, Ronnov-Jessen L, Bissell MJ and Petersen OW. Human mammary luminal epithelial cells contain progenitors to myoepithelial cells. *Dev. Biol*. 1999; 206: 88 - 99.

15. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, Martiat P, Fox SB, Harris AL and Liu ET. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003; 100: 10393 - 8.

16. Yeo B, Turner NC and Jones A. An update on the medical management of breast cancer. *B.M.J.* 2014; 348.

17. Hilakivi-Clarke L, Cho E, Cabanes A, DeAssis S, Olivo S, Helferich W, Lippman ME, Clarke R. Dietary modulation of pregnancy estrogen levels and breast cancer risk among female rat offspring. *Clin. Cancer Res*. 2002; 8: 3601 - 10.

18. Mehta RG, Murillo G, Naithani R and Peng X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? *Pharm. Res*. 2010; 27: 950 - 61.

19. Amagase H. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *J. Nutr*. 2006; 136: 716S - 725S.

20. Arzanlou M and Bohlooli Sh. Introducing of green garlic plant as a new source of allicin. *Food Chem*. 2010; 120: 179 - 83.

21. Brian JP, Zakary LW and Seth JC. Dasatinib synergizes with both cytotoxic and signal transduction inhibitors in heterogeneous breast cancer cell lines: lessons for design of combination targeted therapy. *Cancer Lett*. 2012; 320: 104 - 10.

22. Banerjee S, Kambhampati S, Haque I and Banerjee SK. Pomegranate sensitizes Tamoxifen action in ER-α positive breast cancer cells. *J. Cell Commun. Signal*. 2011; 5: 317 - 24.

23. Guthrie N, Gapor A, Chambers A and Carroll K. Inhibition of Proliferation of Estrogen Receptor–Negative MDA-MB-435 and –Positive

Archive of SID
www.SID.ir

MCF-7 Human Breast Cancer Cells by Palm Oil Tocotrienols and Tamoxifen, Alone and in Combination1, 2. *J. Nutr.* 1997; 127: 544S - 8S.

24. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 1983; 65: 55 - 63.

25. Dickson RB, Thompson EW and Lippman ME. Hormones and breast cancer in vitro. *Hum. Cell* 1989; 2: 219 - 30.

26. Hayes DF and Robertson JF. Overview and concepts of endocrine therapy. In: Robertson JF, Nicholson RI, Hayes DF (eds) Endocrine therapy of breast cancer. Martin Dunitz Ltd, London, 2002, pp: 3 - 10.

27. Thompson EW, Martin MB, Saceda M, Clarke R, Brunner N, Lippman ME and Dickson RB. Regulation of breast cancer cells by hormones and growth factors: effects on proliferation and basement membrane invasiveness. *Horm. Res*. 1989; 32 (Suppl. 1): 242 - 9.

28. Ali S and Coombes RC. Estrogen receptor alpha in human breast cancer: occurrence and significance. J. Mammary Gland Biol. *Neoplasia* 2000; 5: 271 - 81.

29. Ali SH, O'Donnell AL, Balu D, Pohl MB, Seyler MJ, Mohamed S, Mousa S, Dandona P. Estrogen receptor-alpha in the inhibition of cancer growth and angiogenesis. *Cancer Res*. 2000; 60: 7094 - 8.

30. Nayfield SG. Tamoxifen's role in chemoprevention of breast cancer: an update. *J. Cell Biochem. Suppl* 1995; 22: 42 - 50.

31. Zhang GJ, Kimijima I, Onda M, Kanno M, Sato H, Watanabe T, Tsuchiya A, Abe R and Takenoshita S. Tamoxifen-induced apoptosis in breast cancer cells relates to down-regulation of bcl2, but not Bax and Bcl-X(L), without alteration of p53 protein levels. *Clin. Cancer Res*. 1999; 5: 2971 - 7.

32. Wang TT and Phang JM. Effects of estrogen on apoptotic pathways in human breast cancer cell line MCF-7. *Cancer Res*. 1995; 55: 2487 - 9.

33. Ao A, Morrison B, Wang H, Lopez J, Reynolds B and Lu J. Response of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Tumorspheres to Antiestrogen Treatments. *PLOS ONE* 2011; 6: e18810.

34. Dorssers LC, Van der Flier S, Brinkman A, van Agthoven T, Veldscholte J, Berns EM, Klijn JG, Beex LV and Foekens JA. Tamoxifen resistance in breast cancer: elucidating mechanisms. *Drugs* 2001; 61: 1721 - 33.

35. Kumar R, Zhang H, Holm C, Vadlamudi RK, Landberg G and Rayala SK. Extranuclear coactivator signaling confers insensitivity to tamoxifen. Clin. *Cancer Res*. 2009; 15: 4123 - 30.

36. Hirsch K, Danilenko M, Giat J, et Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, Mirelman D, Levy J and Sharoni Y. Effect of purified allicin, the major ingredient of freshly-crushed garlic on cancer cell proliferation. *Nutr. Cancer* 2000; 38: 245 - 54.

37. Pabbruwe MB, Stewart K and Chaudhuri JB. A comparison of colorimetric and DNA quantification assays for the assessment of meniscal fibrochondrocyte proliferation in microcarrier culture. *Biotechnol. Lett*. 2005; 27: 1451 - 5.

38. Bat-Chen W, Golan T, Peri I, Ludmer Z and Schwartz B. Allicin purified from fresh garlic cloves induces apoptosis in colon. *Nutr. Cancer* 2010; 62: 947 - 57.

Archive of SID

www.SID.ir