Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۷/هفته دوم مهر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۴

بررسی اثر سیتوتوکسیک کلرید کادمیم در رده‌ی سلولی MCF-۷ سرطان سینه

علی خجسته‌فر[۱]، دکتر مجتبی پنجه‌پور[۲]، دکتر محمود آقایی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کادمیم یکی از فلزات سنگین با کاربرد وسیع در صنعت و از آلاینده‌های مهم زیستی است که اثرات سیتوتوکسیک آن در رده‌های سلولی مختلف بررسی گردیده است. رده‌ی سلولی MCF-۷ یکی از رده‌های سلولی سرطان سینه است که اثرات کادمیم در آن بررسی نشده است. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات سیتوتوکسیک کلرید کادمیم، در رده‌ی سلولی MCF-۷ سرطان سینه بود.

روش‌ها: ابتدا سلول‌های رده‌ی MCF-۷ در محیط RPMI-۱۶۴۰ (Roswell Park Memorial Institute) در شرایط ۵ درصد CO_2 و دمای ۳۷ °c کشت داده شدند. سپس سلول‌ها به پلیت ۹۶ تایی منتقل و با غلظت‌های مختلف کلریدکادمیم (۰/۱-۱۰۰۰ µM) تیمار و به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. میزان درصد زنده ماندن سلول‌ها با روش MTT (Microculture tetrazolium test) بررسی و محاسبه گردید. همچنین مطالعات میکروسکوپی آپوپتوز با استفاده از رنگ‌آمیزی سلول‌های تیمار شده با کلرید کادمیم توسط رنگ فلورسانت Hoechst ۳۳۳۴۲ و مشاهده با میکروسکوپ فلورسانس انجام گرفت.

یافته‌ها: با افزایش غلظت کلرید کادمیم، میزان درصد سلول‌های زنده در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P < ۰/۰۵۰$)؛ به این ترتیب که کاهش درصد سلول‌های زنده از غلظت ۲۵ µM آغاز و در غلظت ۱۰۰۰ µM به حداکثر خود می‌رسد.

نتیجه‌گیری: کادمیم در غلظت بیشتر از ۲۵ µM دارای اثرات سیتوتوکسیک در رده‌ی سلولی MCF-۷ می‌باشد.

واژگان کلیدی: کلرید کادمیم، سرطان سینه، رده‌ی سلولی MCF-۷، سیتوتوکسیسیتی

ارجاع: خجسته‌فر علی، پنجه‌پور مجتبی، آقایی محمود. **بررسی اثر سیتوتوکسیک کلرید کادمیم در رده‌ی سلولی MCF-۷ سرطان سینه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۷): ؟؟

مقدمه

سرطان یک اصطلاح عمومی است که بیش از ۲۰۰ بیماری مختلف را شامل می‌شود و به کارسینوما، سارکوما و سرطان‌های خون تقسیم‌بندی می‌گردد. همه‌ی انواع سرطان رشد بدون کنترل و بی‌رویه دارند و ممکن است سلول‌های مبتلا به سرطان از راه خون و لنف به دیگر قسمت‌های بدن انتشار یابند. چنین سلول‌هایی بیش از حد تکثیر می‌یابند و تومورهای موضعی ایجاد می‌کنند که می‌تواند ساختمان‌های طبیعی مجاور را تحت فشار یا تهاجم قرار دهد. از دیگر خصوصیات چنین سلول‌هایی، رقابت با سلول‌های سالم از نظر تأمین انرژی است (۲-۱).

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۱۱۷۶ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی و مرکز تحقیقات بیوانفورماتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجتبی پنجه‌پور
Email: panjehpour@pharm.mui.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

سرطان پستان در اثر ایجاد بدخیمی در سلول‌های اپی‌تلیال مجاری و یا لوبول‌های پستان ایجاد می‌شود. این نوع سرطان به طور معمول وابسته به استروژن است و در زنانی که تخمدان آن‌ها غیر فعال است و استروژن جایگزین دریافت نکرده‌اند، کمتر ایجاد می‌شود (۲). این سرطان اغلب به وسیله‌ی بیوپسی ندولی که در ماموگرافی یا در لمس شناسایی شده است، تشخیص داده می‌شود. قبل از یائسگی، توده‌های کوچک باید در فاصله‌ی ۴-۳ هفته بعد دوباره معاینه شوند. همچنین ماموگرام‌های غربالگری که هر ۲ سال یک بار انجام می‌شوند، از ۵۰ سالگی آغاز می‌گردند که می‌تواند جان بسیاری از بیماران را نجات دهد (۳).

بهترین و اولین راه جلوگیری از سرطان پستان، تغییر سبک زندگی است که از میان آن‌ها فعالیت بدنی و تغذیه‌ی سالم با کنترل وزن سهمی بالقوه و اساسی در بروز سرطان پستان دارد. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که حدود ۴ ساعت فعالیت بدنی متوسط در طول یک هفته، خطر ابتلا به سرطان پستان را کاهش می‌دهد. رژیم غذایی و نوع تغذیه در بروز سرطان پستان نقش دارد. وجود فیبر در رژیم غذایی از باز جذب استروژن در روده و ابتلا به سرطان پستان جلوگیری می‌کند. همچنین مصرف ویتامین‌هایی که آنتی‌اکسیدان هستند، مانند ویتامین E و ویتامین C در پیشگیری از سرطان پستان مفید است (۴).

در درمان سرطان پستان، از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که رایج‌ترین این درمان‌ها شامل پرتو درمانی، هورمون درمانی، برداشتن تخمدان‌ها و شیمی درمانی است. در سال‌های اخیر از روش‌هایی مانند Monoclonal antibody، Photodynamic therapy و Angiogenesis inhibitors نیز در درمان سرطان بهره می‌برند.

وجود رابطه‌ی بین فلزات و سرطان به طور گسترده توسط انکولوژیست‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس تقسیم‌بندی Domingo، فلزات به چهار دسته تقسیم می‌شوند: دسته‌ی اول شامل فلزات با بیشترین سیتوتوکسیسیتی که به طور وسیع در محیط پراکنده‌اند (آرسنیک، کادمیم، جیوه، اورانیوم و سرب)، دسته‌ی دوم شامل عناصر کمیاب ضروری (کرم، کبالت، منگنز، سلنیوم و روی)، دسته‌ی سوم شامل فلزات با اهمیت بیولوژیکی (نیکل و انادیم) و دسته‌ی چهارم فلزات با اهمیت فارماکولوژیکی (آلومینیوم، گالیم و لیتیم). ترکیبات فلزی اگر از سطح فیزیولوژیک بدن تجاوز کنند، می‌توانند بسیار سمی باشند؛ چرا که بسیاری از این فلزات قادرند رادیکال‌های آزاد تولید کنند.

در بدن به طور معمول یک تعادل بین سیستم آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد وجود دارد. هنگامی که سطح گونه‌های فعال اکسیژن به حدی برسد که بتواند به قدرت کاهندگی سلول غالب شود، می‌تواند منجر به پراکسیداسیون چربی، تخلیه‌ی گروه‌های سولفیدریل، تغییر در مسیرهای هدایت سیگنال‌های سلولی، تغییر در هموستاز کلسیم و آسیب به DNA سلول شود که این امر می‌تواند منجر به پیری و سرطان شود. فلزات علاوه بر این که قادرند با تولید رادیکال‌های آزاد به DNA سلول آسیب برسانند، همچنین می‌توانند از ترمیم DNA جلوگیری کنند (۶-۵).

کادمیم فلزی سنگین است که به گروه II b جدول تناوبی تعلق دارد. این عنصر با عدد اتمی ۴۸ و وزن

www.SID.ir

Archive of SID

اتمی ۱۱۲/۴ به شکل کریستال‌های شش وجهی است. کادمیم به صورت خالص در طبیعت وجود ندارد و به طور عمده در سنگ‌های معدنی همراه با روی و سرب دیده می‌شود. یکی از مهم‌ترین منابع طبیعی کادمیم، توتون است (۷).

فعالیت‌هایی از قبیل سوزاندن منابع فسیل، سیگار کشیدن، یا ساخت باتری‌های نیکلی- کادمیمی از منابع مهمی هستند که سبب قرار گرفتن انسان در معرض این فلز می‌شوند. این فلز به خاطر نیمه عمر بیولوژیک طولانی (بین ۲۰-۱۵ سال)، باعث تجمع در بدن انسان می‌شود. کادمیم توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان در دسته‌ی I عوامل سرطان‌زا قرار گرفته است. مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده‌اند که کادمیم سبب ایجاد تومور در ریه، پروستات، کلیه و معده می‌شود. در خرگوش کادمیم می‌تواند سبب ایجاد تومور در پروستات و بیضه شود. مکانیسم‌های ایجاد سرطان توسط کادمیم به خوبی شناخته نشده‌اند. کادمیم همچنین یک عامل سیتوتوکسیک است و باعث آسیب وابسته به رادیکال‌های آزاد به DNA سلول در غلظت‌های mM ۱۰-۰/۱ می‌شود. این در حالی است که کادمیم در غلظت‌های کمتر به طور معمول باعث کاهش ترمیم و تکثیر در DNA می‌شود (۸).

واژه‌ی آپوپتوز (Apoptosis) ریشه‌ی یونانی دارد که به معنی افتادن برگ از درخت یا جدا شدن گلبرگ از گل می‌باشد. این تشابه معنایی بر این نکته تأکید دارد که مرگ ماده‌ی زنده یک بخش ضروری و جدا نشدنی از چرخه‌ی زندگی موجودات زنده می‌باشد. مرگ سلولی از نوع آپوپتوز، یک فرایند تعریف شده و فعال می‌باشد که یک نقش مهم را در تکامل موجودات پر سلولی و همچنین در تنظیم و حفظ تعداد سلول‌های بافت‌های موجودات پر سلولی در شرایط پاتولوژیک و فیزیولوژیک ایفا می‌کند (۹). فرایندهای آپوپتوتیک، اهمیت بیولوژیک گسترده‌ای دارند که شامل تکامل، تمایز، تکثیر/ هموستاز، تنظیم در عملکرد سیستم ایمنی و حذف سلول‌های ناقص و مضر می‌باشد (۱۰).

سلول‌های آپوپتوتیک توسط تغییرات مورفولوژیک شناخته می‌شوند. طی این تغییرات، سلول کوچک می‌شود، از شکل می‌افتد و تماسش را با سلول‌های مجاور از دست می‌دهد. کروماتین آن تجمع پیدا می‌کند و به غشای هسته مهاجرت می‌کند، غشای پلاسمایی برآمدگی‌هایی پیدا می‌کند و در نهایت، سلول به ساختارهایی با غشای بسته تجزیه می‌شود که اجسام آپوپتوز نامیده می‌شوند. با توجه به این که رده‌ی سلولی MCF-۷ به عنوان یک مدل شناخته شده برای مطالعات انسانی سرطان سینه می‌باشد و از آن جا که آپوپتوز ناشی از کلرید کادمیم در این رده بررسی نشده بود، بنابراین در این تحقیق به اثرات سیتوتوکسیک کلرید کادمیم در رده‌ی سلولی MCF-۷، پرداخته شد.

روش‌ها

کشت سلولی: رده‌ی سلولی مورد نیاز به صورت رشد داده شده در فلاسک‌های cm^2 ۲۵ از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از ضد عفونی کردن اطراف فلاسک با محلول بتادین- الکل، محیط کشت اضافی آن در زیر هود لامینار تخلیه شد و پس از بررسی در زیر میکروسکوپ از نظر تراکم سلولی، به انکوباتور co_2 با شرایط ۵ درصد co_2، ۹۵ درصد هوای مرطوب و دمای ۳۷ °c منتقل گردید. فلاسک‌ها

www.mui.ac.ir
www.SID.ir

Archive of SID

روزانه به وسیله‌ی میکروسکوپ از نظر رشد و تراکم سلولی، مورفولوژی سلولی و همچنین کنترل عدم آلودگی باکتریایی و قارچی مورد بررسی قرار گرفتند و محیط کشت فلاسک‌ها هر ۳-۲ روز یک بار تعویض شد. برای تعویض محیط کشت فلاسک‌ها زیر هود لامینار، محیط کشت کهنه به لوله‌های استریل منتقل و محیط کشت استریل جدید RPMI-۱۶۴۰ (Roswell Park Memorial Institute) که حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله، بافر بیکربنات، مجموعه‌ای از اسیدهای آمینه و ویتامین‌ها، ۱۰۰ U/ml پنی‌سیلین و ۱۰۰ mg/ml استرپتومایسین می‌باشد، به فلاسک‌ها اضافه می‌شد. فلاسک‌ها به انکوباتور CO_2 منتقل می‌شدند.

بررسی سیتوتوکسیسیتی با استفاده از روش MTT: (Microculture tetrazolium test) نمک زرد رنگ تترازولیم محلول در آب است که توسط سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری‌های سلول‌های زنده و فعال، احیا و به ترکیب رنگی فورمازان نامحلول تبدیل می‌شود. این رنگ با حلال آلی حل می‌شود و شدت رنگ در طول موج ۵۷۰ nm متناسب با میزان سلول‌های زنده است. برای ارزیابی سیتوتوکسیسیتی، سلول‌ها توسط تریپسین از کف فلاسک جدا شدند و پس از شمارش توسط لام نئوبار با دانسیته‌ی 5×10^3 cell/well، به پلیت‌های ۹۶ چاهکی انتقال و کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت که سلول‌ها به سطح پلیت چسبیدند و وارد مرحله‌ی رشد گردیدند، با غلظت‌های مختلف از کلرید کادمیم که در حلال PBS (Phosphate buffered saline) تهیه شده بودند، تیمار داده شدند.

پس از ۴۸ ساعت، محلول MTT (با غلظت نهایی ۰/۵ mg/ml در PBS) به محیط کشت اضافه شد و پلیت ۴ ساعت در دمای ۳۷ ^oC انکوبه گردید. سپس محیط کشت سلول با سرنگ و سوزن به دقت خارج و به هر چاهک، ۲۰۰ µl محلول DMSO (Dimethyl sulfoxide) اضافه و جذب محلول هر چاهک در مقابل شاهد، در طول موج ۵۷۰ nm توسط دستگاه الایزا ریدر Awareness مدل ۳۲۰۰ STAT FAX ساخت کشور آمریکا خوانده می‌شد (۱۱). نتایج بر حسب درصد سلول‌های زنده‌ی تیمار شده نسبت به شاهد، از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:

۱۰۰ × (میانگین جذب سلول‌های شاهد/ میانگین جذب سلول‌های تیمار) = درصد سلول‌های زنده (Viability)

بررسی مورفولوژی هسته‌ی سلول‌های آپوپتوزی با استفاده از رنگ‌آمیزی فلورسانس: رنگ فلورسانس Hoechst ۳۳۳۴۲ یک رنگ هسته دوست از گروه لیگاندهای متصل شونده به شیار کوچک DNA است و به دلیل خاصیت فلورسانس، در مطالعات میکروسکوپ فلورسنت جهت تشخیص مورفولوژی هسته‌ی سلول‌های آپوپتوزی (تراکم کروماتین و قطعه قطعه شدن آن) استفاده می‌شود. این رنگ فلورسانس، دارای Excition در طول موج ۳۵۰ nm و Emission در محدوده‌ی ۵۱۰-۵۴۰ nm می‌باشد.

در این روش، سلول‌ها پس از کشت داده شدن در پلیت‌های ۶ خانه با مقادیر مختلفی از کلرید کادمیم تیمار شدند. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در انکوباتور co_2 با شرایط co_2 ۵ درصد، ۹۵ درصد هوای مرطوب و دمای ۳۷ °C از استوک Hoechst (۱ mM) به نحوی اضافه گردید که غلظت نهایی آن

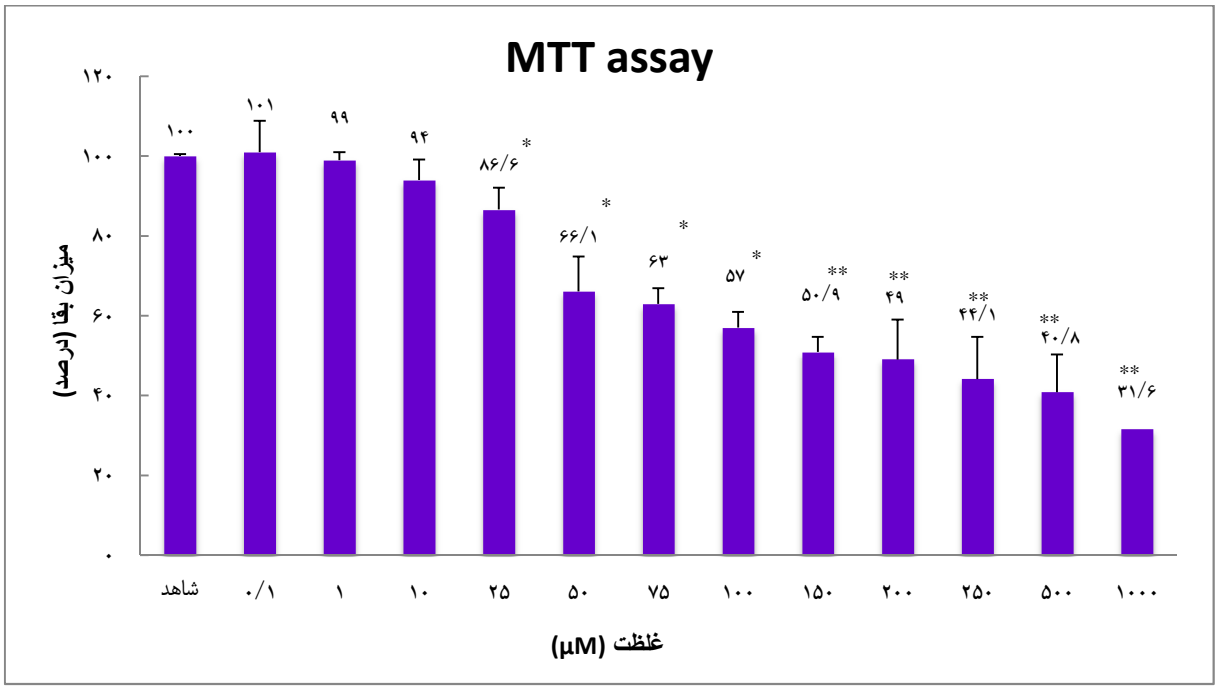
www.SID.ir

Archive of SID

در هر خانه‌ی پلیت، به ۱۰ µM رسید. در ادامه، سلول‌ها به مدت ۱ ساعت در انکوباتور ۳۷ °c قرار گرفتند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، سلول‌ها از انکوباتور خارج و پس از شستشو با PBS به طور مستقیم با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس مدل Olympus ساخت کشور ژاپن مورد بررسی قرار گرفتند (۱۲).

یافته‌ها

سلول‌ها پس از پاساژ در پلیت ۹۶ تایی، با غلظت‌های مختلف کلرید کادمیم (۱۰۰۰-۰/۱ µM) تیمار شدند. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، با روش MTT درصد سلول‌های زنده تعیین شد. نتایج بر اساس درصد بقای سلول‌ها نسبت به گروه شاهد (میزان بقا در گروه شاهد معادل ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد) و به صورت میانگین ± انحراف معیار ارایه شده است. نتایج، میانگین ۶ بار تکرار است. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت کلرید کادمیم از ۰/۱ µM به ۱۰۰۰ µM، پس از ۴۸ ساعت مجاورت، درصد سلول‌های MCF-۷ در مقایسه با سلول‌هایی که کلرید کادمیم دریافت نکرده‌اند، کاهش می‌یابد. به عبارت دیگر، روش MTT نشان داده است که سلول‌ها در رفتاری وابسته به دوز نسبت به کلرید کادمیم، دچار کاهش در فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری‌های خود می‌شوند که غلظت مؤثر کلرید کادمیم در ایجاد ۵۰ درصد اثر مهاری خود بر رشد (یا همان EC۵۰) برابر با ۱۰۰ µM است که با استفاده از نرم‌افزار Graphpad prism محاسبه شد.

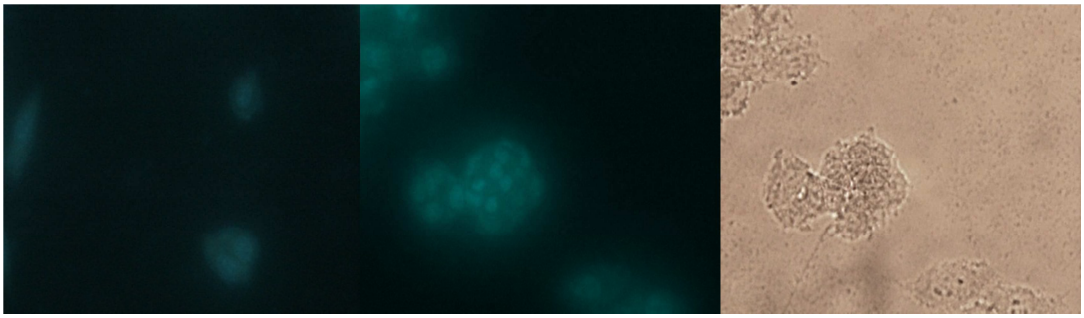


شکل ۱. نمودار MTT-assay (Microculture tetrazolium test)) تأثیر کلرید کادمیم در رشد رده‌ی سلولی MCF-۷ را نشان می‌دهد. نتایج بر اساس درصد بقای سلول‌ها نسبت به گروه شاهد و به صورت میانگین ± انحراف معیار ارایه شده است (میزان بقا در گروه شاهد معادل ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده است).

*** P < ۰/۰۵۰ در مقایسه با گروه شاهد؛ ** P < ۰/۰۱۰ در مقایسه با گروه شاهد**

www.mui.ac.ir
www.SID.ir

Archive of SID



C B A

شکل ۲. A: مشاهده‌ی سلول MCF-۷ آپوپتوتیک با میکروسکوپ نوری، B: مشاهده‌ی همان سلول با میکروسکوپ فلورسانس و C: مشاهده‌ی سلول MCF-۷ در نمونه‌ی شاهد منفی

همچنین جهت مطالعه‌ی مورفولوژیک سلول‌های MCF-۷ پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون با کلرید کادمیم ۱۰۰ Mμ و با استفاده از معرف Hoechst ۳۳۳۴۲، رنگ‌آمیزی فلورسانس در مورد آن‌ها انجام گرفت که وجود اجسام آپوپتوتیک (هسته‌ی قطعه قطعه شده و گرانوله شده) که بیانگر مرگ سلولی از نوع آپوپتوز می‌باشد، در آن‌ها مشاهده گردید. برخی مشاهدات در شکل ۲ آمده‌اند.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که کادمیم در غلظت بیشتر از ۲۵ μM دارای اثرات سیتوتوکسیک در رده‌ی سلولی MCF-۷ می‌باشد. به عبارت دیگر، نتایج نشان می‌دهد که سلول‌ها در رفتاری وابسته به دوز نسبت به کلرید کادمیم دچار کاهش در فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری‌های خود شده‌اند.

همچنین این مطالعه نشان می‌دهد که مرگ سلولی القا شده توسط کادمیم از نوع آپوپتوز است. فلزات سنگین با ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شوند. بنابراین در رده‌ی سلولی فوق، کادمیم ممکن است با ایجاد این استرس، سبب آغاز فرایند آپوپتوز شده باشد. با توجه به آن که این نتایج اطلاعات جدیدی را در مورد اثرات کادمیم در این رده‌ی سلولی سرطان سینه ارایه می‌دهد، از این رو می‌توانند در درمان و کنترل این سرطان با استفاده‌ی هدف‌دار از یک القا کننده‌ی استرس اکسیداتیو، مفید واقع گردد.

همچنین این نتایج می‌تواند در شناسایی کامل مسیر سیگنالینگ آپوپتوز، کمک کننده باشد که البته جهت درک کامل ارتباط بین استرس اکسیداتیو و فرایند آپوپتوز، به مطالعات بیشتر نیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات کارشناسان گروه بیوشیمی دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان سپاسگزاری می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Navarro Silvera SA, Rohan TE. Trace elements and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. Cancer Causes Control 2007; 18(1): 7-27.
2. Mao WP, Ye JL, Guan ZB, Zhao JM, Zhang C, Zhang NN, et al. Cadmium induces apoptosis in human embryonic kidney (HEK) 293 cells by caspase-dependent and -independent pathways acting on mitochondria. Toxicol In Vitro 2007; 21(3): 343-54.
3. Houssami N, Cuzick J, Dixon JM. The prevention, detection, and management of breast cancer. Med J Aust 2006; 184(5): 230-4.
4. Aguas F, Martins A, Gomes TP, de SM, Silva DP. Prophylaxis approach to a-symptomatic post-menopausal women: breast cancer. Maturitas 2005; 52(Suppl 1): S23-S31.
5. Desoize B. Metals and metal compounds in cancer treatment. Anticancer Res 2004; 24(3a): 1529-44.
6. Watjen W, Beyersmann D. Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: influence of oxidative stress. Biometals 2004; 17(1): 65-78.
7. Waisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. Toxicology 2003; 192(2-3): 95-117.
8. Alonso-Gonzalez C, Gonzalez A, Mazarrasa O, Guezmes A, Sanchez-Mateos S, Martinez-Campa C, et al. Melatonin prevents the estrogenic effects of sub-chronic administration of cadmium on mice mammary glands and uterus. J Pineal Res 2007; 42(4): 403-10.
9. Lawen A. Apoptosis-an introduction. Bioessays 2003; 25(9): 888-96.
10. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. Apoptosis in human disease: a new skin for the old ceremony? Biochem Biophys Res Commun 1999; 266(3): 699-717.
11. Shirali S, Aghaei M, Shabani M, Fathi M, Sohrabi M, Moeinifard M. Adenosine induces cell cycle arrest and apoptosis via cyclinD1/Cdk4 and Bcl-2/Bax pathways in human ovarian cancer cell line OVCAR-3. Tumour Biol 2013; 34(2): 1085-95.
12. Panjehpour M, Taher MA, Bayesteh M. The growth inhibitory effects of cadmium and copper on the MDA-MB468 human breast cancer cells. J Res Med Sci 2010; 15(5): 279-86.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Isfahan Medical School
Received: 07.07.2014
Vol. 32, No. 297, 2nd Week, October 2014
Accepted: 15.09.2014

Investigation of Cadmium Chloride Cytotoxic Effect in MCF-7 Breast Cancer Cell Line

Ali Khojastehfar[1], Mojtaba Panjehpour PhD[2], Mahmoud Aghaei PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Cadmium is a heavy metal widely used in industry and major environmental pollutants that cytotoxic effects in different cell lines were investigated. MCF-7 cell line is one of breast cancer cell lines which cadmium effects have not been studied it so far. The aim of the present study was to investigate the cytotoxic effects of cadmium chloride in MCF-7 breast cancer cell line.

Methods: First, the MCF-7cells were cultured in RPMI 1640 medium, at 37 ◦C in a 5% CO2 –95% air-humidified incubator. Then the cells were transfer red to96-well plate with various concentrations of cadmium chloride (0.1-1000Mμ) and treated for 48hours.Percentage of cell viability was measured by MTT method. Also, microscopic studies of cadmium chloride-treated cells apoptosis was performed using Hoechst 33342 fluorescent dye and observed by fluorescence microscopy.

Findings: With increasing cadmium chloride concentration decreased percentage of living cells compared to the control groups significantly ($P < 0.05$). Thus, the reduced viability starts in concentration of 25Mμandreaches to its maximum in concentrations of 1000Mμ.

Conclusion: The results of this study showed that cadmium have cytotoxic effects onMCF-7cell line in higher concentrations of 25Mμ. Also the study shows that cell death induced by cadmium is apoptosis that it has been verified using the techniques of MTT and apoptotic bodies observed by fluorescence microscopy.

Keywords: Cadmium chloride, Breast cancer, MCF-7, Cytotoxicity

Citation: Khojastehfar A, Panjehpour M, Aghaei M. **Investigation of Cadmium Chloride Cytotoxic Effect in MCF-7 Breast Cancer Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(297): ??.

* This paper is derived from a MSc thesis No. 391176 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences AND Bioinformatics Research center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mojtaba Panjehpour PhD, Email: panjehpour@pharm.mui.ac.ir

www.SID.ir