بررسی اثر فلونیکسین به عنوان مهار کننده ی غیر انتخابی آنزیم های سیکلواکسیژناز بر پیش گیری و درمان سرطان غدد پستانی در موش صحرایی ماده ی نژاد ویستار

کیوان کرامتی[۱]- محمدتقی قربانیان[۲]- وحیده سادات عباس‌نیا[۳] - نفیسه پذیره[۴]- حمیدرضا علیپور[۵]

چکیده:

زمینه و هدف: سرطان پستان یکی از شایع ترین سرطان های موجود در زنان و یکی از علت های اصلی مرگ و میر در میان آنان است. با توجه به نقش آنزیم‌های سیکلواکسیژناز (cox) و تولید پروستاگلاندین نوع E2 در ایجاد ضایعات توموری در غدد پستانی، به‌کارگیری ترکیباتی به عنوان مهارکنندهای Cox در ممانعت از ایجاد سرطان غدد مذکور می تواند مؤثر باشد. بنابراین، پژوهش حاضر به منظور ارزیابی نقش فلونیکسین به عنوان مهارکننده‌ی غیرانتخابی آنزیم سیکلواکسیژناز در بروز سرطان غدد پستانی بر روی موش‌های صحرایی نژاد ویستار انجام شد.

روش تحقیق: در این پژوهش مداخله ای، از موش های صحرایی ماده ی نژاد ویستار استفاده شد. گروه های آزمایشی، شامل گروه کنترل منفی (تحت تزریق سالین که به محل غدد پستانی روغن کنجد تزریق گردید)، گروه کنترل مثبت تحت تزریق سالین و گروه های مورد تزریق مقادیر مختلف فلونیکسین می‌باشند. برای هر گروه ۶ حیوان مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور القای سرطان از ترکیبی به نام 7,12- Dimethylbenz[a] anthracene استفاده شد، که مستقیماً به داخل غدد پستانی تزریق گردید. که به دنبال القای تومور توسط DMBA تمام نمونه‌های حیوانی از نظر بروز ضایعات سرطانی (قطر و وزن) در غدد پستانی و ظهور نشانه‌های درمانی مربوطه، مورد مطالعه و درجه بندی قرار گرفتند.

یافته ها: در این پژوهش، قطر و وزن تومور در گروه های دریافت کننده‌ی دارو به شدت کاهش یافت ($p\leq ۰/۰۵$) و برش های میکروسکوپی از بافت پستان نیز، یافته های ماکروسکوپی را تأیید نمودند.

نتیجه گیری: این تحقیق، تأثیر مثبت دارو در درمان و پیش گیری سرطان پستان را تأیید می‌کند، به طوری که برش های میکروسکوپی حاصل از بافت پستان در گروه های دریافت کننده‌ی دارو، نشان می دهند که سلول های سرطانی در حال تحلیل رفتن هستند، تا جایی که سلول ها مجدداً در حال به دست آوردن نظم طبیعی خود می باشند.

کلید واژه ها: سیکلواکسیژناز؛ سرطان پستان؛ فلونیکسین؛ رت

افق‌دانش؛ فصلنامه ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره ی 15؛ شماره ی 4؛ زمستان سال 1388)

دریافت: 1388/4/2 **اصلاح نهایی**: 1388/11/16 **پذیرش**: 1388/12/11

۱- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه علوم پایه دامغان

۳- **نویسنده ی مسؤول**؛ کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، عضو باشگاه پژوهشگران جوان

آدرس: دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی

تلفن: ۰۹۱۳۲۵۰۲۱۵۷ نمابر: ۰۳۵۳-۵۲۲۲۴۲۴ پست الکترونیکی: abbasnia.vahideh@yahoo.com

۴- کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، عضو باشگاه پژوهشگران جوان

۵- دانشجوی کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، عضو باشگاه پژوهشگران جوان

مقدمه

در حال حاضر سرطان یکی از علل عمده ی مرگ و میر در جهان می باشد که بر اثر عوامل مختلفی، مانند: مواد جهش زا و مواد شیمیایی سرطان زا در محیط به وجود می آید. بر طبق تحقیقات انجام شده ممکن است بیش از 75 درصد سرطان ها دارای منشاء محیطی باشند (1,2). البته آسیب های ژنتیکی، تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در توالی DNA، بروز جهش در ژن ها نقش بسزایی در سرطان‌زایی دارند (2).

سرطان پستان یکی از سرطان های شایع در بین زنان دنیاست و آمار جهانی نشان می دهد که شیوع این بیماری در حال افزایش است (3,4). متأسفانه این نوع سرطان در بین زنان ایرانی نیز در حال پیشرفت است (5). این بیماری شایع ترین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در میان انواع مختلف سرطان ها می باشد (6).

مطالعات مختلف نشان می دهند که سیکلواکسیژنازها در سرطان های مختلف انسانی، شامل سرطان های پروستات، کولون و پستان، افزایش می یابد (7).

سیکلواکسیژنازها آنزیم هایی هستند که تشکیل پروستاگلاندین ها، پروستاسیکلین ها و ترومبوکسان ها را کاتالیز می کنند و به سه شکل ایزومری COX-1، COX-2 و COX-3 وجود دارند (8).

آنزیم های COX یک عامل مهم در گسترش سرطان پستان هستند، که احتمالا به عنوان یک عامل اصلی، نظیر افزایش رشد و متاستاز، عمل می کنند (9). به طوری که سطح پروستاگلاندین E_2 در تومورهای بدخیم به بیش از 15 ng/g می رسد که نسبت به تومورهای خوش خیم و بافت پستان نرمال، میزان آن افزایش یافته است (10).

پژوهش های انجام شده نشان دادند که بیان $COX_{1,2}$ باعث افزایش تکثیر سلولی و هم چنین موجب کاهش آپوپتوزیس می شود، که در نتیجه، باعث رشد تومور می گردد (11-16). از طرف دیگر این پژوهش ها نشان دادند که پروستاگلاندین E2، کلید اصلی در رگ زایی تومور است (17-19) و باعث القای متالوپروتیناز[1] یا MMP2 و MMP 9 و اینتگرین $\alpha_2\beta_2$، که به صورت انتخابی، در سلول های اندوتلیال بیان شده و موجب افزایش میتوز در سلول های اندوتلیال هستند، می شود (20,21). در نتیجه، سیکلو اکسیژنازها موجب افزایش آنژیوژنزیسدر سلول های سرطانی می گردند.

به طور کلی، سیکلواکسیژنازها در همه ی مراحل تومورزایی بدخیم، نظیر افزایش تکثیر سلولی، کاهش آپوپتوزیس، رگ زایی و تحرک سلول های سرطانی نقش دارند (22). نظر بر این که مهارکننده های غیر انتخابی سیکلواکسیژناز و ترکیباتی تحت عنوان Celecoxib، که مهارکننده انتخابی COX_2 می باشند روی مهار و درمان سرطان پستان مؤثرند (23-27)، و از آنجایی که ترکیبات غیراستروئیدی ضد التهابی، مانند آسپرین، ایندومتاسین و ایبوپروفن به عنوان مهارکننده های غیر انتخابی سیکلواکسیژناز، عمل می‌کنند (28) و با توجه به این که فلونیکسین یک ترکیب غیر استروئیدی ضد التهابی است، می‌تواند به عنوان مهار کننده‌ی سیکلواکسیژناز عمل کند (29). در نتیجه، این پژوهش به منظور ارزیابی نقش Flunixin به عنوان مهارکننده‌ی غیرانتخابی آنزیم‌های سیکلواکسیژناز، برای اولین بار در دنیا، در بروز سرطان غدد پستانی، بر روی موش‌های صحرایی نژاد ویستار انجام گرفت. این ترکیب در مرکز ثبت اختراعات به ثبت رسیده است.

روش تحقیق

برای انجام این تحقیق از موش‌های صحرایی (Rat ماده ی نژاد ویستار) با میانگین وزنی200-180 گرم استفاده گردید. محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دارای دوره‌ی روشنایی و تاریکی 12 ساعته، دما 25-23 درجه ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 40 تا60 درصد بدون آلودگی صوتی بوده و تغذیه‌ی حیوانات به وسیله ی خوراک مخصوص موش (Plet) تولید شرکت سهامی خوراک دام و طیور پارس تهیه شد.

موش ها به صورت تصادفی به 4 گروه 6 تایی تقسیم شدند و پس از بیهوش نمودن حیوان در هر گروه با داروی بیهوشی کتامین (Ketamin: 30 mL/kg) و زایلزین (Xylazin: 2/5 mL/kg) بر اساس وزن حیوان به صورت داخل صفاقی تزریق گردید

1- Matrix Metalloprotinases (MMP)

(Ketamin: 30 mL/kg و 2/5 mL/kg). جهت دسترسی و تزریق راحت‌تر به بافت پستان در منطقه‌ی مورد نظر، برش L شکل صورت گرفت. پس از تزریق، منطقه‌ی برش‌خورده با استفاده از نخ بخیه با دقت بخیه گردید.

گروه اول به عنوان گروه کنترل منفی در نظر گرفته شدند و در محل پستان 0/1 میلی لیتر روغن کنجد تزریق گردید. این گروه به طور یک روز در میان مورد تزریق عضلانی سالین قرار گرفتند.

گروه دوم به عنوان گروه کنترل مثبت در نظر گرفته شدند و تومور توسط DMBA[1]، که از شرکت سیگما تهیه شده بود، در محل پستان صورت گرفت، ولی این دسته از حیوانات به طور یک روز در میان مورد تزریق عضلانی سالین واقع شدند.

گروه سوم یا گروه T_1؛ این گروه پس از القای تومور توسط DMBA به طور یک روز درمیان مورد تزریق عضلانی 0/5 میلی گرم فلونیکسین که در نیم سی سی سالین حل شده بود قرار گرفتند.

گروه چهارم T_2 این گروه پس از القای تومور توسط DMBA به طور یک روز در میان مورد تزریق عضلانی 1 میلی گرم فلونیکسین که در نیم سی سی سالین حل شده بود قرار گرفتند.

لازم به ذکر است که القای تومور در هر نمونه توسط هر 4 میلی گرم DMBA که در 0/1 میلی لیتر روغن کنجد حل شده، صورت گرفت (30). تزریق مستقیم DMBA به داخل بافت پستان در مطالعات گذشته انجام گرفته بود (30)، اما دوزهای تزریقی فلونیکسین و نحوه ی برش L شکل در مطالعه مقدماتی به دست آمد.

تزریق فلونیکسین با استفاده از سرنگ انسولین، به صورت عضلانی و با فاصله ی یک روز در میان، در گروه T_1 و T_2 انجام گردید. تزریق به صورت خیلی آهسته انجام شد تا حیوان متحمل درد زیادی نشود. از طرفی، از این ترکیب به عنوان یک داروی ضد درد در دامپزشکی استفاده می شود. بدیهی است این ترکیب موجب کاهش درد در موش های تحت درمان می شود و اولین روز تزریق هم زمان با روز القای تومور بود. در طول دوره‌ی 21 روز، وضعیت حیوانات هر روز بررسی می شد و در دهمین و بیستمین روز پس از القا قطر تومورها با کولیس اندازه گیری شد و گروه های مختلف با هم مقایسه گردیدند و در بیست و یکمین روز پس از القا، تومورها از بافت پستان حیوانات خارج شدند. توده ی استخراج شده از بدن حیوان با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/001 گرم وزن شده و پس از آن جهت پروسه ی فیکساسیون و در نهایت پاساژ بافتی، به محلول فرمالدهید 10% انتقال یافت. برش های میکروسکوپی تهیه و با هم مقایسه شدند. قابل ذکر است که کلیه مقاطع میکروسکوپیک توسط متخصصین مربوطه تهیه شده و جهت تشخیص به رؤیت پاتولوژیست رسیده است.

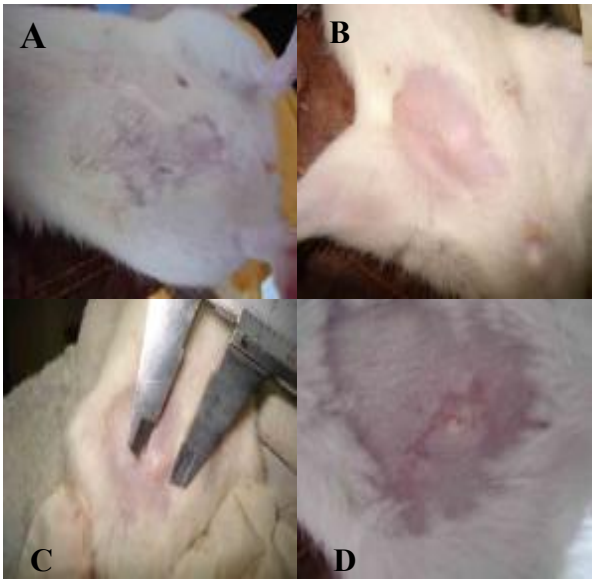
اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 و آنالیز واریانس یک طرفه و به کارگیری تست توکی مورد بررسی قرار گرفتند، که تمام آنالیزها با توجه به سطح معنی‌دار $p<0/05$ انجام گرفت. (میانگین و انحراف معیار به صورت X±SEM بیان گردید).

یافته ها

قبل از بررسی نتایج به دست آمده، تغییرات ظاهری و رفتاری در حیوانات مورد آزمایش کاملاً مشهود بود، به طوری که علایم ظاهری مثل بسته شدن پلک ها، قرمزی چشم و تورم عروق لاله ی گوش به خوبی قابل تشخیص، و از نظر رفتاری نیز تحرک آن ها کمتر شده بود، و تمایل بیشتری به خواب نشان می‌دادند. هم چنین، طبق ملامسه‌ای که پس از چهارمین روز القای تومور در محل پستان مورد تزریق DMBA انجام شد، تورم کاملاً مشخص بود و واکنش حیوان در برابر لمس نیز نشان دهنده ی درد در محل القا بود که با گذشت زمان، تورم و درد در گروه کنترل مثبت افزایش می یافت، و این در حالی بود که در گروه های مورد تزریق فلونیکسین شدت درد و میزان تورم کمتر بود، و با افزایش میزان دوز تزریقی، شدت درد و میزان تورم کمتر می‌شد. آنالیز آماری این بررسی ها در جدول ذیل مورد بررسی قرار گرفته است. بررسی قطر تومور در دهمین و بیستمین روز پس از القا صورت پذیرفت و اندازه گیری وزن تومور در بیست و یکمین روز پس از القا انجام گرفت.

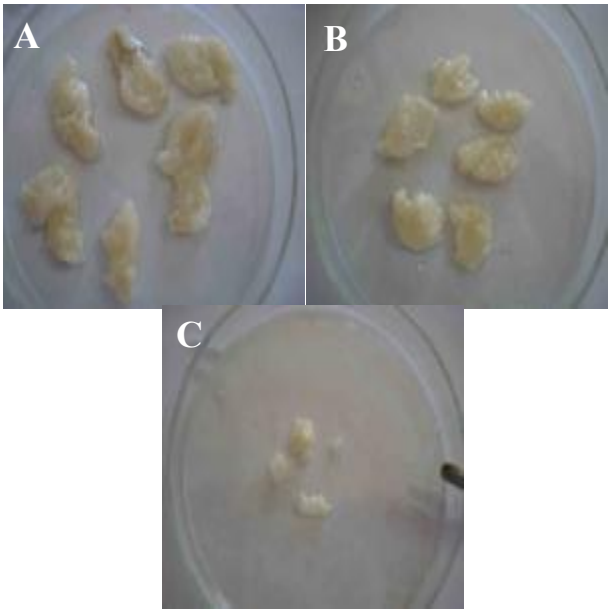
1- 7,12- Dimethylbenz[a] anthracene

نتیجه های آماری بررسی های ماکروسکوپی روی قطر تومور، نشان گر افزایش معنی داری در میانگین قطر تومور در دهمین روز پس از القای گروه کنترل مثبت، گروه T_1 و T_2 در مقایسه با گروه کنترل منفی ($p<0/05$) می باشد. از طرفی بررسی ها نشان گر کاهش معنی داری در میانگین قطر تومور در گروه T_2 در مقایسه با گروه کنترل مثبت است ($p<0/05$). البته کاهش در میانگین قطر تومور در مورد گروه T_1، در مقایسه با گروه کنترل، نیز مشاهده شد، اما این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود. هم چنین، کاهش در میانگین قطر تومور در مورد گروه T_2، که مورد تزریق 1 میلی گرم فلونیکسین واقع شده بودند در مقایسه با گروه T_1 مشهود است ولی این کاهش نیز از نظر آماری معنی دار نیست. افزایش معنی داری در میانگین قطر تومور در بیستمین روز پس از القا، در گروه کنترل مثبت و گروه های T_1 و T_2، در مقایسه با گروه کنترل منفی ($p<0/05$)، مشاهده شد. اما میانگین قطر تومور در این روز، در گروه T_2 و گروه T_1 نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معنی داری یافت ($p<0/05$). از طرفی قطر تومور در گروه T_2، در مقایسه با گروه T_1، کاهش معنی داری پیدا کرد (شکل 1).



شکل۱: مقایسه ی ماکروسکوپی قطر تومور در بیستمین روز پس از القا در گروه های مورد آزمایش
A: کنترل منفی (Oil+Salin)
B: کنترل مثبت (DMBA+Saline)
C: گروه T_1
D: گروه T_2

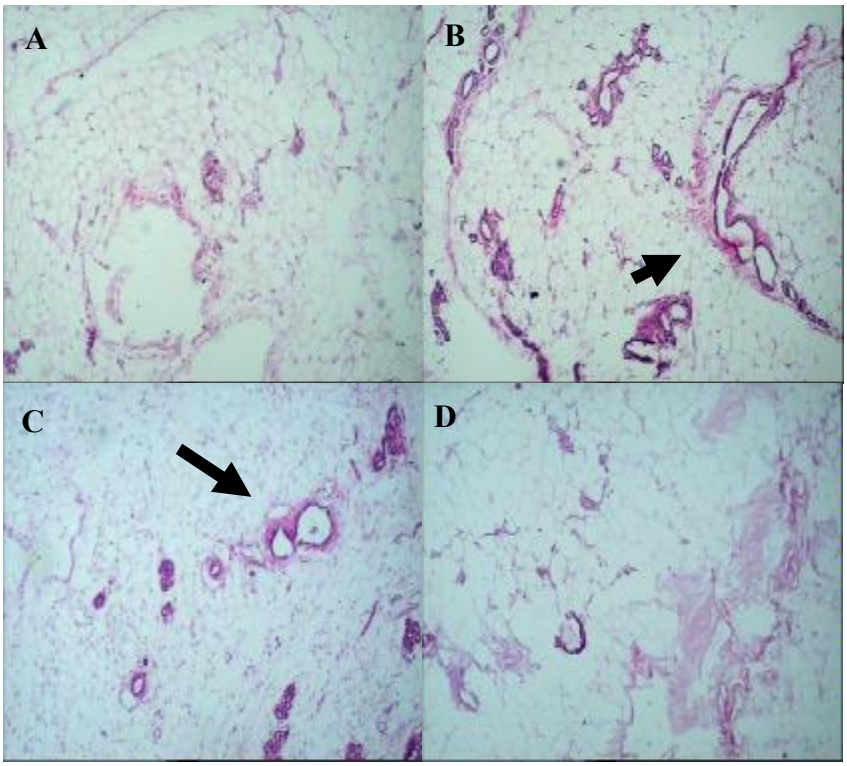
علاوه بر آن، نتایج آماری مرتبط با وزن تومور، نشان گر افزایش معنی داری در میانگین وزن تومور در بیست و یکمین روز پس از القا در گروه کنترل مثبت و T_1 در مقایسه با گروه کنترل منفی ($p<0/05$) می باشد ولی افزایش بسیار کمی از نظر وزن تومور درگروه T_2 نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده گردید که این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. هم چنین، وزن تومور کاهش معنی داری در گروه T_2 و گروه T_1، در مقایسه با گروه کنترل مثبت، پیدا کرد ($p<0/05$). علاوه بر آن، وزن تومور کاهش معنی داری در گروه T_2، در مقایسه با گروه T_1، پیدا کرده بود (شکل 2).



شکل۲: مشاهده ی تومورها پس از خارج شدن از بدن در بیست و یکمین روز پس از القا در گروه های مورد آزمایش
A: کنترل مثبت (DMBA+Saline)
B: گروه T_1
C: گروه T_2

بررسی های میکروسکوپی انجام شده در این پژوهش (شکل3)، یافته های کمّی حاصل را تأیید می کنند، چنان که در گروه کنترل مثبت، تهاجم گروه های سلولی بازوفیلی سرطانی به بافت چربی مشاهده می شود. از طرفی، بررسی های انجام شده، نشان دهنده ی رشد بدون نظم مجاری و غدد پستانی و دست اندازی غیر طبیعی مجاری پستانی، به بافت چربی بودند. این در حالی است که در گروه T_1 تهاجم گروه های تیره ی سرطانی، دست اندازی

غیر طبیعی مجاری پستانی به بافت چربی پستان نسبت به گروه کنترل مثبت، کمتر شده و نظم مجاری و غدد پستانی، افزایش می یابد. با این وجود نتایج قابل توجهی در بررسی های میکروسکوپی گروه T_2 به دست آمد، چرا که در این گروه برش های میکروسکوپی حاصل از بافت پستان نشان می دهد که سلول های سرطانی در حال تحلیل رفتن هستند، تا جایی که سلول ها مجدداً در حال به دست آوردن نظم طبیعی خود می باشند. تقریباً دست اندازی بافت غده‌ای به بافت چربی از بین رفته است (شکل3).



شکل3: نمای میکروسکوپی بافت پستان در گروه های مورد آزمایش (درشت نمایی 100 ×10)
A: کنترل منفی (Oil+Salin)، B: کنترل مثبت (DMBA+Saline)، C: گروه T_1 و D: گروه T_2
(فلش ها: تهاجم گروه های سلولی بازوفیلی سرطانی به بافت چربی را نشان می‌دهند)

جدول۱: مقایسه ی میانگین و انحراف معیار قطر تومور در روز دهم، بیستم و میانگین و انحراف معیار وزن تومور در روز بیست و یکم پس از القای تومور در گروه های مورد آزمایش

گروه های آزمایشی	قطر تومور در دهمین روز القا (mm)	قطر تومور در بیستمین روز القا (mm)	وزن تومور در بیست و یکمین روز القا (g)
Oil	۰	۰	۰
DMBA	۸/۷± ۰/۹۴	۹/۵±۰/۹۳	۰/۶۰۸± ۰/۰۳۹
T1	۶/۷± ۰/۶۹	۷/۹± ۰/۲۴	۰/۴۰۸± ۰/۰۱۱
T2	۴/۷± ۰/۶۷	۵/۰۴± ۰/۳۳	۰/۰۶۴± ۰/۰۱

بحث

با توجه به این که سرطان پستان شایع ترین علت مرگ و میر در میان زنان است (3,4)، مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی اثر فلونیکسین در مهار تومورهای سرطانی غدد پستانی در موش های بالغ رت نژاد ویستار انجام گرفت.

در موش های مورد مطالعه در پژوهش حاضر، بعد از تزریق ماده ی شیمیایی سرطان زای DMBA به محل غده ی پستانی، تومور غدد پستانی ظاهر شد. مواد شیمیایی سرطان زا از طریق مکانیسم های ژنتیکی، اثرات سرطان زایی خود را اعمال می کنند و از نظر ژنتیکی، اکثریت آن ها مستقیماً به محل خاصی در داخل مولکول DNA متصل گردیده و موجب موتاسیون در سلول های سوماتیک و سپس سبب بروز خطاهایی در فرآیند رونوشت برداری، تکثیر و تزاید ژن ها می گردند (31,32).

نتایج به دست آمده از مقایسه ی ماکروسکوپی قطر تومور در دهمین و بیستمین روز پس از القا در گروه های مورد آزمایش نشان می دهد هیچ گونه تورم و التهابی در گروه کنترل منفی ایجاد نشده و توده ی توموری دیده نشد. حال آن که، در گروه های مورد تزریق DMBA، قطر تومور نسبت به گروه کنترل منفی افزایش چشمگیری یافته است. این در صورتی است که در گروه T_2 و T_1 قطر تومور نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافت. با توجه به این که در گروه کنترل منفی هیچ گونه التهابی مشاهده نشد، لذا نمی‌توان گفت افزایش قطر تومور ناشی از التهاب پس از جراحی است. بنابراین، با کاهش شدید قطر تومور در گروه های درمانی و با توجه به این که شرایط آزمایشگاهی برای کلیه ی گروه ها ثابت بوده است، می توان به نقش فلونیکسین در کاهش رشد غدد سرطانی در نمونه های مورد آزمایش پی برد. از طرفی، با توجه به این که در نتایج حاصل از سنجش وزن تومور، بین گروه T_2 و گروه کنترل منفی اختلاف معنی داری وجود نداشت، نقش مثبت این ترکیب در کاهش رشد تومور آشکارتر می شود. علاوه بر آن با توجه به اینکه در این پژوهش دقت کافی به عمل آمده تا تنها تومورها از بدن نمونه خارج شوند، کاهش وزن تومورها می‌تواند اثبات کند که کاهش قطر تومور نتیجه ی کاهش التهاب نبوده است.

بررسی های میکروسکوپی انجام شده در این پژوهش (شکل3) یافته های کمّی حاصل را تأیید می کنند. هم چنین، با توجه به نتایج ماکروسکوپی و میکروسکوپی، نقش ترکیب شیمیایی فلونیکسن در پیش گیری و درمان سرطان موش های آزمایشگاهی آشکار می شود.

کاهش روند تشکیل تومور می تواند نشان دهنده‌ی اثر پیشگیری کننده‌ی فلونیکسین باشد، و از آن جایی که تومورهای تشکیل شده، در بیستمین روز پس از تزریق، یک روند رشد کاهشی را نشان دادند، می توان احتمال داد فلونیکسین در مهار رشد تومورها نیز نقش به سزایی را ایفا نموده است.

استفاده از ترکیب دارویی مورد استفاده در این پژوهش تا به حال در هیچ کدام از تحقیقات انجام شده روی سرطان گزارش نشده است و از آن جایی که ترکیب مورد نظر یک ترکیب غیر استروئیدی با خاصیت مهارکنندگی غیر انتخابی سیکلواکسیژناز است (29)، به بررسی مکانیسم های احتمالی این ترکیب، از طریق مهار سیکلواکسیژناز در کاهش قطر و وزن تومور می پردازیم. با توجه به اینکه آنزیم های سیکلواکسیژناز به عنوان یک عامل مهم، در گسترش سرطان پستان عمل می کنند و در هنگام ایجاد تومور غلظت این آنزیم ها افزایش می یابد (7)، احتمالاً مهار این آنزیم ها منجر به کاهش رشد تومور خواهد گردید.

یکی از عوامل مهمی که بر رشد و نمو تومورها تأثیر می گذارد، پشتیبانی عروقی تومور است (33). مطالعات فراوانی مبنی بر این که تومورها هیچ گاه نمی توانند بدون پشتیبانی عروقی رشد کنند وجود دارد (33). با توجه به این که مهارکننده های سیکلواکسیژناز، رگزایی یا آنژیوژنزیس را در سلول های توموری کاهش می دهد (34)، می‌توان احتمال داد ترکیب استفاده شده در پژوهش حاضر با مهار آنزیم های سیکلواکسیژناز موجب کاهش آنژیوژنزیس گردیده، و با توجه به نقش بالای آنژیوژنزیس در رشد تومور موجب کاهش رشد تومور سرطانی گردیده است.

هم چنین، مطالعات دیگر نشان می دهند که سیکلواکسیژنازها با افزایش EGF موجب افزایش تکثیر سلولی شده و باعث رشد تومور می‌گردند (15,16,34). بنابراین، شاید فلونیکسین با مهار غیر انتخابی سیکلواکسیژناز از طریق کاهش EGF موجب کاهش تکثیر سلولی و کاهش حجم تومور گردد.

مکانیسم دیگری که نقش سیکلواکسیژنازها را در رشد تومور توجیه می کند مربوط به نقش سیکلواکسیژنازها در ترشح آروماتاز است. سیکلواکسیژنازها از طریق تولید پروستاگلاتدین E2 منجر به افزایش آنزیمی به نام آروماتاز می گردند. این آنزیم که از آنزیم های موجود در سیتوکروم P450 است به نام CYP 19 نیز معروف است و قادر است آندروژن ها را به استروژن تبدیل کند. از آن جایی که استروژن موجب افزایش رشد تومور می گردد (35)، احتمالاً با مهار آروماتاز توسط مهارکننده های سیکلواکسیژناز میزان استروژن کاهش یافته و رشد تومور کمتر خواهد شد.

با توجه به این که سیکلواکسیژنازها موجب کاهش یا مهار آپوپتوزیس از طرق مختلف، نظیر غیرفعال شدن گیرنده های مرگ (TNF-R) (36) و افزایش بیان پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl2 توسط سیکلواکسیژنازها (13) می شوند و پژوهش‌های متعدد نشان می‌دهند که مهارکننده های سیکلواکسیژناز، آپوپتوزیس را در سلولهای سرطانی افزایش می دهند (14,15)، احتمالاً فلونیکسین با مهار سیکلواکسیژنازها موجب افزایش آپوپتوزیس در سلول های سرطانی می‌گردد. ماحصل این تجربیات در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که فلونیکسین، با مهار سیکلواکسیژنازها در نتیجه ی مهار آنژیوژنز، کاهش تکثیر سلولی، و افزایش آپوپتوزیس موجب کاهش رشد تومور می گردد.

نتیجه گیری

بررسی های میکروسکوپی و ماکروسکوپی نشان داد که فلونیکسین موجب کاهش وزن و قطر تومور و درمان سرطان پستان در موش های ماده‌ی صحرایی نژاد ویستار شده است. اما قطعاً نمی توان مدعی شد چه مکانیسمی موجب این تغییرات بیولوژیک خاص می‌گردد، چرا که عوامل بسیار متنوعی در نحوه ی تأثیرگذاری سیکلواکسیژنازها بر موجودات زنده دخیل می باشند. بنابراین، پیشنهاد می‌شود پژوهش های گسترده‌ی دیگری برای تعیین مکانیسم‌های مولکولی و چگونگی تأثیر ترکیب دارویی استفاده شده در این پژوهش بر مهار تومورهای سرطانی انجام گردد تا الگویی مشخص برای درمان بیماران سرطانی به دست آید.

تشکر و قدردانی

در پایان از کارکنان دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان جهت همکاری برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می گردد.

References:

1- Moller P, Wallin H, Knudesen LE. Oxidative stress associated psychological stress and life-style factor.Chem Bio Interact 1996; 102: 1-36.

2- Namiki M. Antioxidant /antimutagenes in foods.Crit Rev.food Sci Nutr 1990; 29: 273-300.

3- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin. 2005; 55(2): 74–108.

4- Wilson CM, Tobin S, Young RC. The exploding worldwide cancer burden: the impact of cancer on women. Int J Gynecol Cancer 2004; 14: 1–11.

5- Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Mousavi Jarrahi A, Harirchi I, Najafi M, Ebrahimi M. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. Breast J 2007; 13: 383–391.

6- Geertruida H de Bock, Catharina E Jacobi, Caroline Seynaeve A family history of breast cancer will not predict female early onset breast cancer in a population-based setting. BMC Cancer 2008; 8: 203.

7- Parrett ML, Harris RE, Joarder FS, Ross MS, Clausen KP, Robertson FM. Cyclooxygenase-2 gene expression in human breast cancer. Int J Oncol. 1997; 10: 503–507.

8- Whittle BJ. Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Fundam Clin Pharmacol 2003; 17: 301–313.

9- Teri L Larkins,[1] Marchele Nowell,[2] Shailesh Singh,,Inhibition of cyclooxygenase-2 decreases breast cancer cell motility, invasion and matrix metalloproteinase expression. BMC Cancer. 2006; 6: 181.

10- Fulton AM, Gimotty P, Alonsozana E, Dorsey R, Kundu N. Elevated prostaglandin E2 (PGE2) levels in human breast cancer are associated with poor long-term survival. Proc Am Assn Cancer Res. 2000; 41: 3660A.

11- Nzeako Ugochukw C, Guicciardi Maria Eugenia, Yoon Jung-Hwan, Bronk Steven F, Gores Gregory J, COX-2 inhibits fas-mediated apoptosis in cholangiocarcinoma cells, Hepatology, 2002; 35: 552-559.

12- Fan XM, Jiang XH, Gu Q, Ching YP, He H, Xia HH, Lin MC, Chan AO, Yuen MF, Kung HF, Wong BC. Benjamin Chun-Yu Wong, Inhibition of Akt/PKB by a COX-2 Inhibitor Induces Apoptosis in Gastric Cancer Cells, Digestion, 2006; 73: 75-83.

13- Shimizu D, Peters JH , Vallboehmer D, Kuramochi H, Uchida K. Cyclooxygenase-2 (COX-2) mediated anti-apoptosis may occur via Bcl-2 in the progression of Barrett's esophagus to adenocarcinoma. Journal of Clinical Oncology 2004; 22(14): 529-536.

14- Min Hu, Guillermo Peluffo, Haiyan Chen, Role of COX-2 in epithelial–stromal cell interactions and progression of ductal carcinoma in situ of the breast. Proc Natl Acad Sci. U S A 2009 106(9): 3372–3377.

15- Gee J, Lee IL, Jendiroba D, Fischer SM, Grossman HB, Sabichi AL. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors inhibit growth and induce apoptosis of bladder cancer. Oncol Rep 2006; 15: 471–477.

16- Sheng H, Shao J, Kirkland SC, Isakson P, Coffey RJ, Morrow J, Beauchamp RD, DuBois RN. Inhibition of human colon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2. J Clin Invest 1997; 99: 2254–2259.

17- Cheng T, Cao W, Wen R, Steinberg RH, LaVail MM. Prostaglandin E2 induces vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor mRNA expression in cultured rat Muller cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 1998; 39: 581–591.

18- Seno H, Oshima M, Ishikawa TO, Oshima H, Cyclooxygenase 2- and prostaglandin E(2) receptor EP(2)-dependent angiogenesis in Apc(Delta716) mouse intestinal polyps, Cancer Res 2002; 62:506–511.

19- Zhu YM, Azahri NS, Yu DC, Woll PJ. Effects of COX-2 inhibition on expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in lung cancer cells. BMC Cancer 2008; 8: 218.

20- Dormond O, Foletti A, Paroz C, Ruegg C. NSAIDs inhibit alpha V beta 3 integrin-mediated and Cdc42/Rac-dependent endothelial-cell spreading, migration and angiogenesis. Nat Med 2001; 7: 1041–1047.

21- Gately S. The contributions of cyclooxygenase-2 to tumor angiogenesis. Cancer Metastasis Rev. 2000; 19: 19–27.

22- Teri L Larkins, Marchele Nowell, Shailesh Singh, Gary L. Sanford, Inhibition of cyclooxygenase-2 decreases breast cancer cell motility, invasion and matrix metalloproteinase expression. BMC Cancer. 2006; 6: 181.

23- Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, Lee R, Holland JF, Levine AC. Inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses angiogenesis and the growth of prostate cancer in vivo. J Urol 2000; 164: 820–825.

24- Harris RE, Alshafie GA, bou-Issa H, Seibert K. Chemoprevention of breast cancer in rats by celecoxib, a cyclooxygenase 2 inhibitor. Cancer Res 2000; 60: 2101–2103.

25- Basu GD, Pathangey LB, Tinder TL, Gendler SJ, Mukherjee P. Mechanisms underlying the growth inhibitory effects of the cyclo-oxygenase-2 inhibitor celecoxib in human breast cancer cells. Breast Cancer Res 2005; **7**: R422–R435.

26- Lanza-Jacoby S, Miller S, Flynn J, Gallatig K, Daskalakis C, Masferrer JL, Zweifel BS, Sembhi H, Russo IH. The cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, prevents the development of mammary tumors in Her-2/neu mice. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003; 12: 1486–1491.

27- Alshafie G, Abou-Issa HM, Seibert K, Harris RE. Chemotherapeutic evaluation of celecoxib, a cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor, in a rat mammary tumor model. Proc Am Assn Cancer Res 2000; 41: 3144A

28- Meagher EA. Balancing gastroprotection and cardioprotection with selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors: clinical implications. Drug Saf 2003; 26: 913–924.

29- Flunixin. Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/Flunixin

30- Takafumi, Kohuma, Susuma, Terada. Effects of dehydrepianresteron and other sex steroid hormones on mammary carcinogenesis by direct inject 7, 12-dimethylbenz(a)ntheracene(DMBA) in hyperoprolactinemitic female rat. Breast cancer research and treatment 1997, 43: 105-111.

31- Kelsey JL and Gammon MD, Epidemiology of breast cancer, Epidemiol rev 1990; 12(7): 228-240.

32- Liu JZ, Milner JA. Age dietary selenium and quantity of 7, 12-dimethylbenz[a] anthracene influence the invivo occurrence of rat mammary DNA adducts. J Nutr 1992; 122(7): 381-386.

33- Robbins K, Fausto M, Gheytasvand M, Javadi rad A. Robbins Basic pathology. Translated by M.Kanani. 8th ed. 2007; 316-320.

34- Barnes N. J, N. L. P. Bundred, COX-2 inhibitors in breast cancer, Breast Cancer Online. 2005; 8(10): 1-5.

35- Diaz-Cruz ES, Shapiro CL, Brueggemeier RW, Cyclooxygenase inhibitors suppress aromatase expression and activity in breast cancer cells.. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90(5): 2563-70.

36- Michael A, Anke M. Haugg**,** Cyclooxygenase-2 Inhibition Induces Apoptosis Signaling via Death Receptors and Mitochondria in Hepatocellular Carcinoma. Cancer Research 2006; 66: 7059-7066.

Effect of Flunixin as a Cox Inhibitor on Prevention and Cure of Breast Cancer in Female Wistar Rat

Kayvan Keramatee[1], Mohammad Taghi Ghorbanian[2], Vahideh Sadat Abbasnia[3], Nafiseh Pazireh[4], and Hamidreza Alipour[5]

Abstract

Background & Aim: Breast cancer is one of the female's general cancers and one reason of mortality among them. Regarding the Cyclooxygenase role (COX) and the production of prostaglandinE2 in causing tumor damages in mammary glands, it can be effective to apply components as COX inhibitor to prevent gland cancer. Thus, the present study was carried out to evaluate flunixin as unselected Cyclooxygenase inhibitor enzymes to reveal mammary gland cancer in female Wistar rat.

Materials & Methods: The research was conducted to evaluate the role of flunixin as selective preventative of cyclooxygenase in the emergence of breast glands cancer in mice (Wistar race). The experiment groups included a negative control group (for which salin was injected on the breast glands with sesame oil) and a positive control group (to which we injected different values of flunixin). The sample included six rats. In order to inoculate the cancer, we used a compound called DMBA. This compound was injected into the breast glands directly. Then, the entire animal breast was studied in respect to the appearance of cancer damages (weight and diameter) in breast glands and the appearance of clinical symptoms. At the end of the research, we analyzed autopsy findings and microscopy sections of tumor damages in the samples of all groups.

Results: In this study, tumor's weight and thickness decreased in medicine receiving groups, ($p \leq 0.05$), and microscopic slice of mammary tissue confirmed the microscopic findings.

Conclusion: This study confirms the positive effect of the drug in treating and preventing the mammary cancer in such a way that the microscopically slices provided from breast tissues in the experimental groups (drug receiving groups) indicate that cell cancers are decreasing so that the cells tend to gain their own normal order again.

Keywords: Cyclooxygenase, breast cancer, flunixin, rat

Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2010; Vol. 16, No. 1

[1]- Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
[2]- Assistant Professor, Department of Biology, Basic Sciences College, Damghan, Iran
[3]- **Corresponding Author:** MSc., in Physiology, Department of Biology Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran. **Tel:** +913 250 2157 **Fax:** +98 353 5222424 **E-mail:** abbasnia.vahideh@yahoo.com
[4] -MSc. in Physiology, Department of Biology, Islamic Azad University, Sciences and Research Branch, Tehran, Iran
[5]- MA Student in Physiology, Department of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran