

اثر رژیم غذایی حاوی گامالینولینیک اسید و دوکوزاهگز انوئیک اسید همراه با پاکلی تاکسل در درمان تومور پستان موش

چکیده

کامران رخشان^۱، جواد نصراللهزاده^۲
سیدمحمدحسین نوری موگهی^۳
شبنم بابازاده^۴
حمیدرضا صادقی پور رودسری^{۱*}

- ۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
- ۲- گروه تغذیه بالینی و رژیم درمانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۳- گروه بافت شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
- ۴- گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی
تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۱۹۴۸۴
E-mail: sadeghipour@tums.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان یکی از مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر زنان در سرتاسر دنیا به‌شمار می‌رود.^۱ براساس مطالعات انجام‌شده، فاکتورهای خطرزای فراوان محیطی و ژنتیکی شناسایی شده است که از میان عوامل ژنتیکی، تغییر ژنتیکی پروتیین p 53، ژن breast cancer A1 (BRCA1) و (BRCA2) breast cancer A2 و ژن‌های دیگری از قبیل

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۱/۳۱

زمینه و هدف: سرطان پستان یکی از مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر زنان به‌شمار می‌رود. یکی از تغییرات بیان ژنی دخیل در سرطان پستان، افزایش بیان ژن رسپتور فاکتور رشد اپیدرمال انسانی (HER2/neu) می‌باشد. تغذیه بر تنظیم ترشح هورمون‌ها و میزان خطر ابتلا به سرطان پستان تاثیر می‌گذارد. یکی از این عوامل میزان و نوع چربی‌های موجود در رژیم غذایی است. در این مطالعه اثر مصرف رژیم‌های غذایی حاوی روغن گامالینولینیک اسید (GLA) و دوکوزاهگز انوئیک اسید (DHA) به‌تنهایی و یا همراه با تزریق داروی پاکلی تاکسل (تاکسول) در درمان تومورهای پستان موش‌های ماده مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: تعداد ۳۰ سر موش ماده از نژاد Balb/c به‌طور تصادفی در شش گروه پنج‌تایی مورد بررسی قرار گرفتند. تومور پستان توسط روش کاشت تومور در موش‌ها القا شد. موش‌ها رژیم غذایی حاوی روغن‌های DHA و GLA دریافت کردند.

یافته‌ها: در تمامی گروه‌ها به‌جز گروه‌های دریافت‌کننده روغن DHA و DHA همراه با تاکسول، وزن حیوانات در پایان مطالعه نسبت به ابتدای مطالعه کاهش معنی‌دار نشان داد. میانگین حجم تومور در گروه‌های دریافت‌کننده روغن ذرت همراه با تاکسول ($P < 0/01$)، روغن DHA ($P < 0/05$) و روغن DHA همراه با تاکسول ($P < 0/001$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. میزان بیان ژن HER-2 در گروه دریافت‌کننده روغن DHA همراه با تاکسول نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: مصرف روغن DHA در کنار شیمی‌درمانی با داروی تاکسول باعث کاهش آثار تومورال در تومور بدخیم پستان شد و می‌تواند به‌عنوان راه‌کاری برای درمان سرطان پستان مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، گامالینولینیک اسید، دوکوزاهگز انوئیک اسید.

اینترلوکین ۱۸ (IL-18) در ارتباط با افزایش خطر سرطان پستان مطرح شده‌اند.^۲ به‌علاوه، عوامل محیطی از قبیل قرارگیری طولانی‌مدت در معرض هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAH)، چاقی،^۳ بلوغ زودرس، سن بالا در زمان اولین حاملگی و سایر عوامل مرتبط با شیوه‌ی زندگی نیز در ابتلا به سرطان پستان نقش دارند.^۴ هم‌چنین شماری از مطالعات بالینی نشان می‌دهند که زنانی که در دوران یائسگی برای مدت طولانی از

به‌طور عمده در روغن گل‌پامچال و شیرین‌بیان وجود دارد. DHA نیز یک اسید چرب ۲۲ کربنه با شش پیوند دوگانه بوده و از خانواده n-3 می‌باشد که در روغن ماهی به‌وفور یافت می‌شود.^{۱۰} مطالعات انجام‌شده پیشنهادکننده‌ی این امر هستند که اسیدهای چرب با چند باند قابل‌اشباع متعلق به خانواده‌ی n-3 مثل DHA باعث بهبود اثرات درمانی داروهای مورد استفاده در شیمی‌درمانی سرطان پستان می‌گردند.^{۱۱}

در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شده است که مصرف هم‌زمان GLA همراه با داروی شیمی‌درمانی تاموکسیفن باعث کاهش رشد سلول‌های توموری پستان شد درحالی‌که مصرف جداگانه‌ی آن‌ها هیچ اثری بر میزان رشد تومور نداشت.^{۱۲} با توجه به موارد ذکرشده و شیوع بالای میزان سرطان پستان و وقوع مقاومت به هورمون‌درمانی و شیمی‌درمانی، به روش‌های نوینی برای پیشگیری و هم‌چنین افزایش شانس درمان بیماران سرطانی نیازمند می‌باشیم. در این مطالعه اثر مصرف رژیم‌های غذایی حاوی GLA و DHA به‌تنهایی و یا همراه با تزریق داروی تاکسول در کاهش رشد تومور و بیان ژن HER-2 در موش‌هایی که با روش کاشت تومور (Tumor implantation) دچار تومور پستان شدند، مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

این مطالعه یک تحقیق تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۹۱ در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت پذیرفت.

در این مطالعه ابتدا تعداد ۳۰ سر موش ماده از نژاد Balb/c از موسسه پاستور خریداری گردید و موش‌ها در حیوان‌خانه با درجه حرارت ۲۲ °C و با ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در هر گروه تعداد پنج سر موش قرار داده شد. رژیم غذایی موش‌ها براساس فرمولاسیون AIN93G که شامل ۱۹٪ پروتئین، ۶۴٪ کربوهیدرات، ۱۷٪ چربی و ۳۷۷۰ کیلوکالری انرژی در هر کیلوگرم رژیم غذایی بود، تهیه شد. برای تهیه هر کیلوگرم رژیم غذایی موش از ۵۳۰ گرم نشاسته ذرت (Caseinat, Neshaste Alborz Co., Qazvin, Iran)، ۲۰۰ گرم کازین (Caseinat Co., Karaj, Iran)، ۱۰۰ گرم ساکارز (Caseinat Co., Karaj, Iran)

هورمون درمانی (Hormon Replacement Therapy (HRP استفاده کرده‌اند شانس بیش‌تری برای ابتلا به سرطان پستان در مقایسه با سایر زنان دارند.^۵

در سال‌های اخیر پی برده‌اند که بیان ژن‌های خاص در پیشرفت بیماری و پاسخ‌دهی آن به درمان موثر است. از جمله ژن‌هایی که تغییر در بیان آن با سرطان پستان مرتبط است، افزایش بیان رسپتور نوع دو عامل رشد اپیدرمال (EGFR-2) یا HER2/neu می‌باشد، که در ۳۰٪ افراد مبتلا دیده می‌شود و پیش‌آگهی بدی را نیز به‌همراه دارد و در تومورهایی که میزان بیان ژن HER-2 افزایش می‌یابد، علاوه‌بر این‌که شانس متاستاز سرطان به بافت مغزی بیش‌تر می‌شود، در برابر هورمون درمانی و شیمی‌درمانی با داروی تاکسول نیز مقاومت از خود نشان می‌دهند.^۶ داروی پاکلی‌تاکسل (با نام تجاری تاکسول) که بیش‌ترین کاربرد را در شیمی‌درمانی سرطان پستان دارد، یک آلكالوئید گیاهی است که با تخریب شبکه اسکلت سلولی تومورها از همانندسازی و گسترش متاستاتیک سلول توموری جلوگیری می‌کند.^۷ در مطالعات اپیدمیولوژیکی صورت‌گرفته، اهمیت عوامل مربوط به رژیم غذایی در سبب‌شناسی ابتلا به انواع سرطان‌ها مشخص شده است، به‌طوری‌که نشان داده شده است که تغذیه بر تنظیم ترشح هورمون‌ها و میزان خطر ابتلا به سرطان پستان تاثیرگذار است.^۸ یکی از این فاکتورهای غذایی میزان و نوع چربی‌های موجود در رژیم غذایی است. چربی‌های موجود در رژیم غذایی مجموعه‌ی ناهمگنی از لیپیدها و اسیدهای چرب هستند که از نظر طول زنجیره هیدروکربنی، تعداد پیوندهای دوگانه، موقعیت پیوندهای دوگانه و آرایش فضایی آن‌ها، متفاوت و متنوع از یک‌دیگر هستند.^۹ اسیدهای چرب با چند باند قابل‌اشباع (Poly unsaturated fatty acids or PUFAs) دارای خصوصیات شیمیایی و بیوفیزیکی اختصاصی هستند که تعیین‌کننده‌ی مضرات و فواید آنان است.^۴

در مطالعات مختلف نشان داده شده است که PUFAs می‌تواند حساسیت سلول‌های توموری در برابر داروهای مورد استفاده در شیمی‌درمانی را تغییر دهد. گامالینولینیک‌اسید (Gamma-Linolenic Acid, GLA) و دوکوزاهگزانوئیک‌اسید (Docosahexaenoic Acid, DHA) از جمله این اسیدهای چرب هستند. GLA یک اسید چرب ۱۸ کربنه و دارای سه پیوند دوگانه و از خانواده اسیدهای چرب n-6 می‌باشد که دریافت آن از رژیم غذایی معمولی بسیار کم است و

گرفت.^{۱۴} به این منظور ابتدا موش دارای تومور آدنوکارسینوما پستان از انستیتو تحقیقات کانسر بیمارستان امام‌خمينی (ره) تهران تهیه گردید. پس از بیهوش کردن، توده‌ی توموری این موش به سرعت و تحت شرایط استریل خارج و به قطعاتی با حجم 0.5cm^3 برش داده شد و سپس سه مرتبه در محلول بافر فسفات استریل مورد شستشو قرار گرفت.

پس از آن تمامی موش‌های مورد مطالعه با تزریق داخل‌صفافی مخلوط کتامین (50mg/kg) و زایلازین (10mg/kg) بیهوش شدند و قطعات توموری جدا شده به صورت زیرپوستی در بین پستان سوم و چهارم در سمت چپ بدن کاشته شد. موش‌ها از دو هفته قبل از کاشت تومور تحت دریافت رژیم‌های غذایی قرار گرفتند. پس از کاشت تومور، همه روزه، موش‌ها توسط لمس کردن ناحیه کاشت تومور، از نظر تشکیل یا عدم تشکیل تومور مورد بررسی قرار گرفتند. اندازه‌گیری حجم تومور توسط کولیس و به صورت هفتگی انجام گرفت و هنگامی که بزرگ‌ترین قطر تومور تشکیل شده به 0.5cm رسید، داروی شیمی‌درمانی پاکلی‌تاکسل (10mg/kg) به صورت داخل‌صفافی و یک‌نوبت در هفته تزریق شد.

حجم تومور از رابطه‌ی $\frac{a \times b^2}{4}$ محاسبه شد. (a = طول تومور و b = عرض تومور). وزن حیوانات هر گروه نیز در پایان هر هفته اندازه گرفته شد. پس از پایان دوره‌ی آزمایش، موش‌های هر گروه کشته شده و بافت توموری آن به منظور اندازه‌گیری میزان بیان ژنی HER-2 استخراج و با قراردادن در ازت مایع به حالت فریز درآمد و تا زمان انجام آزمایش در فریزر 80°C - نگاهداری شد.

بیان mRNA ژن HER-2: جهت تعیین کمی میزان بیان ژن HER-2 از روش واکنش زنجیره پلی‌مراز با زمان واقعی (Real Time PCR, RT-PCR) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا RNA از بافت توموری استخراج گردید. برای استخراج RNA از بافت تومور از کیت استفاده شد (RNeasy Plant Mini Kit, QIAGEN, Germany). پس از استخراج، غلظت و خلوص RNA با دستگاه Nanodrop (Thermo Fisher, USA) تعیین شد و از این RNA برای سنتز cDNA استفاده شد. cDNA با استفاده از کیت (RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit, Fermentas, USA) سنتز شد. سنتز شده برای انجام آزمایش‌های RT-PCR استفاده شد و جهت انجام آن از مخلوط تجاری حاوی آنزیم، بافر، نوکلئوتیدها و رنگ

۵۰ گرم فیبر، ۳۵ گرم مخلوط املاح، ۱۰ گرم مخلوط ویتامین، سه گرم سیستین، ۲/۵ گرم کولین (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) و چهارده هزارم گرم بوتیل‌هیدروکسینون (Floka, NV, USA) استفاده شد.^{۱۳} لازم به ذکر است که چربی رژیم غذایی کنترل از روغن ذرت تامین شد که در رژیم‌های مورد مطالعه مقادیری از آن به شرح ذیل با روغن مورد نظر جایگزین شد:

رژیم غذایی کنترل: حاوی ۱۷٪ روغن ذرت، رژیم غذایی حاوی روغن DHA: شامل ۱۰٪ روغن ذرت و ۷٪ روغن DHA، رژیم غذایی حاوی روغن GLA: شامل ۱۰٪ روغن ذرت و ۷٪ روغن GLA.

روغن ذرت روغنی است که حاوی حدوداً ۱۳٪ اسید چرب اشباع، ۲۴٪ اسید چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و ۵۸٪ اسید لینولیک (PUFA از خانواده n-6) و کم‌تر از ۱٪ اسید چرب آلفا لینولیک (PUFA از خانواده n-3) است. روغن GLA مورد استفاده در این مطالعه، حاوی ۷۲٪ GLA و ۲۶٪ اسید لینولیک بود. روغن DHA مورد استفاده نیز حاوی ۸۰٪ DHA بود. در دو رژیم دیگر مورد مطالعه نیز مبنای تامین چربی رژیم غذایی روغن ذرت بود که مقداری از آن توسط روغن‌های حاوی GLA و یا DHA جایگزین گردید. علت این که در رژیم‌های مورد مطالعه قسمت عمده‌ای از روغن غذای تهیه شده از روغن ذرت بود این است که به طور معمول در رژیم‌های عادی مصرفی، روغن‌های حاوی درصد بالایی از اسید لینولیک (روغن آفتاب‌گردان، ذرت یا سویا) قسمت عمده‌ای از چربی رژیم غذایی را تشکیل می‌دهند. گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از:

۱- رژیم غذایی کنترل، ۲- رژیم غذایی کنترل با شیمی‌درمانی توسط تاکسول، ۳- رژیم غذایی GLA، ۴- رژیم غذایی GLA همراه با شیمی‌درمانی توسط تاکسول، ۵- رژیم غذایی DHA، ۶- رژیم غذایی DHA همراه با شیمی‌درمانی توسط تاکسول. دارو و مواد مورد استفاده در این مطالعه شامل داروی شیمی‌درمانی پاکلی‌تاکسل و مواد غذایی ذکر شده در رژیم غذایی بود. روغن‌های حاوی GLA و DHA (Minami nutrition health, Belgium) خریداری گردید.

روش آزمایش: مدل موشی سرطان پستان: القای سرطان پستان در موش‌های ماده‌ی مورد مطالعه از طریق روش کاشت تومور (Spontaneous adenocarcinoma breast tumor mice) انجام

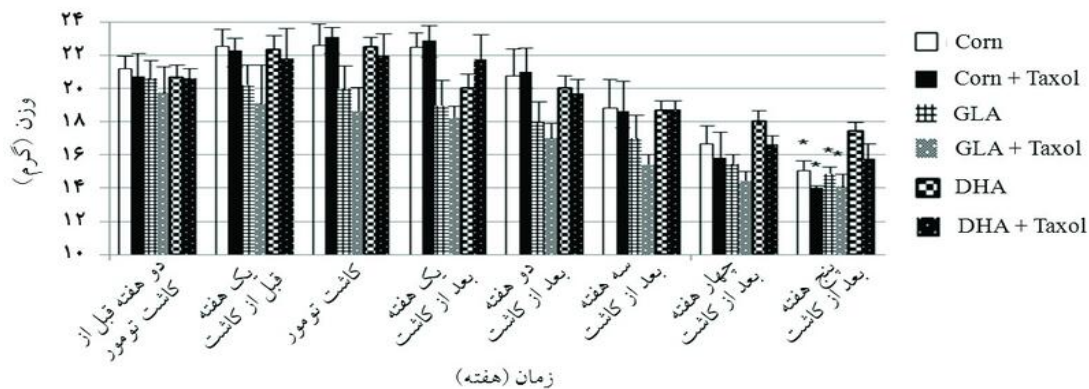
طرفه (One way ANOVA) و Tukey's test استفاده گردید. جهت مقایسه‌ی متغیرهای مورد مطالعه در طول هفته‌های مختلف دوره‌ی آزمایش در داخل هر گروه از آزمون آنالیز واریانس با داده‌های تکراری استفاده گردید و $P < 0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان وزن حیوانات: در تمامی گروه‌ها در پایان مطالعه نسبت به ابتدای مطالعه کاهش نشان می‌دهد اما در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی روغن DHA و DHA همراه با تاکسول، برخلاف سایر گروه‌ها، این کاهش وزن معنی‌دار نبود (نمودار ۱).

فلورسانس (HotTaq EvaGreen qPCR Mix, Sinaclon, Evagreen (Iran) و از دستگاه (MiniOpticon Real-Time PCR System, Bio-Rad Laboratories, Inc., Berkeley, California) استفاده شد. در هر نمونه علاوه‌بر ژن HER-2، بیان ژن گلیسرآلدئید ۳-فسفات (GAPDH) به‌عنوان ژن رفرنس نیز تعیین شد و بیان ژن HER-2 در مقایسه با این ژن مرجع محاسبه شد (ACT). توالی پرایمرهای استفاده‌شده در جدول ۱ آمده است.

در تمامی گروه‌های آزمایشی قبل از انجام آنالیز داده‌ها، نرمال بودن داده‌ها با Kolmogorov-Smirnov test بررسی شد و هر یک از داده‌هایی که توزیع نرمال نداشتند، بعد از تغییر لگاریتمی دوباره با آزمون فوق مورد بررسی قرار گرفتند. برای مقایسه‌ی متغیرهای مورد مطالعه در هفته‌های مختلف دوره‌ی آزمایش از آنالیز واریانس یک-



نمودار ۱: تغییرات وزن حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه در زمان‌های مختلف.

وزن حیوانات از دو هفته قبل از کاشت تا پایان دوره‌ی مطالعه و به‌صورت هفتگی اندازه گرفته شد. هر ستون نشان‌دهنده‌ی Mean \pm SEM می‌باشد (n=5). نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و سپس Tukey's test تحلیل شدند. * $P < 0/05$ و در مقایسه با دو هفته قبل از کاشت تومور.

جدول ۱: پرایمرهای استفاده‌شده برای Real-time PCR

| ژن | پرایمر | توالی پرایمر | محصول (bp) | کد شناسایی NCBI |
|-------|---------|-------------------------------|------------|-----------------|
| HER-2 | forward | 5'- CAATCTGCACCATCGAGCTCT -3' | ۱۹۹ | NM_001003817.1 |
| | reverse | 5'- TCCTCCAGCAGTGAACGGTA -3' | | |
| GAPDH | forward | 5- TGCGACTTCAACAGCAACTCC -3 | ۱۰۹ | NM_008084.2 |
| | reverse | 5- AGCCGTATTGTCATACCAG -3 | | |

جدول ۲: میانگین حجم تومور در گروه‌های مورد مطالعه در هفته‌های دوم تا پنجم پس از کاشت تومور

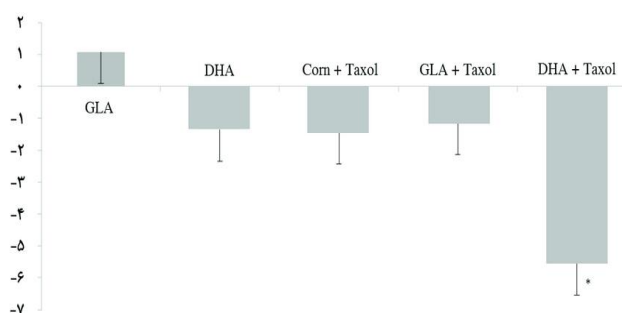
| گروه | حجم تومور (cm ³) | دو هفته پس از کاشت | سه هفته پس از کاشت | چهار هفته پس از کاشت | پنج هفته پس از کاشت | P |
|-------------------------|------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|---------------------|---|
| روغن ذرت | ۰/۲۰±۰/۰۶ | ۰/۹۲±۰/۲۳ | ۲/۷۵±۰/۶۰ | ۷/۵۱±۰/۸۳ | ۰/۰۰۱ | |
| روغن ذرت همراه با Taxol | ۰/۱۵±۰/۰۷ | ۰/۳۱±۰/۱۷ | *۰/۵۷±۰/۰۶ | **۱/۷۰±۰/۰۸ | ۰/۰۱ | |
| روغن GLA | ۰/۴۸±۰/۱۶ | ۱/۳۰±۰/۱۲ | ۰/۱۲±۱/۳۰ | ۷/۲۱±۱/۳۰ | ۰/۰۰۱ | |
| روغن GLA همراه با Taxol | ۰/۹۹±۰/۵۶ | ۰/۹۷±۰/۲۶ | ۰/۹۷±۰/۲۷ | ۴/۰۶±۰/۷۲ | ۰/۰۱ | |
| روغن DHA | ۰/۱۹±۰/۰۳ | ۰/۶۷±۰/۰۵ | ۱/۴۶±۰/۲۴ | *۲/۷۰±۰/۵۶ | ۰/۰۰۱ | |
| روغن DHA همراه با Taxol | ۰/۳۴±۰/۰۱ | ۰/۴۱±۰/۱۲ | **۰/۳۶±۰/۱۲ | ***۰/۷۷±۰/۲۰ | ۰/۲۲۰ | |
| P | ۰/۰۶۸ | ۰/۰۱۷ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | |

* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (روغن ذرت) $P < 0/05$ ** تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (روغن ذرت) $P < 0/01$ *** تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (روغن ذرت) $P < 0/001$ توجه شود که مقادیر P در ستون عمودی تفاوت بین گروه‌ها را با یکدیگر نشان می‌دهد در حالی که مقادیر P در ستون افقی تغییرات هر یک از گروه‌ها را در طی هفته‌های مختلف نشان می‌دهد. آنالیز آماری استفاده شده در محور عمودی واریانس یک‌طرفه و در محور افقی واریانس با داده‌های تکراری می‌باشد.

در سایر گروه‌ها میزان بیان این ژن نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت (نمودار ۲).

بحث

توانایی اسیدهای چرب، به‌ویژه اسیدهای چرب با چند باند قابل اشباع در افزایش توکسیسیته برخی از داروهای شیمی‌درمانی اثبات شده است.^{۱۵} انواع اختصاصی اسیدهای چرب با چند باند قابل اشباع در مقایسه با میزان کلی مصرف چربی در رژیم غذایی در پیشگیری و درمان سرطان پستان اهمیت بیش‌تری دارند.^{۱۶} در همین رابطه مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داد که اسید چرب DHA، یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده‌ی اسیدهای چرب با چند باند قابل اشباع n-3، به‌عنوان یک مهارکننده‌ی رشد و گسترش سلول‌های سرطانی انسانی در محیط کشت است. هم‌چنان‌که GLA از دیگر اعضای مهم خانواده‌ی اسیدهای چرب با چند باند قابل اشباع n-6، دارای اثرات تشدیدکننده‌ی داروی شیمی‌درمانی تاکسول در محیط کشت سلول‌های سرطانی انسانی در محیط کشت است.^{۱۵} در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شد که مصرف DHA قبل از تجویز داروهای رایج در شیمی‌درمانی باعث افزایش اثرات ضد توموری آن تومورها می‌شود.^{۱۱} در مطالعه‌ی ما نیز نشان داده شد که اضافه‌شدن روغن



نمودار ۲: میزان بیان ژن HER-2 در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

بیان ژن HER2 نسبت به بیان ژن مرجع (گلیسیر آلدئید ۳- فسفات) در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل (روغن ذرت). نمودارها به‌صورت اختلاف میزان بیان ژن HER2 در آن‌ها نسبت به میزان بیان این ژن در گروه کنترل (روغن ذرت) رسم شده‌اند. مقادیر مثبت نشان‌دهنده‌ی افزایش میزان بیان ژن نسبت به گروه کنترل و مقادیر منفی نشان‌دهنده‌ی کاهش میزان بیان ژن نسبت به گروه کنترل است. * $P < 0/05$ و در مقایسه با گروه کنترل

اندازه حجم تومورها: میانگین آن در پایان دوره‌ی آزمایش در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی روغن ذرت همراه با تاکسول، روغن DHA و DHA همراه با تاکسول در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری از خود نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۲). بررسی میزان بیان ژن HER-2 در گروه دریافت‌کننده‌ی روغن DHA همراه با تاکسول نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). در حالی‌که

در مطالعه دیگری نشان داده شد که مصرف اسیدهای چرب خانواده n-6 هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر کاهش آثار سرطان پروستات ندارد هرچند که ممکن است باعث کاهش ریسک ابتلا به سرطان پروستات شود.^{۱۸}

در مطالعه‌ی دیگری اثرات مصرف خوراکی روغن DHA و GLA بر تومور مغزی موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت که نشان داده شد مصرف روغن DHA باعث افزایش محتوای DHA در تومور مغزی گلیوما و افزایش آپوپتوز آن شد درحالی‌که مصرف روغن GLA هیچ‌گونه تأثیری بر افزایش محتوای GLA در تومور مغزی نداشت که تاییدکننده‌ی نتایج ما می‌باشد.^{۱۹}

البته با توجه به آن‌که اکثر تحقیقات صورت گرفته بر روی اثرات GLA در محیط‌های کشت و بر رده‌های سلولی خاصی صورت گرفته‌اند این احتمال وجود دارد که قسمتی از تضاد نتایج این آزمایش با سایر گزارشات به‌خاطر تفاوت در مدل حیوانی با مدل سلولی باشد. در نهایت نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مصرف روغن DHA در کنار شیمی‌درمانی با داروی تاکسول باعث کاهش آثار تومورال در تومور بدخیم پستان در موش‌های ماده نژاد Balb/c شد و می‌تواند به‌عنوان بستری برای انجام تحقیقات بیش‌تر در زمینه سرطان پستان مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی اثر رژیم غذایی حاوی گامالیونولیک‌اسید و دوکوزاهگزانوئیک‌اسید به‌تنهایی و یا همراه با پاکلی تاکسل (تاکسول) در درمان تومورهای پستان در موش‌های ماده نژاد Balb/c" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران می‌باشد که با حمایت این دانشگاه اجرا شده است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از زحمات جناب دکتر محمد علیزاده در راستای انجام این کار تحقیقاتی تشکر و قدردانی به‌عمل بیاورند.

DHA در رژیم‌غذایی موش‌هایی که با روش کاشت تومور به سرطان پستان مبتلا شدند، باعث کاهش اندازه و حجم تومورها و هم‌چنین کاهش ازدست‌دادن وزن بدن موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل شد که ممکن است به‌خاطر مسیر متفاوت متابولیسم اسیدهای چرب با چند باند قابل‌اشباع در سلول‌های طبیعی و سلول‌های توموری باشد. متابولیسم اسیدهای چرب باعث تولید هر دو گونه‌ی مولکول‌های محافظ سلول (Cytoprotective) و آسیب‌رسان به سلول (Cytotoxic) می‌شود. این اسیدهای چرب توسط سلول‌های نرمال به متابولیت‌هایی نظیر لیپوکسین، رزولوین و پروتکتین تبدیل می‌شوند که همگی محافظ سلول هستند درحالی‌که سلول‌های توموری اسیدهای چرب را به متابولیت‌های سمی و کشنده سلول تبدیل می‌کنند که همین‌امر باعث القای آپوپتوز و نکروز در سلول‌های توموری می‌شود.^{۱۲} هم‌چنین مطالعه‌ی ما نشان داد که مصرف روغن DHA به‌تنهایی یا همراه با داروی شیمی‌درمانی تاکسول، هر دو باعث کاهش بیان ژن HER-2 می‌شوند هرچند که کاهش بیان ژنی در گروه دریافت‌کننده‌ی DHA به‌تنهایی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود درحالی‌که همراه‌شدن داروی شیمی‌درمانی تاکسول با روغن DHA باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن HER-2 در مقایسه با گروه کنترل شد که به‌احتمال می‌تواند به‌خاطر افزایش اثرات ضدتوموری داروی تاکسول در حضور روغن DHA باشد. آنالیز سایر اطلاعات ما نشان داد که در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی روغن GLA افزایش شدید در ازدست‌رفتن وزن بدن دیده شد.

حجم توده‌ی توموری و بیان ژن HER2 در گروه دریافت‌کننده‌ی GLA نسبت به گروه کنترل روند افزایشی داشت هرچند که این افزایش معنی‌دار نبوده است. در مطالعه‌ی گزارش داده شد که GLA دارای اثرات توکسیک بر سلول‌های سرطانی بوده درحالی‌که بر سلول‌های عادی اثر بسیار ناچیزی دارد.^{۱۷} هم‌سو با نتایج مطالعه‌ی ما

References

1. Brunello A, Roma A, Falci C, Basso U. Chemotherapy and targeted agents for elderly women with advanced breast cancer. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2008;3(3):187-201.
2. Khalili-Azad T, Razmkhah M, Ghiam AF, Doroudchi M, Talei AR, Mojtahedi Z, et al. Association of interleukin-18 gene promoter polymorphisms with breast cancer. *Neoplasma* 2009;56(1):22-5.
3. Gunter MJ, Leitzmann MF. Obesity and colorectal cancer: epidemiology, mechanisms and candidate genes. *J Nutr Biochem* 2006;17(3):145-56.
4. MacLennan M, Ma DW. Role of dietary fatty acids in mammary gland development and breast cancer. *Breast Cancer Res* 2010;12(5):211.

5. Carroll CE, Benakanakere I, Besch-Williford C, Ellersieck MR, Hyder SM. Curcumin delays development of medroxyprogesterone acetate-accelerated 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumors. *Menopause* 2010;17(1):178-84.
6. Liu T, Sun B, Zhao X, Gu Q, Dong X, Yao Z, et al. HER2/neu expression correlates with vasculogenic mimicry in invasive breast carcinoma. *J Cell Mol Med* 2013;17(1):116-22.
7. Luo T, Wang J, Yin Y, Hua H, Jing J, Sun X, et al. (-)-Epigallocatechin gallate sensitizes breast cancer cells to paclitaxel in a murine model of breast carcinoma. *Breast Cancer Res* 2010;12(1):R8.
8. Park K, Choi K, Kim H, Kim K, Lee MH, Lee JH, et al. Isoflavone-deprived soy peptide suppresses mammary tumorigenesis by inducing apoptosis. *Exp Mol Med* 2009;41(6):371-81.
9. Murff HJ, Shu XO, Li H, Yang G, Wu X, Cai H, et al. Dietary polyunsaturated fatty acids and breast cancer risk in Chinese women: a prospective cohort study. *Int J Cancer* 2011;128(6):1434-41.
10. Habermann N, Christian B, Luckas B, Pool-Zobel BL, Lund EK, Gleis M. Effects of fatty acids on metabolism and cell growth of human colon cell lines of different transformation state. *Biofactors* 2009;35(5):460-7.
11. Ewaschuk JB, Newell M, Field CJ. Docosahexaenoic acid improves chemotherapy efficacy by inducing CD95 translocation to lipid rafts in ER(-) breast cancer cells. *Lipids* 2012;47(11):1019-30.
12. Das UN, Madhavi N. Effect of polyunsaturated fatty acids on drug-sensitive and resistant tumor cells in vitro. *Lipids Health Dis* 2011; 10:159.
13. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;123(11):1939-51.
14. Yazdi MH, Soltan Dallal MM, Hassan ZM, Holakuyee M, Agha Amiri S, Abolhassani M, et al. Oral administration of *Lactobacillus acidophilus* induces IL-12 production in spleen cell culture of BALB/c mice bearing transplanted breast tumour. *Br J Nutr* 2010; 104(2):227-32.
15. Menéndez JA, del Mar Barbacid M, Montero S, Sevilla E, Escrich E, Solanas M et al. Effects of gamma-linolenic acid and oleic acid on paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells. *Eur J Cancer* 2001;37(3):402-13.
16. Menendez JA, Lupu R, Colomer R. Exogenous supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) synergistically enhances taxane cytotoxicity and downregulates Her-2/neu (c-erbB-2) oncogene expression in human breast cancer cells. *Eur J Cancer Prev* 2005;14(3):263-70.
17. Das UN. Gamma-linolenic acid therapy of human glioma-a review of in vitro, in vivo, and clinical studies. *Med Sci Monit* 2007;13(7): RA119-31.
18. Chua ME, Sio MC, Sorongon MC, Dy JS. Relationship of dietary intake of omega-3 and omega-6 Fatty acids with risk of prostate cancer development: a meta-analysis of prospective studies and review of literature. *Prostate Cancer* 2012;2012:826254.
19. Nasrollahzadeh J, Siassi F, Doosti M, Eshraghian MR, Shokri F, Modarressi MH, et al. The influence of feeding linoleic, gamma-linolenic and docosahexaenoic acid rich oils on rat brain tumor fatty acids composition and fatty acid binding protein 7 mRNA expression. *Lipids Health Dis* 2008;7:45.

Effects of dietary gamma-linolenic acid and docosahexaenoic acid with paclitaxel on the treatment of mice mammary carcinoma

Kamran Rakhshan M.Sc.¹
 Javad Nasrolahzadeh Ph.D.²
 Mohammadhossein Noori
 Mougahi Ph.D.³
 Shabnam Babazadeh DVM.
 Student⁴
 Hamid Reza Sadeghipour
 Roodsari Ph.D.^{1*}

1- Department of Medical
 Physiology, Tehran University of
 Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Clinical Nutrition
 and Dietetics, Faculty of Nutrition
 and Food Science, Shahid Beheshti
 University of Medical Sciences,
 Tehran, Iran.

3- Department of Histology, Tehran
 University of Medical Sciences,
 Tehran, Iran.

4- Faculty of Veterinary Medicine,
 University of Tehran, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Dept. of
 Medical Physiology, Tehran University
 of Medical Sciences, Poursina St.,
 Keshavarz Blvd., Tehran, Iran.
 Tel: +98-21-66419484
 E-mail: sadeghipour@tums.ac.ir

Abstract

Received: January 30, 2013 Accepted: April 20, 2013

Background: Breast cancer is one of the most important causes of death in women. One of the various gene expression involved in breast cancer is human epidermal growth factor receptor 2 (HER2/neu) gene expression increases. Factors of dietary affect on regulation of hormone secretion and the rate of breast cancer. One of these factors is amount and type of fats in diet. Gamma-linolenic acid (GLA) and Docosahexaenoic acid (DHA) are members of poly unsaturated fatty acids. In this study, effects of dietary GLA and DHA alone or together with paclitaxel on treatment of mice mammary carcinoma has been evaluated.

Methods: Thirty female balb/c mice were divided in six groups randomly. Carcinomatous mass induced by tumor implantation method. Spontaneous breast adenocarcinoma of mice were used as tumor stock. The tumors of these mice were removed aseptically, dissected into 0.5 cm³ pieces. These pieces were transplanted subcutaneously into their right flank. GLA and DHA added to the mice diet two week prior to tumor implantation. At the end of intervention, tumors were removed and HER2 gene expression was measured. The weight of animal and tumor volume measured weekly.

Results: It was not significant change in the weight of animals that consumed DHA and DHA with taxol. Tumor volume in those groups that received corn oil with taxol (P<0.01), DHA (P<0.05) and DHA with taxol (P<0.001) showed significant decrease in comparison with control group. HER2 gene expression in DHA with taxol decreased significantly in comparison with control group (P<0.05).

Conclusion: Consumption of DHA oil with taxol causes decrease the volume of carcinoma mass. The future studies with large number of sample is needed to support this finding.

Keywords: Breast cancer, docosahexaenoic acid, gamma-linolenic acid.