مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۴۵/هفته اول مهر ماه ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۷

بررسی تأثیر تفاوت زمان اثردهی داروی دوستاکسل در افزایش میزان مرگ سلول‌های تومور پستان رده‌ی MCF–۷ در محیط برون‌تنی

علی ابراهیمی‌فرد[۱]، دکتر محمدباقر توکلی[۲]، دکتر حسین صالحی[۳]، دکتر حمید امامی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: شیمی‌درمانی یکی از پرکاربردترین روش‌های درمان سرطان‌ها می‌باشد. مهم‌ترین مرحله‌ی درمان، انتخاب مؤثرترین دارو برای ایجاد بیشترین اثر سمیت بر سلول‌های سرطانی است. دوستاکسل دارویی است که هنگام استفاده‌ی ترکیبی با رادیوتراپی می‌تواند اثرات درمانی چشم‌گیری نظیر متوقف کردن چرخه‌ی سلولی در فاز G_2/M، که مرحله‌ای بسیار آسیب‌پذیر به تابش‌های یونیزان است، داشته باشد. مدت زمان اثردهی دارو با سلول یکی از عواملی است که اثر آن تاکنون در مطالعات سلولی این دارو به عنوان یک عامل متغیر مورد بررسی قرار نگرفته است. در این مطالعه‌ی تجربی، ما به بررسی تأثیر تفاوت زمان اثردهی داروی دوستاکسل در افزایش میزان مرگ سلول‌های سرطانی پستان رده‌ی MCF–۷ در محیط برون‌تنی پرداختیم.

روش‌ها: در این مطالعه، سلول‌ها را به سه گروه شاهد، ۱ با مدت زمان اثردهی ۵ ساعت و ۲ با مدت زمان اثردهی ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف داروی دوستاکسل تقسیم کردیم. میزان حیات سلولی از طریق آزمون MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] در سه بازه‌ی زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از آزمایش سنجیده شد.

یافته‌ها: میزان مرگ سلولی، وابسته به غلظت دارو بود. در مقایسه بین دو گروه ۱ و ۲، کاهش معنی‌داری در حیات سلولی، به ویژه در غلظت‌های بالا مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی تأثیر مدت زمان اثردهی بود.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی ما اثبات کرد که مدت زمان اثردهی داروی دوستاکسل عاملی مهم در میزان مرگ سلولی است و هنگام کاربرد هم‌زمان دوستاکسل با رادیوتراپی در مطالعات سلولی، باید به عنوان یک عامل متغیر مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، شیمی‌درمانی، دوستاکسل، رده‌ی سلولی MCF–۷

ارجاع: ابراهیمی‌فرد علی، توکلی محمدباقر، صالحی حسین، امامی حمید. **بررسی تأثیر تفاوت زمان اثردهی داروی دوستاکسل در افزایش میزان مرگ سلول‌های تومور پستان رده‌ی MCF–۷ در محیط برون‌تنی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۵): ۱۲۸۰–۱۲۷۲

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در زنان ایرانی و سراسر جهان است و هنوز هم یک مشکل بزرگ سلامت در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته به شمار می‌رود (۱). درمان‌های مختلفی نظیر جراحی، شیمی‌درمانی، هورمون‌تراپی و رادیوتراپی برای این سرطان وجود دارد که انتخاب هر روش، بستگی به نوع و مرحله‌ی بیماری دارد (۲). در

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک پزشکی و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استاد، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استادیار، گروه آنکولوژی و رادیوتراپی، بیمارستان سیدالشهدا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمدباقر توکلی
Email: mb.tava20001956@gmail.com

سال‌های اخیر، درمان‌های هم‌زمان مانند جراحی همراه با رادیوتراپی و شیمی‌درمانی همراه با رادیوتراپی نیز مطرح گردیده است (۳).

یکی از درمان‌هایی که به تازگی در درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از داروهای گروه تاکسان (Taxan) می‌باشد. دسته داروهای رده‌ی تاکسان مانند پکلی‌تاکسل (Paclitaxel) و دوستاکسل (Docetaxel)، داروهای ضد سرطانی هستند که اثرات خود را از طریق آسیب درون سلولی اعمال می‌کنند (۴). دوستاکسل دارویی است که اثرات ضد سرطانی خود را با تخریب میکروتوبول‌های درون سلولی نشان می‌دهد. میکروتوبول‌ها، پلی‌مرهایی از جنس پروتئین و مسؤول ایجاد تفاوت در شکل و حرکت سلولی می‌باشند (۵). بیشترین ترکیب میکروتوبول‌ها، پلیمر توبولین متشکل از یک پروتئین است که از دو زیرواحد غیر مشابه α و β تشکیل شده است. در واقع با اتصال زیرواحد غیر مشابه α و β، دایمر تولید می‌شود و با اتصال دایمرها، میکروتوبول ایجاد می‌گردد (۶).

از داروهای بازدارنده‌ی میکروتوبول که در تقسیم میوتیک نقش دارند، در درمان بسیاری از تومورها از جمله سرطان متاستاتیک پستان و متوقف کردن حرکات میکروتوبول استفاده می‌شود. این داروها به دو روش «ممانعت از اتصال و تشکیل پلیمر (Polymerization) هر یک از دایمرهای توبولین» و «ممانعت از جدا شدن دایمرهای از قبل تشکیل شده (Depolymerization)» (۷) باعث از بین رفتن تقسیم سلولی و ممانعت از رشد سلول می‌شوند (۸).

داروهای گروه تاکسان مانند پکلی‌تاکسل و دوستاکسل، به عنوان داروهای بازدارنده‌ی میکروتوبول، در درمان بیماران مبتلا به سرطان پستان استفاده می‌گردد (۹). این داروها تعادل میکروتوبول‌ها را بیشتر از طریق ممانعت از تشکیل آن‌ها مختل می‌کند (در واقع بیشتر از روش اول که در بالا ذکر شد) (۱۰). در نتیجه، تاکسان‌ها عامل تثبیت میکروتوبول‌ها در برابر Depolymerization و به وجود آمدن بسته‌های غیر طبیعی میکروتوبول‌ها می‌باشند (۱۱، ۸). این دسته‌های غیر طبیعی مانع جدا شدن طبیعی کروموزوم‌ها از هم می‌شوند. دسته‌های غیر طبیعی در سلول‌های توموری تجمع پیدا کرده، از تکثیر سلول ممانعت به عمل می‌آورند و چرخه‌ی سلول را در فاز بین G_2/M متوقف می‌نمایند (۱۳-۱۲).

دوستاکسل یک داروی آنتاگونیست و نیمه‌سنتزی از پکلی‌تاکسل است که از درخت نادر سرخدار اقیانوسی با نام Taxus brevifolia گرفته می‌شود (۱۵-۱۴). این دارو در سال ۱۹۹۶، به وسیله‌ی FDA (Food and Drug Administration)، برای درمان سرطان پستان تأیید شد (۱۵). تحقیقات گزارش کرده‌اند که دوستاکسل اثر حساس کنندگی پرتویی در سلول‌های کولون، ریه، سر و سلول‌های سرطانی ناحیه‌ی گردن در محیط برون‌تنی دارد (۲۰-۱۶). تأثیر داروی دوستاکسل همراه با تابش‌دهی هم‌زمان بر روی رده‌های مختلف سلولی از جمله سلول‌های کولون، ریه، سر و سلول‌های گردنی، در مطالعات مختلفی به اثبات رسیده است (۲۱).

مهم‌ترین نکته در مورد استفاده از داروی دوستاکسل در مطالعات آزمایشگاهی، مدت زمان در معرض قرارگیری سلول (Exposure time) با دارو می‌باشد. در مطالعات ذکر شده، جهت سنجش میزان حساس کنندگی پرتوی این دارو، عوامل مختلفی

همچون نوع سلول، میزان فعالیت سلول، غلظت دارو و زمان تست‌گیری به عنوان فاکتور متغیر و مدت زمان در معرض قرارگیری به صورت یک عامل تصادفی در نظر گرفته می‌شود. با توجه به احتمال اثرگذاری مدت زمان در معرض قرارگیری در افزایش حساس کنندگی پرتوی این دارو و افزایش میزان مرگ سلولی، بررسی این عامل به عنوان یک متغیر غیر تصادفی امری ضروری به نظر می‌رسید.

طبق بررسی‌های انجام شده، مطالعه‌ای مبنی بر در نظر گرفتن این فاکتور در هنگام استفاده از داروی دوستاکسل وجود نداشت و در بیشتر موارد، انتخاب این عامل با توجه به مطالعات گذشته بنا می‌شود که ممکن است عاملی حیاتی باشد و نتایج را دستخوش تغییراتی کند و از صحت و دقت آن بکاهد. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر مدت زمان در معرض قرارگیری داروی دوستاکسل و تعیین میزان اثر این عامل در میزان افزایش مرگ سلولی رده‌ی سلول‌های سرطانی پستان MCF-۷ به صورت برون‌تنی بود.

روش‌ها

کشت سلول: سلول‌های سرطانی رده‌ی MCF-۷ از انستیتو پاستور تهران خریداری شد و در محیط کشت DMEM (Dulbeco's modified Eaggle medium) (Bioldia company، هندوستان) همراه با ۱۰ درصد FBS (Fetal bovine serum) و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین- استرپتومایسین (Bioldia company، هندوستان)، در فلاسک TV۵ کشت داده شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه گردید.

برای پاساژ سلول‌ها، ابتدا محیط کشت قدیمی از فلاسک‌ها خارج گردید و سلول‌ها با استفاده از PBS (Phosphate buffered saline) (GIBCO company، آمریکا) شستشو داده شد. سپس، به فلاسک‌ها ۳ میلی‌لیتر آنزیم تریپسین اضافه و به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور نگهداری گردید تا آنزیم اثر کند و سلول‌ها از کف فلاسک جدا شود. پس از خارج کردن فلاسک از داخل انکوباتور و حصول اطمینان از جدا شدن سلول‌ها به منظور خنثی‌سازی فعالیت بیشتر آنزیم، به فلاسک حدود ۳ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه شد و سوسپانسیونی از سلول‌ها آماده گردید. این سوسپانسیون سلولی به فالکون انتقال داده شد و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد تا رسوبی از سلول‌ها حاصل گردد. سپس محیط رویی رسوب سلولی تخلیه و محیط کشت جدید اضافه شد. تمام مراحل کشت سلولی در زیر هود انجام گرفت.

سلول‌ها به سه گروه شامل، گروه تزریق دارو و زمان در معرض قرارگیری ۵ ساعت (گروه اول)، گروه تزریق دارو و زمان در معرض قرارگیری ۲۴ ساعت (گروه دوم) و گروه شاهد تقسیم شدند. زمان‌های ۵ و ۲۴ ساعت به عنوان بالاترین و پایین‌ترین زمان، با توجه به مطالعات قبلی (۲۰-۱۶) صورت گرفته بر روی سلول‌های مختلف، انتخاب شد.

هیچ گونه آزمایشی بر روی گروه شاهد انجام نشد. در گروه اول، ابتدا داروی دوستاکسل (Actavis pharmaceutical company) از بیمارستان سیدالشهدای اصفهان تهیه گردید. از طریق روش محلول‌سازی، محلول‌هایی از دارو در غلظت‌های ۱، ۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تهیه و به

چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای (شامل ۵۰۰۰ سلول) تزریق شد و سپس انکوبه گردید و بعد از ۵ ساعت از هر چاهک تخلیه شد. در گروه دوم، تزریق در غلظت‌های ۱، ۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار از دارو انجام شد و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و از ظرف تخلیه گردید.

برآورد میزان تکثیر و بقای سلول‌ها: رنگ‌آمیزی MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]: این روش بر اساس احیای رنگ MTT استوار است که در آن محلول MTT پس از ترزیق به ظرف حاوی سلول‌ها، توسط میتوکندری سلول‌های زنده جذب می‌شود. احیای مجدد آن، باعث ارغوانی رنگ شدن محلول حاوی سلول می‌گردد که با تعیین میزان غلظت این رنگ، می‌توان میزان سلول‌های زنده را تعیین نمود. جهت تهیه محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم، ۵۰ میلی‌گرم از پودر MTT در ۱۰ میلی‌لیتر از PBS ۰/۱۵ مولار حل شد و هنگام استفاده در رنگ‌آمیزی، ۱۰ برابر با PBS رقیق گردید تا محلول ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر MTT به دست آید. لازم به ذکر است که پس از تهیه‌ی PBS، محلول اتوکلاو (Autoclave) شد. پس از انکوباسیون سلول‌ها با غلظت‌های ۱، ۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار داروی دوستاکسل، سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در پلیت‌های دارای دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه و با محلول ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر MTT رنگ‌آمیزی گردید. پس از ۴ ساعت، مایع رویی سلول‌ها برداشته شد و به جای آن، ۲۰۰ میکرولیتر محلول DMSO (Dimethyl sulfoxide) به حفره‌های مربوط اضافه گردید. سپس، پلیت مربوط توسط یک میکروتیتر پلیت ریدر (ELISA یا Enzyme-linked immunosorbent assay) در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. میزان سمیت و مرگ سلولی ایجاد شده با استفاده از فرمول زیر مورد محاسبه قرار گرفت:

$$\text{درصد} = \frac{\text{میانگین جذب خوانده شده برای هر نمونه}}{\text{میانگین جذب خوانده شده نمونه‌ی شاهد}} \times ۱۰۰$$

زنده بودن سلول‌ها: تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شد و با محاسبه‌ی مقدار میانگین و انحراف معیار، میزان تغییرات به دست آمد. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و تحلیل گردید و $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

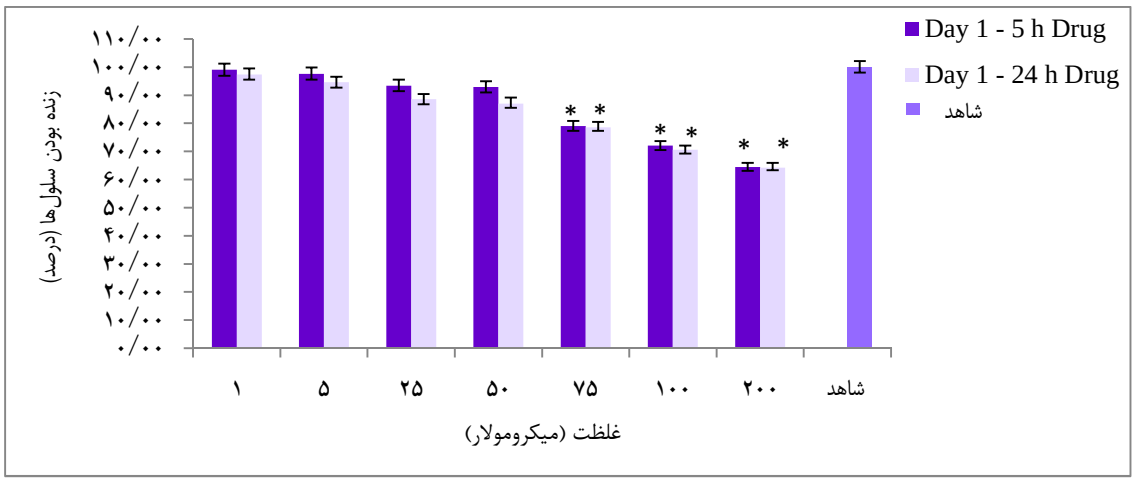
نتایج حاصل از MTT: نتایج حاصل از بررسی اثر داروی دوستاکسل با مدت در معرض قرارگیری ۵ ساعت، بر میزان زنده بودن سلول‌های MCF-۷ در سه بازه‌ی زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، در شکل‌های ۳-۱ ارایه شده است.

شکل ۱ نتایج حاصل از تست MTT پس از گذشت ۲۴ ساعت برای سه گروه (شاهد، اول و دوم) را نشان می‌دهد. بر این اساس، سمیت دارو در دوزهای بالا (بالاتر از ۷۵ میکرومولار) در مقایسه با گروه شاهد به وجود آمد. اختلاف معنی‌داری در میزان مرگ سلولی در گروه‌های اول و دوم در تمام غلظت‌ها مشاهده نشد.

شکل ۲ نتایج حاصل از تست MTT پس از گذشت ۴۸ ساعت را در سه گروه شاهد، اول و دوم

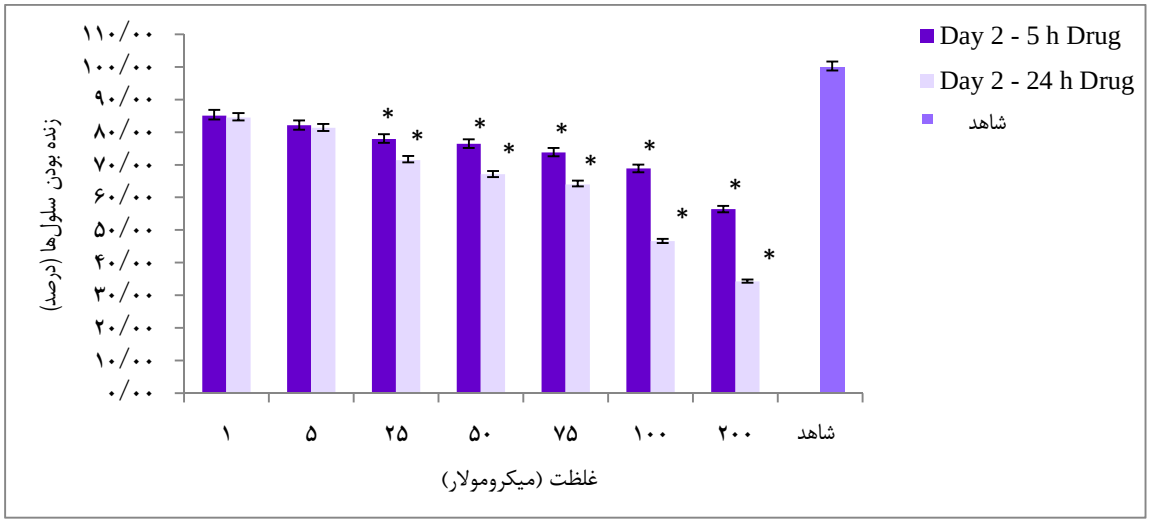
نشان می‌دهد. افزایش میزان مرگ سلولی در گروه‌های دارای دوز بیشتر از ۲۵ میکرومولار مشهود و معنی‌دار بود. مقایسه‌ی گروه‌های اول و دوم در غلظت‌های پایین، اختلاف معنی‌داری را در میزان مرگ سلولی نشان نداد، اما در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، اختلاف معنی‌داری در کاهش حیات سلولی بین گروه‌های اول و دوم مشاهده شد.

نتایج تست MTT پس از گذشت ۷۲ ساعت در گروه‌های شاهد، اول و دوم در شکل ۳ ارایه شده است. افزایش معنی‌داری در مرگ سلولی در غلظت ۵ میکرومولار برای گروه‌های اول و دوم نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. بر این اساس، اختلاف معنی‌داری در میزان مرگ سلولی گروه‌های اول و دوم، به ویژه در غلظت‌های بالا وجود داشت. نکته‌ی مهم و قابل توجه در این شکل، افزایش میزان زنده بودن سلول‌ها در گروه اول نسبت به گروه شاهد و حتی گروه دوم بود.



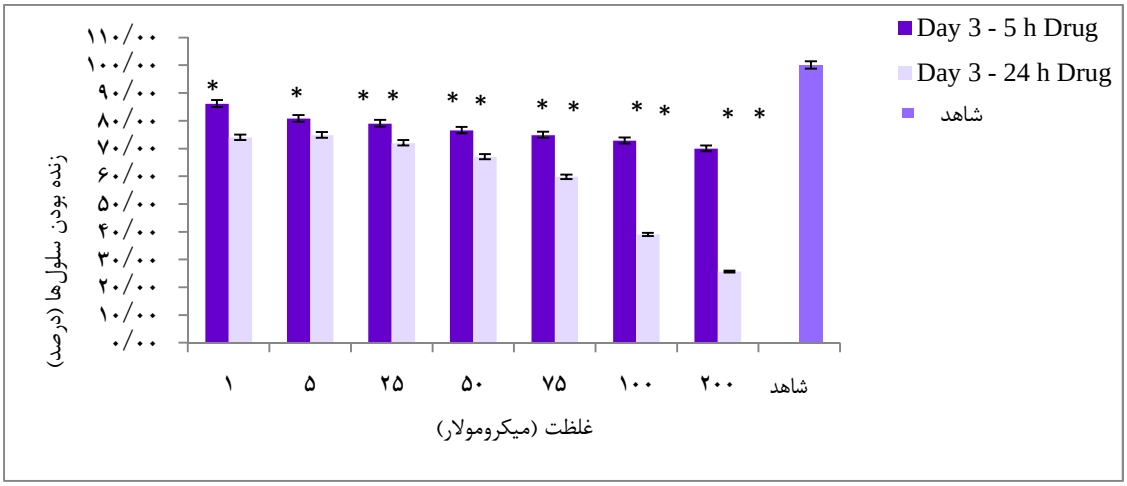
شکل ۱. مقایسه‌ی اثر داروی دوستاکسل بر میزان زنده بودن سلول‌های MCF-۷ پس از ۲۴ ساعت برای گروه‌های اول و دوم

$P < ۰/۰۵^{*}$



شکل ۲. مقایسه‌ی اثر داروی دوستاکسل بر میزان زنده بودن سلول‌های MCF-۷ پس از ۴۸ ساعت برای گروه‌های اول و دوم

$P < ۰/۰۵^{*}$



شکل ۳. مقایسه‌ی اثر داروی دوستاکسل بر میزان زنده بودن سلول‌های MCF-۷ پس از ۷۲ ساعت برای گروه‌های اول و دوم

$P < ۰/۰۵^{*}$

بحث

در سال‌های اخیر، استفاده از داروهای شیمی‌درمانی همراه با رادیوتراپی، راه جدید و استراتژی مؤثری برای درمان سرطان به شمار می‌رود. مدارک و شواهد موجود نشان می‌دهد که استفاده از برخی داروهای شیمی‌درمانی در حین رادیوتراپی در درمان بعضی از سرطان‌ها، هم می‌تواند باعث کنترل رشد تومور و هم افزایش کیفیت درمان بیماران شود. این داروها با به وجود آوردن اثر هم‌افزایی، باعث می‌شوند که تأثیر رادیوتراپی در یک ناحیه بیشترین مقدار خود را داشته باشد و کمترین اثر تخریبی را در بافت‌های سالم ایجاد کند. در واقع، با متوقف کردن چرخه‌ی سلولی در فاز G_2/M که دارای بیشترین حساسیت به تابش‌های یونیزان می‌باشد، باعث افزایش میزان آسیب به سلول می‌شود. یکی از این داروها، دوستاکسل است که به خانواده‌ی تاکسان‌ها تعلق دارد. از جمله شاخص‌هایی که در مطالعات برون‌تنی این دارو بر روی سلول مورد توجه قرار نمی‌گیرد، تأثیر میزان زمان در معرض قرارگیری سلول‌ها با دارو می‌باشد که در پژوهش حاضر به این موضوع پرداخته شد.

با توجه به یافته‌های ما، میزان حیات سلولی ۲۴ ساعت بعد از خارج کردن دارو از پلیت در گروه‌های اول، دوم و شاهد، فقط در سه غلظت ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار معنی‌دار بود که نشان دهنده‌ی اثرگذاری پایین دارو برای ایجاد مرگ سلولی چه با زمان در معرض قرارگیری ۵ ساعت و چه زمان در معرض قرارگیری ۲۴ ساعت می‌باشد؛ اما برای تست‌گیری در زمان ۴۸ ساعت، اثربخشی قابل توجه دارو و افزایش میزان مرگ سلولی در گروه‌های اول و دوم، نشان دهنده‌ی زمان لازم برای رسیدن به سمیت سلولی است. تفاوت مرگ سلولی در گروه‌های اول و دوم (به خصوص گروه دوم) در غلظت بالا، شاید به دلیل جذب بیشتر و افزایش میزان Depolymerization در سلول باشد. در گروه‌های اول و دوم، با افزایش غلظت دارو، میزان مرگ سلولی MCF-۷ افزایش یافت که این امر نشان دهنده‌ی افزایش سمیت سلولی داروی فوق با افزایش میزان غلظت می‌باشد.

نتایج پژوهش Balkman و همکاران (۲۲) با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت داشت، اما به دلیل تفاوت در نوع سلول به کار گرفته شده و میزان در معرض قرارگیری دارو به مدت ۱ ساعت، میزان مرگ سلولی متفاوت بود.

Fabbri و همکاران در پژوهشی به بررسی اثر داروی دوستاکسل بر میکروتوبول‌ها پرداختند و مدت زمان در معرض قرار دادن سلول‌ها را ۵ ساعت در نظر گرفتند (۲۳) که در غلظت‌های پایین با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی داشت، اما در غلظت‌های بالا هیچ گزارشی منتشر نکردند.

Hernandez-Vargas و همکاران نیز تحقیق خود را بر روی سلول‌های MG-۱۳۲ انجام دادند و مدت زمان در معرض قرار دادن سلول‌ها را ۲۴ ساعت در نظر گرفتند. آنان گزارش نمودند که میزان مرگ سلولی با افزایش غلظت دارو، افزایش می‌یابد (۱۴) که مطابق نتایج مطالعه‌ی حاضر بود، اما به دلیل تفاوت در نوع سلول، نرخ مرگ سلولی تفاوت داشت.

در این مطالعه، افزایش دوباره‌ی میزان زنده ماندن سلول‌ها در گروه اول، نکته‌ی قابل تأملی است. انتظار می‌رفت که با افزایش زمان تست‌گیری به ۴۸ ساعت، میزان حیات سلولی نسبت به ۲۴ ساعت، دچار کاهش بیشتری گردد، اما نه تنها کاهش بیشتر در حیات سلولی مشاهده نشد، بلکه میزان آن نسبت به گروه‌های شاهد و دوم افزایش یافت. این اتفاق دلیل بسیار روشنی برای اهمیت تفاوت‌های اعمال مدت زمان در معرض قرارگیری، در هنگام استفاده از داروی دوستاکسل می‌باشد.

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، در هنگام انجام مطالعات برون‌تنی جهت استفاده از داروی دوستاکسل، مدت زمان در معرض قرار گرفتن سلول‌ها عامل بسیار مهم و تأثیرگذاری در میزان حیات سلولی می‌باشد. استفاده از این شاخص، در هنگام استفاده از غلظت‌های بالای دارو و افزایش در هم‌فاز شدن سلول‌ها در فاز G_2/M و حساسیت بالای این مرحله به تابش‌های یونیزان، می‌تواند گام مطمئنی در رسیدن به نتایج صحیح و با دقت بالا، در تحقیقات محققان و دانشمندان در حیطه‌ی درمان‌های سرطان از طریق شیمی درمانی و رادیوتراپی باشد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی فیزیک پزشکی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی پژوهشی ۳۹۳۴۲۳ می‌باشد. از کارکنان آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی و همچنین، خانم دکتر زارع‌پور و تمام کسانی که در انجام این مطالعه با ما همکاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Akbari A, Razzaghi Z, Homaee F, Khayamzadeh M, Movahedi M, Akbari ME. Parity and breastfeeding are preventive measures against breast cancer in Iranian women. Breast Cancer 2011; 18(1): 51-5.
2. Huo D, Adebamowo CA, Ogundiran TO, Akang EE, Campbell O, Adenipekun A, et al. Parity and breastfeeding are protective against breast cancer in Nigerian women. Br J Cancer 2008; 98(5): 992-6.
3. O'Shaughnessy J, Miles D, Vukelja S, Moiseyenko V, Ayoub JP, Cervantes G, et al. Superior survival with capecitabine plus docetaxel combination therapy in anthracycline-pretreated

patients with advanced breast cancer: phase III trial results. J Clin Oncol 2002; 20(12): 2812-23.
4. Liu B, Staren ED, Iwamura T, Appert HE, Howard JM. Mechanisms of taxotere-related drug resistance in pancreatic carcinoma. J Surg Res 2001; 99(2): 179-86.
5. Eniu A, Palmieri FM, Perez EA. Weekly administration of docetaxel and paclitaxel in metastatic or advanced breast cancer. Oncologist 2005; 10(9): 665-85.
6. Nogales E, Wolf SG, Downing KH. Structure of the alpha beta tubulin dimer by electron crystallography. Nature 1998; 391(6663): 199-203.
7. Clemons M, Leahy M, Valle J, Jayson G, Ranson M, Hayes S, et al. Review of recent trials of chemotherapy for advanced breast cancer: studies excluding taxanes. Eur J Cancer 1997; 33(13): 2171-82.
8. Wilson L, Jordan MA. Microtubule dynamics: taking aim at a moving target. Chem Biol 1995; 2(9): 569-73.
9. Qi C, Zhu YJ, Zhao XY, Lu BQ, Tang QL, Zhao J, et al. Highly stable amorphous calcium phosphate porous nanospheres: microwave-assisted rapid synthesis using ATP as phosphorus source and stabilizer, and their application in anticancer drug delivery. Chemistry 2013; 19(3): 981-7.
10. Yvon AM, Wadsworth P, Jordan MA. Taxol suppresses dynamics of individual microtubules in living human tumor cells. Mol Biol Cell 1999; 10(4): 947-59.
11. Crown J. Docetaxel: overview of an active drug for breast cancer. Oncologist 2001; 6(Suppl 3): 1-4.
12. McGrogan BT, Gilmartin B, Carney DN, McCann A. Taxanes, microtubules and chemoresistant breast cancer. Biochim Biophys Acta 2008; 1785(2): 96-132.
13. Kumar N. Taxol-induced polymerization of purified tubulin. Mechanism of action. J Biol Chem 1981; 256(20): 10435-41.
14. Hernandez-Vargas H, Palacios J, Moreno-Bueno G. Molecular profiling of docetaxel cytotoxicity in breast cancer cells: uncoupling of aberrant mitosis and apoptosis. Oncogene 2007; 26(20): 2902-13.
15. Clarke SJ, Rivory LP. Clinical pharmacokinetics of docetaxel. Clin Pharmacokinet 1999; 36(2): 99-114.
16. Tishler RB, Norris CM, Jr., Colevas AD, Lamb CC, Karp D, Busse PM, et al. A Phase I/II trial of concurrent docetaxel and radiation after induction chemotherapy in patients with poor prognosis squamous cell carcinoma of the head and neck. Cancer 2002; 95(7): 1472-81.
17. Calais G, Bardet E, Sire C, Alfonsi M, Bourhis J, Rhein B, et al. Radiotherapy with concomitant weekly docetaxel for Stages III/IV oropharynx carcinoma. Results of the 98-02 GORTEC Phase II trial. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004; 58(1): 161-6.
18. Colevas AD, Busse PM, Norris CM, Fried M, Tishler RB, Poulin M, et al. Induction chemotherapy with docetaxel, cisplatin, fluorouracil, and leucovorin for squamous cell carcinoma of the head and neck: a phase I/II trial. J Clin Oncol 1998; 16(4): 1331-9.
19. Kovacs AF, Mose S, Bottcher HD, Bitter K. Multimodality treatment including postoperative radiation and concurrent chemotherapy with weekly docetaxel is feasible and effective in patients with oral and oropharyngeal cancer. Strahlenther Onkol 2005; 181(1): 26-34.
20. Vermorken JB, Remenar E, van Herpen C, Gorlia T, Mesia R, Degardin M, et al. Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. N Engl J Med 2007; 357(17): 1695-704.
21. Steel GG, McMillan TJ, Peacock JH. The radiobiology of human cells and tissues. In vitro radiosensitivity. The picture has changed in the 1980s. Int J Radiat Biol 1989; 56(5): 525-37.
22. Balkman CE, Gieger TL, Zgola MM, Lewis LD, McEntee MC. In vitro characterization of docetaxel as a radiosensitizer in canine and feline cancer cell lines. Open J Vet Med 2012; 2(4): 285-92.
23. Fabbri F, Carloni S, Brigliadori G, Zoli W, Lapalombella R, Marini M. Sequential events of apoptosis involving docetaxel, a microtubule-interfering agent: a cytometric study. BMC Cell Biol 2006; 7: 6.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 33, No. 345, 1st Week, October 2015

Received: 09.07.2015

Accepted: 29.08.2015

Investigation the Effect of the Exposure Time of Docetaxel on MCF-7 Cell Line: An In-Vitro Assessment

Ali Ebrahimifard[1], Mohammad Bagher Tavakoli PhD[2], Hosein Salehi PhD[3], Hamid Imami MD[4]

Original Article

Abstract

Background: Chemotherapy is one of the most applied methods in cancer treatment. Selection of the most effective cytostatic drug for cancer treatment is an important step in chemotherapy. Docetaxel is a drug that has especial effect when it combined with ionization radiation. The main effect of docetaxel is to block the cell cycle at the G_2/M phase which has special sensitivity to the ionizing radiation. Different factors can impress the combination effect of their usage; one of them is exposure time of docetaxel with cells. In this study, we provided an experimental study about different exposure-time-induced effects of docetaxel on MCF-7 cells.

Methods: We divided cells in three groups of control and 1 and 2 which were treated with different concentration of docetaxel for 5 or 24 hour, respectively. In-vitro cell viability tests were done to investigate their effect on MCF-7 cell line for 24, 48 and 72 hours after the experiment.

Findings: The cytotoxicity was depended on the concentration of docetaxel. There was a significant decrease in cell viability at all concentration, especially in high concentrations for group 2 compared with group 1 which indicated time- and dose- dependency of the drug.

Conclusion: Our study demonstrated that exposure time has an important effect on viability of the cells were treated with docetaxel. This phenomenon can affect treatment of cancer, especially in the field of combination therapy.

Keywords: Breast cancer, Chemotherapy, Doctaxel, MCF-7

Citation: Ebrahimifard A, Tavakoli MB, Salehi H, Imami H. **Investigation the Effect of the Exposure Time of Docetaxel on MCF-7 Cell Line: An In-Vitro Assessment.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(345): 1272-80

1- MSc Student, Department of Medical Physics and Biomedical Engineering, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Department of Medical Physics and Biomedical Engineering, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Radiation and Oncology, Seyed Al-Shohada Hospital, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mohammad Bagher Tavakoli PhD, Email: mb.tava20001956@gmail.com