مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره نهم ، شماره سی و سوم-زمستان ۱۳۹۷

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

اثر آب تهی شده از دوتریم بر روی رشد سلولی و سیستم آنتی اکسیدانی سلول های سرطان سینه

کمال یاوری*[1]، لیدا کوشش [2]، منیره موحدی [2]

۱- پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران
۲- دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال ، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران ،ایران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهد که کاهش طبیعی میزان دوتریم می‌تواند منجر به مهار رشد تومور در هر دو مدل in vitroو in vivo شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر آب تهی شده از دوتریوم (DDW) تنها و در ترکیب با 5-FU بر روی رشد و سیستم آنتی اکسیدانی سلول‌های سرطان سینه است.

مواد و روش‌ها: آزمایش سمیت سلولی با استفاده از روش MTT انجام شد. سلول‌های MCF-7 با غلظت های مختلفی از DDW تنها، 5-FU تنها و هر دو تیمار شدند. سطح مالون دی الدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری انجام گردید. آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و t-Test برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شدند. $P \leq 0.05$ سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف DDW تنها به‌ویژه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۵ ppm باعث مهار رشد سلول‌های MCF-7 گردید. 5-FU تنها نیز به‌طور قابل توجهی میزان بقاء سلول‌های MCF-7 را کاهش داد و استفاده از DDW به همراه 5-FU اثر مهاری 5-FU بر روی سلول‌ها را افزایش داد. در مقایسه با گروه کنترل (۱۵۰ ppm)، مشاهده گردید که در سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های پایین‌تر DDW، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش ولی سطح مالونیل دی آلدهید کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری: آب تهی شده از دوتریوم می‌تواند به عنوان یک کمک کننده در داروهای ضد سرطان در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: آب تهی شده از دوتریوم، سرطان سینه، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، مهار رشد سلولی،MTT

مقدمه

سرطان سینه یکی از شایع‌ترین انواع سرطان در بین زنان است. امروزه پیشرفت‌های علمی باعث تشخیص زود هنگام و درمان بهتر سرطان سینه شده است، با این حال این بیماری هم‌چنان به‌عنوان مهم‌ترین عامل مرگ و میر در بین زنان به-

نویسنده مسئول:
پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران
پست الکترونیکی: kyavari@aeoi.org.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۱/۱۳۹۷/۷

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]

شمار می‌رود (۳۰، ۱۱). فاکتورهای متعددی در افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه دخیل هستند که از جمله این عوامل می‌توان به افزایش سن، سابقهٔ خانوادگی، چاقی پس از یائسگی، مصرف الکل، فعالیت کم جسمانی، قاعدگی زودرس، یائسگی دیر هنگام، تغذیه بد، تماس با میدان‌های الکترومغناطیسی، تماس با انواع حشره‌کش‌ها یا مواد شیمیایی و غیره اشاره کرد (۱۲،۶). درمان اول سرطان سینه جراحی است ولی در صورت متاستاز، از شیمی درمانی، هورمون درمانی و رادیوتراپی نیز استفاده می‌شود (۱۵). استفاده از ایمونوتراپی به‌همراه سایر روش‌های درمانی از جمله ژن درمانی، نور درمانی، واکسن‌ها و آنتی سنس‌ها نیز به‌منظور تکمیل درمان مورد توجه محققین هستند (۲۱). از داروهای رایج ضد سرطانی ترکیب ۵ فلوروپوراسیل (5-FU) است که آنالوگ پیریمیدین بوده و برای اولین بار در سال ۱۹۵۷ توسط Charles Heidelberger سنتز گردید. اثر ضدسرطانی این دارو بر سرطان‌های کولون، سینه، سیستم لنفاوی، سر و گردن و پوست تأیید شده است (۷،۸). مشکلی که در استفاده از این نوع داروها وجود دارد این است که این ترکیب‌ها به تنهایی اثر قابل توجهی در مهار رشد سلول‌های سرطانی ندارند و بنابراین محققین به‌طور مداوم در صدد افزایش توان مهار رشد سلولی این عوامل درمانی از طریق همراهی با روش‌ها و ترکیب‌ها جدید هستند (۱۰،۱۸).

مطالعه‌های اخیر حاکی از اثر ضدسرطانی آب تهی شده از دوتریم دارد.

مطالعه‌های جدید نشان داده‌اند که آب تهی شده از دوتریوم (DDW[1]) در کنترل و درمان انواع سرطان‌ها از طریق مهار تکثیر سلولی و القای آپوپتوز نقش مهمی ایفا می‌کند (۱۷). هیدروژن سنگین یا دوتریوم (Deuterium) ایزوتوپ پایدار هیدروژن است که به نسبت یک به ۶۶۰۰ از اتم‌های هیدروژن در طبیعت حضور دارد (۴). اگر یکی از اتم‌های هیدروژن با دوتریوم جایگزین شود، آب نیمه سنگین یا همان HDO[2] تولید خواهد شد. دوتریوم در آب‌های سطحی به دو فرم HDO و D_2O با غلظت ۱۶/۸ mmol/L یا ۱۵۰ppm وجود دارد (۱۳). DDW که به‌عنوان آب سبک یا آب بدون دوتریوم نیز شناخته می‌شود، از جدا کردن دوتریوم طی پروسه بهره‌برداری از آب سنگین به دست می‌آید (۱۶). فناوری تولید آب سنگین محدود به چند کشور است که با تلاش محققان ارجمند علوم هسته‌ای، ایران نیز از جمله این کشورهای تولید کننده D_2O و DDW است. مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهند که آب تهی شده از دوتریوم کاربردهای مهمی در پزشکی و سلامت ایفا می‌کند. با توجه به این‌که تاکنون اثر DDW بر روی سرطان سینه مورد مطالعه قرار نگرفته است، بنابراین هدف از پژوهش حاضر ابتدا بررسی اثر سیتوتوکسیک DDW به تنهایی و همراه با داروی 5-FU بر روی رشد سلول‌های سرطان سینه و سپس بررسی تأثیر آن بر فعالیت آنتی اکسیدانی سلول‌ها از طریق سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و فاکتور مالون دی آلدهید است.

مواد و روش‌ها

الف: کشت سلولی

سلول‌های MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سلول‌ها درمحیط کشت RPMI با ۲۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک جنتمایسین نگهداری و پاساژ داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس، CO_2 ۵ درصد و رطوبت ۹۰ درصد تا زمانی‌که سلول‌ها حداقل به ۷۰ درصد رشد برسند، نگهداری شدند. آب تهی شده از دوتریم با غلظت‌های ۳۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ppm از شرکت مصباح انرژی تهیه گردید.

ب: بررسی مهار رشد سلولی به‌روش MTT

[1] Deuterium Depleted Water

[2] Semiheavy Water

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]

آزمون سیتوتوکسیک سلولی بر اساس روش MTT انجام شد. تعداد ۵۰۰۰ سلول به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای با ۴ بار تکرار اضافه گردید. سلول‌ها در محیط RPMI کشت داده شدند و روز بعد هریک از چاهک‌ها با محیط کشت تهیه شده از DDW با غلظت‌های مختلف (۳۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ppm) به تنهایی و یا همراه با داروی 5-FU با غلظت‌های (۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲μg/ml) تعویض گردید. سلول‌ها به‌مدت ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت انکوبه شدند و سپس آزمون MTT طبق پروتکل بر روی آن‌ها انجام گردید (۲۹).

پ:سنجش سوپراکسید دیسموتاز

محلول واکنش جهت سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از تریتون۱۰۰x یک درصد، محلول Pyrogallol ۰/۹mM/L، محلول NBT ۰/۹۸mM/L، مهارکننده آنزیمی ۱ mM/L و بافر Tris- Cacodylic ساخته شد و سپس میزان فعالیت آنزیم موردنظر به روش رنگ‌سنجی در طول موج nm ۵۶۰ اندازه‌گیری گردید (۲۰).

ت: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

محلول واکنش جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از ترکیب تریتون۱۰۰x یک درصد،EDTA mM/L ۱، بافر فسفات سدیم ۱۰۰ mM/L، مهارکننده آنزیمی ۱ mM/L و ۵۰μL محلول آب اکسیژنه تهیه گردید و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش رنگ‌سنجی در طول موج nm ۲۴۰ سنجیده شد (۱).

ث: سنجش مالون دی آلدهید

به‌منظور اندازه‌گیری میزان MDA، ۵۰۰×۱۰^{۳} سلول را شمارش کرده و در یک میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتر ریخته و با دور ۳۰۰۰rpm به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به آرامی با سمپلر خالی شده و روی رسوب سلولی ۱/۵ ml تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ اضافه گردید. سلول‌ها را با دستگاه سونیکاتور به‌مدت ۲ دقیقه با تعداد ۶۰ سیکل در ثانیه سونیکه کرده و بعد از شفاف شدن محلول حاوی سلول و همگن سازی، آن را با دور ۱۰۰۰۰ rpmبه‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده تا سلول ته‌نشین گردند. به ۰/۵ml ازمحلول رویی حاوی MDA، ۰/۵ml تیوباربیتوریک اسید ۰/۵٪ اضافه کرده و به‌مدت ۰/۵ ساعت در بن ماری ۱۰۰°C قرار داده شد. میزان محصول صورتی رنگ با روش رنگ‌سنجی در طول موج ۵۳۰-۵۴۰nm اندازه‌گیری اندازه گردید.

ج:آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism 5.01 و روش واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و t-Test مورد بررسی قرار گرفت. $P \leq 0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج مهار رشد سلولی

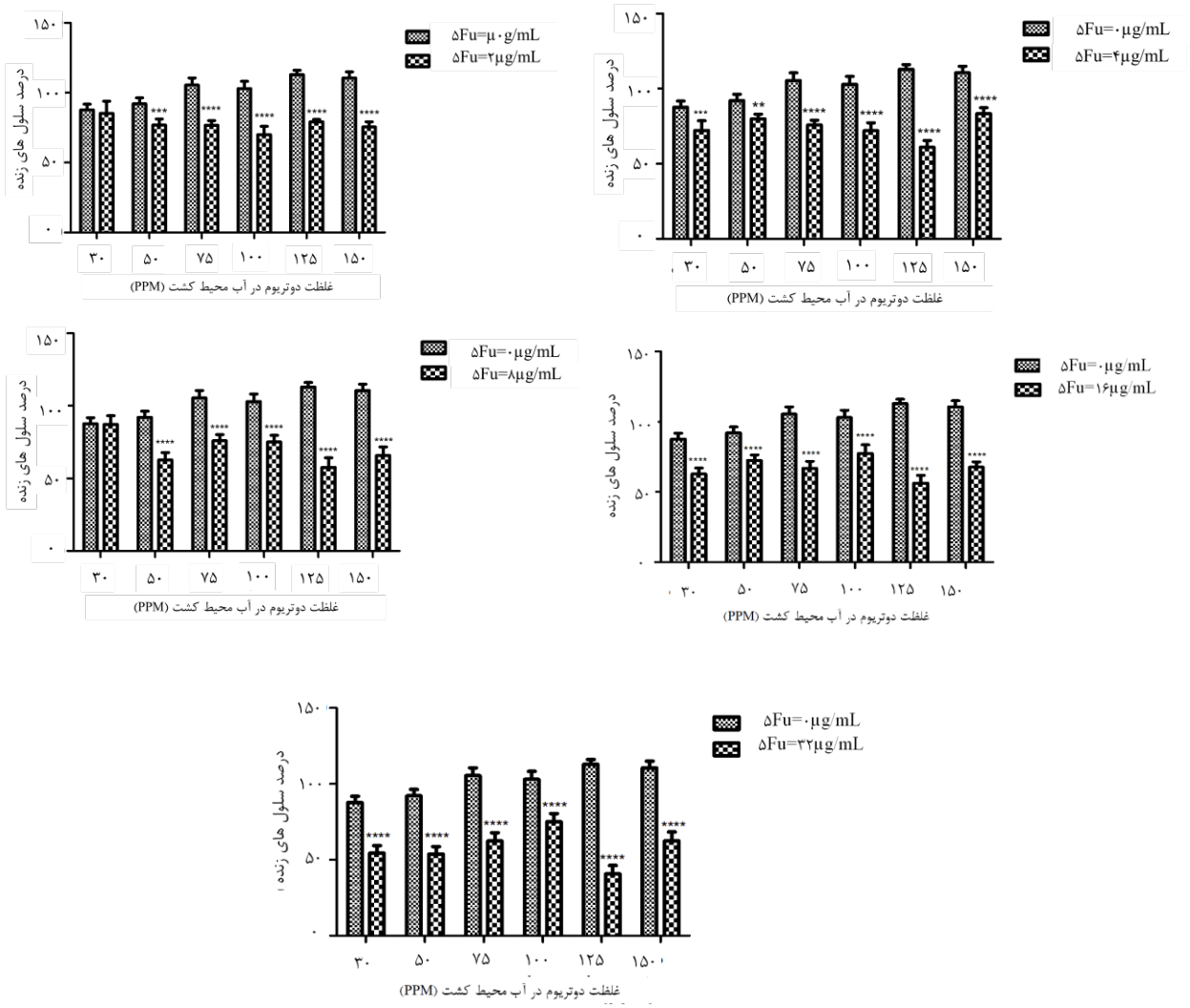
با توجه به تغییرهای کل منحنی‌ها درصد زنده ماندن سلول‌های تیمار شده با دارو و بدون دارو نشان داده شده است.

الف:نتایج آزمون ۲۴ ساعت MTT

در تیمار ۲۴ ساعت سلول‌ها به تنهایی و یا همراه با 5-FU، افزایش غلظت دارو با Pvalue < ۰/۰۱۵۴ و کاهش غلظت دوتریوم موجود در آب با Pvalue < ۰/۰۰۱ به‌صورت معنی داری بر درصد بقای سلولی تأثیر گذاشت. کم‌ترین درصد بقای سلولی مربوط به غلظت‌های۱۰۰ و ppm ۱۲۵ از DDW و غلظت‌های ۸، ۱۶ و ۳۲μg/ml از داروی5-FU بود. در غلظت‌های بالای دارو (۱۶ و ۳۲μM) اختلاف درصد بقا میان نمونه‌های تیمار شده و نمونه‌های کنترل به بیش‌ترین مقدار خود رسید (شکل ۱).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]



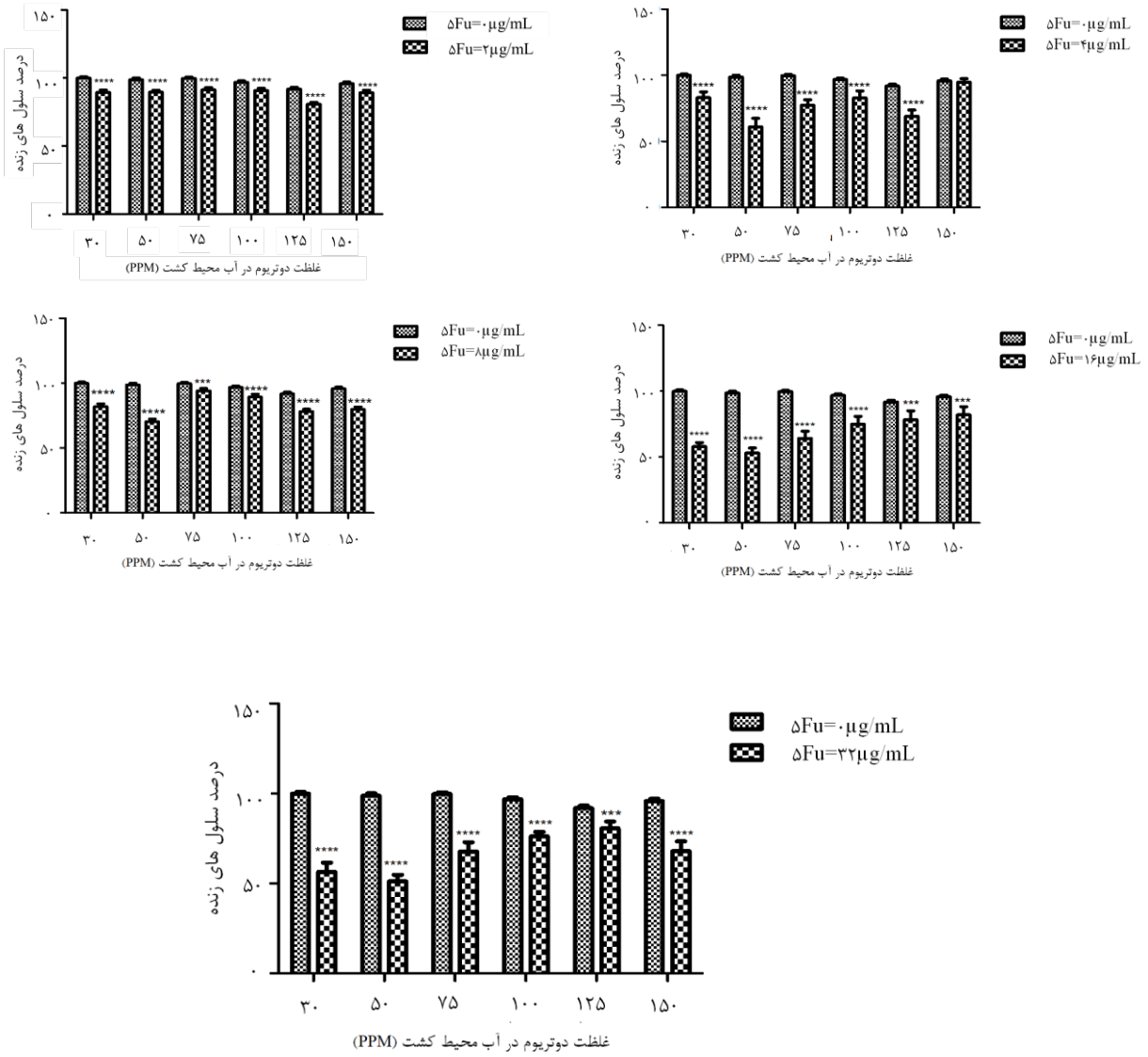
شکل۱: مهار رشد سلولی پس از ۲۴ ساعت

ب:نتایج آزمون ۴۸ ساعت MTT

در تیمار ۴۸ ساعت سلول‌ها با DDW به تنهایی و یا همراه با 5-FU، تأثیر غلظت دارو، غلظت دوتریوم و اثر سینرژیک این دو عامل با Pvalue < ۰/۰۰۰۱ بر روی درصد بقا سلولی از نظر آماری معنی‌دار بود. کم‌ترین درصد بقای سلولی مربوط به غلظت DDW۱۰۰ppm بوده، در میان سایر غلظت‌ها، کم‌ترین درصد بقا سلولی به غلظت DDW ۵۰ ppm تعلق داشت (شکل ۲).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]



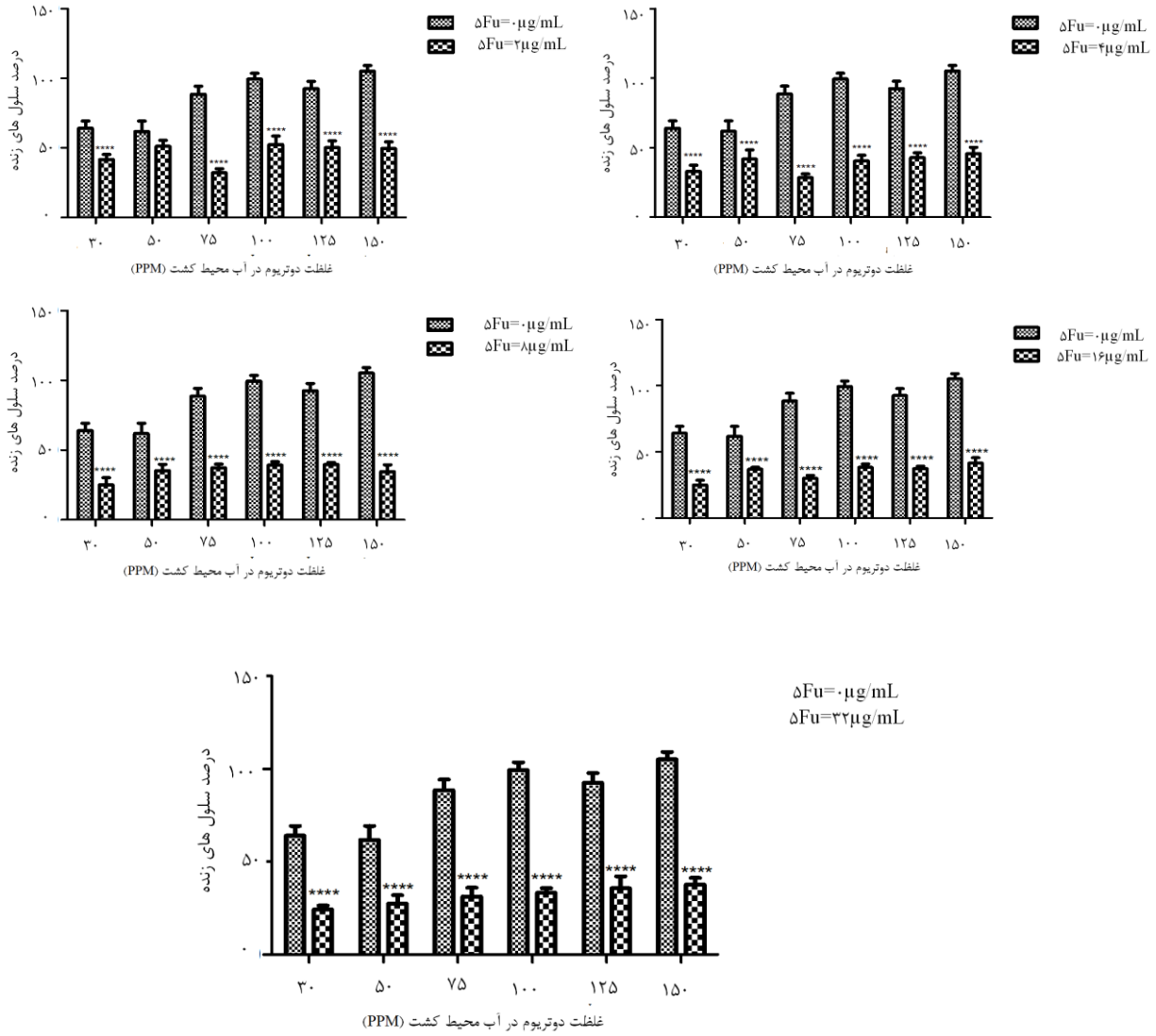
شکل۲: مهار رشد سلولی پس از ۴۸ ساعت

پ:نتایج آزمون ۷۲ ساعت MTT

در مطالعه ۷۲ ساعت آزمایش مهار رشد سلولی، بیش‌ترین و کم‌ترین درصد بقای سلولی به‌ترتیب در گروه‌های سلولی تیمارشده با DDW ۳۰ppm به‌همراه 5-FU با غلظت ۳۲µg/ml و DDW ۱۵۰ppm به‌همراه 5-FU با غلظت‌های ۲ و ۴µg/ml دیده شد. غلظت‌های مختلف DDW بدون 5-FU نیز بر روی مهار رشد سلولی اثر متفاوتی را نشان دادند. بیش‌ترین کاهش رشد سلولی در غلظت ۳۰ppm و کم‌ترین کاهش رشد سلولی در غلظت DDW ۱۵۰ppm مشاهده گردید (شکل ۳).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]



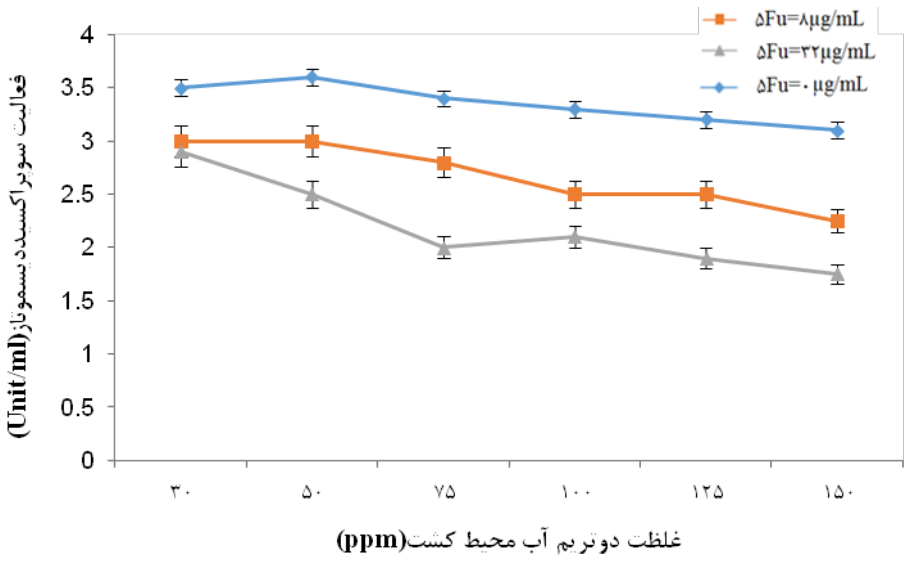
شکل۳: مهار رشد سلولی پس از ۷۲ ساعت

ت: نتایج بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

مطالعه ما نشان داد که اثر سینرژیک آب تهی شده از دوتریم و داروی 5-FU از نظر آماری معنی‌دار است. DDW در غلظت-های پایین دوتریم از جمله در غلظت‌های۳۰ و ۵۰ppm اثر معنی‌داری بر افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز داشت. کم-ترین فعالیت معنی‌دار آنزیم در غلظت‌های ۸ و ۳۲μg/ml از داروی 5-FU و DDW با غلظت بالای دوتریوم به ویژه در ۱۲۵ppm و ۱۵۰ppmمشاهده گردید (شکل ۴).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

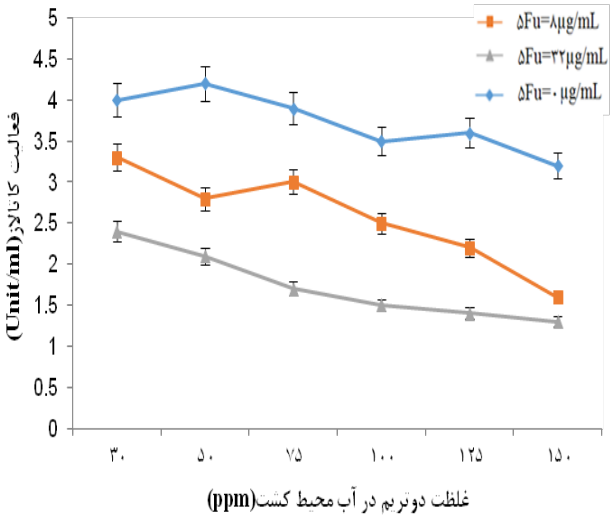
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]



شکل ۴: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سلول های MCF-7 پس از ۴۸ ساعت تیمار با غلظت‌های مختلف دوتریوم و غلظت‌های ۸ و ۳۲ µg/ml از داروی 5-FU

ث: نتایج بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز

در مطالعه فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده گردید که هر چه غلظت دوتریوم کم‌تر شود، فعالیت کاتالاز روند افزایشی را نشان می‌دهد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم در غلظت DDW ۵۰ppm مشاهده گردید و کم‌ترین فعالیت نیز متعلق به سلول‌های تیمار شده با ترکیب ۱۵۰ppm از DDW و داروی 5-FU با غلظت ۳۲µg/ml بود (شکل۵).



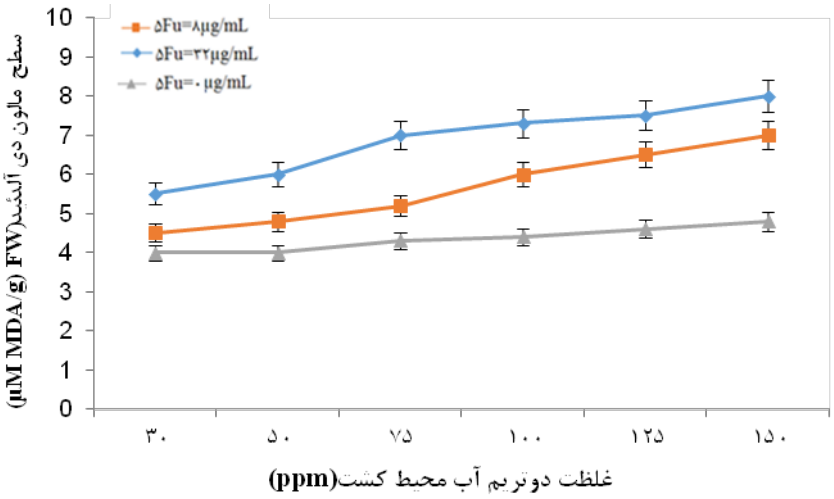
شکل ۵: فعالیت آنزیم کاتالاز در سلول‌های MCF-7 پس از ۴۸ ساعت تیمار با غلظت‌های مختلف دوتریوم و غلظت‌های ۸ و ۳۲ µg/ml از داروی 5-FU

ج: نتایج میزان فاکتور مالونیل دی آلدهید

بررسی میزان فاکتور مالونیل دی آلدهید نشان داد که هر چه غلظت دوتریوم در محیط کشت زیاد می‌شود، سطح مالونیل دی آلدهید نیز روند افزایشی پیدا می‌کند (شکل ۶).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]



شکل ۶: میزان فاکتور مالونیل دی آلدهید در سلول‌های MCF-7 پس از ۴۸ ساعت تیمار با غلظت های مختلف دوتریوم و غلظت‌های ۸ و ۳۲ µg/ml از داروی 5-FU

بحث

هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد سرطانی آب تهی شده از دوتریم بر روی رده‌های سلولی سرطان سینه بود. مطالعه ما نشان داد که DDW به‌طور مؤثری رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 را مهار می‌کند و تخلیه دوتریم آب باعث افزایش خاصیت توکسیسیتی وابسته به زمان و غلظت 5-FU می گردد. مطالعه‌های قبلی نشان داده DDW می‌تواند در سیستم های درون تنی و برون تنی اثر مهار رشد سلول سرطانی داشته باشد. در اولین مطالعه انجام شده در این رابطه، اثر آب تهی شده از دوتریوم بر رشد رده سلولی فیبروبلاستی L929 در سال ۱۹۹۰ توسط Somlyai و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه بیان‌گر مهار رشد این رده سلولی در غلظت‌های پایین دوتریوم بود. در ادامه، اثر جایگزینی آب نوشیدنی با DDW با غلظت ۳۰ ppm دوتریوم بر روی موش-های ترانسپلنت شده با سلول‌های سرطانی MCF-7 و MDA-MB-231 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی حاکی از افزایش مدت زمان زنده ماندن موش‌های توموری و ناپدید شدن تومور در ٪۵۹ از آن‌ها بود (۲۶). مطالعه‌های بعدی شواهدی را مبنی بر اثر مهاری DDW بر رشد سلول‌های سرطانی PC-3 (سلول سرطانی پروستات)، MDA (سلول سرطانی سینه)، HT-29 (سلول سرطانی کولون) و M14 (ملانوما) از طریق به تعویق انداختن پیشرفت چرخه سلولی ارائه دادند؛ بدین معنا که سلول‌ها نیازمند زمان طولانی‌تری برای تکثیر هستند (۲۷). براساس مطالعه‌های انجام شده غلظت‌های بالای دوتریوم می‌تواند رشد سلول‌ها را مهار کند و آن‌ها را در برابر پرتوها محافظت کند، اما در بلند مدت اثر منفی دارد. در یک مطالعه نشان داده شد که تیمار کوتاه مدت موش ها با DDW باعث کاهش طول عمر و حتی مرگ موش‌ها می-شود (۳،۱۴). مکانیسمی که برای این اثرهای ضدسرطانی آب ارائه گردیده نشان می‌دهد که جایگزینی هیدروژن با دوتریوم به‌دلیل وجود تفاوت جرمی میان هیدروژن و دوتریوم منجر به بروز تغییرهایی در رفتار فیزیکی و شیمیایی سلول شده که در سیستم‌های بیولوژیکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۳۳).

مطالعه‌های قبلی نیاز به بررسی بیش‌تری داشت و به‌منظور تکمیل پژوهش‌های انجام شده پیرامون اثر آب تهی‌شده از دوتریوم، در این تحقیق به بررسی اثر آب تهی‌شده از دوتریوم به تنهایی و همراه با داروی 5-FU بر روی رشد سلولی و ارتباط آن با فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی اکسیدانی پرداخته شد. برای این منظور رشد رده سلولی MCF7 در محیط کشت

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]

دارای غلظت‌های مختلف DDW به تنهایی و همراه با غلظت-های مختلف از داروی 5-FU مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان دادند که DDW به تنهایی در غلظت‌های پایین دوتریوم (پایین‌تر از ppm ۱۲۵) به‌خصوص در غلظت‌های ppm ۳۰-۱۲۵، منجر به مهار رشد سلول‌های سرطانی می-شود. هم‌چنین مشاهده گردید که به‌کارگیری DDW در ترکیب با 5-FU، رشد سلولی را به طور چشم‌گیرتری مهار می کند. این تفاوت در تمام غلظت‌های دارو نسبت به کنترل صفر دارو قابل مشاهده بود.

در مطالعه‌ای که توسط Feng- Song Cong و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر رده سلولی A549 صورت گرفت، مشخص شد که بیش‌ترین مهار رشد سلولی در غلظت ppm ۵۰ از DDW رخ داده است (۳). در مطالعه انجام شده توسط Wang و همکاران در سال ۲۰۱۲، مهار رشد سلول‌های NPC توسط آزمون MTT و سنجش تشکیل کلونی (plate colony formation assay) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه بیان‌گر مهار رشد سلولی در غلظت‌های ۷۵/۵۰ و ppm۱۰۰ از دوتریوم و کاهش توانایی تشکیل کلونی بود (۲۹،۳۳). در مطالعه دیگری که توسط Soleyman-Jahi و همکاران انجام شد، اثر سینرژیک داروی پاکلیتاکسل با غلظت μM ۰/۵و غلظت‌های۴۰، ۶۲، ۸۴، ۱۰۶ و ppm ۱۲۸ از DDW بر روی رده‌های سلولی سرطانی سینه (MDA-MB-231)، پروستات (PC-3)، روده (HCT-116) و گلیوبلاستوما (U-87MG) مورد بررسی قرار گرفت. در تحقیق آن‌ها مشخص گردید که کاهش غلظت دوتریوم آب در محیط کشت سبب افزایش سمیت داروی پاکلیتاکسل بر رده‌های سلولی MDA-MB-231، PC-3، U-87MG می‌گردد ولی اثر سینرژیکی مهار رشد سلولی توسط DDW بر روی رده سلولی HCT-116 معنی‌دار نبود (۲۵). مهم‌ترین مکانیسمی که تا به حال برای DDW جهت مهار رشد سلولی مطرح گردیده است اثر مهاری DDW بر سیکل چرخه سلول‌های سرطانی و القاء آپپتوز است به‌طوری‌که ازدیاد و تکثیر آن‌ها را مهار می کند و به دنبال آن مانع ازدیاد سلول‌های جهش یافته می‌شود (۱۴،۳۴،۳۳).

نتایج تحقیق ما تا حدودی با یافته‌های این محققین هم‌خوانی دارد با این تفاوت که در مطالعه ما بر عکس یافته‌های Soleyman-Jahi ولی در مطابقت با یافته‌های Wang، مشاهده گردید که خود DDW به تنهایی اثر مهار رشد سلولی دارد (۳۳،۲۵).

بررسی سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول آزمایش دیگری است که در انواع تحقیق‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. لازم به توضیح است که رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن از جمله گونه‌های فعال اکسیژن هستند که به‌عنوان محصول‌های جانبی متابولیسم نرمال اکسیژن در سلول‌ها و بافت‌ها تولید می‌شوند. به‌علت فعالیت ذاتی بالای ROS، این ترکیب‌ها به‌صورت ناخواسته وارد واکنش‌هایی می‌شوند که درنهایت سبب وارد آمدن آسیب به سلول‌ها می‌گردد. اکثر سلول‌های سرطانی به-دلیل تحریکات انکوژنیک، فعالیت متابولیک افزایش یافته و بدعملکردی میتوکندریایی، تحت استرس اکسیداتیو هستند (۳۱). در سلول‌های سرطانی، میزان واکنش‌های گلیکولیز و تنفس به‌ترتیب بیش‌تر وکم‌تر از سلول‌های نرمال هست و این تفاوت منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود (۲۸). وضعیت اکسایشی بالا در سلول، شکل‌گیری تومور را از طریق رشد سلولی تحریک کرده و با سرکوب فعالیت‌های ضدتوموری منجر به آسیب ساختمان DNA می‌شود (۸). اثر آنتی-اکسیدانی آب تهی شده از دوتریوم از دلایل مهم دیگر به کارگیری DDW در زمینه پزشکی است. طی مطالعه‌ای که در سال۲۰۰۷ توسط Olarium و همکاران انجام گرفت، مشخص گردید که آب تهی شده از دوتریوم در کوتاه مدت اثر پراکسیدانی دارد ولی در طولانی مدت اثرهای آنتی‌اکسیدانی خود را از طریق تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌کند (۲۳). چندین فرضیه در مورد مکانیسم اثر DDW بر روی سیستم آنتی‌اکسیدانی مطرح است. مطالعه‌های قبلی نشان داده‌اند که تغییر نسبت هیدروژن به دوتریم در سلول باعث تغییر پتانسیل غشاء سلول‌ها گردیده و فعالیت‌های فیزیکوشیمایی سلول از جمله برخی پمپ‌ها و آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله گروه‌های فعال شده توسط DDW در این راستا است. مکانیسم دیگر برای نقش احتمالی DDW در سیستم دفاعی، کاهش میزان

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]

استرس اکسیداتیو از طریق کاهش فعالیت مسیر گلیکولیز سلول سرطانی و در نتیجه تغییر شرایط پراکسیداتیو سلول به نفع شرایط آنتی‌اکسیداتیو است (۲،۳۳).

فاکتور دیگری که در سیستم آنتی‌اکسیدانی و پراکسیدانی مهم است، فاکتور MDA است. مالون دی آلدئید محصول پراکسیداسیون لیپید اسیدهای چرب غیر اشباع است و یکی از چند محصول عمده در سنتز ترومبوکسان A_2 است، جایی‌که در آن سیکلواکسیژناز۱یا سیکلواکسیژناز۲ در سلول‌ها اسید آراشیدونیک را به پروستاگلاندین H_2 متابولیزه می‌کند. این محصول نیز بیش‌تر متابولیزه می‌گردد تا این‌که توسط ترومبوکسان سنتاز به ترومبوکسان A_2، هیدروکسی هپتادکاتری انوئیک اسید و مالون دی آلدئید تبدیل می‌گردد. علاوه‌بر این ممکن است به‌صورت غیر آنزیمی به مخلوطی از ایزومرهای ۸-سیس و ۸- ترانس ۱۲- هیدروکسی ایکازوهپتاانوئیک اسید و مانونیل دی آلدئید تبدیل شود (۲۲).

گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) لیپیدهای غیر اشباع را تجزیه می‌کنند و مانونیل دی آلدئید را تشکیل می‌دهند. این ترکیب یک آلدهید از گونه‌های الکتروفیل واکنشی است که باعث ایجاد استرس سمی در سلول‌ها می‌شود و به‌عنوان بیومارکر برای اندازه‌گیری سطح استرس اکسیداتیو در سلول مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۴،۷،۵).

در مورد مکانیزم اثر MDA گزارش شده که مالون دی آلدئید با دزوکسی آدنوزین و دزوکسی گوآنوین در DNA واکنش می‌دهد و قطعه‌های DNA را تشکیل می‌دهد که M1G اولیه یکی از آن‌ها بوده و موتاژن است (۹،۵،۱۹). در انسان آلدئید دهیدروژناز قادر به اکسیداسیون مالون دی آلدئید است. مشاهده گردیده است که DDW به‌خصوص در غلظت‌های پایین میزان MDA را کاهش می‌دهد (۱۹،۹). دلیل این کار زیاد مشخص نیست ولی احتمال داده می‌شود که بنابر دلایلی هم‌چون تغییر پتانسیل غشاء سلولی توسط تغییر نسبت دوتریم و هیدروژن و کاهش میزان دوتریم، بسته شدن یا کوتاه شدن مسیرهای چرخه سلولی از جمله فازS و G1/M و مهار شرایط استرس سلولی توسط کاهش میزان دوتریم درDDW عواملی باشند که باعث مهار سنتز آنزیم‌های اشاره شده در مسیر سنتز مالون دی آلدئید می‌گردند (۲۳،۲).

در پژوهش حاضر نیز فاکتورهای مؤثر در سیستم آنتی-اکسیدانی در سطح سلول مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که با کاهش غلظت دوتریم در DDW فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز روند افزایشی پیدا می‌کند و بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که کاهش رشد سلولی و افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی با هم ارتباط معنی‌داری داشته و در نهایت به‌صورت هماهنگ مهار رشد سلول‌های سرطانی را القا می‌کنند. از طرف دیگر مشاهده گردید که با افزایش غلظت DDW، سطح مالون دی آلدهید (فاکتور شرایط پراکسیداتیو) نیز افزایش می‌یابد. نتایج این پژوهش نشان داد که DDW بر عکس آب شهری (DDW150ppm) در القاء سیستم آنتی‌اکسیدانی و مهار شرایط پراکسیداتیو نقش مهمی را ایفا می کند.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌های ما نشان داد که آب‌تهی شده از دوتریم در غلظت-های پایین دوتریم به‌ویژه در غلظت‌های زیر ۱۲۵ ppm به-صورت سینرژیک با داروی شیمی درمانی 5-FU، باعث کاهش رشد سلول‌های سرطانی سینه و القاء سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]

منابع

1. Abei H. Catalase in vitro. *Methods enzymol,* 1984; 105:121-6.
2. Chen KS, Katz J. Zonation of glycogen and glucose syntheses, but not glycolysis, in rat liver. *Biochem J*, 1988; 255: 99-104.
3. Cong FS, Zhang YR, Sheng HC, Ao ZH, Zhang SY, Wang JY. Deuterium-depleted water inhibits human lung carcinoma cell growth by apoptosis. *Exp Ther Med,* 2010; 2(1) 227-83.
4.Criss RE. Principles of stable isotope distribution. 1st ed. (NY): *Oxford University Press*; 1999.
5. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Card Dis*, 2005; 15 (4): 316–28.
6. Duffy MG. CA15-3 and related mucins as circulating markers in breast cancer. *Ann Clin Biochem*, 1999; 5:579 - 586.
7. Farmer EE, Davoine C .Reactive electrophile species. *Curr Opin Plant Biol,* 2007; 10 (4): 380–6.
8. Harris AL. Hypoxia-a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer*, 2002; 2(1):38-47.
9. Hartman PE, Putative mutagens and carcinogens in foods. IV. Malonaldehyde (malondialdehyde). *Environ Mutagen,* 1983; 5(4):603-7.
10. Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danneberg P, Mooren D, Griesbach L, Duschinsky R, Schnitzer RJ, Pleven E, Scheiner J. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds. *Nature,* 1957; 179(4561):663-6.
11. Howell A, Sims AH, Ong KR, Harvie MN, Evans DGR, Clarke RB. Mechanisms of disease: prediction and prevention of breast cancer-cellular and molecular interactions. *Nat Rev Clin Oncol,* 2005; 2(12):635-46.
12. Kabel AM. Tumor markers of breast cancer: New prospective. *J Oncol Sci*, 2017; 3(1):5-11.
13. Katz JJ, Crespi HL. Isotope effects in biological system. New York (NY): *Van Nostrand Reinhold*; 1970.
14. Katz JJ, Crespi HL, Czajka DM, Finkel AJ. Course of deuteriation and some physiological effects of deuterium in mice. *Am J Physiol,* 1962; 203(5):907-13.
15. Kim JY, Van Cott EM, Lewandrowski KB. The use of decision analysis tools for the selection of clinical laboratory tests: Developing diagnostic and forecasting models using laboratory evidence. *Arch Pathol Lab Med,* 2011: 305-322.
16. Kirshenbaum I. Physical properties and analysis of heavy water. *London (NY): McGraw-Hill*; 1979.
17. Krempels K, Somlyai I, Somlyai G. A retrospective evaluation of the effects of deuterium depleted water consumption on 4 patients with brain metastases from lung cancer. *Integer Cancer Ther*, 2008; 7(3):172-81.
18. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer,* 2003; 3(5):330-8.
19. Marnett LJ .Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*, 1999; 424 (1–2): 83–95.
20. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem,* 1969; 244(22):6049-55.
21. Murry RK, Ganner DK, Maybs PA, Rodwel VW. Harper's Illustrated Biochemistry. 28th ed. New Delhi(India): *McGraw-Hill*;2009.
22. Nair V, O'Neil CL, Wang PG. Malondialdehyde. In: Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis. Nair V, ONeil CL, Wang PG. Ltd. New York: *John Wiley & Sons*; 2008.
23. Olariu L, Petcu M, Tulcan C, Chis-Buiga I, Pup M, Florin M, et al. Deuterium depleted water-Antioxidant or Prooxidant. *Lucr St Med Vet Timisoara*, 2007:265-9.
24. Pryor WA, Stanley JP .Letter: A suggested mechanism for the production of malondialdehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *J Org Chem* , 1975; 40 (24): 3615–7.
25. Soleyman-Jahi S, Zendehdel K, Akbarzadeh K, Haddadi M, Amanpour S, Muhammadnejad S. In vitro assessment of antineoplastic effects of deuterium depleted water. *Asian Pac J Cancer Prev,* 2014; 15:2179-83.
26. Somlyai G, Jancso G, Jakli G, Vass K, Barna B, Lakics V, et al. Naturally occurring deuterium is essential for the normal growth rate of cells. *FEBS Lett*, 1993; 317(1):1-4.
27. Somlyai G, Molnar M, Laskay G, Szabo M, Berkenyi T, Guller I, et al. Biological significance of naturally occurring deuterium: the antitumor effect of deuterium depletion. *Orv Hetil,* 2010; 151(36):1455-60.
28. Spitz DR, Sim JE, Ridnour LA, Galoforo SS, Lee YJ. Glucose Deprivation Induced Oxidative Stress in Human Tumor Cells: A Fundamental Defect in Metabolism?. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 899(1):349-62.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]

29.Twentyman P, Luscombe M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. *Br J Cancer*, 1987; 56(3):279.
30. Varangot M, Barrios E, Sonora C, Aizen B, Pressa C, Estrugo R, et al. Clinical evaluation of a panel of mRNA markers in the detection of disseminated tumor cells in patients with operable breast cancer. *Oncol Rep,* 2005; 14(2):537-46.
31. Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact,* 2006; 160(1):1-40.
32. Wang H, Zhu B, He Z, Fu H, Dai Z, Huang G, et al. Deuterium-depleted water (DDW) inhibits the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells in vitro. *Biomed Pharmacother,* 2013; 67(6):489-96.
33. Xu Y, Xin Y, Diao Y, Lu C, Fu J, Luo L, et al. Synergistic effects of apigenin and paclitaxel on apoptosis of cancer cells. *PloS one*, 2011; 6(12):e29169.
34. Yavari K, GholamaliM, Yazdian F. Decreasing of Deuterium Concentration of Water: A Possible Tool in Diabetes Therapy. *Electron J Boil,* 2017; 13(4): 314-319.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-12-24]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.1.5]