تأثیر ۳ و ۴ دی هیدروکسی فنیل اتانول بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان مالون دی آلدئید در رده سلولی HCT-116

ماندانا بیگی بروجنی[۱]، آتنا صالحی مرزیجرانی[۲]، نسیم بیگی بروجنی[۳]، حسن احمدوند[۴]، مریم هرمزی[۵*]

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- کارشناس ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۴- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و فرآورده‌های طبیعی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۵- دانشیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

یافته / دوره ۲۵ / شماره ۲ / تابستان ۱۴۰۲ / مسلسل ۹۶

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۲/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۵/۱

مقدمه: شواهد زیادی مبنی براثر ضد سرطانی آنتی‌اکسیدان‌ها وجود دارد. دی هیدروکسی فنیل اتانول یک آنتی‌اکسیدان قوی است که دارای چندین فعالیت نظیر کنترل استرس اکسیداتیو، مهار تکثیر سلولی و القای آپوپتوز است. در این مطالعه اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در رده سلولی HCT-116 سرطان کولورکتال انسانی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، رده سلولی سرطان کولورکتال انسانی HCT-116 به مدت ۲۴ ساعت تحت تیمار با غلظت‌های مختلف دی هیدروکسی فنیل اتانول (۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰ و ۵۰ میکرومولار) قرار گرفتند سپس میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسیداز با روش‌های کالریمتریک سنجیده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمار با ۳ و ۴ دی هیدروکسی فنیل اتانول منجر به کاهش معنی‌دار غلظت مالون دی آلدئید و نیز افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، سوپراکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: احتمالاً دی هیدروکسی فنیل اتانول با تغییرات ایجادشده در میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث کاهش استرس اکسیداتیو در رده سلولی HCT-116 می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سرطان کولورکتال، ۳ و ۴ دی هیدروکسی فنیل اتانول، آنزیم، آنتی‌اکسیدان.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی.

پست الکترونیک: maryamhormozi@yahoo.com

مقدمه

استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها است. درواقع استرس اکسیداتیو در اثر کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن ایجاد می‌شود، اختلال در عملکرد میتوکندری و کاهش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش بسزایی در این فرایند دارد (۱-۳) بدن به‌واسطه آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی واکنش‌های رادیکال‌های آزاد را تضعیف می‌کند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیس‌موتاز و کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز، گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن را به ترکیبات نسبتاً پایدار تبدیل می‌کنند(۴). سرطان کولورکتال از شایع‌ترین علت‌های مرگ ناشی از سرطان در دنیا است. این بیماری چهارمین سرطان شایع در ایران بوده که یک‌پنجم سرطان در ایران را شامل می‌شود (۵). هرچند مسائل ژنتیکی و بیماری‌های التهابی روده از عوامل مؤثر در بروز بیماری به شمار می‌روند، امروزه ارتباط نزدیکی بین سرطان کولورکتال و بعضی عادات فردی نظیر شیوه زندگی و رفتارهای تغذیه‌ای نشان داده شده است (۶).در سال‌های اخیر بحث آنتی‌اکسیدان‌ها اهمیت فراوانی در درمان‌های غذایی سرطان پیدا کرده است (۷) زیرا این ترکیبات با اتصال به رادیکال‌های آزاد باعث غیرفعال شدن آن‌ها قبل از آسیب آن‌ها به مولکول‌های حیاتی می‌شوند (۸). دی هیدروکسی فنیل اتانول، اصلی‌ترین ترکیب روغن‌زیتون و برگ زیتون، به‌عنوان قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان در بین همه‌ی پلی فنول‌های روغن زیتون شناخته شده است (۹) . این ماده فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی در شرایط آزمایشگاهی (۱۰) و اثرات مختلفی نظیر خواص ضدالتهابی، ضد توموری، ضد آتروژنیک و ضد ترومبوتیک دارد (۱۱-۱۳) این ماده با مهار استرس اکسیداتیو از ایجاد بیماری‌هایی مانند سرطان، بیماری‌های دژنراتیو و بیماری‌های قلبی-عروقی جلوگیری کند (۹). دی هیدروکسی فنیل اتانول فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز کاتالاز را به‌طور مؤثر بهبود می‌بخشد. این امر منجر به تجزیه پراکسید هیدروژن و تولید اکسیژن و آب می‌شود (۱۴). از ویژگی‌های دیگر این ماده به نقش پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، شکستن واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها، مهار رادیکال‌های هیپوکلروئیک اسید و ... .اشاره نمود. شواهد موجود نشان می‌دهد که دی هیدروکسی فنیل اتانول ممکن است باعث حفاظت غیرمستقیم، از طریق افزایش سیستم دفاعی اندوژن را برای بدن فراهم نماید (۱۵). اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر سلول‌های رنگ‌دانه شبکیه که توسط آکرولین دچار استرس اکسیداتیو شده‌اند، نشان داده است که دی هیدروکسی فنیل اتانول انتقال Nrf2 به هسته را افزایش می‌دهد، درنتیجه بیان و فعالیت پروتئین‌ها نظیر گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، هم اکسیژناز۱ و کاتالاز افزایش می‌یابد. این نتایج نشان می‌دهد که دی هیدروکسی فنیل اتانول علاوه بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی مستقیم، ویژگی آنتی‌اکسیدانی غیرمستقیم نیز داراست (۱۶). دی هیدروکسی فنیل اتانول همچنین اختلال عملکرد اندوتلیال را بهبود، استرس اکسیداتیو را کاهش و دارای اثرات محافظت‌کننده عصبی و قلبی است (۱۷).

اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر سلول‌های اندوتلیال عروق ریه نشان داده است که دی هیدروکسی فنیل اتانول از طریق افزایشmRNA کاتالاز و افزایش بیان و فعالیت فاکتور رونویسی Foxo3a، از افزایش گونه های فعال اکسیژن جلوگیری می‌کند. در حقیقت Foxo3a به‌طور مستقیم بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را از طریق فسفریلاسیون AMPK (AMP-activated protein kinase) ، افزایش می‌دهد؛ بنابراین شواهد نشان می‌دهد که دی هیدروکسی فنیل اتانول به‌طور مثبت سیستم دفاع

آنتی‌اکسیدانی را تنظیم می‌کند (۱۸). دی هیدروکسی فنیل اتانول به علت فعالیت‌های ضدالتهابی، ضد تکثیری، پروآپوپتوتیک و آنتی‌اکسیدانی بسیار موردتوجه قرار گرفته است (۱۹). از آنجائی که استرس اکسیداتیو در آسیب به ماکرومولکول‌هایی مانند DNA، پروتئین‌ها و شروع و پیشرفت بیماری‌های مختلف نظیر سرطان نقش مهمی دارد به نظر می‌رسد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های اگزوژن می‌تواند از آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری نماید، لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر غلظت‌های مختلف دی هیدروکسی فنیل اتانول بر میزان مالون دی آلدهید و بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز) در رده سلولی HCT-116 سرطان کولورکتال انسانی بود.

مواد و روش‌ها

کشت سلول‌ها

در این مطالعه، رده سلولی سرطان کولورکتال انسانی HCT-116 از بانک سلولی انستیتوپاستور تهران تهیه شد و در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰ درصد FBS و 100 IU/ml پنی‌سیلین و 100 µg/ml استرپتومایسین، در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO2 و رطوبت مناسب کشت داده شدند.

تیمار سلول‌ها

چهار غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار دی هیدروکسی فنیل اتانول و زمان ۲۴ ساعت برای تیمار انتخاب شد؛ بنابراین بررسی در پنج گروه شامل گروه کنترل و چهار گروه تیمار با غلظت‌های مختلف هیدروکسی تیروزل انجام شد. پس از تیمار سلول‌ها جمع‌آوری و محتوی پروتئینی سلول‌ها استخراج شد. جهت اندازه‌گیری غلظت پروتئین موجود در هر نمونه از روش Bradford استفاده شد (۲۰).

سنجش میزان مالون دی آلدهید

جهت سنجش میزان مالون دی آلدئید ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه به ۱۵۰۰ میکرو لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۶% و ۱۰۰۰ میکرو لیتر تری کلرواستیک اسید ۱% اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه درون بن ماری (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند، بعد از سرد شدن نمونه‌ها به مدت، ۱۵ دقیقه با دور rpm ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. مقداری از مایع رویی (سوپرناتانت) را برداشته و جذب آن را در طول‌موج ۵۳۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک قرائت شد. مقدار جذب‌های به‌دست‌آمده با استفاده از ضریب مولی برحسب nmol/mg protein به دست آمد (۲۱)

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

جهت سنجش کاتالاز، درون لوله‌آزمایش ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH=7 و ۵۰ میکرولیتر نمونه ریخته شد، هنگام قرائت نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر، ۵۰ میکرولیتر H_2O_2 را به سایر ترکیبات اضافه جذب نمونه‌ها را در زمان‌های صفر، ۳۰ و ۶۰ ثانیه در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد... مقدار جذب به‌دست‌آمده با استفاده از ضریب مولی و غلظت پروتئین توتال سنجیده شده به‌صورت میزان فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز برحسب unit/mg protein به دست آمد (۲۲).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

برای سنجش سوپراکسید دیسموتاز ۲۵ میکرولیتر نمونه به ۷۲۵ میکرولیتر از بافر Tris-EDTA اضافه شد و هنگام قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتر، به آن ۸۰ میکرولیتر Pyrogallol اضافه و جذب نمونه‌ها را در زمان‌های ۹۰ ثانیه و ۲۱۰ ثانیه در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد. مقدار جذب به‌دست‌آمده با استفاده از ضریب مولی و غلظت پروتئین توتال سنجیده

شده به‌صورت میزان فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برحسب unit/mg protein به دست آمد (۲۳)

سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

جهت سنجش گلوتاتیون پراکسیداز، به ۲۰۰ میکرولیتر بافر Tris-Hcl ۰/۴ مولار با pH=7، ۱۰۰ میکرولیتر سدیم آزید ۱ میلی مولار، ۲۰۰ میکرولیتر نمونه، ۲۰۰ میکرولیتر گلوتاتیون ۲ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۰/۲ میلی مولار اضافه و ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس‌ازآن ۰/۴ میلی‌لیتر ۱۰٪ TCA، اضافه شد سپس نمونه‌ها به مدت ۳ دقیقه با دور ۲۰۰۰rpm سانتریفیوژ شدند. ۲۵ میکرولیتر از مایع رویی (سوپرناتانت) در خانه‌های یکروپلیت های الایزا ریخته و ۱۴۰ میکرولیتر Tris-EDTA ۰/۲ مولار با pH=8 و ۳۰ میکرولیتر DTNB به آن‌ها اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوبه کردن در دمای اتاق جذب نمونه‌ها به کمک دستگاه الایزا ریدر در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شد. مقدار جذب‌های به‌دست‌آمده با استفاده از ضریب مولی و غلظت پروتئین توتال سنجیده شده به‌صورت میزان فعالیت ویژه برحسب unit/mg protein به دست آمد (۲۴)

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

تمامی داده‌های به‌دست‌آمده از این مطالعه حاصل سه بار تکرار از سه آزمایش مستقل بوده است. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. برای توصیف داده‌ها از میانگین، انحراف معیار و برای تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با توجه به توزیع نرمال داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی لرستان با کد اخلاق IR.LUMS.REC.1396.315 ثبت شده است

یافته ها

اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر میزان مالون دی آلدئید

دی هیدروکسی فنیل اتانول در تمام غلظت‌ها (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰)، غلظت مالون دی آلدئید را به ترتیب ۰/۷، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۶ برابر در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد و این کاهش ازلحاظ آماری معنی‌دار بود ($P <$۰/۰۵). (جدول ۱)

اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که دی هیدروکسی فنیل اتانول در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار، فعالیت آنزیم کاتالاز را به ترتیب ۱/۲، ۲ و ۱/۷ برابر در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P <$۰/۰۵). در غلظت ۲۰۰ میکرومولار دی هیدروکسی فنیل اتانول، فعالیت آنزیم کاتالاز با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. (جدول ۱)

اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

دی هیدروکسی فنیل اتانول در تمام غلظت‌ها (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز را به ترتیب ۳۴، ۵۲، ۴۵/۷ و ۵۲/۴ برابر در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P <$۰/۰۵). (جدول ۱)

اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر فعالیت آنزیم گلوتایتون پراکسیداز

دی هیدروکسی فنیل اتانول در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را به ترتیب ۱/۵، ۱/۲ و ۱/۱۶ برابر نسبت به گروه کنترل افزایش داد که این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار بود ($P <$۰/۰۵). بین گروه کنترل و غلظت ۱۵۰ میکرومولار

تیمار با دی‌هیدروکسی فنیل اتانول تفاوت معنی‌داری در فعالیت این آنزیم مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی آلدئید بین گروه‌های مورد بررسی در رده سلولی HCT-116

	کنترل (انحراف معیار± میانگین)	تیمار با غلظت ۵۰ میکرومولار (انحراف معیار± میانگین)	تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار (انحراف معیار± میانگین)	تیمار با غلظت ۱۵۰ میکرومولار (انحراف معیار± میانگین)	تیمار با غلظت ۲۰۰ میکرومولار (انحراف معیار± میانگین)	P- مقدار**
کاتالاز	۱/۴۰±۰/۰۲	۱/۷۰±۰/۰۲*	۲/۸۲±۰/۰۱*	۲/۳۷±۰/۰۱*	۱/۳۸±۰/۰۱	۰/۰۲۰
گلوتاتیون پراکسیداز	۴۸۳/۳۶±۰/۵۶	۷۳۷/۶۸±۱/۰۵*	۵۸۶/۶۳±۱/۶۹*	۴۸۵/۴۴±۱/۰۵	۵۶۴/۴۹±۰/۷۲*	۰/۰۱۱
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۰۳±۰/۰۱	۱/۰۳±۰/۰۱*	۱/۵۷±۰/۰۲*	۱/۳۷±۰/۰۲*	۱/۵۷±۰/۰۲*	۰/۰۱۰
مالون دی آلدئید	۱۷/۳۲±۰/۰۲	۵/۹۷±۰/۰۴*	۱۱/۵۵±۰/۰۳*	۷/۴۹±۰/۰۱*	۶/۹۸±۰/۰۲*	۰/۰۳۲

* معنی‌داری در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل با $P < ۰/۰۵$

** مقایسه کلیه گروه‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای یافتن محصولات طبیعی که قادر به مبارزه با سرطان کولورکتال باشد، انجام گرفته است. ازجمله این ترکیبات می‌توان به پلی فنول‌ها اشاره کرد که متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند این ترکیبات دارای اثرات مفیدی بر سلامت انسان هستند و ریسک ابتلا به بیشتر سرطان‌ها را کاهش می‌دهند (۲۵). در طی فعالیت‌های نرمال سلولی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید می‌گردد که علاوه بر عملکردهای سودمند، در آپوپتوز نقش حیاتی دارند. گونه‌های فعال اکسیژن در سطح پایین فیزیولوژیکی به‌عنوان پیام‌رسان ردوکس، در پیام‌رسانی و تنظیم درون‌سلولی عمل می‌کنند. درحالی‌که در سطح بالا ایجاد استرس اکسیداتیو می‌کند و باعث ایجاد تغییرات در ماکرومولکول‌ها می‌شود. هر سلول برای جلوگیری از تولید بیش‌ازحد رادیکال‌های فعال به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مجهز است (۲۶). مطالعات in vitro نشان داده است که اثرات مفید ترکیبات فنولی نظیر دی هیدروکسی فنیل اتانول بر سلامت انسان به‌واسطه ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است. در مطالعه‌ای که بر روی رده سلولی Caco-2 انجام گرفته است، نشان داده شده که دی هیدروکسی فنیل اتانول سیتوتوکسیته ناشی از ROS را در این سلول‌ها مهار می‌کند و میزان مالون دی آلدئید را به‌صورت وابسته به دوز در گروه‌های درمانی کاهش می‌دهد (۲۷).

نتایج این مطالعه نشان داده که دی هیدروکسی فنیل اتانول فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی شامل کاتالاز، سوپراکسید دیس موتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در تمامی گروه‌های درمان شده نسبت به کنترل به شکل معنی‌داری در رده سلولی HCT-116 را افزایش نشان داده است و همچنین غلظت مالون دی آلدئید نیز در گروه‌های درمان شده نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داده است. Zou و همکاران نشان دادند که دی هیدروکسی فنیل اتانول با افزایش بیان و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون پراکسیداز از سلول‌های ARPE-19 (سلول‌های نرمال شبکیه چشم) در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از آکرولین جلوگیری می‌کند (۲۸). به نظر می‌رسد که در مطالعه حاضر علت کاهش میزان مالون دی آلدئید به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و

کاهش رادیکال‌های آزاد در محیط توسط دی هیدروکسی فنیل اتانول باشد.

مطالعه انجام‌شده بر روی رده سلولی VECS (سلول‌های اندوتلیال ریه خوک) نشان داد که دی هیدروکسی فنیل اتانول با افزایش بیان فاکتور رونویسی FOXO3a، بیان و فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش می‌دهد و از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو در این سلول‌ها جلوگیری می‌کند (۱۸). در مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی اثر دی هیدروکسی فنیل اتانول و تیروزول بر سلول‌های سرطان سینه (MCF-7 و MDA-MB-231) و سلول‌های اپی‌تلیال نرمال سینه (MCF-10A) انجام شد، نشان داده شده است که دی هیدروکسی فنیل اتانول و تیروزول باعث کاهش سطح ROS داخل سلولی و آسیب اکسیداتیو در سلول‌های نرمال سینه می‌شود؛ که این می‌تواند از سلول‌ها در برابر جهش‌های سلولی و سرطان‌زایی جلوگیری کند (۲۹). مطالعات مختلف نشان داده است ترکیبات ضد سرطانی که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی هستند، ممکن است اثرات سودمند خود را به‌واسطه متعادل ساختن سطوحROS اعمال نمایند، به‌طوری‌که نه‌تنها از تکثیر سلول‌های سرطانی ممانعت نمایند بلکه امکان وقوع آپوپتوز را نیز فراهم کنند. در مطالعه‌ای مشابه با تحقیق حاضر مشخص شده است که مشتق نیمه سنتزی یک آلکالوئید ضد سرطانی از طریق تولید ROS و افزایش استرس اکسیداتیو اثر سمیت بر روی رده‌ی سلولی سرطان سینه MCF-7 اعمال می‌نماید، همچنین در این مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسیداز پس از تیمار با این ترکیب افزایش یافته است (۳۰). به نظر می‌رسد این افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به‌عنوان پاسخی برای افزایش استرس اکسیداتیو در سلول‌های تیمار شده باشد.

درمجموع به نظر می‌رسد که دی هیدروکسی فنیل اتانول با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌های تیمار شده، احتمالاً سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول را تغییر می‌دهد. با توجه به نتایج در محیط آزمایشگاهی پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای در محیط in vivo، به‌منظور بررسی اثرات دی هیدروکسی فنیل اتانول بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاع آنتی‌اکسیدانی انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت حمایت مالی طرح در قالب پایان‌نامه دانشجویی (کد علمی ۵۴۸) تشکر و قدر دانی می‌گردد.

References

1. Wang H, Cheng X, Zhang L, Xu S, Zhang Q, Lu R. A surface-layer protein from Lactobacillus acidophilus NCFM induces autophagic death in HCT116 cells requiring ROS-mediated modulation of mTOR and JNK signaling pathways. Food & Function. 2019;10(7):4102–4112.
2. Li H, Liu Y, Tang S, Hu J, Wu Q, Wei Y, et al. Carbonic anhydrase III attenuates hypoxia-induced apoptosis and activates PI3K/Akt/mTOR pathway in H9c2 cardiomyocyte cell line. Cardiovascular Toxicology. 2021;21(11):914–926.
3. Devasagayam T, Tilak J, Boloor K, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele R. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. Japi. 2004;52(794804):4.
4. Kumar S. Free radicals and antioxidants: human and food system. Adv Appl Sci Res. 2011;2(1):129-35.
5. Mahdavinia M, Bishehsari F, Ansari R, Norouzbeigi N, Khaleghinejad A, Hormazdi M, et al. Family history of colorectal cancer in Iran. BMC cancer. 2005;5(1):112.
6. Fauci AS. Harrison's principles of internal medicine: McGraw-Hill, Medical Publishing Division New York; 2008
7. Borek C. Dietary antioxidants and human cancer. Integrative cancer therapies.2004;3(4):333-41.
8. Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. Biochemical Society Symposia; Portland Press Limited.1995;61:73-101.
9. Li X, Tian X , Liu T , Li M , Wang W , Wang P , Guo Z. Hydroxytyrosol alleviated hypoxia-mediated PC12 cell damage through activating PI3K/AKT/mTOR-HIF-1 α sjjignaling Oxid Med Cell Longev; 2022:8673728.
10. Lee S and Park Y, The Emerging Roles of Antioxidant Enzymes by Dietary Phytochemicals in Vascular Diseases. Life (Basel); 2021:11(3):199.
11. Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. Biochemical and biophysical research communications. 1998;247(1):60-4.
12. Voltes A, Bermúdez A, Rodríguez-Gutiérrez G, Reyes M L, Olano C, Fernandez-Bolanos J, et al. Anti-inflammatory local effect of Hydroxytyrosol combined with pectin-alginate and olive oil on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in Wistar rats. Journal of investigative surgery: the official journal of the Academy of Surgical Research. 2020;33(1):8–14.
13. D'Angelo C, Franceschelli S, Quiles J. L, Speranza L. Wide biological role of hydroxytyrosol: possible therapeutic and preventive properties in cardiovascular diseases. Cells-Basel. 2020; 9(9):1932
14. Imran M, Nadeem M, Gilani S. A, Khan S, Sajid M. W, Amir R. M. Antitumor perspectives of oleuropein and its metabolite Hydroxytyrosol: recent updates. Journal of Food Science. 2018; 83(7):1781–1791

15. Bernini R, Crisante F, Barontini M, Tofani D, Balducci V, Gambacorta A. Synthesis and structure/antioxidant activity relationship of novel catecholic antioxidant structural analogues to hydroxytyrosol and its lipophilic esters. Journal of agricultural and food chemistry. 2012;60(30):7408-16.
16. Zhu L, Liu Z, Feng Z, Hao J, Shen W, Li X, et al. Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells. The Journal of nutritional biochemistry. 2010;21(11):1089-98.
17. Bertelli M , Kiani AK , Paolacci S , Manara E , Kurti D , Dhuli K, et al. Hydroxytyrosol: a natural compound with promising pharmacological activities. Journal of Biotechnology. 2020; 309:29–33.
18. Zrelli H, Matsuoka M, Kitazaki S, Zarrouk M, Miyazaki H. Hydroxytyrosol reduces intracellular reactive oxygen species levels in vascular endothelial cells by upregulating catalase expression through the AMPK–FOXO3a pathway. European Journal of pharmacology. 2011;660(2-3):275-282.
19. Casaburi I, Puoci F, Chimento A, Sirianni R, Ruggiero C, Avena P, et al. Potential of olive oil phenols as chemopreventive and therapeutic agents against cancer: a review of in vitro studies. Molecular nutrition & food research. 2013;57(1):71-83.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72:248-254.
21. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979; 95(2):351-358.
22. Sinha AK. Colorimetric assay of catalase. Anal Biochem.1972; 47(2):389–394
23. Marklund, S. and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 47, pg. 469-474.
24. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Lab Clin Med. 1967; 70:158-169.
25. Zeriouh W, Nani A, Belarbi M, Dumont A, De Rosny C, Aboura I, et al. Phenolic extract from oleaster (Olea europaea var. Sylvestris) leaves reduces colon cancer growth and induces caspase-dependent apoptosis in colon cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. PloS one. 2017;12(2): 1708-23.
26. Khoshtabiat L, Mahdavi M. The Role of Oxidative Stress in Proliferation and Cell Death. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2015;25(127):130-45.
27. Manna C, Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A, D'Angelo S, Galletti P, et al.

Biological effects of hydroxytyrosol, a polyphenol from olive oil endowed with antioxidant activity. Advances in Nutrition and Cancer 2: Springer; 1999. p. 115-30.

28. Zou X, Feng Z, Li Y, Wang Y, Wertz K, Weber P, et al. Stimulation of GSH synthesis to prevent oxidative stress-induced apoptosis by hydroxytyrosol in human retinal pigment epithelial cells: activation of Nrf2 and JNK-p62/SQSTM1 pathways. The Journal of nutritional biochemistry. 2012;23(8):994-1006.
29. Warleta F, Quesada CS, Campos M, Allouche Y, Beltrán G, Gaforio JJ. Hydroxytyrosol protects against oxidative DNA damage in human breast cells. Nutrients. 2011;3(10):839-57.
30. Timur M, Akbas SH, Ozben T. The effect of Topotecan on oxidative stress in MCF-7 human breast cancer cell line. ACTA BIOCHIMICA POLONICA-ENGLISH EDITION. 2005;52(4):897.

Effect of 3, 4-Dihydroxyphenylethanol on Antioxidant Enzymes Activity and Malondialdehyde Level in HCT-116 Cell Line

Beigi Boroujeni M[1], Salehi Marijrani A[2], Beigi Boroujeni N[1], Ahmadvand H[3], Hormozi M[4*]

1. Associate Professor, Razi Herbal Medicines Research Center, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

2. MSc Student, Student Research Committee, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

3. Assistant Professor, Razi Herbal Medicines Research Center, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

4. Professor, Medicinal Plants and Natural Products Research Center, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

5. Associate Professor, Razi Herbal Medicines Research Center, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, maryamhormozi@yahoo.com

Received: *2023/5/2* Accepted: *2023/7/23*

Abstract

Background: There is much evidence-based research on the anti-cancerous effect of antioxidants. Dihydroxyphenylethanol is a potent antioxidant that has several activities, such as oxidant stress control, cell proliferation inhibitory activity, and apoptosis induction. The present study aimed to evaluate the effect of dihydroxyphenylethanol on antioxidant enzyme activity and malondialdehyde level in the HCT-116 cell line.

Materials and Methods: In this study, a human colorectal cancer cell line HCT-116 was treated with different concentrations of 3, 4-dihydroxyphenylethanol (50, 100, 150, and 200 μM) for 24 h. Then, the level of malondialdehyde and activity of enzymes of catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase were measured by colorimetric methods.

Results: The results showed that 3,4-dihydroxyphenylethanol administration resulted in significant reduction of the malondialdehyde concentration and also significant increase of the antioxidant enzymes (e.g., catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase) in the treatment groups compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: Overall, 3, 4-dihydroxyphenylethanol may result in reduction of oxidative stress on HCT-116 line through changes in concentration of the malondialdehyde and antioxidant enzymes activity.

Keywords: Antioxidant, Colorectal cancer, Enzyme, 3, 4-Dihydroxyphenylethanol.

Citation: Beigi Boroujeni M, Salehi Marijrani A, Beigi Boroujeni N, Ahmadvand H, Hormozi M. Effect of 3, 4-Dihydroxyphenylethanol on Antioxidant Enzymes Activity and Malondialdehyde Level in HCT-116 Cell Line. Yafte. 2023; 25(2):75-84.