



تحقیقی

اثر حفاظتی لیکوپن به همراه Q10 بر سمیت ژنتیکی ۵-فلورواوراسیل بر رده سلولی SW480 (سرطان کولورکتال) و MSC (سلول‌های بنیادی مغز استخوان) به روش Comet

دکتر الهه قره‌خانی^۱، ساجده زیبایی^۲، دکتر محبوبه رحمتی کوکنده^۳، دکتر رامین عطایی^۴، دکتر محمد شکرزاده^{۵*}

^۱ دکتری تخصصی سم‌شناسی، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ^۲ دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ^۳ دکتری تخصصی سم‌شناسی، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ^۴ دانشیار داروشناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ^۵ استاد، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ^۶ مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: ۵-فلورواوراسیل (5-FU) یک داروی شیمی‌درمانی رایج در درمان سرطان کولورکتال است. با این حال، سمیت ژنتیکی آن می‌تواند منجر به آسیب DNA در سلول‌های سالم شود. لیکوپن و کوآنزیم Q10 آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که می‌توانند اثرات محافظتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو داشته باشند. این مطالعه به منظور تعیین اثر حفاظتی لیکوپن به همراه Q10 بر سمیت ژنتیکی ۵-فلورواوراسیل بر رده سلولی SW480 (سرطان کولورکتال) و MSC (سلول‌های بنیادی مغز استخوان) به روش Comet انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی تحلیلی روی رده‌های سلولی SW480 و MSC تهیه شده از بانک سلولی ذخایر ملی ژنتیک ایران در آزمایشگاه کشت سلولی دانشکده داروسازی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. رده‌های سلولی SW480 و MSC با تراکم کشت سلول 1×10^4 در معرض تک دوز 5-FU (یک میکرومولار) و غلظت‌های مختلف لیکوپن و Q10 (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرومولار) قرار گرفتند. گروه‌بندی برای هر رده سلولی هفت گروه شامل گروه کنترل بدون تیمار؛ گروه 5-FU در غلظت اپتیمم ($1 \mu\text{M}$)؛ گروه‌های دریافت‌کننده Q10 با غلظت‌های $10 \mu\text{M}$ ، $20 \mu\text{M}$ و $30 \mu\text{M}$ به همراه لیکوپن به ترتیب با غلظت‌های $10 \mu\text{M}$ ، $20 \mu\text{M}$ و $30 \mu\text{M}$ به همراه تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم ($1 \mu\text{M}$)؛ گروه دریافت‌کننده Q10 ($30 \mu\text{M}$) و گروه دریافت‌کننده لیکوپن ($30 \mu\text{M}$) بودند. سمیت سلولی با استفاده از روش MTT و آسیب DNA با استفاده از روش Comet Assay ارزیابی شد.

یافته‌ها: 5-FU باعث کاهش معنی‌دار در زنده‌مانی سلولی و افزایش آسیب DNA شد ($P < 0.05$). لیکوپن و Q10 به تنهایی سمیت سلولی قابل توجهی نداشتند. ترکیب لیکوپن و Q10 با 5-FU باعث افزایش زنده‌مانی سلولی و کاهش آسیب DNA در مقایسه با گروه تحت درمان با 5-FU به تنهایی شد.

نتیجه‌گیری: لیکوپن و Q10 اثرات محافظتی قابل توجهی در برابر سمیت ژنتیکی ناشی از 5-FU در رده‌های سلولی SW480 و MSC نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: ۵-فلورواوراسیل، لیکوپن، کوآنزیم Q10، سمیت ژنتیکی، روش Comet

* نویسنده مسئول: دکتر محمد شکرزاده، پست الکترونیکی: mshokrzadeh@mazums.ac.ir و mslamuk@yahoo.com

نشانی: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، تلفن: ۰۱۱-۳۳۰۴۴۰۰۰ داخلی ۲۰۳۸

وصول ۱۴۰۳/۱۰/۹ اصلاح نهایی ۱۴۰۴/۶/۲۱ پذیرش ۱۴۰۴/۶/۳۱ انتشار In Press

مقدمه

جمله این عوارض می‌توان به القای مرگ سلول‌های زایا در هر دو جنس،^۱ ایجاد اختلال ژنتیکی و انتقال آن به نسل بعد^۲ و القای آپوپتوز در سلول‌های بیضه به واسطه افزایش میزان ROS درون سلولی^۳ اشاره کرد. یکی از مهم‌ترین این عوارض، سمیت ژنتیکی ۵-FU است که می‌تواند منجر به آسیب به DNA سلول‌های سالم، از جمله سلول‌های مغز استخوان شود. این آسیب‌ها می‌توانند زمینه‌ساز بروز بیماری‌های ثانویه، اختلال در عملکرد سیستم ایمنی و

سرطان کولورکتال، یکی از بیماری‌های شایع با میزان مرگ‌ومیر بالا در سراسر جهان است. پیچیدگی‌های ژنتیکی و مولکولی این بیماری، درمان آن را با چالش‌های جدی مواجه کرده است.^۴ در حال حاضر، ۵-فلورواوراسیل (5-FU) به عنوان یکی از اصلی‌ترین داروهای شیمی‌درمانی در درمان سرطان کولورکتال شناخته می‌شود؛ اما استفاده از آن با عوارض جانبی متعددی همراه است.^۵ از

کیفیت تخمک را بالا برده و احتمال باروری را افزایش دهد.^{۱۵} علاوه بر این ثابت شده Q10 تعادل ایمنی و آنتی‌اکسیدان را تنظیم می‌کند؛ متابولیسم گلوکز و لیپید را تقویت می‌کند. این ویژگی‌ها برای معکوس کردن اختلالات تخمدان، بهبود تخمک‌گذاری، افزایش بلوغ / لقاح تخمک و بهینه‌سازی رشد جنینی برجسته می‌شوند. همچنین Q10 می‌تواند با کاهش ROS تولید شده در میتوکندری از روند پیری در این اندامک و در نهایت مرگ سلولی جلوگیری کند.^{۱۶}

روش Comet قلیایی، یک روش حساس و دقیق برای ارزیابی آسیب‌های DNA در سطح تک سلولی است. در این روش، سلول‌ها پس از تیمار با FU-۵ و ترکیبات لیکوپن و کوآنزیم Q10، در معرض یک میدان الکتریکی قرار می‌گیرند. در اثر این میدان، DNA آسیب‌دیده از هسته سلول خارج شده و به شکل یک دنباله (دم) در می‌آید که با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس قابل مشاهده است. طول و شدت فلورسانس دم، نشان‌دهنده میزان آسیب DNA در سلول است.^{۱۷}

با توجه به اهمیت کاهش عوارض جانبی داروهای شیمی‌درمانی و افزایش اثربخشی آنها؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر حفاظتی لیکوپن به همراه Q10 بر سمیت ژنتیکی ۵-فلورواوراسیل بر رده سلولی SW480 (سرطان کولون) و MSC (سلول‌های بنیادی مغز استخوان) به روش Comet انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی تحلیلی روی رده‌های سلولی SW480 و MSC تهیه شده از بانک سلولی ذخایر ملی ژنتیک ایران در آزمایشگاه کشت سلولی دانشکده داروسازی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. گروه‌بندی برای هر رده سلولی در ۷ گروه به شرح زیر بود. گروه کنترل (فاقد تیمار).

گروه دریافت‌کننده 5-FU در غلظت اپتیمم (۱ میکرومولار).

گروه دریافت‌کننده Q10 (۱۰ میکرومولار) به همراه لیکوپن (۱۰ میکرومولار) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (۱ میکرومولار).

گروه دریافت‌کننده Q10 (۲۰ μM) به همراه لیکوپن (۲۰ میکرومولار) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (۱ میکرومولار).

گروه دریافت‌کننده Q10 (۳۰ میکرومولار) به همراه لیکوپن (۳۰ میکرومولار) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (۱ میکرومولار).

گروه دریافت‌کننده Q10 (۳۰ میکرومولار).

گروه دریافت‌کننده لیکوپن (۳۰ میکرومولار).

کشت سلولی و ارزیابی سمیت سلولی: رده سلولی در محیط کشت RPMI-1640 با افزودن ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و یک درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین - استرپتومایسین کشت داده شدند و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی

حتی سرطان‌های جدید باشند. بنابراین، یافتن راهکارهایی برای کاهش سمیت ژنتیکی FU-۵ در عین حفظ اثربخشی آن در از بین بردن سلول‌های سرطانی، از اهمیت بالایی برخوردار است.^{۱۸}

در سال‌های اخیر، استفاده از ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک رویکرد مکمل در درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، از آسیب اکسیداتیو به DNA و سایر اجزای سلولی جلوگیری کنند. لیکوپن و کوآنزیم Q10 دو آنتی‌اکسیدان طبیعی هستند که نقش محافظتی آن‌ها در برابر انواع بیماری‌ها، از جمله سرطان، در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است. لیکوپن ترکیبی با منشا رنگی است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی نشان می‌دهد. اثر مثبت لیکوپن نتیجه اثر پلوتروپیک آن است.^{۱۹} لیکوپن، یک کاروتنوئید طبیعی است که به وفور در میوه‌ها و سبزیجات قرمز مانند گوجه‌فرنگی، هندوانه و گریپ‌فروت یافت می‌شود. این ترکیب، با داشتن ساختار شیمیایی خاص خود که شامل یازده پیوند دوگانه مزدوج است؛ به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل کرده و می‌تواند به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب‌های سلولی ناشی از آن‌ها کمک کند.^{۲۰} در مطالعه Hu و همکاران ترکیبات کاروتنوئیدی از جمله لیکوپن با دخالت در مسیر Ras-Raf-Mek-Erk باعث ایجاد اثرات ضدملانوما شد. همچنین نتایج آن‌ها نشان داد که لیکوپن به همراه Q10 باعث القای آپاپتوز در سلول‌های ملانوما، کاهش تهاجم و مهاجرت سلول‌های سرطانی و بهبود زخم ناشی از آن می‌شود.^{۲۱}

کوآنزیم Q10 یک ترکیب طبیعی است که در غشای سلولی تمام سلول‌های بدن، به ویژه در میتوکندری یافت می‌شود و نقش حیاتی در تولید انرژی سلولی (ATP) ایفا می‌کند. Q10 یک آنتی‌اکسیدان درون‌زا است که در تمام سلول‌ها تولید می‌شود و نقش اساسی در متابولیسم انرژی و محافظت آنتی‌اکسیدانی دارد.^{۲۲} Q10 به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل کرده و می‌تواند به محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد کمک کند. این کوآنزیم در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی، از جمله تنفس سلولی، متابولیسم انرژی، عملکرد سیستم ایمنی و محافظت از قلب نقش دارد.^{۲۳} این ماده به واسطه تاثیر آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در درمان برخی بیماری‌ها از جمله COVID-19 موثر باشد.^{۲۴} طبق تحقیق یحیی‌زاده و همکاران Q10 باعث بهبود آسیب ناشی از سیکلوفسفامید بر هیپوکامپ می‌شود.^{۲۵} همچنین باعث کاهش استرس اکسیداتیو، افزایش فعالیت میتوکندری، تنظیم بیان ژن و مهار پاسخ‌های التهابی می‌شود.^{۲۶} در مطالعه Alexandro و همکاران مشخص شد که Q10 یکی از عوامل محافظتی است که می‌تواند به واسطه بهبود عملکرد میتوکندری‌های تحت استرس اکسیداتیو،

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار نتایج حاصل از تست زنده مانی سلول‌های MSC و SW480 پیش تیمار شده با لیکوپن و Q10 در مواجهه با 5-FU		
میانگین و انحراف معیار	گروه‌ها	
۱۰۰±۱/۰۱	کنترل	
۳۵±۵/۱۸	5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	
۵۵±۶/۳۲	Q10 (۱۰ μM) به همراه لیکوپن (۱۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	زنده‌مانی سلول‌های MSC
۶۵±۷/۷۶	Q10 (۲۰ μM) به همراه لیکوپن (۲۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	
۷۵±۸/۴۶ *	Q10 (۳۰ μM) به همراه لیکوپن (۳۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	
۹۵±۳/۵۱	Q10 (۳۰ μM)	
۹۰±۴/۳۴	لیکوپن (۳۰ μM)	
۱۰۰±۰/۵۱	کنترل	
۳۰±۵/۸۴	5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	
۴۵±۶/۳۷	لیکوپن (۱۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	زنده‌مانی سلول‌های SW480
۵۵±۶/۶۴	Q10 (۱۰ μM) به همراه لیکوپن (۱۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	
۶۵±۷/۵۹	Q10 (۲۰ μM) به همراه لیکوپن (۲۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	
۷۵±۸/۲۷ *	Q10 (۳۰ μM) به همراه لیکوپن (۳۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	
۹۵±۳/۸۵	Q10 (۳۰ μM)	
۹۰±۴/۱۹	لیکوپن (۳۰ μM)	

* اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت ($P<0/001$)

از لام‌های مورد مطالعه تصاویری ذخیره و توسط نرم‌افزار Comet Score هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت و پارامترهایی همچون Comet Length، DNA% in Tail و Tail Moment مورد سنجش قرار گرفتند.

همه محاسبات آماری برای مقایسه IC50 ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Prism-8 و به روش رگرسیون غیرخطی (nonlinear Regression) انجام شد. مقایسه داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Post test مربوطه (Tukey- Kramer multiple comprehension test) انجام گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثرات لیکوپن و Q10 بر میزان زنده مانی سلول‌های MSC (بنیادی مغز استخوان) در مواجهه با 5-FU: به توجه به جدول یک، در گروه کنترل سلول‌ها زنده‌مانی کامل داشتند. درمان با 5-FU 1 میکرومولار زنده‌مانی سلولی را به‌طور چشمگیری کاهش داد. درمان‌های ترکیبی Q10 و لیکوپن به همراه 5-FU اثرات منفی 5-FU را تعدیل نمود. ترکیب Q10 و لیکوپن با 5-FU باعث افزایش زنده‌مانی سلولی نسبت به درمان با 5-FU به تنهایی شد. در مقایسه با گروه کنترل منفی تنها گروه لیکوپن و Q10 ۳۰ میکرومولار ($75\pm8/46$) اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0/001$). همچنین در مقایسه با گروه کنترل مثبت تمامی گروه‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بودند ($P<0/05$) (جدول یک).

اثرات لیکوپن و Q10 بر میزان آسیب ژنتیکی سلول‌های MSC (بنیادی مغز استخوان) در مواجهه با 5-FU: به توجه به جدول ۲ آسیب‌های DNA در گروه‌های مختلف با استفاده از معیارهای درصد DNA در دم، طول دم و مقایسه دم اندازه‌گیری شد. گروه کنترل دارای سلامت نسبی DNA و پایین‌ترین مقادیر درصد DNA در دم، طول دم و مقایسه دم بود. در گروه 5-FU یک میکرومولار به‌طور

و میزان ۵ درصد دی‌اکسیدکربن نگهداری شدند. برای انجام تست‌های مختلف، زمانی که سلول‌ها حداقل به ۸۰-۷۰ درصد رشد سلولی رسیدند؛ توسط تریپسین-اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) از ته فلاسک جدا شدند و در دور ۱۵۰۰ rpm به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی در یک میلی‌لیتر محیط کشت به حالت سوسپانسیون تهیه شد و درصد زنده بودن سلول‌های موجود در سوسپانسیون سلولی با مخلوط شدن نسبت مساوی از تریپان بلو با استفاده از لام هموسایتومتر و بررسی با میکروسکوپ نوری تعیین شد. پس از حصول اطمینان از عدم آلودگی سلول‌ها، از سلول‌های با درصد زنده بودن بالای ۹۰ درصد برای انجام تست استفاده شد.^{۱۸}

در گام اول غلظت مؤثر لیکوپن در غلظت‌های (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرومولار)^{۱۹} و Q10 (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرومولار)^{۲۰} در غلظت اپتیمم 5-FU (IC50) و به‌صورت pre-treatment با روش MTT مشخص شد.^{۲۱}

ارزیابی آسیب DNA: ابتدا سلول‌ها در معرض غلظت‌های مختلف لیکوپن (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرومولار) و کوآنزیم Q10 (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس، سلول‌ها به‌مدت یک ساعت با ۵-FU تیمار شدند. برای ارزیابی آسیب DNA از روش Comet استفاده شد. این روش شامل مراحل مختلفی از جمله تهیه لام‌های روکش‌دار با آگاروز، مخلوط کردن سلول‌ها با آگاروز با ذوب پایین، لیز سلول‌ها برای آزادسازی DNA، باز کردن DNA در بافر قلیایی، الکتروفورز برای جداسازی DNA آسیب دیده و رنگ‌آمیزی با EtBr برای مشاهده کامت‌ها در زیر میکروسکوپ فلورسانس بود. همچنین از پراکسید هیدروژن به عنوان کنترل مثبت و از انکوباسیون سلول‌ها بدون هیچ تیماری به عنوان کنترل منفی استفاده شد.^{۱۷، ۲۲}

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار آسیب‌های DNA در گروه‌های مختلف با تست Comet و معیارهای درصد DNA در دم، طول دم و مقایسه دم در سلول نرمال.

گروه‌ها	درصد DNA در دم	طول دم	مقایسه دم
میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار
کنترل	۵۰±۷/۶۴	۱۳±۰/۵۴۶	۷±۰/۴۶۵
5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۲۱±۱/۸۶۵ *	۴۵±۳/۶۴۵ *	۲۳±۲/۶۵۴ *
Q10 (۱۰ μM) به همراه لیکوپن (۱۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۲۰±۱/۳۴۵ *	۴۳±۳/۸۵۶ *	۲۱±۲/۸۶۵ *
Q10 (۲۰ μM) به همراه لیکوپن (۲۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۱۵±۱/۶۵۶ **	۳۹±۲/۸۵۶ **	۱۹±۲/۴۵۶ *
Q10 (۳۰ μM) به همراه لیکوپن (۳۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۱۳±۱/۷۶۸ **	۳۵±۱/۴۶۵ **	۱۴±۱/۳۴۵ **
Q10 (۳۰ μM)	۶±۰/۶۴۷	۱۳±۱/۷۶۵	۷±۰/۶۵۸
لیکوپن (۳۰ μM)	۶±۰/۷۶۸	۱۳±۰/۸۶۷	۷±۰/۷۵۴
کنترل	۵۰±۰/۶۴۴	۱۲±۰/۲۳۴	۶±۰/۶۴۶
5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۱۹±۱/۴۵۷ *	۴۳±۳/۵۳۲ *	۲۲±۲/۷۵۴ *
Q10 (۱۰ μM) به همراه لیکوپن (۱۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۱۹±۱/۸۴۲ *	۴۱±۳/۶۷۴ *	۱۹±۲/۳۵۷ *
Q10 (۲۰ μM) به همراه لیکوپن (۲۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۱۵±۱/۲۴۵ **	۳۵±۲/۸۲۳ **	۱۷±۲/۲۶۴ **
Q10 (۳۰ μM) به همراه لیکوپن (۳۰ μM) و تیمار شده با 5-FU در غلظت اپتیمم (1μM)	۱۲±۱/۸۵۲ **	۲۷±۱/۱۴۵ **	۱۵±۱/۸۴۳ **
Q10 (۳۰ μM)	۶±۰/۴۶۳	۱۳±۱/۹۸۶	۷±۰/۸۴۹
لیکوپن (۳۰ μM)	۶±۰/۸۵۳	۱۳±۰/۳۴۲	۷±۰/۳۴۶

* اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P<۰/۰۰۱)، ** اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P<۰/۰۰۱).

قابل توجهی افزایش آسیب DNA مشاهده شد که با مقادیر بالای درصد DNA در دم، طول دم و مقایسه دم مشخص گردید. در مقادیر مختلف Q10 و لیکوپن، کاهش آسیب DNA نسبت به گروه 5-FU به تنهایی مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر (Q10 ۳۰ میکرومولار و لیکوپن ۳۰ میکرومولار)، آسیب DNA به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (P<۰/۰۰۱) و این ترکیب‌ها اثرات محافظتی داشتند.

در گروه درمانی Q10 ۳۰ میکرومولار و گروه درمانی لیکوپن ۳۰ میکرومولار مانند گروه کنترل کمترین آسیب DNA مشاهده شد که تحمل سلولی بالا داشتند (P<۰/۰۰۱).

در مقایسه با گروه کنترل منفی تمامی گروه‌های درمانی به‌جز گروه لیکوپن و Q10 ۳۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). همچنین در مقایسه با گروه کنترل مثبت گروه‌های 5-FU + لیکوپن ۲۰ میکرومولار + Q10 ۲۰ میکرومولار (درصد DNA در دم ۱۵±۱/۶۵۶، طول دم ۳۹±۲/۸۵۶ و مقایسه دم ۱۹±۲/۴۵۶) و 5-FU + Lycopene ۳۰ میکرومولار + Q10 ۳۰ میکرومولار (درصد DNA در دم ۱۳±۱/۷۶۸، طول دم ۳۵±۱/۴۶۵ و مقایسه دم ۱۴±۱/۳۴۵) از لحاظ آماری معنی‌دار بودند (P<۰/۰۰۱).

اثرات لیکوپن و Q10 بر میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی کولورکتال (SW480) در مواجهه با 5-FU در جدول یک نشان‌دهنده نتایج تست MTT برای رده سلولی سرطانی پس از درمان با ترکیبات مختلف نتایج به صورت درصد زنده‌مانی سلولی نسبت به گروه کنترل آمده است. گروه کنترل دارای ۱۰۰ درصد زنده‌مانی سلولی و سلامت کامل سلول‌ها در غیاب هرگونه درمان بود.

گروه درمانی 5-FU یک میکرومولار، به‌طور قابل توجهی زنده‌مانی سلولی را کاهش داد (P<۰/۰۰۱). ترکیب این ترکیبات با 5-FU در غلظت‌های مختلف نشان‌دهنده زنده‌مانی سلولی بالاتری

نسبت به 5-FU به تنهایی اما کمتر از گروه کنترل بود. به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر (Q10 ۳۰ میکرومولار و لیکوپن ۳۰ میکرومولار)، زنده‌مانی سلولی به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). Q10 ۳۰ میکرومولار و لیکوپن ۳۰ میکرومولار درمان‌های با این ترکیبات به‌تنهایی نشان‌دهنده زنده‌مانی سلولی نزدیک به گروه کنترل و تحمل بالای سلول‌ها به این ترکیبات بود.

در مقایسه با گروه کنترل منفی تنها گروه لیکوپن و Q10 ۳۰ میکرومولار (۷۵±۸/۲۷) اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند. همچنین در مقایسه با گروه کنترل مثبت تمامی گروه‌ها به‌جز گروه 5-FU + لیکوپن ۱۰ میکرومولار + Q10 ۱۰ میکرومولار از لحاظ آماری معنی‌دار بودند (P<۰/۰۰۱).

اثر حفاظت ژنتیکی لیکوپن و Q10 بر میزان زنده‌مانی سرطانی کولورکتال (SW480) در مواجهه با 5-FU: گروه کنترل کمترین آسیب به DNA داشت (P<۰/۰۰۱). گروه‌های تحت درمان با 5-FU یک میکرومولار، باعث افزایش آسیب DNA شد که با درصد بالای DNA در دم و طول دم طولانی‌تر مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). با افزودن Q10 و لیکوپن به 5-FU، آسیب DNA به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). اثرات محافظتی این ترکیبات به‌ویژه در غلظت ۲۰ میکرومولار (درصد DNA در دم ۱۵±۱/۲۴۵، طول دم ۳۵±۲/۸۲۳ و مقایسه دم ۱۷±۲/۲۶۴) و ۳۰ میکرومولار (درصد DNA در دم ۱۲±۱/۸۵۲، طول دم ۲۷±۱/۱۴۵ و مقایسه دم ۱۵±۱/۸۴۳) مشاهده شد. همچنین گروه‌های Q10 و لیکوپن به تنهایی میزان آسیب به DNA مشابه با گروه کنترل داشتند (P<۰/۰۰۱) (جدول ۲).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه ترکیب لیکوپن و کوآنزیم Q10 با 5-FU منجر به افزایش زنده‌مانی سلولی و کاهش آسیب DNA در مقایسه با گروه تحت درمان با 5-FU به تنهایی شد. این یافته نشان

ارزیابی مکانیسم‌های دقیق اثرات محافظتی لیکوپن و کوآنزیم Q10 نیاز به انجام مطالعات بیشتر در شرایط آزمایشگاهی و بالینی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده اثرات محافظتی قابل توجه لیکوپن و Q10 در برابر سمیت ژنتیکی ناشی از 5-FU در رده‌های سلولی SW480 و MSC بود.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران (IR.MAZUMS.REC.1402.347) قرار گرفت.

حمایت مالی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (کد مصوب ۱۷۳۷۲) خانم ساجده زیبائی برای اخذ درجه دکتری عمومی در رشته داروسازی از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران بود.

مشارکت نویسندگان

دکتر الهه قره‌خانی: انجام پروژه، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج و نوشتن نسخه اولیه مقاله.

ساجده زیبائی: انجام پروژه و جمع‌آوری داده‌ها.

دکتر محبوبه رحمتی کوکنده: آنالیز داده‌ها و تفسیر نتایج.

دکتر رامین عطایی: تایید نسخه نهایی مقاله.

دکتر محمد شکرزاده: مدیریت و طراحی پروژه و تایید نسخه نهایی مقاله.

تعارض منافع

بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه علوم پزشکی مازندران به خاطر حمایت مالی انجام مطالعه، تشکر می‌گردد.

می‌دهد که ترکیب این دو آنتی‌اکسیدان می‌تواند به طور موثرتری از سلول‌ها در برابر سمیت ژنتیکی ناشی از 5-FU محافظت کند. این اثر احتمالاً به دلیل هم‌افزایی خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظتی لیکوپن و کوآنزیم Q10 است.

در مطالعه Chen و همکاران 5FU ضمن درمان سرطان کولون، باعث سرکوب سیستم خونسازی از طریق مهار رشد سلول‌های مزانشیمال بنیادی و اختلال در ریز محیط خونساز شد.^{۲۳} این مطالعه از نظر تاثیر سوء 5FU بر سلول‌های مزانشیمال همسو با نتایج مطالعه حاضر بود.

در مطالعه حاضر لیکوپن و Q10 باعث حفظ حیات سلول‌های نرمال مزانشیمال بنیادی و افزایش اثربخشی قدرت کشندگی 5FU در رده سرطانی گردید. نشان داده شده که لیکوپن می‌تواند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو از آسیب DNA و سایر اجزای سلولی محافظت کند.^{۲۴}

لیکوپن می‌تواند در پیشگیری از انواع مختلف سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های عصبی و سایر بیماری‌های مزمن موثر باشد. لیکوپن مصرف شده در رژیم غذایی در بسیاری از مراحل آترواسکلروز اثرات مثبتی دارد. سطوح لیپید سرم، اختلال عملکرد اندوتلیال، التهاب، فشار خون و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عمدتاً تحت تأثیر لیکوپن قرار می‌گیرند.^۸ همچنین لیکوپن می‌تواند بیومارکرهای استرس اکسیداتیو و سطح قند خون را در افراد مبتلا به دیابت کاهش دهد.^{۲۵} لیکوپن همچنین می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GSH-Px) به دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها کمک کند.^{۲۶} لیکوپن و کوآنزیم Q10 آنتی‌اکسیدان‌هایی قوی در مهار سمیت سلولی کاهش استرس اکسیداتیو و مهار آسیب DNA و شکست DNA هستند.^{۲۷} نتایج مطالعه ما نیز نشان داد که لیکوپن در رده سلولی نرمال و سرطانی باعث مهار سمیت سلولی گردید.

References

- Ramli S, Sim MS, Guad RM, Gopinath SCB, Subramaniam V, Fuloria S, et al. Long Noncoding RNA UCA1 in Gastrointestinal Cancers: Molecular Regulatory Roles and Patterns, Mechanisms, and Interactions. *J Oncol*. 2021 Apr;2021:5519720. <https://doi.org/10.1155/2021/5519720>.
- Casale J, Patel P. Fluorouracil. 2024 Feb. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan.
- Naren G, Guo J, Bai Q, Fan N, Nashun B. Reproductive and developmental toxicities of 5-fluorouracil in model organisms and humans. *Expert Rev Mol Med*. 2022 Jan;24:e9. <https://doi.org/10.1017/erm.2022.3>.
- Fahmy MA, Abd-Alla HI, Hassan EE, Hassan ZM, Sweelam HM. Genotoxicity and sperm defects induced by 5-FU in male mice and the possible protective role of Pentas lanceolata-iridoids. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2020 Feb-Mar;850-51:503145. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503145>.
- Yuan W, Ji G, Shi X, Sun Z, Liu C, Yu Y, et al. The male reproductive toxicity after 5-Fluorouracil exposure: DNA damage, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction in vitro and in vivo. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2024 Jun;278:116465. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116465>.
- Searle T, Al-Niaimi F, Ali FR. 5-Fluorouracil in Dermatology: The Diverse Uses Beyond Malignant and Premalignant Skin Disease. *Dermatol Surg*. 2021 Mar;47(3):e66-e70. <https://doi.org/10.1097/dss.0000000000002879>.
- Kulawik A, Cielecka-Piontek J, Zalewski P. The Importance of Antioxidant Activity for the Health-Promoting Effect of Lycopene. *Nutrients*. 2023 Aug;15(17):3821. <https://doi.org/10.3390/nu15173821>.
- Khan UM, Sevindik M, Zarrabi A, Nami M, Ozdemir B, Kaplan DN, et al. Lycopene: Food Sources, Biological Activities, and Human Health Benefits. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Nov;2021:2713511. <https://doi.org/10.1155/2021/2713511>.
- Hu C, Huang Y, Luo P, Yang Y. Effect of antioxidants coenzyme Q10 and β -carotene on the cytotoxicity of

- vemurafenib against human malignant melanoma. *Oncol Lett.* 2021 Mar;21(3):208. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12469>.
10. Rabanal-Ruiz Y, Llanos-González E, Alcain FJ. The Use of Coenzyme Q10 in Cardiovascular Diseases. *Antioxidants.* 2021;10(5):755. <https://doi.org/10.3390/antiox10050755>.
11. Rizzardi N, Liparulo I, Antonelli G, Orsini F, Riva A, Bergamini C, et al. Coenzyme Q10 Phytosome Formulation Improves CoQ10 Bioavailability and Mitochondrial Functionality in Cultured Cells. *Antioxidants (Basel).* 2021 Jun;10(6):927. <https://doi.org/10.3390/antiox10060927>.
12. Sifuentes-Franco S, Sánchez-Macías DC, Carrillo-Ibarra S, Rivera-Valdés JJ, Zuñiga LY, Sánchez-López VA. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Coenzyme Q10 Supplementation on Infectious Diseases. *Healthcare (Basel).* 2022 Mar;10(3):487. <https://doi.org/10.3390/healthcare10030487>.
13. Yahyazadeh A, Başak F, Demirel MA. Efficacy of coenzyme Q10 and curcumin on antioxidant enzyme activity and hippocampal alteration following exposure to cyclophosphamide in male rat. *Tissue Cell.* 2024 Feb;86:102296. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2023.102296>.
14. Nie X, Dong X, Hu Y, Xu F, Hu C, Shu C. Coenzyme Q10 Stimulate Reproductive Vatility. *Drug Des Devel Ther.* 2023 Aug;17:2623-37. <https://doi.org/10.2147/ddt.s386974>.
15. Alexandru I, Nistor D, Motofelea AC, Cadar Andone BA, Crintea A, Tatu C, et al. Vitamins, Coenzyme Q10, and Antioxidant Strategies to Improve Oocyte Quality in Women with Gynecological Cancers: A Comprehensive Review. *Antioxidants (Basel).* 2024 Dec;13(12):1567. <https://doi.org/10.3390/antiox13121567>.
16. López-Lluch G. Mitochondria-targeted antioxidants: coenzyme Q10, mito-Q and beyond. In: Ostojic SM. *Molecular Nutrition and Mitochondria: Metabolic Deficits, Whole-Diet Interventions, and Targeted Nutraceuticals.* Chap 11. Academic Press. 2023; 255-302. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90256-4.00013-8>.
17. Nga NTH, Ngoc TTB, Trinh NTM, Thuoc TL, Thao DTP. Optimization and application of MTT assay in determining density of suspension cells. *Anal Biochem.* 2020 Dec;610:113937. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113937>.
18. Ghassemi-Barghi N, Varshosaz J, Etebari M, Jafarian Dehkordi A. Role of recombinant human erythropoietin loading chitosan-tripolyphosphate nanoparticles in busulfan-induced genotoxicity: Analysis of DNA fragmentation via comet assay in cultured HepG2 cells. *Toxicol In Vitro.* 2016 Oct;36:46-52. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.07.001>.
19. Bhardwaj U, Mukherjee S, Ali S, Siddiqui AJ, Iqbal D, Almalki SG, et al. *Novel Phytochemicals Targeting the Signaling Pathways of Anticancer Stem Cell.* 1st ed. CRC Press. 2023; pp: 1-36.
20. Zhao X, Feng X, Ye N, Wei P, Zhang Z, Lu W. Protective effects and mechanism of coenzyme Q10 and vitamin C on doxorubicin-induced gastric mucosal injury and effects of intestinal flora. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2021 Jul;25(4):261-72. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2021.25.4.261>.
21. Vahidifar E, Sajjadi SE, Etebari M. Antioxidant and genoprotective effects of osthole against cadmium-induced DNA damage: an in vitro study using comet assay. *Res Pharm Sci.* 2022 Oct;17(6):657-64. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.359432>.
22. Motafeghi F, Mortazavi P, Mahdavi M, Shokrzadeh M. Cellular effects of epsilon toxin on the cell viability and oxidative stress of normal and lung cancer cells. *Microb Pathog.* 2022 Aug;169:105649. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105649>.
23. Chen Y, Liu Z, An N, Zhang J, Meng W, Wang W, et al. Platelet-Derived Mitochondria Attenuate 5-FU-Induced Injury to Bone-Associated Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Int.* 2023 Jan;2023:7482546. <https://doi.org/10.1155/2023/7482546>.
24. Rasal PB, Kasar GN, Mahajan M, Upaganlawar A, Upasani C. Ameliorative effect of lycopene alone and in combination with co-enzyme Q10 in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in experimental rats. *IJPBP.* 2023; 3(3): 123-30. <http://dx.doi.org/10.29228/ijpbbp.24>.
25. Leh HE, Lee LK. Lycopene: A Potent Antioxidant for the Amelioration of Type II Diabetes Mellitus. *Molecules.* 2022 Apr;27(7):2335. <https://doi.org/10.3390/molecules27072335>.
26. Wan XL, Li N, Chen YJ, Chen XS, Yang Z, Xu L, et al. Protective effects of lycopene on mitochondrial oxidative injury and dysfunction in the liver of aflatoxin B1-exposed broilers. *Poult Sci.* 2021 Nov;100(11):101441. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101441>.
27. Dağlıoğlu Y. Assessing of antiradical and antioxidant activities of -carnitine, L-carnitine, Coenzyme Q10 and Beta Carotene dietary supplements. *Int J Life Sci Biotechnol.* 2025;8(1):45-50. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.1569828>.