

## بررسی مهار رشد سلول‌های سرطانی پستان با استفاده از پلاسمای اتمسفری سرد

آویده محمدی<sup>۱</sup>، شیوا ایرانی<sup>۲</sup>، سید محمد اطمیابی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد بیوفیزیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران  
<sup>۲</sup> استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران  
<sup>۳</sup> استادیار، گروه فناوری‌های نوین، بخش پایلوت بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** سرطان پستان شایع‌ترین سرطان و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در میان زنان است. با توجه به عوارض جانبی درمان‌های رایج، محققان به دنبال یافتن روش‌هایی با کمترین عوارض و بالاترین میزان مرگ در این سلول‌ها هستند، بدون آنکه آسیبی به سلول‌های سالم برسانند. بر این اساس از اثر پلاسمای اتمسفری سرد بر روی سلول‌های سرطانی پستان رده MCF-7 استفاده شد. در این روش از امواج الکترومغناطیس برای مهار رشد سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق، بررسی مهار رشد سلول‌های سرطانی پستان با استفاده از پلازما جت اتمسفری سرد بود.

**روش بررسی:** در این پژوهش، از ترکیب گاز هلیوم و اکسیژن برای ایجاد پلازما در دمای اطاق به صورت تابش نقطه‌ای برای درمان سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7) در زمان‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ ثانیه استفاده شد و با استفاده از تست MTT درصد زنده ماندن سلول‌های تیمار شده بررسی شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS و روش آماری One Way ANOVA تحلیل شد.

**یافته‌ها:** درصد زنده ماندن سلول‌های سرطانی درمان شده با پلازما جت اتمسفری سرد به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به سلول‌های سرطانی درمان نشده با پلازما کاهش یافت و زمان بهینه برای سلول‌های سرطانی ۴۵ ثانیه گزارش شد.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از پلازما جت اتمسفری سرد می‌تواند روش درمانی مناسبی برای سلول‌های سرطانی پستان به شمار آید.

**واژگان کلیدی:** سرطان پستان، سلول MCF-7، پلازما جت، پلاسمای سرد.

### مقدمه

میان بیش از ۱۳۰۰ بیمار در هر سال جان خود را از دست می‌دهند (۳). این شیوع بالا مهم‌ترین علت بررسی راه‌های متفاوت درمان این بیماری است. درمان‌های رایج شامل جراحی، هورمون درمانی، رادیوتراپی و شیمی درمانی است که صرف نظر از عوارض جانبی، مهم‌ترین نقص آن، عملکرد غیرانتخابی این روش‌هاست، زیرا علاوه بر سلول‌های سرطانی، سلول‌های سالم را نیز مورد هدف قرار می‌دهند (۴). بهترین روش القای مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی، استفاده از روشی انتخابی است که بالاترین میزان مرگ را در سلول‌های سرطانی القا کند.

پلازما یک گاز شبه خنثی است که تقریباً ۹۹٪ جهان را تشکیل می‌دهد. پلازما حالتی از ماده است (حالت چهارم ماده) که در دمای بسیار بالا به وجود می‌آید و در این وضعیت

سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در میان زنان ساکن در کشورهای توسعه یافته است که متأسفانه ۱۲٪ از سرطان‌های پستان در سنین ۲۰ تا ۳۴ سالگی رخ می‌دهند (۱). سرطان پستان، بعد از سرطان ریه، شایع‌ترین سرطان در میان هر دو جنس در ایران است (۲). سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در میان زنان ایرانی است و پنجمین عامل منجر به مرگ در میان سایر بدخیمی‌هاست. سالانه هشت هزار و نود مورد جدید مبتلا به سرطان پستان شناخته می‌شوند که از این

آدرس نویسنده مسئول: تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش پایلوت بیوتکنولوژی دکتر سید محمد اطمیابی

(email: mohammadatyabi@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۱/۱۷

جت با سلول‌ها و بافت‌های زنده بدن موجب می‌شود که در روندهایی نظیر استریلیزاسیون، درمان زخم (۹،۱۰)، انعقاد خون و سفید کردن دندان‌ها کاربرد پیدا کند. در سال ۲۰۱۰، کیم و همکارانش اثر پلاسمای غیر حرارتی را بر روی سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که این نوع پلاسمای اثرات ضد تکثیر و القای آپوپتوز بر روی سلول‌های سرطانی دارد.

در این پژوهش، هدف بررسی تاثیر درمانی پلاسمای اتمسفری سرد بر روی سلول‌های رده MCF-7 با استفاده از ترکیب گازهای هلیوم و اکسیژن در شارش زمان‌های مختلف بود.

### مواد و روشها

دستگاه پلاسمای مورد استفاده در پژوهش حاضر پلاسمای جت اتمسفری سرد بود که از جمله مزایای آن کاربری آسان، قیمت اقتصادی مناسب، سرعت بالا و باریک بودن نازل بود، به طوری که شارش سوزنی آن امکان دسترسی پلاسمای به کل فضای چاهک را ایجاد می‌کند.

برای ایجاد پلاسمای سرد، از گاز سبک هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹ درصد استفاده شد. برای اینکه گاز هلیوم به صورت کامل یونیز گردد، درصدی گاز اکسیژن به آن اضافه شد تا مخلوط گاز هلیوم ۹۵٪ و اکسیژن ۵٪ وارد نازل دستگاه و بر اثر ایجاد میدان الکتریکی به پلاسمای تبدیل شود. برای ایجاد میدان الکتریکی از یک منبع تغذیه با ولتاژ ورودی ۲۲۰ ولت شهری و خروجی ۱۳ کیلوولت پیک تو پیک استفاده گردید. ایجاد میدان الکتریکی در نازل دستگاه اتفاق افتاد. مخلوط گاز با فشار ۰/۷ لیتر در ساعت وارد نازل دستگاه شد و در مجاورت سیم بیچ درون لوله پیرکس که ایجاد میدان می‌نمود، به پلاسمای تبدیل و از لوله پیرکس به طول دو سانت به رنگ بنفش پر رنگ خارج گردید (شکل ۲).

سلول‌های سرطانی پستان رده MCF-7 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت DMEM و ۱۰٪ FBS در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪  $CO_2$  نگهداری شدند. محیط کشت هر ۴۸ ساعت تعویض گردید و کشت ادامه داده شد تا سلول‌ها به تراکم ۸۰٪ در هر فلاسک رسیدند.

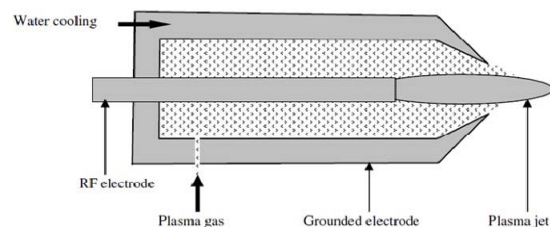
بعد از رسیدن سلول‌ها به تراکم مطلوب، تعداد  $1 \times 10^4$  سلول به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه ای منتقل شد و در محیط کشت مناسب به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. سپس به مدت ۱۵، ۳۰ و ۴۵ ثانیه سلول‌ها تحت تابش پلاسمای اکسیژن و هلیوم قرار گرفتند. برای هر مدت حداقل سه بار تکرار در نظر گرفته شد

ساختار مولکولی خود را از دست می‌دهد. پلاسمای گازی است یونیزه شامل فوتون‌ها، الکترون‌ها، یون‌های مثبت و منفی، اتم‌ها، رادیکال‌های آزاد و مولکول‌های برانگیخته و غیربرانگیخته که دائم در حال برهم کنش با یکدیگر هستند (۵).

پلاسمای انواع گوناگونی شامل پلاسمای داغ، گرم و پلاسمای سرد دارد. بیشتر پلاسمای از نوع داغ و در حدود چهار هزار درجه سانتی‌گراد هستند، که فقط مصرف صنعتی دارد. پلاسمای سرد یا غیر حرارتی نوعی پلاسمای تولید شده با تخلیه الکتریکی است. دمای پایین این نوع پلاسمای، وجود گونه‌های فعال، ماهیت غیرتعدالی و عدم نیاز به راکتورهای خلا بزرگ باعث شده که در فعالیتهای زیستی و پزشکی به این نوع پلاسمای توجه ویژه شود. از انواع پلاسمای غیر حرارتی اتمسفری می‌توان به کرونا، میکروهالو کاتد، پلاسمای جت‌های فشار اتمسفری، تخلیه الکتریکی قوس‌های خزنده، تخلیه الکتریکی سد دی الکتریک و سوزن‌های پلاسمای اشاره کرد (۸).

در میان انواع روش‌های تولید پلاسمای سرد در زیست پزشکی، پلاسمای جت بسیار مورد توجه قرار گرفته که به دلیل قابل حمل بودن، توانایی شارش نقطه‌ای و مصرف پایین انرژی است (شکل ۱). پلاسمای خروجی از نازل دستگاه پلاسمای جت مستقیماً به سمت هدف شارش می‌کند. میزان شارش نیز به وسیله جریان و فشار گاز قابل کنترل و تغییر است و می‌تواند دوز خاصی را به منطقه خاصی از بدن انتقال دهد، و بدون نیاز به محافظ دی الکتریک بر روی الکترودها و سیم‌ها عمل کند.

پلاسمای جت‌ها شامل دو الکتروود متحدالمرکز هستند که در میان آنها مخلوطی از گازها جریان دارند. در شکل ۱ دستگاه پلاسمای جت نمایش داده شده است.



شکل ۱. دستگاه پلاسمای جت

پلاسمای جت اتمسفری به دلیل داشتن دمای پایین در حد دمای اطاق کاربردهای پزشکی متفاوتی دارد. تعامل پلاسمای

وسیله دستگاه ELISA reader (مدل بیوتک) سنجیده شد. نتایج حاصله توسط نرم افزار آماری SPSS و روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA)، در سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شد.

### یافته‌ها

#### بررسی مورفولوژی سلول‌های درمان شده با پلاسما

بررسی مورفولوژیک سلول‌های کشت داده شده در محیط کشت اختصاصی، و سلول‌های تکثیر یافته قبل و بعد از قرارگیری در معرض شارش پلاسما توسط میکروسکوپ معکوس از نظر مورفولوژی بررسی شد.

سلول‌ها در مدت ۱۵ ثانیه درمان با پلاسما، تنها تحت استرس بودند و در زمان ۳۰ ثانیه کاهش قابل ملاحظه‌ای در تعداد سلول‌ها به چشم خورد و بیانگر جدا شدن سلول‌ها از سطح پلیت بود. در زمان ۴۵ ثانیه، بیشترین میزان جدا شدن سلول‌ها از سطح و هم چنین از دست رفتن ارتباطات بین سلولی در چاهک مشاهده شد. براین اساس، زمان ۴۵ ثانیه مناسب‌ترین زمان قرارگیری سلول‌ها در معرض تابش پلاسما با استفاده از مشاهدات حاصل از میکروسکوپ معکوس بود (شکل ۳).

#### بررسی درصد زنده ماندن سلول‌های درمان شده با پلاسما

به منظور بررسی تاثیر پلاسمای اتمسفری سرد بر روی سلول‌های سرطانی MCF-7 از روش MTT استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش زمان اعمال پلاسما، درصد زنده ماندن سلول‌ها به طور معنی داری کاهش می‌یابد. هم چنین، این درصد بین سلول‌های درمان شده و سلول‌های سرطانی که درمان نشده بودند، معنی دار بود. در درمان به مدت ۴۵ ثانیه با پلاسما جت سرد، کمترین میزان سلول‌های زنده مشاهده شد (شکل ۴). همان طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، همه سلول‌ها از سطح جدا شده و علامت چروکیدگی در آنها ظاهر شده است که نشانه مرگ سلولی است، در حالی که سلول‌هایی که با پلاسما تیمار نشده‌اند و در این تحقیق بعنوان کنترل در نظر گرفته شده‌اند، کاملا ارتباط سلول - سطح و سلول - سلول حفظ شده است.

ارتباط معنی داری بین گروه شاهد و نمونه تحت تیمار در ۳۰ ثانیه مشاهده شد که با علامت \* نمایش داده شده است. به علاوه، ارتباط معنی داری بین گروه شاهد و نمونه تحت تیمار در ۴۵ ثانیه مشاهده شد که با حرف a نمایش داده شده است (نمودار ۱).

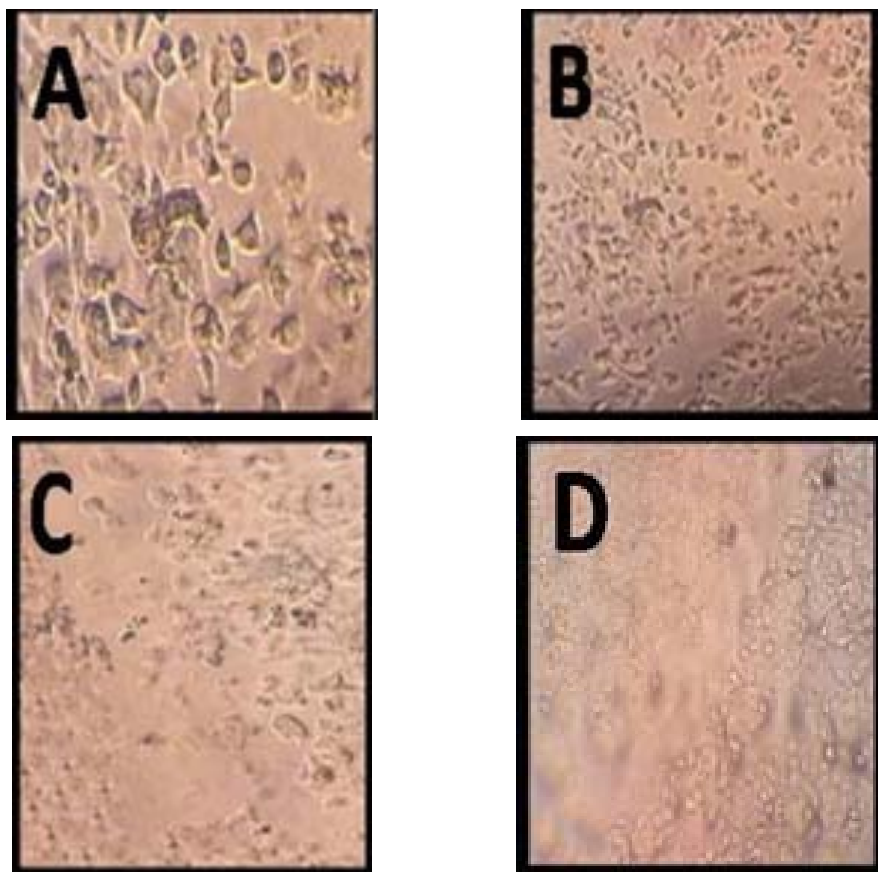
و یک چاهک هم با سه بار تکرار بدون درمان با پلاسما به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. سلول‌های تحت درمان با پلاسما به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و بعد از آن تست MTT روی آنها انجام شد.



شکل ۲. چینش دستگاه جت پلاسما اتمسفری سرد استفاده شده در این مطالعه

بررسی درصد زنده ماندن سلول‌های درمان شده با پلاسما و سلول‌های کنترل، با استفاده از روش MTT (tetrazolium bromide diphenyl [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)]-bromide) انجام شد. در این روش، رنگ زرد تترازولیوم محلول در آب توسط سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری سلول‌های زنده و فعال، احیاء و به ترکیب رنگی فرومازان نامحلول تبدیل می‌شود. این رنگ با حلال آلی حل شده و شدت رنگ در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با میزان سلول‌های زنده، سنجیده می‌شود.

بر این اساس، ۱۰ μL محلول MTT و ۹۰ μL میکرولیتر محیط کشت کامل (۱۰٪ FBS، ۱٪ آنتی بیوتیک) به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. سپس پلیت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت انکوبه شد. سپس محیط کشت خارج شده و ۱۰ μL محلول دی متیل سولفوکساید (DMSO) به هر چاهک افزوده شد. جذب نوری در طول موج ۵۷۰ nm به

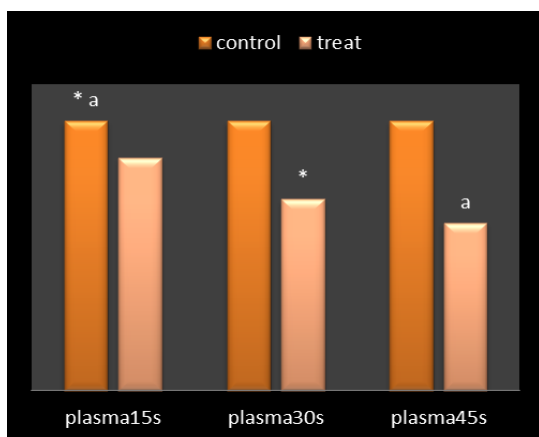


شکل ۳. تصاویر حاصل از میکروسکوپ معکوس سلول‌های MCF-7 تحت تاثیر پلاسمای اتمسفری سرد. A: نمونه شاهد، یعنی سلول‌هایی که تحت درمان با پلاسما قرار نگرفتند، B: درمان با پلاسما به مدت ۱۵ ثانیه، C: درمان با پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه، D: درمان با پلاسما به مدت ۴۵ ثانیه.

هستند و در کلیه این موارد درمانی سلول‌های سالم نیز مانند سلول‌های سرطانی تحت تاثیر قرار می‌گیرند.



شکل ۴. جدا شدن سلول‌ها از سطح پلیت بر اثر تیمار با شارش پلاسما جت سرد در زمان ۴۵ ثانیه



نمودار ۱. نمودار تست MTT حاصل از قرار گرفتن سلول‌های MCF-7 تحت تاثیر پلاسمای اتمسفری سرد در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ ثانیه.

### بحث

سرطان یکی از بزرگترین مشکلات بهداشت و درمان در ایران و جهان است و سرطان پستان شایع‌ترین سرطان و دومین عامل مرگ و میر در میان زنان در ایران و جهان است. درمان‌های رایج شامل جراحی، رادیوتراپی، شیمی‌درمانی و هورمون‌درمانی است که همگی دارای عوارض جانبی متعددی

روش فلوسایتومتری و رنگ فلورسانس مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که پلاسما هلیوم به همراه گاز اکسیژن بسیار موثر بوده و روشی نوید بخش در درمان سرطان پستان می تواند باشد. کیم و همکارانش، اثر پلاسماهای غیر حرارتی را بر روی ۳ رده سلولی HTC-116, SW 480, LoVo در سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که این نوع پلاسما اثرات ضد تکثیر و القاء آپوپتوز بر روی این رده ها دارد، در سلول های تحت تیمار با پلاسما کاهش در فعالیت های تهاجمی مشاهده شد و فسفریلاسیون بتا کاتین افزایش یافت، البته با توجه به این مطلب که تجزیه بتا کاتین در فعالیت های ضد تکثیر پلاسما نقش دارد (۱۶). با توجه به مطالعات ذکر شده، این تحقیق در تاثیر پلاسما اتمسفری سرد بر روی سلول های MCF-7 مورد بررسی قرار گرفت. پلاسما حالتی از ماده است (حالت چهارم ماده) که در دمای بسیار بالا به وجود می آید و در این وضعیت ساختار مولکولی مفهوم خود را از دست می دهد. در حالت پلاسما، اتم ها و ذرات زیراتمی مانند الکترون، نوترون و پروتون آزادانه در محیط حرکت کرده و تغییر موقعیت می دهند. پلاسما انواع گوناگون دارد: پلاسمای سرد، گرم و داغ. بیشتر پلاسماها در فشار معمولی داغ هستند (در حدود چندین هزار درجه سانتی گراد)، بنابراین کنترل آنها مشکل است. اما پلاسمای سرد در دمای آزمایشگاه به کمک یک استوانه که به پمپ تخلیه وصل شده است، ایجاد می شود که برای تولید آن از گازهای نجیب مانند آرگون، هلیوم، نئون و کریپتون استفاده می شود. دمای پایین این نوع پلاسما، وجود گونه های فعال، ماهیت غیر تعادلی آن و عدم نیاز به رآکتورهای خلاً بزرگ باعث شد که در فعالیت های زیستی و پزشکی به این نوع پلاسما توجه بسیاری شود. از کاربردهای پلاسمای غیر حرارتی می توان به اثر درمانی پلاسما سرد بر روی بیماری سرطان اشاره کرد (۱۷).

مکانیسم عملکرد پلاسما هنوز به درستی مشخص نشده، اما بیشتر محققان این نحوه عملکرد را به مواد تشکیل دهنده پلاسما مانند پراکسید هیدروژن، رادیکال های هیدروکسیل، آنیون های سوپر اکسید، اکسیژن تک تایه، نیتریک اکسید و پراکسی نیتریک، رادیکال های پراکسیل، الکوکسیل و گونه های فعال اکسیژن مرتبط دانسته اند و نقش گونه های فعال اکسیژن (ROS) را پر رنگ تر دانسته اند. هر یک از این مواد با اثر بر روی غشا و DNA باعث مرگ سلول های سرطانی می گردند. ROS هم می تواند منجر به تکثیر و هم می تواند باعث مرگ شود، ولی هنوز مکانیسم آن معلوم نیست. در شرایط عادی، ROS تولید شده توسط آنتی اکسیدان هایی مثل

در سال های اخیر رویکردهای نوینی برای درمان سرطان پیشنهاد شده و به کار برده شده که از این میان می توان عملکرد انتخابی به پلاسما اتمسفری سرد اشاره کرد که عملکرد مناسب و تقریباً انتخابی دارد و هیچ نوع آثار تخریب بر روی بافت سالم ندارد. براساس مطالعات صورت گرفته، پلاسما قادر به مهار رشد سلول های سرطانی می باشد. استافل و همکارانش در سال ۲۰۰۳ تحقیقاتی بر روی سوزن پلاسما انجام دادند و آن را بر روی سلول های سرطانی به کار برده و جدا شدگی سلول ها را مشاهده کردند (۱۲). فریدمن و همکارانش در سال ۲۰۰۷ به کمک FE-DBDs (تخلیه سد دی الکتریک) در هوا، آپوپتوز سلول های ملانومای پوست را مشاهده کردند (۱۳). Floating-electrode DBD در شرایطی عمل می کند که یکی از الکترودها، دی الکتریکی است که از قدرت الکتروود حفاظت می کند و دیگری الکتروود را فعال می کند که می تواند پوست انسان، حیوان یا اندام خارج از بدن یا سطح پوست باشد که تخلیه در آن صورت می گیرد. فریدمن و همکارانش از این روش برای القای آپوپتوز در سلول های ملانومای پوست استفاده کردند. قطعه قطعه شدن DNA پس از ۳۰ ثانیه در معرض شارش پلاسما قرار گرفتن، ایجاد می شود. افزایش gamma-H2A.X، ۳ ساعت بعد از تیمار نشان داد که آسیب های DNA مثل شکست دو رشته ای DNA ایجاد شده است و همچنین شکست caspase3 به طور واضح مشاهده شد. همچنین وقتی سلول های تحت تیمار با پلاسما قرار گرفتند، اجتماع P53 نیز مشاهده شد که یک ژن مهار کننده توموری است و یک مثال معمول برای حسگرهای مولکولی در پاسخ به DNA است (۱۴). در سال ۲۰۱۱ کیم و همکارانش تاثیر القای آپوپتوز به وسیله میکروپلاسماجت انعطاف پذیر مجهز به فیبر نوری را بر روی سلول های کارسینومای ریه بررسی کردند. علی رغم قطر کوچک داخلی و سرعت آهسته جریان گاز، پلاسما جت های تولید شده به طور قابل ملاحظه ای در القاء آپوپتوز موثر عمل کردند و در بررسی کشت کارسینومای موشی و سلول های فیبروبلاستی هیچ نوع نکروزی مشاهده نشد. این تلاش ها درمان سرطان را به وسیله این نوع پلاسماهای فیبر نوری امکان پذیر می کند و امکان استفاده از آندوسکوپی میکروپلاسما را افزایش می دهد (۱۵). کیم و همکارانش در سال ۲۰۱۰، پلاسمای غیر حرارتی با پالس DC با قدرت ده ها کیلو هرتز را بر روی سلول های MCF-7 در سرطان پستان مورد استفاده قرار دادند. در پژوهش کیم و همکارانش، ولتاژ بالا از سیم تنگستن عبور داده شد و جریان گاز ۰/۱ تا ۱ لیتر بر دقیقه بود. مرگ سلولی با

حدود ۱۲۰ تا ۱۵۰ میکرومولار موجب توقف رشد سلولی می‌شود و افزایش مقاومت به پراکسید هیدروژن را مشخص می‌کند، در حالی که غلظت‌های بالای پراکسید هیدروژن اثر سمی شدیدی بر روی سلول‌ها دارد. رابینسون و همکارانش کشف کردند که اگر سلول‌ها با پراکسید هیدروژن تیمار شوند، مسمومیت در برابر پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد؛ این سازش احتمالا به این دلیل است که تیمار سلول‌ها با پراکسید هیدروژن، باعث بیان بالای در آنتی اکسیدان‌ها مثل کاتالاز یا گلوکاتایون‌ها پروکسیدازها می‌شود (۲۲).

با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان اظهار داشت که کاهش درصد فعالیت متابولیکی سلول‌های درمان شده با پلاسمای می‌تواند در ارتباط با ایجاد ROS در سلول‌ها باشد و با افزایش مدت زمان قرار گیری سلول‌های MCF-7 در معرض پلاسمای اتمسفری سرد، میزان ROS تولید شده نیز افزایش می‌یابد که منجر به کاهش رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. بنابراین، استفاده از پلاسمای اتمسفری سرد می‌تواند جایگزین مناسبی نسبت به دیگر روش‌های درمانی برای سرطان سینه باشد.

### تشکر و قدردانی

مجریان پژوهش از کلیه عزیزانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، به ویژه آقایان دکتر محمود قرآن نویس، فرهاد شهگلی و شهریار میرپور، کمال تشکر و قدردانی می‌کنند.

ویتامین‌های C و E، گلوکاتایون و آنزیم‌هایی مثل سوپراکسید، دسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز کنترل می‌شود. (۱۸) در حالت عدم تعادل سلولی که سطح اکسیدان از آنتی اکسیدان بیشتر شود، باعث آسیب هسته، DNA، میتوکندری، پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌شوند. اگر این آسیب‌ها قابل جبران نباشند، مرگ سلولی اتفاق می‌افتد.

انواع ROSها واکنش پذیری شیمیایی متفاوتی دارند. استرس اکسیداتیو یکی از نمونه‌های آن است که در نتیجه افزایش بیش از حد تولید رادیکال‌های آزاد و ROS و یا کاهش عوامل آنتی‌اکسیدان ایجاد می‌گردد. در حقیقت، عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و مواد پراکسیدان از یک سو و سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی از سوی دیگر منجر به بروز استرس اکسیداتیو می‌گردد (۱۹). در حال حاضر، حضور ROS در غلظت‌های پایین در پیام‌های داخلی سلول به اثبات رسیده است (۲۰).

تنها سلول‌های خاصی قادر به تولید ROS و استرس‌های اکسیداسیونی برای تحریک تکثیر سلولی هستند که به غلظت ROS درون سلولی وابسته است. در برخی موارد، ROS باعث تکثیر سلولی می‌گردد که شواهد حاکی از این است که به بیان تغییر یافته ژن‌های وابسته به رشد ارتباط دارد (۲۱).

داوینس و همکارانش گزارش کرده‌اند که تطابق زودگر با استرس اکسیداتیو پراکسید هیدروژن در غلظت‌های پایین حدود ۳ تا ۱۵ میکرو مولار، رشد سلولی را ۲۵ تا ۴۰ درصد تحریک می‌کند، در حالی که غلظت پراکسید هیدروژن از

### REFERENCES

- Hickey M, Peate M, Saunders CM, Friedlander M. Breast cancer in young women and its impact on reproductive function. *Hum Reprod Update* 2009; 15:323-39.
- Nafissi N, Saghafinia M, Kalantar Motamedi M, Akbari ME. A survey of breast cancer knowledge and attitude in Iranian women. *J Cancer Res Ther* 2012; 8: 46-49.
- Akbari ME, Khayamzadeh M, Khoshnevis SJ, Nafisi N, Akbari A. Five and ten years survival in breast cancer patient's mastectomies vs. breast conserving surgeries personal experience. *Iran J Cancer Prev* 2008; 1:53-56.
- Lowe SW, and Lin AW. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 2000; 21: 485-95.
- Nehra V, Kumar A, Dwivedi H. Atmospheric non-thermal plasma sources. *International Journal of Engineering* 2008; 2: 53-68.
- Compton KT, Langmuir I. Electrical discharges in gases part I. Survey of fundamental processes. *Reviews of Modern Physics* 1930; 2: 123-242.
- Ahn H, Kim K, Moon E, Yang S, Lee J. Atmospheric pressure plasma jet induces apoptosis mitochondria via generation of free radicals. *PLOS one* 2011; 6: 2815-19.
- Radetic M, Jovic D, Jovancic P, Trajkovic R, Petrovic Z LJ. The effect of low-temperature plasma pretreatment on wool printing. *Textile Chem Col* 2000; 32: 55-60.
- Fridman G, Peddinghaus M, Balasubramanian M, Ayan H, Fridman A, Gutsol A, et al. Blood coagulation and living tissue sterilization by floating-electrode dielectric barrier discharge in air. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 2006; 26:425-42.

10. Topala I, Nastuta A. Helium atmospheric pressure plasma jet: Diagnostics and application for burned wounds healing. *Chemistry and Biology* 2012; 335-45.
11. Kim S, Chung TH, Bae SH, Leem SH. Induction of apoptosis in human breast cancer cells by a pulsed atmospheric pressure plasma jet. *Appl Physics Lett* 2010; 97:1.
12. Stoffels E, Kieft I, Sladek R. Superficial treatment of mammalian cells using plasma needle. *Journal of Physics D: Applied Physics* 2003; 36: 2908-13.
13. Kim J, Kruhalak M, Dotiwala F, Nassen Zweig A, Habar JE. Heterochromatin is reactory to  $\gamma$ -H2AX modification in yeast and mammals. *J Cell Biol* 2007; 178: 209-18.
14. Kim JY, Foy P, Hawkins TH, Wei Y, Jinhua L, Kim SO. Apoptosis of lung carcinoma cells induced by a flexible optical fiberbased cold microplasma. *Biosensors and Bioelectronics* 2011; 28.
15. Lu AG, Feng H, Wang PX, Ham DP, Chen XH, Zheng MH. Emerging roles of the ribonucleotidreductase M2 in colorectal cancer and ultraviolet-induced DNA damage repair. *World J Gastroentrol* 2012; 18: 4704-13.
16. Fridman G, Shereshevsky A, Jost MM, Brooks AD, Fridman A, Gutsol A, et al. Floating electrode dielectric barrier discharge plasma in air promoting apoptotic. Behavior in melanoma skin cancer cell lines. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 2007; 27: 163-76.
17. Rao MV, Davis KR. The physiology of ozone induced cell death. *Planta* 2001; 213: 682-90.
18. Kohen R. Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress--new approaches for their evaluation. *Biomed Pharmacother* 1999; 53: 181-92.
19. Bhalla DK. Ozone- induced lung inflammation and mucosal barrier disruption: toxicology, mechanisms and implications. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 1999; 2: 31-86
20. Hawkins CL, Brown BE, Davies MJ. Hypochloride- and hypobromide-mediated radical formation and its role in cell lysis. *Arch Biochem Biophys* 2001; 395: 137-45.
21. Robinson JM, Ohira T, Badwey JA. Regulation of the NADPH-oxidase complex of phagocytic leukocytes. Recent insights from structural biology, molecular genetics, and microscopy. *Histochem Cell Biol* 2004; 122: 293-304.