# بررسی اثرات تجویز نوزادی تاموکسیفن و زیرالنون بر ساختار غدد پستانی موش سوری ماده

هاجره کلکلی[۱]، رحمت اله پرندین[۲]، مرتضی بهنام رسولی*[۱]، ناصر مهدوی شهری[۱]، معصومه خیرآبادی[۱]، خدیجه صداقت[۱]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد ایران

۲) گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/٤/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/٤

**چکیده**

***مقدمه:*** مواجهه با ترکیبات شبه استروژنی در طی دوره های بحرانی از تکوین به ویژه در دوره نوزادی می تواند اثرات زیان آوری را بر بافت پستان در مراحل بعدی زندگی داشته باشد. در این تحقیق، اثرات تیمار نوزادی داروی آنتی استروژن تاموکسیفن و استروژن قارچی زیرالنون بر برخی شاخصه های بافت شناسی غده پستان در موش سوری ماده بررسی گردید.

***مواد و روش ها:*** ۲۰ نوزاد موش سوری ماده از نژاد BALB/c به ۴ گروه شامل سه گروه تیماری و یک گروه کنترل(بدون تیمار) تقسیم شدند. گروه های تیماری شامل گروه تیمار با تاموکسیفن(۴۰۰ µg/kg/day)، گروه تیمار با زیرالنون(۲ mg/kg/day) و گروه تیمار با تاموکسیفن+زیرالنون بودند. تیمارها به صورت روزانه از روز ۱ تا ۵ پس از تولد و به صورت تزریق زیر جلدی صورت گرفت. سپس در حدود ۷۰ روز پس از تولد موش ها عمیقاً بیهوش شده و پستان از بدن خارج گردید. به دنبال رنگ آمیزی، نمونه ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی گذاره مورد بررسی بافتی قرار گرفتند.

***یافته های پژوهش:*** نتایج نشان داد گروه تیمار با تاموکسیفن موجب کاهش ضخامت اپی تلیوم مجرای شیری و حجم نوک پستان می شود($P<0.05$). در گروه تیمار با زیرالنون و گروه تیمار با تاموکسیفن+زیرالنون در مقایسه با گروه کنترل، ضخامت اپی - تلیوم و حجم نوک پستان تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. بررسی ساختار مجرای شیری غدد پستانی در سطح میکروسکوپ الکترونی حاکی از اثرات تخریبی تیمار نوزادی تاموکسیفن بر ساختار اپی تلیوم مجرای شیری بود.

***بحث و نتیجه گیری:*** نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تجویز نوزادی تاموکسیفن بر غدد پستانی اثرات آنتی استروژنی اعمال می کند و از رشد طبیعی بافت پستان جلوگیری می نماید، اما زیرالنون نتایج زیان آوری را بر بافت پستان اعمال نمی کند.

**واژه های کلیدی:** غدد پستانی، تاموکسیفن، زیرالنون، استروژن، موش سوری

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

*Email: behnam@um.ac.ir*

*Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.*



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

## مقدمه

سرطان پستان شایع ترین نوع سرطان در بین زنان کشورهای در حال توسعه و دومین سرطان پس از سرطان ریه در زنان کشورهای توسعه یافته می باشد. این سرطان مسئول ۱۰/۴ درصد تمام سرطان های زنان و ۲۰ درصد مرگ و میر ناشی از سرطان می باشد(۲،۱). مطالعات انـجام شده نشان می دهد که در ایران نیز مانند بسیاری از کشورهای در حال توسعه و پیشرفته، از جهت سرطان های زنان، سرطان پستان، شایع ترین سرطان زنان بوده و دارای رتبه اول در کشور می باشد(۳). با وجود افزایش تعداد زنان مبتلا به سرطان پستان هنوز عوامل ایجادکننده آن به درستی شناسایی نشده اند. در حقیقت افزایش شیوع سرطان پستان در میان زنان جهان نیازمند یک تئوری محکم در جهت تشخیص عوامل موثر در افزایش ابتلاء به سرطان پستان میسر می باشد(۴،۵). آن چه مشخص است این است که سرطان پستان یک بیماری ژنتیکی می باشد که عوامل محیطی و هورمونی تا حد زیادی در ایجاد آن دخالت می کنند و انسان به مقدار زیادی در معرض عوامل سرطانزای موجود در غذا، آب، هوا و مواد شیمیایی و طبیعی می باشد(۶). مطالعات در جوندگان آزمایشگاهی نشان داده اند که افزایش سطوح استروژن درونزاد یا دی اتیل استیل بسترول(نوعی استروژن سنتتیک) در چند روز اول پس از تولد یا در دوره جنینی، هر دو غدد پستانی و دستگاه تولیدمثل را مستعد اختلالات تکوینی کرده و خطر شیوع سرطان پستان را افزایش می دهد(۱۰-۷). رشد، ریخت شناسی و تمایز غدد پستانی در طی دوره تکوینی پس از تولد به وسیله تعادل هورمون های مختلفی تنظیم می گردد(۱۱). هورمون های جنسی تخمدان به ویژه استروژن ها یک نقش کلیدی را در این فرایند ایفا می کنند، طوری که در رشد و تشکیل غدد پستانی و همین طور در پیشرفت غدد پستانی به سمت نئوپلازی نقش مهمی می کنند(۱۲). مطالعات نشان داده اند که تکوین غدد پستانی جوندگان در چند روز اول پس از تولد، هم ارز(anlage) دوره پایانی زندگی جنینی در انسان می باشد(۱۳).

تاموکسیفن یک داروی آنتی استروژن می باشد که به طور وسیعی در درمان اندوکرینی در همه مراحل درمان سرطان پستان زنان به کار رفته است(۱۴،۱۵). هم چنین در درمان سرطان های کبد، مغز و پانکراس مورد استفاده قرار می گیرد تاموکسیفن سطوح کلسترول خون را کاهش می دهد، موجب حفظ تراکم استخوان گردیده و اثر مهاری بر تمایز استئوکلاست های انسانی دارد. این مطالب نشان می دهد که تاموکسیفن ممکن است کاربرد عمومی تری داشته باشد(۱۶،۱۷). مطالعات نشان داده اند که تاموکسیفن از راه مکانیسم های مختلفی که منجر به آپوپتوزیس می گردد، از تکثیر سلول های پستان در انسان و جوندگان جلوگیری می کند(۱۸،۱۹). علی رغم اثرات آنتی استروژنیک، تاموکسیفن همین طور دارای فعالیت استروژنیک به ویژه در رحم، هیپوتالاموس و دستگاه تولیدمثلی می باشد(۲۰،۲۱).

زیرالنون یک مایکوتوکسین(سم قارچی) استروژنیک غیراستروییدی است که به وسیله بسیاری از گونه های قارچ فوزاریوم تولید می شود. زیرالنون به طور وسیعی در سراسر جهان به عنوان آلوده کننده بسیاری از محصولات کشاورزی از قبیل ذرت، گندم، جو، برنج و سایر غلات شناخته می شود(۲۴-۲۲). مطالعات نشان داده اند که حضور این ترکیبات در محصولات غذایی انسان و دام ها به عنوان یک عامل بالقوه زیان آور بر سلامتی به ویژه سلامتی تولیدمثلی گزارش شده است(۲۵،۲۶). همین طور برخی گزارشات نشان داده اند که تجویز زیرالنون احتمال بروز سرطان پستان را افزایش می دهد(۲۷،۲۸).

مطالعات در جوندگان نشان داده اند که در طی دوره نوزادی که یک دوره بسیار حساس هورمونی می باشد، اندام پستان به شدت نسبت به ترکیبات شبه استروژنی حساس و آسیب پذیر می باشد و احتمال بروز اختلالات در بافت پستان افزایش می یابد(۱۱-۷). لذا در این تحقیق اثرات تجویز نوزادی زیرالنون و تاموکسیفن بر تغییـــرات هیســـتولوژیکی غدد پستانی موش های آزمایـــشگاهی ماده بـــررسی گردید.



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

## مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۰ نوزاد موش سوری ماده از نژاد BALB/c به طور تصادفی و مساوی در ۴ گروه شامل یک گروه کنترل و ۳ گروه آزمایشی به صورت زیر قرار گرفتند: گروه کنترل(Con): بدون تیمار، گروه تاموکسیفن با دوز ۴۰۰ µg/kg (TAX)، گروه زیرالنون با دوز ۲ mg/kg (ZEA) و گروه تاموکسیفن+زیرالنون(TAX+ZEA). ترکیبات در ۰/۰۵ میلی لیتر روغن کنجد حل شده و به روش زیرجلدی با استفاده از سرنگ همیلتون به پشت گردن نوزادان در روزهای ۱ تا ۵ پس از تولد و در هر روز یک نوبت تجویز شدند. همه نوزادان روزانه جهت تیمار دقیق و بررسی سلامتی حیوانات وزن شدند. همه حیوانات در شرایط استاندارد با دمای ۱±۲۱ درجه سانتی گراد و ساعات روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته در حیوانخانه دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شدند. در این پژوهش کلیه نکات اخلاقی در رابطه با نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با مقررات بین‌المللی اخلاق علمی و انجمن حمایت از حیوانات آزمایشگاهی در تمام مدت تحقیق رعایت گردید.

در حدود روز ۷۰ پس از تولد، موش ها در مرحله دی استروس با تجویز کتامین/زایلازین(شرکت آلفاسن هلند) عمیقاً بی هوش شده، سپس موش ها با استفاده از فرمالین ۱۰ درصد(سیگما) از راه بطن چپ پرفیوژ و تثبیت شدند(۲۰). در ادامه غدد پستانی خارج شده و در فرمالین ۱۰ درصد برای مدت یک هفته در دمای ۴ درجه سانتی گراد مجدداً تثبیت شدند. پس از طی فرایندهای پردازش بافتی و تهیه برش های با ضخامت ۵ میکرومتر، نمونه ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شده و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

جهت اندازه گیری حجم نوک پستان از تکنیک استریولوژی استفاده گردید، به گونه ای که نمونه مورد نظر(در این پژوهش غدد پستانی) به صورت برش های سیستماتیک موازی و با فاصله های(d) برش زده شد. آغاز برش گیری به صورت تصادفی است، هم چنین برش های بعدی باید با فاصله برابر از برش اول انتخاب شود. بعد از آن یک شبکه نقطه ای که بر روی آن تعدادی نقاط به طور یکنواخت و با فواصل برابر قرار گرفته بر روی برش ها قرار داده می شود و تعداد نقاط واقع بر روی منطقه مورد نظر شمارش می گردد. بدین ترتیب مجموع وسعت و یا سطح مقطع های آن منطقه روی تمام برش ها محاسبه می شود و به دنبال آن طبق فرمول شماره ۱ زیر حجم بخش های مورد نظر محاسبه می گردد(۲۹).

فرمول شماره ۱ $V = \mathrm{D} \times \sum A$

V: حجم کلی، D: فاصله بین برش ها، $\sum A$: مجموع مساحت سطح مقطع که از فرمول شماره ۲ به دست می آید.

فرمول شماره ۲ $\sum \mathrm{A} = \sum \mathrm{P} \times a\,(p)$

$\sum \mathrm{P}$: تعداد نقاط شمارش شده روی کل سطح مقطع نمونه ها، $a\,(p)$: مساحت مربوط به هر نقطه.

برای اندازه گیری ضخامت اپی تلیوم غدد پستانی، ابتدا تصاویری با بزرگ نمایی X ۴۰ و X ۱۰۰ تهیه گردید، سپس طلق شفاف دارای خطوط مورب، روی هر تصویر قرار داده شد. در تصاویر مربوط به غدد پستانی، به طور تصادفی خطوطی که از اپی تلیوم عبور می کنند جهت اندازه گیری ضخامت اپی تلیوم استفاده می شود. در ادامه با استفاده از نرم افزار Image J طول خط مورد نظر اندازه گیری گردید.

در تعدادی از نمونه ها جهت بررسی کیفی و دقیق تر تغییرات ریخت شناسی و مجاری غدد پستانی از میکروسکوپ الکترونی نیز استفاده شد. آماده سازی نمونه ها در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد با استفاده از رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و توسط کارشناس مربوطه انجام گرفت. سپس نمونه ها با میکروسکوپ الکترونی گذاره مشاهده و تصویربرداری شد.

تمام داده ها به کمک نرم‌افزار Graph pad prism و آنالیز یک طرفه ANOVA، مورد تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها توسط Tukey's HSD hoc test انجام شد و نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم گردید. سطح معناداری($P<0.05$) در نظر گرفته شد.



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

## یافته های پژوهش

در شکل شماره ۱ ساختار یک غده پستانی در گروه کنترل نشان داده شده و در شکل شماره ۲ ساختار مقطع نوک پستان و ساختار بافتی آن در گروه های مختلف توسط میکروسکوپ نوری با یکدیگر مقایسه شده اند. هم چنان که مشاهده می گردد، در مقایسه با گروه کنترل، ساختار نوک پستان در گروه تیمار با تاموکسیفن ابتدائی است و نوک پستان دارای گردن متمایزی نمی باشد، در حالی که ساختار نوک پستان در گروه تیمار با زیرالنون و تاموکسیفن+زیرالنون به گروه کنترل نزدیک تر است و گردن نوک پستان تشکیل شده است. پیدایش گردن نتیجه تمایز، اندام‌زایی و تشکیل نوک پستان در این گروه ها است.

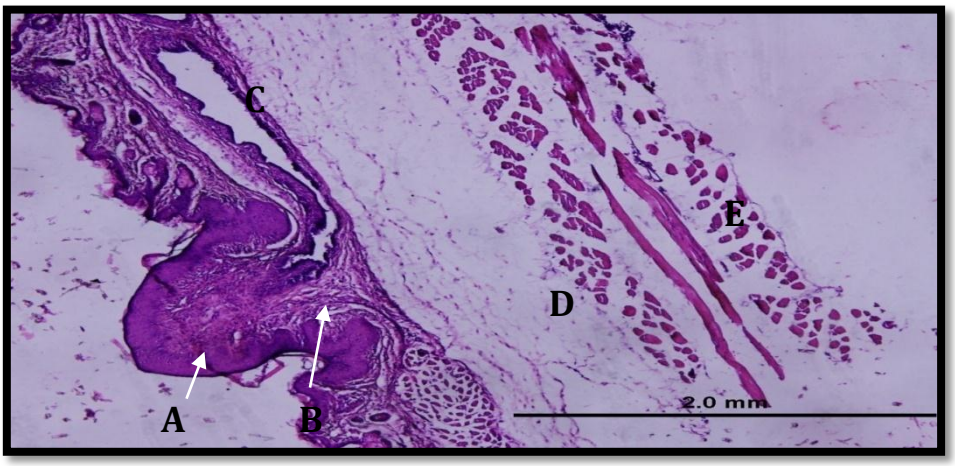
در نمودار شماره ۱ مقایسه ضخامت اپی تلیوم نوک پستان در گروه های مختلف نشان داده شده است. در مقایسه با گروه کنترل، ضخامت اپی تلیوم نوک پستان در گروه تاموکسیفن به طور معناداری($P<0.05$) کمتر است. در گروه های زیرالنون و تاموکسیفن+زیرالنون در مقایسه با کنترل تفاوت معنی داری در ضخامت اپی تلیوم نوک پستان دیده نمی شود.

در نمودار شماره ۲ میانگین حجم نوک پستان در گروه های مختلف نشان داده شده است. هم چنان که مشاهده می شود حجم نوک پستان در گروه تاموکسیفن به طور معنی داری($P<0.05$) کمتر از گروه کنترل است. در گروه های زیرالنون و تاموکسیفن+ زیرالنون در مقایسه با کنترل تفاوت معنی داری در اندازه گیری حجم نوک پستان مشاهده نگردید. در شکل شماره ۲ پیدایش و گسترش مجرای شیری در نوک پستان نیز با یکدیگر قابل مقایسه است. در مقایسه با گروه کنترل گسترش مجرای شیری به سمت نوک پستان در گروه آزمایشی تاموکسیفن کمتر است در حالی که مجرای شیری در گروه زیرالنون و تاموکسیفن+زیرالنون به طور مشخصی به سمت نوک پستان گسترش یافته است.

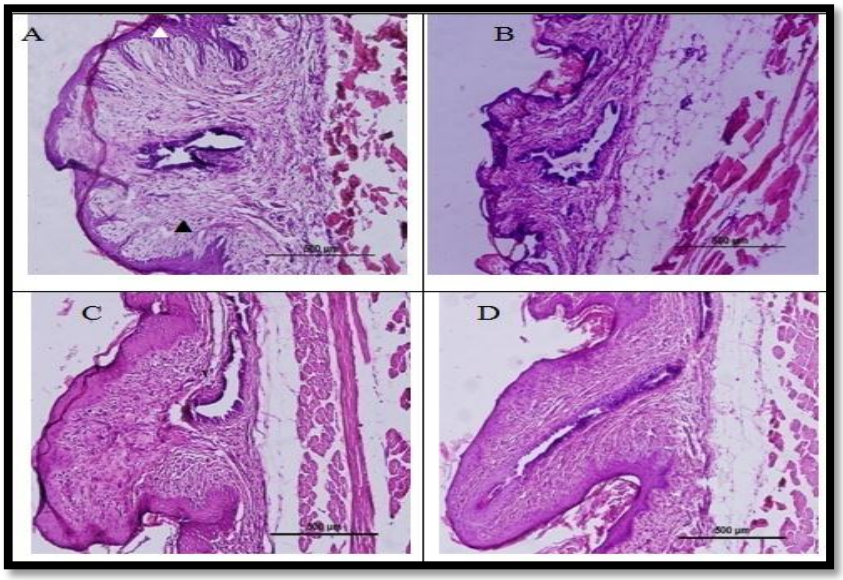
با توجه به تفاوت ساختاری مشهود نوک پستان در گروه تاموکسیفن نسبت به گروه کنترل در بررسی میکروسکوپ الکترونی گذاره فقط از گروه کنترل و گروه تاموکسیفن تصاویر میکروسکوپ الکترونی گذاره تهیه گردید. تصاویر تهیه شده از برش های نیمه نازک(شکل شماره ۳-C) نشان می دهد که در ساختار مجاری شیری گروه کنترل، چند لایه سلولی از سلول های اپی تلیومی مشاهده می گردد سلول های اپی - تلیال با هسته های بزرگ، منظم و مکعبی مشاهده می شوند در حالی که در گروه تیمار با تاموکسیفن کاهش ضخامت لایه سلول های اپی تلیومی مشاهده می گردد هم چنین سلول های اپی تلیال با هسته های کوچک و تحلیل رفته دیده می شود(شکل شماره ۴-C) به همین ترتیب تصاویر تهیه شده به کمک میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان می دهند که در گروه کنترل، دیواره مجاری شیری دارای سلول های اپی تلیال با هسته و هستک های طبیعی هستند علاوه بر این در مجاری شیری غشای پایه مشخصی دیده می شود هم چنین غشای راسی سلول های اپی تلیال لومن مزرس دیده نمی شود(شکل شماره ۵-A). در حالی که در مجاری شیری گروه تاموکسیفن علاوه بر کاهش ضخامت لایه سلول های اپی تلیال، هسته سلول های اپی تلیال در معرض پدیده پیکنوتیک قرار دارند و غشای پایه مشخصی در این گروه دیده نمی شود هم چنین غشای راسی سلول های اپی تلیال لومن مزرس دیده می شود(شکل شماره ۶-A).

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

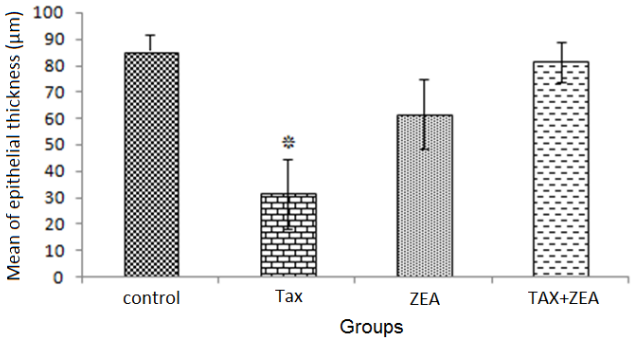
[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]




**شکل شماره ۱. ساختار یک غده پستانی گروه کنترل با بزرگ نمایی ٤٠: A: اپی تلیوم نوک پستان، B: استروما، C: مجرا، D: لایه چربی، E: لایه عضلانی شکم**




**شکل شماره ۲. ساختار بافت شناسی و مقایسه اندام زایی نوک پستان غدد پستانی در گروه های مختلف در روز ۷۰ پس از تولد در مرحله دی استروس. بزرگ نمایی در همه تصاویر ۱۰۰ است.(A: کنترل، B: تاموکسیفن، C: زیرالنون، D: تاموکسیفن+زیرالنون). نوک پیکان توخالی، اپی تلیوم نوک پستان و نوک پیکان توپر، استرومای نوک پستان**



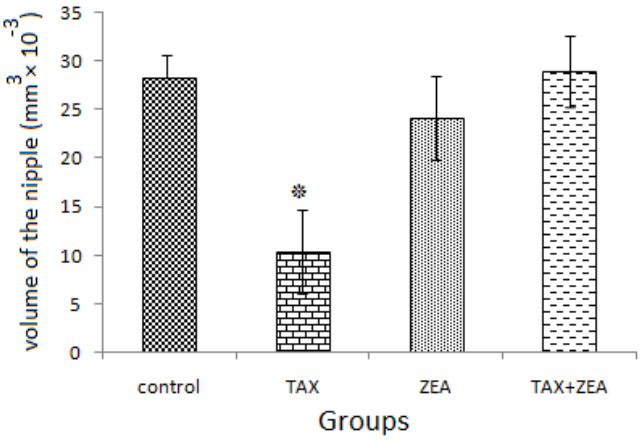

**نمودار شماره ۱. مقایسه ضخامت اپی تلیوم نوک پستان در گروه های مختلف در روز ۷۰ پس از تولد. نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد ارائه شده است(n=5). P<0.05* مقایسه با گروه کنترل(control).**

**TAX: تاموکسیفن، ZEA: زیرالنون، TAX+ZEA: تاموکسیفن+زیرالنون**

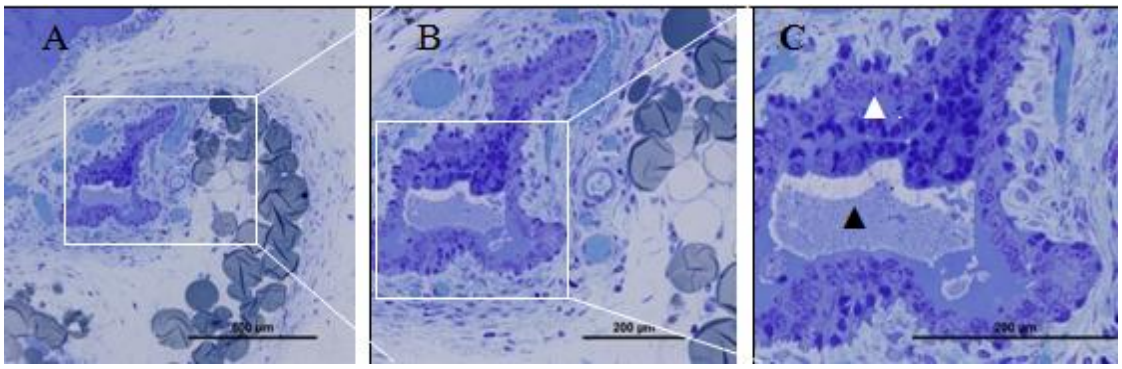


[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

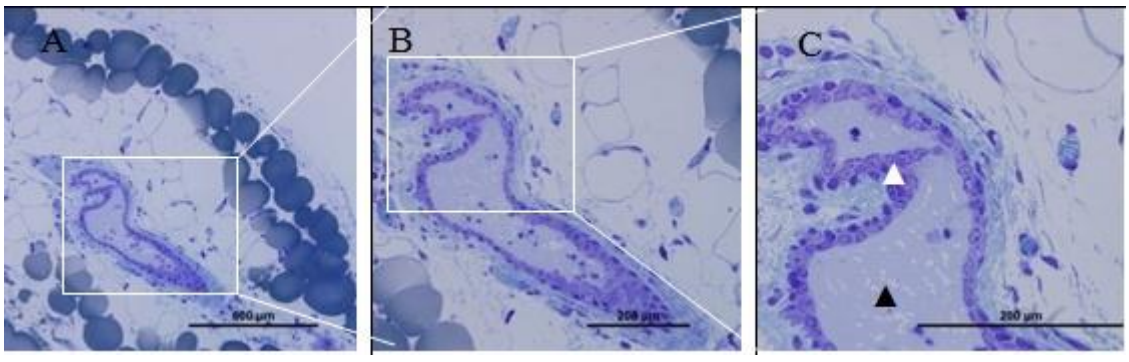
[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]




**نمودار شماره ۲. بررسی حجم نوک پستان در گروه های مختلف در روز ۷۰ پس از تولد. نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد ارائه شده است(n=5). P<0.05* مقایسه با گروه کنترل(control). TAX: تاموکسیفن، ZEA: زیرالنون، TAX+ZEA: تاموکسیفن+زیرالنون**




**شکل شماره ۳. تصاویر تهیه شده از برش های نیمه نازک مجاری غدد شیری گروه کنترل(رنگ آمیزی آبی تولوئیدین)، بزرگ نمایی در A ۱۰۰، در B ۲۰۰ و در C ٤۰۰ است. نوک پیکان توپر، لومن مجرا و نوک پیکان توخالی، اپی تلیوم مجرا**

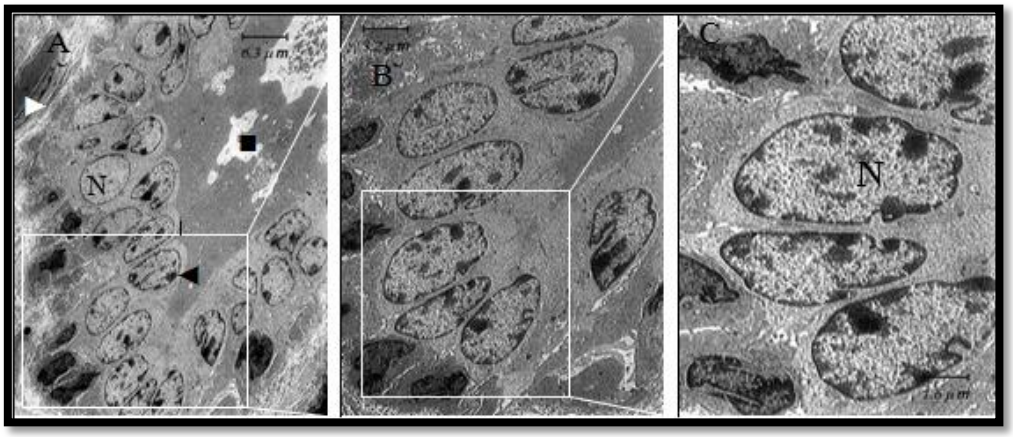



**شکل شماره ٤. تصاویر تهیه شده از برش های نیمه نازک مجاری غدد شیری گروه تاموکسیفن(رنگ آمیزی آبی تولوئیدین)، بزرگ نمایی در A ۱۰۰، در B ۲۰۰ و در C ٤۰۰ است. نوک پیکان توپر، لومن مجرا و نوک پیکان توخالی، اپی تلیوم مجرا**

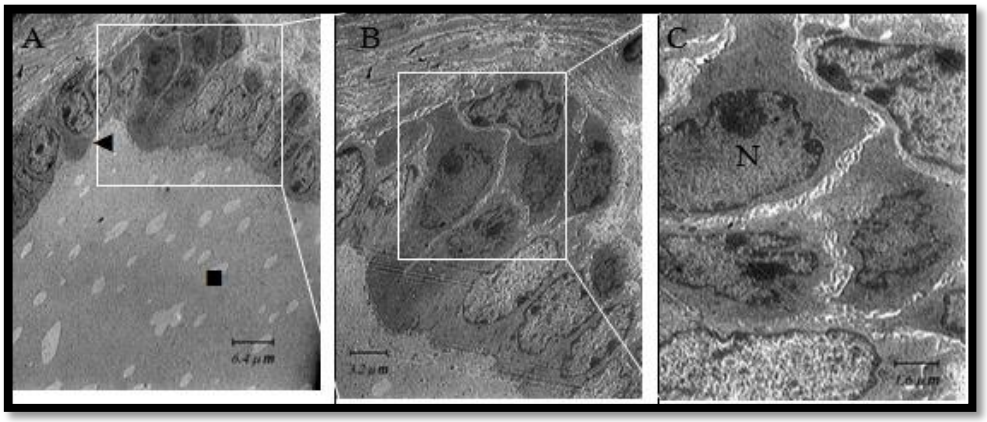


[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]




**شکل شماره ۵. تصاویر تهیه شده به کمک میکروسکوپ الکترونی گذاره، از مجاری غدد شیری، گروه کنترل است. A: مربع توپر، لومن مجرا. نوک پیکان توپر، سلول های اپی تلیال مجرا. نوک پیکان توخالی، غشای پایه. B: سلول های اپی تلیال مجرا. C: هسته سلول های اپی تلیال مجرا(N).**




**شکل شماره ٦. تصاویر تهیه شده به کمک میکروسکوپ الکترونی گذاره، از مجاری غدد شیری، گروه ناموکسیفن است. A: مربع توپر، لومن مجرا. نوک پیکان توپر، سلول های اپی تلیال مجرا. B: سلول های اپی تلیال مجرا. C: هسته سلول های اپی تلیال مجرا(N)**

## بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر در زمینه تغییرات بافت پستان به دنبال تیمار نوزادی داروی آنتی استروژنیک تاموکسیفن و سم استروژن قارچی زیرالنون بوده است. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تیمار نوزادی موش ها با ترکیب تاموکسیفن موجب کاهش ضخامت اپی تلیوم و حجم نوک پستان می شود. تصاویر حاصل از مطالعه میکروسکوپ نوری و الکترونی نیز حاکی از تحلیل بافت پستان در گروه تاموکسیفن می باشد. در این رابطه گزارش گردیده است که تیمار ۳۰ روزه موش های صحرایی با تاموکسیفن، موجب توقف تکوین آلوئول های بافت غدد پستانی در ۷۵ درصد حیوانات تیمار شده می شود(۳۰). نتایج حاصل از مطالعات دیگری نشان می دهد که تجویز تاموکسیفن با دوز ۱۰۰ µg/kg از رشد و تکوین آلوئولار در غدد پستانی جلوگیری می کند و موجب آتروفی مجاری شیری و ساختارهای لوبول-آلوئولار می گردد(۳۱،۳۲) که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد. در همین راستا پژوهشی بر روی ۴۰ موش صحرایی ماده تحت تجویز زیرجلدی تاموکسیفن با دوز ۲/۵ mg/kg صورت گرفت. نتایج میکروسکوپ الکترونی گذاره حاکی از آن بود که تیمار با تاموکسیفن موجب پراکندگی کروماتین، بی نظمی در شکل و غشای هسته شده، که احتمالاً نشان دهنده مرگ سلولی ناشی از تجویز تاموکسیفن می باشد(۳۳).



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که تجویز زیرالنون(با دوز ۲ mg/kg) منجر به تغییرات اساسی در بافت پستان نمی گردد. در این رابطه گزارش شده است که تجویز زیرالنون در طی دوره حاملگی و ادامه تجویز آن تا روز پنجم پس از تولد به صورت وابسته به دوز موجب افزایش معنی دار تراکم سلول های اپی تلیوم، ضخامت آن و انشعابات مجاری غدد شیری می گردد(۳۴) که در مطالعه حاضر مشاهده نگردید. در عین حال در گزارشی دیگر اعلام گردیده است که تجویز پیش از بلوغ زیرالنون یا زرانول(یک متابولیت حاصل از زیرالنون) تاثیری بر رشد غدد پستانی موش های ماده ندارد(۳۵) که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. همین طور تجویز هم زمان تاموکسیفن+زیرالنون نیز نشان می دهد که اثرات تاموکسیفن بر بافت پستان توسط زیرالنون متوقف شده است که حاکی از آن است که زیرالنون، اثرات سوئی را بر بافت پستان اعمال نمی کند. مطالعات نشان داده اند که تاموکسیفن بسته به نوع بافت دارای هر دو اعمال استروژنیک و آنتی استروژنیک می باشد. تاموکسیفن در اپی تلیوم پستان اثرات آنتی استروژنیک دارد و لذا در درمان و جلوگیری از سرطان پستان به کار می رود(۳۶). در حالی که تاموکسیفن در اپیتلیوم رحم دارای فعالیت استروژنیک می باشد، و افزایش شیوع ابتلاء به ناهنجاری های اندومتریال(کارسینوما، سارکوما و هیپرپلازیا) در زنان تحت درمان با تاموکسیفن گزارش شده است(۳۷). تاموکسیفن از لحاظ شیمیایی خیلی شبیه به استرادیول می باشد اما تاموکسیفن در مقایسه با استرادیول دارای یک زنجیره بلند است که برای عملکرد آنتی استروژنی اش مهم است. در مطالعه ای نشان داده شده است که اتصال طولانی مدت تاموکسیفن به ژن های اختصاصی استروژن، در اپی تلیوم پستان قادر به کاهش فعالیت آنزیم DNA پلی مراز و تقلیل پاسخ استروژن گردد. مکانیسم عملکرد تاموکسیفن به دلیل ساختار مولکولی اش پیچیده است. روشن است که مکانیسم اصلی عملکرد تاموکسیفن از راه اتصال آن با گیرنده های استروژن و توقف عملکرد تکثیری هورمون استروژن در بافت پستان صورت می گیرد. یک مکانیسم پیشنهادی برای این نقش ضد تکثیری تاموکسیفن، القاء سنتز فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا(TGF-β) می باشد که به عنوان یک مولکول سیتوکین تنظیمی اتوکرین منفی از جمله در مهار رشد سلولی عمل می کند(۳۸). به علاوه مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داده اند که تاموکسیفن سنتز TGF-β را در استروما(مزانشیم) سرطان پستان تحریک می کند(۳۹). به علاوه مطالعات دیگر نشان داده اند که تاموکسیفن قادر به کم کردن سطوح فاکتور رشد شبه انسولین(IGF-I) که یک میتوژن قوی برای تکثیر سلول های پستان می باشد، در مبتلایان به سرطان پستان می باشد(۴۰،۴۱). مطالعات قبلی نشان داده اند که زیرالنون برای گیرنده آلفای استروژن یک آگونیست کامل و برای گیرنده بتای استروژنیک آگونیست جزیی است(۲۷). از طرف دیگر تاموکسیفن بر گیرنده بتای استروژن اثرات آنتاگونیستی و بر گیرنده آلفا اثرات آگونیستی اعمال می کند(۴۲). گزارشات قبلی نشان داده اند که اپی تلیوم بافت پستان بیشتر گیرنده های بتای استروژن را بیان می کند(۴۳،۴۴). بنا بر این به نظر می رسد تاموکسیفن در آن جا شبیه یک آنتاگونیست استروژن عمل می کند و از تکثیر سلول های اپی تلیالی در غدد پستانی جلوگیری می کند(۳۰). در سایر بافت ها مثل رحم، دستگاه تولیدمثلی، مغز، قلبی عروقی و استخوانی که در آن ها بیان گیرنده آلفای استروژن بیشتر است تاموکسیفن اثرات استروژن را تقلید می کند(۴۵،۴۶). بنا بر این ممکن است به خاطر وجود تعداد گیرنده های استروژن آلفا کمتر در مقایسه گیرنده های بتا در بافت پستان(۴۳،۴۴)، زیرالنون فعالیت شبه استروژنی ضعیفی را در این بافت از خود نشان بدهد. بر این اساس چنین به نظر می رسد که در عرصه رقابت بین اثرات آنتاگونیستی تاموکسیفن و اثرات آگونیستی زیرالنون در بافت پستان، زیرالنون می تواند اثرات آنتاگونیستی تاموکسیفن را در بافت پستان خنثی نماید. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه تجویز تاموکسیفن موجب کاهش ضخامت اپی تلیوم، کاهش حجم نوک و تحلیل بافت پستان می گردد. به نظر می رسد علت بروز این تغییرات مربوط به اثرات آنتی استروژنی تاموکسیفن در بافت پستان می باشد. در صورتی که با عدم تاثیر تجویز زیر النون و تاموکسیفن+زیرالنون



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

چنین استنباط می گردد که زیرالنون در بافت پستان فعالیت استروژنی ضعیفی از خود نشان می دهد. در مجموع چنین به نظر می رسد که تجویز نوزادی داروی آنتی استروژنیک تاموکسیفن، اثرات سوء پایداری را بر تکوین غدد پستانی اعمال می کند، در صورتی که ترکیب شبه استروژنیک زیرالنون اثرات سوئی را بر جای نمی گذارد.

**سپاسگزاری**

نتایج این تحقیق، حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد می باشد. بدین وسیله از زحمات حوزه معاونت پژوهشی به جهت حمایت مالی(گرانت شماره ۳/۳۸۰۹۸) و دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد تقدیر و تشکر می شود.

*References*

1. Sharma GN Dave R, Sanadya J, Sharma P, Sharma KK. Various types and management of breast cancer: an overview. J Adv Pharm Technol Res 2010; 1:109-26.
2. Howard JH, Bland KI. Current management and treatment strategies for breast cancer. Curr Opin Obstet Gynecol 2012; 24: 44-8.
3. Enayatrad M. An investigation of changing patterns in breast cancer incidence trends among Iranian women. J Sabzevar Uni Med Sci 2015: 22: 27-35.
4. Nojomi M, Mirfakhraee R, Hosseini N. [Relationship between hormonal factors and breast cancer]. Hakim Res J 2004; 7:19-25. (Persian)
5.Furberg H, Newman B, Moorman P, Millikan R. Lactation and breast cancer risk. Int J Epidemiol 1999; 28:396-402.
6. Garciaclosas M, Chanock S. Genetic susceptibility loci for breast cancer by estrogen receptor status. Clin Cancer Res 2008; 15: 8000-9.
7.Hilakiviclarke L, Cho E, Raygada M, Kenney N. Alterations in mammary gland development following neonatal exposure to estradiol, transforming growth factor alpha and estrogen receptor antagonist ICI 182,780. J Cell Physiol 1997; 170: 279-89.
8.Lopez J, Ogren L, Verjan R, Talamantes F. Effects of perinatal exposure to a synthetic estrogen and progestin on mammary tumorigenesis in Mice. Teratology 1998; 38: 129-34.
9. Walker BE. Tumors in female offspring of control and diethyl stilbestrol-exposed mice fed high-fat diets. J Natl Cancer Inst 1990; 82: 50-4.
10. Jones LA, Bern HA. Cervicovaginal and mammary gland abnormalities in balb/c crgl mice treated neonatally with progesterone and estrogen alone or in combination. Cancer Res 1979; 39: 2560-67.
11. Imagawa W, Bandyopadhyay GK, Nandi S. Regulation of mammary epithelial cell growth in mice and rats. Endocr Rev 1990; 11: 494-523.
12. Russo IH, Russo J. Role of hormones in mammary cancer initiation and progression. J Mam Gland Biol Neoplas 1998; 3: 49-61.
13. Hovey RC, Trott JF, Vonderhaar BK. Establishing a framework for the functional mammary gland from endocrinology to morphology. J Mam Gland Biol Neoplas 2002;7: 17–38.
14. Jordan VC, Morrow M. Tamoxifen, raloxifene and prevention of breast cancer. Endocrine Rev1999; 20: 253-78.
15. Elwood VJ, Jordan VC. The estrogen receptor a model for molecular medicine. Clin Cancer Res2003; 9: 1980-89.
16. Lerner LJ, Jordan VC. The development of antiestrogens for the treatment of breast cancer. Cancer Res1990; 50: 4177-89.
17.Michael H, Harkonen PL, Kangas L, Vaananen HK, Hentunen TA. Differential effects of selective oestrogen receptor modulators Tamoxifen ospemifene and raloxifen on human osteoclasts in vitro. Brithish J Pharmacol 2007; 151:384-95.
18. Warri AM, Huovinen RL, Laine AM, Martikainen PM, Harkonen PL. Apoptosis in toremifene induced growth inhibition of human breast cancer cells in vivo and in vitro. J Natl Cancer Inst 1993; 85: 1412-18.
19. Huovinen RL, Warri AM, Collan Y. Mitotic activity, apoptosis and TRPM-2 mRNA expression in DMBA-induced Rat mammary carcinoma treated with anti-estrogen toremifene. Int J Cancer 1993; 55: 685-91.



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

20.Parandin R , Behnam - rassouli M, Mahdavi , Shahri N. Oestrogenic action of neonatal tamoxifen on the hypothalamus and reproductive system in female mice. Reprod Fertil Dev 2016: RD15361.
21.Jones ME, van Leeuwen FE, Hoogendoorn WE, Mourits MJ, Hollema H, van Boven H, et al. Endometrial cancer survival after breast cancer in relation to tamoxifen treatment: pooled results from three countries. Breast Cancer Res 2012; 14: 91.
22.Rhyn P, Zoller O. Zearalenone in cereals for human nutrition relevant data for the Swiss population. Eur Food Res Tech 2003; 216: 319-22.
23.Zinedine A, Soriano JM, Molto JC, Manes J. Review on the toxicity occurrence metabolism detoxification regulations and intake of Zearalenone an oestrogenic mycotoxin. Food Chem Toxicol 2007; 45: 1-18.
24. Belhassen H, Jimenezdiaz, Arrebola JP, Ghali R, Ghorbel H, Olea N, Hedili A. Zearalenone and its metabolites in urine and breast cancer risk a case control study in Tunisia. Chemosphere 2015; 128: 1-6.
25.Zhao F, Li R, Xiao S, Diao H, Viveiros MM, Song X, Ye X. Postweaning exposure to dietary zearalenone, a mycotoxin, promotes premature onset of puberty and disrupts early pregnancy events in female Mice. Toxicol Sci 2013; 132: 431-42.
26. Lorond T, Vigh E, Garai J. Hormonal action of plant derived and anthropogenic non-steroidal estrogenic compounds phytoestrogens and xenoestrogens. Curr Med Chem 2010; 17: 3542-74.
27. Finkgremmels J, Malekinejad H. Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen Zearalenone. Anim Feed Sci Technol 2007;137: 326-41.
28. Parandin R, Behnam Rassouli M, Sisakhtnezhad S, Mahdavishahri N. Invitro evaluation of the effects of Zearalenone and α-Zearalenol on MCF-7 and MDA-MB-468 cell lines of human breast cancer. Razavi Int J Med 2015; 3:30231.
29. Mandarim C. A stereological tools in biomedical research. Anais Acad Brasil Cien2003; 75: 469-86.
30.Hattar R, Maller O, Mcdaniel S, Hansen KC, Hedman KJ, Lyons TR, et al. Tamoxifen induces pleiotrophic changes in mammary stroma resulting in extracellular matrix that suppresses transformed phenotypes. Breast Cancer Res 2009;11:5.
31.Sourla A, Luo S, Labrie C, Belanger A, Labrie F. Morphological changes induced by 6-month treatment of intact and ovariectomized Mice with Tamoxifen and the pure antiestrogen EM-800. Endocrinology 1997; 138:5605-17.
32. Hovey RC, Asaisato M, Warri A, Terrykoroma B, Colyn N, Ginsburg E, et al. Effects of neonatal exposure to diethylstilbestrol Tamoxifen and toremifene on the balb/c Mouse mammary gland. Biol Reprod 2005; 72:423-35.
33.Abdelmeguid N, Mostafa M, Abdelmoneim A, Badawi A, Abouzeinab N. Tamoxifen and melatonin differentially influence apoptosis of normal mammary gland cells ultrastructural evidence and p53 expression. Int J Canc Res 2008; 4:81-91.
34. Belli P, Bellaton C, Durand J, Balleydier S, Milhau N, Mure M, et al. Fetal and neonatal exposure to the mycotoxin zearalenone induces phenotypic alterations in adult Rat mammary gland. Food Chem Toxicol 2010; 48: 2818-26.
35. Nikaido Y, Danbara N, Tsujitakyutoku M, Yuri T, Uehara N, Tsubura A. Effects of prepubertal exposure to xenoestrogen on development of estrogen target organs in female CD-1 Mice. Invivo 2005; 19: 487-94.
36. Fughberman A, Epstein S. Tamoxifen disease prevention or disease substitution. Lancet 1992; 340:1143-5.
37. Jordan VC. 1 th ed. Long term Tamoxifen treatment for breast cancer. Madison Uni Wisconsin Publication. 1994; P.289.
38. Knabbe C, Lippman ME, Wakefield LM. Evidence that TGF-β is a hormonally regulated negative growth factor in human breast cancer cells. Cell 1987; 48: 417-28.
39. Butta A, MacLennan K, Flanders KC. Induction of transforming growth factor β1 in human breast cancer in vivo following tamoxifen treatment. Cancer Res 1992; 52: 4261-4.
40. Colletti RB, Roberts JD, Devlin JT, Copeland KC. Effect of Tamoxifen on plasma insulin like growth factor I in patients with breast cancer. Cancer Res 1989; 49: 1882-4.



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

41. Pollak MJ, Costantino C, Polychronakos SA. Effect of tamoxifen on serum insulin-like growth factor I levels in stage I breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1990; 82: 1693-7.
42. Hall JM, Mcdonnell DP. The estrogen receptor beta-isoform of the human estrogen receptor modulates ERalpha transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. Endocrinology 1999; 140: 5566-78.
43.Speirs V, Skliris GP, Burdall SE, Carder PJ. Distinct expression patterns of ER alpha and ER beta in normal human mammary gland. J Clin Pathol 2002; 55: 371-4.
44.Palmieri C, Cheng GJ, Saji S, Zeladahedman M, Warri A, Weihua Z, Vannoorden S, et al. Estrogen receptor beta in breast cancer. Endocr Relat Cancer 2002; 9:1-13.
45. Pinilla L, Barreiro ML, Gonzalez LC, Tenasempere M, Aguilar E. Comparative effects of testosterone propionate oestradiol benzoate, ICI 182,780, tamoxifen and raloxifene on hypothalamic differentiation in the female Rat. J Endocrinol 2002; 172: 441-8.
46.Garciabecerra R, Santos N, Diaz L, Camacho J. Mechanisms of resistance to endocrine therapy in breast cancer: focus on signaling pathways miRNAs and genetically based resistance. Int J Mol Sci 2013; 14: 108-45.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]

# Investigating the Effect of Neonatal Exposure of Tamoxifen and Zearalenone on Mammary Gland structure in Female Mouse

*Kalkali H[1], Parandin R[2], Behnamrassouli M[1*], Mahdavishahri N[1], Kheirabadi M[1], Sedaghat KH[1]*

**(Received: July 9, 2016 Accepted: December 24, 2016)**

## Abstract

*Introduction*: Exposure to estrogen like chemicals during critical periods of development particularly in the neonatal period can disrupt normal patterns of mammary tissue development later in life. In this study, the effects of neonatal exposure of tamoxifen anti-estrogen and zearalenone mycoestrogen on some histological characteristics of mammary gland in female mouse were investigated.

*Materials & Methods*: Twenty newborn female mice of BALB/c strain were divided into four groups: three experimental and one control group (with no treatment). Treatment groups included Tamoxifen (400 µg /kg /day) group, Zearalenone treatment group (2 mg /kg /day) and group treated with tamoxifen+zearalenone treatment group. Daily treatments were started on the first day of life and continued up to 5 subcutaneously. Then about 70 days after birth, mice were deeply anesthetized and the mammary tissue was removed from the body. Following histochemical staining, the samples were studied using light and transmission electron microcopies.

*Findings*: The result showed that epithelial thickness of milk duct and volume of the nipple in tamoxifen treatment group significantly ($p<0.05$) reduced. In contrast, the thickness of the epithelium and the nipple volume in tamoxifen+zearalenone and zearalenone treatment groups showed no significant difference in comparison with control. The electron microscopy of nipple duct showed negative effects of Tamoxifen on epithelium of milk duct.

*Discusion & Conclusions*: The results of this study show that neonatal administration of tamoxifen probably exerts anti-estrogenic effects and it prevents the normal development of mammary tissue, but zearalenone do not have adverse consequences on mammary tissue.

*Keywords*: Mammary gland, Tamoxifen, Zearalenone, Estrogen, Mice

*1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran*
*2. Dept of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran*
**Corresponding author Email:* behnam@um.ac.ir



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12 ]

[ DOI: 10.29252/sjimu.25.6.106 ]