Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

# Molecular and Anticancer Effects of β-Carotene on the Apoptotic Pathway via Regulation of Bax/Bcl-2 in MCF-7 Breast Cancer Cell Line

**Ameneh Majidi [1], Saeid Ghorbian [2*], Neda Roshanravan [3]**

[1] Dept of Biology, Ah.C, Islamic Azad University, Ahar, Iran
[2] Dept of Biology, Ta.C, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[3] Cardiovascular Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

**Article Info**

***Article type:***
Research article

***Article History:***
Received: Aug. 16, 2025
Received in revised form: Sep. 19, 2025
Accepted: Oct. 05, 2025
Published Online: Nov. 26, 2025

**** Correspondence to:***
Saeid Ghorbian
Dept of Biology, Ta.C, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Email:
saeid.ghorbian@iau.ac.ir

**A B S T R A C T**

**Introduction:** Breast cancer stands out as the top cancer type and a major reason for cancer deaths in women around the world. New studies point to β-carotene having possible healing impacts on this cancer. This work focused on checking how β-carotene affects cell death through changes in BAX and BCL2 gene levels in the MCF-7 breast cancer cells.

**Materials & Methods:** We grew MCF-7 cells and exposed them to different amounts of β-carotene. To measure cell survival and damage, we used the MTT test. For cell growth checks, we applied the trypan blue exclusion approach. Once we pulled out RNA and made cDNA from it, we measured BAX and BCL2 levels with real-time PCR. This helped us look into the ways apoptosis works at a molecular level.

**Results:** Treatment with β-carotene cut down cell survival a lot, and it did so based on the dose given. It boosted BAX gene activity, lowered BCL2 activity, and triggered cell death in MCF-7 cells. Normal HFF-2 fibroblast cells showed no real damage or death from it. The impact on breast cancer cells depended on both dose and time passed. IC50 values differed a lot at 24 hours, 48 hours, and 72 hours, with p values under 0.01. Even small amounts of β-carotene started apoptosis in those MCF-7 cells.e started apoptosis in those MCF-7 cells.

**Conclusion:** β-carotene triggered cell death just in breast cancer cells, depending on dose and time. It barely harmed normal cells at all. This points to β-carotene working well as a treatment option for breast cancer down the line.

**Keywords**: Breast cancer, MCF-7 cell line, β-carotene, BAX, BCL2

**Cite this paper:** Majidi A, Ghorbian S, Roshanravan N. Molecular and Anticancer Effects of β-Carotene on the Apoptotic Pathway via Regulation of Bax/Bcl-2 in MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;33(5):146-159.

## Introduction

Breast cancer hits women most often as a cancer, and it ranks second for deaths tied to cancer across the globe (1). About one out of every eight to ten women faces it sometime in life (2). The disease comes from unchecked growth of cells in breast ducts or lobules, and doctors see it as varying a lot from case to case (1). How well someone does depends on things like tumor size, its grade under the microscope, spread to lymph nodes, and how fast cells multiply (1). Things that raise risk cover family background, hormone and birth-related issues, growths in breast tissue that could turn bad, and past exposure to radiation (2). On top of that, ways of living like not moving much, eating lots of processed foods, carrying extra weight, or being obese link to more cases showing up (3). Doctors split breast cancer into key groups like Lobular Carcinoma In Situ, which stays in place, Ductal Carcinoma In Situ, also contained, and Invasive Breast Carcinoma that spreads (3). Roughly 15 to 20 percent tie back to family lines and genes that make someone prone (4). Foods with active compounds, especially from produce like fruits and veggies, connect to lower chances of cancer (4). β-carotene counts as one of those, a pigment that dissolves in fat and turns into vitamin A (1-3). It draws attention for fighting oxidation and maybe stopping cancer growth (5). This compound wipes out loose radicals, stops fats from breaking down badly, boosts the body's defenses, and tweaks paths for cell cycles and death (5). The BCL2 gene makes a protein that blocks cell death and keeps cells alive,

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

© The Author(s) Publisher: Ilam University of Medical Sciences

while BAX pushes for death. Their balance, controlled by p53 which fights tumors, decides if a cell lives or dies (5). This work focused on checking how β-carotene affects cell death through changes in BAX and BCL2 gene levels in the MCF-7 breast cancer cells.

## Methods

Our work looked at how natural β-carotene harms breast cancer cells like MCF-7 and normal ones like HFF-2 fibroblasts, all done in lab dishes. We got MCF-7 cells from the Immunology Research Institute's cell collection. They grew in RPMI-1640 base with 10 percent fetal bovine serum added, plus 1 percent penicillin-streptomycin mix, kept at 37 degrees Celsius and 5 percent CO2. When they filled up enough, we put them in 96-well plates and hit them with different β-carotene levels for 24 hours, 48 hours, or 72 hours. To check growth, MTT assay came in, reading light at 570 nanometers. We looked at morphological changes and apoptosis in the treated cells. We fixed those cells with 4 percent paraformaldehyde first. Then we permeabilized them using 0.1 percent Triton X-100. After that, the cells got stained with DAPI. Finally, we did imaging through fluorescence microscopy. When it came to molecular analysis, we extracted total RNA from the samples. We checked the quality of that RNA with NanoDrop and also agarose gel electrophoresis. Next, we synthesized cDNA by applying reverse transcriptase along with random hexamer primers. The gene expression levels for BAX and BCL2 came under analysis via Real-time PCR. We used β-actin as the reference gene in that process. For the statistical side of things, analysis happened with SPSS version 26 software. Every experiment got repeated at least three times to ensure reliability. We applied one-way ANOVA, and that was followed by Tukey post-hoc test for comparing the different groups. Overall, these approaches gave a solid and precise way to evaluate how β-carotene affects apoptosis and inhibits growth in cancer cells.

## Results

In this study we examined the cytotoxic effects of natural beta-carotene on MCF-7 breast cancer cells along with normal HFF-2 fibroblast cells. We carried out the work in vitro. To check cell viability in both types of cells we used the MTT assay. We tested concentrations of 2.5 micrograms per milliliter, 5 micrograms per milliliter, and 10 micrograms per milliliter. This happened after 48 hours and 72 hours of treatment. The findings showed that the 2.5 micrograms per milliliter concentration did not really affect the proliferation of MCF-7 cells in any big way. Still the higher ones at 5 and 10 micrograms per milliliter clearly cut down cell viability quite a bit. More precisely cell survival dropped to around 60 percent and 40 percent after 48 hours. Then at 72 hours it went to about 55 percent and 38 percent for those doses. Things looked different for the normal HFF-2 cells though. Those cells kept their viability pretty steady even at the top concentrations. That points to β-carotene having a selective effect against cancer. From these results they picked effective doses based on IC50 values for more testing. Next we looked at expression levels of genes tied to apoptosis like Bax and Bcl-2. We used real-time PCR for that evaluation. β-carotene boosted Bax expression a lot in MCF-7 cells. At the same time it lowered Bcl-2 expression in those cells at both time points. The difference was significant with P less than 0.005. This shifted the Bax over Bcl-2 ratio in a way that pushes toward apoptosis. Nothing like that happened in the HFF-2 cells. In the end these outcomes indicate that β-carotene targets cancer cell growth selectively. It does so by turning on the mitochondrial pathway for apoptosis.

## Conclusion

β-carotene stands out as a dietary carotenoid packed with strong antioxidant properties. It has drawn quite a bit of attention lately as a bioactive compound that fights cancer. This study showed clear results on how β-carotene works against MCF-7 breast cancer cells in a lab setting. The compound cut down cell viability in ways that depended on the dose and how long it was applied. At the same time, it did not harm normal HFF-2 fibroblast cells at all. That points to its ability to target cancer cells selectively without touching healthy ones. When we looked at gene expression, β-carotene boosted the levels of the pro-apoptotic gene Bax. It also lowered the expression of the anti-apoptotic gene Bcl-2. As a result, the ratio of Bax to Bcl-2 tipped toward promoting cell death through the mitochondrial pathway. This shift caused cytochrome c to release and activated caspases along the way. On top of that, β-carotene seemed to block important survival signals, especially in the PI3K/Akt pathway. It also raised the levels of reactive oxygen species inside the cells. Both of those effects helped push apoptosis forward even more. β-carotene even cut back on the expression of the MDR1 gene, which handles multidrug resistance. That suggests it could make cancer cells more open to drugs like doxorubicin in chemotherapy. In the end, all this evidence backs up

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

β-carotene as a natural option with low toxicity. It acts as an add-on agent that triggers apoptosis just in breast cancer cells. Normal cells stay safe in the process.

## Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Validation, Formal Analysis, Investigation, Software, Resources, Data Curation, Writing Original Draft Preparation, Writing– Review & Editing, Visualization, Supervision, Project Administration: AM, SGH, NR.

## Ethical Statement

This study was approved by the Ethics Committee of University of Medical Sciences (Iran). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

## Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

## Funding

This research has no financial support from any institution.

## Acknowledgment

The present article was extracted from the dissertation written by Ameneh Majidi. The authors thank the all of participants and persons who help in this project.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

شاپای چاپی : ۱۵۶۳-۴۷۲۸
شاپای الکترونیک: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

# مطالعهٔ آثار مولکولی و ضدسرطانی β–کاروتن بر مسیر آپوپتوزی از طریق تنظیم Bax/Bcl-2 در ردهٔ سلولی سرطان پستان MCF-7

امینه مجیدی [۱]، سعید قربیان [۲*]، ندا روشن‌روان [۳]

[۱] گروه زیست‌شناسی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[۳] مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:** پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۴/۰۵/۲۵
**تاریخ ویرایش:** ۱۴۰۴/۰۶/۲۸
**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۷/۱۳
**تاریخ انتشار:** ۱۴۰۴/۰۹/۰۵

**نویسنده مسئول:**
سعید قربیان
گروه زیست‌شناسی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

**Email:**
saeid.ghorbian@iau.ac.ir

**چکیده**

**مقدمه:** سرطان پستان یکی از مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر زنان در سراسر جهان است. مطالعات نشان داده‌اند که β-کاروتن می‌تواند نقش مؤثری در درمان سرطان پستان داشته باشد. هدف این مطالعه بررسی آثار آپوپتوزی ناشی از β-کاروتن بر بیان ژن‌های BAX و BCL2 در ردهٔ سلولی سرطان پستان MCF-7 است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، سلول‌های MCF-7 کشت داده شدند و با استفاده از روش MTT، میزان زنده‌مانی یا مرگ سلولی پس از تیمار با β-کاروتن بررسی گردید. شمارش سلولی با روش تریپان بلو انجام گرفت. پس از استخراج RNA و تهیهٔ cDNA، برای تعیین سازوکار مولکولی آپوپتوز، بیان ژن‌های BAX و BCL2 به روش Real-time PCR سنجیده شد.

**یافته‌های پژوهش:** نتایج آزمایش MTT نشان داد که β-کاروتن در دوزهای مختلف باعث کاهش بقای سلولی، کاهش بیان BCL2 و افزایش بیان ژن BAX و القای آپوپتوز در سلول‌های MCF-7 گردید. آثار β-کاروتن بر سمیت سلولی و القای آپوپتوز در ردهٔ سلولی طبیعی HFF-2 معنادار نبود؛ همچنین اثر β-کاروتن بر سلول‌های سرطانی پستان وابسته به دوز و زمان بود و مقایسهٔ IC50 در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معناداری را نشان داد ($P<0.01$). سمیت سلولی در دوزهای پایین β-کاروتن نیز سبب القای آپوپتوز در ردهٔ سلولی MCF-7 شد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** یافته‌های ما نشان داد که تأثیر β-کاروتن بر سلول‌های سرطان پستان MCF-7 وابسته به دوز و زمان تیمار است. مرگ سلولی ناشی از β-کاروتن در سلول‌های سرطانی پستان مشاهده گردید، درحالی‌که برای سلول‌های غیرسرطانی سمیت قابل‌توجهی نداشت.

**واژه‌های کلیدی:** سرطان پستان، ردهٔ سلولی MCF-7، β-کاروتن، BAX، BCL2

**استناد:** مجیدی امینه، قربیان سعید، روشن‌روان ندا. مطالعهٔ آثار مولکولی و ضدسرطانی β-کاروتن بر مسیر آپوپتوزی از طریق تنظیم Bax/Bcl-2 در ردهٔ سلولی سرطان پستان MCF-7. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، آذر ۱۴۰۴؛ (۵)۳۳ : ۱۵۹-۱۴۶.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

حق‌مؤلف © نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم پزشکی ایلام

## مقدمه

سرطان پستان شناخته‌شده‌ترین نوع سرطان در جهان و دومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در سراسر جهان در میان زنان محسوب می‌شود. بر اساس آمارهای جهانی، از هر ۸ تا ۱۰ زن، یک نفر در طول عمر خود به سرطان پستان مبتلا می‌شود (۱). این بیماری ناشی از تکثیر کنترل‌نشدهٔ سلول‌های اپیتلیال است که مجاری یا لوب‌های پستان را می‌پوشانند و یک بیماری هتروژن از نظر رفتار بالینی به‌شمار می‌رود. متغیرهای بالینی و آسیب‌شناسی مانند اندازهٔ تومور، درجهٔ پاتولوژی، نوع بافت‌شناسی، متاستاز به غدد لنفاوی، تهاجم عروقی و میزان تکثیر سلولی می‌توانند در تعیین پیش‌آگهی و ارزیابی روند درمانی نقش مؤثری داشته باشند. عوامل متعددی مانند سابقهٔ خانوادگی، وضعیت قاعدگی و بارداری، ضایعات پرولیفراتیو پستان و سابقهٔ پرتودرمانی به‌عنوان عوامل خطر سرطان پستان مطرح شده‌اند (۲). سرطان پستان از نظر ویژگی‌های بالینی به سه رده تقسیم می‌شود: ۱. کارسینوم لوبولار درجا (Lobular Carcinoma In Situ, LCIS)؛ ۲. کارسینوم مجرایی درجا (Ductal Carcinoma In Situ, DCIS) و ۳. کارسینوم مهاجم پستان (۴، ۳). این بیماری به‌شدت ناهمگن است و در اثر تعامل عوامل خطر ژنتیکی و محیطی ایجاد می‌شود و به تجمع تدریجی تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی در سلول‌های پستان منجر می‌گردد. شواهد اپیدمیولوژیک بر وجود عوامل خطر ویژه‌ای مانند سن، چاقی، مصرف الکل و مواجهه با استروژن در طول زندگی تأکید دارند؛ اما سابقهٔ خانوادگی قوی‌ترین عامل خطر برای این بیماری به‌شمار می‌آید. تقریباً ۱۵ تا ۲۰ درصد از همهٔ موارد سرطان پستان را انواع خانوادگی تشکیل می‌دهند که وابستگی خاصی به ژن‌های مستعدکننده دارند (۵). افزایش شیوع سرطان پستان با تغییرات رفتاری ناشی از شهرنشینی مانند سبک زندگی کم‌تحرک، مصرف غذاهای فراوری‌شده، اضافه‌وزن و چاقی مرتبط است (۷، ۶). رژیم‌های غذایی غنی از میوه و سبزی با کاهش میزان بروز سرطان و بیماری‌های قلبی- عروقی همراه هستند. ترکیبات زیستی موجود در این رژیم‌ها به‌عنوان عوامل مسئول این آثار شناخته شده‌اند. در این میان، کاروتنوئیدها مانند بتاکاروتن (β-carotene) به علت نقش احتمالی در کاهش خطر ابتلا به سرطان پستان و سایر سرطان‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند (۹، ۸). β-کاروتن یک رنگ‌دانهٔ طبیعی محلول در چربی است که عمدتاً در گیاهان یافت می‌شود (۱۰). پس از جذب، β-کاروتن توسط β-کاروتن ۱۵، 15´- monooxygenase (BCO1) در مخاط روده به دو مولکول ویتامین A (رتینول) تبدیل می‌شود که عمدتاً به‌صورت آنزیماتیک به شبکیه و رنگ‌دانهٔ بینایی تبدیل می‌گردد؛ بنابراین، β-کاروتن به‌عنوان پرو ویتامین A نیز شناخته می‌شود (۱۱). β-کاروتن به دو طریق به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند: یکی از طریق حذف رادیکال‌های پراکسیل و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها (۱۳، ۱۲) و دیگری از طریق آثار آنتی‌باکتریال که به چند روش انجام می‌شود؛ ازجمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی (ترکیب با اشعهٔ گاما)، القای آنزیم‌های متابولیسم زنوبیوتیک (xenobiotic) (۱۴،۱۵)، جلوگیری از تحریک توقف چرخهٔ سلولی و آپوپتوز (۱۶) و محدود کردن انتقال نئوپلاستیک‌های تحریک‌شده به روش شیمیایی از طریق تقویت ارتباط سلولی از طریق اتصالات شکاف (۱۷). علاوه بر این، مشخص‌شده است که β-کاروتن نقش ایمنی‌زایی را با تحریک فعالیت کشندگی نوتروفیل‌های خون تنظیم می‌کند (۱۸). این آثار همراه با جذب بیشتر کاروتنوئیدها از طریق مصرف میوه‌ها و سبزی‌ها، خطر ابتلا به بیماری‌های دژنراتیو مانند بیماری‌های قلبی- عروقی (۲۰، ۱۹)، آب‌مروارید (۲۱) و برخی سرطان‌ها را کاهش می‌دهد و این فرضیه را مطرح کرده است که مکمل β-کاروتن ممکن است از این بیماری‌ها پیشگیری کند (۲۲).

انکوژن BCL2 روی کروموزوم ۱۸ قرار دارد و یک پروتئین ۲۴ کیلودالتونی را کد می‌کند که این پروتئین در غشای هسته، شبکهٔ آندوپلاسمی و غشای میتوکندری‌ها بیان می‌شود (۲۳). میزان بالای بیان BCL2 با کاهش مراحل منتهی به مرگ سلولی، موجب افزایش طول عمر سلول از طریق کاهش آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلول) می‌گردد (۲۴). بسیاری از انکوژن‌ها از طریق تحریک رشد سلولی اثر خود را اعمال می‌کنند؛ اما ویژگی منحصربه‌فرد BCL2 این است که

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

بدون تأثیر بر تکثیر سلولی، باعث افزایش مدت‌زمان حیات سلول می‌شود. پروتئین BCL2 عضوی از خانوادهٔ پروتئین‌های تنظیم‌کنندهٔ آپوپتوز است که BAX و BCL-X را نیز شامل می‌گردد. هومودیمرهای BAX موجب افزایش آپوپتوز می‌شوند، درحالی‌که هترودیمرهای BCL2/BAX باعث مهار آپوپتوز می‌گردند. بیان ژن‌های BCL2 و BAX تحت کنترل ژن سرکوب‌کنندهٔ تومور p53 قرار دارد (۲۵). هدف از این مطالعه بررسی تأثیر β-کاروتن طبیعی بر میزان تغییرات بیان ژن‌های BAX و BCL2 و همچنین قدرت تهاجم سلولی در ردهٔ سلول سرطانی پستان MCF-7 است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌منظور ارزیابی تأثیرات سیتوتوکسیک β-کاروتن طبیعی بر سلول‌های سرطان پستان (MCF-7) و سلول‌های طبیعی (HFF-2) ، به‌صورت in vitro طراحی و اجرا شد. سلول‌های MCF-7 از بانک سلولی پژوهشگاه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنینی گاوی (FBS) و ۱ درصد پنی‌سیلین- استرپتومایسین نگهداری گردیدند. سلول‌ها در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و در حضور ۵$CO_2$ درصد کشت داده شدند و محیط کشت هر ۲ تا ۳ روز تعویض گردید تا سلول‌ها به تراکم مطلوب برای انجام آزمایش‌ها برسند.

برای ارزیابی آثار سیتوتوکسیک β-کاروتن، سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ چاهکی کشت داده شدند و پس از رسیدن به تراکم بالای ۸۰ درصد، با دوزهای مختلف β-کاروتن (از غلظت‌های پایین تا بالا) برای دوره‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار گردیدند. آثار β-کاروتن بر تکثیر سلولی با استفاده از آزمون MTT (۲۶) ارزیابی شد. پس از پایان دورهٔ تیمار، ۱۰ میکرولیتر محلول MTT (با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیترPBS ) به هر چاهک افزوده و پس از ۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، محلول حاصل با DMSO حل و جذب نوری در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

برای بررسی تغییرات مورفولوژیکی و تشخیص آپوپتوز، سلول‌های تیمارشده، ابتدا با پارافورمالدئید ۴ درصد تثبیت و سپس با ۰/۱ درصد Triton X-100 برای افزایش نفوذپذیری غشای سلولی تیمار شدند. در ادامه، سلول‌ها با DAPI (۱ میکروگرم در میلی‌لیتر) به (۲۷) مدت ۵ دقیقه در تاریکی رنگ‌آمیزی و تصاویر فلورسانسی با استفاده از میکروسکوپ ثبت گردید.

برای بررسی سازوکارهای مولکولی تأثیر β-کاروتن، RNA کل سلول‌های تیمارشده پس از شستشو با PBS و لیز سلولی طبق دستورالعمل کیت استخراج RNA استخراج شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج‌شده با دستگاه نانودراپ و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد ارزیابی گردید تا از خلوص و سلامت نمونه‌ها اطمینان حاصل شود؛ سپس با استفاده از RNA استخراج‌شده، سنتز cDNA با بهره‌گیری از آنزیم reverse transcriptase و پرایمرهای random hexamer در شرایط بهینه انجام شد و کیفیت cDNA حاصل با روش‌های استاندارد بررسی گردید.

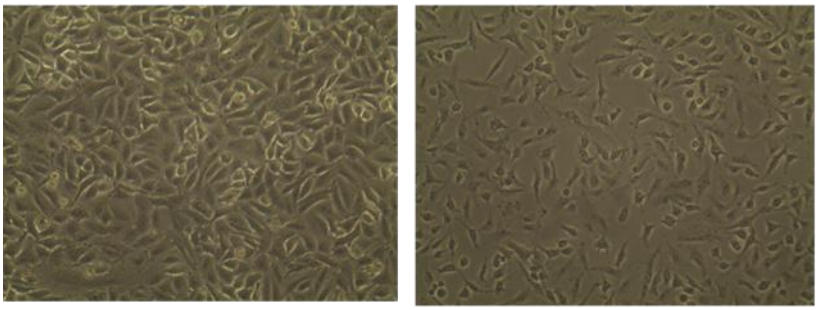
برای تعیین تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز، به‌ویژه ژن‌های BAX و BCL2، از روش Real-time PCR استفاده شد. پرایمرهای اختصاصی برای این ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای طراحی پرایمر تهیه و ویژگی‌های ساختاری آن‌ها ازجمله دمای ذوب و نسبت GC تأیید گردید. واکنش‌های PCR با استفاده از cDNA به‌عنوان الگو و در شرایط بهینه انجام شد و تغییرات بیان نسبت به ژن مرجع (B-actin) محاسبه گردید.

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.26 انجام شد. همهٔ آزمایش‌ها حداقل به‌صورت سه بار مستقل تکرار و نتایج به‌صورت میانگین± انحراف معیار گزارش گردید. برای مقایسهٔ میانگین‌های گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و در صورت معنی‌داری، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. این رویکردها امکان ارزیابی دقیق تأثیرات β-کاروتن بر سلول‌های بررسی‌شده را فراهم می‌کند و زمینه را برای تحقیقات مولکولی بیشتر و ترجمهٔ نتایج به کاربردهای بالینی فراهم می‌آورد.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

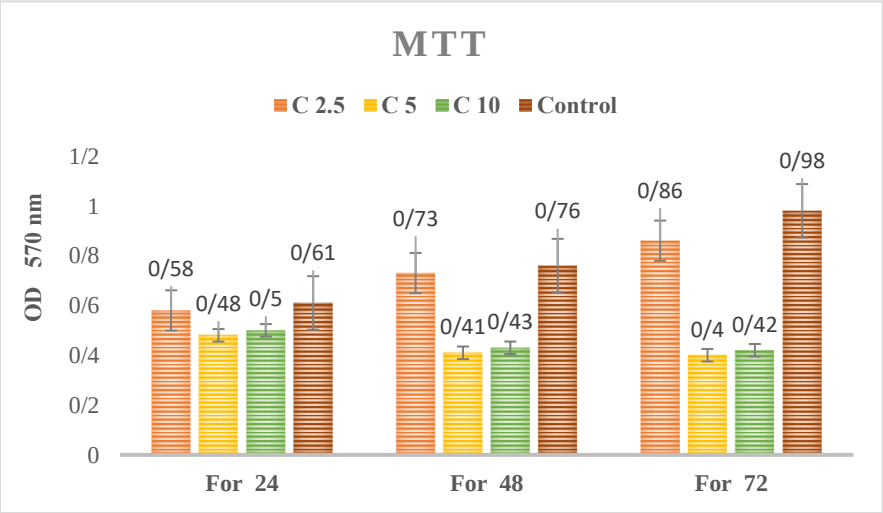
## یافته‌های پژوهش

در این مطالعه، آثار سیتوتوکسیک β-کاروتن طبیعی بر سلول‌های سرطان پستان MCF-7 و سلول‌های طبیعی HFF-2 به‌صورت in vitro بررسی شد. ابتدا درصد بقای سلولی در رده‌های MCF-7 و HFF-2 با استفاده از آزمون MTT و در غلظت‌های مختلف β-کاروتن (۲/۵، ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت تعیین گردید.



**شکل شمارهٔ ۱.** تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های MCF-7 تحت تأثیر β-کاروتن (در زمان ۷۲ ساعت). از چپ به راست: گروه تیمارنشده، گروه تیمارشده با β-کاروتن

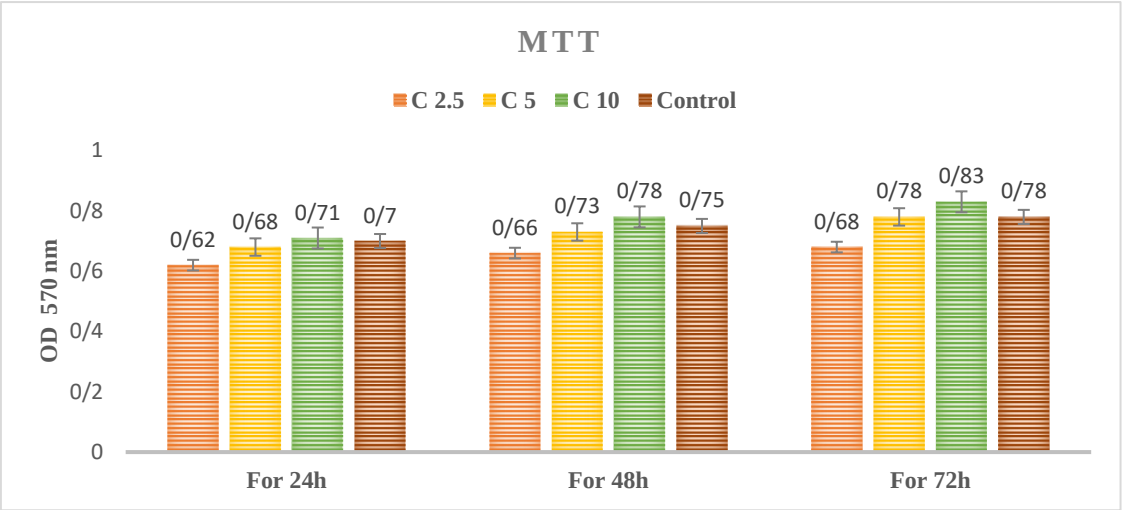
نتایج نشان داد که در ردهٔ MCF-7، β-کاروتن در دوز ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تأثیر قابل‌توجهی بر رشد سلولی نداشت؛ اما با افزایش غلظت به ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، کاهش معنی‌داری در زنده‌مانی سلول‌ها مشاهده شد؛ به‌طوری‌که در ۴۸ ساعت، درصد بقای سلولی به حدود ۶۰ درصد و ۴۰ درصد در دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید و این روند در ۷۲ ساعت نیز با کاهش به ۵۵ و ۳۸ درصد ادامه یافت (شکل شمارهٔ ۱ و نمودار شمارهٔ ۱).




**نمودار شمارهٔ ۱.** نتایج به‌دست‌آمده از روش MTT برای ردهٔ سلولی Mcf-7

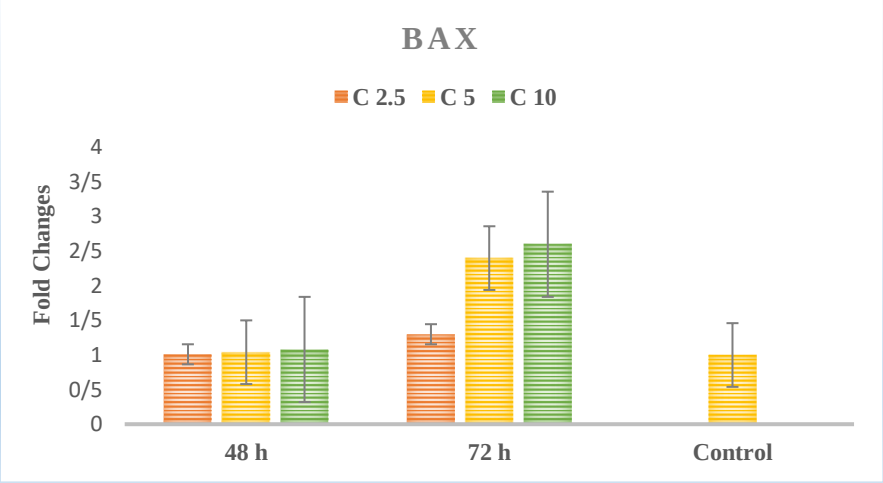
در مقابل، سلول‌های طبیعی HFF-2 حتی در بالاترین غلظت‌های β-کاروتن، کاهش معنی‌داری در بقای سلولی نشان ندادند که این موضوع بیان‌کنندهٔ اختصاصی بودن اثر سایتوتوکسیک β-کاروتن بر سلول‌های سرطانی است (نمودار شمارهٔ ۲).

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]



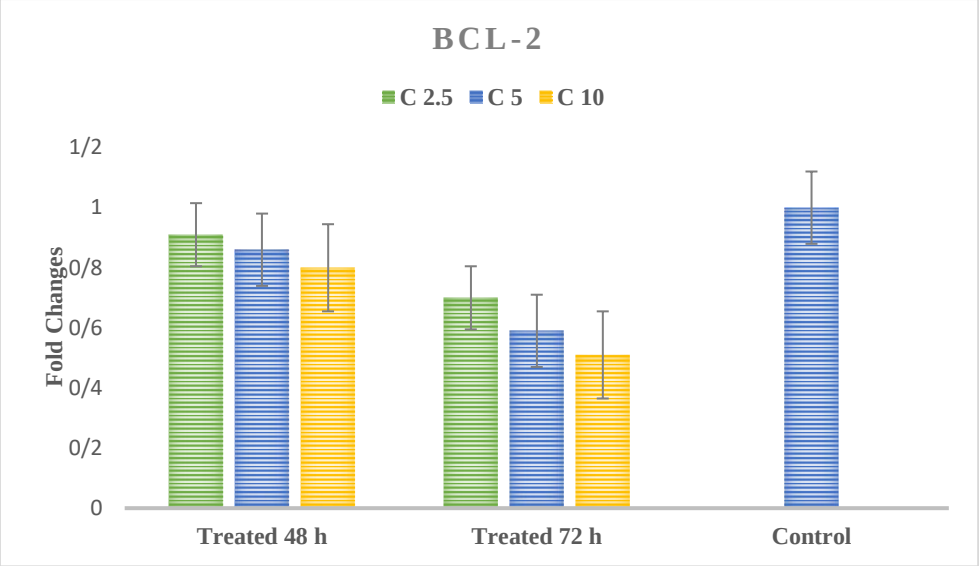

**نمودار شمارهٔ ۲.** نتایج به‌دست‌آمده از روش MTT برای ردهٔ سلولی HFF-2

با محاسبهٔ درصد بقای سلول‌های MCF-7 در دوزهای مختلف، مقدار $IC_{50}$ در هر یک از زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت تعیین شد. در ادامه، تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز، به‌ویژه Bax و Bcl-2، در ردهٔ سلولی MCF-7 ارزیابی گردید. نتایج Real-time PCR نشان داد که تیمار با β-کاروتن در دوزهای $IC_{50}$ (۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت، موجب افزایش معنی‌دار بیان Bax (نمودار شمارهٔ ۳) و هم‌زمان کاهش معنی‌دار بیان Bcl-2 شد ($P<0.005$) (نمودار شمارهٔ ۴).



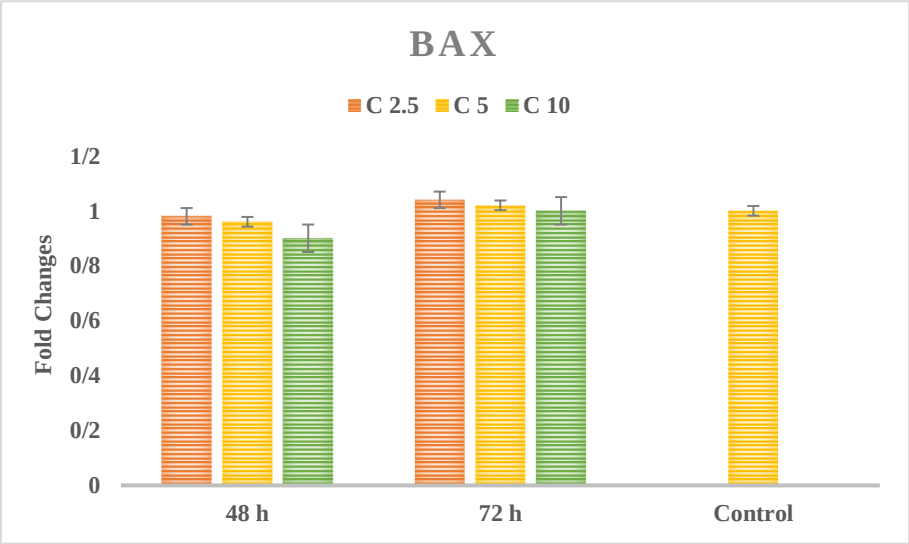

**نمودار شمارهٔ ۳.** اثر غلظت‌های مختلف β-کاروتن بر بیان ژن BAX در ردهٔ سلولی MCF-7

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]




**نمودار شمارهٔ ٤.** اثر غلظت‌های مختلف β-کاروتن بر بیان ژن Bcl-2 در ردهٔ سلولی MCF-7

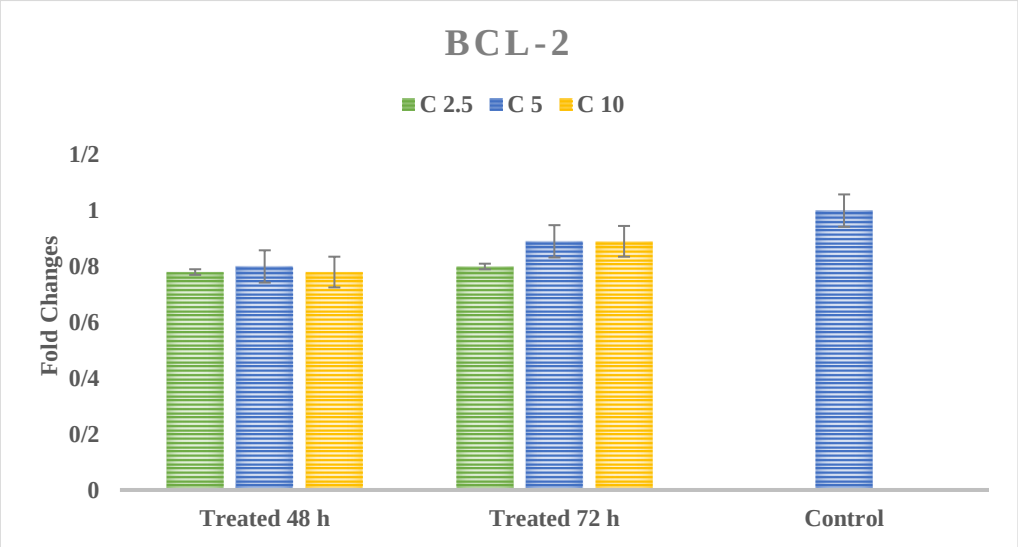
این تغییرات در نسبت Bax/Bcl-2 بیان‌کنندهٔ القای مسیر آپوپتوز میتوکندریایی توسط β-کاروتن است. برخلاف ردهٔ سلولی سرطانی، در سلول‌های HFF-2 که با دوز β-کاروتن تیمار شدند، هیچ تغییر معنی‌داری در بیان هیچ‌یک از این دو ژن مشاهده نگردید (P>0.05) (نمودارهای شمارهٔ ۵ و ۶).




**نمودار شمارهٔ ۵.** اثر غلظت‌های مختلف β-کاروتن بر بیان ژن Bax در ردهٔ سلولی Hff-2

به‌طورکلی، داده‌های این پژوهش نشان می‌دهد که β-کاروتن طبیعی به‌صورت وابسته به دوز و زمان، به‌طور اختصاصی بقای سلول‌های سرطان پستان MCF-7 را مهار می‌کند، بدون آنکه اثر نامطلوبی بر سلول‌های طبیعی HFF-2 داشته باشد. سازوکار اصلی این مهار رشد، القای آپوپتوز از طریق مسیر Bax/Bcl-2 در سلول‌های سرطانی است. این یافته‌ها می‌تواند مبنایی برای بررسی‌های بالینی و توسعهٔ کاربردهای درمانی β-کاروتن در سرطان پستان باشد.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]




**نمودار شمارهٔ ٦.** اثر غلظت‌های مختلف β-کاروتن بر بیان ژن Bcl-2 در ردهٔ سلولی HFF-2

## بحث و نتیجه‌گیری

β-کاروتن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین کاروتنوئیدهای رژیمی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا، در سال‌های اخیر به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان ترکیبی زیست فعال در مطالعات ضدسرطانی مورد توجه قرار گرفته است. یافته‌های این پژوهش نشان داد که β-کاروتن در شرایط in vitro می‌تواند رشد و زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان MCF-7 را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد و هم‌زمان، مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلولی را به‌صورت وابسته به دوز و زمان القا کند. این نتایج با مطالعات پیشین همسو است و نشان می‌دهد که β-کاروتن از طریق تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و مهار مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با بقای سلولی می‌تواند تومورزایی را در مدل‌های آزمایشگاهی سرکوب کند (۲۸، ۲۵).

در این مطالعه، تیمار سلول‌های MCF-7 با دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر β-کاروتن در بازه‌های زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت، کاهش معنی‌داری در میزان زنده‌مانی سلول‌ها به همراه داشت. این کاهش وابسته به دوز و زمان بود و با افزایش بیان ژن Bax و کاهش بیان ژن Bcl-2 همراه شد؛ درنتیجه، نسبت Bax/Bcl-2 که شاخصی کلیدی برای القای مسیر میتوکندریایی آپوپتوز است، افزایش یافت و به دنبال آن، آزادسازی سیتوکروم c و فعال‌سازی کاسپازها تسهیل گردید. این مسیر در مطالعات قبلی نیز تأیید شده است؛ بررسی ها نشان دادند که β-کاروتن با افزایش Bax، کاهش Bcl-2 و آزادسازی سیتوکروم c، مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلولی را در سلول‌های MCF-7 القا می‌کند (۲۹).

همچنین یافته‌های این پژوهش نشان داد که β-کاروتن می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ مهمی مانند PI3K/Akt را مهار نماید. مهار این مسیر به کاهش بیان فاکتورهای ضد آپوپتوزی و فعال‌سازی پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی منجر می‌شود. این نتایج با مطالعهٔ کای و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد که نشان دادند β-کاروتن با مهار مسیر PI3K/Akt و افزایش ROS، مرگ سلولی را در سلول‌های MCF-7 القا می‌کند (۳۰). مطالعهٔ آنتونوس و همکاران (۲۰۲۲) نیز نشان داد که β-کاروتن با فعال‌سازی مسیر JNK، مرگ سلولی را در سلول‌های سرطان پستان سه‌گانه منفی افزایش می‌دهد. نقش ROS در القای مرگ سلولی نیز در این مطالعه مورد توجه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار با β-کاروتن باعث افزایش سطح ROS در سلول‌های MCF-7 می‌شود، درحالی‌که در سلول‌های طبیعی HFF-2 این افزایش به سمیت سلولی منجر نشد. این موضوع بیان‌کنندهٔ انتخاب‌پذیری β-کاروتن نسبت به سلول‌های سرطانی است (۳۱). شین و همکاران (۲۰۲۰) نیز یافته‌های مشابهی را گزارش کردند و نشان دادند کاروتنوئیدها در سلول‌های سرطانی خاصیت پرو اکسیدانی و در سلول‌های طبیعی خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. در زمینهٔ مقاومت

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

دارویی، یکی از چالش‌های عمده در درمان سرطان، β-کاروتن توانسته است نقش تعدیلی ایفا کند. در مطالعهٔ حاضر، β-کاروتن با کاهش بیان ژن MDR1 (ژن مقاومت چند دارویی)، موجب افزایش حساسیت سلول‌های MCF-7 به داروی دوکسوروبیسین شد (۳۲). ویجای و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ترکیب β-کاروتن با دوکسوروبیسین موجب افزایش نسبت Bax/Bcl-2 و کاهش بیان ژن‌های MDR می‌گردد و درنتیجه، مرگ آپوپتوتیک را تشدید می‌کند (۳۳).

دربارهٔ انتخاب‌پذیری سلولی، نتایج حاضر نشان داد که β-کاروتن حتی در دوزهای بالا نیز بر سلول‌های طبیعی فیبروبلاست اثر سمی ندارد. این ویژگی β-کاروتن را از بسیاری از داروهای شیمی‌درمانی متمایز می‌سازد؛ زیرا بیشتر داروهای ضدسرطان کنونی به بافت‌های سالم نیز آسیب وارد می‌کنند.

همچنین داده‌های مطالعات ژنومی نشان داده‌اند که β-کاروتن قادر به تنظیم بیان گستردهٔ ژن‌های مرتبط با آپوپتوز، بقا، رشد و ترجمهٔ پروتئین است. السید و همکاران (۲۰۲۵) نشان دادند که β-کاروتن بیان ژن‌های متعددی را در سلول‌های MCF-7 تغییر می‌دهد. این تغییرات می‌تواند زمینه‌ساز درک بهتر آثار مولکولی این ترکیب در درمان سرطان باشد (۳۴).

درنهایت، مطالعات اپیدمیولوژیک نیز از یافته‌های این پژوهش پشتیبانی می‌کنند. تجزیه‌وتحلیل داده‌های جمعیتی ژانگ و همکاران (۲۰۱۲) و آونه و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که سطوح بالای β-کاروتن پلاسما با کاهش ریسک نسبی ابتلا به سرطان پستان ارتباط دارد. اگرچه این مطالعات علیت را اثبات نمی‌کنند؛ اما همسویی داده‌های بالینی با مطالعات سلولی پتانسیل کاربرد بالینی β-کاروتن را تقویت می‌کند (۳۶، ۳۵).

با توجه به مجموعه داده‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه و هم‌خوانی آن با منابع معتبر پیشین می‌توان نتیجه گرفت که β-کاروتن از طریق القای آپوپتوز وابسته به میتوکندری، مهار مسیرهای بقای سلولی، افزایش ROS، مهار MDR و درعین‌حال، بدون ایجاد سمیت در سلول‌های طبیعی، یک ترکیب طبیعی با پتانسیل بالای ضدسرطانی است. استفاده از β-کاروتن به‌عنوان یک درمان مکمل یا بخشی از رژیم ترکیبی دارویی، به‌ویژه در موارد سرطان پستان مقاوم به درمان می‌تواند راهکار جدیدی در بهبود اثربخشی درمان‌ها و کاهش عوارض جانبی داروهای شیمی‌درمانی باشد. پیشنهاد می‌شود که در ادامه، مطالعات in vivo و کارآزمایی‌های بالینی برای بررسی ایمنی، فارماکوکینتیک و اثربخشی ترکیب β-کاروتن به‌صورت تنها یا در ترکیب با داروهای رایج ضدسرطان انجام گیرد.

ازجمله مزایای برجستهٔ مطالعهٔ حاضر، طراحی چندلایه آن در بررسی آثار β-کاروتن بر سلول‌های سرطان پستان MCF-7 است. این تحقیق نه‌تنها بر ارزیابی کاهش زنده‌مانی سلولی تمرکز داشته، بلکه با تحلیل بیان ژن‌های کلیدی تنظیم‌کنندهٔ آپوپتوز (Bax) و (Bcl-2)، رویکردی جامع به سازوکارهای مولکولی اثر β-کاروتن اتخاذ کرده است؛ همچنین به‌کارگیری ردهٔ سلولی فیبروبلاست انسانی HFF-2 برای مقایسهٔ انتخاب‌پذیری زیستی این ترکیب، امکان ارزیابی افتراقی سمیت β-کاروتن بر سلول‌های طبیعی در برابر سلول‌های بدخیم را فراهم نموده است. همسویی یافته‌های این پژوهش با داده‌های پیشین در سطوح سلولی، مولکولی و بالینی نیز موجب افزایش اعتبار علمی نتایج و تقویت قابلیت استنتاجی آن گردیده است. بااین‌حال، مطالعهٔ حاضر با محدودیت‌هایی نیز همراه است که باید در تفسیر نتایج مورد توجه قرار گیرد: نخست، انجام آزمایش‌ها صرفاً در محیط کشت سلولی (in vitro) و با استفاده از یک ردهٔ خاص سلولی (MCF-7) امکان تعمیم نتایج به شرایط فیزیولوژیک بدن را محدود می‌سازد؛ دوم، در این مطالعه صرفاً بر بیان ژن‌های BAX و BCL2 در سطح mRNA تمرکز شده و بررسی در سطوح پروتئینی مانند وسترن‌بلات برای Bax، Bcl-2، کاسپازها یا سیتوکروم c انجام‌نشده است که این مانع از تأیید قطعی مسیرهای پیشنهادی در سطح عملکردی را نشان می‌دهد؛ سوم، استفاده از دوزهای محدود و دوره‌های زمانی نسبتاً کوتاه برای تیمار سلول‌ها، تحلیل آثار تجمعی، مزمن یا

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

دوزهای حدی β-کاروتن را ممکن نساخته است؛ همچنین از دیگر محدودیت‌های مطالعهٔ حاضر استفاده نکردن از کنترل‌های مثبت (داروی شناخته‌شدهٔ القاکنندهٔ آپوپتوز) و منفی بود. علاوه بر این، نبودِ تعیین دقیق غلظت مهارکننده (IC50) توانایی مقایسهٔ اثر β-کاروتن با سایر عوامل درمانی را محدود می‌کند. برای ارتقای شواهد و تکمیل داده‌های مولکولی پیشنهاد می‌شود که مطالعات آتی در نمونه‌های حیوانی (in vivo) به‌منظور بررسی سمیت سیستمیک، آثار فارماکودینامیک و فارماکوکینتیک β-کاروتن انجام گیرد؛ همچنین بررسی آثار این ترکیب بر رده‌های سلولی دیگر سرطان پستان با ویژگی‌های مولکولی متفاوت، ازجمله رده‌های سه‌گانه منفی (مانند MDA-MB-231 و HER2 مثبت)، برای تبیین گسترهٔ اثربخشی و سازوکارهای بافت ویژهٔ آن ضروری است. بهره‌گیری از روش‌های تحلیلی با توان تفکیک بالا مانند RNA-seq، تحلیل پروتئوم و فسفو پروتئوم می‌تواند دیدگاه دقیق‌تری نسبت به مسیرهای مولکولی هدف‌گیری‌شده توسط β-کاروتن را ارائه دهد. برای پاسخ‌دهی کامل‌تر به داور، در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود که تست clonogenic به‌منظور بررسی آثار طولانی‌مدت β-کاروتن بر روی توان تشکیل کلونی انجام گیرد؛ همچنین تیمارهای تکراری (دوز پایین روزانه برای ۱۴–۷ روز) و بررسی میزان زندمانی، آپوپتوز، تغییرات مقاومتی و در انتها کارآزمایی in vivo برای بررسی تجمعی و فارماکوکینتیک/سمیت سیستمیک دارویی مطالعه و ارزیابی شود.

علاوه بر آن، طراحی مطالعات ترکیبی با داروهای رایج شیمی‌درمانی مانند دوکسوروبیسین، پاکلی‌تاکسل یا تاموکسیفن می‌تواند قابلیت هم‌افزایی این ترکیب را در کاهش مقاومت دارویی و تقویت پاسخ درمانی بررسی کند. بررسی هدفمند تأثیر β-کاروتن بر بیان ژن‌های مرتبط با مقاومت دارویی، ازجمله MDR1 و نقش احتمالی آن در فعال‌سازی گیرنده‌های هسته‌ای نظیر PXR می‌تواند ابعاد ناشناخته‌ای از تأثیرات این کاروتنوئید در فرایند مقاومت سلولی به درمان را آشکار سازد.

به‌طورکلی، یافته‌های مطالعهٔ حاضر پایه‌ای مناسب برای تداوم تحقیقات پیش‌بالینی و بالینی پیرامون استفاده از β-کاروتن به‌عنوان یک عامل درمانی کمکی ایمن، طبیعی و هدفمند در کنترل سرطان پستان فراهم می‌سازد، به‌ویژه در بیماران مقاوم به درمان یا با پروفایل مولکولی خاص که نیازمند درمان‌های کم‌عارضه‌تر و مؤثرتر هستند.مطالعهٔ حاضر نشان داد که β-کاروتن با القای مسیر آپوپتوز، به‌طور مؤثری موجب کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان MCF-7 می‌شود. علاوه بر این، مشاهده نشدن سمیت در سلول‌های طبیعی HFF-2 بیان‌کنندهٔ انتخاب‌پذیری مطلوب این ترکیب است. این یافته‌ها پتانسیل β-کاروتن را به‌عنوان یک عامل ضدسرطانی طبیعی و کم‌عارضه در درمان مکمل سرطان پستان تقویت می‌کنند.

## سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از همهٔ افرادی که در انجام این پژوهش همکاری و یاری رساندند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافع مالی، شخصی یا سازمانی در ارتباط با انجام این پژوهش وجود ندارد.

## ملاحظات اخلاقی

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی (ایران) تأیید شده است. نویسندگان از جعل داده‌ها، تحریف، سرقت ادبی و تخلف اجتناب کرده‌اند.

## حمایت مالی

این پژوهش از هیچگونه حمایت مالی برخوردار نبوده و هزینه های این پژوهش توسط نویسنده اول فراهم شد.

## مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان به یک نسبت در آماده سازی، انجام عملیاتی تحقیق، نوشتن مقاله و آماده ساز ی آن مشارکت داشته اند.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

## References

1. Kim J, Harper A, McCormack V, Sung H, Houssami N, Morgan E, et al. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. Nat Med. 2025; 24:1-9. doi: 10.1038/s41591-025-03502-3.
2. Ziayifard Z, Abdolahi K, Zahedi R, Rahmanian S, Rahmanian K. A survey of the knowledge of the 20 year and older women on breast self-examination and mammography, southern Iran, 2009. Pars J Med Sci. 2022;10:49-56. doi:10.29252/jmj.10.2.49.
3. Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. Signal Transduct Target Ther. 2025 ;10:49. doi: 10.1038/s41392-024-02108-4.
4. Provenzano E. Breast Pathology. InAtlas of Diagnosis and Management of Breast Disease. CRC Press. 2025;23: 66-82. doi:10.1201/9781003394785.
5. Zafar T, Naik AQ, Kumar M, Shrivastava VK. Epidemiology and risk factors of breast cancer. InBreast cancer: From bench to personalized medicine. Springer Nature. 2022;15 : 3-29. doi: 10.1007/978-981-19-0197-3_1.
6. Yarmand S, Atashi N, Kazemi I, Mahmoudi-Zadeh M, Yazdani S, Behzadi Nejad H, et al. Association of portfolio diet score with breast cancer risk: insights from a case-control analysis. BMC Cancer. 2025;25:274. doi: 10.1186/s12885-025-13634-x.
7. Mozafarinia M, Sasanfar B, Toorang F, Forbes SC, Salehi-Abargouei A, Zendehdel K. A large-scale case-control study on the association between dietary fat quality indices and risk of breast cancer. Sci Rep. 2025;15:27963. doi: 10.1038/s41598-025-12395-8.
8. Dewanjee S, Das S, Joardar S, Bhattacharjee S, Chakraborty P. Carotenoids as anticancer agents. InCarotenoids: structure and function in the human body. Springer . 2021;18: 475-512. doi:10.1007/978-3-030-46459-2_13.
9. Antunes A, Carmo F, Pinto S, Andrade N, Martel F. The anti-proliferative effect of β-carotene against a triple-negative breast cancer cell line is cancer cell-specific and JNK-dependent. PharmaNutrition. 2022;22:100320. doi:10.1016/j.phanu.2022.100320.
10. Terao J. Revisiting carotenoids as dietary antioxidants for human health and disease prevention. Food Funct. 2023;14:7799-824. doi: 10.1039/d3fo02330c.
11. Solano YJ, Everett MP, Dang KS, Abueg J, Kiser PD. Carotenoid cleavage enzymes evolved convergently to generate the visual chromophore. Nat Chem Biol. 2024;20:779-88. doi: 10.1038/s41589-024-01554-z.
12. Abrego-Guandique DM, Bonet ML, Caroleo MC, Cannataro R, Tucci P, Ribot J, et al. The effect of beta-carotene on cognitive function: a systematic review. Brain Sci. 2023;13:1468. doi: 10.3390/brainsci13101468.
13. Terao J. Revisiting carotenoids as dietary antioxidants for human health and disease prevention. Food Funct. 2023;14:7799-824. doi: 10.1039/d3fo02330c.
14. Ali HB. Nutraceuticals in Metabolism and Xenobiotics. InNutraceuticals: A New Millennium Approach for Preventive Medicine. Springer Nature Switzerland. 2024; 12: 41-88. doi: 10.1007/978-3-031-76481-3.
15. Saha N, Samuel M. Dietary xenobiotics and their role in immunomodulation. Food Sci Biotechnol. 2025;34:1805-17. doi: 10.1007/s10068-024-01752-4.
16. Singh SP, Sirbaiya AK, Rahman MH, Alves MS, Yupanqui CT, Amelia P, et al. Therapeutic Effects of Terpenoids in Breast Cancer. CRC Press. 2026; 114-132. doi:10.1201/9781003128779-10.
17. Zhang LX, Cooney RV, Bertram JS. Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells: relationship to their cancer chemopreventive action. Carcinogenesis. 1991;12:2109-14. doi: 10.1093/carcin/12.11.2109.
18. Simon PW, Geoffriau E, Ellison S, Iorizzo M. Carrot carotenoid genetics and genomics. InThe carrot genome. Springer International. 2019; 9: 247-260. doi: 10.1007/978-3-030-03389-7_14.
19. Ciccone MM, Cortese F, Gesualdo M, Carbonara S, Zito A, Ricci G, et al. Dietary intake of carotenoids and their antioxidant and anti-inflammatory effects in cardiovascular care. Mediators Inflamm. 2013;2013:782137. doi: 10.1155/2013/782137.
20. Ito Y, Kurata M, Suzuki K, Hamajima N, Hishida H, Aoki K. Cardiovascular disease mortality and serum carotenoid levels: a Japanese population-based follow-up study. J Epidemiol. 2006;16:154-60. doi: 10.2188/jea.16.154.
21. Tanito M. Reported evidence of vitamin E protection against cataract and glaucoma. Free Radic Biol Med. 2021, 1;177:100-19. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.10.027.
22. Fernández-Ríos A, Laso J, Aldaco R, Margallo M. Superfoods: A super impact on health and the environment? Curr Opin Environ Sci Health. 2023; 31:100410. doi:10.1016/j.coesh.2022.100410.
23. Czabotar PE, Garcia-Saez AJ. Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis. Nature. 2023;24:732-48. doi: 10.1038/s41580-023-00629-4.
24. Croce CM, Vaux D, Strasser A, Opferman JT, Czabotar PE, Fesik SW. The BCL-2 protein family: from discovery to drug development. Cell Death Differ. 2025; 9:1-3. doi:10.1038/s41418-025-01481-z.
25. Baeza-Morales A, Medina-Garcia M, Martinez-Peinado P, Pascual-Garcia S, Pujalte-Satorre C, Lopez-Jaen AB, et al. The antitumour mechanisms

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]

of carotenoids: a comprehensive review. Antioxidants. 2024; 30;13:1060. doi:10.3390/antiox13091060.
26. Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. Analysis of cell viability by the MTT assay. Cold Spring Harb Protoc. 2018;2018:pdb-rot095505. doi: 10.1101/pdb.prot095505.
27. Chazotte B. Labeling nuclear DNA using DAPI. Cold Spring Harb Protoc. 2011: 1;2011:pdb-rot5556. doi: 10.1101/pdb.prot5556.
28. Ortega ÁL, Mena S, Estrela JM. Oxidative and nitrosative stress in the metastatic microenvironment. Cancers. 2010;2:274-304. doi: 10.3390/cancers2020274.
29. Koklesova L, Liskova A, Samec M, Buhrmann C, Samuel SM, Varghese E, et al. Carotenoids in cancer apoptosis—the road from bench to bedside and back. Cancers. 2020: 26;12:2425.doi:10.3390/cancers12092425.
30. Cui Y, Lu Z, Bai L, Shi Z, Zhao WE, Zhao B. β-Carotene induces apoptosis and up-regulates peroxisome proliferator-activated receptor γ expression and reactive oxygen species production in MCF-7 cancer cells. Eur J Cancer. 2007;43:2590-601. doi:10.1016/j.ejca.2007.08.015.
31. Antunes A, Carmo F, Pinto S, Andrade N, Martel F. The anti-proliferative effect of β-carotene against a triple-negative breast cancer cell line is cancer cell-specific and JNK-dependent. PharmaNutrition. 2022;22:100320. doi.10.1016/j.phanu.2022.100320.
32. Shin J, Song MH, Oh JW, Keum YS, Saini RK. Pro-oxidant actions of carotenoids in triggering apoptosis of cancer cells: A review of emerging evidence. Antioxidants. 2020;9:532.doi: 10.3390/antiox9060532.
33. Vijay K, Sowmya PR, Arathi BP, Shilpa S, Shwetha HJ, Raju M, et al. Low-dose doxorubicin with carotenoids selectively alters redox status and upregulates oxidative stress-mediated apoptosis in breast cancer cells. Food Chem Toxicol. 2018;118:675-90. doi: 10.1016/j.fct.2018.06.027.
34. Elsayed MH, Shafaa MW, Abdalla MS, El-Khadragy MF, Moneim AE, Ramadan SS. Antitumor assessment of liposomal beta-carotene with tamoxifen against breast carcinoma cell line: an in vitro study. Biomolecules. 2025;15:486. doi: 10.3390/biom15040486.
35. Zhang X, Spiegelman D, Baglietto L, Bernstein L, Boggs DA, van den Brandt PA, et al. Carotenoid intakes and risk of breast cancer defined by estrogen receptor and progesterone receptor status: a pooled analysis of 18 prospective cohort studies. Am J Clin Nutr. 2012;95:1358-69. doi: 10.3945/ajcn.111.014415.
36. Aune D, Chan DS, Vieira AR, Rosenblatt DA, Vieira R, Greenwood DC, et al. Fruits, vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Breast Cancer Res Treat. 2012;134:479-93. doi: 10.1007/s10549-012-2118-1.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-12-06 ]