

## The Study of Clinical Application and Anticancer Mechanism of Alpha-lactalbumin and Oleic Acid Composition

Mokarram P<sup>1\*</sup>, Behrouj H<sup>2</sup>, Rezayi S<sup>3</sup>, Siri M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Associate Professor of Clinical Biochemistry, Department of Biochemistry, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>2</sup>PhD Candidate in Clinical Biochemistry, Department of Biochemistry, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>3</sup>M.Sc. student of Clinical Biochemistry, Department of Biochemistry, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

### Abstract

Milk protein, alpha-lactalbumin, is one of the proteins that many researchers have done a lot of research on its structure and function. In the late nineties, a completely different activity of  $\alpha$ -LA was discovered. When  $\alpha$ -LA is present in a conformation that has been partially unfolded, it can form a complex with oleic acid (OA), which specifically has an anti-cancer activity. The complex between human  $\alpha$ -LA and OA has been called HAMLET (Human Alpha-lactalbumin Made LETHal to Tumor cells). The cell death mechanism by HAMLET has not yet been determined. However, it has been shown that HAMLET interacts with various cellular organelles including nuclei, lysosomes, mitochondria, proteases, and ribosomes. Apoptosis, autophagy, and disorders in the structure of chromatin are three different cytotoxic pathways activated in response to HAMLET. In this study, a summary of the structure, antitumor mechanisms, and clinical applications of this complex will be presented.

**Keywords:** HAMLET, Cancer, Oleic acid, Alpha lactalbumin, Apoptosis

Sadra Med Sci J 2019; 7(4): 433-444.

Received: Dec. 18th, 2018

Accepted: Oct. 12th, 2019

\*Corresponding Author: **Mokarram P.** PhD of Clinical Biochemistry, Department of Biochemistry, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, mokaram2@gmail.com

مجله علوم پزشکی صدرا

دوره ۷، شماره ۴، پاییز ۱۳۹۸، صفحات ۴۳۳ تا ۴۴۴

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۲۰ تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۲۷

مقاله مروری  
(Review Article)

## بررسی کاربرد بالینی و مکانیسم ضدسرطانی ترکیب حاصل از آلفا لاکتالبومین شیر و اسید اولئیک

پونه مکرم<sup>۱\*</sup>، حمید بهروج<sup>۲</sup>، صدیقه رضایی<sup>۳</sup>، مروارید سیری<sup>۴</sup><sup>۱</sup> دانشیار بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران<sup>۲</sup> دانشجوی دکترا بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران<sup>۳</sup> دانشجوی فوق لیسانس بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

### چکیده

پروتئین شیر، آلفا لاکتالبومین، یکی از پروتئین‌هایی است که مطالعات زیادی روی ساختار و عملکرد آن انجام شده است. در اواخر دهه ۱۹۹۰ فعالیت کاملاً متفاوتی از آن کشف شد. وقتی که آلفا لاکتالبومین در کانفورماسیونی قرار دارد که به‌طور نسبی تانخورده است می‌تواند با اولئیک اسید تشکیل مجموعه‌ای را دهد که به‌طور اختصاصی فعالیت ضد سرطانی دارد. مجموعه حاصل از آلفا لاکتالبومین انسانی و اسید اولئیک، HAMLET نامیده می‌شود. مکانیسم مرگ سلولی توسط HAMLET هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است، ولی نشان داده شده است که HAMLET با اندامک‌های مختلف سلولی از جمله هسته، لیزوزم‌ها، میتوکندری، پروتئازوم‌ها و ریبوزوم‌ها برهمکنش دارد. آپوپتوز، اتوفازی و اختلال در ساختار کروماتین سه مسیر مختلف مسموم‌کننده سلولی هستند که در پاسخ به HAMLET فعال می‌شوند. در این مطالعه خلاصه‌ای از ساختار، مکانیسم‌های ضد سرطانی و کاربردهای بالینی این مجموعه ارائه می‌شود.

واژگان کلیدی: HAMLET، سرطان، اسید اولئیک، آلفا لاکتالبومین، آپوپتوز

\* نویسنده مسئول: پونه مکرم، دانشیار دکترای بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران. mokaram2@gmail.com

## مقدمه

تثبیت فرم نسبتاً تانخورده آلفا لاکتالبومین درالفا لاکتالبومین چند واحدی نشان دادند. اسید اولئیک (C18: 1 cis Δ9) به عنوان کو فاکتور لیپیدی با آنالیز توسط GC-MS شناسایی شد (۵،۶). آلفا لاکتالبومین چند واحدی متعاقباً HAMLET نام گذاری شده و مجموعه مشابه ولی با جزء آلفا لاکتالبومین گاوی، BAMLET نامیده شد.

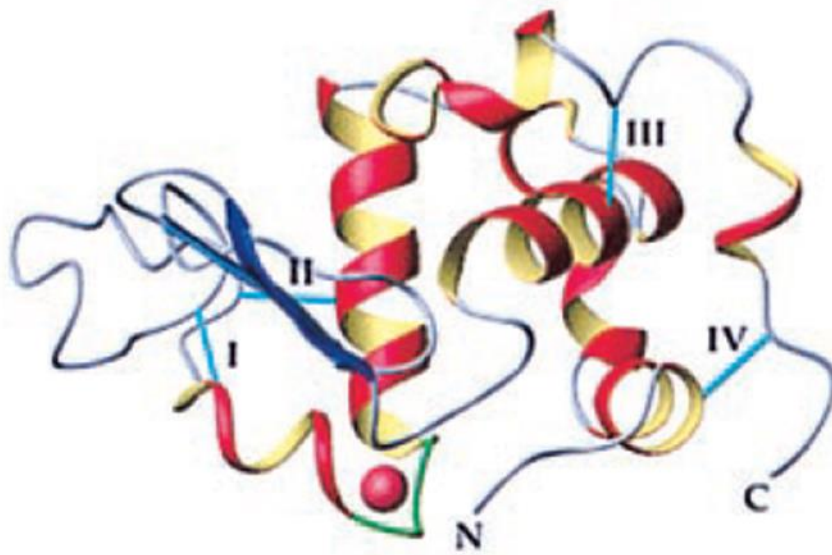
## ساختار آلفا لاکتالبومین

آلفا لاکتالبومین انسانی یک پروتئین کروی اسیدی می باشد که از ۱۲۳ اسید آمینه تشکیل شده و دارای جرم مولکولی ۱۴،۲ کیلو دالتون می باشد و در هنگام شیردهی توسط سلول های اپیتلیال غده پستانی ترشح می شود (۸،۷). ساختار کریستالی آلفا لاکتالبومین توسط کریستالوگرافی اشعه ایکس مشخص شده است. پروتئین آلفا لاکتالبومین از دو دامین تشکیل شده است که دامین بزرگ تر آن اساساً ساختار مارپیچ آلفا ( $\alpha$ -Helix) و دامین کوچک تر ساختار صفحات بتا ( $\beta$ -sheet) دارد. ساختار سه بعدی کلی توسط یک حلقه اتصال به کلسیم پایدار می شود (۹،۱۰) (شکل ۱).

## نقش بیولوژیکی آلفا لاکتالبومین

تا خوردن آلفا لاکتالبومین در حفره ی شبکه آندوپلاسمی انجام می شود و سپس به شبکه گلژی انتقال داده می شود، در آنجا با آنزیم گالاکتوزیل ترانسفراز برهمکنش می کند و باعث ایجاد مجموعه سنتز کننده لاکتوز می شود (۱۰). در غیاب آلفا لاکتالبومین آنزیم گالاکتوزیل ترانسفراز به طور غیراختصاصی باعث انتقال گروه های گالاکتوزیل از UDP-galactose به انواع مختلفی از پیش ماده ها می شود (۱۲). هنگام کاتالیز مرحله نهایی تولید لاکتوز در غده پستانی، آلفا لاکتالبومین اختصاصیت و تمایل گالاکتوزیل ترانسفراز به گلوکز را افزایش می دهد (۱۳).

پروتئین آلفا لاکتالبومین تقریباً در شیر همه پستانداران وجود دارد؛ که در اینجا اختصاصیت آنزیم گالاکتوزیل ترانسفراز برای تشکیل لاکتوز را کنترل می کند. در سال های اخیر فعالیت کاملاً متفاوتی به این پروتئین ارتباط داده شده است. بدین صورت که با اتصال به اسید اولئیک مجموعه ای را تشکیل می دهد که به صورت انتخابی در مقابل سلول های سرطانی فعالیت مسموم کننده ای از خود نشان می دهد. این مجموعه که اولین بار توسط serendipity کشف گردید با عنوان HAMLET شناخته می شود. HAMLET در طول مطالعه اثر ضد چسبندگی شیر بر اتصال باکتریایی به سلول های سرطانی آلوئولار ریه کشف شد (۱). جزء فعال به عنوان آلفا لاکتالبومین چند واحدی (Multimeric Alpha Lactalbumin)، با ظاهر شدن به صورت باندهای ۱۴،۲۸ و ۱۰۰ کیلو دالتون در آنالیز SDS PAGE شناسایی شد و سپس توسط طیف سنجی جرمی تأیید شد (۱، ۲). نشان داده شده است که آلفا لاکتالبومین چند واحدی ساختاری شبه گلبول گداخته (molten globule-like structure) دارد و باعث القا مرگ سلولی (Apoptosis) در انواعی از سلول های نابالغ می شود ولی اثری بر سلول های سالم و تمایز یافته ندارد (۱، ۳، ۴). این در حالی است که فرم طبیعی آلفا لاکتالبومین جدا شده از شیر انسانی فعالیت القاکنندگی مرگ سلولی را از خود نشان نداد. تفاوت در فعالیت مسموم کننده بین آلفا لاکتالبومین طبیعی و آلفا لاکتالبومین در آلفا لاکتالبومین چند واحدی در نتیجه تغییرات پس از ترجمه نبوده بلکه یک تغییر صورت بندی (conformation) در ساختار سوم باعث می شود آلفا لاکتالبومین درالفا لاکتالبومین چند واحدی به طور جزئی تانخورده شود و ساختاری شبه گلبول گداخته (molten globule-like structure) پیدا کند (۲). مطالعات بیشتر لزوم یک کو فاکتور لیپیدی را در



شکل ۱. ساختار سه بعدی آلفا لاکتالبومین انسانی. آلفا لاکتالبومین با چهار آلفا هلیکس (زرد و قرمز) و یک صفحه بتا غیر موازی (آبی) و جایگاه اتصال به کلسیم (سبز) نشان داده شده است. همچنین چهار پیوند دی سولفیدی (فیروزه‌ای) با اعداد رومی نشان داده شده‌اند. (۱۱)

از یک تغییر جزئی در ساختار خود یک عملکرد بالقوه مفید به دست می‌آورد (۱۴،۵).

مطالعه ساختار HAMLET به وسیله اسپکتروسکوپی فلورسانس تریپتوفان، near-UV CD spectroscopy و far-UV CD spectroscopy نشان دادند که مجموعه HAMLET حتی در شرایط فیزیولوژیک پایدار و به طور جزئی تا نخورده می‌باشد (۱۵-۱۷).

تشکیل، پایداری و فعالیت مسموم‌کننده مجموعه HAMLET نیازمند تانخوردن جزئی آلفا لاکتالبومین و اتصال کو فاکتور اسید چرب به آن می‌باشد (۱۶،۱۸). با جدا کردن یون کلسیم از ساختار آلفا لاکتالبومین، این پروتئین به طور جزئی تاخوردگی خود را از دست داده که منجر به ناپایداری صفحات بتا شده که در نتیجه آن باعث اتصال اسید چرب و نهایتاً تشکیل HAMLET می‌شود (۱۹). چون تنها بخش‌هایی از توالی آمینواسیدی آلفا لاکتالبومین در کمپلکس HAMLET قادر به ایجاد مرگ در سلول‌های سرطانی Jurkat می‌باشند به همین دلیل پیشنهاد شده است که تمام توالی ۱۲۳ اسید آمینه‌ای

### نقش بیولوژیکی آلفا لاکتالبومین

تا خوردن آلفا لاکتالبومین در حفره‌ی شبکه آندوپلاسمی انجام می‌شود و سپس به شبکه گلژی انتقال داده می‌شود، در آنجا با آنزیم گالاکتوزیل ترانسفراز برهمکنش می‌کند و باعث ایجاد مجموعه سنتز کننده لاکتوز می‌شود (۱۰). در غیاب آلفا لاکتالبومین آنزیم گالاکتوزیل ترانسفراز به طور غیراختصاصی باعث انتقال گروه‌های گالاکتوزیل از UDP-galactose به انواع مختلفی از پیش ماده‌ها می‌شود (۱۲). هنگام کاتالیز مرحله نهایی تولید لاکتوز در غده پستانی، آلفا لاکتالبومین اختصاصیت و تمایل گالاکتوزیل ترانسفراز به گلوکز را افزایش می‌دهد (۱۳).

### ساختار و ویژگی‌های HAMLET

HAMLET به عنوان مجموعه حاصل از ترکیب فرم آپو آلفا لاکتالبومین و اسید اولئیک مشخص شده است که توانایی القا مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی را به صورت انتخابی دارد (۶). HAMLET به عنوان نخستین نمونه از یک پروتئین که عملکرد مشخصی در حالت ساختار طبیعی خود دارد توصیف شده است؛ اما علاوه بر این پس

HAMLET توسط سلول‌های سرطانی برداشته شده، اندامک‌های مختلف سلولی را مورد هدف قرار می‌دهد و چندین مسیر مرگ سلولی را فعال می‌کند. باین حال سلول‌های سالم و تمایز یافته نسبت به اثرات مسموم‌کننده‌ی HAMLET مقاوم هستند (۵،۲۴). در سلول‌های سرطانی، HAMLET وارد سیتوپلاسم می‌شود و در هسته تجمع می‌یابد (۲۵). سلول‌های سالم مقدار ناچیزی از HAMLET را برداشت می‌کنند و شواهدی از انتقال هسته‌ای آن وجود ندارد (۲۶). فرم طبیعی آلفا لاکتالبومین در مقایسه با HAMLET به میزان کمتری وارد سلول سرطانی می‌شود و این توجیهی است که پیشنهاد می‌کند فرم تانخورده آلفا لاکتالبومین و اتصال آن به اسید اولئیک هر دو برای برداشت توسط سلول سرطانی لازم هستند (۲،۱۸).

### مهار پروتئازوم در پاسخ به آلفا لاکتالبومین تانخورده در HAMLET

بر اساس نقش شبکه آندوپلاسمی و پروتئازوم‌ها در هموستاز پروتئین‌های تانخورده، عمده تهاجم آلفا لاکتالبومین نسبتاً تانخورده در سلول‌های سرطانی مربوط به ایجاد استرس شبکه آندوپلاسمی و اختلال در پاسخ پروتئازوم‌های 20S می‌باشد (۲۷). نشان داده شده است که HAMLET مستقیماً به واحدهای پروتئازوم 20S در محیط آزمایشگاهی (in vitro) متصل می‌شود و باعث تغییر ساختاری سریع در پروتئازوم و مهار فعالیت آن می‌شود.

### برهمکنش گیرنده‌های هسته‌ای و کروماتین با

#### HAMLET

HAMLET در هسته سلول‌های سرطانی تجمع پیدا می‌کند و هیستون‌ها به‌عنوان گیرنده‌ی هسته‌ای برای آن شناسایی شده‌اند (۲۵). HAMLET، هیستون‌ها و DNA در نهایت باعث تشکیل مجموعه‌های غیر محلولی می‌شوند که باعث اختلال در روند رونویسی می‌شود.

آلفا لاکتالبومین برای فعالیت مسموم‌کننده آن مورد نیاز نمی‌باشد (۲۰).

علاوه بر آلفا لاکتالبومین انسانی، آلفا لاکتالبومین دیگر گونه‌ها از جمله گاو، اسب، بز و خوک توانایی تشکیل مجموعه با اسید اولئیک را دارند (۸). با مقایسه مجموعه‌های حاصل از آلفا لاکتالبومین انسانی و گاوی، نشان داده شده است که هر دو مجموعه فعالیت مسموم‌کننده مشابهی را نشان می‌دهند (۲۱).

### روش‌های تولید HAMLET

چندین روش مختلف برای تولید HAMLET از آلفا لاکتالبومین و اسید اولئیک در محیط آزمایشگاهی (in vitro) استفاده شده است (۲،۶). کروماتوگرافی تعویض یونی از جمله روش‌های مرسوم تولید HAMLET می‌باشد (۵). این روش با تخلیص فرم طبیعی آلفا لاکتالبومین توسط کروماتوگرافی تعاملی آب‌گریز آغاز می‌شود سپس EDTA به آن اضافه می‌شود که منجر به از دست دادن کلسیم آن می‌شود و در نهایت آلفا لاکتالبومینی که به‌طور جزئی تانخورده است به دست می‌آید. فرم آلفا لاکتالبومین از ستون DEAE Trisacryl M کروماتوگرافی تعویض یونی که از قبل با اسید چرب بارگذاری شده بود، عبور داده می‌شود. آلفا لاکتالبومین با اسید چرب بارگذاری شده به ستون متصل می‌شود و موجب تشکیل مجموعه HAMLET می‌شود که توسط غلظت نمکی یک مولار شست‌وشو داده می‌شود. مجموعه شست‌وشو داده شده توسط دیالیز نمک‌های آن حذف شده و برای به دست آوردن پودر خشک آن لیوفیلیزه می‌گردد. از دیگر روش‌های تولید HAMLET مخلوط کردن مستقیم آلفا لاکتالبومین و اسید چرب در بافر PBS و قرار دادن آن در دمای ۵۰ یا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد (۲۲،۲۳).

### مکانیسم‌های مرگ سلول سرطانی توسط HAMLET

و فرسوده شده‌اند را تجزیه و بازیافت می‌کند (۳۲). فعال شدن اتوفازای به مدت طولانی همچنین باعث مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول می‌شود. مشاهده‌شده است که وزیکول‌های با غشای دو لایه و جابجایی LC3 به غشای وزیکول‌ها که از نشانه‌های معمول اتوفازای می‌باشند در سلول‌های سرطانی تیمار شده با HAMLET افزایش‌یافته‌اند (۳۲). کاهش چشم‌گیر مرگ سلولی القاشده توسط HAMLET با استفاده از مهارکننده‌های مکانیسم اتوفازای، بیانگر این است که ماکرو اتوفازای بخشی از مرگ سلولی است که در پاسخ به HAMLET القا می‌شود (۳۳).

### کاربردهای درمانی HAMLET

یکی از علت‌های مهم مطالعه فعالیت مسموم‌کننده HAMLET، اختصاصیت آن علیه سلول‌های سرطانی می‌باشد. در بسیاری از مطالعات در محیط آزمایشگاهی (in vitro) نشان داده‌شده است که HAMLET می‌تواند کاربرد درمانی داشته باشد. در نتیجه، محققین برای پی بردن به کاربردهای احتمالی HAMLET شروع به طراحی مطالعات در بدن موجودات زنده (in vivo) کردند (۳۴-۳۶).

یکی از مشکلات استفاده از HAMLET به‌عنوان یک ترکیب ضد سرطان، تعامل آن با آلبومین است که از طریق اتصال به اسیدهای چرب آزاد می‌تواند اثر مسموم‌کننده‌ی HAMLET را خنثی کند. چون آلبومین تقریباً در همه مایعات فیزیولوژیک وجود دارد، در بسیاری از موارد رسیدن HAMLET در فرم فعال خود به سلول‌های سرطانی دشوار خواهد بود (۲۹، ۲۱).

### HAMLET به‌عنوان درمان پاپیلوما‌ی پوستی

پاپیلوم‌ها به‌عنوان ضایعات بدخیم پوستی و سطوح مخاطی شناخته می‌شوند که به دلیل تغییر شکل کراتینوسیت‌ها توسط پاپیلوما ویروس ایجاد می‌شوند (۳۷). گزینه‌های درمانی ناکارآمد هستند و شامل

استیلاسیون و داستیلاسیون هیستون‌ها در دسترس بودن کروماتین برای HAMLET را کنترل می‌کند. ژن‌های هیستون داستیلازها غالباً در سلول‌های سرطانی افزایش بیان دارند و مهارکننده‌های آن‌ها برای درمان بدخیمی‌ها استفاده می‌شوند. HAMLET با افزایش هیپراستیلیسیون، در پاسخ به مهارکننده‌های هیستون داستیلاز و پیشبرد مرگ سلول اثر هم‌افزایی با مهارکننده‌های هیستون داستیلاز دارد (۲۸).

### آپوپتوز و ماکرو اتوفازای در پاسخ به HAMLET

سلول‌های تیمار شده با HAMLET خصوصیات آپوپتوتیک همراه با تغییراتی در شکل و شکست در DNA را نشان می‌دهند (۱). یک مکانیسم احتمالی این است که نشان داده‌شده است که HAMLET بر میتوکندری اثر می‌گذارد و باعث تورم میتوکندریایی و از دست رفتن پتانسیل غشای آن می‌شود که با آزاد شدن سیتوکروم c، فعال شدن کاسپازهای پروآپوپتوتیک و ظاهر شدن فسفاتیدیل سرین روی سطح سلول همراه است (۲۹، ۳۰). با این حال با توجه به اینکه مهارکننده‌های کاسپاز نتوانستند سلول‌های تیمار شده با HAMLET را از مرگ رهایی دهند، بنابراین آپوپتوز دلیل مرگ سلول‌ها نیست (۳۱). این نتیجه توسط مطالعات دیگری که روی پروتئین‌های خانواده Bcl-2 و مهارکننده‌ی تومور P53 انجام‌شده‌اند، مورد تأیید قرار گرفته شده است. هر دو خانواده ژنی در روند آپوپتوز درگیر هستند و جهش‌ها یا دیگر تغییرات در سطح بیان آن‌ها موجب تغییر در پاسخ مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود. نشان داده شد که HAMLET باعث مرگ سلول‌های جهش‌یافته بدون توجه به وضعیت بیانی P53 و Bcl-2 آن‌ها می‌شود (۳۱) و این نشان می‌دهد که مکانیسم‌های دیگری علاوه بر آپوپتوز وجود دارند که منجر به مرگ سلول می‌شوند.

سلول‌های تیمار شده با HAMLET همچنین نشانه‌هایی از ماکرو اتوفازای را نشان دادند؛ مکانیسمی که در پاسخ به شرایط قحطی و استرس، اندامک‌ها و پروتئین‌هایی که پیر

### سرطان مثانه

گسترش سرطان مثانه شایع است و با وجود پیشرفت‌های در حال ادامه در گزینه‌های درمانی موجود هنوز به‌عنوان یک چالش جهانی باقی‌مانده است. شیوع سرطان مثانه ۱ در ۴۰۰۰ نفر است و ۵ درصد از کل سرطان‌ها را شامل می‌شود (۴۳). داروهایی که معمولاً برای درمان سرطان مثانه استفاده می‌شوند شامل Bacillus Calmette-Guerin، thiotepa، epirubicin و mitomycin C می‌باشد (۴۴).

مطالعات پیشین که در محیط آزمایشگاهی (in vitro) انجام شده بودند، دریافتند که HAMLET موجب مرگ انواع مختلفی از رده‌های سلولی از جمله سلول‌های سرطانی مثانه می‌شود (۳). با مطالعه اثر HAMLET به‌صورت intravesical روی ۹ بیمار مرد مبتلا به سرطان مثانه به مدت یک هفته، نشان داده شد که در ۸ نفر از بیماران، HAMLET موجب آپوپتوز سلول‌های توموری و جدا شدن آن‌ها و ورود آن‌ها به ادرار شده است. علاوه بر این کاهش در اندازه توده سلول سرطانی یا تغییر در خصوصیات سرطانی در ۸ نفر از بیماران مشاهده شد (۳۵).

### نتیجه‌گیری

اگرچه عدم تاخوردگی پروتئین با سمیت بافتی و بیماری ارتباط دارد تا خوردگی جزئی پروتئین به‌عنوان مکانیسمی برای ایجاد تنوع عملکردی مطلوب شناخته می‌شود. با توصیف فرم و عملکرد کمپلکس جدیدی مانند HAMLET، در این مطالعه شواهدی را ارائه دادیم که از دست دادن ساختار طبیعی می‌تواند منجر به عملکردهای مفید و متمایزی در پروتئین‌ها و کمپلکس‌های مربوط به آن‌ها شود که اساساً متفاوت از عملکرد فرم طبیعی پروتئین می‌باشند.

### تضاد منافع

در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

کریوتراپی، کورتاژ، سالیسیلیک اسید، لیزر CO<sub>2</sub> و داروهای ضد میتوزی می‌باشند (۳۸). پاپیلوما پستی به‌عنوان اولین مدل برای بررسی اثر HAMLET انتخاب شد؛ و بیمارانی که به روش‌های درمانی مرسوم مقاوم بودند برای مطالعه اثر HAMLET در نظر گرفته شدند (۳۷). در این مطالعه HAMLET باعث کاهش حجم پاپیلوما در ۱۰۰ درصد از بیماران (۲۰ از ۲۰) در مقایسه با کاهش ۱۵ درصدی در بیماران گروه دارونما (placebo) (۳) از ۲۰) شد. با بررسی اثر درازمدت HAMLET در مقابل پاپیلوما پستی، نشان داده شد که تمامی ضایعات در ۸۳ درصد از بیماران بعد از دو سال کاملاً از بین رفته است.

### HAMLET در درمان گلیوبلاستوما

گلیوما ها گروه ناهمگنی از ضایعات داخل جمجمه‌ای هستند که از سلول‌های نوروگلیا منشأ می‌گیرند و بیش از ۶۰ درصد از توده‌های سلولی سرطانی اولیه مغز را شامل می‌شوند و معمولاً پیش‌آگهی نامطلوبی دارند (۳۹). درجه IV گلیوبلاستوما که در مقیاس درجه‌بندی فعلی WHO (World Health Organization) با عنوان گلیوبلاستوما چند فرمه (GBM) معرفی شده است از بدخیم‌ترین گلیوما ها است و متوسط زمان زنده ماندن افراد مبتلا به این نوع گلیوما کمتر از یک سال می‌باشد (۴۰). درمان‌های رایج شامل رادیوتراپی، شیمی‌درمانی و جراحی می‌باشد (۴۱). نشان داده شده است که HAMLET در محیط آزمایشگاهی (in vitro) باعث القا مرگ سلولی در نمونه‌های بیوپسی GBM می‌شود (۳۴). همچنین در مطالعه‌ای در محیط بدن (in vivo) با زئوترانسپلنت اسفروئید های نمونه‌های بیوپسی گلیوبلاستوما ی انسانی در مغز موش‌های صحرایی فاقد سیستم ایمنی و با بررسی اثر HAMLET بر موش‌های صحرایی ذکر شده، نشان داده شد که HAMLET موجب کاهش حجم تومور در جمجمه شده است (۴۲).



- apoptosis. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2000; 97(8): 4221-6.
6. Svensson M, Mossberg AK, Pettersson J, Linse S, Svanborg C. Lipids as cofactors in protein folding: Stereo-specific lipid-protein interactions are required to form HAMLET (human  $\alpha$ -lactalbumin made lethal to tumor cells). Protein Science. 2003; 12(12):2805-14.
7. Hill RL, Brew K. Lactose synthetase. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol. 1975; 43: 411-90.
8. Pettersson J, Mossberg A-K, Svanborg C.  $\alpha$ -Lactalbumin species variation, HAMLET formation, and tumor cell death. Biochemical and biophysical research communications. 2006;345(1):260-70.
9. Iyer LK, Qasba PK. Molecular dynamics simulation of  $\alpha$ -lactalbumin and calcium binding c-type lysozyme. Protein engineering. 1999; 12(2): 129-39.
10. Permyakov EA, Berliner LJ.  $\alpha$ -Lactalbumin: structure and function. FEBS letters. 2000; 473(3): 269-74.
11. Svensson M, HAKANSSON A, Mossberg A, LINSE C, Svanborg C.
- منابع
1. HÅKANSSON A, Zhivotovsky B, Orrenius S, Sabharwal H, Svanborg C. Apoptosis induced by a human milk protein. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1995; 92(17):8064-8.
  2. Svensson M, Sabharwal H, Håkansson A, Mossberg A-K, Lipniunas P, Leffler H, et al. Molecular characterization of  $\alpha$ -lactalbumin folding variants that induce apoptosis in tumor cells. Journal of Biological Chemistry. 1999; 274(10): 6388-96.
  3. Svanborg C, Jägerstam H, Aronson A, Bjerkgvig R, Düringer C, Fischer W, et al. HAMLET kills tumor cells by an apoptosis-like mechanism—cellular, molecular, and therapeutic aspects. Advances in cancer research. 2003; 88: 1-29.
  4. Gustafsson L, Hallgren O, Mossberg A-K, Pettersson J, Fischer W, Aronsson A, et al. HAMLET kills tumor cells by apoptosis: structure, cellular mechanisms, and therapy. The Journal of nutrition. 2005; 135(5): 1299-303.
  5. Svensson M, Håkansson A, Mossberg A-K, Linse S, Svanborg C. Conversion of  $\alpha$ -lactalbumin to a protein inducing



- HAMLET (human  $\alpha$ -lactalbumin made lethal to tumor cells). *Protein Science*. 2003; 12(12): 2794-804.
17. Fast J, Mossberg AK, Svanborg C, Linse S. Stability of HAMLET—A kinetically trapped  $\alpha$ -lactalbumin oleic acid complex. *Protein Science*. 2005; 14(2): 329-40.
  18. Mok KH, Pettersson J, Orrenius S, Svanborg C. HAMLET, protein folding, and tumor cell death. *Biochemical and biophysical research communications*. 2007; 354(1): 1-7.
  19. Casbarra A, Birolo L, Infusini G, Dal Piaz F, Svensson M, Pucci P, et al. Conformational analysis of HAMLET, the folding variant of human  $\alpha$ -lactalbumin associated with apoptosis. *Protein science*. 2004; 13(5): 1322-30.
  20. Tolin S, De Franceschi G, Spolaore B, Frare E, Canton M, de Laureto PP, et al. The oleic acid complexes of proteolytic fragments of  $\alpha$ -lactalbumin display apoptotic activity. *The FEBS journal*. 2010; 277(1): 163-73.
  21. Brinkmann C, Thiel S, Larsen M, Petersen T, Jensenius JC, Heegaard C. Preparation and comparison of cytotoxic complexes formed between oleic acid and either bovine or human Conversion of-lactoglobulin to a protein inducing apoptosis. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2000; 97: 4221-4226.
  12. Mossberg AK, Mok KH, Morozova-Roche LA, Svanborg C. Structure and function of human  $\alpha$ -lactalbumin made lethal to tumor cells (HAMLET)-type complexes. *The FEBS journal*. 2010; 277(22): 4614-25.
  13. Lin Y, Sun X, Hou X, Qu B, Gao X, Li Q. Effects of glucose on lactose synthesis in mammary epithelial cells from dairy cow. *BMC veterinary research*. 2016 Dec; 12 (1):81.
  14. Pettersson-Kastberg J, Mossberg A-K, Trulsson M, Yong YJ, Min S, Lim Y, et al.  $\alpha$ -Lactalbumin, engineered to be nonnative and inactive, kills tumor cells when in complex with oleic acid: a new biological function resulting from partial unfolding. *Journal of molecular biology*. 2009; 394(5): 994-1010.
  15. Kuwajima K. The molten globule state of alpha-lactalbumin. *The FASEB Journal*. 1996; 10(1): 102-9.
  16. Svensson M, Fast J, Mossberg AK, Düringer C, Gustafsson L, Hallgren O, et al.  $\alpha$ -Lactalbumin unfolding is not sufficient to cause apoptosis, but is required for the conversion to

- response to HAMLET (human  $\alpha$ -lactalbumin made lethal to tumor cells). *Bioactive Components of Milk*: Springer; 2008. p. 217-40.
27. Gustafsson L, Aits S, Snnerfjord P, Trulsson M, Storm P, Svanborg C. Changes in proteasome structure and function caused by HAMLET in tumor cells. *PLoS One*. 2009; 4(4): e5229.
28. Brest P, Gustafsson M, Mossberg A-K, Gustafsson L, Düringer C, Hamiche A, et al. Histone deacetylase inhibitors promote the tumoricidal effect of HAMLET. *Cancer research*. 2007; 67(23): 11327-34.
29. Köhler C, Gogvadze V, Håkansson A, Svanborg C, Orrenius S, Zhivotovsky B. A folding variant of human  $\alpha$ -lactalbumin induces mitochondrial permeability transition in isolated mitochondria. *European journal of biochemistry*. 2001; 268(1): 186-91.
30. Köhler C, Håkansson A, Svanborg C, Orrenius S, Zhivotovsky B. Protease activation in apoptosis induced by MAL. *Experimental cell research*. 1999; 249(2): 260-8.
31. Hallgren O, Gustafsson L, Irjala H, Selivanova G, Orrenius S, Svanborg C. HAMLET triggers apoptosis but tumor cell death is independent of caspases,  $\alpha$ -lactalbumin. *Journal of dairy science*. 2011;94(5):2159-70.
22. Knyazeva EL, Grishchenko VM, Fadeev RS, Akatov VS, Permyakov SE, Permyakov EA. Who is Mr. HAMLET? Interaction of human  $\alpha$ -lactalbumin with monomeric oleic acid. *Biochemistry*. 2008;47(49):13127-37.
23. Kamijima T, Ohmura A, Sato T, Akimoto K, Itabashi M, Mizuguchi M, et al. Heat-treatment method for producing fatty acid-bound alpha-lactalbumin that induces tumor cell death. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008; 376(1): 211-4.
24. Håkansson A, Andréasson J, Zhivotovsky B, Karpman D, Orrenius S, Svanborg C. Multimeric  $\alpha$ -lactalbumin from human milk induces apoptosis through a direct effect on cell nuclei. *Experimental cell research*. 1999; 246(2): 451-60.
25. Düringer C, Hamiche A, Gustafsson L, Kimura H, Svanborg C. HAMLET interacts with histones and chromatin in tumor cell nuclei. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278(43): 42131.
26. Hallgren O, Aits S, Brest P, Gustafsson L, Mossberg A-K, Wullt B, et al. Apoptosis and tumor cell death in

37. Gustafsson L, Leijonhufvud I, Aronsson A, Mossberg A-K, Svanborg C. Treatment of skin papillomas with topical  $\alpha$ -lactalbumin-oleic acid. *New England Journal of Medicine*. 2004; 350(26): 2663-72.
38. Gibbs S, Altman DG, Harvey I, Sterling J, Stark R. PapersLocal treatments for cutaneous warts: systematic reviewCommentary: Systematic reviewers face challenges from varied study designs. *Bmj*. 2002; 325(7362): 461.
39. Gundersen S, Lote K, Hannisdal E. Prognostic factors for glioblastoma multiforme: development of a prognostic index. *Acta Oncologica*. 1996; 35(sup8): 123-7.
40. 40. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica*. 2007; 114(2): 97-109.
41. Wen PY, Schiff D, Kesari S, Drappatz J, Gigas DC, Doherty L. Medical management of patients with brain tumors. *Journal of neuro-oncology*. 2006; 80(3): 313-32.
42. Engebraaten O, Hjortland GO, Hirschberg H, Fodstad X. Growth of Bcl-2 and p53. *Apoptosis*. 2006; 11(2): 221-33.
32. Yorimitsu T, Klionsky DJ. Autophagy: molecular machinery for self-eating. *Cell death and differentiation*. 2005; 12(S2): 1542.
33. Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy and cell death. *Current topics in developmental biology*. 2007; 78: 217-45.
34. Fischer W, Gustafsson L, Mossberg A-K, Gronli J, Mork S, Bjerkgvig R ,et al. Human  $\alpha$ -lactalbumin made lethal to tumor cells (HAMLET) kills human glioblastoma cells in brain xenografts by an apoptosis-like mechanism and prolongs survival. *Cancer research*. 2004; 64(6): 2105-12.
35. Mossberg AK, Wullt B, Gustafsson L, Månsson W, Ljunggren E, Svanborg C. Bladder cancers respond to intravesical instillation of (HAMLET human  $\alpha$ -lactalbumin made lethal to tumor cells). *International journal of cancer*. 2007; 121(6): 1352-9.
36. 36. Mossberg A-K, Hou Y, Svensson M, Holmqvist B, Svanborg C . HAMLET treatment delays bladder cancer development. *The Journal of urology*. 2010; 183(4): 1590-7.

- the Royal Society for the Promotion of Health. 2004; 124(5): 228-9.
44. 44. Schenkman E, Lamm DL. Superficial bladder cancer therapy. The Scientific World Journal. 2004; 4: 387-99.
- precultured human glioma biopsy specimens in nude rat brain. Journal of neurosurgery. 1999; 90(1): 125-32.
43. Sengupta N, Siddiqui E, Mumtaz FH. Cancers of the bladder. The journal of

Cite this article as:

Mokarram P, Behrouj H, Rezayi S, Siri M. The Study of Clinical Application and Anticancer Mechanism of Alpha-lactalbumin and Oleic Acid Composition. Sadra Med Sci J 2019; 7(4): 433-444.