Archive of SID

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۹ شماره ۴ زمستان ۱۳۸۶ صفحات ۲۶- ۲۱

اثر سینرژیک منوفسفوریل لیپیدA و وروتوکسین۱ در حذف فیبروسارکومای ایجاد شده در موش آزمایشگاهی

دکتر حسن حسین زادگان: استادیار میکروبشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
E-mail: asadzade_2003@yahoo.com
دکتر مرتضی ستاری: دانشیار میکروبشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
دکتر زهیر محمد حسن: استاد ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
دکتر عبدالامیر علامه: استاد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

دریافت: ۸۵/۸/۹، پذیرش: ۸۵/۱۲/۱۰

چکیده

زمینه و اهداف: در سالهای اخیر از متابولیتهای مختلف میکروبی از جمله انتروتوکسینها ، پروتئینهای باکتریال، سموم نوترکیب و درمان ترکیبی به دلیل محدودیت درمانهای رایج سرطان از جمله شیمی درمانی و پرتودرمانی برای درمان انواع سرطانها استفاده شده است. وروتوکسینها سمومی هستند، که از سالها پیش اثر ضد توموری آنها شناخته شده است. این سموم توسط برخی سویه های اشرشیا کولی تولید می شوند. لذا در این تحقیق با توجه به اثرات ضد توموری وروتوکسین۱ اثر همزمان این ترکیب را با منوفسفوریل لیپید(Monophosphoryl Lipid A(MPL (یکی از مشتقات غیر سمی لیپوپلی ساکارید باکتریها را که دارای خاصیت ادجوانتی و نکروز تومور است)، بر روی فیبروسارکومای ایجاد شده در موش آزمایشگاهی بررسی نمودیم.

روش بررسی: برای آزمایشهای حیوانی ابتدا وروتوکسین ۱ بصورت رقت سریال دو برابر در گروههای ۶ تایی موش آزمایشگاهی بصورت داخل صفاقی تزریق و تا ۷ روز تعداد موشهای مرده دررقتهای مختلف محاسبه شده، و مقدار ۵۰ درصد کشنده سم با روش Reed &Munch در موشهای Balb/cتعیین شد. پس از آن با تزریق سلولهایWEHI-164 در ۱۶ موش (به تعداد ۳ میلیون سلول در هر موش) به صورت زیر جلدی تومورهای قابل مشاهده ایجاد شده و به چهار گروه ۴ تایی تقسیم شدند. به گروه اول۲۵ نانوگرم وروتوکسین۱، گروه دوم ۵۰ میکروگرم منوفسفوریل لیپیدA، گروه سوم ۲۵ نانوگرم ورتوکسین۱ و ۲۵ میکروگرم منوفسفوریل لیپید A بصورت داخل توموری تزریق نمودیم. در گروه چهارم به عنوان شاهد نیز وروتوکسین غیرفعال شده با حرارت را تزریق کردیم. اندازه تومورها روزانه با محاسبه طول و عرض آنها با کولیس و فرمول $\frac{\text{عرض}^2 \times \text{طول}}{2}$ محاسبه شد. با استفاده از آنالیز واریانس تفاوتهای بین گروههای مختلف ارزیابی شد.

یافته ها: وروتوکسین۱ مشابه سلول استاندارد ورو اثرات سیتوتوکسیکی بر رده سلولیWEHI-164 نشان داد. تاثیر همزمان آن با منوفسفوریل لیپید A سبب حذف کامل تومورهای فیبروسارکومای بدخیم ایجاد شده در موشهای آزمایشگاهی شد. ۱۰۰ نانوگرم وروتوکسین۱ به عنوان دز کشنده ۵۰ در صد در موش آزمایشگاهی تعیین شد. تومورهای تزریق شده با منوفسفوریل لیپیدA در مقایسه با گروه کنترل منفی(درمان نشده) بدون تغییر حجم و یا افزایش کمی درحجم تومورها نشان دادند. این اثر از نظر آماری معنی دار نبود. در حالی که تومورهای کنترل منفی (درمان نشده) ، پس از کاهش وزن شدید سبب مرگ موشها شدند. موشهای گروه کنترل حداکثر در یک ماه پس از تزریق از بین می رفتند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد که اگر چه اثر وروتوکسین۱ بتنهایی بر روی بسیاری از تومورهای انسانی ثابت شده است. لیکن به دلیل اثر هم افزایی با منوفسفوریل لیپیدA و حذف کامل تومورهای بدخیم فیبروسارکوما، از توام آنها می توان در درمان فیبروسارکوما و سایر بیماریهای بدخیم مشابه استفاده نمود.

کلید واژه ها: وروتوکسین۱، منوفسفوریل لیپید A، فیبروسارکوما

مقدمه

فیبروسارکوما توموری با منشاء سلولهای مزانشیال است. که بصورت اولیه در بافت نرم یا استخوانها تشکیل می شود(۱). مشابه بسیاری دیگر از تومورهای انسانی درمان فیبروسارکوما طاقت فرسا می باشد. علاوه بر این در درمانهای طولانی مدت سرطانها یا درمانهای ناقص با استفاده از اشعه درمانی به عنوان روش کمکی

www.SID.ir

Archive of SID

عوارض متعددی نیز مشاهده می شود. که کارآیی روشهای درمانی سرطانها را محدود می نماید(۲).

اثرات سمی وروتوکسین۱ تولید شده از اشرشیا کلی های انتروهموراژیک از سالهای دور بر روی سلول های رده توموری انسانی شناخته شده است(۳). این سم با واسطه گیرنده اختصاصی به نام گلوبوتریا اوسیل سرامید[1] بر روی سلولها اثر می نماید. به طوری که در مطالعه رده های مختلف توموری از جمله آستروسیتومای مقاوم به درمان، منتژیومای بدخیم، سرطان پستان، لنفوما، میلوما، کارسینوما، سارکومای موشی، تخمدانی، سمینوماها اثرات شدید سیتوتوکسیک انتخابی وروتوکسین۱ نشان داده شده است.(۷-۳) درمان موشهای توموردارGb_3 مثبت با وروتوکسین ۱ مانع از متاستاز شده، و رده سلولهای کارسینومای تخمدانی مقاوم چند دارویی در برابر وروتوکسین۱ بسیار حساس بوده وبا سرعت از بین می روند(۸). در بسیاری از سرطانهای انسانی مقدار Gb_3 سطح سلولها نسبت به سلولهای طبیعی افزایش می یابد. حتی در سرطانهای رده سلولی زاینده از جمله کوریوکارسینوما وبیضه ها میزان افزایش Gb_3 از مارکرهای سرطانی شدن آنهاست(٦). افزایش بیان Gb_3 در سلولهای توموری بدنبال تغییرات تمایزی آنها سبب شده است که این ملکول به عنوان یکی از مارکرهای شناسایی تومورهای سمینوما (شایعترین تومورهای بیضه) مطرح باشند(۹).

در مطالعه اثر ضد توموری وروتوکسین ۱ بر روی سرطانهای مقاوم به درمان مغز (آستروسیتوماها) درجات متفاوتی از حساسیت به وروتوکسین۱ مشاهده شده است. طوریکه برخی از سلولهای دارای Gb_3 بالاتر، حساسیت کمتری به وروتوکسین ۱ دارند. که نشانه دخالت سایر عوامل غیر از Gb_3 در سیتوتوکسیسیته آن است. (٦). بوتیرات سدیم ، ویتامین۳ D و ملکولهایی مانند LPS[2] از عوامل شناخته شده ای هستند که در افزایش بیان گیرنده سم و حساس سازی سلولها به وروتوکسینها نقش دارند.LPS یکی از ملکولهای مطرح میکروبی است که نقش آن در تحریک ترشح سیتوکینها و افزایش بیان Gb3 و تشدید اثرات سیتوتوکسیک وروتوکسین ۱ شناخته شده است(۱۰). با توجه به مطالب ذکر شده پژوهش در مورد روشهای درمانی سریع و بدون عارضه و کم هزینه از موضوعات بسیار مهم در عرصه درمان انواع سرطانهای انسانی محسوب می شود. لذا با توجه به اثرات شناخته شده لیپوپلی ساکارید در تشدید سمیت وروتوکسین۱ بر آن شدیم تا اثر توام منوفسفوریل لیپید A (مشتق سمی لیپوپلی ساکارید) را بر روی تومور ایجاد شده در موش آزمایشگاهی بررسی نمائیم.

مواد و روش ها

رده سلولی WEHI-164 و موشهای Balb/c به ترتیب از بانک سلولی و مرکز حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران خریداری شد.

مطالعات حیوانی :

با توجه به اثرات سیتوتوکسیک سم وروتوکسین۱ بر روی سلولهای WEHI-164 در شرایط آزمایشگاهی و پتانسیل تومورزایی این سلولها ادر موش Balb/c این موشها به عنوان مدلی برای تومورزایی و مطالعات حیوانی انتخاب شدند.

تعیین دز کشنده ۵۰ درصد $(LD50)^3$ وروتوکسین۱ درموش Balb/C :

در مطالعاتی که به منظور درمان سرطان از متابولیتهای میکروبی استفاده می شود، غلظتهای۱/۱۰ از دز کشنده ۵۰ درصد را برای تیمار استفاده می کنند. بدین دلیل قبل از شروع درمان تومورهای حیوانات LD_{50} سم با روش زیر تعیین شد.

یک میلی گرم از وروتوکسین۱ در بافر فسفات حل شده، و رقتهای ۱/۱۰ تا $1/10^6$ از آن در بافر فسفات تهیه شد. از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر بصورت داخل صفاقی در ۵ موش تزریق شد. میزان مرگ تا دو هفته در همه گروهها ثبت شد. ابتدا دو رقت بالا و پائین ۵۰ درصد مرگ موشها در گروهها تعیین شد. برای تعیین دقیق مقدار کشنده ۵۰ درصد با استفاده از فرمول زیر عدد اعشاری محاسبه شده، و عدد بدست آمده به توان رقت بالای مرگ ۵۰ درصد اضافه و مقدار ۵۰ درصد کشنده سم محاسبه شد.

$$\frac{\text{۵۰ درصد - در صد مرگ بالای ۵۰ درصد}}{\text{در صد مرگ در رقت پائین ۵۰ درصد - در صد مرگ بالای ۵۰ درصد}}$$

برای موشهای کنترل هم بافر فسفات نمکی استریل و وروتوکسین غیرفعال شده با حرارت تزریق شد و پس از ۲ هفته LD_{50} سم با روشReed&Munch تعیین گردید(۱۱).

پیش تیمار حیوانات و تزریق سلولها:

برای ایجاد تومور ابتدا ۱۶ موش Balb /c ماده ٤ هفته ای را مدت ۷ روز با آب وغذای استریل وفضای تمیز پیش تیمار نمودیم. پس از ۷ روز پشت حیوانات تراشیده شده وتعداد 3×10^6 سلول در۰/۲ میلی لیتر از محیطRPMI-1640 و بصورت زیر جلدی تزریق کردیم. وضعیت حیوانات از نظر وجود و رشد تومور بصورت روزانه بررسی شدند. بمحض رسیدن قطر تومورها به ۱-۰/۷ سانتی متر (بطور متوسط یک هفته پس از تزریق) موشها را به چهار گروه چهارتایی تقسیم کرده و در گروه اول۲۵ نانوگرم وروتوکسین1، گروه دوم ۵۰ میکروگرم منوفسفوریل لیپیدA، گروه سوم ۲۵ نانوگرم ورتوکسین۱ و ۲۵ میکروگرم منوفسفوریل لیپیدA بصورت داخل توموری تزریق نمودیم. در گروه چهارم به عنوان شاهد نیز وروتوکسین غیرفعال شده با حرارت را تزریق کردیم. اندازه تومورها روزانه با محاسبه طول و عرض آنها و فرمول $\frac{\text{عرض}^2 \times \text{طول}}{2}$ محاسبه شد(۱۲). با استفاده از آنالیز واریانس تفاوتهای بین گروههای مختلف ارزیابی شد. گروهی از موشها برای ارزیابی اثر منوفسفوریل لیپید A و تائید غیر توکسیک بودن آن با مقادیر مختلف تیمار شدند. برای اطمینان از تاثیر مواد در گروههای نامبرده نمونه ای از تومورها در فرمالین برداشته شده و

1. Globotriaocyl Ceramide, Gb_3
2. Lipopolysaccharide, Lps
3. Lethal Dose 50

www.SID.ir

Archive of SID

بوسیله ۳ پاتولوژیست مجزا با روش ائوزین هماتوکسیلین میزان پیشرفت اثر سیتوتوکسیسیته ارزیابی شد.

یافته ها

دز کشنده ۵۰ درصد وروتوکسین۱ در موش Balb/c :

در ابتدا برای اطمینان از فعالیت بیولوژیک وروتوکسین۱ سم بصورت داخل صفاقی در موشها تزریق شد. علائمی از قبیل شل شدن پاهای عقبی و کاهش شدید وزن و اسهال در حیوانات تزریق شده ایجاد شد. که نشانه فعالیت توکسیک سم بود. موشهای تزریق شده با وروتوکسین۱ در محدوده ۳ تا ۷ روز از بین می رفتند و در همه آنها فلج پاهای عقبی و شل شدن دم حیوانات و اسهال خفیف قبل از مرگ مشاهده شد، که نشان دهنده اثرات نوروتوکسیک و انتروتوکسیک وروتوکسین۱ است. در بررسیهای به عمل آمده معلوم شد، که هر میلی گرم از سم خالص معادل ۱۰۰۰۰ دز کشنده ۵۰ درصد در موش است.بنابر این ۱۰۰ نانوگرم از وروتوکسین۱ اثری معادل ۵۰ درصد در موش Balb/c ایجاد می کند. مقادیر سم در گروههای مختلف در جدول آورده شده است.

اثر وروتوکسین۱ و منوفسفوریل لیپیدA و اثر توام آنها بر روی تومورهای ایجاد شده در موش:

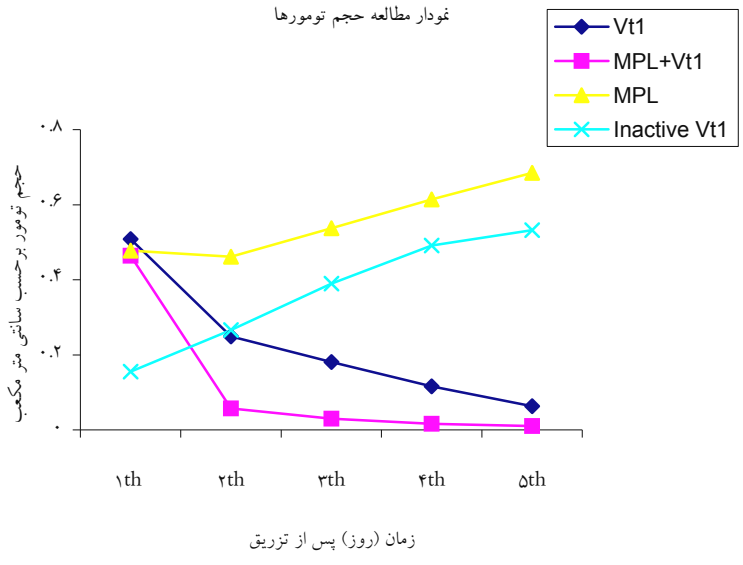
در موشهای تزریق شده با وروتوکسین۱ و توام آن با منوفسفوریل لیپیدA پسرفت شدید تومورها قابل مشاهده بود. به ویژه در روز اول پس از تزریق در گروه سوم که از توام سم با MPL استفاده شده بود. بیش از ۷۰ درصد حجم تومورها کاهش پیدا کردند. بعد از ۳ روز در تومورهای تزریق شده با توام سم و MPL به طور کامل تومورها از بین رفتند. ضمن اینکه با تزریق این مواد موشها به طور واضح افزایش وزن داشتند. در حالی که در موشهای تزریق شده با وروتوکسین۱ غیر فعال شده با حرارت یا MPL نه تنها کاهش حجم تومورها مشاهده نشد، بلکه با افزایش تومورها مواجه بودیم.

در نمودار الگوی کاهش یا افزایش تومورها در گروههای مختلف نشان داده شده است. نمودار بر اساس میانگین حجم تومور ۴ موش تیمار شده در هر گروه است. و شکل نمونه ای از تومورهای تیمار شده در موشها را نشان می دهد.

مطالعه حجم تومورها تا روز پنجم پس از تزریق نشان داد که در موشهای تزریق شده با توام وروتوکسین۱ و MPL به طور واضحی در مقایسه با سایر گروهها کاهش قابل ملاحظه ای در حجم تومورها مشاهده شد. که از نظر آماری با P <۰/۰۰۰۱ معنی دار است. اعداد ذکر شده میانگین گروه± انحراف استاندارد هستند.

جدول: میزان مرگ در موشهای تیمار شده با رقتهای مختلف وروتوکسین۱

رقت وروتوکسین۱	تعداد موش مرده	تعداد موش زنده	فراوانی تجمعی موشهای مرده	فراوانی تجمعی موشهای زنده	درصد مرگ موشها در گروه
۱/۱۰	۵	۰	۱۷	۰	۱۰۰
$۱/۱۰^{۲}$	۵	۰	۱۲	۰	۱۰۰
$۱/۱۰^{۳}$	۵	۰	۷	۰	۱۰۰
$۱/۱۰^{٤}$	۲	۳	۲	۳	٦۰
$۱/۱۰^{٥}$	۰	۵	۰	۸	۰
$۱/۱۰^{٦}$	۰	۵	۰	۱۳	۰

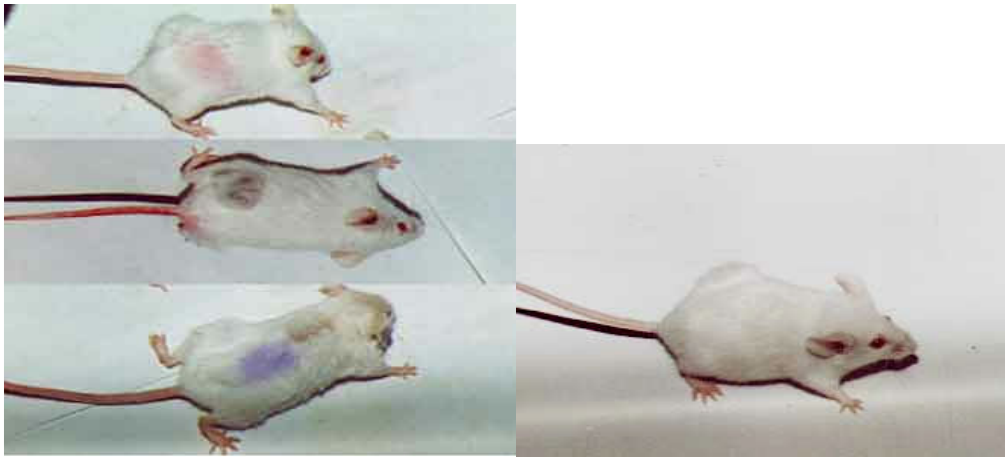


نمودار : اثر توام یا جداگانه منوفسفوریل لیپید A و وروتوکسین۱ بر حجم تومورها

www.SID.ir

Archive of SID

VT1= Verotoxin 1, MPL= Monophosphoryl Lipid A



شکل: موشهای تیمار نشده و تیمارشده

در سمت راست شکل تومور کنترل بدون تیمار و در سمت چپ شکل به ترتیب از بالا به پائین تومورهای تیمار شده با منوفسفوریل لیپیدA، MPL با وروتوکسین۱ بطور توام، و وروتوکسین۱ نشان داده شده اند. کاهش حجم تومورها در دو موش میانی و پائینی در مقایسه با موش تزریق شده با MPL قابل مشاهده است. در موشهای تزریق شده با MPL در مقایسه با کنترل منفی حجم تومورها افزایش نشان می داد.یکی از نکات بارز در مطالعات حیوانی این بود که در موشهایی که ابتدا MPL تزریق شده بود، چند روز بعد با تزریق ۲۰۰ نانوگرم از وروتوکسین۱ حساسیت شدیدی ایجاد شده و همراه با کاهش شدید حجم تومورها همه موشهای گروه از بین رفتند.

بحث

در بسیاری از سرطانهای انسانی سطح Gb_3 (گیرنده وروتوکسین۱) در مقایسه با سلولهای طبیعی افزایش می یابد. حتی در سرطانهای رده سلولی زاینده از جمله کوریوکارسینوما وبیضه ها میزان افزایش Gb_3 از مارکرهای سرطانی شدن آنهاست (٦) افزایش گیرنده سم در سطح سلولهای سرطانی سبب اثر انتخابی وروتوکسین۱ بر روی انواع سلولهای توموری شده است.

Himsley و همکاران در مطالعات پیگیر نشان دادند، که نوعی باکتریوسین نیمه خالص مشتق شده از E.coli HSC10 در شرایط آزمایشگاهی روی رده های مختلف توموری اثر آنتی نئوپلاستیک دارد(۳). همین محققین بعدا ثابت کردند که ماده فعال موثر در باکتریوسین نیمه خالص همان وروتوکسین۱ است، که با تزریق داخل صفاقی آن مانع متاستازهای ریوی ناشی از تزریق سلولهای سارکومای KHT به صورت داخل رگی در موش می شود(۹). محققین نامبرده ۱۰۰-۸۰ میکروگرم از وروتوکسین۱ را معادل LD50 در موش برآورد کرده اند. که طی یک هفته منجر به مرگ موشها شده است(۸). در حالی که در مطالعه حاضر۱۰۰ نانوگرم وروتوکسین۱ به عنوان LD50 تعیین شد. این اختلاف به روشهای تخلیص سم و در نهایت میزان خلوص و ویژگی بیولوژیک آن بستگی دارد.

در سلولهای آستروسیتوما ۱/۵ ساعت پس از تیمار با وروتوکسین ۱ اثرات آپوپتوزیز از جمله چروکیده شدن هسته وتجمع کروماتینها مشاهده می شود، که بسیار سریعتر از داروهای ضدسرطانی است. عدم حساسیت سلولهای اندوتلیال سیستم عصبی بزرگسالان به وروتوکسین ۱ و عدم خونریزی مغزی بدنبال عفونتهای ناشی از اشرشیا کلی های مولد وروتوکسین روده ای وعدم تأثیر سیتوکین ها در تحریک بیان Gb_3 دراین سلولها، از مزایای استفاده از وروتوکسین ۱ در درمان تومورهای مغزی است (٦).. جانسون و همکاران اخیرا با بررسی مکانیسم احتمالی القای آپوپتوزیز ناشی از وروتوکسین۱ روی رده سلولی گلیومای انسانی نشان دادند، که وروتوکسین۱ با تحریک کاسپاز ۹ در رده های سلولی بیان کننده Gb3 سبب مرگ انتخابی آنها می شود(۱۳) Tetaud و همکاران نیز در مطالعه دیگری با تاثیر وروتوکسین۱ روی سلولهای لنفوم بورکیت نشان دادند، که سم با تاثیر بر میتوکندری سلولها و رها شدن سیتوکروم C سبب مرگ آنها می شود(۱۴) آپوپتوزیز از مهمترین فرایندهای سلولی در تمایز وحفظ هوموستاز موجودات پر سلولی واساس طراحی داروهای ضد نئوپلاستی است(۱۵).

در مطالعه Arab و همکاران تزریق داخل توموری وروتوکسین۱به تومور گزنوگرافت سلولهای مقاوم درمان آستروسیتومای انسانی در موشهای برهنه سبب حذف آنها شده است. در این مطالعه که روی بابونها از وروتوکسین۱ استفاده شده است، اثرات سوءناشی از سم گزارش نشده است. تنها در مقادیر بالاتر پاتولوژی مشابه با سندرم اورمی همولیتیک را ایجاد نموده است(٤). Ishitoya و همکاران با تزریق داخل توموری وروتوکسین ۱ در تومورهای القاء شده توسط رده سلولی ACHN در پشت موشهای SCID نشان دادند، که ۷-۵ روز پس از تزریق سم تومورها بطور کامل از بین رفتند(۱۵). Heath و Lingwood نیز

www.SID.ir

Archive of SID

با القای تومورهای مهاجم گزنوگرافت توسط رده سلولی کارسینومای مثانه بر روی موشهای تضیف ایمنی شده نشان دادند، که طول عمر موشهای درمان شده با وروتوکسین۱ در مقایسه با موشهای درمان نشده، بیشتر می شود. در این مطالعه بر اثرات ضد رگ زایی وروتوکسین۱ نیز تاکید شده است(۱۶) حساسیت سلولها به وروتوکسین۱ به سیکل رشد وابسته است. حداکثر حساسیت در مرحله بینابینی G_1/S مشاهده می شود. در سلولهای توموری با مقاومت چند دارویی عموماً ژن bc1-2 وپروتئین مربوطه به عنوان ضد آپوپتوتیک بیان می شود، که سبب نجات آنها از مرگ می شود. جالب توجه است که در سلولهای تیمار شده با وروتوکسین۱ آپوپتوزیز با بیان bc1-2 متوقف نمی شود(٦). در بافتهای متعدد انسانی تومورزایی مستلزم تولید بیش از حد Bc1-2 است. بنابراین تولید Bc1-2 تومورزایی وپتانسیل متاستاز آنها را افزایش می دهد، یکی از نمونه سلولهای توموری رده سلولی MCF-7 است، که Bc1-2 در آن به شدت تولید می شود، و توان تومورزایی بالایی دارد، از طرفی گیرنده سم وروتوکسین۱ در سطح آن به مقدار زیاد بیان می شود. (۱۷) به همین علت از این رده سلولی به عنوان مدل برای ایجاد تومور های بدخیم و حساس به وروتوکسین۱ در این مطالعه استفاده شده است. آنالیز آماری بین گروههای مختلف در این تحقیق نشان داد، که در موشهای تزریق شده با ترکیب MPL و وروتوکسین۱ در مقایسه با گروههایی که MPL ویا وروتوکسین ۱ بتنهایی تزریق شده اند، کاهش حجم تومورها تفاوت معنی داری نشان می دهند($P<۰/۰۰۰۱$). تزریق MPL تا ۵۰ میکروگرم در موشها اثری سمی نداشت. در موشهایی که تومورهای آنها قبلا با ۵۰ میکروگرم به صورت داخل توموری حساس شده بودند، پس از یک هفته با تزریق وروتوکسین۱ اثرات کشنده شدیدی ایجاد شد، که پس از یک روز با فلج اندامهای عقبی و بروز اسهال و بی حالی شدید از بین رفتند. بنظر می آید تزریق اولیه MPL حیوانات را در برابر وروتوکسین۱ حساس می کند، که احتمالا به دلیل تولید سیتوکینهای التهابی است. یا اینکه حساس سازی اولیه سلولها با MPL سبب تسهیل ورود سم به آنها و تشدید سیتوتوکسیسیته می شود. مدل توموری مورد استفاده در این تحقیق با استفاده از سلولهای WEHI-164 در موشهای Balb/c نسبت به تومورهای ایجاد شده در موشهای برهنه و یا تضیف ایمنی شده (۱۸) دارای امتیازات زیر است:اول اینکه تومورهای مهاجم بوده و در نهایت موجب مرگ موش می شود. دوم اینکه با تزریق دقیق زیر جلدی سلولها، تومورهایی ایزوله در سطح زیر پوست ایجاد می شوند، که هر نوع دستکاری آنها را در دسترس قرار می دهد. علاوه بر اینها از نظر اقتصادی بسیار مقرون به صرفه بوده، و در نهایت به دلیل طول عمر زیادتر از تومورهای ایجاد شده در موشهای برهنه زمان انجام آزمایش نیز طولانی تر است. قابل ذکر است، که رده سلولی WEHI-164 در اثر تزریق زیر جلدی ۳–متیل کلانترن در موش Balb/c ایجاد شده است. از این رده سلولی به عنوان مدل برای بررسی اثرات ناشی از برخی عوامل سیستم ایمنی انسان مانند لنفوتوکسین وفاکتور نکروز تومور آلفا استفاده می شود(۱۹).

نتایج این تحقیق با بررسیهای قبلی در مورد سیتوتوکسیسیته وروتوکسین۱ برای بسیاری از سلولهای سرطانی انسانی از جمله رده های توموری پستان همخوانی دارد(۷–۳). نتایج نشان می دهد، که وروتوکسین۱ می تواند به عنوان یکی از مواد بالقوه سیتوتوکسیک انتخابی علیه طیف وسیعی از تومورهای انسانی مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این مشتق غیر سمی لیپوپلی ساکارید سبب تشدید اثر سیتوتوکسیک آن بر روی تومورهای فیبروسارکوما در موش می شود. زیرا با توجه به افزایش بیان گیرنده سم به ویژه در سطح سلولهای متاستازی در مقایسه با انواع داروها ی ضد توموری, تنها یکبار استفاده داخل توموری از این سم به همراه منوفسفوریل لیپیدA می تواند اثرات مفیدی در بر داشته باشد, که لازم است در الگوهای in vivo نیز مورد بررسی و مطالعه بیشتری قرار گیرد.

References

1. Antonescu CR, Erlandson RA, Huvos AG. Primary fibrosarcoma and malignant fibrous histiocytoma of bone--a comparative ultrastructural study: evidence of a spectrum of fibroblastic differentiation. *Ultrastruct Pathol* 2000; **24**(2):83-91.
2. Al- Mefty, Kersh JE, Routh A, Smith RR. The long-term side effects of radiation therapy for benign brain tumors in adults**.** *J Neurosurg* 1990; **73**(4): 502-12.
3. Hill R P, Farkas-Himsley H. Further studies of the action of a partially purified bacteriocin against a murine fibrosarcoma.*Cancer Research* 1991; **51**: 1359-65.
4. Arab S, Rutka J, Lingwood C. Verotoxin induces apoptosis and the complete, rapid, long-term elimination of human astrocytoma xenografts in Nude mice. *Oncology Research* 1999; **11**: 33-39.
5. Salhia b, Rutka JT, Lingwood C, Nutikka A, Van Furth WR. The treatment of malignant meningioma with verotoxin. *Neoplasia*. 2002; **4**(4): 304-11
6. Arab S, Murakami M. Driks P, Boyd B, Hubbard S, Lingwood C A, Rutka J. Verotoxins inhibit the growth of and induce apoptosis in human astrocytoma cells. *J Neurol Oncol* 1998; **40**:137-50.
7. Arbus G S, Grisaru S, Segal O, Dosch M, Pop M, Lala P, Nutikka A, Lingwood C A. Verotoxin targets lymphoma infiltrates of patients with post-transplant lymphoproliferative disease. *Leuk Res* 2000; **24**(10): 857-64.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Farkas-Himsley H, Hill R, Rosen B, Arab S, lingwood C A. The bacterial colicin active against tumor cells in vitro and in vivo is verotoxin1.*Proc Natl Acad Sci USA* 1995; **92**:6996-7000.
9. Chikara O, yasuo F, Makoto S, Seiichi S, Seiichi O, Edward N, Mark S, Sen-itiroh H. Changes in glycolipid expression in human testicular tumor *Int J cancer* 1990; **45**:1040-44.
10. Lingwood C A, Khine A A, Sara A. Globotria osyl ceramide (Gb3) expression in human tumor cells:Intracellular trafficking defines a new retrograde transport pathway from the surface to the nucleus, which correlates with sensitivity to verotoxin. *Acta Biochim Pol* 998; **45**(2):351-59.
11. Vince M, Wolski A M, Soltyk J, Brunton L. Mouse toxicity and cytokine release by verotoxin1 B subunit mutants. *Infection and Immunity* 2001; **69**(1): 579-83.
12. Gaspari A, Moro M, Curnis F, Sacchi A, Pagano S, Veglia F, Casorati G. Tumor pretargeting with avidin improves the therapeutic index of biotinylated tumor necrosis factor α in mouse models. *Cancer Research*1999; **59**:2917-23.
13. Johansson D, Johansson A, Grankvist K, Andersson U, Henriksson R, Bergstrom P, Brannstrom T, Behnam-Motlagh P. Verotoxin-1 induction of apoptosis in Gb3-expressing human glioma cell lines**.** *Cancer Biol Ther* 2006; **5**(9):1211-7.
14. Tetaud C, Falguieres T, Carlier K, Lecluse Y, Garibal J, Coulaud D, Busson P, Steffensen R, Clausen H, Two distinct Gb3/CD77 signaling pathways leading to apoptosis are triggered by anti-Gb3/CD77 mAb and verotoxin-1**.** *J Biol Chem* 2003; **278**(46): 45200-8.
15. Ishitoya S, Kurazono H, Nishiyama H, Nakamura E, Kamoto T, Habuchi T, Terai A, Ogawa O, Yamamoto S, Verotoxin induces rapid elimination of human renal tumor xenografts in SCID mice. *J urol* 2004; **3**:1309-13 .
16. Heath-Engel HM, Lingwood CA. Verotoxin sensitivity of ECV304 cells in vitro and in vivo in a xenograft tumor model: VT1 as a tumor neovascular marker. *Angiogen*sis 2003; **6**(2):129-41.
17. Eduardo V, Maximino R, Isabel R, Julian G, Eduardo A, Alfred M. Bcl-2 expression and apoptosis in primary and metastatic breast carcinomas.*Tumor boil* 2000; **22**:137-45.
18. Lacase E C, Bary M R, Ptterson B, Lim W-M, Perampalam S, Radvanyi L G, et al. Shiga –Like toxin1 receptor on human breast cancer, lymphoma, and myeloma and absence from CD34+ hematopoietic stem cells:Implications for ex vivo tumor purging and autologous stem cell transplantation *Blood* 1999; **94** :2901-10.
19. Daniel H S, Lee J PM, Gareth R T, Elizabeth W, Richard K P. Tepoxalin enhances the activity of an antioxidant, pyrrolidine dithiocarbamate, in attenuating tumor necrosis factor α-induced apoptosis in WEHI 164 cells. *The J Of Pharmacol & Experimental Therapeutic* 1999; **289**: 1465- 71.

www.SID.ir