

منحنی رویش تو مورارلیخ

دکتر حبیب‌الله ایزدیان * دکتر خسرو زرین *

مقدمه

اکثرأ پزشکان غیر متخصص در سرطان یا اشخاصی که دارای اطلاعات کمی از پزشکی هستند به دلالتی معتقد میشوند که مثلاً فلان ماده شیمیائی دارای خاصیت ضد سرطانی است و مایلند بسرعت فکر خود را تحقیق کنند. باروشهائی که فعلاً در آزمایشگاههای مربوط به سرطان وجود دارد اینکار با این سهولت میسر نیست در صورتیکه با روشی که در این مقاله نگاشته شده این مشکل تا اندازه ای مرتفع شده است. عموماً در تحقیقات مربوط به سرطان، تحقیق درباره دو دسته (مواد شیمیائی یا پدیده‌های فیزیکی) بکار میرود در یک دسته اثرات متوقف کننده رشد سلولهای سرطانی و در دسته دیگر عوامل پرموتور (تهییج کننده) مورد مطالعه قرار میگیرد و برای این تحقیقات عموماً از منحنی رویش سلولهای سرطانی که در اکثر مواقع برای سهولت کار آنها را بشکل اسیتی (که در مایع صفاق میتوانند رویش کنند) در میآورند باین طریق که پس از تزریق تعداد معینی از سلولهای سرطانی و ماده مورد نظر در مایع صفاق موش در روزهای بعد از تزریق تمام مایع صفاقی را با سرنگ خارج کرده و تعداد سلولها را معین میکنند و از روی مقایسه این تعداد با تعدادیکه از موشهای شاهد (که فقط سلولهای سرطانی در آنها تزریق شده) بدست آمده اثر ماده را تعیین میکنند. در بعضی موارد ضرب رویش سلولها از راه مدت زندگی موشهای حامل سرطان انجام

میگیرد [۳] و بالاخره در بعضی موارد دیگر از راه توزین مستقیم سلولهای جامد سرطانی رویش تعیین میشود [۱۰]. این روشها دارای معایبی [۳] است بقرار زیر:

۱- برای تعیین میزان رویش در هر روز موش جداگانه از آن لازم است که علاوه بر طولانی شدن اندازه گیری خطاهائی بعلت اختلاف شرایط فیزیولوژیکی موشهای مختلف وارد محاسبه میشود.

۲- برای تعیین تعداد سلولها در روزهای مختلف علاوه بر اینکه تمام دستگاههای اندازه گیری آلوده میشود خطاهائی نیز از راه شمارش که در حدود اقلاً ۱۵٪ است وارد محاسبه میگردد.

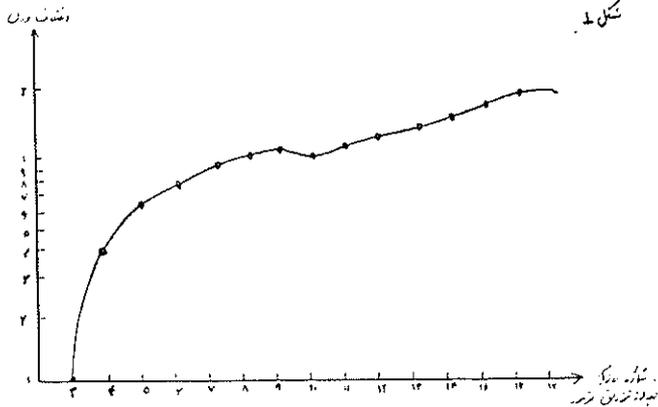
۳- عیب مهمتر از همه آنکه مقداری از سلولهای سرطانی از ۲۴ ساعت بعد از تزریق بسایر اعضا مهاجرت میکنند و در محاسبه وارد نمیشوند [۶].

و بالاخره در قسمتهای آخر منحنی رویش که بشکل پلاتو است از راه شمارش، نتایج همیشه یکسان نیست مثلاً بعضیها در این قسمت منحنی را موازی محور Xها و بعضیها دارای شیب مثبت و بالاخره بعضی با شیب منفی بدست آورده اند [۹ و ۷ و ۳ و ۱].

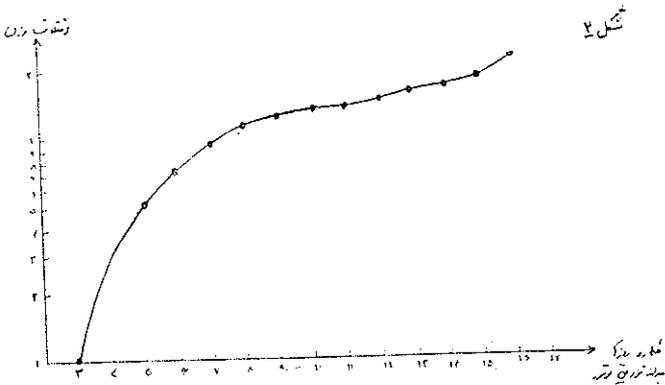
در این مقاله روش جدیدی شرح داده شده که معایب فوقی را ندارد یعنی از راه توزین موشهای تزریق شده و شاهد تعداد سلولها در روزهای مختلف تعیین میشود و منحنی رویش

* انستیتو تاج پهلوی - با همکاری فنی و نگارشی خانم فاطمه مازوجی و خانم شمسی جلوخانی

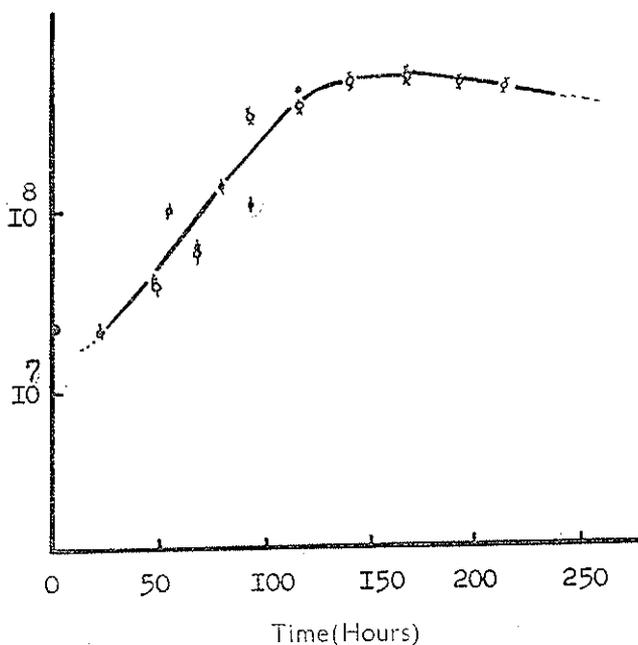
آمده بخوبی روشن میشود که هم راه توزین ساده تر و آسان تر است و هم منحنی بدست آمده از آن به حقیقت نزدیکتر. تابلوی شماره ۱ و منحنی ها نشان میدهند که ترسیم منحنی رویش از راه وزن حتی از راه اندازه گیری حجم کل اسیت دقیقتر و متناسب شکل ۱.



منحنی رویش تو مورارلیخ که از میانگین توزین ۱۱ موش حامل تو مور بدست آمده



منحنی رویش تو مورارلیخ که از میانگین توزین ۲ موش حامل تو مور بدست آمده



۱- منحنی تو مورارلیخ از Y. Maruyama [۶]

با کمال سهولت حتی بدست اشخاص غیر مجرب بدست می آید و دارای خطای ذکر شده در بالا نیست.

بطوریکه با کمال سهولت میتوان در چند روز و بوسیله چند موش تعیین کرد که آیا ماده ای شیمیائی یا روشی فیزیکی دارای خاصیت متوقف کننده (Inhibiteur) یا تهییج کننده (Promoteur) هست یا نیست.

روش محاسبه نقاط منحنی رویش تو مور بوسیله توزین

وسایل

در این آزمایش از تو مور مایع ارلیخ جهت محاسبه منحنی رویش استفاده شد.

این تو مور در این آزمایشگاه بطور مداوم از راه پاساژ مایع صفاتی ۱۴ روزه از موش تزریق شده از تاریخ ۱۳۴۳ تا کنون نگهداری شده است.

در این آزمایشها جمعاً ۱۵ موش ۲-۳ ماهه بکار رفته (البته تعداد موشهایی که با آزمایش جواب نداده اند به حساب نیامده است). موشها همگی Non Inbred بوده اند.

چگونگی کار

در هر آزمایش تعدادی موش هم سن - هم وزن و هم جنس انتخاب گردید. و در تمام آزمایشها موشی بعنوان کنترل در نظر گرفته شده که کاملاً با حیوان مورد آزمایش در شرایط یکسان قرار داشته است. ابتدا بد حیوان مورد نظر بستداریک سانتیمتر مکعب از تو مور مایع ارلیخ که محتوی تقریباً ۶ میلیون سلول تو موری است بطریق داخل صفاتی تزریق شده آنگاه موش کنترل و موش حامل تو مور هر یک در قسمتهای جدا تحت یک شرایط قرار داده شدند. هر روز صبح قبل از خوردن صبحانه توزین بعمل آمده و اختلاف وزن حیوان حامل تو مور و کنترل یادداشت گردیده (مطابق تابلوی ۱ و ۲) بعد از اتمام آزمایشها از این اختلاف وزنها معدل گرفته شده و منحنی با این اختلاف وزنها رسم گردیده است.

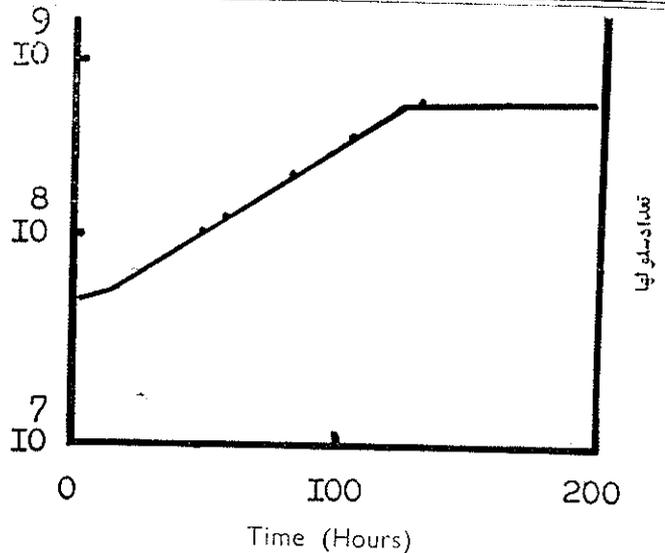
نتایج بدست آمده

نتایج بدست آمده از آزمایش فوق در منحنی شماره ۱ نشان داده شده است.

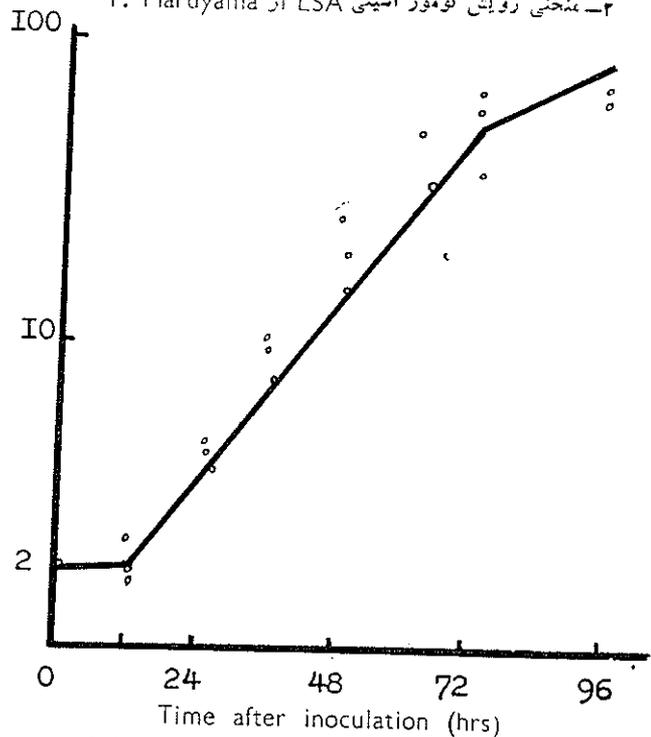
برای احتیاط منحنی از میانگین اختلاف وزن ۱۱ موش حامل تو مور و شاهد های مربوطه در شکل ۱ نمایش داده شده است. گرچه مطابق شکل ۲ حتی برای دو موش هم منحنی کاملی بدست می آید. علت افت در روز دهم منحنی ۱ مربوط است به روز جمعه (که یک وعده غذا از برنامه معمولی حذف شده است) چنانچه در منحنی مربوط بدو موش که این اشکال وجود نداشته افتی مشاهده نشد. با مقایسه این منحنی ها و چند منحنی دیگر (صفحه بعد) که بر روش محاسبه سلولها بدست

تابلوی ۱- تابلوی مربوط به میانگین اختلاف وزن ۱۱ موش توموری وشاهدهای مربوط به آنها :

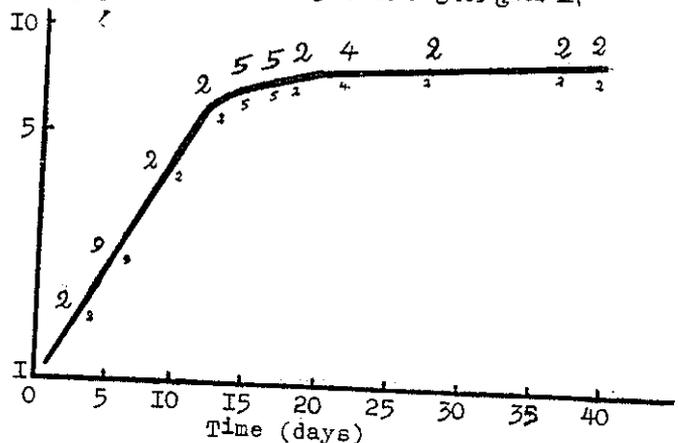
شماره روزها	میانگین وزن ۱۱ موش آوهوری	میانگین وزن ۱۱ موش شاهد	میانگین اختلاف وزن
۱	۲۶/۵	۲۶/۵	۰
۲	۲۶/۵	۲۵	۱/۵
۳	۲۹	۲۸	۱
۴	۳۱	۲۷	۴
۵	۳۵	۲۸/۵	۶/۵
۶	۳۶	۲۸	۸
۷	۳۸	۲۸	۱۰
۸	۴۰	۲۸	۱۲
۹	۴۴/۵	۳۰	۱۴/۵
۱۰	۴۰	۲۸	۱۲
۱۱	۴۵	۲۹	۱۶
۱۲	۴۶	۲۸/۵	۱۷/۵
۱۳	۴۷/۵	۲۸	۱۹/۵
۱۴	۴۹/۵	۲۸/۵	۲۱
۱۵	۵۳	۳۰	۲۳
۱۶	۶۰	۳۲	۲۸
۱۷	۵۹/۵	۳۱/۵	۲۸



۲- منحنی رویش تومور اسپتیی از LSA از Y. Maruyama



۳- منحنی رویش تومور ارلیش از W Sawicki [9]



کاملتر است بنابراین بنظر میآید که اگر محققین از این به بعد برای تعیین منحنی رویش بروشی که در این مقاله شرح داده شده عمل کنند تحقیقات آنها مزایای زیر را نسبت بروشهایی که تا کنون متداول بوده است دارا خواهد بود :

۱- روش ترسیم فوق العاده آسان است و تنها با صرف چند دقیقه وقت در روز میتوان منحنی رویش را با دقت شاید بیشتر از سایر روشها بدست آورد .

۲- مزیت مهمتر آنکه در این روش بهیچوجه دستگاههای اندازه گیری آلوده به سلولهای سرطانی نمیگردد و هیچگونه لزوم رعایت استریلیزاسیون پیش نمیآید .

۳- اسباب اندازه گیری در این روش تنها یک ترازوست در صورتی که در روشهای دیگر اسبابهای مختلفی لازم است .

۴- برای بدست آوردن منحنی اشخاص مجرب لازم نیست و حتی یک تکنیسین معمولی آزمایشگاه میتواند هر روز با توزین نقاط منحنی را تعیین کند .

۵- وبالاخره مزیت مهمتر از همه این روش آنست که در حقیقت تنها تعداد سلولهای سرطانی در سه مرحله رویش بوسیله

۴- منحنی رویش تومور ارلیش در میکروشامبر Rigby [۲]

تابلوی ۲- تابلوی مربوط به میانگین اختلاف وزن موش توموری و شاهد های مربوط به آنها:

شماره روزها	میانگین وزن موش توموری	میانگین وزن موش شاهد	میانگین اختلاف وزن
۱	۳۱	۳۱	۰
۲	۳۵/۵	۳۲	۱/۵
۳	۳۳	۳۲	۱
۴	-	-	-
۵	۳۶	۳۱	۵
۶	۳۸	۳۱	۷
۷	۴۱	۳۲	۹
۸	۴۵	۳۲/۵	۱۲/۵
۹	۴۸/۵	۳۵	۱۳/۵
۱۰	۴۷/۵	۳۲	۱۵/۵
۱۱	۴۹	۳۵/۵	۱۵/۵
۱۲	۵۱	۳۳	۱۸
۱۳	۵۳	۳۳	۲۰
۱۴	۵۴	۳۴	۲۰
۱۵	۵۷	۳۵/۵	۲۲/۵
۱۶	۶۲	۳۴	۲۸

تعیین اختلاف وزن بدست میآید و بطور اتماتیک تعداد سلولهای غیر توموری اولیه در ضمن تعیین اختلاف وزن شاهد و حیوان حامل تومور از بین میرود.

و سرانجام اگر واقعاً اثراتی از قبیل مهاجرت باعضای دیگر یا کاهش سنتز و یا کم شدن سرعت رویش در اثر بزرگ شدن تومور و یا عوامل متعدد دیگر رخ دهند از روی منحنی حاصل بهتر میتوان باین اثرات پی برد.

بحث

از منحنی های رویش بدست آمده چنین نتیجه میشود که رویش از سه مرحله تشکیل شده است.

مرحله اول - سرعت رویش کم و طبق سایر منحنی هایی که توسط سایر محققین از راه های مختلف بدست آمده اصولاً تا روز سوم یا چهارم منحنی کاملاً دقیق بدست نمیآید اما در مرحله دوم تغییرات منحنی کاملاً لگاریتمی است (با شیب زیاد) ولی در مرحله سوم باز هم منحنی نمایش رویش سلولها مستقیم نبوده و دارای شیب کمتری است یعنی در این قسمت برخلاف نظریه سایر محققین که از راه های دیگر منحنی را بدست آورده اند بهیچوجه منحنی با محور Xها کاملاً موازی نیست (برعکس) در این قسمت نتایج کارهای ما با نتایج کارهای دکتر مارویاما

(Yosh Maruyama) [۶] که از راه استفاده ایزوتوپها منحنی رویش را مطالعه کرده تا اندازه ای مطابقت دارد. این محقق ضریب رویش را در حفره صفاق برای قسمت دوم یعنی لگاریتمی حدود ۳۵ و برای قسمت سوم ۲۵ بدست آورده است). خلاصه طبق منحنی ما بزرگترین اشکال تعیین منحنی صحیح از بین رفته است زیرا بطریقی توزین موضوع مهاجرت و وجود یا عدم پلاتو باکمال وضوح روشن شده است و میتوان تقریباً باکمال اطمینان گفت که اولاً پلاتو به آن معنائی که در اکثر کارها از راه شمارش بدست آمده وجود ندارد بلکه در مرحله آخر رویش تنها شیب منحنی کم میشود و اگر در این آزمایش مهاجرتی هم در بین بوده اثر آن یخوبی در اندازه گیری وارد شده است. بنابراین باید گفت که بر خلاف عقیده بیشتر محققین که مرحله سوم را پلاتو میدانند و نیز برخلاف عقیده دکتر Yosh که معتقد است در تمام مدتی که موش زنده است رویش لگاریتمی انجام میگیرد (منتها بعلافت اینکه از ۲۴ ساعت بعد از تزریق مهاجرت بتمام اعضاء شروع میشود عملاً در این فاز منحنی لگاریتمی بدست نمیآید)، طبق آزمایش ما در اواخر رویش کاهش واضحی در سرعت آن پیدا میشود که با احتمال قوی مربوط خواهد بود بسایر علل فرعی نه مهاجرت که در بالا اشاره شد مخصوصاً با توجه به تحقیق مارویاما [۵] که محاسبه تنها در میکرو شامبر انجام گرفته و بهیچوجه خروج سلولها و مهاجرت آنها در این آزمایش امکان ندارد باز هم در مراحل آخر رویش شیب منحنی کم می شود و شاید بتوان گفت که کم رسیدن غذا یا مرگ سلولها یا سایر عوامل باعث میشوند که در مراحل آخر منحنی رویش لگاریتمی نباشد.

خلاصه

در اکثر تحقیقاتی که درباره سلولهای سرطانی انجام می گیرد از منحنی رویش این سلولها استفاده میشود و این منحنی را از راه شمارش سلولهای سرطانی که هم مشکل وهم خطاهای زیادی در بردارد بدست میآورند. در این نوشته روش جدیدی جهت بدست آوردن این منحنی معرفی شده که اولاً ساده تر و ثانیاً در عین حال خطاهای آن کمتر است.

برای بدست آوردن منحنی از این راه دو دسته موش بکار رفته که هر دو دسته ۳-۲ ماهه بوده اند و وزن آنها با تقریب یک گرم با هم برابر انتخاب شده اند. در یک دسته یک سانتی متر مکعب از محلول سلولهای سرطانی ارلیخ که شامل یک میلیون سلول بوده در مایع صفاق تزریق گردیده و دسته دوم بعنوان شاهد انتخاب شده است. غذای هر دو گروه و سایر شرایط نگهداری کاملاً یکسان بوده هر روز صبح موشهای هر دو دسته توزین گردیده و اختلاف وزن آنها تعیین شده است. از میانگین این اختلاف - وزن تومور در روزهای مختلف معین شده است

۳- برای این آزمایش اشخاص مجرب لازم نیست .
و بالاخره مهمتر از همه آنکه تردیدی که در قسمت
سوم منحنی (قسمت پلاتو) در سایر روشها پیش میآید در
این روش وجود ندارد .

تشکر

از جناب آقای دکتر مجتبیائی ریاست محترم انستیتو
تاج پهلوی که تسهیلات لازم را جهت این آزمایش فراهم
نموده‌اند تشکر فراوان مینماید .

و در نتیجه منحنی رویش ساولهای اریخ در روزهای بعد از
تزریق در مایع حنّاق بدست آمده است . مقایسه منحنی بدست
آمده با منحنی های دیگری که باروش شمارش تعیین شده نشان
میدهد که دقت این منحنی کمتر از آنها نبوده وبعلاوه دارای
مزایای زیر است :

- ۱- روش ترسیم فوق العاده آسان است .
- ۲- در این روش بهیچوجه دستگاههای اندازه گیری
آلوده نمیشوند .

REFERENCES

- 1- Burns. E R., *Cancer Research*. 28: 1191, 1968.
- 2- Breneman. M., et al.: *Brit J. Cancer*, 22: 1, 1968.
- 3- D' Suit. H., *Amer. J. Roentgenology*. 22: 389, 1969.
- 4- Monti - Bragadin, C., et al.: *Europ J. Cancer*. 4: 255, 1968.
- 5- Maruyama. Y., *Nature*. 22: 1181, 1963.
- 6- Maruyama. Y. et al., *Growth*. 30: 453, 1966.
- 7- Merriam. G R , *Radiology*. 91: 694, 1968.
- 8- Moor. J., *Europ. J. Cancer*. 4: 81, 1968.
- 9- Sawicki. W , et al., *Polonaise des Sciences*, Cl. VI. - Vol. XV, No.3, 1967.
- 10- Takeuchi J., *Cancer Research*, 28: 1520, 1968.