لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۳، دوره ۱۱، شماره ۱ و ۲، صفحات: ۸-۲.

مقاله پژوهشی

مطالعهٔ اثر ترکیب گیاهی Gossypol بر حساسیت سلول‌های توموری گلیوبلاستوما به پرتودرمانی به‌روش سنجش کلونی‌زایی

هدا کشمیری نقاب [۱]
بهرام گلیایی [۲]
علیرضا نیکوفر [۳]

خلاصه

مقدمه: گلیوبلاستوما بدخیم‌ترین و معمول‌ترین فرم تومورهای سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. گرچه گلیوبلاستوما به نقاط دوردست متاستاز نمی‌دهد، ولی به‌دلیل حساسیت مکان تومور، جراحی در بسیاری از موارد امکان‌پذیر نمی‌باشد. پرتودرمانی روشی مناسب و مفید جهت مقابله با این نوع تومور می‌باشد که می‌تواند پس از جراحی جهت از بین بردن سلول‌های باقی‌مانده یا به‌تنهایی مورد استفاده قرار گیرد ولی اغلب تومورهای گلیوبلاستوما مقاومت پرتویی بالایی از خود نشان می‌دهند. بنابراین تلاش برای یافتن ترکیبات بیولوژیکی که پاسخ سلول‌های توموری را به پرتو افزایش دهند، اثربخشی پرتودرمانی را بهبود می‌بخشد. هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی اثر ترکیب گیاهی گاسیپول بر پاسخ سلول‌های توموری گلیوما به پرتو در ردهٔ سلولی U-87 MG می‌باشد.

روش بررسی: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از تست تریپان‌بلو و کلونی‌زایی با دارو، غلظت ۱ Mμ که حداقل تأثیر را برروی Viability و کلونی‌زایی داشت، برای انجام سایر تست‌ها انتخاب گردید. پس از یافتن غلظت مناسب دارو، تست کلونی‌زایی در حضور دارو و دوزهای مختلف پرتو (۲، ۴ و ۶ گری)، هریک به‌تنهایی و تیمار ترکیبی از آن‌ها انجام گرفت. ردهٔ سلولی U-87 MG از سلول‌های آستروسیت (نوعی سلول گلیال یا پشتیبان) گلیوبلاستومای بدخیم انسانی جدا شده است. این ردهٔ سلولی از انستیتو پاستور ایران تهیه شده است.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در تیمارهای ترکیبی (پرتو +گاسیپول) درمقایسه با تیمارهای تنها، توانایی کلونی‌زایی سلول‌های توموری گلیوبلاستوما به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. ازسوی‌دیگر داده‌های حاصل از منحنی بقا، واکنش میان گاسیپول و پرتو را به‌صورت سینرژیسم نشان می‌دهد بدین‌معنی که اثر گاسیپول به‌همراه پرتو در کاهش کسر بقا از مجموع اثر هریک به‌تنهایی بیشتر است.

نتیجه‌گیری: از مهم‌ترین دلایل مقاومت پرتویی سلول‌های گلیوما می‌توان بیان بالای پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک را ذکر نمود که مهار این پروتئین‌ها توسط گاسیپول سبب افزایش پاسخ این سلول‌ها به پرتو گردیده است.

واژه‌های کلیدی: گاسیپول، گلیوبلاستوما، پرتودرمانی، تست کلونی‌زایی

۱. عضو گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی جهاددانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران. دانشجوی دکتری بیوفیزیک، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲. استاد گروه بیوفیزیک، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳. استادیار گروه رادیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

نویسنده مسئول: بهرام گلیایی، تلفن ۶۱۱۱۳۳۵۶
پست الکترونیک: goliaei@ibb.ut.ac.ir

[Downloaded from icml.ir on 2026-07-06]

مقدمه

تومورهـای گلیوبلاسـتوما مولتی‌فرم بدخیم‌تریـن و تهاجمی‌ترین فرم گلیوما می‌باشـد که با توجه به تمام پیشـرفت‌هایی کـه در زمینهٔ درمان ایـن نوع تومور انجام گرفته اسـت، میـزان بقاء در بیماران مبتلا بسـیار پایین و حداکثر یک سـال پس از تشـخیص است. درمان استاندارد برای گلیوبلاسـتوما مولتی‌فرم شـامل حداکثر برداشـت تومور توسط جراحی و به‌دنبـال آن رادیوتراپـی بین ۲ تـا ۴ هفته بعد از عمـل جراحی برای ازبین‌بردن تومور اسـت. مطالعات انجام‌شده نشـان داده‌اند که تومورهای گلیوبلاسـتوما مقاومت پرتویی بالایی از خود نشان می‌دهند[۱]. بنابراین کاربرد ترکیباتی که سبب افزایش پاسخ این تومورها به عوامل پرتودرمانی می‌شـود در درمـان این تومـور اهمیت بسـیار زیادی دارد. گاسـیپول ترکیب پلی‌فنولیک زرد رنگی اسـت که در غـدد رنگدانهٔ گیاه پنبه یافت می‌شود. گاسـیپول در رنگیزه‌ها ترشح می‌شود و گیاه را در مقابل عوامل استرس‌زای محیط از قبیل حشرات، بیماری‌های گیاهی، شرایط نامساعد آب و هوا و اشـعهٔ ماورای بنفش خورشـید محافظت می‌کند. این ترکیب دارای خواص بیولوژیکی متعددی اسـت که ازجملهٔ آن می‌توان به فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدسـرطانی، ضدباکتریایی و ضدویروسی اشاره کرد[۲]. به‌دنبـال ثابت شـدن اثر ضد توموری گاسـیپول در محدودهٔ وسـیعی از تومورها، اثرهای حسـاس‌کنندگی پرتویی و افزایش‌دهندهٔ پاسخ پرتویی، مورد توجه محققان و به‌ویژه رادیولوژیست‌ها قرار گرفت.

اگرچـه مکانیسـم‌های بیوشـیمیایی حسـاس‌کننده‌های پرتویی مانند گاسـیپول کاملاً شـناخته شده نیسـت ولی مطالعات نشـان داده‌اند که این عوامـل در واکنش با پروتئین‌هـای آنتی‌آپوپتوتیک مانند Bcl-2 و Bcl-XL می‌باشـند. پروتئین‌های ضدآپوپتوزی که در غشـای خارجی میتوکنـدری قرار دارند و در حفـظ تمامیت غشـایی میتوکندری نقش دارند به‌محض وارد شـدن اسـترس اکسـیداتیو از قبیل پرتـو یونیزان و یا بروز سـیگنال مرگ، پروتئین‌های پروآپوپتوزی به شـکاف هیدروفوب پروتئین‌هـای ضد آپوپتوز متصل می‌شـوند، آن‌ها را غیـر فعال می‌کنند و باعث القاء آپوپتوز می‌شـوند. گاسـیپول مهارکننـدهٔ پروتئین‌های ضد آپوپتوزی و درنتیجه القاءکنندهٔ آپوپتوز می‌باشـد[۳]. مطالعات انجام‌شده در این زمینه نشـان می‌دهد کـه پروتئین‌هـای آنتی‌آپوپتوتیک خانوادهٔ Bcl-2 عـلاوه بـر آپوپتوز، اتوفـاژی را نیز مهار می‌کننـد. اتوفاژی یک فرآیند چندمرحله‌ای اسـت که به‌شدت توسط ژن‌های Atg و Baclin 1 کنتـرل می‌شـود و یافته‌هـای اخیر نشـان می‌دهد کـه پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک علاوه بر پروتئین‌های پروآپوپتوتیک می‌توانند با پروتئین Atg 6/Baclin 1 کمپلکس تشـکیل دهند و تشـکیل و عدم تشکیل ایـن کمپلکـس عامل مهمی در تنظیـم و تعدیل اتوفاژی ناشـی از پرتو می‌باشد[۶-۴].

درنتیجه گاسیپول که مهارکنندهٔ پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک می‌باشد، آپوپتـوز و اتوفاژی را تسـهیل می‌کنـد. در بسـیاری از تومورها ازجمله گلیوبلاستوما، نقص در مسیر سیگنالینگ آپوپتوز و بیان بالای پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک باعث مقاومت این تومورها به آپوپتوز ناشی از پرتودرمانی و شـیمی‌درمانی می‌شـود درنتیجه گاسـیپول می‌تواند در شـرایطی که آپوپتوز غیرفعال اسـت، منجر به مرگ سـلولی اتوفاژی شود[۷]. ازطرفی کاهش بقای کلونی‌زایی سلول‌ها تحت تأثیر عوامل مختلفی از قبیل مرگ آپوپتوزی، نکروزی و یا اتوفاژی اسـت. بدین‌ترتیب گاسیپول با القاء مرگ سلولی اتوفاژی باعث کاهش توانایی کلونی‌زایی می‌شود. یکی از روش‌های شناخته‌شـده و قابل اعتماد در مطالعات رادیوبیولوژیکی، روش سـنجش توانایی کلونی‌زایی اسـت. توانایی سلول برای رشـد به‌صورت یک کلونی دلیل قابل قبولی برای حفظ قابلیت تولید مثل آن اسـت. باتوجه به اینکه بعد از تیمار سـلول‌ها فقط بخشـی از سـلول‌های کشت‌داده‌شده توانایی تولیـد کلونـی را در خود حفـظ می‌کنند، این روش سـنجش یک روش انتخابی بـرای تعیین مرگ تولید مثلی بعد از تیمـار با پرتوهای یونیزان می‌باشد[۸]. گلیوبلاسـتوما مولتی‌فرم کشنده‌ترین نوع تومور مغزی است و درحال‌حاضـر درمان قطعی برای آن وجود نـدارد. با توجه به اینکه در مطالعات کلینیکی فاز I هیچ‌گونه اثر سمی و جانبی در غلظت‌های پایین این ترکیب در انسـان مشاهده نشده‌اسـت و همچنین با توجه به قابلیت عبور این ترکیب از سـد خونـی مغزی، این ترکیـب می‌تواند در کاهش مقاومت پرتویی تومورهای گلیوبلاستوما مؤثر باشد. بر همین اساس هدف از مطالعهٔ حاضر بررسـی توانایی حسـاس‌کنندگی پرتویی یک متابولیت مهم به‌نام گاسـیپول در ردهٔ سـلولی تیپیک گلیوبلاستوما بدخیم انسانی به‌نام U-87 MG می‌باشد.

روش بررسی

کشـت تـک لایـه: ردهٔ سـلولی مـورد اسـتفاده در ایـن مطالعـه U-87 MG از سلول‌های آستروسیت (نوعی سلول گلیال یا پشتیبان) گلیوبلاسـتومای بدخیم انسانی جدا شـده و از انستیتو پاستور ایران تهیه شـده اسـت که در محیط کشـت RPMI (Gibco) حاوی پنی‌سیلین (۵۰۰u/mL) (Sigma)، استرپتومایسـین (۲۰۰ ug/mL) (جابربـن حیـان، تهـران)، ۱۰ درصد سـرم جنیـن گاوی (Gibco) و ۰/۲۲گرم $NaHCO_3$ (Merck)کشـت داده شده است. سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سـانتی‌گراد و ۵ درصد Co_2 و اشـباع از رطوبت نگهداری شـدند. جهت تریپسینه‌کردن سـلول‌ها از محلول ۰/۲۵ درصد تریپسین و ۰/۰۳ درصد EDTA در بافر نمکی فسفات استفاده شد.

تعیین غلظت بهینهٔ گاسـیپول با استفاده از تست تریپان‌بلو: سلول‌های U-87 MG بـا چگالـی ۶۰۰۰ Cell/well در هـر چاهـک از پلیت ۹۶ خانه‌ای کشـت داده شـدند. تیمارهای گاسـیپول (با داشتن کنترل بـدون تیمار و کنترل DMSO) با غلظت‌های نهایی ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰و ۱۵۰ میکرومولار اعمال شـدند. لذا پس از ۴۸ سـاعت تیمار با گاسیپول،

[Downloaded from icml.ir on 2026-07-06]

تریپان‌بلو افزوده شد و سلول‌های زنده در ۲۰۰ سلول شمارش شدند. سنجش توانایی کلونی‌زایی سلول‌های U-87 MG درحضور گاسیپول: پس از تعیین غلظت مناسب از دارو با تست تریپان بلو، در این مرحله توانایی کلونی‌زایی سلول‌ها در حضور غلظت‌های متفاوت دارو (۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار) بررسی می‌شود. بدین‌منظور تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر سانتی‌مترمربع در فلاسک یا پتری کاشته می‌شود و پس از اینکه سلول‌ها به فاز لگاریتمی رسیدند محیط رویی سلول‌ها دور ریخته‌شدند و با غلظت‌های متفاوت دارو به‌مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. سپس سلول‌ها تریپسینه و شمارش می‌شوند و بعد از آن تعداد متفاوتی از سلول‌ها در پلیت‌های ۶۰ میلی‌متری کشت داده شد و پس از ۹ روز انکوباسیون تعداد کلونی‌ها و راندمان کشت محاسبه گردید.

تعداد سلول های کشت داده شده/ تعداد کلونی‌های به‌دست آمده = راندمان کشت

پرتودهی: در این مطالعه از دوزهای ۲، ۴ و ۶ گری دستگاه تولیدکنندهٔ اشعهٔ ایکس واقع در بیمارستان پارس، مدل Primus ساخت شرکت زیمنس آلمان استفاده شد. لازم به ذکر است که انرژی پرتوی مورد استفاده ۶ Mev و آهنگ دوز ۲۰۰ cGy/min می باشد.

تعیین منحنی بقا به‌روش In vitro: برای انجام این آزمون و مقایسهٔ توانایی کلونی‌زایی سلول‌های پرتو دیده در حضور و عدم حضور گاسیپول، تعداد ۱۰۰۰۰ $CELL/CM^2$ در فلاسک‌ها کاشته‌شدند و پس از اینکه سلول‌ها در فاز لگاریتمی قرار گرفتند آمادهٔ پرتودهی شدند و تحت دوزهای مختلف پرتو قرار گرفتند و یک تعدادی از آن‌ها پس از پرتودهی با دارو نیز تیمار شدند. پس از آن سلول‌ها تریپسینه و شمارش شدند و تعداد معینی از آن‌ها در پلیت‌های ۶۰ میلی‌متری کشت داده شد. بعد از ۹ روز انکوباسیون تعداد کلونی‌ها شمارش و کسر بقا محاسبه می‌شود.

کسر بقاء = راندمان کشت نمونهٔ تیمارشده / راندمان کشت نمونهٔ کنترل

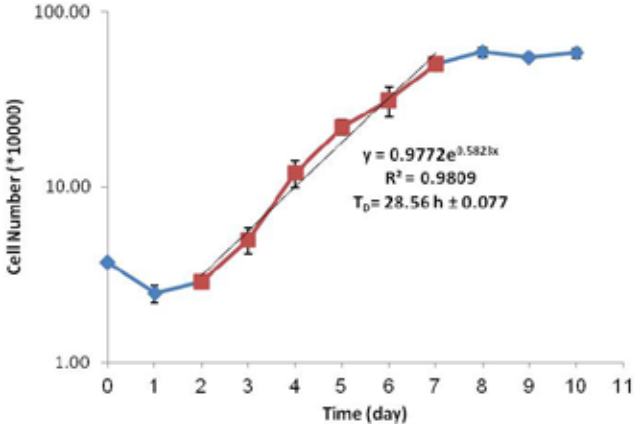
پس از محاسبهٔ کسر بقا منحنی دوز- پاسخ رسم گردید. سپس بااستفاده از نرم افزار MATLAB این داده‌ها بر مدل خطی- درجه دو منطبق شد و پارامترهای α و β تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

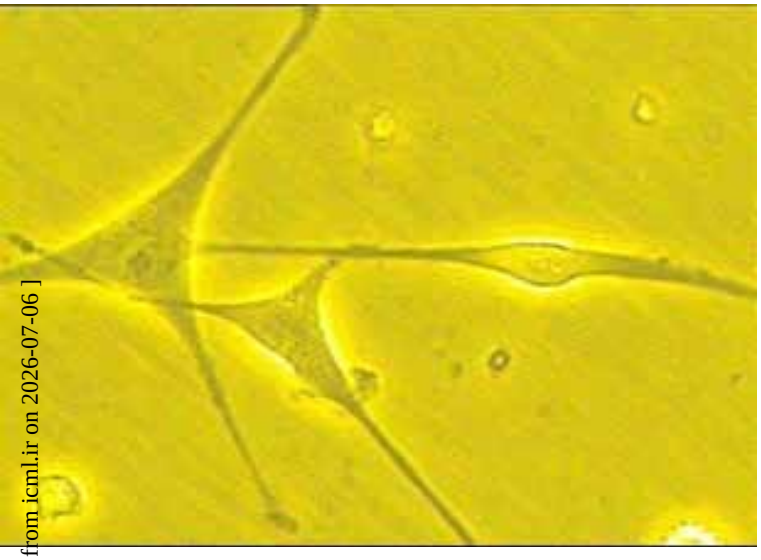
برای بررسی متغیرهای کمّی از نرم‌افزار Excel استفاده شد. جهت بررسی معنی‌داری اختلاف میان میانگین‌های دو گروه تیمار پرتویی و تیمار ترکیبی در یک دوز مشخص، از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۷ و روش T-Test استفاده شد و برای سنجش معنی‌داری اختلاف میان میانگین‌های کلیهٔ تیمارهای موجود در آزمایش از روش ANOVA (تحلیل واریانس) و تست Post Hoc Multiple Comparison استفاده شد.

یافته‌ها

رسم منحنی رشد و تعیین زمان دو برابر شدن سلول‌های U-87 MG برای بررسی نرخ رشد و بازهٔ زمانی مؤثر انجام تیمارها منحنی رشد سلول‌های U-87 MG در مقیاس نیمه‌لگاریتمی به‌صورت تعداد سلول‌ها برحسب زمان رسم شد. پس از رسم بهترین خط مماس بر فاز لگاریتمی منحنی و محاسبهٔ شیب این خط، زمان دو برابر شدن سلول‌ها که معادل ۲۸/۵۶ ساعت می‌باشد، محاسبه گردید. شکل شمارهٔ ۱ منحنی رشد سلول‌های U-87 MG و شکل شمار ۲ G مرفولوژی طبیعی این ردهٔ سلولی را نشان می‌دهد.



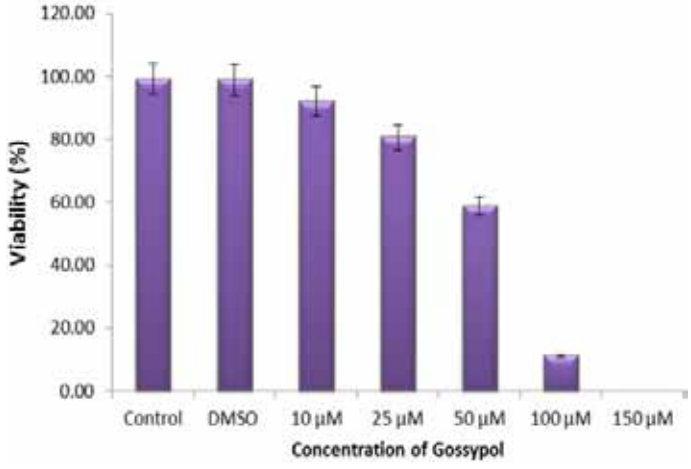
شکل۱: منحنی رشد سلول‌های U-87 MG. زمان دوبرابر شدن سلول‌ها از شیب خط فاز رشد لگاریتمی (خط قرمزرنگ) محاسبه شد. در این مرحله سلول‌ها به‌طور فعال درحال تکثیر می‌باشند و تعداد سلول‌ها به‌صورت لگاریتمی افزایش می‌یابد.



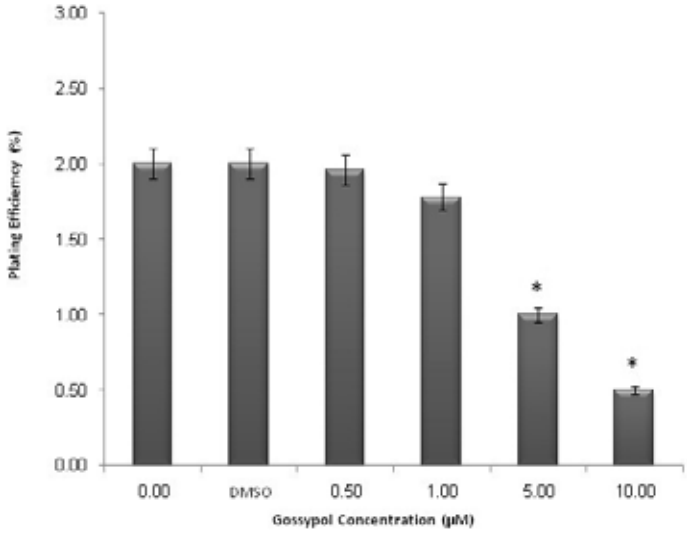
شکل۲: شکل ظاهری سلول‌های U-87 MG در محیط کشت سلولی

[Downloaded from icml.ir on 2026-07-06]

تعیین غلظت بهینهٔ گاسیپول: براساس نتایج نشان داده شده در شکل شمارهٔ ۳ و ۴، غلظتی از دارو به‌عنوان غلظت بهینه برای انجام بقیهٔ مراحل آزمایش انتخاب می‌شود که روی viability و کلونی‌زایی سلول‌ها تأثیر زیادی نداشته باشد. چون هدف بررسی حساس‌کنندگی پرتویی است پس خود دارو به‌تنهایی نباید سمیت قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. با انجام تست تریپان‌بلو، غلظتی انتخاب شد که کمترین سمیت را داشته باشد و با سنجش کلونی‌زایی نیز غلظتی انتخاب می‌شود که حداقل تأثیر را برروی کلونی‌زایی داشته باشد. بدین‌ترتیب فقط اثر حساس‌کنندگی را بررسی کرده و تأثیر دارو به‌تنهایی را حذف نموده و می‌توان با اطمینان بیشتر تأثیر مشاهده شده را به حساس‌کنندگی پرتویی نسبت داد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از تست تریپان‌بلو (شکل۳) و کلونی‌زایی با دارو (شکل۴)، غلظت ۱ µM هرچند روی viability اثر سوء ندارد ولی روی



شکل۳: بقای سلول‌های U-87 MG در غلظت‌های مختلف گاسیپول با استفاده از تست تریپان بلو



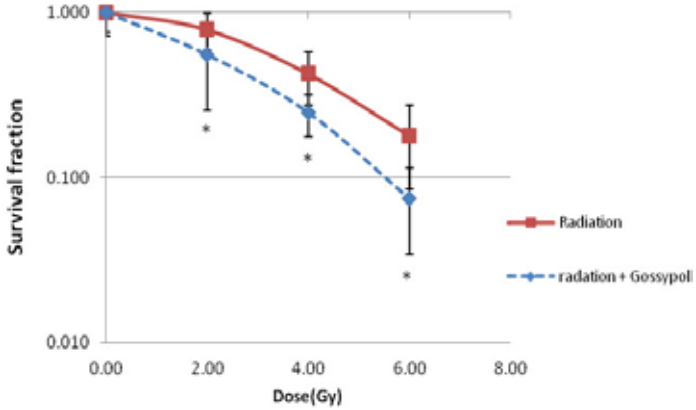
شکل۴: سنجش توانایی کلونی‌زایی سلول‌های U-87 MG پس از تیمار با گاسیپول.
*بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار میان راندمان کشت نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

کلنی زایی دارد. لذا دوز تا حد ۱ µM کاهش داده شد. بنابراین غلظت ۱ µM که حداقل تأثیر را بر روی viability و کلونی‌زایی داشت، برای انجام سایر تست‌ها انتخاب گردید.

مقایسهٔ توانایی کلونی‌زایی سلول‌های پرتودیده در حضور و عدم حضور گاسیپول: شکل شمارهٔ ۵ نمودار مدل Linear-Quadratic منحنی بقاء حاصل از این آزمایش را نشان می‌دهد. با توجه به شکل شمارهٔ۵ و آنالیز آماری انجام‌شده در این زمینه در دوز صفر، P.value>0.05 می‌باشد که بیانگر این است که بین میانگین کسر بقاء در حالت کنترل (فاقد هرگونه تیمار) و کنترل دارو (فقط تیمار با دارو) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما، در دوزهای ۲، ۴ و ۶ گری، P.value<0.05 می‌باشد که نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین کسر بقاها در دو گروه تیمار پرتویی و گروه تیمار ترکیبی می‌باشد. نتایج حاصل از تست کلونی‌زایی، کاهش توانایی کلونی‌زایی سلول‌ها را در مقابل پرتو و درحضور دارو نشان می‌دهد ضمن این‌که سمیت غلظت گاسیپول استفاده‌شده که موجب کاهش توانایی کلونی‌زایی سلول‌ها در تیمارهای ترکیبی (گاسیپول و پرتو) می‌شود، در بدن بسیار کم و ناچیز بوده است. جدول شمارهٔ۱ مقادیر پارامترهای مربوط به منحنی‌های بقاء را نشان می‌دهد. شکل شمارهٔ ۶ وضعیت کلونی‌ها را درپتری‌ها و در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد.

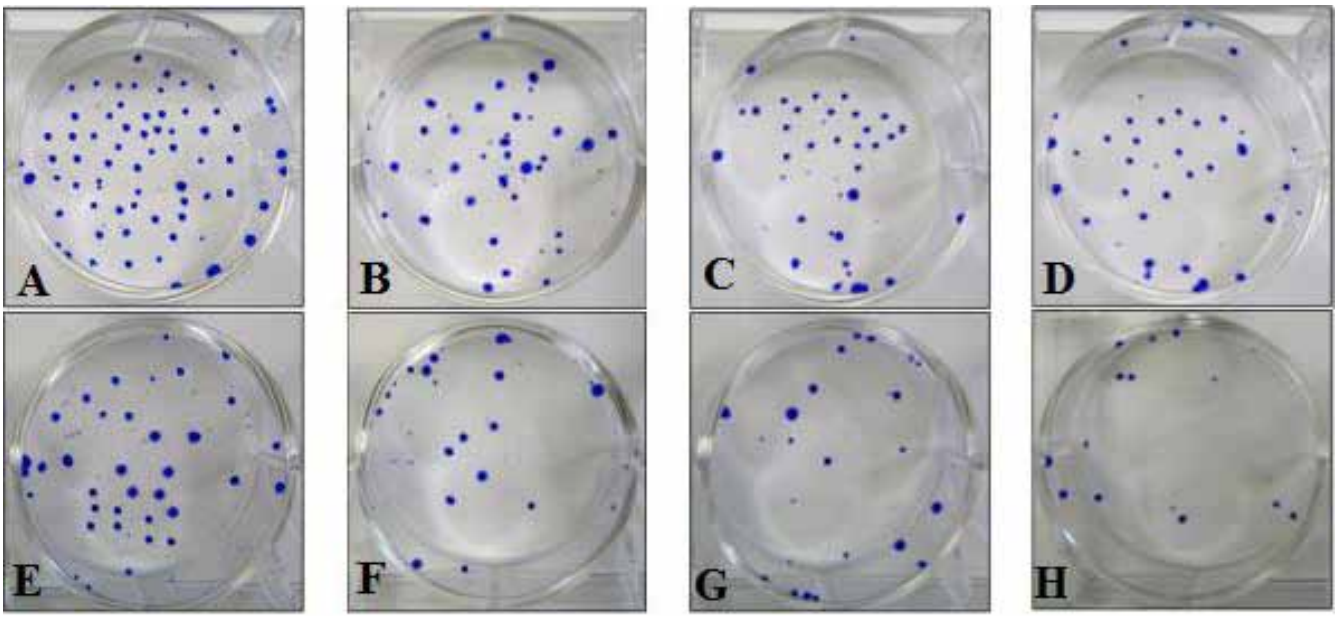
جدول۱: مقایسهٔ پارامترهای مدل خطی- درجه‌دو سلول‌های تیمارشده با پرتو به‌تنهایی و پرتو به‌همراه گاسیپول

Treatment	α value	β value
پرتو	۰۵۲/۰	۰۴۲/۰
پرتو+ گاسیپول	۲۲۹/۰	۰۳۱/۰



شکل۵: بقای سلول‌های تیمارشده با پرتو درمقایسه با منحنی بقای سلول‌های تیمارشده با پرتو به‌همراه دارو

[Downloaded from icml.ir on 2026-07-06]



شـکل ۶: تصویر کلونی‌ها بعداز تثبیت و رنگ‌آمیزی در پتری. A نمونهٔ کنترل، B دوز ۲ گری، C دوز ۴ گری، D دوز ۴ گری، E گاسـیپول، F دوز۲ گری + گاسـیپول، G دوز ۴ گری + گاسـیپول، H دوز ۶ گری + گاسیپول

بحث و نتیجه‌گیری

گلیوبلاسـتوما مولتی‌فـرم کشـنده‌ترین نوع تومور مغزی اسـت. حتی زمانی‌که تهاجمی‌ترین نوع درمان که شـامل رادیوتراپی، شـیمی‌درمانی و جراحی اسـت، استفاده می‌شود. متوسط بقاء بین ۶ تا ۱۲ ماه می‌باشد. پرتودرمانی روشـی کارآمد و مؤثر در درمان انواع سرطان به‌شمار می‌رود. امـا، اسـتفاده از آن محدودیت‌های زیـادی دارد. یکـی از مهم‌ترین این محدودیت‌ها اسـتفاده از پرتو در درمان سرطان، وجود سلول‌های توموری مقاوم به پرتو است. این سلول‌ها به‌گونه‌ای تغییر پیدا کرده‌اند و مسیرهای سـلولی را در خود فعال می‌کنند که آن‌ها را قادر می‌سـازد دربرابر تابش دوزهای درمانی پرتوها مقاومت کنند و دچار مرگ سـلولی و تولید مثلی نشوند. لذا، وجود این سلول‌ها (که پس از پایان درمان نیز باقی می‌مانند) خود موجب بازگشت مجدد سرطان می‌شود. ازاین‌رو، یکی از رویکردهای مؤثر در کاهش این محدودیت‌ها می‌تواند اسـتفاده از ترکیباتی باشـد که درصورت استفادهٔ همزمان با پرتودرمانی، مرگ‌ومیر سلول‌های سرطانی را افزایش دهند و همچنین سلول‌های مقاوم به پرتو را مجدداً حساس کنند.

در رادیوبیولـوژی دو نـوع مرگ سـلولی تعریف می‌شـود: مرگ تولید مثلـی (Reproductive Death) که به‌صورت از دسـت دادن توانایی تولید مثل سـلول‌های بنیادین سیستم خونساز یا پوشش روده‌ای تعریف می‌شـود و مرگ عملکردی (Functional (Death که برای سلول‌های متمایـز عصبی یا عضلانی یا بسـیاری از سـلول‌های ترشـحی که تکثیر نمی‌شـوند به‌صورت از دست دادن عملکرد اختصاصی تعریف می‌شود. در رادیوبیولوژی تعریف مرگ متفاوت از تعریف متعارف آن است. این تعریف اهمیت ویژه‌ای در پرتودرمانی تومورها دارد. به سلول بازمانده‌ای که ضمن حفظ قابلیـت تولید مثل خود بتواند با تکثیـر نامحدود یک کلون بزرگ یا کلونی(Colony) را تشـکیل دهد، کلونوژنیک (Colonogenic) یا کلونی‌زا گفته می‌شود. برای بیشتر سلول‌ها که برای تقسیم تلاش می‌کنند، مـرگ میتوزی(Mitotic Death) روند غالبی پس از پرتوگیری اسـت. در برخی موارد سـلول مجبور به طی کردن روند مرگی برنامه‌ریزی‌شـده آپوپتوز می‌شـود. درهرحال نتیجهٔ تمامی روندهای گفته‌شـده، از دسـت رفتن توانایی تقسـیم نامحدود، یعنی قابلیت تولید مثل سلول است. برای ایجـاد مرگ در سـلول‌های متمایز که دچار مرگ عملکردی می‌شـوند، دوزی حـدود ۱۰۰ گِرِی ولی بـرای ایجاد مرگ میتوزی در سـلول‌های نامتمایز کمتر از ۲ گری کافی است[۷و ۸].

براسـاس نتایج تسـت تریپان‌بلو در این بررسی نشان داده شد که تیمار با گاسـیپول به‌صورت وابسته به دوز (Dose Dependent) به‌مدت ۴۸ سـاعت قادر اسـت مانع از رشد و تکثیر این ردهٔ سـلولی شود. با استفاده از تسـت کلونی‌زایی مشاهده شد که این کاهش در بقاء سلول‌ها درنتیجه کاهش توان کلونی‌زایی رخ داده اسـت. توانایـی کلونی‌زایی یک دودمان سـلولی در in vitro به‌عنوان مقیاسی برای تکثیر و متاستازی بودن آن در محیط in vivo است و یکی از مهم‌ترین و اصلی‌ترین پیامد القاءشده توسـط پرتو یونیزان اسـت. نتایج حاصل از تست کلونی‌زایی پس از تیمار با گاسـیپول و پرتودهی نشان داد که گاسـیپول همچنین قادر است این ردهٔ سـلولی مقاوم به پرتو را به اثرهای کشندهٔ پرتو حساس کند. به‌علاوه

[Downloaded from icml.ir on 2026-07-06]

نتایج تست تریپان‌بلو همچنین تأیید می‌کند که سمیت دوز استفاده‌شده جهت حساس کردن این سلول‌ها به پرتو (۱ میکرومولار) زیاد نیست و در حد قابل کنترل می‌باشد. در این بررسی برای تفسیر نتایج حاصل از پرتودهی از مدل خطی- درجه دو استفاده شد. اساس مدل خطی- درجه دو بر این فرض است که آسیب کشنده می‌تواند با برخورد یک ذره و یا با میانکنش آسیب‌های حاصل از برخورد چندین ذره حاصل شود. با مقایسهٔ پارامترهای مدل خطی - درجه دو مشاهده می‌کنیم که پارامتر α درصورت به‌کاربردن گاسیپول، افزایش معنی‌داری یافته است. α بیانگر آسیب‌های غیر قابل ترمیم و کشنده می‌باشد و افزایش این ضریب نشان می‌دهد که حضور گاسیپول در سلول، آسیب‌های غیر قابل ترمیم و بالطبع آسیب‌های کشنده و بالقوه کشنده را افزایش می‌دهد. ازطرف‌دیگر پارامتر β بیانگر آسیب‌های قابل ترمیم و غیر کشنده می‌باشد و کاهش این پارامتر بیانگر این است که آسیب‌های قابل ترمیم درصورت تیمار با گاسیپول کاهش می‌یابد.

اما، نکتهٔ مهم دیگری که وجود دارد این است که اثر توأم پرتو و گاسیپول به‌صورت سینرژیسم است بدین‌معنی‌که تعامل دو تیمار موجب اثری بزرگ‌تر از مجموع اثر آن‌ها می‌شود. این درحالی‌است که Chalmers و همکاران اثر پرتو و تموزولومايد که درحال‌حاضر مؤثرترین و سایتوتوکسیک‌ترین عامل آلکیله‌کننده در مقابله با گلیوبلاستومای بدخیم می‌باشد را به‌صورتAdditive یافتند[۱۰]. از این لحاظ، گاسیپول می‌تواند قابل رقابت با داروهایی از قبیل تموزولومايد باشد.

اثر مشاهده‌شده در کاهش کلونی‌زایی در تیمار ترکیبی با گاسیپول درمقایسه با تیمار پرتویی را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که سلول‌های توموری گلیوما به‌دلیل نقص در مسیر سیگنالینگ آپوپتوز و بیان بالای پروتئین‌های ضدآپوپتوز، در برابر القای آپوپتوز ناشی از پرتو مقاومت بالایی را نشان می‌دهند. دلایل ژنتیکی این مقاومت کاملاً شناخته نشده‌است ولی مطالعات انجام‌شده دلایلی را جهت این مقاومت ذاتی بیان می‌کنند که شامل میزان بالای فاکتور رونویسی NF-κB، افزایش بیان گیرندهٔ EGFR، جهش در ژن PTEN، افزایش فعالیت مسیرهای علامت‌رسانی Akt و مسیر MAPK و همچنین بیان غیرعادی MMPs می‌باشد[۱۱]. در بررسی‌های متوالی که پاسخ سلول‌های گلیوما به انواع روش‌های درمانی را مورد مطالعه و ارزیابی قرار دادند، دریافتند که گلیوبلاستوما مولتی‌فرم به اتوفاژی یا مرگ برنامه‌ریزی شدهٔ نوع ۲ نسبت به آپوپتوز مقاومت کمتری نشان می‌دهند[۱۴-۱۲]. به‌هرحال استفاده از ترکیباتی که مسیرهای علامت‌رسانی داخل سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و پاسخ سلول‌های توموری را به پرتو افزایش می‌دهند از نظر بالینی اهمیت بسیار زیادی دارد و امکان کاهش دوز پرتو یونیزان برای حصول اثر به‌دست‌آمده از پرتودرمانی را به تنهایی فراهم می‌کند.

[Downloaded from icml.ir on 2026-07-06]

References:

1. Scott CB, Scarantino C, Urtasun R, Movsas B, Jones CU, Simpson JR, Fischbach AJ, Curran WJ. Validation and predictive power of Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) recursive partitioning analysis classes for malignant glioma patients: a report using RTOG 90-06. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998; 40: 51 –5.

2. Keshmiri-Neghab H, Goliaei B. Therapeutic potential of gossypol: An overview. Pharm Biol 2014; 52(1): 124-8.

3. Liang Xu. Gossypol enhances response to radiation therapy and results in tumor regression of human prostate cancer. Mol Cancer Ther 2005; 4: 197-205.

4. Oberstein A, Jeffrey PD, Shi Y. Crystal structure of the Bcl-XL-Beclin1 peptide complex: Beclin 1 is a novel BH3-only protein. J Biol Chem 2007; 282: 13123-32.

5. Maiuri MC, Le Toumelin G, Criollo A, Rain JC, Gautier F, Juin P, Tasdemir E, Pierron G, Troulinaki K, Tavernarakis N, Hickman JA, Geneste O, Kroemer G. Functional and physical interaction between Bcl-X (L) and a BH3-like domain in Beclin -1. EMBO J 2007; 26: 2527-39.

6. Shimizu S, Kanaseki T, Mizushima N, Mizuta T, Arakawa-Kobayashi S, Thompson CB, Tsujimoto Y. Role of Bcl-2 family proteins in a non- apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. Nat Cell Biol 2004; 6:1221-8.

7. Voss V, Senft C, Lang V, Ronellenfitsch MW, Steinbach JP, Seifert V, Kögel D. The pan-Bcl-2 inhibitor (−)-Gossypol triggers autophagic cell death in malignant glioma. Mol Cancer Res 2010; 8: 1002-16.

8. Hall EJ, Giaccia AJ. Radiobiology for the radiologist, 6th ed, Philadelphia: Lippinott Williams & Wilkins, 2006.

9. Alpen EL. Radiation biophysics. Second edition, Academic press, 1990.

10. Chalmers AJ. Cytotoxic effects of temozolomide and radiation are additive and schedule-dependent. Inter J of Rad Oncol Bio Phys 2009; 75 (5): 1511-9.

11. Krakstad C, Chekenya M. Survival ignaling and apoptosis resistance in glioblastomas: opportunities for targeted therapeutics. Mol Can 2010; 9: 135-40.

12. Lefranc F, Facchini V, Kiss R. Proautophagic drugs: A novel means tocombat apoptosis-resistant cancers, with a special emphasis on glioblastomas. Oncologist 2007; 12: 1395–403.

13. Ito H. Autophagic cell death of malignant glioma cells induced by a conditionally replicating adenovirus. J Natl Cancer Inst 2006; 98: 625–36.

14. Jiang H. Examination of the therapeutic potential of Delta-24-RGD in brain tumor stem cells: Role of autophagic cell death. J Natl Cancer Inst 2007; 99: 1410–4.

[Downloaded from icml.ir on 2026-07-06]