مجله علوم پایه پزشکی ایران، جلد ۱۰، شماره۱، بهار ۱۳۸۶، ۵۳ - ۴۶
تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۲۷- تاریخ پذیرش: ۸۶/۲/۱۱

دوز و زمان مناسب تیمار با وین بلاستین جهت القاء آنیوپلوئیدی در سلول های مغز استخوان موش نر نژاد Balb/c با استفاده از آزمون میکرونوکلئوس

امیر محمد ملوندی،[1] *فرهنگ حداد،[2] علی مقیمی[3]

چکیده

هدف

امروزه، آنیوپلوئیدی به عنوان یکی از دلایل اصلی ایجاد سرطان در انسان، شناخته می شود. در حال حاضر، از وین بلاستین به عنوان متوقف کننده تشکیل دوک تقسیم در سلول های در حال تقسیم، برای درمان انواعی از سرطان استفاده می شود. در عین حال وین بلاستین از دسته آلکالوئید های وینکا (از جمله وین کریستین و ...)، به شمار می رود که تمامی اعضای این گروه، به عنوان کارسینوژن های غیرجهش زا عمل می کنند. مطالعه نحوه فعالیت وین بلاستین (و مقاومت در برابر آن) و ارتباط آنیوپلوئیدی و سرطان از جمله زمینه های فعال سرطان شناسی محسوب می شود.

مواد و روش کار

در این پژوهش برای به دست آوردن دوز و زمان مناسب جهت القا حداکثر آنیوپلوئیدی بدون جلوگیری از تقسیم سلولی در سلول های مغز استخوان موش های نر(نژاد Balb/c) به وسیله آزمون میکرونوکلئوس، دوز های ۱، ۲، ۳ و ۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن در زمان های ۶، ۱۸، ۲۴ و ۳۰ ساعت پس از تیمار مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایج

پس از بررسی نتایج، داده ها نشان دهنده بیشترین فراوانی آنیوپلوئیدی القایی در دوز ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار بودند. در این دوز از وین بلاستین و زمان تیمار انجام شده فراوانی میکرونوکلوئرس القائی به حدوداً پنج برابر کنترل افزایش یافت.

نتیجه گیری

بر اساس مطالعه انجام گرفته و با بدست آوردن دوز و زمان مناسب تیمار با وین بلاستین، می توان مدل مناسبی جهت بررسی مکانیسم ایجاد سرطان بر اساس آنیوپلوئیدی در موش ارائه نمود و علاوه بر آن، می توان به بررسی روش های درمان سرطان در مطالعات بعدی پرداخت.

کلمات کلیدی: آزمون میکرونوکلئوس، آنیوپلوئیدی، سلول مغز استخوان موش، وین بلاستین.

۱،۲ - مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی مهندسی بافت دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد
* نویسنده مسئول: تلفن: ۸۷۹۷۰۲۰ – ۸۷۹۴۰۸۶ – ۰۵۱۱، Haddad@um.ac.ir
۳- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

مقدمه

سرطان به عنوان یک بیماری با اساس ژنتیکی یکی از اصلی ترین نگرانی های جوامع بشری است. سالانه درصد بالایی از مرگ و میر در جوامع مختلف بر اثر سرطان، گزارش می شود. در سال ۲۰۰۴ بیش از ۱۵ میلیون نفر از افراد بالای ۱۸ سال در ایالات متحده، به انواعی از سرطان مبتلا بوده اند. امروزه درباره منشا شکل گیری سرطان موارد مختلفی مطرح می شود که از این میان نقش ناهنجاری های کروموزومی در ایجاد و توسعه سرطان غیر قابل انکار است (۱-۳).

توزیع مساوی ماده ژنتیکی، بین دو سلول دختر، هدف نهایی در تقسیم میتوز است. خطاها در فرایند تفکیک کروموزومی باعث ایجاد سلول های ناهنجاری می شود که از نظر تعداد کروموزوم ها دچار اختلال می باشند (۴-۶).

افزایش یا کاهش یک کروموزوم یا بیشتر به صورت کامل، فرایندی است که به نام آنیوپلوئیدی شناخته می شود. یک سلول انسانی در حالت معمول ۲۳ جفت (۴۶ عدد) کروموزوم کامل و سالم دارد. سلول انسانی که عدد کروموزوم های آن متفاوت با حالت عادی باشد آنیوپلوئید محسوب می شود (۵،۶).

نقش آنیوپلوئیدی در زندگی روزمره انسان بسیار وسیع و گسترده است. آنیوپلوئیدی مسوول بسیاری از سقط های جنین، به دنیا آمدن نوزادان ناهنجار و در صورت وقوع در سلول های سوماتیک، دلیل ایجاد انواعی از سرطان هاست. مطالعات بر ارتباط رشته های دوک و ساختار کینه توکوری کروموزوم ها و نقش آن در القای آنیوپلوئیدی به دلیل ارتباط آن با ایجاد سرطان منجر، به حصول نتایج مهمی شده است (۷).

در حقیقت، تعداد غیرطبیعی کروموزوم ها بیش از ۱۰۰ سال است که در سلول های سرطانی انسانی شناخته شده است. بنیان این شناخت به فرضیه بوواری مبنی بر ایجاد سرطان به وسیله آنیوپلوئیدی باز می گردد. در این ارتباط عقیده بر این است که آنیوپلوئیدی مقدم بر ایجاد سرطان است (۸).

ایجاد ناهنجاری تعدادی کروموزومی در سلول های سوماتیک سهم بسیار زیادی در ایجاد سرطان، به ویژه در سرطان بافت های جامد دارد. امروزه نقش موثر آنیوپلوئیدی در ایجاد سرطان های کولون و انواعی از سرطان خون به اثبات رسیده است (۹-۱۱). در همین راستا مقالات زیادی ارتباط بین آنیوپلوئیدی و القای سرطان را به طور مفصل توضیح داده اند (۲،۱۲،۱۳).

مواد سرطان زا (کارسینوژن ها)ی غیر جهش زا با القای آنیوپلوئیدی در سلول ایجاد تحول می کنند. نتیجه این تحول به هم خوردن تعادل صدها ژنی است که محصولات آنها در تفکیک کروموزومی، سنتز DNA و یا تعمیر آن، دخالت دارند. چنین تغییراتی آسیب های جدی در روند های کنترل تقسیم سلولی ایجاد خواهند کرد و سلول، توانایی تقسیم بدون کنترل را خواهد یافت. بنابراین آنیوپلوئیدی منبعی است که در نتیجه آن سلول های با برتری تقسیم، ایجاد می شوند (۱۴،۱۵).

از جمله روش های درمانی که امروزه برای انواعی از سرطان ها استفاده می شود، شیمی درمانی با کمک دسته آلکالوئید های وینکا (از جمله وین کریستین و...) است (۱۶). وین بلاستین به عنوان عضوی موثر از این دسته، با توجه به کم بودن درصد سم و تاثیر در دوزهای بسیار پایین، امروزه مورد استفاده وسیع قرار می گیرد. این مواد به طور کلی به عنوان متوقف کننده های تشکیل دوک میتوزی در سلول های در حال تقسیم شناخته شده اند. وین بلاستین با تغییر فوق ساختاری در اتصال کینوتوکور- میکروتوبول و همچنین سانتروزوم در سلول های در حال تقسیم، باعث توقف دوک میتوزی می شود (۱۷). همچنین وین بلاستین توانایی مهار فعالیت میکروتوبول ها

را در اینترفاز دارا می باشد (۱۸). شیمی درمانی روش مناسبی در درمان سرطان ها، و یا حداقل افزایش طول عمر فرد مبتلا است. اگرچه، در افراد تحت درمان، مقاومت به این داروها و یا بدخیمی ثانویه به دلیل آنیوپلوئیدی القایی در این روش درمانی از نگرانی های مهم به شمار می رود (۱۹). وین بلاستین در بحث سرطان شناسی و درمان آن دارای دو نقش متضاد است.

در حقیقت وین بلاستین به عنوان کارسینوژنی غیر جهش زا عمل می کند. به عبارت دیگر عدم ایجاد دوک سالم، ناهنجاری تعدادی (آنیوپلوئیدی) در سایر سلول های بدن فرد تحت درمان به وجود آورده و این امر همچنان که بحث شد عاملی مهم برای ایجاد سرطان می باشد (۲). وین بلاستین در دوزهای بسیار پایین، مهارکننده تقسیم سلولی است. همین امر، ضرورت بررسی دقیق اثرات ژنوتوکسیک مواد شیمیایی ضد سرطان، از جمله وین بلاستین را نشان می دهد.

با توجه به این توضیح، در تحقیق حاضر، جهت بسترسازی مناسب برای کارهای آتی، تلاش صورت گرفته است و هدف، تعیین دوز مناسبی از وین بلاستین بود تا در عین حال که القاکننده ناهنجاری تعدادی است، بر فرایند تقسیم سلولی تاثیر متوقف کننده ای نداشته باشد. به عبارت دیگر هدف این تحقیق، ارائه مدل مناسبی از القای سرطان به واسطه آنیوپلوئیدی جهت مطالعات بیشتر سرطان و روش های درمانی است تا در صورت نیاز به بررسی آن در محیط in vivo، استفاده شود. به این منظور دوزهای متفاوت از وین بلاستین در زمان های مختلف مورد آزمایش قرار گرفت و در پایان پس از بررسی داده های آزمایشات انجام شده، دوز و زمان مناسب برای هدف ذکر شده، انتخاب شد.

مواد و روش کار

حیوان آزمایشگاهی مورد استفاده: در این تحقیق از موشهای سوری نر نژاد balb/c که بین ۳- ۵ هفته عمر داشتند، استفاده شد. موش ها از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی گروه فیزیولوژی فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تهیه شدند و جهت تطابق با محیط به مدت ۷ تا ۱۰ روز در حیوانخانه با شرایط کنترل شده نگهداری شدند.

تیمار: در قسمت اول آزمایش جهت تعیین دوز مناسب وین بلاستین، به گروه های چهارتایی از موش ها، دوزهای ۱، ۲، ۳ و ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از وین بلاستین (Gedeon Richter LTD, Hungary) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پس از گذشت شش ساعت از زمان تزریق، نمونه برداری از مغز استخوان انجام شد. جهت تعیین زمان مناسب تیمار با دوز به دست آمده از قسمت قبل، پس از تیمار گروه های چهارتایی از موشها، نمونه برداری در زمان های ۶، ۱۸، ۲۴ و ۳۰ ساعت پس از تیمار، از مغز استخوان صورت گرفت.

نمونه برداری از مغز استخوان: جهت نمونه برداری از مغز استخوان برای انجام آزمون میکرونوکلئوس(Micronucleus Test) از روش پیشنهادی Schmid و Hayashi استفاده شد (۲۰،۲۱). به طور خلاصه، پس از کشتن موش ها با کلروفرم، هر دو استخوان ران از بدن جدا و بعد از جدا سازی کامل ماهیچه های اطراف، مغز استخوان به کمک سرنگ ۲ میلی لیتری استخراج شد. از سلول های به دست آمده از هر استخوان به طور جداگانه پس از سانتریفوژ گسترش های سلولی تهیه گردید. تثبیت سلول ها در الکل ۹۰٪ انجام و سپس به شیوه گیمسا- مای گرانوالد رنگ آمیزی صورت گرفت.

شمارش: شمارش سلولی توسط میکروسکوپ نوری (Olympus BH2) با بزرگنمایی ۱۰۰۰ انجام شد. در هر لام تعداد حداقل ۱۰۰۰ سلول پلی کروماتیک (PCE) شمارش شد.

در هر شمارش تعداد سلول های حاوی میکرونوکلئوس (PCEMN) تعیین شد. در این تعداد سلول شمارش شده، تعداد سلولهای متوقف در میتوز جهت محاسبه شاخص میتوزی (Mitotic Index)، به طور اختصار MI، تعیین گردید.

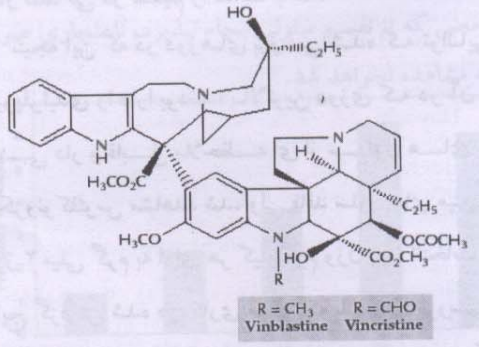
بررسی آماری: مقایسه آماری داده ها توسط نرم افزار Minitab انجام شد. در این بررسی گروه های تیمار شده با

کنترل و همین طور با یکدیگر مقایسه شدند. در جداول موجود، تفاوت آماری گروه های تیمار شده با کنترل و با یکدیگر با حروف a و b و c مشخص شده است. وجود حروف یکسان به معنی عدم وجود تفاوت معنی دار بین گروهها است.

نتایج

ساختار و عمل وین بلاستین

وین بلاستین ($C_{46}H_{58}N_4O_9$) با وزن مولکولی ۸۱۰/۹۴۷ g/mol از دسته آلکالوئید های وینکا و دارای استفاده در درمان انواعی از سرطان است (شکل ۱). این ماده برای اولین بار توسط رابرت نوبل و کارلس توماس بیر از گیاه *Cantharanthus roseus* (L) G. Don استخراج گردید (۱۶). این ماده با جلوگیری از فعالیت تکثیری به عنوان متوقف کننده میتوزی شناخته شده است. همچنین ثابت شده است در غلظت های پایین(۰/۱-۶ nM) فعالیت میتوزی را بدون دپولیمریزه کردن شبکه میکروتوبولی بین متافاز تا آنافاز متوقف می کند. این داروی قدرتمند در غلظت پایین می تواند فعالیت رشد و کوتاه شدن انتهای میکروتوبول ها را متوقف کرده و زمان تقسیم را افزایش دهد. در حقیقت وین بلاستین امروزه به عنوان یک متوقف کننده قوی میتوز شناخته می شود (۱۷).



شکل ۱: ساختار وین بلاستین(۲۲).

در این پژوهش، بر اساس ساختار و عملکرد این ماده با توجه به اثر و ارتباط آنیوپلوئیدی و سرطان برای ایجاد بنیان برای فعالیت های آتی به گونه ای عمل گردید که با تعیین دوز مورد نیاز در سلول های مغز استخوان موش های مورد آزمایش، به جای توقف در میتوز حداکثر ناهنجاری تعدادی ممکن، القا گردد. به عبارت دیگر زمان و دوزی مورد احتیاج بودند که با از نظم خارج کردن فعالیت دوک میتوزی، بدون ممانعت از تقسیم، باعث القا ناهنجاری تعدادی (آنیوپلوئیدی) در سلول های دختری گردند به گونه ای که به راحتی توسط آزمون میکرونوکلئوس قابل بررسی باشند. بدیهی است که توقف میتوزی القا شده با وین بلاستین نمی تواند اثر قابل بررسی و زود هنگامی در القای آنیوپلوئیدی داشته باشد. توقف طولانی مدت سلول های در حال تقسیم در میتوز در نتیجه فعالیت داروهای ممانعت کننده تشکیل رشته های دوک، به دلیل ممانعت از انجام فعالیت های حیاتی سلول از جمله نسخه برداری و ترجمه، با فعال کردن مسیرهای آپوپتوزیس سبب از بین رفتن سلول می گردد (۲۳). نتیجه این که احتمال از دست دادن سلول های صدمه دیده در این شرایط بسیار زیاد خواهد بود.

تعیین دوز مناسب جهت القای آنیوپلوئیدی

برای یافتن دوز مناسب به منظور القا ناهنجاری تعدادی بدون توقف دوک میتوزی، دوزهای ۱، ۲، ۳، ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مورد آزمایش قرار گرفت که نتایج به دست آمده در جدول و نمودار ۱ آمده است.

فراوانی PCEMN در گروه کنترل برابر ۱/۱۲٪ محاسبه گردید که این میزان در محدوده فراوانی به دست آمده از مطالعه ای که به هدف دیگری انجام شده بود قرار دارد (۲۵،۲۴). اندازه نسبتا بزرگ میکرونوکلئوس های القایی بعد از تیمار با وین بلاستین،نشان دهنده خاصیت آنیوژنیک وین بلاستین است. توانایی آنیوژنیک وین بلاستین در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است (۲۶- ۲۸).

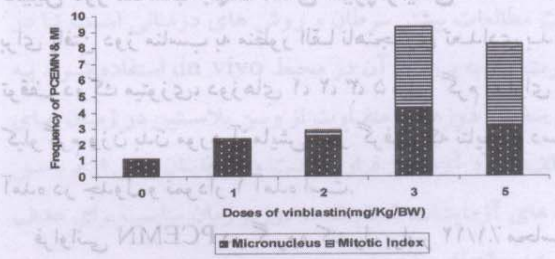
انتظار می رود که این میکرونوکلئوس ها به دلیل داشتن کروموزوم های کامل، اندازه نسبتا درشتی را دارا باشند (۲۹). تیمار با دوزهای ۱، ۲، ۳ و ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نشان داد که در تمامی دوز های استفاده شده، به جز پایین ترین آنها، تعداد میکرونوکلئوس های القاء شده توسط وین بلاستین، در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی داری داشته است (جدول ۱).

جدول۱: تغییرات در فراوانی PCEMN و MI در دوزهای متفاوت از وین بلاستین.

دوز وین بلاستین mg/kg/Bw	درصد فراوانی PCEMN	درصد فراوانی MI	PCEMN/MI
۰	۱/۱۲[a]	۰[a]	*
۱	۲/۳٤[a,b]	۰[a]	*
۲	۲/۵۳[b]	۰/۳۹[a]	٦/٤۹
۳	٤/۳[c]	٤/۹۸[b]	۰/۸٦
۵	۳/۱[b,c]	۵/۱٤[b]	۰/٦

a,b,c نشان دهنده تفاوت معنی دار فراوانی PCEMN و MI در مقایسه بین گروهها و کنترل است ($p<0/01$).

این فراوانی تا دوز ۳ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن افزایش وابسته به دوز را نشان می دهد. بین فراوانی PCEMN دوزهای ۱ و ۲ و همچنین ۳ و ۵ تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ($p<0/01$).



نمودار۱: مقایسه درصد فراوانی PCEMN و MI پس از تیمار با دوزهای مختلفی از وین بلاستین.

با توجه به توانایی وین بلاستین در صدمه زدن به دوک تقسیم، انتظار می رود با افزایش دوز، فراوانی PCEMN افزایش وابسته به دوز داشته باشد. عدم وجود تفاوت معنی دار بین دوز های ۳ و ۵ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن به دلیل توقف سلولی در میتوز است که با افزایش شاخص میتوزی (MI) در این دوزها قابل تفسیر است.

بررسی فراوانی سلول های متوقف در تقسیم نشان داد که در دوز ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هیچ سلول میتوزی وجود ندارد، اما در دوز های ۳ و ۵ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن، این سلول ها با فراوانی های معنی داری نسبت به کنترل مشاهده گردید (جدول ۱). نسبت فراوانی سلول های حاوی میکرونوکلئوس (PCEMN) به MI به سمت دوزهای ۳ mg/kg و ۵ mg/kg کاهش می یابد. اگر چه از نظر آماری تفاوت معنی دار نیست اما داده ها نمایان کننده کاهش فراوانی PCEMN و افزایش فراوانی MI در دوز ۵ نسبت به دوز ۳ می باشند. این مساله را می توان به متوقف شدن درصد بیشتر از سلول ها در مرحله تقسیم نسبت داد (۱).

به نظر می رسد اگر از دوز های بالاتری استفاده می شد، کاهش در فراوانی PCEMN و افزایش در فراوانی MI به شکل معنی دارتری قابل ارائه می بود. اگر چه بیشترین درصد فراوانی PCEMN را دوز ۳ mg/kg دارا می باشد، اما به دلیل این که در این دوز بالاترین فراوانی سلول های میتوزی نیز مشاهده می گردد، با توجه به هدف بررسی این دوز از وین بلاستین جهت بررسی بعدی انتخاب نگردید. همان طور که قبلا ذکر شد به دلیل یافتن مدل مناسب جهت القای آنیوپلوئیدی، هدف، تعیین دوزی از وین بلاستین است که اثر مهارکنندگی در تقسیم را نداشته باشد.

نتیجه این که در دوزهای بررسی شده که توانایی القای آنیوپلوئیدی را دارا بودند، بالاترین دوزی که در آن فراوانی معنی دار و قابل ملاحظه ای از سلول های حاوی میکرونوکلئوس مشاهده شد، ولی فاقد سلول های میتوزی بود، دوز ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انتخاب گردید. نتایج گزارش شده در کاری مشابه که با هدف بررسی اثرات کلاستوژنیک وین بلاستین صورت گرفته است، تاییدکننده این انتخاب است (۳۰).

تعیین زمان مناسب برای القای آنیوپلوئیدی

به منظور یافتن زمان مناسب جهت القای بیشترین فراوانی آنیوپلوئیدی ۴ گروه به ترتیب بعد از تیمارهای ۶، ۱۸، ۲۴ و ۳۰ ساعت، به وسیله دوز انتخاب شده ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، مورد نمونه برداری مغز استخوان قرار گرفتند. نتایج به دست آمده در جدول و نمودار ۲ آمده است.

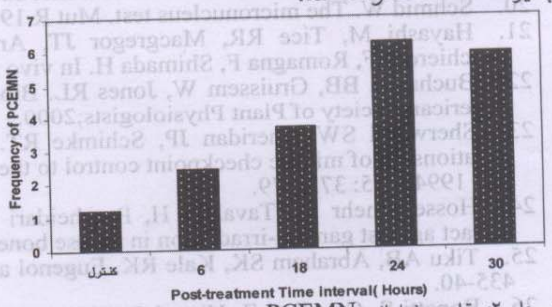
جدول ۲: میانگین درصد فراوانی PCEMN در زمان های مختلف بعد از تیمار با ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن با وین بلاستین:

زمان(ساعت)	میانگین در صد فراوانی PCEMN
کنترل	۱/۲۲[a]
٦	۲/٤٤[a,b]
۱۸	۳/٦٦[b]
۲٤	٦/۲٤[c]
۳۰	۵/۸۷[b]

a,b,c نشان دهنده تفاوت معنی دار فراوانی PCEMN در مقایسه بین گروهها و کنترل است ($p< ۰/۰۱$).

بحث و نتیجه گیری

فراوانی میکرونوکلئوس در زمان های مورد بررسی فراوانی وابسته به زمان معنی داری را تا ۲۴ ساعت پس از تیمار در مقایسه با کنترل نشان دادند. افزایش وابسته به زمان در فراوانی میکرونوکلئوس به دلیل انجام تقسیمات سلولی است. مشاهده میکرونوکلئوس ناشی از ناهنجاری های کروموزومی اعم از ساختاری و تعدادی وابسته به انجام تقسیمات سلولی می باشد. به این معنی که تا تقسیم سلولی انجام نپذیرد، ناهنجاری صورت پذیرفته مشاهده نخواهد شد.



نمودار ۲: مقایسه فراوانی PCEMN در زمان های مختلف بعد از تیمار با دوز mg/kg ۲ از وین بلاستین.

میکرونوکلئوس همان هسته ی کوچکی است که از قطعات کروموزومی و یا کروموزوم جا مانده از مهاجرت با سایر کروموزوم ها در آنافاز تقسیم تشکیل شده است (۲۰). بنابراین افزایش وابسته به زمان فراوانی میکرونوکلئوس های ناشی از القای آنیوپلوئیدی قابل انتظار است. بین نتایج به دست آمده در دوره های تیمار ۶، ۱۸و ۳۰ ساعت پس از تیمار، اختلاف معنی داری مشاهده نگردید.

بیشترین القای آنیوپلوئیدی که بر اساس فراوانی بالای میکرونوکلئوس مشخص می شود در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار به دست آمد. کاهش فراوانی PCEMN بعد از ۲۴ ساعت از تیمار در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده است (۳۲،۳۱).

کاهش معنی دار در فراوانی PCEMN ۳۰ ساعت پس از تیمار در مقایسه با ۲۴ ساعت را می توان به دلایل زیر دانست: ادغام تصادفی میکرونوکلئوس به یکی از هسته های اصلی (۳۳)، تجزیه میکرونوکلئوس به وسیله نوکلئازهای سیتوپلاسمی(۳۴)، جایگزینی و ترمیم مخزن توبولینی و بازسازی دوک تقسیم مورد نیاز جهت تفکیک صحیح کروموزومی در تقسیم با انجام نسخه برداری (۳۵)، فعالیت مکانیسم های ایست بازرسی جهت توقف تقسیم سلول های ناهنجارو القای آپوپتوزیس در سلول های ناتوان در تعمیر (۳۶).

نتایج به دست آمده در این پژوهش ارائه کننده مدل مناسبی جهت بررسی آنیوپلوئیدی به عنوان یکی از اصلی ترین مکانیسم های ایجاد سرطان می باشد. جهت بررسی مکانیسم ایجاد سرطان و یافتن مناسب ترین استراتژی برای مقابله و یا درمان آن در موش، که نتایج آن مورد استفاده در زندگی انسانی نیز خواهد بود، تحقیق حاضر نشان می دهد که دوز mg/kg ۲ از وین بلاستین در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار بالاترین فراوانی آنیوپلوئیدی را به دنبال خواهد داشت. همچنین این نتایج بار دیگر نشان دهنده کاربرد آزمون میکرونوکلئوس در بررسی های سیتوژنتیکی می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان به این وسیله بر خود لازم می دانند از آقای دکتراحمد رضا بهرامی رئیس مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و مهندسی بافت به دلیل فراهم کردن محلی مناسب جهت انجام آزمایشات این پژوهش صمیمانه تشکر و قدردانی به عمل آورند.

References

1. Baggetto LG, Gambrelle J, Dayan G, Labialle S, Barakat S, Michaud M, Grange JD, Gayat L. Major cytogenetic aberration and typical multidrug resistance phenotype of uveal melanoma: current views and new therapeutic prospects. Cancer Treatment Rev 2005; 31: 361-379.
2. Duesberg P, Fabarius A, Hehlmann R. The chromosomal basis of cancer. Cell Onco 2005; 27: 293-318.
3. Summary Health Statistics for U.S. Adults, National Health Interview Survey, 2004.
4. Baker DJ, Chen J, van Deursen JM. The mitotic checkpoint in cancer and aging: what have mice taught us?. Curr Opin Cell Biol 2005; 17: 583-589.
5. Dey P. Aneuploidy and malignancy: an unsolved equation. J Clin Pathol 2004; 57: 1254-1249.
6. Yuen K, W, Montpetit B, Hieter P. The kinetochore and cancer: what's the connection?. Curr Opin. Cell Biol 2005; 17: 576-582.
7. Cimini D, Degrassi F. Aneuploidy: a matter of bad connections. Trends in Cell Bio 2005; 15: 442-451.
8. Duesberg P, Li R, Rasnick D, Charlotte R, Willer A, Kraemer A, Yerganian G, Hehlmann R. 2000, Aneuploidy preceedes and segregates with chemical carcinogenesis. Cancer Genet Cytogenet 2000; 119: 83-93.
9. Rajagopalan H, Nowak MA, Vogelstein B, Lengauer C. The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. Nat Rev Cancer 2003; 3: 695-701.
10. Kobayashi K, Usami I, Kubota M, Nishio T, Kakazu N. Chromosome 7 abnormalities in acute megakaryoblastic leukemia associated with down syndrome. Cancer Genet Cytogenet 2005; 158: 184-187.
11. Stewenius Y, Gorunova L, Jonson T, Larsson N, Hoglund M, Mandahl N, Mertens F, Mitelman F, Gisselsson D. Structural and numerical chromosome changes in colon cancer develop through telomere-mediated anaphase bridges, not through mitotic multipolarity. PANS 2005; 102: 5541-5546.
12. Bialy H. Aneuploidy and cancer: vintage wine in a new bottle?. Nat. Biotechnol 1998; 16(2):137-8.
13. Rasnick D, Duesberg H. How aneuploidy affects metabolic control and causes cancer. Biochem J 1999; 340: 621-630.
14. Fabarius A, Hehlmann R, Duesberg P H. Instability of chromosome structure in cancer cells increases exponentially with degrees of aneuploidy, Cancer Genet. Cytogenet 2003; 143 (1):59-72.
15. Duesberg P, Li R, Fabarius A, Hehlmann R. Aneuploidy and cancer: from correlation to causation., Contrib. Microbiol 2006;13:16-44.
16. Okouneva T, Hill BT, Wilson L, Jordan MA. The effects of vinflunine, vinorelbine, and vinblastine on centromere dynamics. Mol Cancer Ther 2003; 2: 427-436.
17. Wendell KL, Wilson L, Jordan MA. Mitotic block in hela cells by vinblastine: ultrastructural changes in kinotochore-microtubule attachment and centrosomes.J Cell Sci 1993; 104: 261-274.
18. Dhamodharan R, Jordan MA, Thrower D, Wilson L, Wadsworth P. Vinblastin suppresses dynamics of individual microtubules in living interface cells. Mol Bio Cell 1995; 6: 1215-1229.
19. Li R, Hehlmann R, Sachs R, Duesberg P. Chromosomal alterations cause the high rates and wide ranges of drug resistance in cancer cells. Cancer Genet and Cytogenet 2005;44-56.
20. Schmid W. The micronucleus test. Mut R 1975; 9-15.
21. Hayashi M, Tice RR, Macgregor JT, Anderson D, Blakey DH, Kirsh-Volders M, Oleson FB, Jr, Pacchierotti F, Romagna F, Shimada H. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. Mu Res 1994;293-304.
22. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. Biochemistry & Molecular Biology of plants.Rockvill,Maryland: American Society of Plant Physiologists;2000.
23. Sherwood SW, Sheridan JP, Schimke RT. Induction of apoptosis by the anti-tubulin drug colcemid: Relationship of mitotic checkpoint control to the induction of apoptosis in the Hela S3 cells. Experimental Cell Res 1994; 215: 373-379.
24. Hosseinimehr SJ, Tavakoli H, Pourheidari G, Sobhani A, Shafiee A. Radioprotective effects of citrus extract against gamma-irradiation in mouse bone marrow cells. J Radiat Res 2003; 44(3): 237-41.
25. Tiku AB, Abraham SK, Kale RK. Eugenol as an in vivo radioprotective agent. J Radiat Res 2004; 45 (3): 435-40.
26. Bonatti S, Cavalieri Z, Viaggi S, Abbondandolo A. The analysis of 10 potential spindle poisons for their ability to induce CREST-positive micronuclei in human diploid fibroblasts. Mutagen 1992; 7: 111-114.

27. Channarayappa OT, Nath J. Clastogenic and aneuploidogenic effects of cigarette smoke condensate, mitomycin C and vincristine sulfate. Mutagenesis 1992; 7: 457-460.
28. Huber R, Salassidis K, Kulka U, Braselmann H, Bauchinger M. Detection of centromeres in vinblastine- and radiation-induced micronuclei of human lymphocytes using FISH with an alpha satellite pancentromeric DNA probe. Environ Mol Mutagen 1996; 27(2):105-9.
29. Wakata A, Sasaki MS. Measurement of micronuclei by cytokinesis-block method in cultured Chinese hamster cells: comparison with type and rates of chromosome aberrations. Mut Res 1987; 190: 51-57.
30. Ramesh C, Palo AK, Padhy A. Cytogenetic consequences of vinblastine treatment in mouse bone marrow, Chemotherap 2004; 50: 171-177.
31. Matsuoka A, Yamazaki N, Suzuki T, Hayashi M, Sofuni T. Evalution of the micronucleus test using a chinese hamster cell line as an alternative test. Mut Res 1993; 272: 223-236.
32. Mac Gregor JT, Casciano D, Muller L. Strategies and testing methods for identifying mutagenic risks. Mut Res 2000; 455: 3-20.
33. Gustavino B, Degrassi F, Filipponi R, Modesti D, Tanzarella C, Rizzoni M. Mitotic indirect non-disjunction in phytohemagglutinin simulated human lymphocytes. Mutage 1994; 9: 17-21.
34. Granetto C, Ottaggio L, Abbondanolo A, Bonatti S.P53 accumulates in micronuclei after treatment with a DNA breaking chemical, methylnitrosourea, and with the spindle poison, vinblastine. Mutat Res 1996; 352: 61-64.
35. Nicholl DS, Schloss JA, John PC. Tubulin gene expression in Chlamydomonas reinhardtii cell cycle: elimination of environmentally induced artifacts and the measurement of tubulin mRNA levels. J Cell Sci 1988; 89: 397-403.
36. Sablina AA, Ilyinskaya GV, Rubtsova SN, Agapova LS, Chumakov PM, Kopnin BP. Activation of p53-mediated cell cycle checkpoint in response to micronuclei formation. J Cell Sci 1998; 111: 977-984.