مجلهٔ دانشکده پزشکی تهران
شمارهٔ ششم ــ اسفندماه ۱۳۵۱ ــ صفحه ۱۸۸

منحنی رویش تومورالیخ

دکتر حبیب‌الله ایزدیان * دکتر خسرو زرین *

مقدمه

اکثراً پزشکان غیر متخصص در سرطان یا اشخاصی‌که دارای اطلاعات‌کمی ازپزشکی هستند به‌دلائلی معتقد میشوند که مثلا فلان ماده شیمیائی دارای خاصیت ضد سرطانی است و مایلند بسرعت فکر خود را تحقیق‌کنند. باروشهائی‌که‌فعلا درآزمایشگاههای مربوط به سرطان وجود دارد اینکار بااین سهولت میسر نیست درصورتیکه با روشی‌که دراین مقاله نگاشته شده این مشکل تا اندازه‌ای مرتفع شده است.

عموماً در تحقیقات مربوط به سرطان،تحقیق‌دربارهٔ دو دسته (مواد شیمیائی یا پدیده‌های فیزیکی) بکار میرود در یك دسته اثرات متوقف‌کننده رشدسلولهای سرطانی ودردسته‌دیگر عوامل پروموتور(تهییج کننده) مورد مطالعه قرار میگیرد و برای این تحقیقات عموماً از منحنی رویش سلولهای سرطانی که دراکثر مواقع برای سهولت‌کار آنها را بشکل اسپتی (که در مایع صفاق میتوانند رویش‌کنند) 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 خارج‌کرده و تعداد سلولها را معین‌میکنندوازروی‌مقایسه این تعداد با تعدادیکه ازموشهای شاهد (که‌فقط سلولهای سرطانی در آنها تزریق شده) بدست آمده‌اثرماده‌را تعیین میکنند . در بعضی موارد ضریب‌رویش سلولها از راه مدت زندگی موشهای حامل سرطان انجام میگیرد [۳] و بالاخره دربعضی موارد دیگر از راه توزین مستقیم سلولهای جامد سرطانی رویش تعیین میشود [۱۰] .

این روشها دارای معایبی [۳] است بقرار زیر :

۱ــ برای تعیین میزان رویش‌درهرروز موش‌جداگانه‌ان لازم‌است‌که علاوه برطولانی شدن اندازه‌گیری خطاهائی‌بعلت اختلاف شرایط فیزیولوژیکی موشهای مختلف وارد محاسبه میشود .

۲ــ برای تعیین تعداد سلولها درروزهای‌مختلف علاوه براینکه تمام دستگاههای اندازه‌گیری آلوده میشود خطاهائی نیز از راه شمارش‌که در حدود اقلا ۱۵٪ است وارد محاسبه میگردد .

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

و بالاخره در قسمتهای آخر منحنی رویش‌که بشکل پلاتو است از راه‌شمارش، نتایج همیشه یکسان نیست مثلا بعضی‌ها دراین‌قسمت منحنی را موازی محور Xها و بعضیها دارای شیب مثبت و بالاخره بعضی با شیب منفی بدست آورده‌اند [۱و۳و۷و۹] .

دراین مقاله روش جدیدی شرح داده شده‌که معایب فوق را ندارد یعنی‌از راه توزین موشهای تزریق شده وشاهد تعداد سلولها در روزهای مختلف تعیین میشود ومنحنی‌رویش

* انستیتو تاج پهلوی ــ باهمکاری فنی و نگارشی خانم فاطمه مازوجی‌وخانم شمسی‌جلوخانی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

باکمال‌سهولت‌حتی بدست اشخاص غیر مجرب بدست میآید و دارای خطاهای ذکر شده دربالانیست.

بطوریکه باکمال سهولت میتوان در چند روز وبوسیله چند موش تعیین‌کردکه آیا ماده‌ای شیمیائی یا روشی فیزیکی دارای خاصیت متوقف‌کننده (Inhibiteur) یا تهییج کننده (Promoteur) هست یا نیست.

روش محاسبه نقاط منحنی رویش تومور بوسیله توزین

وسایل

دراین آزمایش‌ازتومور مایع ارلیخ جهت محاسبه‌منحنی رویش استفاده شد.

این تومور در این‌آزمایشگاه بطور مداوم از راه پاساژ مایع صفاق ۱۴ روزه از موش توزیق شده از تاریخ ۱۳۴۳ تاکنون نگهداری شده است.

در این آزمایشها جمعاً ۱۵ موش ۳ـ۲ ماهه بکار رفته (البته تعداد موشهائی‌که بآزمایش جواب نـداده‌انـد بحساب نیامده است). موشها همگی Non-Inbred بوده‌اند.

چگونگی کار

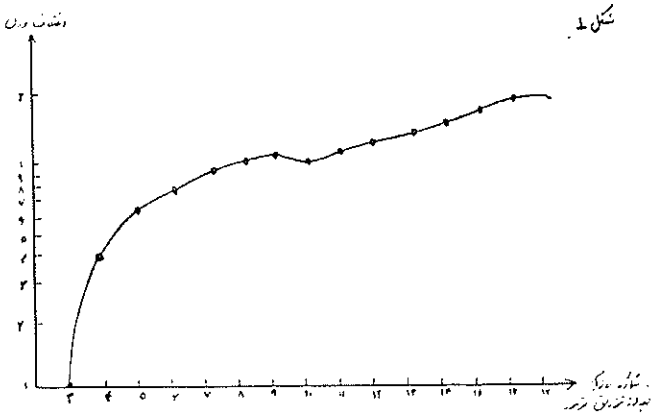
در هرآزمایش تعدادی موش هم سن ـ هم وزن و هم جنس انتخاب‌گردیده و در تمام آزمایشها موشی بعنوان‌کنترل در نظر گرفته شده‌که‌کاملا با حیوان مورد آزمایش درشرایط یکسان قرار داشته است. ابتدا به‌حیوان‌مورد نظر بمقداریک سانتیمتر مکعب از تومور مـایع ارلیش‌کـه محتوی تقریباً ۶ میلیون سلول توموری است بطریق‌داخل صفاقی تزریق شده آنگاه موش‌کنترل و موش حامل تومور هر یك در قفسهای جدا تحت یك شرایط قـرار داده شدند. هر روز صبح قبل از خوردن صبحانه توزین بعمـل آمـده و اختلاف وزن حیوان حامل تومورو‌کنترل یادداشت‌گردیده (مطابق تابلوی ۱و۲) بعد از اتمام آزمایشها از این اختلاف وزنها معدل‌گرفته شده و منحنی با این اختلاف وزنها رسم‌گردیده است.

نتایج بدست‌آمده

نتایج بدست آمده از آزمایش فوق درمنحنی شماره ۱ نشان داده شده‌است.

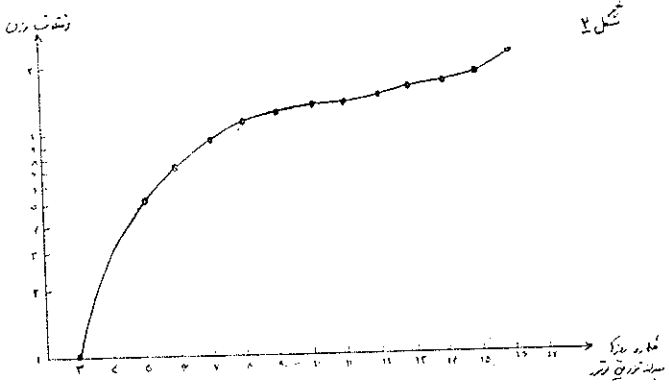
برای احتیاط منحنی ازمیانگین اختلاف وزن ۱۱ موش حامل تومور و شاهدهای مربوطه در شکل ۱ نمایش داده‌شده است. گرچه مطابق شکل ۲ حتی برای دو موش هم منحنی کاملی بدست میآید. علت افت در روزدهم منحنی ۱ مربوط است به روز جمعه (که یك وعده غذا ازبرنامه معمولی حذف شده است) چنانچه در منحنی مربوط بـدو موش‌که این‌اشکال وجود نداشته افتی مشاهده نشد. با مقایسه این منحنی‌ها و چند منحنی دیگر(صفحه بعد) که بروش محاسبه سلولهابدست آمده بخوبی روشن میشودکه هم راه توزین ساده‌تر وآسان‌تر است‌وهم منحنی بدست آمده از آن به‌حقیقت‌نزدیکتر. تابلوی شمارهٔ ۱ و منحنی‌ها نشان میدهندکه ترسیم منحنی رویش از راه وزن حتی‌ازراه اندازه‌گیری حجم‌کل اسیت دقیقتروتناسب

شکل ۱

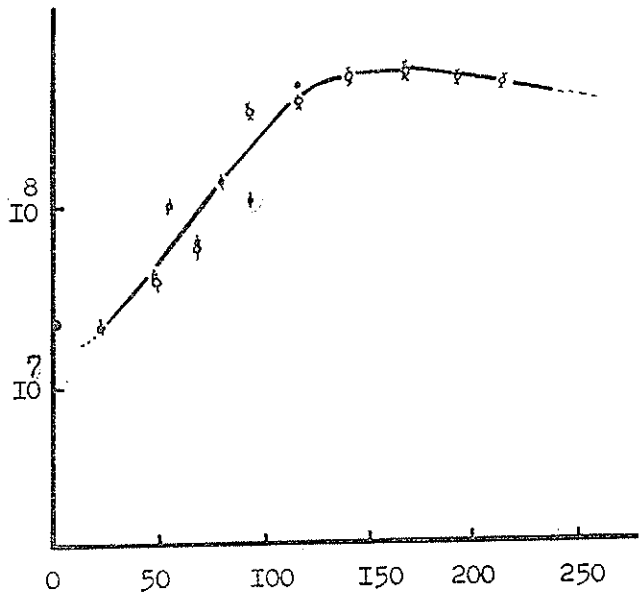


منحنی‌رویش‌تومور ارلیش‌که ازمیانگین توزین۱۱موش حامل‌توموربدست آمده

شکل ۲



منحنی‌رویش‌تومورارلیش‌که‌ازمیانگین توزین ۲ موش حامل‌تومور بدست‌آمده



۱ـ منحنی تومور ارلیش از [۶] Y. Maruyama

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

تابلوی ۱ـ تابلوی مربوط به میانگین اختلاف وزن ۱۱ موش توموری و شاهدهای مربوط به آنها :

شماره روزها	میانگین وزن ۱۱ موش توموری	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

کاملتر است بنابراین بنظر میآید که اگر محققین ازاین‌به‌بعد برای تعیین منحنی رویش بروشی که دراین مقاله شرح داده شده عمل کنند تحقیقات آنها مزایای زیر را نسبت بروشهائی که تا کنون متداول بوده است دارا خواهد بود :

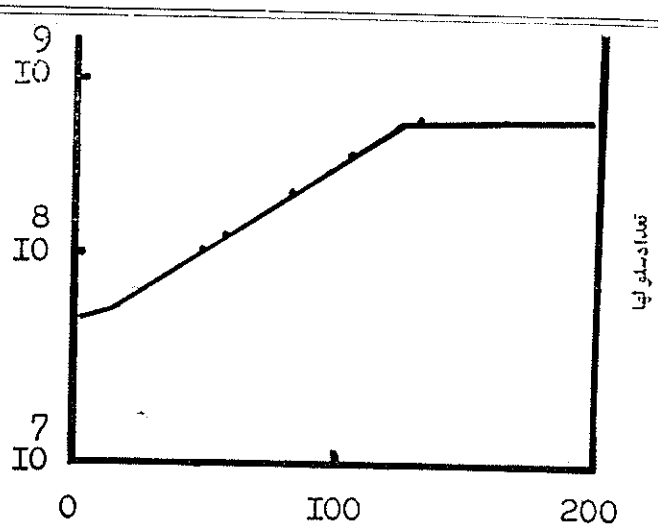
۱ـ روش ترسیم فوق‌العاده آسان است و تنها با صرف چند دقیقه وقت در روز میتوان منحنی رویش را با دقت شاید بیشتر از سایر روشها بدست آورد .

۲ـ مزیت مهمتر آنکه دراین روش بهیچوجه دستگاههای اندازه‌گیری آلوده به سلولهای سرطانی نمیگردد و هیچگونه لزوم رعایت استرلیزاسیون پیش نمیآید .

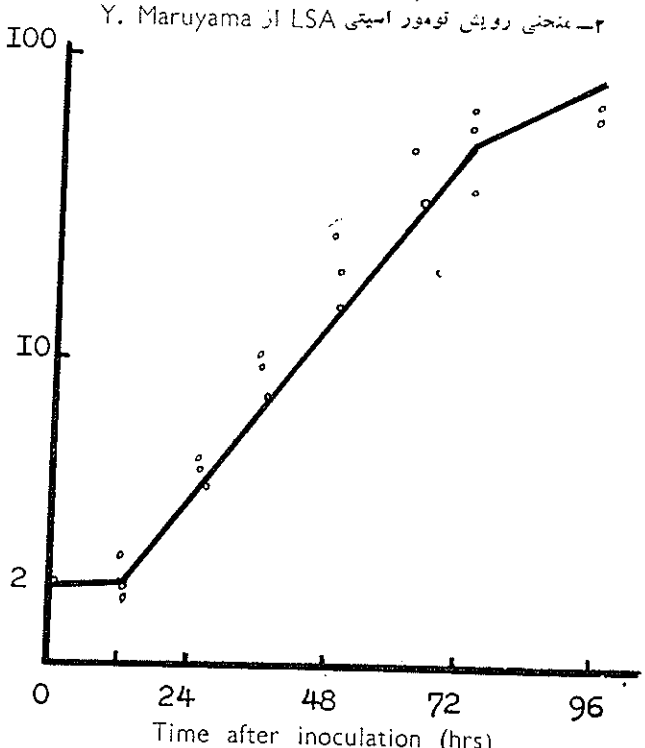
۳ـ اسباب اندازه‌گیری در این روش تنها یك ترازوست درصورتی که در روشهای دیگر اسبابهای مختلفی لازم است.

۴ـ برای بدست آوردن منحنی اشخاص مجرب لازم نیست وحتی یك تکنیسین معمولی آزمایشگاه میتواند هرروز با توزین نقاط منحنی را تعیین کند .

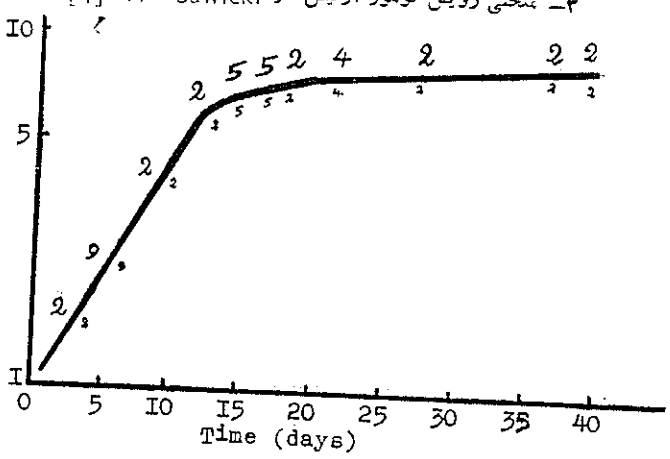
۵ـ وبالاخره مزیت مهمتر ازهمهٔ این روش آنست که در حقیقت تنها تعدادسلولهای سرطانی درسه مرحله رویش بوسیله



۲ـ منحنی رویش تومور اسیتی LSA از Y. Maruyama



۳ـ منحنی رویش تومور ارلیش از W Sawicki [۹]



۴ـ منحنی رویش تومور ارلیش در میکروشامبر Rigby [۲] ←

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

تابلوی ۲ـ تابلوی مربوط به میانگین اختلاف وزن ۲ موش توموری و شاهدهای مربوط به‌آنها:

میانگین اختلاف‌وزن	میانگین وزن۲ موش‌شاهد	میانگین وزن ۲موش‌توموری	شماره‌روزها
۰	۳۱	۳۱	۱
۱/۵	۳۲	۳۵/۵	۲
۱	۳۲	۳۳	۳
—	—	—	۴
۵	۳۱	۳۶	۵
۷	۳۱	۳۸	۶
۹	۳۲	۴۱	۷
۱۲/۵	۳۲/۵	۴۵	۸
۱۳/۵	۳۵	۴۸/۵	۹
۱۵/۵	۳۲	۴۷/۵	۱۰
۱۵/۵	۳۵/۵	۴۹	۱۱
۱۸	۳۳	۵۱	۱۲
۲۰	۳۳	۵۳	۱۳
۲۰	۳۴	۵۴	۱۴
۲۲/۵	۳۵/۵	۵۷	۱۵
۲۸	۳۴	۶۲	۱۶

تعیین اختلاف وزن بدست میآید و بطور اتوماتیك 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 یاکاهش سنتز و یاکم شدن سرعت رویش در اثر بزرگ شدن تومور و یا عوامل متعدد دیگـ ی رخ دهند از روی منحنی حاصل بهتر میتوان باین اثرات پی‌برد.

بحث

از منحنی‌های رویش بدست آمده چنین نتیجه میشودکه رویش از سه مرحله تشکیل شده است.

مرحله اول ـ سرعت رویش‌کم و طبق سایر منحنی‌هایی که توسط سایر محققین از راههای مختلف بدست آمده اصولا تا روز سوم یا چهارم منحنی‌کاملا دقیق بدست نمیآید اما در مرحلهٔدوم تغییرات منحنی‌کاملالگاریتمی‌است (با شیب زیاد) ولی در مرحله سوم بازهم‌منحنی نمایش رویش سلولها مستقیم نبوده ودارای شیب‌کمتری است یعنی دراین قسمت برخلاف نظریه سایرمحققین‌که ازراههای دیگرمنحنی رابدست‌آورده‌اند بهیچوجه منحنی با محور xها کاملا موازی نیست (برعکس دراین قسمت نتایج کارهای مابا نتایج کارهای دکتر مـارویاما (Yosh Maruyama) [۶] کـه از راه استفـاده ایـزوتوپهـا منحنی رویش را مطالعه‌کرده تا اندازه‌ای مطابقت دارد. این محقق ضریب رویش را در جفـره صفاق بـرای قسمت دوم یعنی‌لگاریتمی حدود ۳۵ وبرای قسمت سوم ۲۵ بدست‌آورده است). خلاصه طبق منحنی ما بزرگترین اشکال تعیین منحنی صحیح ازبین رفته است زیرا بطریق توزین موضوع مهاجرت و وجود یا عدم پلاتو باکمال وضوح‌روشن شده استومیتوان تقریباً باکمال اطمینان‌گفت‌که اولا پلاتو به‌آن معنائی‌که در اکثرکارها از راه شمارش بدست آمده وجود ندارد بلکـه در مرحله آخر رویش تنها شیب منحنی‌کم میشود و اگر در این آزمایش مهاجرتی هم دربین‌بوده اثرآن بخوبی‌دراندازه‌گیری وارد شده است. بنابراین بایدگفت‌که بر خـلاف عقیده بیشتر محققین‌که مرحله سوم را پلاتو میدانند و نیزبرخلاف عقیده دکتر Yosh که معتقد است درتمام مدتی‌که موش زنده است رویش لگاریتمی انجام میگیرد(منتها بعلت اینکه از ۲۴ساعت بعد از تزریق مهاجرت بتمام اعضاء شروع میشود عملا در این فاز منحنی لگاریتمی بدست نمیآید)، طبق آزمایش ما در اواخر رویش‌کاهش واضحی در سرعت آن پیدا میشود کـه باحتمال قوی مربوط خواهد بود بسایرعلل فرعی نه‌مهاجرت که در بالااشاره شد مخصوصاً با توجه به‌تحقیق‌مارویاما[۵] که محاسبه تنها درمیکرو شامبر انجام‌گرفته وبهیچوجه‌خروج سلولها و مهاجرت آنها در این آزمایش امکان ندارد باز هم در مراحل آخر رویش شیب منحنی‌کم می‌شود و شاید بتوان گفت‌که‌کم رسیدن غذا یا مرگ سلولها یا سایر عوامل باعث میشوندکه در مراحل آخرمنحنی رویش لگاریتمی نباشد.

خلاصه

دراکثر تحقیقاتی‌که درباره سلولهای سرطـانـی انجـام می‌گیرد از منحنی رویش این سلولهـا استفاده میشود و این منحنی را از راه شمارش سلولهای سرطانی‌که هم مشکل وهم خطاهای زیادی در بردارد بدست میآورند. دراین‌نوشته‌روش جدیدی جهت بدست آوردن این منحنی معرفی شده‌که اولا ساده‌تر و ثانیاً درعین حال خطاهای آن‌کمتراست.

برای بدست آوردن منحنی از این راه دو دسته موش بکار رفته‌که هردودسته ۳ـ۲ماهه بوده‌اند ووزن آنها باتقریب یك‌گرم با هم برابرانتخاب شده‌اند. در یك دسته یك‌سانتیمتر مکعب از محلول سلولهای سرطانی ارلیخ‌که شامل یك‌میلیون سلول بوده در مایع صفاق تزریق‌گردیده ودسته دوم بعنوان شاهد انتخاب شده است. غذای هردوگـروه و سایر شرایط نگهداری‌کاملا یکسان بوده هر روزصبح موشهای هردودسته توزین‌گردیده و اختلاف وزن آنهاتعیین شده است. ازمیانگین این اختلاف ـ وزن تومور درروزهای مختلف معین شده‌است

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]

و درنتیجه منحنی رویش ساولهای ارلیخ در روزهای بعد از تزریق در مایع صفاق بدست آمده است. مقایسه منحنی‌بدست آمده با منحنی‌های دیگری‌که باروش شمارش تعیین شده نشان میدهدکه دقت این منحنی‌کمتر از آنها نبوده وبعلاوه دارای مزایای زیر است :

۱ـ روش ترسیم فوق‌العاده آسان است .

۲ـ در این روش بهیچوجه دستگاههای اندازه‌گیری آلوده نمیشوند .

۳ـ برای این آزمایش اشخاص مجرب لازم نیست .

و بالاخره مهمتر از همه آنکه تردیدی‌که در قسمت سوم منحنی (قسمت پلاتو) در سایر روشها پیش میآید در این روش وجود ندارد .

تشکر

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

REFERENCES

1- Burns. E R., *Cancer Research*. 28: 1191. 1968.

2- Brenneman. 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.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-20]