ارزیابی سمیت یک ترکیب دریایی ضدتومور (HESA-A) در موش سوری و موش صحرایی

دکتر مهدی بلالی مود[1]- دکتر امرا.. احمدی[2]- دکتر کیا بلالی مود[3]- دکتر تقی قفقازی[4]- دکتر پروین رجبی[5]- دکتر مسیح ا.. طاهر[6]

چکیده

زمینه و هدف: HESA-A یک ترکیب دریایی است که بتازگی مجوز تولید در جمهوری اسلامی ایران را دریافت کرده و در مطالعات In-vivo و In-vitro خواص ضدتوموری از خود نشان داده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین سمیت حاد، تحت حاد و مزمن HESA-A در موش سوری و موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: آزمایش سمیت حاد HESA-A (۰/۵-۱۸ g/kg) به طور خوراکی در گروههای مختلف از موش سوری و موش صحرایی انجام شد. آزمایش سمیت تحت حاد (۱۰ g/kg/day برای یک هفته) بر روی موش صحرایی و آزمایش سمیت مزمن دردوزهای مختلف (۱/۲۵-۵ g/kg/day برای ۳۰ روز) روی گروههای مختلف موش سوری به عمل آمد. یافته‌های غیرطبیعی بالینی، تغییرات وزن و دمای‌بدن، همچنین بررسیهای بیوشیمیایی، خون‌شناسی و آسیب‌شناسی ثبت گردید.

یافته‌ها: اثرات سمی حاد، بعد از HESA-A ۱۰g/kg مشاهده گردید و LD50 برای موش سوری و موش صحرایی به ترتیب g/kg ۱۶ و ۱۸g/kg محاسبه شد. وزن بدن موش‌هایی که HESA-A ۱۸g/kg دریافت کرده بودند، در روز چهاردهم و پس از مرگ به طور معنی‌دار کاهش یافته بود (P<۰/۰۵). سمیت تحت حاد و مزمن HESA-A فقط در ۳ موش سوری و موش‌هایی که g/kg/day ۵ از دارو را برای مدت ۳۰ روز دریافت کرده بودند، مشاهده شد. خواب آلودگی، استفراغ، اسهال و تشنج، یافته‌های شایع بودند. وزن بدن موش‌های صحرایی کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) از ۲۱±۲۰۰ گرم به ۲۲±۱۵۶ گرم در روز چهاردهم داشت. در تعداد اندکی از موش‌های سوری و در گروه موش‌هایی که روزانه HESA-A ۵g/kg/day را برای ۳۰ روز دریافت کرده بودند، ارتشاح خفیف لنفوسیت‌ها در بافت کبد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس این نتایج، HESA-A سمیت بسیار کمی برای موش‌های سوری و موش‌های صحرایی دارد.

واژه‌های کلیدی: سمیت حاد؛ تحت حاد و مزمن؛ دارو؛ HESA-A

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۲؛ شماره ۱ و ۲؛ سال ۱۳۸٤)

[1] نویسنده مسؤول؛ استاد گروه آموزشی داخلی (سم‌شناسی پزشکی)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
آدرس: مشهد- صندوق پستی ۳۴۸-۹۱۷۳۵ تلفن: ۸۵۹۸۹۷۳-۰۵۱۱ نمابر: ۸۸۱۳۷۱۴- ۰۵۱۱ پست الکترونیکی: mbalalimood@hotmail.com
[2] پزشک محقق انستیو تحقیقات سرطان، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[3] محقق گروه آموزشی بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه اکسفورد انگلستان
[4] استاد گروه آموزشی فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
[5] استاد گروه آموزشی آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
[6] استادیار گروه آموزشی بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

مقدمه

از آنجا که اغلب داروهای ضد سرطان شیمیایی، عوارض جانبی و سمیت زیادی دارند، تحقیقات جدید بر روی ترکیبات طبیعی متمرکز شده است. HESA-A یک ترکیب بیولوژیک دریایی است که بتازگی مجوز تولید را در جمهوری اسلامی ایران دریافت کرده است. خواص ضد توموری این دارو قبلاً گزارش شده است (۱).

صادقی علی‌آبادی و احمدی در تحقیق خود نشان دادند که HESA-A (۰/۱ mg/ml) تعداد سلول‌های زنده MDA-MD-468 را بیش از ۵۰٪ کاهش می‌دهد؛ در مطالعه ایشان IC_{50} در Hela و Hepll به ترتیب ۰/۲ و ۰/۴ mg/ml بود. IC_{50} HESA-A در سلول‌های طبیعی، برای هر غلظتی از محدوده ۰/۰۵-۱ mg/ml غیر قابل دستیابی بود. نتایج این پژوهش نشان داد که HESA-A سلول‌های سرطانی را به طور انتخابی و وابسته به غلظت مهار می‌کند و اثر بارزی روی سلول‌های طبیعی ندارد (۱).

در یک مطالعه کنترل شده، احمدی و همکاران، در استخوان فمور ۱۰ خرگوش، تومور استئوسارکوم را ایجاد و آن را با HESA-A (روزانه ۳۵۰mg/kg) درمان کردند. در گروه درمان شده، تومور بتدریج کوچک و در عرض ۱۰ هفته ناپدید شد؛ به نحوی که تمام ۵ خرگوش این گروه زنده ماندند ولی ۵ خرگوش گروه شاهد در این مدت مردند. بررسیهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی از قبیل شمارش سلول‌های خون، آزمایشهای عملکرد کلیوی و کبدی، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار آماری بین دو گروه نشان نداد. بررسیهای آسیب‌شناسی، استئوسارکوم و اثرات درمانی HESA-A را تایید کردند؛ بررسی آسیب‌شناسی در خرگوش‌های درمان‌شده، هیچ تغییری در سلول‌های طبیعی نشان نداد (۲).

HESA-A حاوی ۴۵٪ ترکیبات آلی از نوعی آمیدو آنتراکینون می‌باشد که دارای خواص ضد توموری است (۳)؛ بقیهٔ آن را ترکیبات معدنی از اکسیدها و نمک‌های عناصری مانند Mn, Zn, Ni, Se و Co تشکیل می‌دهد که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد توموری بعضی از آنها مانند ترکیبات Ni و Se گزارش شده است (۴-۱۲).

سیتوتوکسی‌سیتی HESA-A قبلاً گزارش شده است (۱)؛ ولی آزمایش سمیت In-vivo این ترکیب تاکنون گزارش نشده است. تحقیق حاضر با هدف تعیین سمیت حاد، تحت حاد و مزمن HESA-A در موش سوری و موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

مطالعه براساس روشهای استاندارد علمی طراحی گردید (۱۳، ۱۴).

مواد شیمیایی:

در این تحقیق از کربوکسی متیل سلولز (Merk)، معرف‌های شیمیایی استاندارد برای اتوماسیون هماتولوژی و بیوشیمی، فرمالدئید و سایر مواد شیمیایی استاندارد برای بررسیهای آسیب‌شناسی استفاده شد. HESA-A توسط آقای دکتر احمدی، دارنده امتیاز این دارو، هدیه شد).

آماده‌سازی نمونه دارو:

HESA-A به صورت پودر نرم ساییده و به محلول کربوکسی متیل سلولز (CMS) ۱٪ (۱ گرم در ۱۰۰ml) اضافه شد تا یک سوسپانسیون هموژن به دست آید.

آزمایش سمیت حاد:

۱۴۴۰ موش سوری (۳/۹g±۲۱) و ۴۰ موش صحرایی نژاد ویستار (۲۵g±۱۹۰) از هر دو جنس (به نسبت ۱:۱) انتخاب شدند. از نمونه‌ها در وضعیت ۱۲ ساعت نور/ تاریکی و در دمای ۲a°C±۲۲ با رطوبت نسبی ۵۰٪ و تهویه مناسب نگهداری شد. حیوانات با آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی تغذیه و از یک هفته قبل با شرایط آزمایش وفق داده شدند.

مطالعه اولیه برای دوز کشنده میانی:

موش‌های سوری و صحرایی به طور تصادفی به ۱۰ گروه دوتایی تقسیم شدند. تمام گروهها نسبت مساوی از نر و ماده داشتند. سوسپانسیون HESA-A به میزان ۰/۵ mg/kg

تا mg/kg ۸ از طریق لوله تغذیه به ۹ گروه از موش‌های سوری و ۹ گروه از موش‌های صحرایی تجویز گردید. گرچه در آزمایش سمیت حاد نیازی به گروه شاهد نیست، ولی به گروه دهم از هر حیوان، به عنوان گروه شاهد، فقط سوسپانسیون ۱٪ CMS تجویز شد. چنانچه در جدول ۱ نشان داده شده است، بعد از ۲۴ ساعت ۲ موش از گروه ۸ و ۹ و فقط ۱ موش صحرایی از گروه ۹ فوت شدند.

تعیین آثار سمی احتمالی و دوزهای کشنده:

بر اساس یافته‌های مطالعه اولیه، ۵ گروه ۴ تایی از موش سوری و ۵ گروه ۴ تایی از موش صحرایی با نسبت جنسی برابر در هر گروه به طور تصادفی انتخاب شدند. به ۴ گروه اول موش‌ها، HESA-A به ترتیب با دوزهای ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ g/kg داده شد. به ۴ گروه اول موش‌های صحرایی HESA-A به ترتیب ۱۲،۱۴،۱۶و ۱۸g/kg داده شد. گروه پنجم از موش سوری و هم از موش صحرایی به عنوان شاهد منفی انتخاب شدند.

حیوانات روزانه به مدت ۱۴ روز تحت نظر گرفته شدند. وزن و دمای بدن آنها قبل از تجویز دارو، در روزهای هفتم و چهاردهم اندازه‌گیری شد. هر گونه یافته غیر طبیعی از قبیل خواب آلودگی، سیانوز، پرشهای عضلانی، تشنج و اسهال ثبت شد. حیوانات مرده هر روز شمارش و از قفس خارج شدند.

آزمایش سمیت تحت حاد و مزمن حیوانات

۴۰ موش سوری با وزن ۳g±۲۲ و ۲۰ موش صحرایی نژاد ویستار با وزن ۲۰g±۲۰۰ با نسبت جنسی برابر انتخاب شدند و از آنها در شرایط ذکر شده در بالا نگهداری شد.

سمیت تحت حاد:

موش‌های صحرایی به طور تصادفی به دو گروه ۱۰تایی تقسیم شدند؛ به گروه تجربی HESA-A ۱۰ g/kg خوراکی با لوله تغذیه به مدت ۷ روز داده شد و گروه شاهد ۱٪ CMS دریافت کرد. حیوانات روزانه به مدت ۱۴ روز از نظر نشانه‌های خواب آلودگی، سیانوز، تشنج، استفراغ و اسهال تحت نظر قرار گرفتند. وزن و دمای بدن آنها قبل از تجویز و سپس به طور هفتگی اندازه‌گیری شد.

برای بررسیهای آسیب‌شناسی پس از مرگ، روز سی‌ام، موش‌های صحرایی کشته شدند. این بررسیها توسط یک نفر متخصص آسیب‌شناسی با تجربه، با میکروسکوپ نوری و روش آماده‌سازی و رنگ‌آمیزی استاندارد انجام شد.

جدول ۱- نتایج مطالعه اولیه میانه دوزهای کشنده HESA-A در موش سفید کوچک و موش صحرایی

شماره گروه	دوز(g/kg)	شماره حیوان	تعداد موش سفید کوچک مرده	تعداد موش صحرایی مرده
۱	۰/۵	۲	۰	۰
۲	۱	۲	۰	۰
۳	۲	۲	۰	۰
۴	۴	۲	۰	۰
۵	۶	۲	۰	۰
۶	۸	۲	۰	۰
۷	۱۰	۲	۰	۰
۸	۱۲	۲	۱	۰
۹	۱۴	۲	۱	۱
۱۰	شاهد	۲	۰	۰

سمیت مزمن:

تعداد ۴۰ موش سوری به طور تصادفی در چهار گروه ده‌تایی قرار داده شدند. به سه گروه اول از طریق خوراکی با لوله تغذیه به ترتیب ۱/۲۵، ۲/۵۰ و ۵/۰۰ g/kg، HESA-A و به گروه چهارم به عنوان شاهد، ۱٪ CMS تجویز شد. تمام دوزها روزانه به مدت ۳۰ روز تجویز شدند. وزن و دمای بدن آنها قبل از تجویز و سپس به طور هفتگی اندازه‌گیری شد. حیوانات از نظر هر گونه یافته غیرطبیعی از قبیل خواب آلودگی، سیانوز، تشنج، استفراغ و اسهال روزانه به مدت ۳۰ روز تحت نظر قرار گرفتند. بعد از روز ۳۰، نمونه خون وریدژوگولار (۲ ml) موش‌های گروه ۳ و ۴ برای آزمایشات هماتولوژیک و بیوشیمی گرفته شد و سپس برای بررسیهای پس از مرگ کشته شدند. آزمایشات خون‌شناسی، عمدتاً شمارش سلول‌های خون با دستگاه اتوآنالیزر H1 (HP, USA) و آزمایشات بیوشیمیایی عمدتاً آنزیم‌های کبدی، با دستگاه اتوآنالیزر بیوشیمی‡‡ انجام شدند. بررسیهای آسیب‌شناسی پس از مرگ به روشی که در آزمایش سمیت تحت حاد ذکر شد، انجام گرفت.

اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمونهای t-student (جفتی و مستقل)، Chi-Square، Fisher Exact در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

از آنالیز واریانس و همبستگی Spearman برای مقایسه بین گروهها و ارتباطات آنها استفاده گردید. مقادیر عددی محاسبه شده به صورت میانگین و انحراف معیار محاسبه شد.

یافته‌ها

آثار سمی حاد

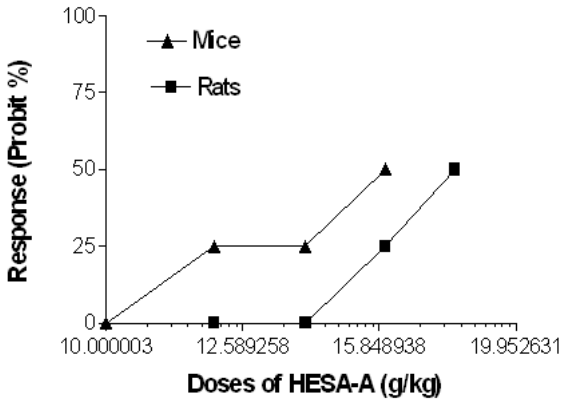
هیچ اثر سمی در موش‌های سوری و صحرایی به ترتیب تا دوز ۱۰ و ۱۲ g/kg مشاهده نشد. با این حال موش‌های سوری بیش از موش‌های صحرایی از دوزهای بالای ۱۲ g/kg HESA-A متأثر شدند. خواب‌آلودگی، استفراغ و اسهال تنها یافته‌های بالینی تعداد کمی از آنها بخصوص موش‌های سوری قبل از مرگ بود. کاهش وزن و افزایش دمای بدن در موش‌های صحرایی نسبت به موش‌های سوری واضح تر بود (جدول ۲ و ۳). با این وجود دمای بدن هیچ یک از گروههای تجربی، افزایش معنی‌داری پیدا نکرد ولی وزن بدن موش‌های صحرایی گروه چهارم در روز چهاردهم و پس از مرگ کاهش معنی‌داری داشت.

آثار کشنده:

اثرات کشنده HESA-A در گروههای مختلف موش‌ها و موش‌های صحرایی در جدول ۴ نشان داده شده است. بین دوز HESA-A و مرگ و میر موش‌ها ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. منحنی دوز- پاسخ در نمودار ۱ نشان داده شده است. بر اساس این یافته‌ها، LD_{50} خوراکی HESA-A در موش‌ها و موش‌های صحرایی به ترتیب تقریباً ۱۶ و ۱۸ g/kg محاسبه گردید.

سمیت تحت حاد:

همان طور که انتظار می‌رفت، هیچ نشانه غیر طبیعی در گروه شاهد مشاهده نشد. در گروه تجربی، خواب‌آلودگی در سه موش صحرایی، استفراغ و اسهال در ۲ مورد و تشنج فقط در ۱ مورد مشاهده گردید. دمای بدن افزایش خفیف و وزن بدن کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۵).



نمودار ۱- منحنی پاسخ سمیت دوزهای مختلف HESA-A

‡‡ Technicon,USA

در گروههای مختلف موش‌های سفید کوچک و موش صحرایی

بررسیهای آسیب‌شناسی پوست، عضلات، استخوانها، مغز، قلب، ریه‌ها، کبد، طحال، معده و روده‌ها فقط ارتشاح لنفوسیت‌ها را در بافت کبد نشان دادند؛ بنابراین به جز یافته پاتولوژیک فوق، هیچ تفاوت دیگری در بررسیهای پس از مرگ بین دو گروه تجربی و شاهد مشاهده نگردید.

سمیت مزمن:

هیچ‌گونه نشانه بالینی مسمومیت از قبیل خواب آلودگی، سیانوز، تشنج، استفراغ یا اسهال و بنابراین هیچ مورد مرگ و میر در موش‌های گروههای مختلف که تا ۳۰ روز تحت نظر بودند، مشاهده نشد. تا پایان مطالعه، وزن و دمای بدن هیچ گروهی تغییر معنی‌دار نداشت. در هر یک از موش‌های دو گروه اول، وزن بدن به طور خفیف (۲–۵ گرم) افزایش یافت.

تعداد گلبول‌های سفید گروه تجربی (۳۵۶±۴۰۱۳) نسبت به گروه شاهد (۳۲۵±۳۸۷۸) کمی بالاتر بود؛ در حالی که تعداد گلبول‌های قرمز پایین‌تر گزارش شد (جدول ۶).

ترانس آمینازها (AST, ALT) در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد افزایش داشت ولی برعکس دو آنزیم دیگر (آلکالن فسفاتازولاکتیک دهیدروژناز) کاهش نشان داد؛ با این حال هیچ یک از این تفاوتها از نظر آماری معنی‌دار نبودند.

بررسیهای پس از مرگ حیوانات، هیچ‌گونه تفاوتی بین گروه تجربی و شاهد به جز در گروه سوم نشان ندادند. در این گروه، موش‌ها روزانه به مدت ۳۰ روز g/kg ۵، HESA-A دریافت کردند و ارتشاح خفیف از نوع سلول‌های لنفوسیتیک در بافت کبد آنها مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان همچنان علت عمده مرگ و میر در اغلب کشورهاست و در بیشتر انواع این بیماریهای بدخیم، هیچ درمان مؤثری وجود ندارد.

براساس اطلاعات سازمان بهداشت جهانی، سرطان بعد از بیماریهای قلبی– عروقی دومین علت شایع مرگ است. سرطان عامل ۲۴٪ از کل موارد مرگ و میر در دنیای غرب محسوب می‌شود. در کشورهای اروپایی نیز سالانه بیش از ۷۵۰ هزار بیمار به علت سرطان فوت می‌کنند (۱۵).

جدول ۲- تغییرات درجه حرارت و وزن موش‌های سفید کوچک بعد از تجویز HESA-A برای آزمایش سمیت حاد

شماره گروه	دوز دارو (g/kg)	قبل از تجویز دارو		۷ روز بعد از تجویز دارو		۱۴ روز بعد از تجویز دارو		بعد از مرگ	
		حرارت (°C)	وزن (g)	حرارت (°C)	وزن (g)	حرارت (°C)	وزن (g)	حرارت (°C)	وزن (g)
۱	۱۰	۳۷/۴±۰/۲	۲۱±۳	۳۷/۸±۰/۶	۲۰±۴	۳۷/۲±۰/۹	۱۸±۵	۰	۰
۲	۱۲	۳۷/۵±۰/۱	۲۰±۴	۳۷/۱±۰/۵	۱۹±۵	۳۷/۳±۰/۷	۱۷±۳	۳۷/۱	۱۶
۳	۱۴	۳۷/۵±۰/۱	۲۰±۳	۳۷/۹±۰/۶	۱۸±۶	۳۷/۴±۰/۸	۱۶±۲	۳۷/۴	۱۶
۴	۱۶	۳۷/۴±۰/۲	۲۱±۳	۳۷/۱±۰/۲	۱۷±۵	۳۷/۶±۰/۵	۱۵±۴	۳۷/۳±۰/۴	۱۴±۳
۵	۰	۳۷/۵±۰/۲	۲۱±۲	۳۷/۵±۰/۳	۲۳±۲	۳۷/۴±۰/۴	۲۴±۳	۰	۰

جدول ۳- تغییرات درجه حرارت و وزن موش‌های صحرایی بعد از تجویز HESA-A برای آزمایش سمیت حاد

شماره گروه	دوز دارو (g/kg)	قبل از تجویز دارو		۷ روز بعد از تجویز دارو		۱۴ روز بعد از تجویز دارو		بعد از مرگ	
		حرارت (°C)	وزن (g)	حرارت (°C)	وزن (g)	حرارت (°C)	وزن (g)	حرارت (°C)	وزن (g)
۱	۱۲	۳۸/۰±۰/۱	۱۹۱±۲۳	۳۸/۳±۰/۴	۱۸۷±۲۴	۳۸/۷±۰/۵	۱۸۳±۱۵	۰	۰
۲	۱۴	۳۷/۹±۰/۲	۱۸۹±۲۴	۳۸/۱±۰/۴	۱۸۵±۲۵	۳۸/۴±۰/۶	۱۸۰±۲۳	۰	۰
۳	۱۶	۳۸/۰±۰/۱	۱۹۰±۲۲	۳۸/۵±۰/۶	۱۸۳±۲۶	۳۸/۶±۰/۴	۱۷۶±۲۹	۳۷/۵	۱۶۹
۴	۱۸	۳۷/۹±۰/۲	۱۹۰±۲۳	۳۸/۴±۰/۴	۱۶۷±۲۸	۳۸/۸±۰/۵	۱۴۵±۲۱	۳۷/۶±۰/۴	۱۴۱±۲۸

۵	۰	۳۸/۰±۰/۲	۱۸۸±۲۵	۳۷/۹±۰/۲	۱۹۵±۲۴	۳۴/۵±۰/۲	۱۹۹±۲۳	۰	۰

جدول ٤- اثرات کشندگی HESA-A در موش‌های سفید کوچک و موش صحرایی (٤ حیوان از هر گروه)

شماره گروه	دوز (g/kg)		موش سوری		موش صحرایی	
	موش سوری	موش صحرایی	روز هفتم	روز چهاردهم	روز هفتم	روز چهاردهم
۱	۱۰	۱۲	۰	–	۰	–
۲	۱۲	۱۴	۱	۳	۰	–
۳	۱۴	۱۶	۱	۲	۱	۳
۴	۱۶	۱۸	۲	۳	۲	۲
۵	۰	۰	۰	–	۰	–

جدول ٥- تغییرات درجه حرارت و وزن موش‌های صحرایی بعد از تجویز (۱۰ g/kg/day) HESA-A به مدت یک هفته

گروهها	درجه حرارت (°C)			وزن (g)		
	قبل از تجویز دارو	روز ۷	روز ١٤	قبل از تجویزدارو	روز هفتم	روز چهاردهم
تجربی	۳۴/۵±۰/۱	۳۵/۲±۰/۲	۳۵/۳±۰/۳	۲۰۰±۲۱	۱۶۸±۲۵	۱۵۶±۲۲
شاهد	۳۴/۵±۰/۲	۳۴/۶±۰/۲	۳۴/۵±۰/۳	۲۰۰±۱۹	۲۰۵±۱۹	۲۰۹±۲۱

جدول ٦- خلاصه نتایج هماتولوژی و بیوشیمیایی بعد از تجویز متمادی (۵ g/kg/day) HESA-A به مدت ۳۰ روز در موش‌های سفید کوچک

گروهها	RBC* ($\times 10^6$)	WBC** ($\times 10^3$)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Alk.Phosph. (U/L)	LDH (U/L)
تجربی	۶/۱۴۳±۰/۸۳۴	۴/۰۱۳±۰/۳۵۶	۳۳۰±۶۹	۹۲/۹±۱۷/۱	۱۳۸/۲±۶۵/۷	۵۵۷۰±۱۳۸۰
شاهد	۶/۶۴۴±۰/۹۸۵	۳/۸۷۸±۰/۳۲۵	۲۸۴±۵۷	۷۶/۷±۲۶/۶	۱۵۴/۳±۲۹/۶	۶۳۰۵±۳۶۷

*RBC: گلبول قرمز **WBC: گلبول سفید

در حال حاضر پس از تشخیص آسیب‌شناسی سرطان، انتخاب درمان، وابسته به نوع و میزان پیشرفت آن دارد. شیمی‌درمانی سیستمیک عمدتاً برای انواع متاستاتیک و پیشرفته‌تر سرطان به کار می‌رود. ترکیبات شیمی‌درمانی به دو دسته کلی سنتیتیک و طبیعی تقسیم می‌شوند.

با وجود پیشرفتهای اخیر در فارماکولوژی و شیمی دارویی، ۲۵٪ از کل داروهای تجویز شده، مشتقات محصولات طبیعی هستند. در مورد داروهای ضد سرطان این رقم به بیش از ۸۰٪ می‌رسد. HESA-A نیز یک ترکیب طبیعی با منشأ دریایی است که خواص ضد سرطانی آن به طور In-vitro (۱) و In-vivo (۲) آزمایش شده و اثر انتخابی بر روی سلول‌های تومورال نشان داده است. سیتوتوکسیستی HESA-A نیز آزمایش شده و خوشبختانه اثرات سیتوتوکسیک بر روی سلول‌های طبیعی نداشته است. این مطالعه بر اساس روش استاندارد علمی (۱۴،۱۳) طراحی گردید تا اطلاعات سم‌شناسی معتبری در این خصوص به دست آید. از آنجا که اطلاعی از سمیت In-vivo و دوز کشنده آن در دست نبود، یک آزمایش مقدماتی سمیت حاد که برای تخمین دوز کشنده HESA-A انجام شد، نشان داد که این دارو به ترتیب در موش و موش صحرایی ۱۲ و ۱۴ g/kg برای ۲۴ ساعت کشنده نیست. بر اساس این یافته‌ها، آزمایش سمیت حاد طراحی و بر روی گروههای مختلف

موش‌ها و موش‌های صحرایی انجام شد. نتایج نشان داد HESA-A هیچ‌گونه مسمومیتی در موش‌های سوری و موش‌های صحرایی به ترتیب تا دوز ۱۰ و ۱۲ g/kg تا ۱۴ روز ایجاد نکرد؛ به عبارت دیگر HESA-A در این حیوانات سمیت حادی ندارد، ولی وزن بدن موش‌های صحرایی در روز چهاردهم پس از مصرف ۱۸ g/kg، HESA-A به طور معنی‌داری کاهش نشان داد.

در مجموع به نظر می‌رسد این ترکیب طبیعی دارای سمیت بسیار اندکی است. در واقع LD_{50} HESA-A خوراکی در موش و موش خرما به ترتیب ۱۶ و ۱۸ g/kg تخمین زده شد. مطابق طبقه‌بندی سموم بر اساس شدت سمیت (۱۴) HESA-A در گروه ترکیباتی که عملاً غیرسمی نامیده می‌شوند، قرار می‌گیرد؛ زیرا LD_{50} آن بالای ۱۵ g/kg می‌باشد.

آزمایش سمیت تحت حاد و مزمن بر پایه نتایج حاصل از آزمایش سمیت حاد طراحی و بر روی این حیوانات انجام شد. در آزمایش سمیت تحت حاد، نشانه‌های اندکی دال بر اثرات سمی ۱۰ g/kg/day HESA-A در موش‌های صحرایی مشاهده شد و بررسیهای آسیب‌شناسی فقط ارتشاح لنفوسیتی خفیف در کبد را نشان دادند. با این حال، وزن بدن موش‌های صحرایی در روز چهاردهم کاهش معنی‌داری داشت.

در آزمایش سمیت مزمن، تحت نظر گرفتن بالینی موش‌ها باعث آشکارشدن نشانه‌های بسیار اندکی از سمیت بخصوص در CNS و لوله گوارش موش‌ها شد. با این وجود، وزن و دمای بدن حتی با ۵ g/kg/day تا روز سی‌ام تغییر معنی‌داری نشان نداد. جالب توجه است موش‌های دو گروهی که ۱/۲۵ و ۲/۵ g/kg/day، HESA-A دریافت کردند، رشد کردند و وزنشان در روز سی‌ام، ۲–۵ گرم افزایش یافت.

بررسیهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی هیچ تغییر معنی‌داری را نشان ندادند، اما بررسی آسیب‌شناسی ارتشاح خفیف لنفوسیتی را در کبد مشخص کرد.

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش سمیت تحت حاد و مزمن، HESA-A سمیت بسیار کمی دارد و به طور خوراکی می‌تواند برای هفته‌ها یا ماهها تجویز گردد. سمیت بسیار کم HESA-A می‌تواند به علت عناصر کمیاب و سایر عناصر با سمیت پایین و حتی خواص آنتی‌اکسیدان بعضی از اجزای سازنده آن نظیر سلینیوم باشد. مشخص شده است که عناصر کمیاب برای سلامت و ادامه حیات بدن ضروری هستند و کمبود آنها می‌تواند سبب بروز سرطان شود؛ به عنوان مثال سلنیوم یک عنصر کمکی در درمان سرطان است که وارد سلول‌های سرطانی می‌شود و با قلیایی کردن آنها، سلول‌ها را تخریب می‌کند.

مولیبدینیوم یکی از اجزای اصلی متالوآنزیم‌های مختلف است. سلنیم یک عنصر آنتی‌اکسیدان مؤثر است و کمبود آن سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان می‌شود (۴). استرانسیوم نیز یک عنصر کمیاب ضروری است که مانند سایر عناصر کمیاب، رشد سلول‌های طبیعی را تقویت می‌کند.

Hall و همکاران نشان دادند که فعالیت ضد توموری کمپلکس‌های کربن با یک یا دو فلز واسطه نظیر Mo, Co, Fe و وانادیم، از طریق مهار فعالیت DNA توپوایزومراز انسانی II انجام می‌شود (۹).

Auvert و همکاران، گزارش کردند ایریدیوم ۱۹۲ می‌تواند برای درمان تومورهای کوچک بدخیم مثانه به کار رود (۱۶). مطالعه Hiraoka و همکاران، نشان داد که استئوسارکوم القا شده در موش‌ها، با Se بدون سمیت برای سلول‌های طبیعی مهار می‌شود (۷).

Wong و همکاران (۱۲) و Blot و همکاران (۱۷) گزارش کردند که مکمل های روزانه از ترکیب رتینول و روی، ریبوفلادین و نیاسین، ویتامین C و Mo، بتاکاروتن، آلفاتوکوفرول و Se کشندگی سرطان را کم می‌کنند.

به نظر می‌رسد آثار HESA-A بر روی سلول‌های سرطانی و سمیت پایین آن به دلیل وجود این عناصر کمیاب و مواد آنتی‌اکسیدان باشد؛ با این حال، لازم است قبل از تجویز HESA-A به عنوان داروی ضد سرطان در انسان،

سمیت آن در حیوانات آزمایشگاهی بزرگتر بررسی گردد.

تقدیر و تشکر

از زحمات کارکنان مرکز سم‌شناسی پزشکی بیمارستان امام رضا (ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد و نیز همکاری کارکنان بخشهای فارماکولوژی، بیوشیمی و پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

1- Sadeghi-Aliabadi H, Ahmadi A. Cytotoxicity and antitumor properties of a marine compound on cancer cells (HESA-A). MJIAS. 2000; 13: 55-61.

2- Ahmadi A, Mohgheghi MA, Sharif-Tabrizi A. Introducing the therapeutic effects of HESA-A on osteosarcoma induced in rabbits. Proceedings of the First National Congress on Cancer Research, Orumiah, Iran, 2001; 5-8 April.

3- Collier DA, Neidle S. Synthesis, molecular modelling, DNA binding and antitumor properties of some substituted amidoanthraquinones. J Med Chem. 1988; 31847-857.

4- Burk RF. Selenium, an antioxidant nutrient. Nutr Clin Care, , 2002; 5:75-79.

5- Costello AJ. A randomised, controlled chemoprevention trial of selenium in familial prostate cancer: Rational, recruitment and design issues. Urology. 2001; 57:182-84.

6- Fernandez-Banares F, Cabre E, Esteve M, Mingorance MD, Abad-Lacruz A, Lachica M, et al. Serum selenium and risk of large size colorectal adenomas in a geographical area with a low selenium status. Am J Gastroenterol. 2002; 97 (8): 2103-8.

7- Hiraoka K, Komiya S, Hamada T, Zenmyo M, Inoue A. Osteosarcoma cell apoptosis induced by selenium. J Orthop Res. 2001; 19 (5): 809-14.

8- Jouad el M, Thanh XD, Bouet G, Bonneau S, Khan MA. In vitro and in vivo effects of [Ni(M5FTSC)2Cl2] complex in cancer: preliminary tests. Anticancer Res. 2002; 22 (3): 1713-16.

9- Hall IH, Lackey CB, Kistler TD, Durham RW Jr, Russell JM, Grimes RN. Antitumor activity of mono- and dimetallic transition metal carborane complexes of Ta, Fe, Co, Mo, or W. Anticancer Res. 2000; 20 (4): 2345-54.

10- Melendez E. Titanium complexes in cancer treatment. Crit Rev Oncol Hematol. 2002; 42 (3): 309-15.

11- Rozen P, Lubin F, Papo N, Knaani J, Farbstein H, Farbstein M, et al. Calcium supplements interact significantly with long-term diet while suppressing rectal epithelial proliferation of adenoma patients. Cancer. 2001; 91 (4): 833-40.

12- Wang GO, Dawsey SM, LI J Y. Effects of vitamin mineral supplementation on the prevalence of histological dysplasia and early cancer of the esophagus and stomach: Results from the general population trial in Linxian, China. Cancer Epideiol Biomarkers Prev. 1994; 3: 161-66.

13- Paine AJ. General an Applied Toxicology. New York: McMillan Press; 1993. pp: 231-44.

14- Lu CF. Basic Toxicology. Washington: Taylor and Fransis; 1996. p: 80.

15- Cancer Research Campaign, Cancer in the European Community. Fact Sheet. 1992; 5-1.

16- Auvert J, Botto H, Pierquin B. Iridiun-192 wiring after partial cystectomy as a treatment of small malignant bladder tumors. Prog Clin Biol Res. 1984; 163B:87-93.

17- Blot WJ, Li JY, Taylor PR. The Linxian trials: Mortality rates by vitamin-mineral intervention group. Am J Clin Nutr. 1995; 1424S-1426S.

Toxicity evaluation of an antitumor marine compound (HESA-A) in mice and rats

M. Balali-Mood[1], A. Ahmadi[2], K. Balali-Mood[3], T. Ghafghazi[4], P. Rajabi[5], M. Taher[6]

Abstract

Background and Aim: HESA-A is a marine biological compound that was recently patented in the Islamic Republic of Iran, revealed anti-tumor properties in-vitro and in-vivo. The objective of this study was to investigate the acute, sub-acute, and chronic toxicity of HESA-A in mice and rats.

Materials and Methods: The acute toxicity testing of HESA-A (0.5-18 g/kg) orally in different groups of mice and rats were undertaken. Sub-acute toxicity testing of the drug (10 g/kg/day for a week) on rats and chronic toxicity testing of different doses of HESA-A (1.25-5.00 g/kg/day for 30 days) on different groups of mice were carried out. Clinical abnormalities, changes in body temperature and weight, biochemical, haematological and pathological investigations were recorded.

Results: Acute toxic effects of HESA-A occurred after 10 g/kg and the LD50s were calculated as 16 g/kg and 18 g/kg for mice and rats, respectively. The body weight of rats taken 18 g/kg of HESA-A reduced significantly ($P<0.05$) at day 14 and after death. Sub-acute and chronic toxic effects of HESA-A in rats and mice were observed only in a few rats and in the mice taken 5 g/kg/day of the drug for 30 days. Drowsiness, vomiting, diarrhoea and convulsions were the common findings. The body weight of rats decreased significantly ($P<0.05$) from 200±21 g to 156±22 g at day 14. In few rats and in the group of mice that received 5 g/kg HESA-A daily for 30 days, mild infiltration of lymphocytes in the liver tissues were observed.

Conclusion: Based on the results, HESA-A has very little toxic effect on mice and rats.

Key Words: Toxicity; Acute; Chronic; Drug; HESA-A

[1] Professor and Director, Medical Toxicology Centre, Imam Reza Hospital, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences. Mashhad, Iran
mbalalimood@hotmail.com
[2] Research Physician, Cancer Research Institute, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Post- Doctoral Researcher, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Oxford University, England
[4] Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences. Isfahan, Iran
[5] Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences. Isfahan, Iran
[6] Assistant Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences. Isfahan, Iran