مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۶۳/هفته اول بهمن ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۷

بررسی اثر Zinc protoporphyrin به همراه رادیوتراپی بر رشد ملانوما در موش‌های C۵۷BL۶

امیرعباس صامتی[۱]، فائزه مرتضوی[۲]، خاطره عبدالملکی[۲]، عطیه السادات هاشمیان[۱]، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کاهش بیان ژن هموکسیژناز با عود کمتر و پاسخ بهتر بعضی سرطان‌ها با رادیوتراپی همراه است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر Znpp (مهار کننده‌ی هموکسیژناز-۱) به همراه رادیوتراپی بر روی سلول‌های ملانوما در موش‌ها بود.

روش‌ها: برای انجام این مطالعه، تعداد ۲۴ موش به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. به همه‌ی موش‌ها در روز صفر مطالعه، سلول ملانوما تزریق شد و موش‌ها به مدت ۱۶ روز تیمار شدند. گروه اول و دوم، Znpp ۲۰۰۰ µg/kg (Zinc protoporphyrin) و گروه سوم و چهارم پایه‌ی رقیق کننده‌ی Znpp را دریافت کردند. دو گروه اول و سوم در روز ۸ مطالعه به میزان ۱۲ گری پرتو درمانی شدند. موش‌ها هر روز از جهت وجود توده‌ی قابل لمس در محل تزریق، بررسی و در صورت وجود، ابعاد توده اندازه‌گیری شد. تومورها در روز ۱۶ مطالعه خارج شدند. در این تحقیق، اثرات Znpp بر مدل تومور ملانومای موش‌هایی که رادیوتراپی شدند، بررسی شد. اثر Ho-۱ بر رشد سلول‌های سرطانی با ایندکس میتوتیک Ki-۶۷ در تومور محاسبه گردید و اندازه‌ی تومورها در روز ۸ و ۱۶ مطالعه اندازه‌گیری شد

یافته‌ها: اندازه‌ی تومور و ایندکس میتوتیک در موش‌های درمان شده با Znpp و رادیوتراپی به صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P < ۰/۰۵$). اندازه‌ی تومور در موش‌های دریافت کننده‌ی رادیوتراپی و Znpp کمتر از گروهی بود که رادیوتراپی به تنهایی دریافت نموده بودند ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: Znpp ممکن است همراه رادیوتراپی کاربرد بالینی داشته باشد و در جلوگیری یا کاهش رشد تومور، مؤثرتر از رادیوتراپی به تنهایی باشد.

واژگان کلیدی: ملانوما، هموکسیژناز-۱، ایندکس میتوتیک

ارجاع: صامتی امیرعباس، مرتضوی فائزه، عبدالملکی خاطره، هاشمیان عطیه السادات، حق‌جوی جوانمرد شقایق. **بررسی اثر Zinc protoporphyrin به همراه رادیوتراپی بر رشد ملانوما در موش‌های C۵۷BL۶.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۳): ۱۹۷۲-۱۹۶۵

مقدمه

ملانوما، که از تغییر شکل سلولهای ملانوسیت در پوست ایجاد می‌شود، کشنده‌ترین سرطان پوست است. خطر ابتلا به ملانوما با افزایش سن زیاد می‌شود. بروز ملانوما در ۲۰ سال گذشته دو برابر شده است (۲-۱).

استرس اکسیداتیو (OS یا Oxidative stress) با پاتوژنز سرطان‌ها در ارتباط است (۳). استرس

۱- دانشجوی دندانپزشکی، کمیته‌ی پژوهشی دانشجویان دندانپزشکی، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی پژوهشی دانشجویان دندانپزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد
Email: shaghayeghhaghjoo@yahoo.com

اکسیداتیو، دارای دو پیامد متضاد در سلول‌های سرطانی می‌باشد: از یک سو با شروع، گسترش، پیشرفت و حفظ فنوتیپ سلول توموری H_2O_2 تکثیر و مهاجرت و چسبندگی این سلول‌ها را در رابطه با افزایش ROS (Reactive oxygen species)، تحریک می‌کند و از سوی دیگر، با فعالیت‌های ضد سرطانی و پیری و آپوپتوز همراه است (۵-۴). امروزه شواهد قابل استناد درباره‌ی نقش استرس اکسیداتیو در اتیولوژی سرطان‌ها به دست آمده است (۸-۶).

هموکسیژناز (Hemeoxygenase) در پدیده‌ی استرس اکسیداتیو نقش کلیدی دارد. هموکسیژناز (در انسان) دارای ۳ ایزوفرم HO-۱، HO-۲ و HO-۳ است (۹). بیان این ژن در پاسخ به استرس، هیپوکسی، تابش اشعه‌ی فرابنفش، اثر فلزات سنگین، ROS، نیتریک اکسید (NO یا Nitric oxide)، عوامل رشد آنتی اکسیدانی، هورمون‌ها، آنتی توکسین‌ها، هم/هموگلوبین و همچنین شیمی درمانی، رادیوتراپی و فتودینامیک‌تراپی افزایش می‌یابد (۱۳-۱۰).

مطالعات زیادی در رابطه با یافتن ارتباط هموکسیژناز با سرطان انجام شده است و نتایج حاکی از ارتباط بسیاری از سرطان‌ها مانند سرطان معده، پانکراس، کاپوسی سارکوم و لوکمیا با هموکسیژناز است (۱۴). این در حالی است که مکانیسم اثر بسیاری از داروهای ضد سرطان، ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در سلول می‌باشد (۱۵). بنابراین، افزایش بیان HO-۱ (افزایش تحمل سلول نسبت به شرایط افزایش استرس اکسیداتیو) می‌تواند در بیماران سرطانی به عنوان علت بالقوه‌ی مقاومت افراد به درمان در نظر گرفته شود (۱۷-۱۶، ۱۰).

HO-۱ در سلول‌های نئوپلاستیک و تومورهای مختلف، نقش آنتی آپوپتوزی و حفاظتی دارد و به رشد تومورها منجر می‌شود (۱۹-۱۸، ۱۶). تحقیقات متعددی اثرات آپوپتیک مهار کننده‌های HO-۱ را به تنهایی یا به عنوان داروهای مکمل شیمی درمانی اثبات نموده‌اند (۲۰).

آزمایش‌ها نشان می‌دهد که مهار HO-۱ با موادی مانند ZnPPIX (Zinc protoporphyrin IX) و Poly ethylene glycol- zinc protoporphyrin (PEG-ZnPP) در نمونه‌های حیوانی و دودمان‌های سلولی آدنوکارسینوما، سرطان پانکراس، سرطان روده و لوکمی مزمن میلوئیدی به کاهش توده‌ی تومور و افزایش حساسیت به شیمی درمانی و رادیوتراپی منجر می‌شود. در نتیجه، به عنوان یک راه درمانی در نظر گرفته شده است (۲۱-۱۹، ۱۶، ۳). نکته‌ی قابل توجه این که در سلول‌های مقاوم به درمان، با اضافه نمودن مهار کننده‌ی HO-۱، سلول‌ها به درمان پاسخ بهتری می‌دهند و امکان مرگ سلول‌های سرطانی بیشتر می‌شود. این اثر، در یک دودمان سلولی لوکمی مزمن میلوئیدی و در آزمایش با نمونه‌های حیوانی گزارش شده است (۲۲، ۲۰). مهار کننده‌های HO-۱ مثل Zn(II)PPIX و PEG-ZnPP موجب کاهش رشد سلول‌های سرطانی می‌شوند (۲۴-۲۳، ۱۶).

با توجه به این که در خصوص اثر این مهار کننده‌ی هموکسیژناز-۱ به عنوان مکمل دارویی همراه با رادیوتراپی بر سلول‌های تومور ملانوما اطلاعات کاملی در دسترس نبود، این مطالعه با هدف بررسی اثر مسیر هموکسیژناز بر میتوز سلول‌های تومور و اندازه‌ی تومورهای ملانوما در موش‌های C۵۷BL۶ انجام پذیرفت.

روش‌ها

برای انجام این مطالعه، تعداد ۲۴ موش C۵۷BL۶ با سن ۸-۶ هفته به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. به همه‌ی موش‌ها در روز صفر مطالعه، ۲×۱۰۶ سلول ملانوما به صورت زیر جلدی تزریق شد و موش‌ها به مدت ۱۶ روز تیمار شدند.

گروه اول (n = ۶) و گروه دوم (n = ۶)، ۲۰۰۰ µg/kg مهار کننده‌ی Hemeoxygenase-۱ (Znpp) را از روز اول مطالعه به صورت یک روز در میان دریافت نمودند. گروه سوم (n = ۶) و گروه چهارم (n = ۶) پایه‌ی رقیق کننده‌ی Znpp را دریافت کردند. دو گروه اول و سوم در روز ۸ مطالعه به میزان ۱۲ گری (Gray) پرتو درمانی شدند.

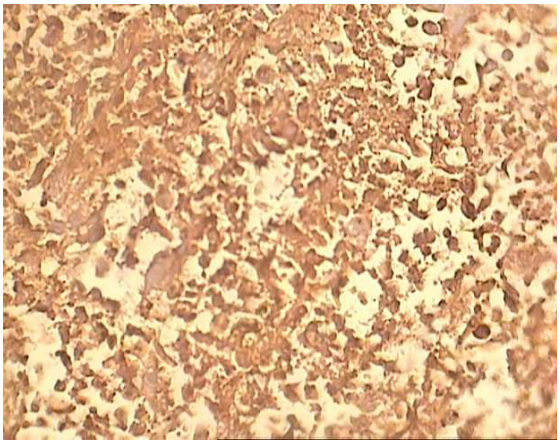
موش‌ها هر روز از جهت وجود توده‌ی قابل لمس در محل تزریق بررسی شدند. هنگامی که توده‌ی قابل لمسی مشاهده شد، ابعاد آن توسط ریزسنج اندازه‌گیری و ثبت گردید. موش‌ها در روز ۱۶ مطالعه (پس از تزریق سلول) بی‌هوش شد و ۱ cc از خون آن‌ها گرفته شد. سپس حیوان لاپاروتومی و تومور جدا شد و در فرمالین برای آزمایش‌های بعدی ثابت نگه داشته شد.

ایمونوهیستوشیمی

ارزیابی فعالیت میتوزی با ایندکس Ki-۶۷ به وسیله‌ی رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی انجام پذیرفت که در آن از آنتی بادی علیه آنتی ژن Ki-۶۷ استفاده شد.

بافت‌ها در ضخامت ۴ µ برش داده شدند و روی لام قرار گرفتند. پس از پارافین‌زدایی با Xylene و دهیدراته شدن با الکل، لام‌ها با آنتی بادی اولیه‌ی مونوکلونال بر ضد Ki-۶۷ (DAKO، Clon MIB-۱) و رقت ۱:۱۰۰ به مدت نیم ساعت انکوبه شدند. در مرحله‌ی بعدی لام‌ها با بافر تریس به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شدند. در مرحله‌ی بعد، از محلول DAB (Diaminobenzidine) جهت کروموژن استفاده شد و لام ها با این کروموژن به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شدند. جهت حذف مواد ناخواسته از لام‌ها، بار دیگر شستشو با آب جاری انجام شد.

برای محاسبه‌ی ایندکس Ki-۶۷ تعداد سلول‌های Ki-۶۷ مثبت از هر پانصد سلول نئوپلاستیک در حداقل پنج میدان دید میکروسکوپ شمارش شد و حاصل نسبت، به صورت درصد محاسبه شد (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر تومور ملانوما در زیر میکروسکوپ با رنگ‌آمیزی Ki-۶۷ و بزرگ‌نمایی ۴۰۰

بر حسب درصد سلول‌های Ki-۶۷، لام‌ها به چهار دسته تقسیم شدند (گروه ۰: ۰۲۵-۰ درصد Ki-۶۷ مثبت، گروه ۱: ۵۰-۲۵ درصد Ki-۶۷ مثبت، گروه ۲: ۷۵-۵۱ درصد Ki-۶۷ مثبت و گروه ۳: ۱۰۰-۷۶ درصد Ki-۶۷ مثبت).

بررسی اندازه‌ی تومور

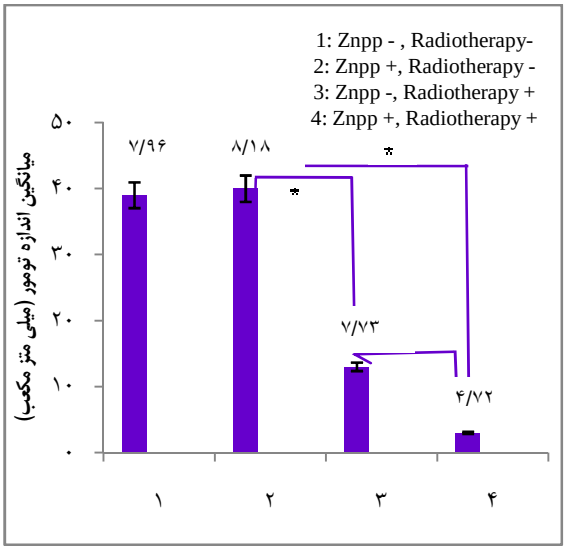
طول و عرض تومور به وسیله‌ی کولیس (ریزسنج) اندازه‌گیری شد و با فرمول زیر محاسبه شد:

$$V = ۴/۳ \times \pi \times (a)\,۲ \times (b)$$

در پایان، نتایج اندازه‌گیری متغیرها با استفاده از آزمون One- way ANOVA و پس آزمون Tukey با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) بین گروه‌ها مقایسه شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

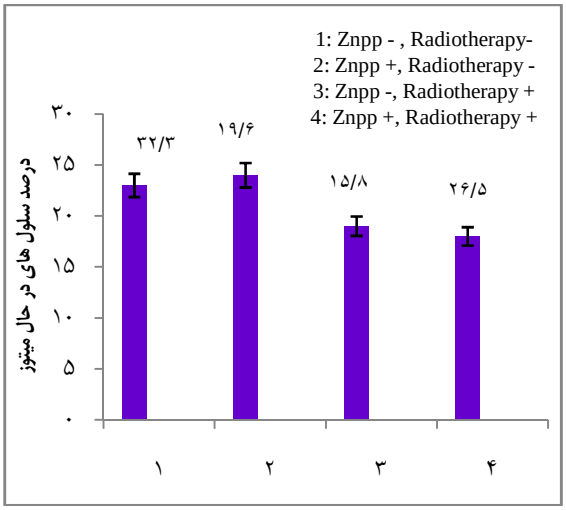
یافته‌ها

اندازه‌ی تومور و ایندکس میتوتیک در موش‌های درمان شده با Znpp و رادیوتراپی به صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P < ۰/۰۵$). اندازه‌ی تومور در موش‌های دریافت کننده‌ی رادیوتراپی که Znpp نگرفتند، کمتر از گروهی بود که Znpp به تنهایی دریافت نموده بودند ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۲). این در حالی است که ایندکس میتوتیک در میان گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۳).



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین اندازه‌ی تومور در چهار گروه در پایان مطالعه

* $P < ۰/۰۵$



شکل ۳. مقایسه‌ی میانگین سلول‌های Ki-۶۷ مثبت در ۴ گروه بعد از مطالعه

میزان ایندکس میتوتیک در میان گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری نداشت.

بحث

در این مطالعه، مهار کننده‌ی مسیر هموآکسیژناز-۱ (Znpp) همراه رادیوتراپی، نسبت به رادیوتراپی به تنهایی در کاهش اندازه‌ی تومور مؤثرتر بود. هموآکسیژناز-۱ آنزیم قابل تحریکی است که اغلب بیان آن در تومورها افزایش می‌یابد. این ژن در سلول‌های نئوپلاستیک و تومورهای مختلف دیگر، نقش آنتی آپوپتوزی و حفاظتی دارد و به رشد تومورها منجر می‌شود (۱۹-۱۸، ۱۶). تحقیقات متعددی اثرات آپوپتیک مهار کننده‌های HO-۱ را به تنهایی یا به عنوان داروهای مکمل شیمی درمانی و رادیوتراپی اثبات نموده‌اند (۲۰).

Znpp مؤثرترین مولکول در کاهش بیان هموآکسیژناز است. این مولکول در کمبود آهن افزایش می‌یابد (۲۴). Znpp به عنوان مهار کننده‌ی هموآکسیژناز می‌تواند برای سلول‌های سرطانی سایتوتوکسیک و سایتواستاتیک باشد (۲۵).

در پـژوهش حاضـر، Znpp بـه همـراه رادیـوتراپی برکاهش اندازه‌ی تومور مؤثربود. این در حالی است که Znpp به تنهـایی نتوانسـت بـر روی رشـد تومورهـا و ایندکس میتوتیک مؤثر باشد. افزایش بیان همواکسـیژناز در هایپوکسیا، هایپراکسیا، شوک‌هـای گرمـایی H_2O_2 و پرتوتابی دیده شده است (۳۰-۲۶). بـه نظـر مـی‌رسـد Znpp در شرایط استرس اکسیداتیو، بـه دلیـل افـزایش بیان هموآکسیژناز، اثر قابل توجهی داشته باشد. اگر چه در شرایط آزمایشـگاهی، مهـار کننـده‌ی هموآکسـیژناز (Znpp) می‌تواند اثرات سایتوتوکسیک و سایتواستاتیک داشته باشد، اما به نظر می‌رسد در بـدن موجـود زنـده، این اثر همراه رادیوتراپی مؤثرتر است. در بدن موجـود زنده، ایندکس میتوتیک در متاسـتاز تومـور ملانومـا بـه عنوان پیش‌بینی کننده‌ی میزان بقای بیماران است (۳۱).

مطالعه‌ی Hirai و همکاران بر روی تومـور LL/۲ ریه‌ی موش، به این نتیجه رسید که Znpp به صـورت معنی‌داری بروز تومور را در موش‌ها نسبت بـه گـروه شاهد کم می‌کنـد (۲۳)؛ ایـن در حـالی اسـت کـه در مطالعه‌ی حاضر، Znpp به تنهایی قادر بـه مهـار رشـد تومور نبـود، امـا توانسـت همـراه بـا رادیـوتراپی اثـر معنی‌داری در کاهش رشد تومور در مقایسه با درمـان رادیوتراپی به تنهایی داشته باشد.

ایندکس میتوتیک در گروه دریافـت کننـده‌ی Znpp و رادیوتراپی با گروه دریافـت کننـده‌ی رادیـوتراپی بـه تنهایی، تفـاوت معنـی‌داری نداشـت. عـوارض جـانبی رادیوتراپی به همراه رشد سریع تومور از عوامـل مـرگ زود هنگام موش‌ها بود. این مرگ زود هنگـام، موجـب می‌شد که طول دوره‌ی مطالعه کمتر در نظر گرفته شود که یکی از محدودیت‌های این طـرح بـود. بـا محـدود کردن سرعت رشد تومـور و برطـرف کـردن عـوارض جانبی رادیوتراپی در مطالعات آینده، بهتر می‌تـوان اثـر مهار کننـده‌ی هموآکسـیژناز را در بـدن موجـود زنـده اندازه گرفت و مسیر هموآکسیژناز را شناخت.

نتیجه‌گیری

Znpp به تنهایی قادر بـه مهـار رشـد تومـور نبـود، امـا توانست همراه با رادیوتراپی اثر معنـی‌داری در کـاهش رشد تومور در مقایسه با درمان رادیـوتراپی بـه تنهـایی داشـته باشـد. بنـابراین، Znpp ممکـن اسـت همـراه رادیوتراپی کاربرد بالینی داشته باشد ودر جلـوگیری یـا کـاهش رشـد تومـور، مـؤثرتر از رادیـوتراپی بـه تنهایی باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل طرح تحقیقـاتی مرکـز تحقیقـات فیزیولوژی کاربردی دانشگاه علـوم پزشـکی اصـفهان بود. بـدین وسـیله از معاونـت تحقیقـات و فـن‌آوری دانشـگاه علـوم پزشـکی اصـفهان و کارکنـان مرکـز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی ایـن دانشـگاه تشـکر و قدردانی می‌نماید.

References

1. Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. Int J Cancer 1997; 73(2): 198-203.
2. Major JM, Kiruthu C, Weinstein SJ, Horst RL, Snyder K, Virtamo J, et al. Pre-diagnostic circulating vitamin D and risk of melanoma in men. PLoS One 2012; 7(4): e35112.
3. Chang KW, Lee TC, Yeh WI, Chung MY, Liu CJ, Chi LY, et al. Polymorphism in heme oxygenase-1 (HO-1) promoter is related to the risk of oral squamous cell carcinoma occurring on male areca chewers. Br J Cancer 2004;

91(8): 1551-5.
4. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? Biochem J 2007; 401(1): 1-11.
5. Brigelius-Flohe R, Flohe L. Basic principles and emerging concepts in the redox control of transcription factors. Antioxid Redox Signal 2011; 15(8): 2335-81.
6. Willett WC, MacMahon B. Diet and cancer--an overview. N Engl J Med 1984; 310(10): 633-8.
7. Nelson RL. Dietary iron and colorectal cancer risk. Free Radic Biol Med 1992; 12(2): 161-8.
8. Salganik RI, Dianov GL. Molecular mechanisms of the formation of DNA double-strand breaks and induction of genomic rearrangements. Mutat Res 1992; 266(2): 163-70.
9. Maines MD. Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical applications. FASEB J 1988; 2(10): 2557-68.
10. T, et al. Induction of haem oxygenase-1 nitric oxide and ischaemia in experimental solid tumours and implications for tumour growth. Br J Cancer 1999; 80(12): 1945-54.
11. Maines MD, Abrahamsson PA. Expression of heme oxygenase-1 (HSP32) in human prostate: normal, hyperplastic, and tumor tissue distribution. Urology 1996; 47(5): 727-33.
12. Kiemer AK, Bildner N, Weber NC, Vollmar AM. Characterization of heme oxygenase 1 (heat shock protein 32) induction by atrial natriuretic peptide in human endothelial cells. Endocrinology 2003; 144(3): 802-12.
13. Henry F, Bretaudeau L, Barbieux I, Meflah K, Gregoire M. Induction of antigen presentation by macrophages after phagocytosis of tumour apoptotic cells. Res Immunol 1998; 149(7-8): 673-9.
14. Javanmard SH, Keyhanian K, Loghmani P, Samety AA, Haghdoost F, Rafiei L, et al. Association between heme oxygenase-1 gene promoter polymorphisms and metabolic syndrome in Iranians. Mol Biol Rep 2012; 39(3): 3355-60.
15. Tiligada E. Chemotherapy: induction of stress responses. Endocr Relat Cancer 2006; 13(Suppl 1): S115-S124.
16. Fang J, Sawa T, Akaike T, Greish K, Maeda H. Enhancement of chemotherapeutic response of tumor cells by a heme oxygenase inhibitor, pegylated zinc protoporphyrin. Int J Cancer 2004; 109(1): 1-8.
17. Yoshida C, Yoshida F, Sears DE, Hart SM, Ikebe D, Muto A, et al. Bcr-Abl signaling through the PI-3/S6 kinase pathway inhibits nuclear translocation of the transcription factor Bach2, which represses the antiapoptotic factor heme oxygenase-1. Blood 2007; 109(3): 1211-9.
18. Fang J, Akaike T, Maeda H. Antiapoptotic role of heme oxygenase (HO) and the potential of HO as a target in anticancer treatment. Apoptosis 2004; 9(1): 27-35.
19. Mayerhofer M, Florian S, Krauth MT, Aichberger KJ, Bilban M, Marculescu R, et al. Identification of heme oxygenase-1 as a novel BCR/ABL-dependent survival factor in chronic myeloid leukemia. Cancer Res 2004; 64(9): 3148-54.
20. Mayerhofer M, Gleixner KV, Mayerhofer J, Hoermann G, Jaeger E, Aichberger KJ, et al. Targeting of heat shock protein 32 (Hsp32)/heme oxygenase-1 (HO-1) in leukemic cells in chronic myeloid leukemia: a novel approach to overcome resistance against imatinib. Blood 2008; 111(4): 2200-10.
21. Nowis D, Legat M, Grzela T, Niderla J, Wilczek E, Wilczynski GM, et al. Heme oxygenase-1 protects tumor cells against photodynamic therapy-mediated cytotoxicity. Oncogene 2006; 25(24): 3365-74.
22. Fang J, Sawa T, Akaike T, Akuta T, Sahoo SK, Khaled G, et al. In vivo antitumor activity of pegylated zinc protoporphyrin: targeted inhibition of heme oxygenase in solid tumor. Cancer Res 2003; 63(13): 3567-74.
23. Hirai K, Sasahira T, Ohmori H, Fujii K, Kuniyasu H. Inhibition of heme oxygenase-1 by zinc protoporphyrin IX reduces tumor growth of LL/2 lung cancer in C57BL mice. Int J Cancer 2007; 120(3): 500-5.
24. Yang G, Nguyen X, Ou J, Rekulapelli P, Stevenson DK, Dennery PA. Unique effects of zinc protoporphyrin on HO-1 induction and apoptosis. Blood 2001; 97(5): 1306-13.
25. Nowis D, Bugajski M, Winiarska M, Bil J, Szokalska A, Salwa P, et al. Zinc protoporphyrin IX, a heme oxygenase-1 inhibitor, demonstrates potent antitumor effects but is unable to potentiate antitumor effects of chemotherapeutics in mice. BMC Cancer 2008; 8: 197.
26. Motterlini R, Foresti R, Bassi R, Calabrese V, Clark JE, Green CJ. Endothelial heme oxygenase-1 induction by hypoxia. Modulation by inducible nitric-oxide synthase and S-nitrosothiols. J Biol Chem 2000; 275(18): 13613-20.
27. Shibahara S, Muller RM, Taguchi H. Transcriptional control of rat heme oxygenase by heat shock. J Biol Chem 1987; 262(27): 12889-92.
28. Lee PJ, Alam J, Wiegand GW, Choi AM. Overexpression of heme oxygenase-1 in human

pulmonary epithelial cells results in cell growth arrest and increased resistance to hyperoxia. Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93(19): 10393-8.

29. Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite. Proc Natl Acad Sci U S A 1989; 86(1): 99-103.

30. Poss KD, Tonegawa S. Reduced stress defense in heme oxygenase 1-deficient cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94(20): 10925-30.

31. Murali R, Scolyer RA. Tumor-infiltrating lymphocytes and mitotic index in metastatic melanoma as predictors of patient survival. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(13): E46..

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 31, No. 263, 1st Week, February 2014

Received: 05.10.2013

Accepted: 28.11.2013

Effects of Zinc Protoporphyrin (Znpp) with Radiotherapy on Melanoma Tumor Growth in C57BL6 Mice

Amir-Abbas Samety[1], Faezeh Mortazavi[2], Khatereh Abdolmaleki[2], Atieh Hashemian[1], Shaghayegh Haghjooy-Javanmard MD, PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Decrease in Heme Oxygenase-1 gene expression is associated with fewer amounts of reoccurrence and better final response to treatment in some cancers. The aim of this study was to analyze the effect of Zinc Protoporphyrin (Znpp), as Heme Oxygenase-1 (HO-1) inhibitor, and radiotherapy on melanoma cells in mice.

Methods: In this experimental study, 24 mice were randomly divided to 4 groups. On the first day of the study, melanoma cells were injected and the mice were treated for 16 days. First and second groups received 2000 mg/kg of Znpp every other day. Third and forth groups were injected diluted liquid of Znpp. The first and third groups received 12 gray of radiotherapy on 8th day. The mice were examined each day for any palpable tumors and size was measured. The tumors were extracted on the 16th day. The effect of HO-1 on growth of cancer cells was studied using mitotic index and the size of tumors were measured on 8th and 16th days.

Findings: Size of tumor and mitotic index in mice treated with Znpp and radiotherapy was significantly smaller than in control groups ($P < 0.05$). Size of tumor in mice treated by radiotherapy and Znpp was less than group only treated with radiotherapy ($P < 0.05$).

Conclusion: The HO-1 inhibitor with radiotherapy may have therapeutic effects and it may be more effective in reducing the tumor's growth than using radiotherapy alone.

Keywords: Melanoma, Heme oxygenase-1, Mitotic index

Citation: Samety AA, Mortazavi F, Abdolmaleki Kh, Hashemian A, Haghjooy Javanmard Sh. **Effects of Zinc Protoporphyrin (ZnPP) with Radiotherapy on Melanoma Tumor Growth in C57BL6 Mice.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(263): 1965-72

1- Student of Dentistry, Dental Students' Research Committee, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Student of Medicine, Medical Students' Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine AND Physiology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Shaghayegh Haghjooy-Javanmard MD, PhD, Email: shaghayeghhaghjoo@yahoo.com