DOI: 10.22122/jims.v36i499.9859 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و ششم/شماره‌ی ۴۹۹/هفته‌ی سوم آذر ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۱۲ تاریخ چاپ: ۱۳۹۷/۹/۱۵

بررسی واکنش آنتی‌سرم‌های ضد آنتی‌ژن‌های کیست هیداتیک با آنتی‌ژن‌های سطحی رده‌های سلولی سرطان پستان (4T1)، ملانوما (B16F10) و سلول‌های طبیعی طحال موش به روش فلوسیتومتری

فرشته محمدی[۱]، مهشید شکیباپور[۱]، سیده مریم شرفی[۲]، علیرضا عندلیب[۳]، سپیده طلوعی[۴]، حسین یوسفی دارانی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کیست هیداتیک، مرحله‌ی لاروی کرم Echinococcus granulosus است. اثر این انگل روی رشد سرطان در محیط کشت و در مطالعات حیوانی مختلف بررسی شده است. در جهت مطالعه‌ی مکانیسم‌های ضد سرطانی این انگل، در مطالعه‌ی حاضر، واکنش آنتی‌سرم‌های ضد آنتی‌ژن‌های کیست هیداتیک با آنتی‌ژن‌های سطح سلول‌های سرطانی ملانوما و پستان موش و سلول‌های طحال موش سالم به روش فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: آنتی‌سرم‌های ضد آنتی‌ژن‌های کیست هیداتیک در خرگوش تهیه شد. این آنتی‌سرم‌ها، با رده‌های سلولی ملانوما، پستان و سلول‌های طحال موش طبیعی مجاورت داده شد و واکنش آنتی‌بادی‌ها با آنتی‌ژن‌های سطحی این سلول‌ها به روش فلوسیتومتری بررسی گردید.

یافته‌ها: میزان واکنش آنتی‌سرم ضد کیست هیداتیک (Protoscolex، دیواره و مایع کیست) با رده‌ی سلول‌های سرطانی ملانوما تفاوت معنی‌داری نداشت، اما میزان واکنش آنتی‌سرم‌های ضد دیواره و مایع کیست با رده‌ی سلول‌های سرطانی پستان اختلاف معنی‌داری داشت. علاوه بر این، میزان واکنش آنتی‌سرم‌های ضد Protoscolex، دیواره و مایع کیست با سلول‌های طحال موش کمتر از میزان واکنش سرم خرگوش طبیعی بود.

نتیجه‌گیری: آنتی‌سرم ضد کیست هیداتیک با رده‌ی سلول‌های سرطانی ملانوما واکنش نمی‌دهد، اما با رده‌ی سلول‌های سرطانی پستان واکنش می‌دهد. این نتایج، تأیید کننده‌ی مکانیسم‌های ضد سرطان پستان این انگل می‌باشد. بنابراین، ممکن است بتوان از آن برای داروسانی انتخابی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: فلوسیتومتری، ملانومای بدخیم، سرطان پستان، کیست هیداتیک

ارجاع: محمدی فرشته، شکیباپور مهشید، شرفی سیده مریم، عندلیب علیرضا، طلوعی سپیده، یوسفی دارانی حسین. **بررسی واکنش آنتی‌سرم‌های ضد آنتی‌ژن‌های کیست هیداتیک با آنتی‌ژن‌های سطحی رده‌های سلولی سرطان پستان (4T1)، ملانوما (B16F10) و سلول‌های طبیعی طحال موش به روش فلوسیتومتری.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۹۹): ۱۱۹۶-۱۱۹۱.

مقدمه

کیست هیداتیک مرحله‌ی لاروی کرم Echinococcus granulosus است که در احشای انسان و دام مستقر می‌شود و به صورت یک آلودگی مزمن تا سال‌ها در بدن باقی می‌ماند (۱). عامل بسیار مهم متاستاز، چسبندگی و تهاجم در سرطان‌های بدخیم و وجود موسین‌های غیر عادی در سلول‌های سرطانی است (۲).این آنتی‌ژن‌های موسین‌دار مانند آنتی‌ژن‌های Tn (α-Ncetylgalactosamine O-serine/threonine antigen) در فرم بالغ و لاروی Echinococcus granulosus نیز بیان می‌گردد (۴-۳).

در مطالعه‌ای نشان داده شده است که واکنش متقاطع بین انگل‌ها و سرطان‌ها وجود دارد و از این رو، احتمال می‌رود بتوان از آنتی‌ژن‌های انگل‌ها جهت تحریک سیستم ایمنی به منظور مهار رشد سرطان استفاده کرد (۵). در مطالعه‌ای، اثر Protoscolex کیست هیداتیک بر تکثیر و مرگ سلول‌های فیبروسارکوما مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج مطالعات در این زمینه، مشخص کرد که Protoscolex کیست هیداتیک از تکثیر WEHI 160 و BHK ممانعت و مرگ سلولی را القا می‌کند (۶). در مطالعه‌ی دیگری، با تزریق Protoscolex زنده و یا دو آنتی‌ژن دفعی- ترشحی و مایع کیست هیداتیک به موش‌های

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات محیط زیست، پژوهشکده‌ی پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دکتری تخصصی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- استاد، مرکز تحقیقات پیش‌گیری از سرطان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حسین یوسفی دارانی

Email: yousofidarani@gmail.com

C57، مشاهده گردید که رشد سرطان ملانوما در موش کاهش می‌یابد (۸-۷). در مطالعه‌ی دیگری، نشان داده شد که انتقال غیر فعال سلول‌های طحال موش تزریق شده با آنتی‌ژن‌های کیست هیداتیک به موش‌های مبتلا به سرطان ملانوما، باعث کاهش رشد تومور در مقایسه با گروه شاهد می‌شود (۹). همچنین، تأثیر درمانی مایع کیست بر رشد سرطان ملانوما در مدل حیوانی نیز نشان داده شده است (۱۰).

همچنین، در یک مطالعه‌ی گذشته‌نگر در بیماران مبتلا به هیداتیدوز، شیوع سرطان نسبت به افراد طبیعی بسیار پایین‌تر بوده است (۱۱). جهت بررسی فعالیت ضد سرطانی انگل Echinococcus granulosus، در این مطالعه، واکنش آنتی‌سرم ضد کیست هیداتیک (Protoscolex، دیواره و مایع کیست) با رده‌ی سلول‌های سرطانی ملانوما و پستان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

جهت آماده‌سازی آنتی‌ژن‌ها، کیست‌های هیداتیک گوسفندی از کشتارگاه اصفهان جمع‌آوری شد. مایع کیست هیداتیک از نظر وجود Protoscolex تأیید و سپس، مایع کیست هیداتیک سانتریفیوژ شد. مایع رویی به عنوان آنتی‌ژن مایع کیست هیداتیک در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. رسوب حاصل که حاوی Protoscolex بود، سونیکه گردید و پس از سانتریفیوژ، مایع رویی به عنوان آنتی‌ژن خام Protoscolex نگهداری شد. لایه‌های کوتیکول و ژرمینال از کیست هیداتیک جدا شد و بعد از هموژن و سونیکه کردن در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد به عنوان آنتی‌ژن دیواره‌ی کیست نگهداری گردید.

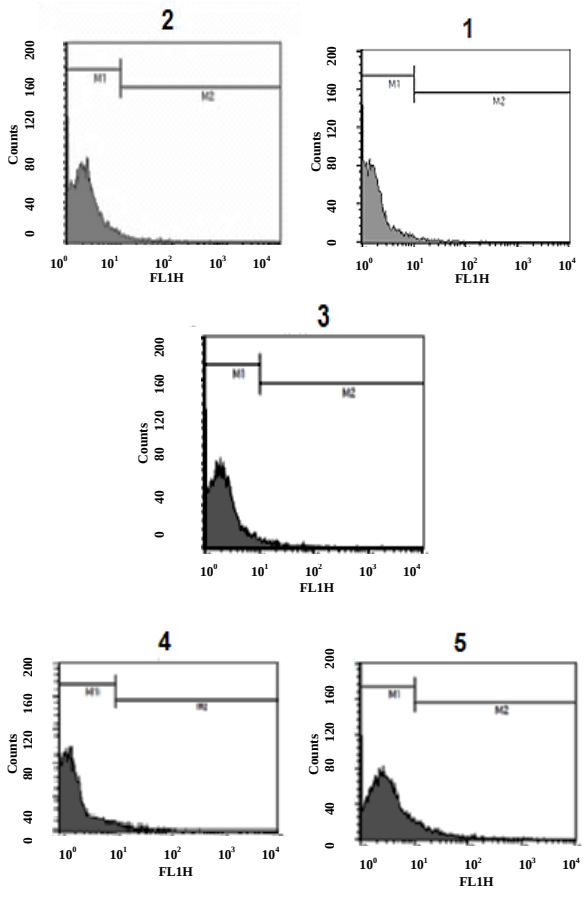
رده‌ی سلول‌های سرطان ملانوما (B16F10) و پستان (4T1) موشی از انستیتوپاستور تهران خریداری و کشت داده شدند. همچنین، سلول‌های طحال، از طحال موش‌های سالم تهیه گردید.

جهت تهیه‌ی آنتی‌سرم‌ها از خرگوش، یک میلی‌لیتر (۵۰ میلی‌گرم) از هر کدام از آنتی‌ژن‌ها به طور جداگانه به خرگوش از طریق زیر جلدی تزریق شد. در مرحله‌ی اول، تزریق به همراه ادجوانت کامل فروند (Freund) و در تزریق‌های بعدی با ادجوانت ناقص تزریقات انجام شد. بعد از تزریق چهارم، از خرگوش خون‌گیری شد و برای بررسی تولید آنتی‌بادی، آزمایش Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) انجام شد. بعد از تأیید وجود آنتی‌بادی با روش ELISA، تزریق پنجم انجام شد و بعد از ۴-۳ روز از خرگوش خون‌گیری شد. خون خرگوش به مدت یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس، سانتریفیوژ گردید و سرم آن در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید.

به منظور بررسی واکنش آنتی‌سرم‌ها با سلول‌های سرطانی، سلول‌های سرطانی از محیط کشت جمع‌آوری شدند و سلول‌های طحال از طحال موش سالم جدا گردید. به این ترتیب که موش در شرایط استریل کشته و طحال آن خارج شد. سپس، طحال توسط تیغ بیستوری قطعه قطعه گردید و از صافی عبور داده شد تا سلول‌ها جدا شوند. همه‌ی سلول‌ها با Phosphate buffered saline (PBS) شستشو داده شد و بعد از اضافه نمودن آنتی‌سرم‌های مختلف، به مدت یک ساعت انکوبه شدند. بعد از شستشو، آنتی‌بادی ثانویه متصل به Fluorescein isothiocyanate (FITC) (شرکت Bio Legend) اضافه گردید. پس از یک ساعت انکوبه شدن، شستشو شدند و نمونه‌ها با دستگاه فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش‌ها سه مرتبه انجام شد و با آزمون آماری Linear mixed model واکاوی شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که آنتی‌سرم‌های ضد Protoscolex، دیواره و مایع کیست و سرم خرگوش طبیعی با سلول‌های سرطانی ملانوما واکنش نشان داد. در این آزمایش، سرم ضد سلول‌های ملانوما به عنوان شاهد مثبت و سرم خرگوش طبیعی به عنوان شاهد منفی به کار رفت. این آزمایش، سه مرتبه انجام شد و تفاوت معنی‌داری بین میزان واکنش آنتی‌سرم‌های ضد کیست هیداتیک و سرم خرگوش طبیعی مشاهده نگردید (شکل ۱ و جدول ۱).



شکل ۱. نتایج به دست آمده از واکنش سلول‌های ملانوما با: ۱. آنتی‌سرم ضد مایع کیست، ۲. آنتی‌سرم ضد Protoscolex، ۳. آنتی‌سرم ضد آنتی‌ژن دیواره‌ی کیست، ۴. سرم طبیعی و ۵. آنتی‌سرم ضد سلول‌های ملانوما (B16F10) به روش فلوسیتومتری

جدول ۱. نتایج تجزیه و تحلیل فلوسیتومتری (میانگین شدت فلورسنت یا M2) آنتی‌سرم‌های متفاوت با سلول‌های سرطان موشی ملانوما. M2 بیانگر درصد سلول‌هایی است که با آنتی‌بادی مورد نظر واکنش نشان داده‌اند.

	آنتی‌سرم ضد آنتی‌ژن Protoscolex	آنتی‌سرم ضد آنتی‌ژن دیواره‌ی کیست	آنتی‌سرم ضد آنتی‌ژن مایع کیست	آنتی‌سرم ضد سلول‌های ملانوما (شاهد مثبت)	سرم طبیعی خرگوش (شاهد منفی)
M2 (میانگین ± انحراف معیار)	۲/۲۴ ± ۰/۵۱	۲/۹۳ ± ۰/۴۰	۲/۴۰ ± ۰/۳۱	۱۰/۲۸ ± ۰/۴۹	۱/۹۱ ± ۰/۳۱
مقدار P	۰/۶۹۰	۰/۲۰۰	۰/۵۶۰	۰/۰۰۱	-

میانگین ± انحراف معیار: میانگین سه مرتبه اندازه‌گیری شدت فلورسنت (M2)

مقدار P: نشان دهنده‌ی مقایسه‌ی میانگین هر کدام از گروه‌ها با گروه سرم طبیعی است.

در آزمایش بعدی، آنتی‌سرم‌های دیواره‌ی کیست، مایع کیست و Protoscolex با سلول‌های سرطانی پستان، نسبت به سرم طبیعی خرگوش واکنش نشان داد. در این جا نیز آنتی‌سرم ضد سلول‌های سرطان پستان به عنوان شاهد مثبت و سرم طبیعی خرگوش به عنوان شاهد منفی بود.

این آزمایش، سه مرتبه انجام شد و تفاوت بین اعداد به دست آمده از آن، بر اساس شدت واکنش صورت گرفته (M2) از نظر آماری برای آنتی‌سرم ضد Protoscolex معنی‌دار نبود ($P < ۰/۰۵۰$)، اما برای آنتی‌سرم‌های ضد دیواره و مایع کیست هیداتیک، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵۰$) (جدول ۲ و شکل ۲).

در مرحله‌ی بعد، به منظور بررسی این سؤال که «آیا آنتی‌سرم‌های ضد کیست هیداتیک که با سلول‌های سرطان پستان واکنش نشان می‌دهند، با سلول‌های طبیعی موش هم واکنش نشان می‌دهند؟»، واکنش آنتی‌سرم‌های کیست هیداتیک و سرم طبیعی خرگوش با لنفوسیت‌های طحال موش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان واکنش آنتی‌سرم‌های کیست هیداتیک کمتر از میزان واکنش سرم طبیعی خرگوش (به عنوان شاهد منفی) بوده است.

بحث

میزان واکنش آنتی‌سرم‌های ضد کیست هیداتیک (Protoscolex، دیواره و مایع کیست) با رده‌ی سلول‌های سرطانی ملانوما در مقایسه با سرم طبیعی خرگوش اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین، میزان واکنش آنتی‌سرم ضد Protoscolex با سلول‌های سرطان پستان در مقایسه با سرم طبیعی خرگوش اختلاف معنی‌داری نداشت، اما میزان واکنش آنتی‌سرم‌های ضد مایع و دیواره‌ی کیست با سلول‌های سرطان پستان به طور معنی‌داری بیشتر از واکنش سرم طبیعی خرگوش بود. واکنش بین آنتی‌سرم‌های ضد مایع کیست و دیواره‌ی کیست هیداتیک با سلول‌های سرطان پستان، تأیید کننده‌ی وجود آنتی‌ژن‌های مشترک بین کیست هیداتیک و سلول‌های سرطان پستان است. در این رابطه، وجود آنتی‌ژن‌های مشترک بین بعضی از انگل‌ها و سرطان گزارش شده است (۱۳-۱۲). همچنین، تأثیر ضد سرطانی انگل‌های مختلف در مدل حیوانی و در محیط کشت نشان داده شده است (۱۷-۱۴، ۶).

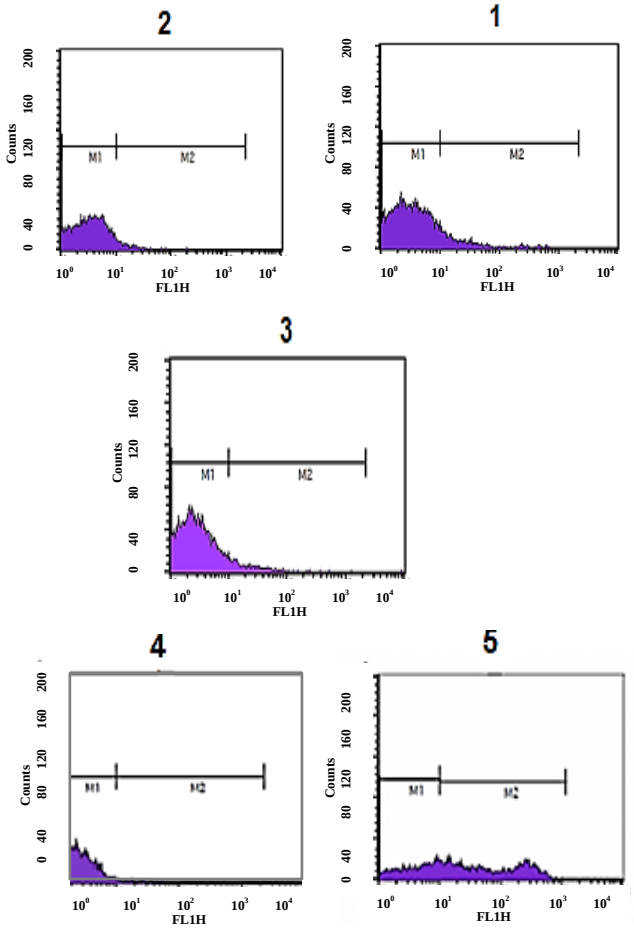
این آنتی‌ژن‌ها در واکنش بین انگل و میزبان نقش دارند. برای مثال، بیان آنتی‌ژن Tn در فرم بالغ و لاروی کرم Echinococcus granulosus نشان داده شده است (۱۸، ۵). بیشتر این آنتی‌ژن‌ها، موسین‌های غیر طبیعی هستند که در متاستاز سلول‌های سرطانی اهمیت بالایی دارند (۲). همچنین، واکنش متقاطع بین باندهای ۲۷ و ۴۰ کیلودالتون آنتی‌ژن‌های کیست هیداتیک و سرم بیماران ثابت شده است (۱۸، ۵). عامل بسیار مهم متاستاز، چسبندگی و تهاجم در سرطان‌های بدخیم وجود موسین‌های غیر عادی در سلول‌های سرطانی همانند آنتی‌ژن‌های Tn و Sialyl TF می‌باشد (۲).

جدول ۲. نتایج تجزیه و تحلیل فلوسیتومتری (میانگین شدت فلوروسنت یا M2) آنتی‌سرم‌های متفاوت با سلول‌های سرطان موشی ملانوما. M2 بیانگر درصد سلول‌هایی است که با آنتی‌بادی مورد نظر واکنش نشان داده‌اند.

	آنتی‌سرم ضد آنتی‌ژن protoscolex	آنتی‌سرم ضد آنتی‌ژن دیواره‌ی کیست	آنتی‌سرم ضد آنتی‌ژن مایع کیست	آنتی‌سرم ضد سلول‌های سرطانی پستان (شاهد مثبت)	سرم طبیعی خرگوش (شاهد منفی)
M2 (میانگین ± انحراف معیار)	۳/۲۰ ± ۰/۶۰	۸/۹۴ ± ۰/۶۰	۶/۱۲ ± ۰/۲۹	۲۲/۱۴ ± ۷/۹۷	۲/۰۶ ± ۰/۶۹
مقدار P	۰/۱۶۰	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	-

میانگین ± انحراف معیار: میانگین سه مرتبه اندازه‌گیری شدت فلورسنت (M2)

مقدار P: نشان دهنده‌ی مقایسه‌ی میانگین هر کدام از گروه‌ها با گروه سرم طبیعی



شکل ۲. نتایج به دست آمده از واکنش سلول‌های سرطانی پستان با: ۱. آنتی‌سرم ضد مایع کیست، ۲. آنتی‌سرم ضد Protoscolex، ۳. آنتی‌سرم ضد سرم دیواره‌ی کیست، ۴. سرم طبیعی و ۵. آنتی‌سرم ضد سلول‌های سرطانی پستان (4T1) به روش فلوسیتومتری

آنتی‌ژن Tn، علاوه بر این که در فرم بالغ و لاروی Echinococcus granulosus وجود دارد، در فرم بالغ Schistosoma mansoni و Schistosomula هم بیان می‌گردد (۴-۳). آنتی‌ژن TK در کارسینومای کلورکتال و همچنین، در انگل‌های Taenia hydatigena، Mesocestoides vogae و Taenia crassiceps بیان شده است. بیشتر آنتی‌ژن‌های کربوهیدراتی Tn و TF Sialyl در انگل‌ها و سرطان‌ها به طور مشترک وجود دارد (۲۰-۱۹، ۱۴، ۴). در مطالعه‌ی Ogilvie و همکاران، بعد از تلقیح سلول‌های سرطانی پستان به موش‌های آلوده به Nippostrongylus brasiliensis هیچ گونه پیشرفتی در رشد سلول‌های سرطانی حاصل نشد و این نشان می‌دهد که بین انگل و سرطان، آنتی‌ژن مشترک وجود دارد (۲۱). پاسخ ایمنی ایجاد شده‌ی ضد انگل، می‌تواند بر روی سرطان اثر بگذارد. در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شده است که آنتی‌بادی‌های ضد آنزیم لاکتات دهیدروژناز Clonorchis sinensis می‌تواند باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی شود (۲۲).

در سال‌های پیش، توجه خاصی به کونژوگه کردن داروها به آنتی‌بادی‌ها جهت دارورسانی بهتر شده است. سه عامل مهم که بر کونژوگه کردن دارو با آنتی‌بادی اهمیت دارد، شامل نوع آنتی‌بادی، نوع داروی مؤثر و عامل اتصال دهنده‌ی بین دارو و آنتی‌بادی می‌باشد. از بین داروهای ضد سرطان، میتاسین بیشترین کاربرد را دارد و با اتصال به سلول‌های دچار تومور در عملکرد آن‌ها اختلال ایجاد می‌کند (۲۳). از این رو، می‌توان از آنتی‌بادی‌های ضد کیست هیداتیک که به سلول‌های سرطانی بیشتر از سلول‌های سالم متصل می‌شوند، جهت دارورسانی استفاده کرد.

در مطالعه‌ی حاضر، نشان داده شده است که واکنش آنتی‌بادی ضد مایع کیست با سلول‌های سرطان ملانوما اختلاف معنی‌داری با واکنش سرم طبیعی خرگوش نداشته است. در این رابطه، احتمال می‌رود خاصیت ضد سرطانی کیست هیداتیک مربوط به ایمنی سلولار و یا سایر مکانیسم‌ها بوده است.

نتیجه‌گیری نهایی این که آنتی‌بادی‌های ضد مایع و دیواره‌ی کیست با سلول‌های سرطان پستان واکنش می‌دهد، اما با سلول‌های ملانوما واکنش نمی‌دهد. این نتیجه، نشان دهنده‌ی وجود آنتی‌ژن‌های مشترک بین کیست هیداتیک و سلول‌های سرطان پستان است.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی شماره‌ی ۳۹۴۸۲۴ است که هزینه‌ی انجام آن توسط معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شده است. بدین وسیله از این معاونت سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Bogitsh BJ, Carter CE, Oeltmann TN. Human parasitology. Cambridge, MA: Academic Press; 2013.
2. Baldus SE, Engelmann K, Hanisch FG. MUC1 and the MUCs: A family of human mucins with impact in cancer biology. Crit Rev Clin Lab Sci 2004; 41(2): 189-231.
3. Nyame K, Cummings RD, Damian RT. Schistosoma mansoni synthesizes glycoproteins containing terminal O-linked N-acetylglucosamine residues. J Biol Chem 1987; 262(17): 7990-5.

4. Alvarez ED, Medeiros A, Miguez M, Casaravilla C, Malgor R, Carmona C, et al. O-glycosylation in Echinococcus granulosus: Identification and characterization of the carcinoma-associated Tn antigen. Exp Parasitol 2001; 98(2): 100-9.
5. Daneshpour S, Bahadoran M, Hejazi SH, Eskandarian AA, Mahmoudzadeh M, Darani HY. Common antigens between hydatid cyst and cancers. Adv Biomed Res 2016; 5: 9.
6. Yousofi DH, Soozangar N, Khorami S, Taji F, Yousofi M, Shirzad H. Hydatid Cyst Protoscolices induce cell death in WEHI-164 fibrosarcoma cells and inhibit the proliferation of baby hamster kidney fibroblasts in vitro. J Parasitol Res 2012; 2012: 304183.
7. Badri-Chookami M, Sharafi SM, Rafeie R, Bahadoran M, Pestechian N, Yousofi-Darani H. Effect of Alive protoscoleces of hydatid cyst on the growth of melanoma cells in mouse model. J Isfahan Med Sch 2014; 32(281): 486-92. [In Persian].
8. Chookami MB, Sharafi SM, Sefiddashti RR, Jafari R, Bahadoran M, Pestechian N, et al. Effect of two hydatid cyst antigens on the growth of melanoma cancer in C57/black mice. J Parasit Dis 2016; 40(4): 1170-3.
9. Ramazninia ST, Sharafi SM, Bahadoran M, Jafaee Nodeh F, Mahmoudzadeh M, Yousofi Darani H. Effect of passive transfer of spleen cells from immunized mice with hydatid cyst antigens on the growth of melanoma cancer in C57/Black mice. Br J Med Med Res 2016; 16(7): 1-6.
10. Yousofi Darani H, Sharafi SM, Mokarian F, Yousefi M, Sharafi S, Jafari R. Therapeutic effect of hydatid cyst liquid on melanoma tumor growth in mouse model. Br J Med Med Res 2016; 18(2): 1-7.
11. Khudaiberdyev RI, Kamilov K. Morphofunctional characteristics of the blood vessels of the insular apparatus of the pancreas following resection of the stomach (experimental study). Probl Endokrinol (Mosk) 1973; 19(5): 105-9. [In Russian].
12. Ubillos L, Medeiros A, Cancela M, Casaravilla C, Saldana J, Dominguez L, et al. Characterization of the carcinoma-associated Tk antigen in helminth parasites. Exp Parasitol 2007; 116(2): 129-36.
13. Thors C, Jansson B, Helin H, Linder E. Thomsen-Friedenreich oncofetal antigen in Schistosoma mansoni : Localization and immunogenicity in experimental mouse infection. Parasitology 2006; 132(Pt 1): 73-81.
14. Darani HY, Yousefi M. Parasites and cancers: parasite antigens as possible targets for cancer immunotherapy. Future Oncol 2012; 8(12): 1529-35.
15. Shirzad H, Khorami S, Soozangar N, Yousefi M, Yousofi Darani H. Toxoplasma gondii but Not Leishmania major or Trichomonas vaginalis decreases cell proliferation and increases cell death on fibrosarcoma cancer cells in culture medium. World J Vaccines 2012; 2(2): 105-8.
16. Darani HY, Shirzad H, Mansoori F, Zabardast N, Mahmoodzadeh M. Effects of Toxoplasma gondii and Toxocara canis antigens on WEHI-164 fibrosarcoma growth in a mouse model. Korean J Parasitol 2009; 47(2): 175-7.
17. Sharafi SM, Shirzad H, Khanahmad H, Ataei B, Darani HY. monoclonal antibodies production against a 40KDa band of hydatid cyst fluid. Recent Pat Biotechnol 2018; 12(1): 57-64.
18. Sharafi S, Rafiei R, Rafiei R, Hadipour M, Shirzad H, Khanahmad H, Darani HA. Nonglycosylated 27 KDa molecule as common antigen between human breast cancer and Echinococcus granulosus hydatid cyst wall. Adv Breast Cancer Res 2016: 5(2): 90-5.
19. Casaravilla C, Malgor R, Carmona C. Characterization of carbohydrates of adult Echinococcus granulosus by lectin-binding analysis. J Parasitol 2003; 89(1): 57-61.
20. Casaravilla C, Freire T, Malgor R, Medeiros A, Osinaga E, Carmona C. Mucin-type O-glycosylation in helminth parasites from major taxonomic groups: Evidence for widespread distribution of the Tn antigen (GalNAc-Ser/Thr) and identification of UDP-GalNAc:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase activity. J Parasitol 2003; 89(4): 709-14.
21. Ogilvie BM, Simpson E, Keller R. Tumour growth in nematode-infected animals. Lancet 1971; 1(7701): 678-80.
22. Song T, Gan W, Chen J, Huang L, Yin H, He T, et al. Antibodies against Clonorchis sinensis LDH could cross-react with LDHB localizing on the plasma membrane of human hepatocarcinoma cell SMMC-7721 and induce apoptosis. Parasitol Res 2016; 115(4): 1595-603.
23. Chari RV. Targeted cancer therapy: Conferring specificity to cytotoxic drugs. Acc Chem Res 2008; 41(1): 98-107.

DOI: *10.22122/jims.v36i499.9859* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 36, No. 499, 3rd Week, December 2018**

Received: 15.04.2018 Accepted: 03.11.2018 Published: 06.12.2018

Investigating the Reaction of Antisera against Hydatid Cyst Antigens with the Surface of Breast Cancer (4T1), Melanoma (B16F10), and Normal Spleen Cells Using Flow Cytometry Technique

Fereshteh Mohamadi[1], Mahshid Shakibapour[1], Seyedeh Maryam Sharafi[2], Ali Reza Andalib[3], SepidehTolouei[4], HosseinYousofi-Darani[5]

Original Article

Abstract

Background: Hydatid cyst is the larval stage of the Echinococcus granulosus worm which is located in the humans and animals viscera. In order to study the anticancer mechanisms of this parasite, in this study the response of antisera against hydatid cyst antigens with tumor cells antigens was investigated using flow cytometry technique.

Methods: Antisera against hydatid cyst antigens were prepared in rabbits, and added to the melanoma (B16F10) and breast cancer cell (4T1) lines, and also normal mouse spleen cells. The reaction was then monitored via flow cytometry.

Findings: There was no significant difference in the reaction of hydatid cyst antisera (protoscolex, cell wall, and cystic fluid) with the melanoma cell line. However, the reaction of antisera against cyst fluid and cyst wall with breast cancer cells was significantly different. Additionally, the reaction of the antisera against protoscolex, wall, and cyst fluid with mouse spleen cells was less than that of normal rabbit serum (as a negative control).

Conclusion: The results show that antisera against cyst wall and fluid react with the breast cancer cell line, but not with melanoma cells. These results confirm the anticancer mechanisms of this parasite. So, it may be possible to use it for selective drug delivery.

Keywords: Flow cytometry, Malignant melanoma, Breast cancer, Hydatid cyst

Citation: Mohamadi F, Shakibapour M, Sharafi SM, Andalib AR, Tolouei S, Yousofi-Darani H. **Investigating the Reaction of Antisera against Hydatid Cyst Antigens with the Surface of Breast Cancer (4T1), Melanoma (B16F10), and Normal Spleen Cells Using Flow Cytometry Technique.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(499): 1191-6.

1- MSc Student, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- PhD, Environment Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-Communicable Disease, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Immunology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- PhD, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Professor, Cancer Prevention Research Centre, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hossein Yousofi-Darani, Email: yousofidarani@gmail.com