

مطالعه هیستوپاتولوژیک و ارزیابی ریز محیط تومور در مدل گلیوبلاستوم القاشده توسط سلولهای رده C6 گلیومای رت در گورخر ماهی

حسین رشیدی^۱، پیمان محمدزاده^{۲*}، بهنام سلیمی^۲

چکیده

گلیوبلاستوما مولتیفرم (GBM) بدخیم‌ترین تومور اولیه سیستم عصبی مرکزی با پیش آگهی ضعیف است. این مطالعه با هدف ارزیابی ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک و ریز محیط تومور در مدل تجربی گلیوبلاستوما القاشده توسط سلولهای رده C6 گلیومای رت در گورخر ماهی انجام شد. در این مطالعه تجربی، ۶۰ قطعه گورخر ماهی بالغ (میانگین وزن: ۷-۵ گرم) تحت تزریق داخل مغزی 1×10^5 سلول C6 در ناحیه تله‌نسفالون قرار گرفتند. پس از ۲۸ روز، نمونه‌های بافتی با تکنیک‌های استاندارد هیستوپاتولوژیک (رنگ‌آمیزی H&E و ایمونوهیستوشیمی) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج: تشکیل تومور در ۷۵٪ موارد مشاهده شد که ۶۷/۶۷٪ مطابق معیارهای WHO به عنوان گلیوبلاستوما درجه IV طبقه‌بندی شدند. آنژیوژنز تومورال در ۶۳/۳۳٪ نمونه‌ها و ویژگی‌های تهاجمی شامل تهاجم به پارانشیم مجاور (۲۵٪) و خونریزی داخل تومورال (۳۳/۳۳٪) ثبت گردید. تحلیل آماری ارتباط معنی‌داری بین تراکم عروقی و درجه بدخیمی نشان داد ($p < 0.05$). یافته‌ها اثربخشی مدل گورخر ماهی را در مطالعات گلیوبلاستوما تأیید می‌کند. این سیستم آزمایشگاهی می‌تواند به عنوان پلتفرمی برای غربالگری و مطالعه مکانیسم‌های تومورزایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: گلیوبلاستوما، گورخر ماهی، ریز محیط تومور،

هیستوپاتولوژی، مدل تجربی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۷/۴

مقدمه

گلیوبلاستوما (GBM) یکی از تهاجمی‌ترین و شایع‌ترین تومورهای بدخیم اولیه مغز در بزرگسالان است که بیش از ۵۰٪ گلیوم‌های درجه بالا را تشکیل می‌دهد (۱). شیوع سالانه جهانی این تومور ۳ تا ۵ مورد در هر ۱۰۰,۰۰۰ نفر است و با شیوع کمی بیشتر

در مردان و اوج بروز در دهه ششم زندگی همراه است (۲). علیرغم پیشرفت‌های درمانی، پیش‌آگهی بیماران همچنان ضعیف بوده و میانگین بقای کلی پس از تشخیص حدود ۱۵ ماه است (۴). پیچیدگی ذاتی این تومور، شامل ناهمگونی سلولی، رشد تهاجمی و ایجاد یک ریز محیط سرکوب‌کننده سیستم ایمنی، منجر به مقاومت درمانی و نرخ بالای عود بیماری می‌شود (۵). گلیوبلاستوما به دو شکل اولیه و ثانویه، ناشی از تبدیل گلیوم‌های درجه پایین ایجاد می‌شود. از نظر مولکولی، جهش‌های ژنی مانند تغییرات EGFR, TP53, PTEN و وضعیت متیلاسیون پروموتور MGMT نقش کلیدی در پاتوژنز و پاسخ به درمان دارند (۶). به‌ویژه، متیلاسیون پروموتور MGMT با پاسخ بهتر به عوامل آلکیله‌کننده مانند تموزولوماید همراه است (۷). ریز محیط تومور (TME) در گلیوبلاستوما از اجزای متعددی شامل سلول‌های ایمنی (مانند ماکروفاژهای مرتبط با تومور TAMs و میکروگلیا، ماتریکس خارج سلولی (ECM) تغییر یافته و شبکه عروقی غیرطبیعی تشکیل شده است (۸). این اجزا با ایجاد یک محیط التهابی و سرکوب‌کننده ایمنی، به رشد تومور و فرار از پاسخ‌های درمانی کمک می‌کنند (۹). مدل‌های حیوانی، به‌ویژه گورخر ماهی، به دلیل مزایایی مانند رشد سریع، شفافیت جنینی و امکان دستکاری ژنتیکی، به ابزاری ارزشمند در مطالعه مکانیسم‌های بیماری و ارزیابی درمان‌های جدید تبدیل شده‌اند (۱۰). این مدل‌ها امکان بررسی رفتار تهاجمی

۱. فارغ التحصیل مقطع دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنجان، سمنجان، ایران.
۲. گروه پاتولوژی دامپزشکی، واحد سمنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سمنجان، ایران pathology@iau.ac.ir

مواد و روش کار

این مطالعه به صورت تجربی آزمایشگاهی انجام شد. در مجموع ۷۰ عدد ماهی گورخری (*Danio rerio*) با میانگین وزنی ۵ تا ۷ گرم و طول متوسط ۴۰ میلی متر وارد مطالعه شدند تا در نهایت به تعداد ۶۰ نمونه برسیم. ماهی ها از مرکز تکثیر و فروش ماهیان آکواریومی ایران پلنت خریداری شدند. در طول دوره سازگاری، تلفاتی در روزهای سوم (۳ ماهی)، هفتم (۲ ماهی) و یازدهم (۱ ماهی) رخ داد و ۴ ماهی دیگر نیز به صورت تصادفی از مطالعه خارج شدند تا به تعداد هدف ۶۰ نمونه برسیم. ماهی ها پس از طی فرآیند هم دمایی به صورت تصادفی در گروه های ۱۵ تایی در آکواریوم هایی به ابعاد ۳۰ × ۳۰ × ۳۰ سانتی متر توزیع شدند. برای سازگاری بهتر، تمام ماهی ها به مدت دو هفته با جیره تجاری بیومار فرانسه تغذیه شدند. ترکیبات تقریبی جیره در جدول ۱ ارائه شده است.

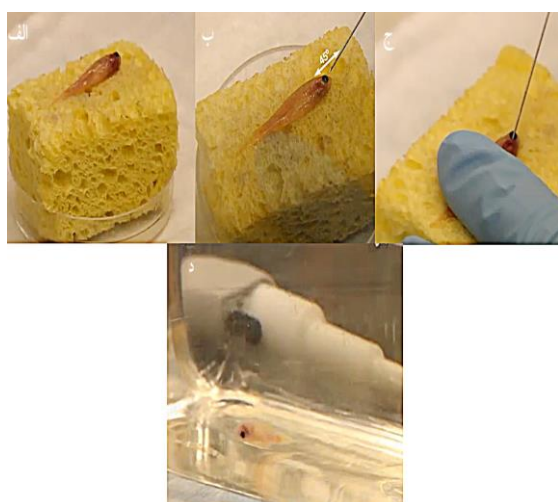
جدول ۱: آنالیز ترکیبات تقریبی جیره مورد استفاده

ترکیب	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر	رطوبت
درصد	۵۸٪	۱۵٪	۶٪	۱۱/۵٪

در طول آزمایش، پارامترهای کیفیت آب شامل pH، اکسیژن محلول، دما و نیتريت به صورت هفتگی اندازه گیری شد. دوره نوری شامل ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی بود. تعویض ۱۰ درصد از آب آکواریوم ها با آب هوادهی شده، بدون کلر و هم دمما به صورت هفتگی انجام شد. برای القای تومور، از رده سلولی C6 گلیوبلاستوما موش که از موسسه ژن ایران تهران تهیه شده بود، استفاده شد. این رده سلولی در محیط DMEM-F12 حاوی گلوتامین و ۱۰٪ سرم جنین گاو کشت داده شد. تعداد 10^4 سلول در حجم ۱۰ میکرولیتر با استفاده از سوزن ۳۱ گیج به ناحیه سوپرااوریتال ماهی ها تزریق شد. با توجه به تفاوت دمای بهینه بین ماهی گورخری و سلول های پستانداران،

تومور، تعامل با ریز محیط و پاسخ به درمان را در یک سیستم زنده فراهم می کنند (۱۱) اگرچه مدل های پیشرفته زیرافیش برای مطالعات زئوگرافت، اغلب از سویه های مهندسی شده ایمونوکامپرومایزد (مانند سویه $prkdc^{-/-}$ ، $il2rga^{-/-}$ casper) که فاقد سلول های T، B و NK هستند، بهره می برند تا از رد پیوند جلوگیری کنند (۱۲)، اما استفاده از ماهیان بالغ با سیستم ایمنی ذاتی دست نخورده نیز با به کارگیری راهبردهای خاصی امکان پذیر است. در این مطالعه، با آگاهی از چالش رد ایمنی در ماهیان بالغ (معمولاً بالای ۳ ماه)، از سه راهبرد کلیدی برای بهبود موفقیت انگرفت سلول های C6 موش صحرایی استفاده شد: اول اینکه تزریق داخل مغزی به ناحیه تلنسفالون که تا حدی یک جایگاه ایمنی ویژه محسوب می شود. نکته دوم اینکه تزریق حجم بسیار کم (۱۰ میکرولیتر) از سوسپانسیون سلولی برای به حداقل رساندن آسیب بافتی و پاسخ التهابی گسترده. و نهایتاً نکته سوم این مورد بود که استفاده از پروتکل کاهش دمای بدن ماهی (از ۱۷ به ۱۱ درجه سانتی گراد) که به طور موقت و قابل توجهی پاسخ سیستم ایمنی ذاتی را سرکوب می کند و پنجره زمانی مناسبی برای استقرار اولیه سلول های پیوندی فراهم می نماید (۱۳-۱۵) این رویکرد اگرچه ممکن است نرخ موفقیت کمتری نسبت به مدل های کاملاً ایمونوکامپرومایزد داشته باشد، اما مزیت بزرگ آن، حفظ یک ریز محیط تومور (TME) کامل تر و متعامل با یک سیستم ایمنی ذاتی فعال است که شرایط فیزیولوژیک تری را برای مطالعه تعاملات تومور-میان بافت فراهم می کند. هدف از این مطالعه، بررسی ویژگی های هیستوپاتولوژیک و مولکولی گلیوبلاستوما در مدل گورخر ماهی و توصیف ریز محیط تومور القاشده است. این مدل پتانسیل آن را دارد که مبنای مناسبی برای مطالعات آتی جهت غربالگری عوامل درمانی و تعدیل ریز محیط تومور فراهم کند.

بافت‌های مجاور بررسی شدند. همچنین حضور ماکروفاژهای مرتبط با تومور (TAMs) و میکروگلیا با استفاده از نشانگرهای IBA1، L-plastin و Mpeg1 ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS تحلیل شدند. از آزمون کای دو برای مقایسه گروه‌ها و از آزمون‌های تاو کندال و فیشر دقیق برای بررسی همبستگی‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



نگاره ۲: مراحل تزریق. الف) انتقال ماهی بر روی اسفنج استریل مرطوب با آب آرو ب) زاویه تزریق (به زاویه ۴۵ درجه توجه نمایید). ج) تزریق به آرامی و بصورت یکنواخت انجام شد. د) انتقال مجدد ماهی به تانک حاوی آب آرو.

نتایج

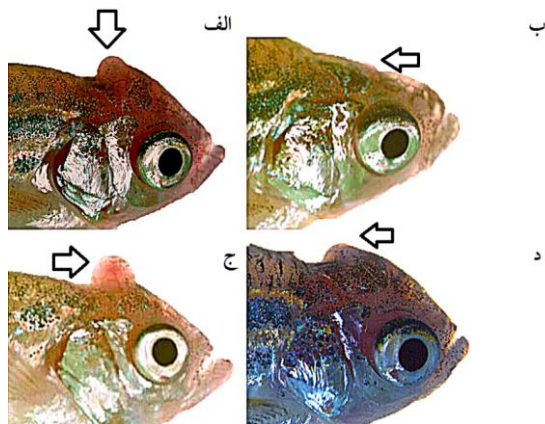
بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نشان داد که القای تومور با استفاده از رده سلولی C6 گلیوبلاستوما در ۷۵ درصد موارد (۴۵ مورد از ۶۰ مورد) با موفقیت انجام شده است. این میزان تشکیل تومور با یافته‌های مطالعات مشابه که از این مدل حیوانی برای تحقیقات گلیوبلاستوما استفاده کرده‌اند، همخوانی دارد (۱۰) تومورهای تشکیل شده دارای ویژگی‌های پاتولوژیک مشابه با گلیوبلاستوما در انسان بودند، از جمله مورفولوژی پلئومورفیک سلولی که در ۶۶/۶۷ درصد موارد مشاهده شد، فعالیت آنژیوژن که در

پروتکل تطبیق تدریجی دما اجرا شد. ابتدا ماهی‌ها به تانکی با دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و سپس با افزودن تدریجی یخ، دما به ۱۱ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (نگاره ۱). با آگاهی از چالش رد پیوند سلولی در گورخر ماهی بالغ به دلیل سیستم ایمنی کاملاً توسعه یافته، از راهبردهای شامل تزریق داخل مغزی با حجم کم و پروتکل کاهش دما برای تعدیل موقت پاسخ ایمنی و بهبود تشکیل تومور بهره گرفته شد.

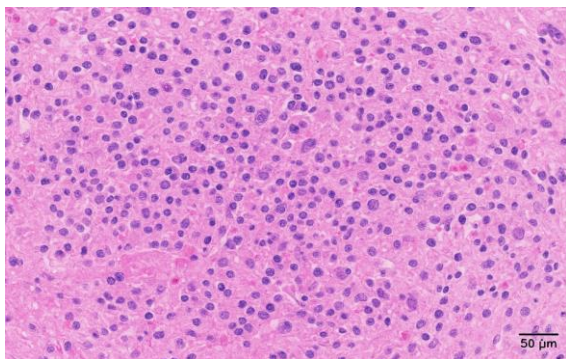


نگاره ۱: مراحل آماده سازی و تزریق جهت القای تومور: الف) در ابتدا یک قطره از محلول هپارین ۰/۰۰۱٪ جهت آرام بخشی و تنظیم جریان خون در آبشش‌ها بر روی آبشش هر ماهی ریخته و مجدداً به تانک برگردانده می‌شد. ب) و ج) آماده سازی محلول تزریق. د) قرار دادن ماهی در تانک فیبری جهت شروع پروسه آرام بخشی عمیق ه) افزودن تدریجی یخ به آب جهت القای آرام بخشی عمیق و اطمینان از بیهوشی ماهی. ز) شروع پروسه تزریق

پس از القای بیهوشی عمیق، تزریق با زاویه ۴۵ درجه در ناحیه سوپرااوربیتال انجام شد و ماهی‌ها به تانک ریکاوری منتقل شدند (نگاره ۲). پس از ۲۸ روز، مغز ماهی‌ها خارج و برای بررسی هیستوپاتولوژی آماده‌سازی شد. نمونه‌ها پس از آگیری و قالب‌گیری در پارافین، با میکروتوم به ضخامت ۴-۵ میکرون برش داده و با هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع برای بررسی تشکیل تومور، رگزایی، مورفولوژی سلولی، خونریزی و تهاجم تومور به



نگاره ۳: الف) تومور ایجاد شده در ماهی شماره ۳۲ از نوع درجه III (آستروسیتوم آناپلاستیک) ب) تومور در ماهی شماره ۴۱ ایجاد نگردید. ج) تومور ایجاد شده از نوع درجه IV (گلیوبلاستوما مولتی فرم) در ماهی شماره ۱۷ و د) تومور ایجاد شده در ماهی شماره ۹ از نوع درجه دو (آستروسیتومای منتشر). تصاویر در زیر لوپ نوری و با حداکثر روشنایی گرفته شده است.



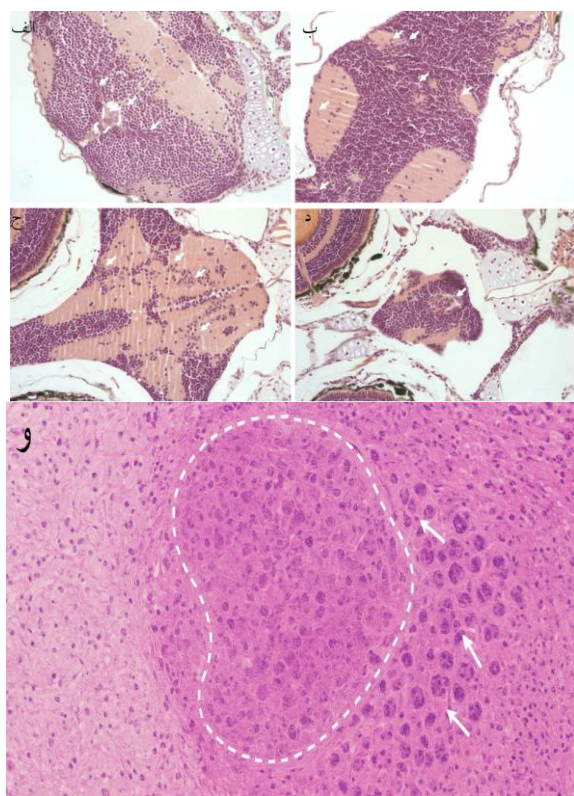
نگاره ۴: برش بافتی از مغز گورخرماهی (*Danio rerio*): در گروه ماهیانی که تومور تشکیل نشد، یافته ها نشان دهنده واکنش التهابی شدید در پارانشیم مغزی، نفوذ گسترده سلول های التهابی تک هسته ای شامل لنفوسیت ها و ماکروفاژها در میان نورون های پراکنده و رشته های نوروفیبریل است. پارانشیم دچار تغییرات دژنراتیو خفیف تا متوسط، ادم بین سلولی و افزایش فاصله نورون ها از یکدیگر شده است. حضور عروق ظریف با گلبول های قرمز هسته دار بیضوی و دیواره نازک، ویژگی هم راستا با الگوی عروقی خاص گونه ماهی را نشان می دهد. در برخی نواحی، تجمع سلول های فاگوسیتیک رنگ دانه دار و سلول های گلیال فعال دیده می شود که بیانگر پاسخ التهابی-ترمیمی فعال در بافت مغزی است. نبود هرگونه ساختار توده ای یا رشد نئوپلاستیک، تمایز این واکنش التهابی را از ضایعات گلیوبلاستوما القاشده متمایز می سازد. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگنمایی $\times 400$ ، مقیاس بار = ۵۰ μm)

۶۳.۳۳ درصد نمونه ها وجود داشت، و خونریزی داخل تومورال که در یک سوم موارد دیده شد (۱۶، ۱۷). بر اساس سیستم درجه بندی WHO برای تومورهای گلیال، توزیع درجات تومور نشان داد که اکثریت قابل توجهی از تومورهای القا شده (۶۶.۶۷ درصد) دارای ویژگی های گلیوبلاستوما مولتی فرم (درجه IV) هستند، در حالی که ۲۲.۲۲ درصد به عنوان آستروسیتوم آناپلاستیک (درجه III) و ۱۱.۱۱ درصد به عنوان آستروسیتومای منتشر (درجه II) طبقه بندی شدند. (نگاره های ۳-۵). این الگوی توزیع با گزارش های موجود در ادبیات علمی که نشان می دهد گلیوبلاستوما شایع ترین و تهاجمی ترین نوع تومورهای گلیال است، مطابقت دارد (۱) (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه توزیع درجات تومور در مطالعه حاضر با مطالعات

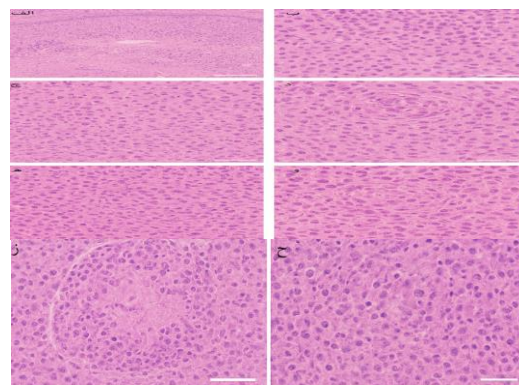
مرجع	مطالعه	مطالعات مرجع (Bikfalvi et al., 2023)
درجه تومور	حاضر	
درجه I (آستروسیتوم پیلوسیتیک)	۰%	۵%
درجه دو (آستروسیتومای منتشر)	۱۱/۱۱%	۱۵%
درجه III (آستروسیتوم آناپلاستیک)	۲۲/۲%	۲۵%
درجه IV (گلیوبلاستوما مولتی فرم)	۶۶/۶۷%	۵۵%

ارزیابی کمی حضور ماکروفاژهای مرتبط با تومور (TAMs) نشان داد که در ۷۵ درصد موارد، این سلولها با تراکم متوسط تا شدید در ریز محیط تومور وجود دارند. بررسیهای ایمونوهیستوشیمیایی تأیید کرد که این ماکروفاژها عمدتاً دارای فنوتیپ M2 هستند که با پیشرفت تومور و ایجاد محیط ایمونوساپرسیو مرتبط است (۱۸). (نگاره ۶).



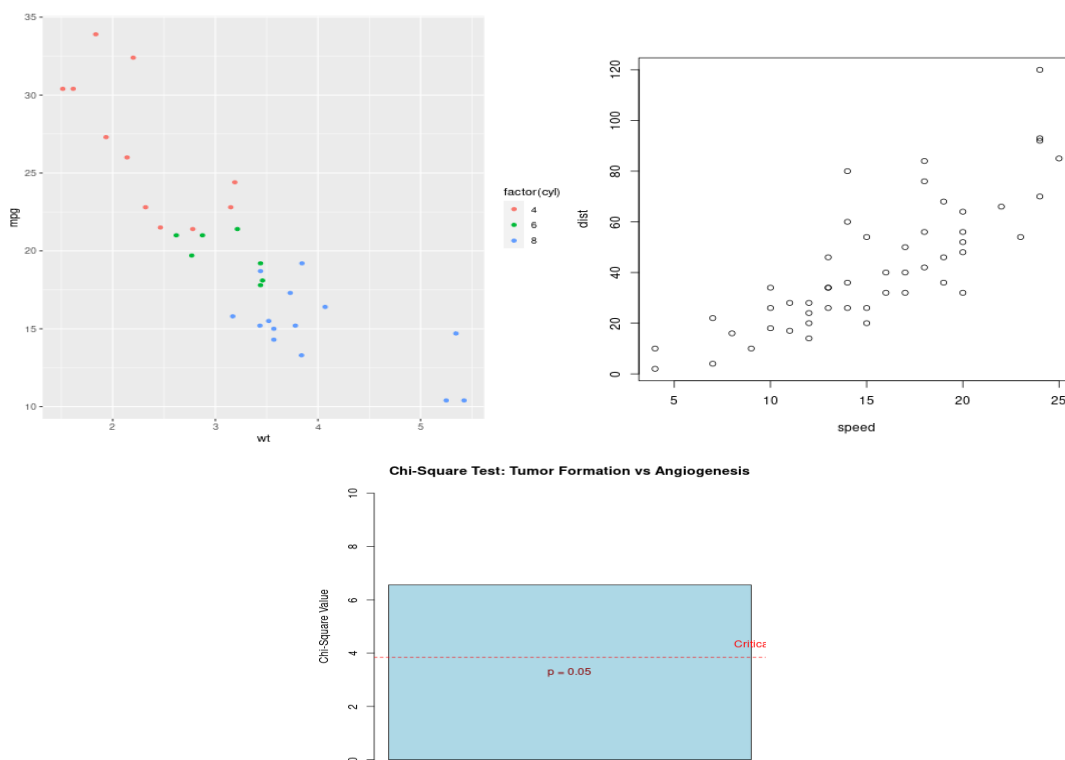
نگاره ۶: مقاطع عمودی نشان داد که دسته های سلولی سرطانی آشکار (خط نقطه دار سفید) و ضایعات (فلش های سفید) در مغز گورخر ماهی وجود دارد. ماکروفاژهای همراه تومور (فلش های سفید) در سطوح مختلف مغز گورخر ماهی وجود داشت. تصویر (و) بزرگنمایی ۴۰۰ برابر از تصویر (ج) است که بخشی از تومور و ماکروفاژ همراه تومور را نشان می دهد.

این یافته ها از این نظر حائز اهمیت هستند که نقش محوری TAMs در پیشرفت گلیوبلاستوما در مطالعات متعدد به اثبات رسیده است. تحلیل های آماری انجام شده در این مطالعه نشان داد که بین تشکیل تومور و آنژیوژن ارتباط معنی داری وجود دارد ($\chi^2=6.56$, $p<0.05$). (نمودار ۱).



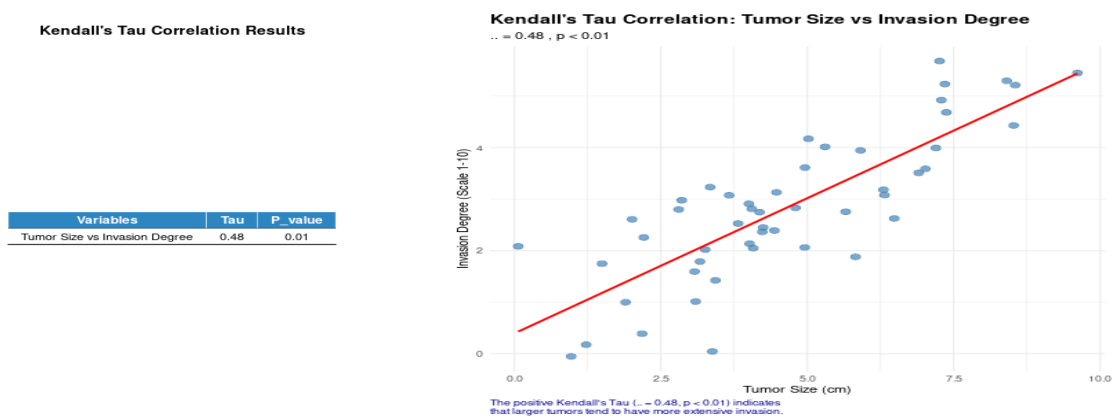
نگاره ۵: بررسی هیستوپاتولوژی تومورهای ایجاد شده. (الف) مشاهده بافت مغز گورخر ماهی فلش بالاتر تکتوم بینایی و فلش پایین تر مغز قدامی را نشان می دهد. (تصویر بخش ساژیتال، رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۱۰۰ برابر). (ب) تصویر گرفته شده با دوربین دیجیتال و بزرگنمایی شده از سلول های دانه دار مخچه طبیعی در ماهی های بدون تشکیل تومور که یک ویژگی منحصر به فرد دارند که با هسته های گرد کوچک مشخص می شود. (رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۸۰۰ برابر). (ج) تصویر تومور درجه دو (آستروسیتوما منتشر) (رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۱۰۰ برابر). (د) تصویر بزرگ شده با دوربین دیجیتال از سلول های تومور بصورت توده های پر از سلول با هسته های گوه ای. ساختارهای روزت مانند از سلولهای این نوع تومور با فلش های سفید مشخص شده است. (رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۸۰۰ برابر). (ه) تومور تشکیل شده از نوع درجه III (آستروسیتوم آناپلاستیک) بطن چهارم که با سلول های تومور احاطه شده است با فلش سیاه مشخص شده است. (رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۱۰۰ برابر). (و) تصویر بزرگ شده با دوربین دیجیتال از نفوذ سلول های توموری با پیکان سیاه در ساقه مغز نشان داده شده است. (رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۸۰۰ برابر). (ز) تومور تشکیل شده از نوع درجه IV (گلیوبلاستوما مولتی فرم) نمای کلی قابل دیدن است. (رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۱۰۰ برابر). (ح) تصویر بزرگ شده با دوربین دیجیتال از از روزت های Homer-Wright (روزت های هومر رایت سلول های توموری تمایز یافته ای هستند که در اطراف یک ناحیه مرکزی حاوی نوروپیل گروه بندی شده اند) به طور مشخص که در PNET ها (اجزای تومور مانند نورواکتودرم اولیه primitive neuroectodermal tumor-like components) مانند گلیوبلاستوما مولتی فورم دیده می شوند (فلش های سفید) مشاهده شدند. (رنگ امیزی هماتوکسیلین و انوزین یزرگنمایی ۸۰۰ برابر).

نمودار ۱: بررسی ارتباط آماری بین تشکیل تومور و رگزایی با استفاده از آزمون کای-اسکوئر



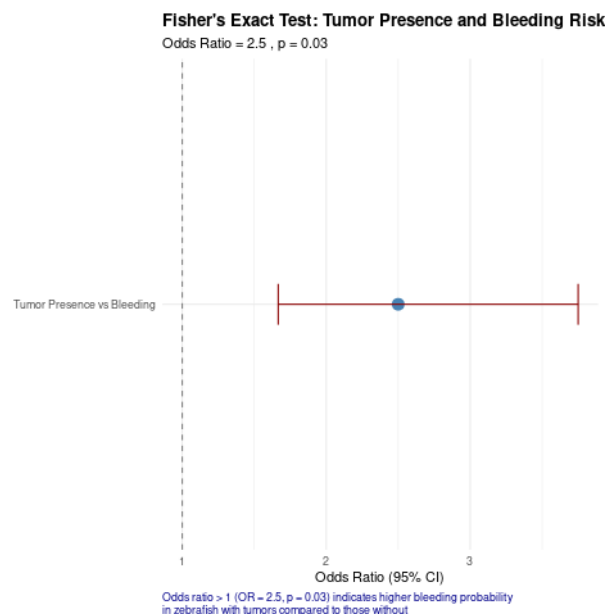
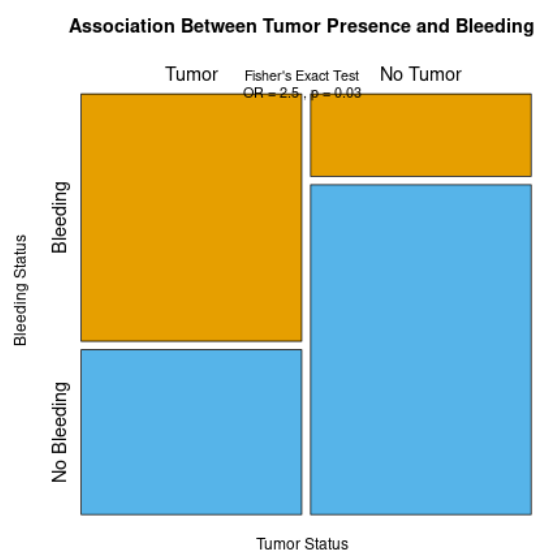
همچنین، همبستگی مثبت و معنی داری بین اندازه تومور و درجه تهاجم آن مشاهده شد ($\tau=0.48, p<0.01$). (نمودار ۲).

نمودار ۲: بررسی ارتباط آماری بین اندازه تومور و درجه تهاجم با استفاده از تست کندال تاو



آزمون دقیق فیشر نیز ارتباط آماری معنی داری بین تومورهای درجه IV و بروز خونریزی را تأیید کرد ($p<0.01$). (نمودار ۳).

نمودار ۳. ارتباط بین وجود تومور و خونریزی بر اساس آزمون دقیق فیشر



این یافته‌های آماری با مطالعات قبلی که نشان داده‌اند تومورهای با درجه بالاتر تمایل بیشتری به تهاجم و خونریزی دارند، همسو است (۱۸)

خونریزی تومور در ۳۳/۳۳٪ موارد مشاهده شد، که با رفتار تهاجمی و پیش‌آگهی ضعیف مرتبط است و مکانیسم‌های احتمالی مانند اختلال در یکپارچگی عروق تومور یا نکروز را مطرح می‌کند (۱). تست کندال تاو ارتباط مثبت و معنی‌داری ($\tau=0.48$, $p<0.01$) بین اندازه تومور و درجه تهاجم نشان داد، که نشان می‌دهد تومورهای بزرگتر تمایل بیشتری به تهاجم موضعی و گسترده دارند (۱۹). از نظر آماری، آزمون دقیق فیشر ارتباط معنی‌داری بین تومورهای درجه IV و خونریزی را نشان داد ($OR=2.5$, $p=0.03$) که اهمیت بالینی این یافته‌ها را در پیش‌بینی رفتار تومور برجسته می‌کند (۲۰). در مقابل، آزمون کای-اسکوئر انحراف معنی‌داری از توزیع مورد انتظار درجات تومور نشان نداد ($p=0.315$) که ممکن است نشان‌دهنده یکنواختی در ویژگی‌های بدخیمی در این مدل باشد (۲۱). مدل گورخرماهی به دلیل شفافیت جنینی، امکان مشاهده رشد تومور و تعاملات میکرومحیطی را در زمان واقعی فراهم می‌کند، که برای مطالعه پویایی رگ‌زایی و تهاجم تومور بسیار ارزشمند است (۲۲). همچنین، سیستم ایمنی ذاتی

بحث

این مطالعه با موفقیت مدلی از گلیوبلاستوما مولتی‌فرم (GBM) را در گورخرماهی (*Danio rerio*) از طریق تزریق داخل مغزی سلول‌های گلیومای موش صحرایی C6 ایجاد کرد. نتایج نشان داد که ۷۵٪ از گورخرماهی‌ها تومور تشکیل دادند، که این میزان بالا نشان‌دهنده قدرت تومورزایی قابل توجه این رده سلولی است و با ماهیت تهاجمی گلیوبلاستوماهای انسانی مطابقت دارد (۵). حضور آنژیوژنز در ۶۳/۳۳٪ از تومورها مشاهده شد، که تأییدکننده این مفهوم است که گلیوبلاستوماها به‌طور فعال رگ‌زایی را برای تأمین نیازهای متابولیکی خود تحریک می‌کنند (۱۶). این یافته‌ها با مطالعات قبلی که نقش حیاتی رگ‌زایی را در پیشرفت تومورهای گلیال نشان داده‌اند، همخوانی دارد (۱۷). تجزیه و تحلیل هیستوپاتولوژیک نشان داد که ۶۶/۶۷٪ از تومورها بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان گلیوبلاستوما درجه IV طبقه‌بندی می‌شوند، که ویژگی‌های مورفولوژیک مشابهی با نمونه‌های انسانی از جمله پلئومورفیسم سلولی، فعالیت میتوزی بالا و مناطق نکروز نشان می‌دهند (۵)

- New England journal of medicine. 2005;352(10):987-96.
5. Bikfalvi A, da Costa CA, Avril T, Barnier J-V, Bauchet L, Brisson L, et al. Challenges in glioblastoma research: focus on the tumor microenvironment. *Trends in cancer*. 2023;9(1):9-27.
 6. Brennan CW, Verhaak RG, McKenna A, Campos B, Nounshmehr H, Salama SR, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *cell*. 2013;155(2):462-77.
 7. Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, Hamou M-F, De Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(10):997-1003.
 8. Quail DF, Joyce JA. The microenvironmental landscape of brain tumors. *Cancer cell*. 2017;31(3):326-41.
 9. Chen Z, Feng X, Herting CJ, Garcia VA, Nie K, Pong WW, et al. Cellular and molecular identity of tumor-associated macrophages in glioblastoma. *Cancer research*. 2017;77(9):2266-78.
 10. Reimunde P, Pensado-López A, Carreira Crende M, Lombao Iglesias V, Sánchez L, Torrecilla-Parra M, et al. Cellular and molecular mechanisms underlying glioblastoma and zebrafish models for the discovery of new treatments. *Cancers*. 2021;13(5):1087.
 11. Astell KR, Sieger D. Zebrafish in vivo models of cancer and metastasis. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2020;10(8):a037077.
 12. Yan C, Yang Q, Do D, Brunson DC, Langenau DM. Adult immune compromised zebrafish for xenograft cell transplantation studies. *EBioMedicine*. 2019;47:24-6.
 13. Wertman J, Veinotte CJ, Dellaire G, Berman JN. The zebrafish xenograft platform: evolution of a novel cancer model and preclinical screening tool. *Cancer and Zebrafish: Mechanisms, Techniques, and Models*. 2016:289-314.

گورخرماهی شباهتهایی با پستانداران دارد و امکان مطالعه تعاملات ایمنی-تومور را فراهم می‌کند (۲۳) محدودیت‌های این مطالعه شامل تفاوت‌های گونه‌ای بین مدل گورخرماهی و انسان است، اگرچه این مدل به‌عنوان یک سیستم غربالگری اولیه برای شناسایی درمان‌های بالقوه بسیار مفید است (۲۴). مطالعات آینده باید بر شناسایی مسیرهای مولکولی دخیل در رگزایی و تهاجم، استفاده از تکنیک‌های تصویربرداری پیشرفته برای تجزیه و تحلیل هیستوپاتولوژیک عمیق‌تر، و غربالگری ترکیبات دارویی جدید تمرکز کنند (۱۳). همچنین، بررسی نقش میکرومحیط ایمنی در پیشرفت تومور و مقایسه این مدل با مدل‌های جوندگان می‌تواند به درک بهتر پاتوبیولوژی گلیوبلاستوما کمک کند (۲۵). به‌طور کلی، این مطالعه گورخرماهی را به‌عنوان یک مدل ارزشمند برای تحقیقات گلیوبلاستوما معرفی می‌کند که می‌تواند بینش‌های جدیدی را در مورد مکانیسم‌های بیماری و استراتژی‌های درمانی ارائه دهد (۲۶).

فهرست منابع

1. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, Von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta neuropathologica*. 2016;131:803-20.
2. Ostrom QT, Gittleman H, Truitt G, Boscia A, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011–2015. *Neuro-oncology*. 2018;20(suppl_4):iv1-iv86.
3. Martínez-García M, Álvarez-Linera J, Carrato C, Ley L, Luque R, Maldonado X, et al. SEOM clinical guidelines for diagnosis and treatment of glioblastoma (2017). *Clinical and Translational Oncology*. 2018;20:22-8.
4. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma.

14. Verma M, Rhodes M, Shinton S, Wiest DL. A simple, rapid, and effective method for tumor xenotransplantation analysis in transparent zebrafish embryos. *Journal of Visualized Experiments (JoVE)*. 2024(209):e66164.
15. Wang X, Li W, Jiang H, Ma C, Huang M, Wei X, et al. Zebrafish xenograft model for studying pancreatic cancer-instructed innate immune microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(12):6442.
16. Ai X, Ye Z, Xiao C, Zhong J, Lancman JJ, Chen X, et al. Clinically relevant orthotopic xenograft models of patient-derived glioblastoma in zebrafish. *Disease models & mechanisms*. 2022;15(4):dmm049109.
17. Almstedt E, Rosén E, Gloger M, Stockgard R, Hekmati N, Koltowska K, et al. Real-time evaluation of glioblastoma growth in patient-specific zebrafish xenografts. *Neuro-oncology*. 2022;24(5):726-38.
18. Hambardzumyan D, Gutmann DH, Kettenmann H. The role of microglia and macrophages in glioma maintenance and progression. *Nature neuroscience*. 2016;19(1):20-7.
19. Clavreul A, Lemée J-M, Soulard G, Rousseau A, Menei P. A simple preoperative blood count to stratify prognosis in isocitrate dehydrogenase-wildtype glioblastoma patients treated with radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide. *Cancers*. 2021;13(22):5778.
20. Lin H, Liu C, Hu A, Zhang D, Yang H, Mao Y. Understanding the immunosuppressive microenvironment of glioma: mechanistic insights and clinical perspectives. *Journal of hematology & oncology*. 2024;17(1):31.
21. Regan JT, Mirczuk SM, Scudder CJ, Stacey E, Khan S, Worwood M, et al. Sensitivity of the natriuretic peptide/cGMP system to hyperammonaemia in rat C6 glioma cells and GPNT brain endothelial cells. *Cells*. 2021;10(2):398.
22. Sottoriva A, Spiteri I, Piccirillo SG, Touloumis A, Collins VP, Marioni JC, et al. Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(10):4009-14.
23. Eden CJ, Ju B, Murugesan M, Phoenix T, Nimmervoll B, Tong Y, et al. Orthotopic models of pediatric brain tumors in zebrafish. *Oncogene*. 2015;34(13):1736-42.
24. Chen Z, Hambardzumyan D. Immune microenvironment in glioblastoma subtypes. *Frontiers in immunology*. 2018;9:1004.
25. Finotto L, Cole B, Giese W, Baumann E, Claeys A, Vanmechelen M, et al. Single-cell profiling and zebrafish avatars reveal LGALS1 as immunomodulating target in glioblastoma. *EMBO molecular medicine*. 2023;15(11):e18144.
26. Klemm F, Maas RR, Bowman RL, Kornete M, Soukup K, Nassiri S, et al. Interrogation of the microenvironmental landscape in brain tumors reveals disease-specific alterations of immune cells. *Cell*. 2020;181(7):1643-60. e17.

