Archive of SID

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۰، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۴
صفحات: ۱۵۳-۱۶۵

مقایسه حساسیت پرتوی و روند ترمیم آسیب های القاء شده با اشعه گاما درسلولهای سفید خون محیطی بیماران مبتلا به سرطان پروستات و افراد سالم با استفاده از آزمون کامت قلیایی

مریم شهیدی Ph.D.** ، حسین مزدارانی* Ph.D. ، فرهاد سمیعی*** M.D.**

چکیده

هدف: ارزیابی حساسیت پرتوی بیماران مبتلا به سرطان پروستات و افراد سالم با بررسی آسیب‌های ژنتیکی اولیه القاء شده ناشی از تابش پرتوهای گاما و همچنین روند ترمیم این آسیب ها در لوکوسیت‌های خون آنها با استفاده از آزمون کامت قلیایی.

روش بررسی: به منظور بررسی حساسیت پرتوی، نمونه‌های خون ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات و۳۲ فرد اهدا کننده سالم، در شرایط *in vitro* تحت تابش دوز۱ گری پرتوهای گامای کبالت ۶۰ ، با آهنگ پرتودهی ۱۱/۵۱ ±۲۷۷/۴۸ cGy/min قرار داده شد و پس از تابش دهی، توسط آزمون کامت قلیایی مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی روند ترمیم آسیب‌های القاء شده، نمونه‌های خون ۵ نفر از افراد مبتلا به سرطان پروستات و ۵ نفر از افراد سالم، تحت تابش دوز ۴ گری پرتوهای گاما قرار داده شد و پس از زمانهای مختلف بررسی شدند. کامت ها بوسیله طبقه بندی چشمی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و میزان آسیب DNA در دو گروه شاهد و بیمار تعیین گردید.

یافته‌ها : آسیبهای پایه در بیماران مبتلا به سرطان پروستات حدود ۱/۴ برابر بیشتر از افراد سالم بود. اگرچه سطح آسیب القاء شده در اثر تابش دهی در بیماران بیش از افراد سالم بود، تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند. هنگامیکه به سلول‌ها فرصت ترمیم آسیب ها داده شد، در حالیکه افراد سالم کاهش قابل ملاحظه آسیب را بعد از سه ساعت نشان می‌دادند، افراد مبتلا حتی در ۲۴ ساعت بعد از تابش‌دهی آسیب باقیمانده قابل توجهی داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهند لوکوسیت‌های افراد مبتلا به سرطان پروستات از لحاظ آسیب پذیری اولیه با افراد سالم تفاوتی ندارند. این در حالی است که بالاتر بودن سطح آسیب‌های پایه و همچنین حضور آسیب‌های ترمیم نشده پس از ۲۴ ساعت در بیماران، می‌تواند نشان دهنده نقص در روندهای ترمیمی در بیماران باشد و سازوکارهای ترمیمی ناقص، سلول‌های بیماران مبتلا به سرطان پروستات را در برابر اثر ژنوتوکسیک پرتوهای یونساز آسیب پذیرتر می‌کند.

واژه‌های کلیدی: سرطان پروستات، حساسیت پرتوی، لوکوسیت، آزمون کامت، ترمیمDNA

دریافت مقاله: ۸۳/۸/۱۹ ، پذیرش مقاله: ۸۴/۴/۲۷

* نویسنده مسئول: گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران ـایران

** گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس, *** گروه رادیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

آدرس پست الکترونیکی: Email: mozdarah@modares.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مـقدمـــه

کارسینوم پروستات شایع‌ترین سرطان احشایی در مردان است و از نظر علت مرگ‌های مربوط به سرطان در مردان مسن‌تر از ۵۰ سال، پس از سرطان ریه در جای دوم قرار می‌گیرد. سرطان‌های پنهان حتی از موارد آشکار از نظر بالینی شایع‌تر هستند و شیوع کلی آن در مردان مسن تر از ۸۰ سال به بیش از ۵۰٪ می‌رسد. اگرچه علت کارسینوم پروستات ناشناخته باقی مانده است، اما مشاهدات بالینی و تجربی مطرح کننده نقش تمامی عوامل هورمونی، ژنتیکی و محیطی در بیماری زایی آن هستند. خطر کارسینوم پروستات در منسوبین درجه اول مبتلا به این سرطان افزایش می‌یابد لذا به نظر می‌رسد که عواملی ژنتیکی از جمله عوامل مهم موثر در این بیماری باشند. (۱)

پرتوهای یونساز به عنوان عاملی موثر بر ایجاد سرطان پروستات شناخته می‌شوند از جمله در بررسی انجام شده بر روی ۳۹۵۴۶ پرسنل سازمان انرژی اتمی انگلستان، سرطان پروستات تنها بدخیمی مرتبط با قرارگیری در معرض اشعه بود. (۲) اما از جهت دیگر پرتوهای یونساز یک ابزار درمانی در درمان سرطان نیز محسوب می شوند، بنابراین آگاهی بیشتر از نحوه عملکرد اشعه یونزا در پاسخهای سلولی هم از لحاظ بالینی و هم از لحاظ درمانی حائز اهمیت می‌باشد.

پیش‌بینی حساسیت ذاتی بیماران مبتلا به سرطان نسبت به پرتوهای یونساز دارای اهمیت بالینی است زیرا بیماران پس از قرار گرفتن در معرض تابش پرتوهای یونساز در حین پرتودرمانی، واکنشهای بیولوژیک متفاوتی را نشان می‌دهند. (۳-۹) این واکنشها دارای گستره‌ای از عکس‌العمل‌های خفیف تا حاد و حتی مرگ می‌باشند و تابش‌دهی ممکن است منجر به ایجاد عوارضی مانند فیبروزه شدن و ایجاد سرطان در بافت تابش دیده گردد. (۱۱،۱۰،۴،۳) تحقیقات نشان داده است حدود ۱۵٪ از بیمارانی که توسط رادیوتراپی تحت مداوا قرار می‌گیرند به پرتوها حساس هستند. (۵) نتیجه نهایی رادیوتراپی هم به پاسخ سلول‌های تومور و هم به پاسخ سلولهای بافت سالم احاطه‌کننده توده نسبت به پرتوها بستگی دارد و حداکثر دوز دریافتی تومور با توجه به حداکثر توان تحمل بافت سالم اطراف تومور تعیین می‌گردد. در تعیین حداکثر دوز تومور معمولاً وجود بیماران حساس به پرتو نقش بسیار محدودکننده‌ای دارند. (۱۱،۶) بدین معنی که تصمیم پزشک تحت تأثیر عکس‌العملی که این چنین بیماران نسبت به پرتوها نشان می‌دهند قرار می‌گیرد. بنابراین چنانچه بیمارانی که دارای حساسیت پرتوی هستند شناسایی گردند در مورد سایر افراد بیمار و حتی در مورد افرادی نیز که دارای مقاومت بیشتری نسبت به پرتوها هستند می‌توان از دوزهای بالاتری در برنامه درمانی آنها استفاده کرد و بهره درمانی را بالاتر برد. (۱۱،۶)

عقیده بر این است که تفاوتهای فردی در حساسیت بافت سالم بیماران نسبت به پرتوهای یونساز مربوط به تفاوتهای ژنتیکی افراد و حساسیت ذاتی سلول‌ها می‌باشد و پاسخ سلول‌ها به تابش وابسته به حضور ژن‌های گوناگونی است که مسئول ترمیم DNA ، تنظیم سیکل سلولی و سرکوب تومور هستند. (۱۱،۴،۳-۱۴) آزمون‌هایی که بتوانند با سرعت افرادی را که از حساسیت بالاتری نسبت به پرتوها برخوردارند شناسایی کنند دارای نقش ارزشمندی در کلینیک هستند و سهم بزرگی در هدف انفرادی نمودن برنامه درمانی افراد براساس خصوصیات بیولوژیکشان دارند. (۶-۹) تاکنون روش مطمئن و سریعی که بتواند تفاوت حساسیت پرتوی افراد را به‌طور کمّی تعیین نماید شناخته نشده است. از آنجا که استفاده از آزمون کامت به عنوان روشی سریع و با حساسیت بالا در شناسایی آسیبهای DNA مورد توجه روز افزون قرار دارد و با توجه به قدرت بالای این تکنیک در بررسی روند ترمیم آسیبهای DNA ، در این تحقیق تلاش شد تا توانایی آزمون کامت را در شناسایی افراد حساس به پرتو از طریق آشکارسازی آسیبهای خالص القاء شده و توانایی ترمیم آسیبهای القاء شده در اثر تابش پرتوهای یونساز مورد بررسی قرار گیرد.

آزمون کامت "Comet assay" یک تکنیک

www.SID.ir

Archive of SID

میکروالکتروفورتیک است و به کمک آن می‌توان آسیبهای ایجاد شده در DNA را در تک تک سلولها به‌طور مستقیم مشاهده نمود. استفاده از این روش از مزایای متعددی برخوردار است. این روش سریع، آسان، حساس، قابل اعتماد و نسبتاً ارزان است. جهت بررسی آسیبها با این روش نیازی به کشت سلول‌ها وجود ندارد و نتایج ظرف مدت چند ساعت پس از نمونه‌گیری از سلولها قابل دستیابی است. بررسی میکروسکوپی سلول‌ها در این روش پیچیدگی‌های بررسی کروموزوم‌ها در روش‌های آنالیز متافاز و Sister Chromatid Exchange (SCE) را ندارد و با دقت و سرعت بدون نیاز به داشتن تبحر خاص در مسائل سیتوژنتیک انجام‌پذیر است. (۱۵– ۱۸) این روش حساس است و قادر است آسیبهای DNA را در نتیجه تابش دوزهای در حد چند cGy (سانتی‌گری) آشکار سازد. در این روش سلولهایی که توسط عوامل ژنوتوکسیک آسیب دیده‌اند، پس از رنگ‌آمیزی با یک رنگ فلورسانس در میدان میکروسکوپی به صورت یک ستاره دنباله‌دار با یک سر و یک دم مشاهده می‌شوند. با اندازه‌گیری پارامترهایی مانند طول دم کامت، اندازه سر و اندازه نسبت سر به دم کامت و نیز با درجه‌بندی کامت می‌توان آسیب ایجاد شده در DNA را بطور کمی بیان نمود(۱۵– ۱۸). در این تکنیک همچنین می‌توان با تغییر شرایط آسیبهای متفاوت ایجاد شده در DNA مانند شکست تک رشته، شکست دو رشته، آسیب باز و اتصالات عرضی DNA را آشکار نمود. از جمله هنگامی که در شرایط قلیایی کامت تهیه شود می‌توان شکستهای تک رشته و هنگامیکه در شرایط خنثی کامت تهیه شود می‌توان شکستهای دو رشته در DNA را آشکار ساخت (۱۵– ۱۸). در این تحقیق آسیب القاء شده در مولکول DNA توسط تابش پرتوهای گاما را در لوکوسیتهای خون محیطی ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات و۳۲ فرد سالم، بلافاصله بعد از تابش‌دهی با استفاده از آزمون کامت قلیایی مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این تحقیق ارزیابی میزان حساسیت پرتوی سلولهای تابش دیده بیماران در مقایسه با سلولهای افراد سالم بوده است.

روش بررسی

مواد شیمیایی . مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکتهای ذیل تامین شدند: آگاروز با نقطه ذوب پایین از شرکت فرمنتاس(Fermentas, Poland)، آگاروز معمولی، دیمتیل سولفوکساید، تریتون X–۱۰۰ ، اتیدیم بروماید، نمک سدیم ان‌لوریل سارکوزان، کلرید سدیم، هیدروکسید سدیم، تریس‌بازی، سدیم دو دسیل سولفات از شرکت مرک (Merck, Germany)؛ PBS، دی‌سدیم–EDTA از شرکت سیگما (Sigma, USA).

نمونه‌گیری . نمونه‌های بیمار انتخاب شده، شامل ۳۰ مرد مبتلا به سرطان پروستات بودند که مورد نمونه‌برداری و یا عمل جراحی رادیکال پروستاتکتومی یا ارکیدکتومی قرارگرفته بودند. از این بیماران قبل از شروع عوامل مداخله‌گر درمانی (شیمی درمانی – رادیوتراپی) و پس از اخذ رضایت نمونه‌گیری انجام شد. تعداد نمونه‌های شاهد ۳۲ نفر انتخاب شد که ۱۹ نفر آنها مرد بودند، همچنین به منظور رد نمودن اثر جنسیت بر روی آزمایشات انجام شده، از ۱۳ زن نیز نمونه خون تهیه شد. عمل نمونه‌گیری از افراد سالم نیز پس از کسب موافقت از آنها انجام گردید.

نمونه‌های خون محیطی در ظروف استریل حاوی ماده ضد انعقاد دی‌سدیم–EDTA جمع آوری شد. در هریک از قسمتهای آزمون مقدار ۷/۵ µl از خون به میکروتیوبهای با حجم ۱/۵ ml که حاوی ۱ml PBS بودند (یا مخلوط RPMI + ٪۲۰FCS ، برای بررسی روند ترمیم) منتقل گردید.

تابش‌دهی نمونه‌ها. تابش‌دهی با استفاده از چشمه کبالت ۶۰ (تراترون ۷۸۰E، کانادا) واقع در بیمارستان امام خمینی تهران انجام شد. نمونه‌های خون حاصل از افراد پس از رقیق شدن در PBS (یا مخلوط RPMI +٪۲۰FCS ، برای بررسی روند ترمیم) بطور in vitro ، بر روی یخ در فاصله ۶۰ سانتیمتری از چشمه تابش، پرتودهی شدند. تابش‌دهی با نرخ تابش ۱۱/۵۱ ±۲۷۷/۴۸ cGy/min انجام شد و نمونه‌ها به منظور بررسی حساسیت پرتوی تحت تابش دوز کلی۱Gy و به منظور

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی روند ترمیم، تحت تابش دوز ۴ گری پرتوهای گاما قرار گرفتند.

آماده سازی لام. به منظور آماده کردن لامها، ابتدا لامها پیش پوشش داده شدند. بدین منظور لامها در یک بشر ۵۰ ml حاوی آگاروز معمولی مذاب با غلظت ۱٪ در آب فروبرده و پس از خارج نمودن، پشت آنها به کمک دستمال تمیز و در فر گرم خشک شدند. نمونه‌های خون پس از تابش‌دهی روی یخ به آزمایشگاه حمل شدند. با استفاده از سانتریفوژ یخچال دار، سلولها ته‌نشین شدند. مایع بالای ته نشست سلولی دور ریخته شد و ته نشست سلولی با ۱۰۰µl آگاروز با نقطه ذوب پایین با غلظت ۰/۷۵٪ درPBS در دمای ۳۷°C مخلوط شد. این مخلوط روی لام قرارداده شد و بلافاصله روی آن لامل قرار گرفت. لام به مدت ۱۰ دقیقه در یخچال (۴°C) قرار داده شد تا آگاروز سفت شود. پس از سفت شدن آگاروز لامل برداشته شد.

آزمون کامت قلیایی. در این تحقیق از نسخه قلیایی ارائه شده توسط کالینز و همکاران که به‌طور وسیعی بوسیله دیگر محققان به کار گرفته شد، استفاده گردید. (۱۹)

لامها به مدت یک ساعت در محلول لیزیس قلیایی با pH=۱۰ ، حاوی ۲/۵mM کلرید سدیم، ۱۰۰ mM EDTA ، ۱۰ mM تریس، ۱٪ سدیم لوریل سارکوزان، ۱۰٪ DMSO و ۱٪ تریتون X-۱۰۰ قرار گرفتند. پس از مرحله لیزیس، لامها به مدت ۴۰ دقیقه در یک تانک الکتروفورز افقی (پایا پژوهش، ایران) در محلول تازه قلیایی با pH >۱۳ حاوی ۱ mM EDTA و ۰/۳M NaOH قرار گرفتند تا پیچش رشته‌های DNA از یکدیگر باز شود. پس از آن عمل الکتروفورز به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط ۰/۷ volt/cm انجام شد. پس از الکتروفورز عمل خنثی سازی با سه بار شستشوی لامها در بافر خنثی ساز (محلول ۰/۴M تریس با pH = ۷/۵) هر بار به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. پس از خنثی‌سازی، لامها یه مدت ۵ دقیقه در اتانل قرار داده شدند و پس از آن در مجاورت هوا خشک شدند. تمامی مراحل پروتکل آزمون کامت قلیایی در دمای ۴ °C انجام گرفت.

رنگ آمیزی و بررسی میکروسکوپی. لامها با ۵۰ µl محلول اتیدیم بروماید با غلظت ۲۰ µg /ml رنگ‌آمیزی شدند و پس از قراردادن لامل بر روی آنها ، با میکروسکوپ اپی فلورسنت (Nikon E ۸۰۰) با محدوده طول موج ۵۱۶-۵۴۶ نانومتر و همچنین فیلتر Barrier با طول موج ۵۹۰ نانومتر و با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر مورد مشاهده قرار گرفتند. ارزیابی نتایج بصورت چشمی و مقایسه ای انجام گرفت. آسیبها بر اساس ظاهر کامت‌ها، با در نظر گرفتن میزان مهاجرت DNA ، مطابق معیارهای ارائه شده در مقالات مرجع (۲۰ و۲۱) به ۵ دسته (نوع صفر تا چهار) دسته‌بندی گردیدند. کامتهای دارای سر درخشنده و فاقد دم به عنوان نوع صفر (سلولهای فاقد مهاجرت DNA) در نظر گرفته شدند و کامتهای فاقد سر و یا دارای سر کوچک و دم پراکنده و دراز در نوع چهار (سلولهای بسیار آسیب دیده) قرار گرفتند. کامتهای دارای خصوصیات حد واسط درانواع ۱، ۲ و ۳ قرار گرفتند (شکل۱). در هنگام بررسی با میکروسکوپ هر کدام از کامت های دیده شده با یکی از این تصاویر شبیه‌سازی گردیده و بدین ترتیب اعداد صفر تا چهار به هر کدام از کامت ها نسبت داده شد.

آسیب‌های DNA DNA Damage (DD) ناشی از تابش، با بررسی نمودن ۱۰۰ سلول از دو لام تهیه شده در هر یک از شرایط آزمایشی در هر فرد و انتساب هر یک از اعداد از صفر تا چهار کمی شد و توسط معادله زیر محاسبه گردید و بدین ترتیب آسیب کلی ارائه شده در هر فرد بصورت محدوده‌ای از ۰ تا ۴۰۰ ارزیابی گردید که به عنوان شاخص کلی میزان آسیب موجود در DNA گزارش گردید (۲۲) .

$$DD = (0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4)/(\Sigma/100)$$

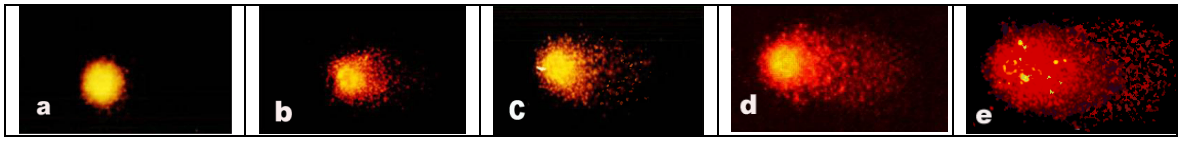
که در این معادله:

DD: آسیب DNA ، n_0 - n_4: تعداد کامت‌های از نوع ۰ تا ۴

اعداد ۰ تا ۴: ضرایب ثابت مربوط به هریک از کامت‌های صفر تا چهار، Σ : مجموع کامت‌های شمارش شده، شامل نوع صفر. آسیب های پایه DNA در نمونه‌های تابش ندیده (DD_0) نیز با

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. انواع کامت‌ها با درجات مختلف مشاهده شده در نمونه‌های مورد بررسی a) نوع صفر، b) نوع یک، c) نوع دو، d) نوع سه، e) نوع چهار

بررسی نمودن ۱۰۰ سلول از دو لام تهیه شده در هر یک از شرایط آزمایشی در هر فرد مانند آنچه در بالا ذکر شد محاسبه گردید و آسیب خالص حاصل از تابش گیری به صورت تفاضل آسیب پایه از آسیب القاء شده محاسبه گردید

آسیب خالص = DD - DD.

توان ترمیم سلول ها بر مبنای درصد آسیب باقیمانده در زمانهای مختلف (۱،۳،۲۴ ساعت) بعد از تابش‌دهی، با استفاده از رابطه زیر بصورت کمی بیان گردید.

درصد آسیب باقیمانده= [(DD در زمانهای ۱ ، ۳ یا ۲۴ ساعت پس از تابشدهی- DD. در زمانهای۱ ، ۳ یا ۲۴ ساعت پس از تابشدهی) / (DD بلافاصله پس از تابشدهی- DD. بلافاصله پس از تابشدهی)] × ۱۰۰

روشهای آماری . آسیب اولیه القاء شده در DNA بعد از تابش ۱ گری پرتوهای گاما (DD_1) ، آسیب پایه (DD.) و نیز آسیب خالص القاء شده در DNA پس از کسر نمودن آسیب پایه (DD_1 - DD.) ، بین بیماران مبتلا به سرطان پروستات و افراد سالم ، با استفاده از روش t-test مقایسه گردیدند. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها

در تحقیق حاضر القاء آسیب درDNA، به عنوان شاخصی از حساسیت پرتوی سلول ها در لوکوسیت های نمونه خون افراد ، توسط نسخه قلیایی آزمون کامت مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی تکرارپذیری آزمون وانتخاب دوز مناسب برای انجام آزمون حساسیت پرتوی و روند ترمیم در ابتدا به منظور تعیین شرایط پرتودهی مناسب برای انجام دادن کل آزمون های حساسیت پرتوی، منحنی دوز پاسخ برای یک فرد سالم بدست آمد. برای این کار سلولهای خون فرد تحت تابش دوزهای صفر، ۰/۲۵ ، ۰/۵ ، ۱ ، ۲ و۴ گری پرتو گاما قرار گرفتند. آسیب‌های القاء شده در DNA (شکست رشته و مکانهای جابجایی باز) با درجه‌بندی آسیبها کمی شد. شکل ۲ نتایج حاصل از سه بار آزمون را برای بررسی تکرارپذیری آزمون و مشخص کردن دوز مناسب جهت انجام آزمونهای حساسیت پرتوی نشان می‌دهد.

نتایج حاصله نشان دهنده افزایش القاء آسیب در اثر افزایش دوز تابشی است و همچنان که از نمودارهای دوز پاسخ مشاهده می‌شود آزمون انجام شده تکرارپذیر است. برای انجام آزمون‌های حساسیت پرتوی لازم بود دوز تابشی انتخاب گردد که هنگام قرار گرفتن سلولها در مقابل آن پاسخ متوسطی در سلولها مشاهده گردد. بدین ترتیب چنانچه فردی حساس به پرتو باشد، آسیب بیشتری در سلول‌های وی ایجاد می گردد و این آسیب قابل مشاهده خواهد بود. همچنان‌که در شکل نیز مشاهده می‌گردد در دوز یک گری در سلول ها آسیب متوسطی القاء گردیده بود. در بررسی میکروسکوپی نیز در اثر تابش یک گری انوع کامت‌ها مشاهده می‌گردید و همچنین اکثریت کامت‌ها از نوع دو بودند .بدین جهت دوز یک گری به منظور انجام آزمونهای حساسیت پرتوی در مراحل بعدی آزمون انتخاب گردید.

به منظور بررسی روند ترمیم لازم بود دوز تابشی ای انتخاب گردد که در سلولها آسیب شدیدی ایجاد نماید و ترمیم آسیب

www.SID.ir

Archive of SID

القاء شده در گستره های زمانی متفاوت قابل مشاهده باشد، بدین جهت دوز ۴ گری دربررسی روند ترمیم جهت تابش دهی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج حاصل از بررسی آسیبهای پایه و القاء شده در DNA زنان و مردان گروه شاهد. از نمونه‌های خون جمعا ۳۲ فرد سالم شامل ۱۳ زن و ۱۹ مرد به عنوان گروه شاهد استفاده گردید. دراین تحقیق سه پارامتر مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند:

آسیب پایه یا زمینه موجود در DNA در سلول‌های تابش ندیده ($DD_{.}$)، آسیب القاء شده درDNA دراثر تابشGy ۱ پرتوهای گاما ($DD_{۱}$) و آسیب خالص القاء شده درDNA در اثر تابش Gy ۱ پرتوهای گاما پس از کسر آسیب زمینه ($DD_{۱}$-$DD_{.}$) .

مقایسه میانگین آسیب DNA در میان زنان و مردان گروه شاهد در هر سه حالت قبل از پرتو دهی ($DD_{.}$) ، پس از پرتودهی ($DD_{۱}$) و پس از پرتودهی پس از کسر آسیب زمینه ($DD_{۱}$-$DD_{.}$) نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری میان گروههای زن ومرد شاهد وجود ندارد ($p>۰/۲$) و بنابراین میانگین آسیب ، درکل مردان و زنان شاهد، به منظور مقایسه با گروه بیمار در نظر گرفته شد.

مقایسه نتایج آسیبهای زمینه والقاء شده در گروه شاهد و بیماران مبتلا به سرطان پروستات. در این تحقیق از نمونه خون ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات که تحت شیمی درمانی و رادیوتراپی قرار نگرفته بودند استفاده گردید و آسیب‌های زمینه موجود ($DD_{.}$)، آسیب القاء شده پس از تابشGy ۱ پرتوهای گاما ($DD_{۱}$) و آسیب خالص القاء شده پس از کسر آسیب زمینه($DD_{۱}$-$DD_{.}$) در DNA لوکوسیت‌های خون آنها مورد بررسی قرار گرفت و با نتایج گروه شاهد مقایسه شد (جدول ۱).

مقایسه میانگین آسیب زمینه در افراد سالم و بیمار نشان داد که آسیب زمینه در بیماران مبتلا به سرطان پروستات حدود ۱/۴ برابر میانگین آسیب زمینه در افراد سالم بود و بررسی‌های آماری نشانگر وجود اختلاف معنی داربین میانگین آسیب زمینه موجود در DNA در افراد بیمار و سالم نبود ($p= ۰/۰۹۶$) . پس از تابش یک گری پرتوهای گاما، مقدارمتوسط آسیب القاء شده هم در افراد سالم و هم در بیماران نسبت به حالت قبل از پرتودهی، به‌طور مشخص افزایش یافت. بررسی‌های آماری نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین آسیب‌های القاء شده و آسیب زمینه موجود درDNA در افراد سالم و نیز در بیماران بود ($p< ۰/۰۱$) .

مقایسه آسیب القاء شده ($DD_{۱}$) در گروههای شاهد و بیمار نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد ($p=۰/۰۷$) . برای حذف آثار احتمالی ناشی از سن و سایر عوامل مداخله‌گر بر روی نتایج آسیب DNA پس از پرتودهی، در هر فرد میزان آسیب زمینه از مقادیر آسیب القاء شده کسر گردید و بدین ترتیب مقادیر خالص آسیب القاء شده در DNA محاسبه گردید و سپس نتایج حاصل مورد بررسی آماری مجدد قرار گرفت.

بررسی‌های آماری نشانگر اختلاف معنی‌داری بین آسیب خالص القاء شده در گروههای شاهد و بیمار متعاقب تابش یک گری پرتوهای گاما نبود ($p=۰/۴۷$) .

شکل‌های ۳ و ۴ به ترتیب نمودار آسیب خالص القاء شده در DNA افراد سالم و افراد مبتلا به سرطان پروستات را در مقایسه با مقادیر میانگین و میانگین بعلاوه یک انحراف معیار هر یک از گروهها، نشان می‌دهد، اگر افرادی را که میزان آسیب‌هایشان از "میانگین بعلاوه انحراف معیار" همان گروه بالاتر باشد" حساس به اشعه" در نظر بگیریم، ۱۷٪ از بیماران (۵ نفر از ۳۰ نفر) و ۱۸٪ از گروه شاهد (۶ نفر از۳۲ نفر) حساسیت پرتوی بالاتر از معمول داشته‌اند (شکلهای ۳و۴). نتایج نشان می‌دهند با در نظر گرفتن آسیب های خالص القاء شده در DNA به عنوان شاخص حساسیت پرتوی و مقایسه آن بین افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان، تفاوتی بین حساسیت پرتوی افراد سالم وبیمار وجود ندارد.

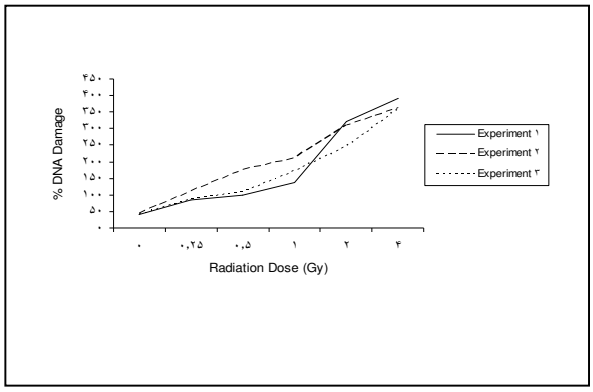
مقایسه روند ترمیم آسیبهای القاء شده در گروه شاهد و بیماران مبتلا به سرطان پروستات . توان ترمیم آسیبهای القاء شده پس از تابش Gy ۴ پرتوهای گاما در سلولهای خون ۵ فرد

www.SID.ir

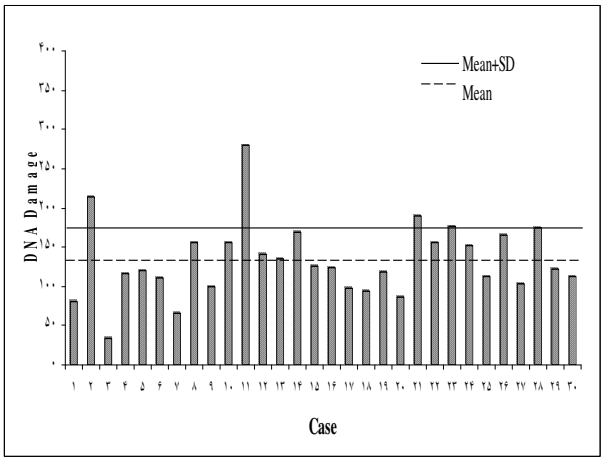
Archive of SID

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار آسیب در گروه بیمار و شاهد ، قبل و بعد از تابش یک گری پرتو به همراه مقادیر تصحیح شده (با کسر آسیب زمینه)

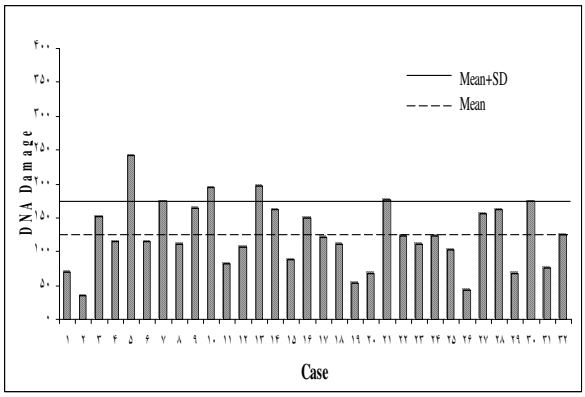
نمونه	جنسیت	سن (Mean±SD)	تعداد	بدون پرتودهی (DD_0) (Mean±SD)	P	باپرتودهی (DD_1) (Mean±SD)	P	پرتودهی تصحیح شده ($DD_1 - DD_0$) (Mean±SD)	P
شاهد	زن		۱۳	۵۴/۴۷ ±۴۴/۸۱	۰/۳۷	۱۶۷/۵۲±۷۲/۶۹	۰/۳۶	۱۲۲/۷۲±۳۵/۱۹	۰/۹۵
	مرد		۱۹	۶۸/۵۷±۵۷/۸۷		۱۹۲/۴۲±۷۲/۶۵		۱۲۳/۸۵±۵۵/۳۷	
	کل	۵۸/۰۰±۱۸/۷۲	۳۲	۶۰/۴۰±۵۷/۰۰	۰/۰۹۶	۱۸۳/۸۷±۷۲/۴۹	۰/۰۷	۱۲۳/۴۶±۴۹/۰۳	۰/۴۷
بیمار	مرد	۶۶/۸۶±۷/۲۷	۳۰	۸۴/۰۰±۵۱/۳۷		۲۱۶/۴۸± ۶۴/۸۵		۱۳۲/۴۸±۴۹/۱۸	



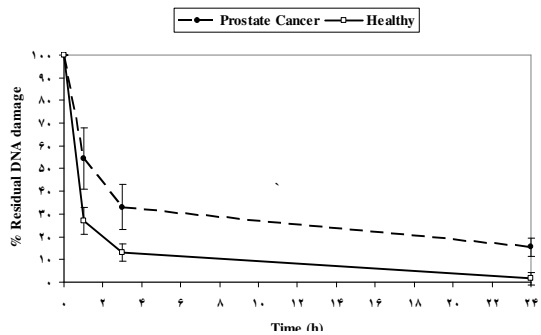
شکل ۲. نمودار تغییرات آسیبهای القاء شده در DNA سلولهای سفید فرد در اثر تابش دوزهای مختلف پرتوهای گاما در سه آزمون مختلف.



شکل۴: تغییرات آسیب های القاء شده در DNA سلولهای خونی بیماران مبتلا به سرطان پروستات پس از تابش Gy ۱ پرتوی گاما، آشکار شده توسط آزمون کامت قلیایی. خطوط نقطه‌چین میانگین آسیب مشاهده شده در بیماران وخط ممتد میانگین بعلاوه یک انحراف معیار (SD + Mean) افراد سالم را نشان می‌دهد.



شکل۳. تغییرات آسیب های القاء شده در DNA سلولهای خونی افراد سالم، پس از تابش Gy ۱ پرتوی گاما، در مقایسه با مقادیر میانگین و میانگین به علاوه انحراف معیار ، آشکار شده توسط آزمون کامت قلیایی. خطوط نقطه‌چین میانگین گروه و خط ممتد میانگین بعلاوه یک انحراف معیار (SD+ Mean) افراد گروه را نشان می‌دهد.



شکل۵. درصد آسیبهای باقیمانده در DNA لوکوسیتهای بیماران مبتلا به سرطان پروستات و افراد سالم متعاقب تابش ۴Gy پرتوهای گاما پس از گذشت زمانهای۱، ۳ و۲۴ ساعت.

www.SID.ir

Archive of SID

سالم و۵ فرد مبتلا به سرطان پروستات بر اساس درصد آسیب‌های باقیمانده در زمانهای ۳،۱و۲۴ ساعت پس از تابش‌دهی با استفاده از رابطه ریاضی که در قسمت قبل ارائه گردیده است، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

نتایج حاصل از این بررسی در شکل ۵ نشان داده شده است. تفاوتهای فردی در توان ترمیم آسیب‌های القاء شده توسط پرتوهای گاما هم در افراد سالم و هم در افراد بیمار قابل مشاهده بود ولی این تفاوت‌ها در بیماران بیشتر بود. شکل ۵ نشان می‌دهد آسیب القاء شده در بیماران مبتلا به سرطان پروستات به سرعت افراد سالم ترمیم نمی‌شود و هنگامی که به سلولها فرصت ترمیم آسیب‌ها داده شود، در حالیکه افراد سالم کاهش قابل ملاحظه آسیب را بعد از سه ساعت نشان می‌دهند، افراد مبتلا حتی در ۲۴ ساعت بعد از تابشدهی آسیب باقیمانده بالایی دارند. در سلولهای خون افراد سالم آسیب باقیمانده در ۲۴ ساعت پس از تابش دهی با ۳ ساعت پس از تابش‌دهی نداشت ولی در بیماران مبتلا به سرطان پروستات این تفاوت آشکار بود. مقایسه آسیبهای باقیمانده در افراد سالم و در بیماران مبتلا به سرطان پروستات با استفاده از آزمونهای آماری نشان داد که هم در ۳ ساعت ($P<۰/۰۵$) و هم در ۲۴ ساعت ($P<۰/۰۵$) پس از تابش‌دهی، توانایی ترمیم آسیبهای القاء شده در DNA افراد سالم و بیماران دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

بحـــث

یافته‌ها مبین آن است که سطح آسیب پایه موجود در DNA در لوکوسیتهای افراد مختلف- هم افراد سالم و هم بیماران مبتلا به سرطان پروستات - از تغییرات گسترده ای برخورداراست و تفاوتهای فردی در میزان آسیب پایه بسیار چشمگیر می‌باشد. مقدار میانگین آسیبهای پایه DNA در لوکوسیت‌های بیماران مبتلا به سرطان پروستات در حدود ۱/۴ برابر بیش از افراد سالم بود هر چند این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار نبوده است (جدول۱). در تحقیقات دیگری که در مورد سرطانهای مختلف که در آنها از روشهای بررسی شکست‌های کروموزومی و میکرونوکلئی و آزمون کامت استفاده شده بود نیز میانگین آسیبهای پایهDNA در بیماران بیش از افراد سالم گزارش شده است. (۲۳-۳۴)

بررسی‌ها نشان داده‌اند وجود آسیبهای پایه در DNA انعکاس دهنده بیشتر قرار گرفتن درمعرض عوامل کارسینوژن و نیز نقص در ترمیم است. (۳۱-۳۵) از جمله در بیماران مبتلا به سرطان پستان در سلولهای تومور و بافتهای اطراف تومور سطوح بالای اضافات (DNA adducts (DNA و آسیب‌های اکسیداتیو بازها در مقایسه با افراد سالم گزارش شده است. (۳۱،۲۹-۴۵) این یافته‌ها نشان می‌دهند که تجمع آسیب در DNA ممکن است در سرطان‌زایی نقش داشته باشد و ناپایداری DNA و بالاتر بودن سطح آسیب پایه در یک فرد می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای در استعداد ابتلا و نیز ایجاد سرطان داشته باشد. (۲۳-۲۵ ، ۳۰)

بررسی نتایج حاصل از مطالعه حساسیت پرتوی بر روی ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات و ۳۲ فرد سالم نشان می‌دهند در افراد مختلف القاء آسیب درDNA از فردی به فرد دیگر- چه در افراد سالم و چه در بیماران مبتلا به سرطان پروستات- از تغییرات گسترده‌ای برخوردار است و تفاوتهای فردی در آسیب‌پذیری افراد بسیار چشمگیر می‌باشد. یکی از دلایل مشاهده چنین تفاوتی در مقدار آسیب اولیه در لوکوسیت‌ها می‌تواند مربوط به وجود تفاوت در نسبت زیر جمعیت‌های لنفوسیتی مختلف با میزان تراکم و بسته‌بندی کروماتین متفاوت در افراد باشد که این موضوع می‌تواند در میزان آسیب‌پذیری اولیه DNA مؤثر باشد. (۴۳،۴۲) با انتخاب آسیب‌های خالص القاء شده درDNA به عنوان شاخص حساسیت پرتوی و مقایسه آن بین افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان، تفاوتی بین حساسیت پرتوی افراد سالم و بیمار مشاهده نمی‌شود و افراد مبتلا به سرطان پروستات از لحاظ آسیب‌پذیری اولیه با افراد سالم تفاوتی ندارند. در این بررسی افرادی حساس به اشعه در نظر گرفته شدند که میزان آسیب های‌شان از "میانگین بعلاوه انحراف معیار" همان گروه بالاتر باشد. با چنین معیاری ۱۷٪ از بیماران (۵ نفر از ۳۰ نفر) و ۱۸٪ از گروه شاهد (۶ نفر از ۳۲ نفر) حساسیت پرتوی بالاتر از معمول داشته‌اند (شکل‌های

www.SID.ir

Archive of SID

۳ و۴). البته تعیین تعداد افراد با حساسیت پرتویی بالا به مقدار زیادی به محدوده نرمال تعریف شده برای پاسخ به پرتو (cut-off) بستگی دارد.

در تحقیق‌های انجام شده در زمینه حساسیت پرتوی در بیماران مبتلا به سرطان پستان، Scott و همکاران در سال ۱۹۹۸، با در نظر گرفتن محدوده بالاتر از میانگین بعلاوه دو انحراف معیار به عنوان ناحیه با حساسیت پرتویی بالا، ۳۰ درصد از بیماران را حساس به اشعه گزارش نموده‌اند، این تحقیق با استفاده از آزمون آنالیز متافازصورت گرفته بود . همین گروه در تحقیق خود با روش میکرونوکلئی ۱۹۹۹، ۲۵ درصد از بیماران را حساس به اشعه گزارش کرده‌اند. (۲۴،۲۳) قابل ذکر است آزمونهای آنالیز متافاز و میکرونوکلئی آسیب‌هایی را نشان می‌دهند که در DNA ایجاد شده‌اند و سلول پس از گذر از مراحل ترمیم موفق به تعمیر آنها نشده است. Muller و همکاران در تحقیقات خود در مورد بررسی روند ترمیم آسیب‌های القاء شده در DNA بیماران مبتلا به سرطان و افراد سالم ، افرادی را حساس به پرتو دانسته‌اند که شیب نزولی منحنی تغییرات آسیب باقیمانده درDNA با افزایش زمان ترمیم ، کمتر از شیب میانگین باشد. (۴۴،۴۲) البته مطالعات زیادی لازم است تا بتوان این آستانه را با درستی بیشتری تعیین نمود.

تخمین کمّی توان ترمیمی در لوکوسیت های خونی نشان داد که بیشتر آسیبهای گروههای سالم بعد از سه ساعت ترمیم می‌شوند، در حالی که بیماران حتی پس از ۲۴ ساعت هنوز آسیبهای زیادی دارند. این داده‌ها نشان می‌دهند که بیماران مبتلا به سرطان پروستات که در این آزمایش از آنها استفاده شده است، نقصی در ترمیم آسیب ناشی از تابش دارند. این داده‌ها با اطلاعات گزارش شده توسط Hsu و همکاران (۴۵) که بلئومایسین را به عنوان یک تست جهش‌زایی در لنفوسیت‌های خونی بیماران مبتلا به انواع سرطان‌های مختلف استفاده نموده‌اند، همخوانی دارد. این نویسندگان نرخ شکست کروماتیدی بیشتری در هر سلول در بیماران مبتلا به سرطان‌های ریه، کولون و دستگاه گوارش فوقانی مشاهده نمودند. آنها این توضیح را پیشنهاد نموده‌اند که حساسیت به عوامل جهش‌زا ممکن است نقش مهمی در سرطان‌زایی بافت‌ها و اندام‌های در تماس با محیط خارجی داشته باشند. متاسفانه در زمینه حساسیت پرتوی بیماران مبتلا به سرطان پروستات تاکنون تحقیقی صورت نگرفته است و تنها در تحقیقاتی معدود، حساسیت پرتوی رده های سلولی کارسینوم پروستات مورد بررسی قرار گرفته است. (۴۶–۴۸) با توجه به اینکه جهش در دو ژن BRCA۱ وBRCA۲ که از مهم‌ترین عوامل ژنتیکی مسبب سرطان پستان محسوب می‌گردند، نه تنها احتمال ابتلا به سرطان پستان در مردها را افزایش می‌دهد بلکه ۳–۴ برابر موجب افزایش سرطان‌های دیگر مانند کولون و پروستات در آنها می‌شود (۴۹). تعقیب و بررسی مطالعاتی که در مورد حساسیت پرتوی بیماران مبتلا به سرطان پستان صورت گرفته است می‌تواند کمکی در مطالعات حساسیت پرتوی در سرطان پروستات باشد.

در تحقیقاتی که در آن لنفوسیت‌های بیماران مبتلا به سرطان پستان و نیز افراد سالم در فاز G۲ سیکل سلولی تحت تابش پرتوهای یونساز قرار گرفته‌اند، پس از بررسی آسیبهای کروموزومی مشخص گردید ۴۲٪ بیماران مبتلا به سرطان پستان دارای حساسیت پرتوی بالایی می‌باشند این نسبت در افراد سالم برابر با ۶٪ بوده است. (۲۳–۲۵) افزایش حساسیت پرتوی همچنین در وابستگان خونی بیماران مبتلا به سرطان پستان نیز مشاهده شده است. (۵۱،۵۰) در تحقیق دیگری که بر روی توان ترمیم ۱۱۳ بیمار مبتلا به سرطان پستان توسط نسخه قلیایی آزمون کامت انجام گرفت، نقص در ترمیم DNA در لنفوسیت‌های بیماران کاملاً مشهود بود. (۳۴) نتایج حاصل از مجموع این تحقیقات همسو با نتایج حاصل از این بررسی در مورد روند ترمیم آسیبهای القاء شده در بیماران مبتلا به سرطان پروستات است. از آنجا که سرطان‌زایی می‌تواند از نقص در ترمیم DNA منشا گرفته باشد، می‌توان کاهش ظرفیت ترمیم مشاهده شده در این بیماران را پیامدی از جهش در ژن‌های درگیر در کنترل چرخه سلولی و تنظیم ترمیم DNA دانست.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان می‌دهد که آزمون کامت قلیایی، بخصوص هنگامی که روند ترمیم آسیب‌های القاء شده در DNA به عنوان شاخص در مطالعات حساسیت پرتوی مورد توجه و مقاسیه قرار گیرد، ابزاری قدرتمند در بررسی‌های حساسیت پرتوی است.

تقدیر و تشکّـر

این تحقیق با حمایت مالی امور پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. بر خود لازم می‌دانیم از همکاری سرکار خانم تیزمغز و پرسنل بخش رادیوتراپی بیمارستان امام خمینی تهران که در امر پرتودهی نمونه‌ها نهایت همکاری را مبذول داشتند و همچنین سرکار خانم نیلوفر سمیعی مسئول بخش رادیوتراپی مرکز پرتوپزشکی نوین و جناب آقای جباری مسئول بخش رادیوتراپی بیمارستان شهدای تجریش و مسئولین محترم و پرستاران گرامی بیمارستانهای هاشمی نژاد، بیمارستان لبافی نژاد، سینا، شهدا، شریعتی و بقیه‌ا. . . الاعظم«عج» که در امر تهیه نمونه‌های خون از بیماران از هیچ کمکی دریغ نفرمودند و با کمکهای خود انجام تحقیق حاضر را فراهم نمودند تشکر نماییم.

Referencese

۱. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V.Basic Pathology ۲۰۰۲; W B Saunders Company.

۲. Beral V, Inskip H, Fraser P, Booth M, Coleman D, Rose G. Mortality of employees of the United Kingdom Atomic Energy Authority, ۱۹٤٦-۱۹۷۹. Br Med J (Clin Res Ed) ۱۹۸۵; ۲۹۱(٦٤۹۳): ٤٤۰-۷.

۳. Turesson I. Individual variation and dose dependency in the progression rate of skin telangiectasia. Int. J. Radiation Oncology, Biol. Phys

۱۹۹۰; ۱۹: ۱۵۶۹-۷۴.

۴. Fertil B, Malaise EP. Inherent cellular radiosensitivity as a basic concept for human tumor radiotherapy. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys ۱۹۸۱; ۷: ۶۲۱-۲۹.

۵. Norman A, Kagan AR. The importance of genetics for the optimization of radiation therapy. Am. J. Clin. Oncol ۱۹۸۸; ۱۱: ۸۴-۸۸.

۶. Lambin P, Lawton P. Radiosensitivity testing of normal tissues: a way to optimize radiotherapy. Eur. J. Cancer, ۱۹۹۴; ۳۰ A: ۵۷۶-۵۷۷.

۷. Tucker SL, Geara FB. How much could the radiotherapy dose be altered for individual patients Radiotherapy and oncol ۱۹۹۶;۳۸: ۱۰۳-۱۱۳.

۸. West CML, Hendry JH. Intrinsic radiosensitivity as a predictor of patient response to radiotherapy. British Journal of Cancer, ۱۹۹۲; ۲۴ (suppl ۲): ۱۴۶-۱۵۲.

۹. West CM, Hendry JH, Scott D, Davidson SE, Hunter RD. The ۲۵th paterson symposium: Is there a future for radiosensitivity testing? Br. J. Cancer ۱۹۹۱; ۶۴(۱): ۱۹۷-۱۹۹.

۱۰. Little MP. Cancer after exposure to radiation in the course of treatment for benign and malignant disease Radiat Res ۲۰۰۵; ۴۶: ۱۱۱-۱۱۶.

۱۱. Tucker SL, Turesson L. Evidence for individual differences in radiosensitivity of human skin. Eur J Cancer ۱۹۹۲; ۱۱: ۱۷۸۳-۹۱.

۱۲. Ramsy J, Birrel G. Normal tissue radiosensitivity in breast cancer patients. Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., ۱۹۹۵; ۳۱(۲): ۳۳۹-۳۴۴.

۱۳. Deschavanne PJ, Fertil B. A review of human cell radiosensitivity in vitro. Int. J. Radiation. Oncology Biol. Phys, ۱۹۹۶; ۳۴(۱): ۲۵۱-۲۶۶.

۱۴. Ahmed M, Al-Khodairy F. Cellular radiosensitivity of patients with papillary thyroid cancer. Radiotherapy and Oncol ۱۹۹۹; ۵۳: ۸۵-۸۸.

۳۸۵:۲۲۳-۲۳۳.

۲۳. Scott D, Barber JB. Radiation-induced

www.SID.ir

Archive of SID

damage in individual cells. Exp Cell Res ۱۹۸۸, ۱۷۵: ۱۸۴–۱۹۱.

۱۶. McKelvey-Martin V J, Green MH, Schmezer P, Pool-Zobel BL, De Meo MP, Collins A. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): an European review, Mutat. Res, ۱۹۹۳; ۲۸۸: ۴۷–۶۳.

۱۷. Fairbairn DW, Olive PL, O'Neill KL. The comet assay: a comprehensive review. Mutat. Res., ۱۹۹۵; ۳۳۹: ۳۷–۵۹.

۱۸. Rojas E, Lopez MC, Valverde M. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. J Chromatography B ۱۹۹۹; ۷۲۲: ۲۲۵–۲۵۴.

deoxyuridine, an oxidized DNA base, as biomarkers of cancer risk in women. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., ۷: ۴۹–۵۷.

۱۹. Collins A. The comet assay modified for detection of oxidized bases with the use of bacterial repair endonucleases; Comet assay interest group website, http://comet assay.com/.

۲۰. Kobayashi H, Sugiyama CH, Morikawa Y, Hayashi M, Sofuni T. A comparison between manual microscopic analysis and computerized image analysis in the single cell gel electrophoresis assay. MMS Commun ۱۹۹۵; ۳(۲): ۱۰۳–۱۱۵.

۲۱. Visvardis EE, Tassiou AM and Piperakis SM. Study of DNA damage induction and repair capacity of fresh and cryopreserved lymphocytes exposed to H_2O_2 and γ-irradiation with the alkaline comet assay. Mutat Res ۱۹۹۷; ۳۸۳: ۷۱–۸۰.

۲۲. Jaloszynski P, Kujawski M, Czub-Swierczek M, Markowska J and Szyfter K. Bleomycin-induced DNA Damage and its removal in lymphocytes of breast cancer hydroxy-۲-deoxyguanosine DNA glycosylase/apurinic deoxyguanosine DNA glycosylase/apurinic lyase in human breast cancer. J Radiat Res ۱۹۹۹; ۴۶: ۱۱۱–۱۱۶..

micronucleus induction in lymphocytes identifies a high frequency of radiosensitive cases among breast cancer patients: a test for predisposition? Br J Cancer ۱۹۹۷; ۷۷(۴): ۶۱۴–۶۲۰.

۲۴. Scott D, Barber JBP. Increased chromosomal radiosensitivity in breast cancer patients: a comparison of two assays. Int J Radiat Biol ۱۹۹۹; ۷۵(۷): ۱–۱۰.

۲۵. Scott D, Spreadborough A. Genetic predisposition to breast cancer. Lancet ۱۹۹۴; ۳۴۴: ۱۴۴۴.

۲۶. Mozdarani H, Mansouri Z, Haeri SA. Cytogenetic radiosensitivity of Go-lymphocytes of breast and esophageal cancer patients as determined by micronucleous assay. J Radiat Res ۲۰۰۵; ۴۶: ۱۱۱–۱۱۶.

۲۷. Roy SK, Trivedi AH, Bakshi SR, Patel RK, Shukla PH, Patel SJ, Bhatavdekar JM, Patel DD and Shah PM. Spontaneous chromosomal instability in breast cancer families. Cancer Genet. Cytogenet ۲۰۰۰; ۱۱۸: ۵۲–۵۶.

۲۸. Trivedi AH, Roy SK, Bhachech SH, Patel RK, Dalal AA, Bhatavdekar JM and Patel DD. Cytogenetic evaluation of ۲۰ sporadic breast cancer patients and their first degree relatives. Breast Cancer Res Treat ۱۹۹۸; ۴۸: ۱۸۷–۱۹۰.

۲۹. Neubauer S, Liehr T, Birkenhake S, Gebhart E, Fietkau R, Sauer R. Estimation of DNA single-strand breaks by single cells gel electrophoresis in tumor cells Genetic Analysis, Biomolecular Engineering ۱۹۹۸;۱۴: ۱۲۱–۱۲۴.

۳۰. Rajeswari N, Ahuja YR, Malini U, Chandrashekar S, Balakrishna N, Rao KV and Khar A. Risk assessment in first degree female relatives of breast cancer patients using the alkaline Comet assay. Carcinogenesis ۱۹۹۸; ۲۱: ۵۵۷-۵۶۱.

۳۱. Udumudi A, Jaiswal M, Rajeswari N, Desai N, Jain

۱۵. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA

www.SID.ir

Archive of SID

gel electrophoresis: a study of DNA damage and repair. Mutat Res ۱۹۹۸; ۴۱۲: ۱۹۵–۲۰۵.

۳۲. Frenkel K, Karkoszka J, Glassman T, Dubin N, Toniolo P, Taioli E, Mooney LA and Kato I. Serum autoantibodies recognizing ۵-hydroxymethyl–۲۰ deoxyuridine, an oxidized DNA base, as biomarkers of cancer risk in women. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev ۱۹۹۸; ۷: ۴۹–۵۷.

۳۳. Smith TR, Miller MS, Lohman KK, Douglas Case L, and Hul JJ. DNA damage and breast cancer risk, Carcinogenesis ۲۰۰۳; ۲۴(۵): ۸۸۳–۸۸۹.

۳۴. Popanda O., Ebbeler R., Twardella D., Helmbold I., Gotzes F. Radiation-induced DNA damage and repair in lymphocytes from breast cancer patients and their correlation with acute skin reactions to radiotherapy. Int J adiation Oncol Biol Phys ۲۰۰۳; ۵۵(۵): ۱۲۱۶–۱۲۲۵.

۳۵. Grossman L, Matanoski G, Farmer E, Hedayati M, Ray S, Trock B, Hanfelt J, Roush G, Berwick M and Hu JJ. DNA repair as a susceptibility factor in chronic diseases in human populations. In Dizdaroglu, M and Karakaya, AE (eds) Advances in DNA Damage and Repair. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (۱۹۹۹), P, ۱۴۹ –۱۶۷.

۳۶. Li D, Wang M, Dhingra K and Hittelman WN. Aromatic DNA adducts in adjacent tissues of breast cancer patients: clues to breast cancer etiology. Cancer Res ۱۹۹۶; ۵۶: ۲۸۷–۲۹۳.

۳۷. Li D, Zhang W, Sahin AA and Hittelman WN. DNA adducts in normal tissue adjacent to breast cancer: a review. Cancer Detect Prev ۱۹۹۹; ۲۳: ۴۵۴–۴۶۲.

۳۸. Li D, Zhang W, Zhu J, Chang P, Sahin A, Singletary E, Bondy M, Hazra T, Mitra S, Lau SS, Shen J and DiGiovanni J. Oxidative DNA damage and ۸-hydroxy–۲- sporadic male breast cancer. Genes Chromosomes Cancer **۱۹۹۹**;, ۲۴(۱):۵۶–۶۱.

۳۹. Musarrat J, Arezina-Wilson J and Wani AA. Prognostic and aetiological relevance of ۸-hydroxyguanosine in human breast carcinogenesis. Eur J Cancer ۱۹۹۶; ۳۲A: ۱۲۰۹–۱۴.

۴۰. Malins DC and Haimanot R. Major alterations in the nucleotide structure of DNA in cancer of the female breast. Cancer Res ۱۹۹۶; ۵۱: ۵۴۳۰–۳۲.

۴۱. Rundle A, Tang D, Hibshoosh H, Estabrook A, Schnabel F, Cao W, Grumet S and Perera FP. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. Carcinogenesis ۲۰۰۰; ۲۱:۱۲۸۱–۸۹.

۴۲. Muller WU, Bauch T. Radiation sensitivity of lymphocytes from healthy individuals and cancer patients as measured by the comet assay. Radiat. Environ. Biophys ۲۰۰۰; ۴۰(۱): ۸۳–۸۹.

۴۳. McKelvey-Martin VJ, Green MHL, Schmezer P, Pool-Zobel BL, De Méo MP, Collins A. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. Mutat Res ۲۰۰۰; ۲۸۸: ۴۷–۶۳.

۴۴. Muller W.U., Bauch T. (۱۹۹۴). Comet assay studies of radiation-induced DNA damage and repair in various tumor cell lines. Int. J. Radiat. Biol., ۶۵(۳): ۳۱۵–۳۱۹.

۴۵. Hsu TC, Johnston DA, Cherry LM, Ramkissoon D, Schantz SP, Jessup Jm, winn RJ, Shirley L, and Furlong C. Sensitivity to genotoxic effects of bleomycin in humans: possible relationship to environment carcinogenesis. Int J Cancer ۱۹۸۹; ۴۳: ۴۰۳–۴۰۹.

۴۶. Sauer G, Weber KJ, Peschke P, Eble MJ. Measurement of hypoxia using the comet assay correlates with pre irradiation microelectrode pO۲ histography in R۳۳۲۷-AT rodent tumors. Radiat. Res ۲۰۰۰; ۱۵۴(۴): ۴۳۹–۴۶

۴۷. Olive PL, Banath JP. Radiation-induced DNA double-S, Balakrishna N, Rao KV and Ahuja YR. Risk assessment in cervical dysplasia patients by single cell

www.SID.ir

Archive of SID

strand breaks produced in histone-depleted tumor cell nuclei measured using the neutral comet assay, Radiat Res ۱۹۹۵; ۱۴۲(۲): ۱۴۴-۵۲.

۴۸. Olive PL, Banath JP, MacPhail HS. Lack of a correlation between radiosensitivity and DNA double-strand break induction and rejoining in six human tumor cell lines. Cancer Res ۱۹۹۴; ۱۵, ۵۴(۱۴):۳۹۳۹-۴۶.

۴۹. Tirkkonen M, Kainu T, Loman N, Johannsson OT, Olsson H, Barkardottir RB, Kallioniemi Op, Borg A.

۵۰. Teare MD, Wallace SA. Cancer experience in the relatives of an unselected series of breast cancer patients. Br J Cancer ۱۹۹۴;۱۰: ۱۰۲-۱۱۱.

۵۱. Patel RK, Trivedi AH. DNA repair proficiency in breast cancer patients and their first-degree relatives. Int J Cancer ۱۹۹۷; ۷۳: ۲۰-۲۴.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir