Archive of SID

نمایه سازی شد

آسیب‌های ژنتیکی ناپایدار وقابلیت پاسخ به محرک‌های میتوژنی در *In vitro* سلول‌های سرطانی بیماران بالوسمی لنفوسیتی مزمن

غلامرضا خمیسی‌پور [۱]، سید محمد مؤذنی [۲]، حسین مزادارانی [۳]: فاضل شکری [۴]

[۱] کارشناس ارشد هماتولوژی ،دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

[۲] دانشیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی ،دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس

[۳] استادیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی ،دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس

[۴] استادیار گروه ایمونولوژی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

طب جنوب / سال سوم؛ شماره اول / شهریور ۱۳۷۹

چکیده:

تحریک میتوژنی سلول‌های لنفوسیت بیماران بالوسمی لنفوسیتی مزمن *(CLL)* مشکل بوده واطلاعات سیتوژنتیکی کمی در مورد این بیماران دردست است.سلول های لنفوسیتی ۳۷ بیمار *CLL* در محیط کشت تحت تأثیر میتوژن های مختلف *(SAC,PWM,PMA)* قرار گرفتند که ۲ نمونه به میتوژن پاسخ دادند. *PMA* مؤثرترین میتوژن جهت تحریک این سلول‌ها بود؛ از مجموع ۱۵۷۵ متافازبررسی شده در بیماران (۲۳ نفر)، ۱۳۱ مورد آسیب کروموزومی یافت گردید. در حالیکه در گروه شاهد (۶ نفر) ۴ مورد آسیب کروموزومی مشاهده شد($P<0/003$). همچنین میزان آسیب‌های کروموزومی در مقایسه نوع کروماتیدی بیشتر بود(۱/۵برابر). براساس این نتایج چنین استنباط می‌شود که عوامل مؤثر در ایجاد آسیب‌های ژنتیکی (داروهای شیمی درمانی واشعه) بیشتر در مراحل G_1 و S برروی چرخه سلول‌های خونی بیماران *CLL* عمل می‌کنند.

واژگان کلیدی: لوسمی، کروموزم، ژنتیک، میتوژن

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه:

لوسمی لنفوسیتی مزمن یک بیماری خونی است که بواسطه تکثیر و تجمع لنفوسیت‌های ظاهراً بالغ اما با کارکرد بیولوژیکی ناقص در خون محیطی، مغز استخوان، گره‌های لنفی، طحال، کبد و ارگان‌های دیگر مشخص میگردد (۱و۲). این لوسمی اغلب پس از مشاهده لنفوسیتوز با بیش از ۴×۱۰^{۹} سلول در لیتر با یک آزمایش معمولی تشخیص داده می‌شود (۳). این لوسمی شایعترین لوسمی در شمال آمریکا و اروپا می‌باشد و تقریباً یک سوم موارد را شامل می شود، اما بنظر می‌رسد در شرق نادر است (۱و۴)، لوسمی لنفوسیمی مزمن با توجه به رفتار بالینی و بیولوژی سلولی آن در محیط *in vitro* یک بیماری هتروژن است (۵).

این بیماری معمولاً در افراد بالای ۵۰ سال رخ می‌دهد و در افراد جوانتر از ۳۰ سال نادر است. همچنین شیوع آن در مردان دو برابر زنان است (۱). هر چند این نسبت بستگی به نژاد، محل زندگی و تغذیه دارد و در جمعیت‌های مختلف تا حدودی تغییر می‌کند.

بدلیل اینکه اغلب لنفوسیت‌های این بیماران درفاز *G0* چرخهٔ سلولی قرار دارند تحریک میتوژنی آنها مشکل بوده و اطلاعات سیتوژنتیکی کمی در مورد این بیماران در دست ست و تا کنون میتوژن‌های مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است (۶). در تحقیق حاضر، ضمن بررسی پاسخ‌های میتوژنی به مواد مختلف، شکست‌های ناپایدار ژنتیکی نیز بررسی شده است.

مواد و روشها:

نمونه‌گیری از ۳۷ بیمار مبتلا به *CLL* ، در بیمارستان‌های امام خمینی (ره) ، حضرت رسول (ص) و مدرس صورت گرفت. تشخیص *CLL* بر اساس ویژگیهای بالینی و آزمایشگاهی، شامل اطلاعات هماتولوژیک و ایمنولوژیک، نظیر شاخص‌های سطحی CD_{20}, CD_{19}, CD_3 و CD_5 انجام شد. بیماران مورد بررسی شامل ۲۹ نفر مرد و ۸ نفر زن بودند. جوانترین فرد ۴۵ و پیرترین ۸۵ سال سن داشت (سن متوسط ۶۴ سال). مرحله بندی بیماری *(Staging)* بر اساس سیستم مرحله بندی بالینی *Rai* و همکاران انجام شد (۶)، یک گروه محدود نیز بعنوان کنترل از افراد سالم انتخاب شدند که شامل ۴ نفر مرد و ۲ نفرزن بودند.

مواد میتوژن:

بطوری کلی در این مطالعه سه نوع میتوژن عمده مورد استفاده قرار گرفت :*PMA*[۱] یا *TPA*[۲] ساخت شرکت *PWM sigma*[۳] ساخت شرکت *Gibco* و *SAC*[۴] ساخت شرکت *Sigma* . *PMA* با غلظت نهایی ۱۰۰-۱۰ نانو گرم در میلی لیتر در محیط کشت استفاده می‌شد.

PWM با غلظت ۵ میکروگرم در میلی لیتر در محیط کشت استفاده شد و *SAC (Protein A)* بصورت سوسپانسیون سلولی ۱۰ درصد در فرمالین فیکس شده بود و از این استوک سوسپانسیون ۰/۴ درصد در محیط کشت تهیه شده و در محیط کشت سلول به غلظت نهایی ۰/۰۲ می‌رسید.

کشت سلول:

ابتدا لنفوسیت‌های خون محیطی بر روی فایکول سانتریفوژ شده و از خون محیطی جدا شدند. سپس سوسپانسیون سلولی مناسبی از آنها در محیط کشت *RPMI 1640* حاوی سرم جنینی گاو *(FCS)* تهیه شد. سلولهای لنفوسیت با غلظت نهایی یک تا دو میلیون سلول در میلی لیتر در میکروپلیت‌های ۲۴ خانه‌ای کشت داده شدند، و به هر خانه میزان مناسب از ماده میتوژن افزوده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد با ۵ درصد CO_2 به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند.

---

1) PMA: Phorbol myristate acetate
2)TPA:Tetradec
3) PWN: Pockweed mitogen
4) Staph areus cowan I

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی سیتوژنتیک:

پس از گذشت ۷۲ ساعت، کلشی سین با غلظت ۰/۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بمدت ۱/۵ ساعت و محلول هیپوتونیک KCd (۰/۷۵ مولار) بمدت ۳۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد اضافه شد.

سپس سلول‌ها با افزودن محلول ثابت کنندهٔ متانول - اسید استیک گلاسیال به نسبت ۳ به ۱ در سه مرحله ثابت شده و بر روی لام تمیز پخش شدند. پس از خشک شدن لام‌ها، با استفاده از محلول گیمسا، رنگ آمیزی شده و در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی X ۱۰۰ بررسی شدند. متافازهای کروموزومی از دو جنبه تعداد و نوع شکستگی احتمالی مورد مطالعه قرار گرفتند.

آسیب‌های ناپایدار (شکستگی‌ها) به دو دسته تقسیم شدند:

۱- آسیب‌های کروموزومی شامل *Isogap* (شکستگی در هر دو بازوی کروموزوم)، حذف *Deletion* (حذف بخشی از هر دو بازوی کروموزم) و تبادل *Exchange* (شامل کروموزوم دی سانتریک تتراد، کروموزومهای در حال تبادل قطعات و...).

۲- آسیب‌های کروماتیدی شامل؛ *Gap* (شکستگی در یک کروماتید یا یک بازو)، حذف *Deletion* (حذف بخشی از یک کروماتید) و تبادل *Exchange* (قطعات آزاد کروماتید بصورت خطی یا حلقوی).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:

برای بررسیهای آماری، ابتدا نتایج در PE_2 ذخیره شده، سپس با استفاده از نرم‌افزار *SPSS* از داده‌های ثبت شده استفاده گردید. آزمون آماری مورد استفاده تست *Mann-whitney* بود و اطلاعات دو گروه مورد مطالعهٔ بوسیله آن مقایسه شدند.

نتایج:

تحریک میتوژنی:

بطور کلی نمونه‌های سلولی ۳۷ بیمار مبتلا به *CLL* کشت داده شد که از این تعداد ۲۳ نمونه به یک یا چند میتوژن مورد استفاده در این تحقیق (*SAC,PWM,PMA*) پاسخ دادند. تحریک یکی از نمونه‌های سلولی منجر به ایجاد تعداد کافی میتوز جهت بررسی سیتوژنتیکی نشد.

جدول ۱ چگونگی پاسخ سلولهای لوسمیک تحریک شده را بر حسب تعداد متافازهای بدست آمده نشان می‌دهد. همانگونه که ملاحظه می‌گردد نمونه‌های سلولی هر ۲۴ بیمار به *PMA* پاسخ داده و متافازهای کروموزومی بدست دادند (۶۵ درصد کل نمونه و ۱۰۰ درصد کل نمونه‌های تحریک شده)؛ در حالیکه فقط ۷ مورد توسط *PWM* و یک مورد بوسیله میتوژن *SAC* تحریک شدند.

جدول ۱) میزان آسیب‌های سه گانه کروموزومی در گروه بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی با افراد سالم

	تعداد آسیب		میانگین آسیب در هر فرد		نتیجه آماری P
	بیمار	سالم*	بیمار	سالم	
ایزوگپ *Isogap*	۲۳	۱	۱/۱	۰/۱۶	>۰/۰۵
حذف *Deletion*	۴۰	۱	۲/۳	۰/۱۶	<۰/۰۳
تبادل *Exchange*	۶۸	۲	۵/۳	۰/۳۳	<۰/۰۰۸

* تعداد افراد سالم بررسی شده ۶ نفر و افراد بیمار ۲۳ نفر می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

آسیب‌های ژنتیکی ناپایدار کروموزومی و کروماتیدی در افراد مورد مطالعه:

پس از مطالعه متافازهای کروموزومی در یک گروه سالم و بیمار از مجموع ۱۵۷۵ متافاز بررسی شده در بیماران ۱۳۱ مورد آسیب کروموزومی (میانگین ۸/۸ مورد در هر فرد) و ۶۰۰ متافاز بررسی شده در گروه سالم ۴ مورد آسیب کروموزومی (با میانگین ۰/۷ مورد در هر فرد) مشاهده شد؛ بر اساس آزمون *Mann-Whitny* میان دو گروه از نظر آسیب نوع کروموزومی با $P<0/003$ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

نتایج مربوط به سه نوع آسیب کروموزومی در افراد سالم و بیمار بطور خلاصه در جدول ۱ ارائه شده است.

همانگونه که ملاحظه میشود بر اساس آزمون *Mann-Whtney* بین دو گروه از نظر *Isogap* کروموزومی در سطح $\alpha=0/05$ اختلاف معنی دار مشاهد نشد ولی از نظر *Deletion* کروموزومی $(P<0/03)$ و *Exchange* کروموزومی $(P<0/008)$ اختلاف معنی داری وجود داشت.

پس از بررسی ۱۵۷۵ متافاز در نمونه‌های سلولی بیماران مورد مطالعه (۲۳ مورد)، ۶۲ مورد آسیب یا شکست کروماتیدی دیده شد (با میانگین ۶/۱ مورد در هر فرد)، از بررسی ۶۰۰ متافاز افراد کنترل فقط یک مورد آسیب کروماتیدی (با میانگین ۰/۰۰۱۶ در هر فرد) مشاهد گردید $(P<0/002)$.

جدول ۲: نتایج مربوطه به آسیبهای سه گانه کروماتیدی در بیماران و افراد سالم را بطور خلاصه ارائه می‌کند.

همانطور که دیده می‌شود هیچگونه آسیب کروماتیدی از نوع *Deletion* یا *Exchange* در افراد سالم دیده نشده است و تنها یک مورد *Gap* مشاهده شد.

بر اساس آزمون *Mann-Whitney* بین دو گروه از نظر *Gap* کروماتیدی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد؛ حال آنکه از نظر *Deletion* $P<0/01$ و *Exchange* $P<0/15$ اختلاف دیده نشد.

جدول ۲) میزان آسیب‌های سه گانه کروماتیدی در گروه بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی با افراد سالم

	تعداد آسیب		میانگین آسیب در هر فرد		نتیجه آماری P
	بیمار	سالم*	بیمار	سالم	
گپ *(Gap)*	۶	۱	۰/۸	۰/۱۶	>۰/۰۵
حذف *(Deletion)*	۲۹	۰	۱/۹	۰	<۰/۰۱
تبادل *(Exchange)*	۲۷	۰	۳/۴۵	۰	<۰/۰۱۵

* تعداد افراد سالم بررسی شده ٦ نفر و افراد بیمار ۲۳ نفر می‌باشد.

بحث:

برخلاف اشکال دیگر لوسمی مانند *AML* و *CML*، بدلیل مشکل بودن تحریک سلول‌های لوسمیک در افراد مبتلا به *CLL* اطلاعات سیتوژنتیکی کمی در این زمینه بدست آمده است. سرعت میتوژنی در سلولهای این افراد پایین بوده و قدرت پاسخ، به تحریک میتوژنی نیز ضعیف است (۷و۸).

با کشف میتوژن‌های پلی کلونال لنفوسیت‌ها، مواد مختلفی جهت تحریک سلولی در لوسمی‌ها و از جمله *CLL* مورد استفاده قرار گرفتند و سلولهای سرطانی پاسخهای متفاوتی به این میتوژنها دادند (۹) که تصور

www.SID.ir

Archive of SID

می‌رود یکی از دلایل آن وجود گیرنده‌های سطح سلولها باشد که در مراحل مختلف بلوغ سلولی و با نسبت‌های مختلف در سلول ظاهر می‌گردند. حضور سلولهای T در محیط کشت می‌تواند این پاسخ‌ها را تحت تأثیر قرار دهد و تحقیقات نشان داده‌اند که معمولاً اثرات تحریکی میتوژنها توسط این سلولها تشدید میگردد (۱۰).

همانگونه که از نتایج مشخص است، از سه نوع میتوژن بکار رفته، PMA مؤثرترین میتوژن جهت تحریک سلولهای لوسمیک در افراد مبتلا به CLL است. این میتوژن از طریق فعال کردن پروتئین کیناز C موجب افزایش کلسیم داخل سلولی شده و نهایتاً از طریق یکسری رویدادهای داخل سلول باعث تحریک سیکل سلولی و ورود سلول به فاز M می‌شود (۱۱و۱۲). PWM یک میتوژن موثر بر روی لنفوسیت‌های T و B می‌باشد ولی در کشت سلولهای CLL قدرت میتوژنی قابل توجهی نداشته بطوریکه در مطالعه کنونی فقط در ۷ مورد باعث تحریک سلولهای لوسمیک با تعداد متافازهای پائین شد. از نتایج حاضر مشخص شد که میتوژن SAC (یک نوع پروتئین غشائی استافیلوکوک اروئوس)، میتوژن ضعیفی جهت تحریک سلولها در CLL بشمار می‌رود.

نتایج فوق با تحقیقات اخیر بر روی افراد مبتلا به CLL توسط $Delhomme\text{-}Bachy$ و دیگران مطابقت دارد. در تحقیقات این افراد PMA بعنوان قویترین میتوژن جهت تحریک سلولهای لوسمیک در CLL گزارش گردید (۹و۱۳و۱۴). همچنین با توجه به اینکه در اکثر تحقیقات انجام گرفته تقریباً ۵۰ درصد نمونه‌های CLL به میتوژن پاسخ داده‌اند، نتیجه حاصله در این تحقیق (۶۵ درصد) موفقیت مطلوبی در این زمینه بحساب می‌آید.

آسیب‌های ژنتیکی ناپایدار خود به دو نوع کروموزمی و کروماتیدی دسته‌بندی شدند. در چرخه سلولی اگر سلول در مرحله $G1$ یا مرحله S در معرض عوامل جهش زا و کلاستوژن قرار گیرد، شکست‌های ایجاد شده، از نوع کروموزومی خواهد بود؛ ولی اگر در مرحله $G2$ تحت تأثیر این عوامل و پرتوهای یون ساز قرار گیرد، آسیب کروماتیدی ایجاد می‌شود (۱۵).

شکست‌های کروموزومی متعدد در یک یا چند کروموزوم موجب تبادل قطعات کروموزومی می‌شود که به این حالت $Exchange$ گفته می‌شود .اگر در مرحله $G1$ رخ دهد گاهی منجر به تشکیل کروموزوم با دو سانترومر می‌گردد.

تبادل کروموزوم‌ها در فاز $G2$ منجر به اتصال کروموزوم‌ها و ایجاد حالت تتراد میگردد. در تحقیق حاضر بین گروه بیمار و کنترل از نظر شکست‌های ناپایدار اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید.($P<$ ۰/۰۰۴) که با نتایج کارهای انجام شده بر روی افراد مبتلا به لوسمی‌های حاد لنفوئیدی و میلوئیدی در ایران مطابقت دارد (۱۷). دلایل متعددی در مورد ایجاد انواع شکست‌های کروموزومی و کروماتیدی در افراد لوسمیک و بطور کلی افراد مبتلا به سرطان مطرح می‌گردد، ولی آنچه که بیش از هر مورد اتفاق نظر پژوهشگران قرار دارد، اثرات و عوارض داروهای شیمی درمانی و پرتوهای یونیزه کننده در ایجاد اینگونه شکست‌های ژنتیکی می‌باشد (۲ و۱۹). معمولاً مواد شیمیایی، بطور مستقیم اثرگذار هستند و پرتوهای یونساز نیز بطور مستقیم و هم با واسطه‌ها ایجاد رادیکالهای آزاد بر محتوای DNA سلول اثر می‌گذارند.

با توجه به نتایج بدست آمده، مشاهده می‌گردد که میزان آسیب‌های نوع کروموزومی (با میانگین ۸/۹ مورد در هر فرد) در مقایسه با آسیب‌های کروماتیدی (با میانگین ۶ مورد در هر فرد) بیشتر است. آنچه که از این نتیجه استنباط میگردد این است که عوامل مؤثر در ایجاد این نوع آسیب‌های ژنتیکی نظیر داروهای شیمی درمانی و اشعه (با توجه به اینکه اغلب بیماران تحت درمان بوده‌اند) بیشتر در مراحل $G1$ وS بر روی چرخه سلولهای خونی بیماران عمل کرده‌اند، یعنی ابتدای همانند سازی DNA و قبل از

www.SID.ir

Archive of SID

تکمیل آن و همانطور که میدانیم ترمیم *DNA* در مرحله G_2 انجام می‌پذیرد و امکان ترمیم آسیب ایجاد شده بر *DNA* در مراحل G_1 و S نسبت به G_2 بسیار کمتر است و آنزیم‌هایی مانند *DNA Polymerase* و *Recombinase*، در اثر آسیب متحمل شده وظیفه ترمیم *DNA* را بدرستی انجام نمی‌دهند و این خود یکی از دلایل ناپایداری ژنومی در این سلولها و ایجاد شکست‌های خود بخودی است (۱۶).

شکست‌های سه‌گانه کروموزومی بطور جداگانه نیز در دو گروه بیمار و شاهد مقایسه شدند و همانطور که مشاهده می‌گردد بین دو گروه از لحاظ *Exchange*، *Deletion* کروموزومی و کروماتیدی اختلاف معنی داری وجود دارد $P<0/03$، ولی از نظر *Isogap* کروموزومی و *Gap* کروماتیدی در دو گروه اختلاف معنی دار مشاهده نشد و تصور می‌رود یکی از دلایل که باعث می‌شود آسیب‌های ژنتیکی در سطح *Gap* یا شکاف کمتر دیده شود این است که شکست‌های در حد جدا شدن یک یا چند نوکلئوتیدبطور محدود براحتی توسط سیستم‌های ترمیمی درداخل سلول بازسازی می‌شوند؛ ولی در آسیب‌هایی نظیر حذف یک قطعه مهم *(Deletion)* و *Exchange* که منجر به شکست کامل قطعه کروموزومی و کروماتیدی میگردند، هسته سلول لوسمیک تحت دارو درمانی فرصت و توان بازسازی و ترمیم این آسیب‌های گسترده را ندارد، با در نظر گرفتن این موضوع که سیستم‌های ترمیمی - سلول ناقص است واصولاً یکی از دلایل انحرافات کروموزومی و ایجاد بدخیمی، نقص در سیستم ترمیمی است.

نتایج بدست آمده در مورد اخیر *(Gap,Isogap)* در بیماران مبتلا به لوسمی لنفووسیتی مزمن *(CLL)* برخلاف نتایج کارهای انجام شده بر روی بیماران مبتلا به لوسمی حاد لنفوئیدی *(ALL)* و میلوئیدی *(AML)* در ایران است (۱۷ و ۱۸) و برای دستیابی به نتایج درست و جامع‌تر بایستی طیف گسترده‌ای از این بیماران در شرایط یکسان مورد بررسی قرار گرفته و با یکدیگر مقایسه گردند.

REFERENCES:

1. *Foon KR, Rai KR, Gale RP. Chronic lymphocytic leukemia: New insights into biology and therapy. Annals Intern Med 1990;113:525-39.*
2. *Foerster JN. Chronic lymphocytic leukemia. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster JN, et al. Wintrobes clinical hematology, 19th ed. Malvern, Pensylvania: Lea & Febiger, 1993,2034-53.*
3. *Pangalis GA, Blussiotis A, Kittas C. Malignant disorders of small lymphocytes. Am J Clin Pathol 1993;99:402-8.*
4. *Richardson P, Gordo J. Chronic type B-lymphocytic leukemia. In Wright B. Immunology and medicine. Lymphoproliferative diseases,1sth ed. London UK:Kluwe Academic Pub, 1990, 107-39.*
5. *Nilsson K. The control of growth and differentiation in chronic lymphocytic leukemia (B-CLL)*

www.SID.ir

Archive of SID

cells.In: Closen G. Chronic lymphocytic leukemia.Scientific advances and clinical development,1sth ed. New York USA: Marsel, Deokk Inc,1993,33-45.

6. Cheson DB. Chronic lymphocytic leukemia:Staging and prognostic factors.In Closen G. Chronic lymphocytic leukemia. Scientific advances and clinical development.New York USA: Marsel, Deokk Inc,1993,253-62.

7. Su N, Shen GX, Zhang Y, et al. Studies on monoclonal anti - idiotypic and anti - isotypic antibodies against leukemia and myeloma: III. Analysis of monoclonal antibody recognizing the antigenic epitopes by use of ELISA and additivity tests and microcomputer grouping programme. J Tongi Med Univ 1991;11:129-34.

8. Bienz N, Cardy DLN, Leyland MY, et al. Trisomy 12 in B-cell chronic lymphocytic leukemia: An evaluation of 33 patients by direct fluorescence in situ hybridization (FISH).Br J Hematol 1993;85:819-22.

9. Delhomme- Bachy M, Bertheas MF, Vasselon C , et al. Chromosome studies in stimulated lymphocyte of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Nouv Rw Fr Hematol 1992;34:175-82.

10. Juliusson G, Gahrton G. Chromosome abnormalities in B-cell chronic lymphocytic leukemia.In:Closen G. Chronic lymphocytic leukemia, Scientific advances and clinical development,1sth ed. New York: Marsel, Deokk Inc,1993,83-98.

11. Brow DL. The interpetion of tests of T cell and natural killer cell funtion in man. In: Lachmann PJ, Peters SK, Rosen FS, et al. Clinical aspects of immunology ,1sth ed. USA: Blackwell Scientific Pub,1993,84-102.

12. Klein J. Immonology,1sth ed.USA:Black well Scietific Pub, 1991,29-36.

13. Marphy JJ, Norton JD. Phorbolestar induction of early response gene expression in lymphocytic leukemia and normal human B-cells. Leukemia Res 1993;17:657-62.

14. Cullen DF, Ford JH. Chromosome abnormalities in chronic lymphocytic leukemia reveald by TPA as a mitogen. Cancer Genet Cytogenet 1983;10:87-91.

15. Mozdarani H, Brajant DE. Kinetics of chromatid aberration in G_2 ataxia - telangectasia cells exposed to X-Ray and aral. Int J Radiation Biol 1989;55:71-84.

16. Kirsch IR, Kuehl WM. Gene rearrangements in lymphoid cells. In: Stamatoyannopoulos G,

www.SID.ir

Archive of SID

Neinbuis AW, Majerus PW, et al.The molecular basis of blood disease. 1sth ed.Philadelphia USA: W.B. Saunders,1994,381-94.

۱۰ . شهرابی سعید، بررسی آسیبهای کروموزمی ناشی از پروتکلهای شیمی درمانی وپرتودرمانی دربیماران مبتلا به لوسمی حاد، پایان نامه کارشناسی ارشد ،دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۷۳، ص ۱۰۷ - ۹۴.

۱۰ . طاهری محسن، بررسی آسیبهای ژنتیکی ناشی از پروتکلهای شیمی درمانی وپرتودرمانی در مبتلایان به لوسمی حاد به روش میکرونوکلئی‌اسی، پایان نامه کارشناسی ارشد،دانشگاه تربیت مدرس ،۱۳۷۳،ص ۹۲ - ۷۸.

19. Novitski E. Chemical compounds causing damage,In: Human genetics,1 sth.New York: Macmillan Publishing Co. Inc,1982,284-89.

www.SID.ir