

افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی در لنفوسیت‌های کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد بعد از تابش اشعه گاما

چکیده

سیروس عظیمی^۱، اصغر آقا محمدی^۲
اصغر رامیار^۳، زهرا صفری^۴
کوروس دیوسالار^۵
مجید محمودی^{*۱}

۱- گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- مرکز تحقیقات نقص ایمنی، بیمارستان مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- گروه هماتولوژی و انکولوژی، بیمارستان مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری، تهران، ایران.

۵- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، مرکز تحقیقات سرطان، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع بیمارستانی امام خمینی
تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۹۲۵۰۱
E-mail: dmahmoodi@razi.tums.ac.ir

مقدمه

لوسمی لنفوبلاستی حاد (Acute Lymphoblastic Leukemia, ALL) دسته‌ای از بیماری‌های بالینی و بیولوژیکی ناهمگن و متداول‌ترین شکل بدخیمی در اطفال است،^۱ به طوری که حدود ۳۰٪ سرطان‌های اطفال کم‌تر از ۱۵ سال را تشکیل می‌دهد و در حدود

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۴/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۶/۰۴

زمینه و هدف: لوسمی لنفوبلاستی حاد، متداول‌ترین نوع بدخیمی در کودکان است که از تغییر شکل بدخیم سلول‌های خون‌ساز و در نتیجه ازدیاد لنفوبلاست‌های نابالغ در مغز استخوان و خون شناخته می‌شود. هدف مطالعه، بررسی میزان حساسیت لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد به پرتو گاما در پیدایش ناهنجاری‌های کروموزومی در مقایسه با گروه کنترل سالم، در محیط *In vitro* بوده است.

روش بررسی: جهت تعیین حساسیت کروموزومی بیماران مبتلا به اشعه گاما، دو آزمون سنجش حساسیت کروموزومی G2- و G0- برای ۲۰ کودک مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد و ۳۰ فرد سالم، به کار برده شد. در این تحقیق میزان ناهنجاری‌هایی از قبیل شکستگی‌ها و یا شکاف‌های کروموزومی و کروماتیدی و تبادلات کروماتیدی مورد بررسی و میانگین این ناهنجاری‌ها در گروه بیماران با گروه افراد سالم و هم‌چنین با گروه بیماران مبتلا به آتاکسی-تلانژکتازی (Ataxia Telangiectasia, AT) به‌عنوان گروه کنترل مثبت مقایسه شد.

یافته‌ها: بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد از نظر میانگین ضریب ناهنجاری‌های بررسی شده در مقایسه با گروه افراد سالم اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.01$) و از نظر درصد افراد حساس به اشعه، ۶۵٪ این بیماران حساس به اشعه گاما و ۳۵٪ مشابه افراد گروه کنترل سالم بودند. در ضمن بیماران مبتلا به AT بالاترین حساسیت به پرتو گاما را داشتند ($P = 0.001$).

نتیجه‌گیری: درصد بالایی از بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد نسبت به پرتو رادیوتراپی حساس هستند و از این‌رو بایستی مراقبت‌های لازم را از قبیل قرار دادن آن‌ها در مقابل وسایل تشخیصی و درمانی غیرضروری که اشعه گاما و یا اشعه X را مورد استفاده قرار می‌دهند اجتناب نمود.

کلمات کلیدی: ناهنجاری‌های کروموزومی، اشعه گاما، لوسمی لنفوبلاستی حاد.

سه‌چهارم کل لوسمی‌هایی که در این گروه سنی تشخیص داده می‌شود را شامل می‌گردد.^۲ با این وجود در تمام گروه‌های سنی این بیماری ممکن است مشاهده گردد. شیوع این بیماری در پسرها به‌میزان جزیی بیش‌تر از دخترها است.^۲

این بیماری با توجه به ویژگی‌های مورفولوژیک، سیتوژنتیک و ایمونولوژیک سلول‌های تغییر یافته، تنوع زیادی را نشان می‌دهد که

حساسیت کروموزومی به اشعه گاما در یک گروه از بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد با استفاده از روش‌های سیتولوژیک (G2) و (G0) می‌باشد. در این بررسی از خون داوطلبین سالم به‌عنوان گروه کنترل سالم و بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی به‌عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شده است.

روش بررسی

این بررسی به‌صورت یک مطالعه مورد-شاهد بر روی خون محیطی ۲۰ نفر بیمار مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد که از اردیبهشت‌ماه ۱۳۸۹ تا تیرماه ۱۳۹۰ به مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، مراجعه کرده بودند صورت گرفت. از خون محیطی ۳۰ کودک سالم که از نظر سنی با بیماران مطابقت داشتند، و به گروه ژنتیک انستیتو کانسر جهت تعیین کاریوتایپ و تشخیص نقص‌های کروموزومی مراجعه کرده بودند، استفاده شد. تشخیص بیماران بر اساس معیارهای مورفولوژیک و فنوتایپ ایمنی (Immunophenotypic) انجام شد^{۱۴} و اطلاعات بالینی و آزمایشگاهی بیماران ثبت گردید.

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران بررسی و تایید گردیده است. پس از دریافت رضایت‌نامه کتبی از بیماران، نمونه‌های خون محیطی و ریدی جمع‌آوری و در لوله‌های محتوی هپارین لیتیوم نگهداری شدند و کشت سلولی چهار ساعت پس از خون‌گیری انجام شد. سنجش حساسیت کروموزومی به اشعه (اشعه x یا گاما) به دو روش انجام می‌گردد. روش G2 و روش G0. در روش G2، با اضافه نمودن مواد شیمیایی به سلول‌های در حال تکثیر در زمان مشخص، رشد سلول‌ها در مرحله G2 (از چرخه تکثیر سلولی) متوقف می‌گردد و ناهنجاری‌های کروموزوم‌ها در این مرحله از تکثیر بررسی می‌گردد. در روش G0 که به آن روش میکرونوکلتوس هم گفته می‌شود، رشد سلول‌ها در مرحله G0 (از چرخه تکثیر سلولی) متوقف گردیده و ناهنجاری‌های کروموزومی این مرحله بررسی خواهد شد.

آزمایش G2: این آزمون طبق روش شرح داده شده توسط Scott صورت گرفت.^{۱۵} به‌طور خلاصه، خون هپارینه قبل از کشت به‌مدت چهار ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. برای هر نمونه، دو فلاسک

این خصوصیات منجر به تظاهرات بالینی گوناگون و پاسخ‌های متنوع به درمان در این بیماری می‌شود.^۳ از تظاهرات کلینیکی این بیماری می‌توان به تکثیر کلونی، کاهش آپوپتوز و تکثیر بدخیم سلول‌های لنفوبیدی نابالغ که در مراحل مختلف چرخه تکثیر سلولی در داخل مغز استخوان و بافت‌های لنفوبیدی متوقف شده‌اند اشاره کرد. تعداد سلول‌های سفید خون در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد افزایش یافته و ارگانومگالی، به‌خصوص بزرگی مدیاستن و نیز درگیری سیستم عصبی در آن‌ها قابل مشاهده است.^۳

مکانیسم‌های دقیق پاتوژنسیته در این بیماری ناشناخته است. در تعداد کمی از موارد (<۵٪) با سندرم‌های ژنتیکی مستعدکننده وراثتی یا مصرف داروهای شیمی‌درمانی خاص مرتبط است.^۴ اگرچه سندرم‌های ژنتیکی تنها سهم کوچکی در ایجاد لوسمی کودکان دارند، اما بیماری‌های وراثتی خاص احتمال ریسک بالاتری برای ابتلا به لوسمی دارند. مثال‌هایی از این بیماری‌ها عبارتند از آنمی فانکونی،^۵ آتاکسی - تلانژکتازی،^۶ سندرم Bloom، نوروفیبروماتوز، سندرم داون^۷ و سندرم‌های نقص ایمنی.^۸ این بیماری‌های وراثتی به‌واسطه نقص در ترمیم DNA، آنیوپلویدی کروموزوم (بروز کروموزوم‌های غیرطبیعی) و ناهنجاری‌های کروموزومی مثل ترانس‌لوکاسیون شناسایی می‌شوند. طبق بعضی از گزارش‌ها در معرض قرار گرفتن اشعه یونیزان خطر احتمالی برای وقوع لوسمی محسوب می‌گردد.^۹ میزان خطر به مقدار دوز پرتو، مدت تماس و سن فرد در زمان برخورد با اشعه ارتباط خواهد داشت.^{۱۰}

در برخی از مطالعات، نقص‌های کروموزومی و ناهنجاری‌های مولکولی را نیز در این بیماران گزارش نموده‌اند.^{۱۱} افزایش حساسیت به اشعه یونیزان به‌صورت اثرات کروموزومی در گروه قابل توجهی از بیماران سرطانی گزارش شده است.^{۱۲} درک ارتباط بین پرتودرمانی و مکانیسم‌های زمینه‌ساز سرطان مثل آسیب DNA به بهبود روش‌های مراقبت از سرطان و نیز شناسایی بیماری‌هایی که در آن‌ها پرتودرمانی ریسک ابتلا به سرطان ثانویه را افزایش می‌دهد، کمک می‌کند، زیرا ریسک واکنش‌های حاد ناشی از رادیوتراپی، دوز تجویزی به این بیماران را محدود می‌سازد.

بنابراین شناسایی بیماران حساس به اشعه برای جلوگیری از واکنش‌های سوء و به‌کارگیری راه‌کارهای کم‌خطر از اهمیت خاصی برخوردار است.^{۱۳} هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی میزان

آزمایش G0 یا میکرونوکلئوس (MN): جزئیات کامل این آزمایش در مقاله دیگری شرح داده شده است.^{۱۶} به طور خلاصه، نمونه‌های خون هیپارینه در دمای اتاق به مدت چهار ساعت نگه‌داری شدند. برای انجام آزمایش از دو فلاسک کشت سلول (25cm^2) یکی برای پرتودهی و دیگری برای کنترل (عدم پرتودهی) استفاده شد. 0.5ml خون به محیط کشت کامل RPMI-1640 به نسبت یک به ۹ اضافه شد. محیط کشت کامل حاوی 10% سرم جنین گاوی، 1% L- گلوتامین، 100 U/ml پنی‌سیلین و $100\text{ }\mu\text{g/ml}$ استرپتومایسین بود. یکی از فلاسک‌های هر فرد با دوز 300 سانتی‌گری (Source: 3Gy) Theratron 780e, MDS, Canada; 60Co , 70cGy/min) در دمای اتاق پرتودهی شد. فلاسک‌ها در دمای 37°C (با 5% CO_2) به مدت ۴۴ ساعت انکوبه شدند بعد از این مدت محلول سیتوکالازین B, (Sigma, USA) با غلظت نهایی $6\text{ }\mu\text{g/ml}$ به هر فلاسک اضافه گردید. پس از انکوباسیون مجدد به مدت ۴۸ ساعت، به میزان 0.2ml کلسمید به هر فلاسک اضافه گردید.

پس از سانتریفوژ نمودن محتوای هر فلاسک، محلول رویی دور ریخته شد و لئوسیت‌های ته‌نشین شده برداشت شدند. سپس برای اعمال شوک هایپوتونیک، پلت سلولی در 5ml از محلول KCl (0.075M) به مدت ۱۵ دقیقه روی یخ نگه‌داری و پس از سانتریفوژ نمودن مجدد، محلول رویی جدا شده و عمل تثبیت سلول‌ها سه بار با محلول متانول/اسید استیک (۱:۳) انجام شد. برای تهیه اسلاید، سلول‌ها روی اسلایدهای تمیز چکانده شده و اسلایدها به مدت پنج دقیقه در رنگ گیمسا (۲٪ در بافر فسفات) رنگ‌آمیزی شدند. در هر اسلاید ۵۰۰ سلول دو هسته‌ای از نظر فراوانی میکرونوکلئوس مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ صورت گرفت. هر یک از متغیرها برحسب میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید. مقایسه بین گروه‌ها با استفاده از آزمون Independent-t-test samples انجام پذیرفت. سطح معنی‌داری در این آزمون کم‌تر از 0.05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین تعداد هر یک از ناهنجاری‌های بررسی شده از قبیل

کشت سلول (Nunc, Denmark, 25cm^2) به کار برده شد. یکی جهت پرتودهی و دیگری به‌عنوان کنترل (عدم پرتودهی). به هر فلاسک 0.5ml نمونه خون تام و $4/5\text{ml}$ محیط کشت (Sigma RPMI-1640 (Life Technologies Co., USA) که حاوی 15% سرم جنین گاوی (Life Technologies GmbH, Frankfurter, Germany) 1% L- گلوتامین (Life Technologies GmbH, Germany) پنی‌سیلین (Life Technologies GmbH, Germany, 100unit/ml) و استرپتومایسین (Life Technologies GmbH, Germany, 100 $\mu\text{g/ml}$) بود، اضافه گردید. تکثیر لئوسیت‌ها توسط فیتوهم‌گلوکوتینین (PHA, Life Technologies GmbH, Germany) با غلظت نهایی $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ مخلوط محیط کشت و خون تام، صورت گرفت و سپس فلاسک‌ها در انکوباتور حاوی CO_2 (به نسبت 5%) و در دمای 37°C به مدت چهار روز نگه‌داری شد. پس از گرم‌خانه‌گذاری، یکی از فلاسک‌های هر فرد با دوز 100 سانتی‌گری (Theratron 780e, MDS, Canada; 60Co , 100cGy/min) در دمای اتاق پرتودهی شد.

پس از گذشت دو ساعت از زمان پرتودهی، برای متوقف کردن سلول‌ها در مرحله متافاز، 0.2ml کلسمید (Colcemid Sigma Co., USA) با غلظت نهایی $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ محیط کشت به محتوی فلاسک‌ها اضافه شد. پس از سانتریفوژ نمودن محتوای هر فلاسک، محلول رویی دور ریخته شد و لئوسیت‌ها برداشت شدند. سپس برای اعمال شوک هایپوتونیک، پلت سلولی در 5ml از محلول KCl (0.075M) به مدت ۱۵ دقیقه روی یخ نگه‌داری و پس از سانتریفوژ نمودن مجدد، محلول رویی جدا شده و سلول‌ها سه بار در تثبیت‌کننده تازه (مخلوط متانول/اسید استیک گلاسیال، با نسبت سه به یک) تثبیت شدند. برای تهیه اسلاید، سلول‌ها روی اسلایدهای تمیز چکانده شده و اسلایدها به مدت پنج دقیقه در رنگ گیمسا (۲٪ در بافر فسفات) رنگ‌آمیزی شدند.

صد عدد متافاز با گسترش مناسب از هر نمونه (کنترل و پرتودهی شده) انتخاب و آنالیز شدند و از نظر تعداد ناهنجاری‌هایی هم‌چون شکست‌های کروماتیدی، شکاف‌های کروماتیدی، شکست‌های کروموزومی، شکاف‌های کروموزومی و تبادل کروماتیدی در صد عدد متافاز نمره‌دهی شدند و نتیجه نهایی از تفریق تعداد ناهنجاری‌ها در نمونه‌های کنترل از نمونه‌های پرتودهی شده به دست آمد.

جدول ۱: میانگین تعداد هر یک از ناهنجاری‌های بررسی شده به ازای ۱۰۰ متافاز در لنفوسیت‌های خون محیطی پرتودهی شده با اشعه گاما در بیماران لوسمی لنفوبلاستی حاد (گروه مورد)، گروه کنترل شامل افراد سالم و بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی (گروه کنترل مثبت)

P (I vs. III)	P (I vs. II)	بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی			ناهنجاری‌های کروموزوم
		گروه I (N=۲۰)	گروه II (N=۳۰)	گروه III (N=۷)	
۰/۰۲	۰/۰۰۳	۳۳/۵±۱۶/۱	۲۳/۵±۹/۶	۵۰/۱±۱۲/۲	شکست کروماتیدی
۰/۰۰۷	۰/۰۱	۴۶/۸±۱۶/۸	۳۷/۲±۱۱/۵	۷۰/۲±۱۴/۱	شکاف کروماتیدی
۰/۱	۰/۱۹	۱۷/۱±۱۲	۱۸/۳±۱۰/۷	۳۳/۱±۷/۴	شکست کروموزومی
۰/۳۵	۰/۰۱	۲۳/۷±۱۵/۱	۱۶/۶±۷/۳	۱۹/۳±۷/۵	شکاف کروموزومی
۰/۱۵	۰/۰۰۱	۱۲/۵±۷/۱	۹/۵±۴/۱	۱۵/۵±۳/۱	قطعه‌قطعه شدن کروماتید
۰/۴۴	۰/۰۳	۴/۸±۴/۵	۲/۵±۳/۶	۶/۸±۵/۵	تبادلات کروماتیدی
۰/۰۰۹	۰/۰۰۱	۷۳/۹±۲۱/۱	۱۷/۳±۵/۹	۹۶/۵±۱۳/۷	میکرونوکلئوس

مقایسه شکست کروماتیدی در گروه مورد با گروه افراد سالم (P=۰/۰۰۳). مقایسه قطعه‌قطعه شدن کروماتیدها در گروه مورد با گروه افراد سالم (P=۰/۰۰۱). مقایسه تعداد میکرونوکلئوس در گروه مورد با گروه افراد سالم (P=۰/۰۰۱). مقایسه شکاف کروماتیدی در گروه مورد با گروه بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی (P=۰/۰۰۷).

قطعه‌قطعه شدن کروماتیدها در مقایسه با افراد سالم بیش‌ترین اختلاف را دارند (P=۰/۰۰۱). علاوه بر این، از نظر در صد تعداد افراد حساس به اشعه، ۶۵٪ این بیماران، حساس به اشعه گاما، ولی ۳۵٪ مشابه افراد گروه کنترل سالم بودند. هم‌چنین بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی بالاترین حساسیت به اشعه را داشتند (میانگین تعداد میکرونوکلئوس در این گروه معادل ۹۶/۵±۱۳/۷ هست که در مقایسه با گروه مورد اختلاف معنی‌داری دارد (P=۰/۰۰۹)).

نتایج این بررسی نیز نشان می‌دهد که بین دو روش به‌کار برده شده، G0 و G2، جهت تعیین نمودن حساسیت کروموزومی به اشعه، ارتباط مستقیمی وجود دارد.

بحث

لوسمی لنفوبلاستی حاد فراوان‌ترین نوع سرطان در کودکان است و در اکثر موارد درمان مناسب باعث بهبودی کودکان مبتلا به این بیماری می‌گردد.^{۱۷} از طرفی تعدادی از کودکان بهبود یافته از این بیماری، دچار ابتلا به سرطان‌های ثانویه می‌گردند.^{۱۸} هم‌چنین شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تماس با اشعه و یا

شکست‌های کروماتیدی و کروموزومی، شکاف‌های کروماتیدی و کروموزومی و تبادلات کروماتیدی برای بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد (گروه مورد)، گروه کنترل شامل افراد سالم و بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی (گروه کنترل مثبت) در جدول ۱ ذکر شده است.

این نتایج نشان می‌دهد که میانگین تعداد هر یک از این ناهنجاری‌ها در گروه مورد، به‌طور معنی‌داری، در مقایسه با آن ناهنجاری در گروه افراد سالم، بیش‌تر است. میانگین شکست کروماتیدی در گروه مورد برابر با ۳۳/۵±۱۶/۱ می‌باشد در مقایسه با گروه افراد سالم که معادل ۲۳/۵±۹/۶ است (P=۰/۰۰۳). همین‌طور شکاف کروموزومی در گروه مورد برابر با ۲۳/۷±۱۵/۵ می‌باشد در مقایسه با گروه افراد سالم که معادل ۱۶/۶±۷/۳ (P=۰/۰۰۱). میانگین برخی از این ناهنجاری‌ها نظیر شکاف کروموزومی، در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد برابر با ۲۳/۷±۱۵/۱ است که به‌طور تقریبی معادل تعداد این ناهنجاری در بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی است (۱۹/۳±۷/۵)، (P=۰/۰۳۵).

در مجموع این نتایج نشان می‌دهد که بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد از نظر ناهنجاری‌های نظیر تعداد میکرونوکلئوس و

بر اساس دو آزمون G2 و G0-MN، داده‌های ما نشان می‌دهد که کروموزوم بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد نسبت به افراد سالم حساسیت به اشعه گاما دارند. بنابراین برای این افراد تا حد امکان نباید از روش‌های تشخیصی و درمانی با استفاده از اشعه یونیزان استفاده کرد. هم‌چنین، نتایج این مطالعه ارتباط معنی‌داری را بین دو آزمون G2 و G0 جهت تعیین حساسیت کروموزومی نشان می‌دهد. علاوه بر این، شاید بتوان با انجام آزمون حساسیت کروموزومی، به‌عنوان شاخصی برای تعیین حساسیت افراد به اشعه برای شناسایی بیماران بسیار حساس و نیز برای طراحی برنامه پرتودرمانی ویژه برای هر بیمار به‌طور جداگانه استفاده کرد. ارزیابی موثر حساسیت به پرتو در افراد ممکن است با آزمایش چندین نمونه خون از هر بیمار قبل از شروع درمان عملی باشد،^{۲۸} ولی به دلایل اخلاقی از جمله نمونه‌گیری متعدد از بیمار مبتلا به سرطان قبل از شروع درمان و یا پرتودرمانی، خالی از اشکال نمی‌باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که میانگین تعداد ناهنجاری‌های کروموزومی القا شده توسط اشعه در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از این میانگین در افراد سالم است. در این بررسی افراد مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی بالاترین میانگین ناهنجاری‌های کروموزومی در مقابل اشعه گاما را نشان دادند. هم‌چنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد با در نظر گرفتن نسبت افراد حساس به اشعه گاما در گروه بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی، ۶۵٪ از این بیماران حساس به اشعه گاما می‌باشند. به‌علاوه در این مطالعه، هر دو آزمون G2 و G0 جهت تعیین حساسیت کروموزومی در این بیماران هم‌خوانی داشتند. با در نظر گرفتن نتایج این بررسی، توصیه می‌گردد برای این بیماران حتی‌الامکان از روش‌های تشخیصی و درمانی که با استفاده از اشعه یونیزان انجام می‌شود استفاده نشود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی حساسیت کروموزومی در بیماران مبتلا به نقص اولیه آنتی‌بادی و بیماران مبتلا به لوکمی حاد در مقابل اشعه گاما (اشعه رادیوتراپی) در *In vitro*" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۳۸۸ به کد ۹۱۸۷ می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین محترم آن معاونت ابراز می‌دارند.

شیمی‌درمانی، خطری جدی برای ایجاد بدخیمی‌های ثانویه محسوب می‌شود.^{۱۹} در این مطالعه، حساسیت کروموزومی به اشعه گاما در یک گروه از بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد با استفاده از روش‌های *In vitro* (G0 و G2) بررسی و با افراد سالم و بیماران مبتلا به آتاکسی - تلانژکتازی به‌عنوان گروه کنترل مثبت مقایسه گردید.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میانگین تعداد ناهنجاری‌های کروموزومی القا شده توسط اشعه در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستی حاد بیش‌تر از افراد سالم است. به‌علاوه با در نظر گرفتن نسبت افراد حساس به اشعه در گروه مورد مطالعه، ۶۵٪ از این بیماران به اشعه یونیزان حساس هستند.

در مطالعاتی که در جهت ارتباط ناهنجاری‌های کروموزومی و ریسک ابتلا به سرطان صورت گرفته، افزایش فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی به‌عنوان شاخصی در ابتلا به سرطان مطرح شده است.^{۲۰} از طرفی، افزایش حساسیت کروموزومی به اشعه در برخی از بیماری‌های خاص که مستعد ابتلا به سرطان می‌باشند مثل بیماری آتاکسی - تلانژکتازی،^{۲۱} سندرم Nijmegen^{۲۲} و اختلالات نقص اولیه ایمنی^{۲۳} و در بعضی از سرطان‌ها از قبیل سرطان پستان،^{۲۴} سرطان کولون و سرطان سر و گردن^{۲۵} گزارش شده است که در اکثر این مطالعات، میانگین ناهنجاری‌های کروموزومی القا شده توسط اشعه در مقایسه با این ناهنجاری‌ها در افراد سالم به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است.

طبق گزارش‌ها، مطالعه مشابهی با روش‌های سیتوژنتیک و به‌کارگیری آزمایشات بررسی حساسیت کروموزومی، G2 و یا G0-micronucleus جهت ارزیابی اثرات بلندمدت پرتودرمانی در بیماران لوسمی لنفوبلاستی حاد صورت نگرفته است. ولی نتایج این مطالعه در مقایسه با بررسی‌های مشابه که در سایر سرطان‌ها انجام شده موافق است. از قبیل مطالعه Baeyens، که در گروهی از بیماران جوان مبتلا به سرطان پستان صورت گرفته، نشان می‌دهد که ۴۳٪ از بیماران مبتلا به سرطان زودرس پستان، با به‌کارگیری روش‌های G2 و G0، حساسیت کروموزومی به اشعه گاما دارند.^{۲۶} در مطالعه Poggioli، نیز با همان روش نتایج مشابه در افراد مبتلا به سرطان پستان مشاهده شده است.^{۲۴} هم‌چنین نتایج مطالعه Terzoudi که با روش G2 صورت گرفته، افزایش حساسیت کروموزومی را در بیماران مبتلا به سرطان نسبت به افراد گروه کنترل سالم نشان داده شده است.^{۲۷}

References

- Chan KW. Acute lymphoblastic leukemia. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2002;32(2):40-9.
- Zipf TF, Berg S, Roberts WM, Poplack DG, Steuber CP, Bleyer WA. Childhood leukemias. In: Abeloff MO, Armitage JO, Lichter AS, Niederhuber JE, editors. *Clinical Oncology*. 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 2402-29.
- Chiaretti S, Foà R. T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2009;94(2):160-2.
- Belson M, Kingsley B, Holmes A. Risk factors for acute leukemia in children: a review. *Environ Health Perspect* 2007; 115(1):138-45.
- Janik-Moszant A, Bubala H, Stojewska M, Sońta-Jakimczyk D. Acute lymphoblastic leukemia in children with Fanconi anemia. *Wiad Lek* 1998;51 Suppl 4:285-8.
- Taylor AM. Ataxia telangiectasia genes and predisposition to leukaemia, lymphoma and breast cancer. *Br J Cancer* 1992;66(1): 5-9.
- Whitlock JA, Sather HN, Gaynon P, Robison LL, Wells RJ, Trigg M, et al. Clinical characteristics and outcome of children with Down syndrome and acute lymphoblastic leukemia: a Children's Cancer Group study. *Blood* 2005;106(13):4043-9.
- Aghamohammadi A, Moin M, Kouhi A, Mohagheghi MA, Shirazi A, Rezaei N, et al. Chromosomal radiosensitivity in patients with common variable immunodeficiency. *Immunobiology* 2008;213 (5):447-54.
- Linabery AM, Olshan AF, Gamis AS, Smith FO, Heerema NA, Blair CK, et al. Exposure to medical test irradiation and acute leukemia among children with Down syndrome: a report from the Children's Oncology Group. *Pediatrics* 2006;118(5):e1499-508.
- Shuryak I, Sachs RK, Hlatky L, Little MP, Hahnfeldt P, Brenner DJ. Radiation-induced leukemia at doses relevant to radiation therapy: modeling mechanisms and estimating risks. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(24):1794-806.
- Haltrich I, Csóka M, Kovács G, Fekete G. Cytogenetic and FISH findings are complementary in childhood ALL. *Magy Onkol* 2008;52(3):283-91.
- Riches AC, Bryant PE, Steel CM, Gleig A, Robertson AJ, Preece PE, et al. Chromosomal radiosensitivity in G2-phase lymphocytes identifies breast cancer patients with distinctive tumour characteristics. *Br J Cancer* 2001;85(8):1157-61.
- Distel LV, Neubauer S, Keller U, Sprung CN, Sauer R, Grabenbauer GG. Individual differences in chromosomal aberrations after in vitro irradiation of cells from healthy individuals, cancer and cancer susceptibility syndrome patients. *Radiother Oncol* 2006;81(3):257-63.
- Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9(10):1783-6.
- Scott D, Barber JB, Spreadborough AR, Burrill W, Roberts SA. Increased chromosomal radiosensitivity in breast cancer patients: a comparison of two assays. *Int J Radiat Biol* 1999;75(1):1-10.
- Scott D, Barber JB, Levine EL, Burrill W, Roberts SA. Radiation-induced micronucleus induction in lymphocytes identifies a high frequency of radiosensitive cases among breast cancer patients: a test for predisposition? *Br J Cancer* 1998;77(4):614-20.
- Liang DC, Yang CP, Lin DT, Hung IJ, Lin KH, Chen JS, et al. Long-term results of Taiwan Pediatric Oncology Group studies 1997 and 2002 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010;24 (2):397-405.
- Felix CA. Secondary leukemias induced by topoisomerase-targeted drugs. *Biochim Biophys Acta* 1998;1400(1-3):233-55.
- Dann EJ, Rowe JM. Biology and therapy of secondary leukaemias. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001;14(1):119-37.
- Hagmar L, Stromberg U, Bonassi S, Hansteen IL, Knudsen LE, Lindholm C, et al. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts. *Cancer Res* 2004; 15;64(6):2258-63.
- Sun X, Becker-Catania SG, Chun HH, Hwang MJ, Huo Y, Wang Z, et al. Early diagnosis of ataxia-telangiectasia using radiosensitivity testing. *J Pediatr* 2002;140(6):724-31.
- Varon R, Reis A, Henze G, von Einsiedel HG, Sperling K, Seeger K. Mutations in the Nijmegen Breakage Syndrome gene (NBS1) in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Cancer Res* 2001;61 (9):3570-2.
- Gatti RA, Boder E, Good RA. Immunodeficiency, radiosensitivity, and the XCIND syndrome. *Immunol Res* 2007;38(1-3):87-101.
- Poggioli T, Sterpone S, Palma S, Cozzi R, Testa A. G0 and G2 chromosomal assays in the evaluation of radiosensitivity in a cohort of Italian breast cancer patients. *J Radiat Res* 2010;51(5):615-9.
- De Ruyck K, de Gelder V, Van Eijkeren M, Boterberg T, De Neve W, Vral A, et al. Chromosomal radiosensitivity in head and neck cancer patients: evidence for genetic predisposition? *Br J Cancer* 2008;20;98 (10):1723-38.
- Baeyens A, Thierens H, Claes K, Poppe B, Messiaen L, De Ridder L, et al. Chromosomal radiosensitivity in breast cancer patients with a known or putative genetic predisposition. *Br J Cancer* 2002;87(12): 1379-85.
- Terzoudi GI, Jung T, Hain J, Vrouvas J, Margaritis K, Donta-Bakoyianni C, et al. Increased G2 chromosomal radiosensitivity in cancer patients: the role of cdk1/cyclin-B activity level in the mechanisms involved. *Int J Radiat Biol* 2000;76(5):607-15.
- Ban S, Konomi C, Iwakawa M, Yamada S, Ohno T, Tsuji H, et al. Radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes obtained from patients with cancers of the breast, head and neck or cervix as determined with a micronucleus assay. *J Radiat Res* 2004;45(4):535-41.

Higher frequencies of chromosomal aberrations in lymphocytes of children with acute lymphoblastic leukemia after *in vitro* gamma irradiation

Cyrus Azimi Ph.D.¹
 Asghar Aghamohammadi
 M.D.²
 Asghar Ramyar M.D.³
 Zahra Safari M.Sc.⁴
 Kouros Divsalar M.Sc.⁵
 Majid Mahmoodi Ph.D.^{1*}

1- Department of Genetics, Cancer Research Center, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Research Center for Immunodeficiencies, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Hematology and Oncology, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- National Institute of Genetic Engineering & Biotechnology, Tehran, Iran.

5- Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

* Corresponding author: Cancer Research Center, Cancer Institute, Keshavarz Blvd., Imam Khomeini Hospital, 14197-33141, Tehran, Iran.
 Tel: +98-21-61192501
 E-mail: dmahmoodi@razi.tums.ac.ir

Abstract

Received: July 01, 2012 Accepted: August 25, 2012

Background: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common malignancy in childhood, characterized by excess lymphoblasts, and immature white blood cells that are continuously multiplying and overproducing in the bone marrow. The aim of this investigation was to measure the sensitivity of lymphocytes against gamma irradiation in patients with acute lymphoblastic leukemia, and also find out the effect of such irradiations in causing chromosomal abnormalities.

Methods: In this investigation performed between April 2010 and July 2011, at the Department of Genetics, Cancer Institute of Iran, we studied the effects of gamma irradiation on the lymphocytes of 20 children with acute lymphoblastic leukemia. The lymphocytes of 30 healthy donors were used to establish as a normal response to gamma irradiation and seven age-matched ataxia telangiectasia patients were recruited as positive control. The chromosomal radiosensitivity was assessed with the G2- and the G0-assay. We compared the mean number of chromosomal abnormalities such as chromosome and chromatid breakages, chromosome and chromatid gaps, and chromatid exchanges in one-hundred metaphases of patients and control groups.

Results: The frequency of chromosomal aberrations was statistically higher among patients with acute lymphoblastic leukemia than the normal controls ($P < 0.01$). In total, 65% of the patients were sensitive to gamma irradiation, but the remaining 35% were similar to the normal controls. Patients with ataxia telangiectasia showed the highest sensitivity to gamma irradiation ($P = 0.001$).

Conclusion: Our results showed that a high percentage of patients with acute lymphoblastic leukemia were sensitive to irradiation, meaning that maximum care should be taken during their treatment to avoid unnecessary X-rays or radiotherapies.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, chromosomal aberration, gamma irradiation.