مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۱، شماره۴ (شماره پیاپی ۴۵)، زمستان ۱۳۸۷، ۱۴-۹

تاثیر تابش اشعه یونیزان کبالت ۶۰ بر حساسیت پرتوی سلول های سرطانی آغشته به مولد بیماری سرخک

محمدرضا بیاتیانی [۱]، فاطمه سیف [۲*]، دکتر محمدجواد طهماسبی بیرگانی [۳]، دکتر منصور انصاری [۴]، امیر سهرابی [۵]، دکتر فخری السادات حسینی [۶]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیک پزشکی، پزشکی، دانشگاه جندی شاپور اهواز ، اهواز، ایران

۲- مربی، دانشجوی دکترای تخصصی فیزیک پزشکی، گروه فیزیک پزشکی، دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۳- دانشیار، دکترا فیزیک پزشکی هسته ای، گروه فیزیک پزشکی، دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۴- استادیار، متخصص آنکولوژی، گروه رادیوتراپی و آنکولوژی، دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۵- کارشناس ارشد ویروس شناسی، دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۶- استادیار، دکترا بیوتکنولوژی صنایع غذایی، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت ۸۷/۳/۱، تاریخ پذیرش ۸۷/۹/۲۰

چکیده

مقدمه: پرتودرمانی یکی از راه‌های درمان سرطان است. دوز تجویز شده برای هر جلسه رادیوتراپی بر اساس حساسیت رادیوبیولوژیکی بافت سرطانی و بافت‌های سالم در نظر گرفته می‌شود. از جمله عوامل تاثیر گذار بر حساسیت بافت‌ها، عوامل ویروسی هستند. این پژوهش با هدف تعیین تاثیر تابش اشعه یونیزان کبالت ۶۰ بر حساسیت پرتوی سلول‌های سرطانی آغشته به مولد بیماری سرخک انجام گردید.

روش کار: در این تحقیق به صورت کیفی و تجربی، حساسیت پرتوی سلول‌های هلا مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام تحقیق سلول‌ها را در دو گروه شاهد و آزمایش در چاهک‌های شش تایی کشت داده و بازده کشت آنها محاسبه گردید. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر ویروس سرخک را به روش ترقیق سازی موازی به نسبت‌های مختلف در محیط کشت گروه آزمایش تلقیح نموده و پس از رشد و پاساژ سلولی، محیط‌های کشت شاهد و آزمایش در معرض تابش ۲ گری اشعه گامای کبالت ۶۰ قرار داده شدند.

نتایج: مرگ سلولی پس از دریافت اشعه در غلظت‌های کم آغشتگی به ویروس سرخک، ۵ تا ۷ درصد، در غلظت‌های متوسط ۱۵ تا ۲۰ درصد و در غلظت‌های بالا ۵۰ تا ۶۵ درصد افزایش نشان داد.

نتیجه گیری: وجود بیماری ویروسی در بافت‌های درگیر با سرطان، حساسیت پرتوی سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهد. این یافته نشان می‌دهد که در تجویز دوز اشعه در جلسات رادیوتراپی باید به محیط دریافت کننده اشعه از لحاظ درگیر بودن با بیماری‌های غیر سرطانی نیز توجه شود.

واژگان کلیدی: حساسیت پرتوی، سلول‌های هلا، ویروس سرخک

* **نویسنده مسئول:** اراک، خیابان شهید شیرودی، کدپستی ۳۸۱۹۷۴۸۸۸۶

Email: sahar_s59@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

حساسیت پرتوی سلول‌های سرطانی مبنای تجویز دوز دریافتی در هر جلسه رادیوتراپی است. در واقع برای انجام رادیوتراپی موفق پروتکل‌هایی وجود دارد که مطابق آن در یک منطقه توموری تابش بیش از حد نباید صورت گیرد و تابش از مقدار مجاز نیز نباید کمتر باشد. به عبارتی دیگر در نظر گرفتن حساسیت پرتوی در جلسات رادیوتراپی باعث می‌شود تا حد ممکن سلول‌های سرطانی از بین روند و در عین حال سلول‌های سالم در امان بمانند. از دیگر سو چون سلول‌ها به لحاظ ساختمانی با یکدیگر کاملا شبیه نیستند لذا حساسیت پرتوی آنها نیز متفاوت است. مکانیسم تاثیر پرتو بر سلول به گونه‌ای است که سلول‌های تمایز نیافته حساسیت پرتوی بیشتری نسبت به سایر سلول‌ها دارند. بنابراین سلول‌های سرطانی که مدام در حال تکثیرند نسبت به پرتو حساسیت بیشتری دارند(۱، ۲).

مرگ سلول در مقوله‌های مختلف ممکن است معانی متفاوتی داشته باشد. به طور نمونه برای سلول‌های تمایز یافته‌ای مانند عصب و عضله به عنوان از دست دادن عمل اختصاصی تعریف می‌شود ولی برای سلول‌های در حال تکثیر مانند سلول‌های بنیادین، سیستم خونساز و به صورت برجسته سلول‌های سرطانی به مفهوم از دست دادن قابلیت تولید مثل می باشد. از این رو رادیوبیولوژیست‌ها اثر کشندگی اشعه یونیزان بر سلول‌ها را با مفهوم حساسیت پرتوی(Radiosensitivity) بیان می‌کنند(۳). دیده شده است که وجود بیماری ویروسی می‌تواند حساسیت پرتوی سلول‌ها را تحت تاثیر قرار دهد.به عبارتی در بررسی برروی موجود زنده (Invivo) ممکن است عوامل ویروسی ارگان‌هایی را که لازم است تحت درمان با اشعه قرار گیرند گرفتار کرده و الگوی درمان، نتایج و عوارض آن را تغییر دهد(۴-۶). در میان رده‌های مختلف سلولی، سلول‌های سرطانی دهانه رحم (Hela cells) بروی ویروس‌هایی مثل سرخک غیر اختصاصی عمل می نمایند(۷-۹).

از آنجایی که تاثیر اختصاصی بودن سلول‌هایی نظیر فلج اطفال(Polio) به صورت جداگانه صورت پذیرفته است این تحقیق با هدف تعیین تاثیر اشعه یونیزان کبالت ۶۰ بر حساسیت پرتوی سلولهای سرطانی هلا که آغشته به مولد بیماری سرخک شده اند انجام گردید.

روش کار

در این تحقیق حساسیت پرتوی سلول‌های سرطانی دهانه رحم، بدون وجود عامل بیماری ویروسی و بار دیگر با وجود عامل بیماری ویروسی سرخک(Measles)، پس از تابش اشعه گامای کبالت ۶۰، به دست آمده و با یکدیگر مقایسه شد.مقایسه سلول‌های آلوده تابش دیده با سلول‌های آلوده تابش ندیده کنترل از این حیث ضروری است که معلوم شود درصد افزایش مرگ، ناشی از افزایش دوز ویروس نبوده است و مربوط به دوز دریافتی اشعه است.

در این مطالعه، ابتدا سلول‌های سرطانی دهانه رحم در محیط کشت(Dolbecco's Modified Eagle's Medium)(DMEM) همراه با ۱۰ درصد، Fetal calf Serum و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از آنتی بیوتیک پنی سیلین و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از آنتی بیوتیک استرپتومایسین و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر از آمفوتریسین B کشت داده شد.

پس از مراحل مختلف پاساژ سلول‌ها و تکثیر آنها در فلاسک‌های محیط کشت(Nunc) و آماده شدن سلول‌ها برای تلقیح واکسن خوراکی ویروس سرخک ، تقریباً ۶۰۰۰ سلول هلا را در چاهک‌های ۶ تایی کشت سلول رشد داده شد که در هر یک از چاهک‌ها یک میلی متر مکعب سوسپانسیون کشت سلولی وجود داشت. سپس سلول‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد بمدت چهار روز تحت انکوباسیون (انکوباتور Memmert) قرار گرفتند، که در طی این مدت ۸۰ درصد از سطح چاهک‌های ۶ تایی محیط کشت توسط سلول‌ها پر شد.

Archive of SID
www.SID.ir

در مرحلـه بعـد مقـدار ۱۰۰ میکرولیتـر واکـسن سرخک را با روش ترقیق سازی موازی(Serial Dilution) به نسبت‌هـای۱/۶۴، ۱/۳۲ ، ۱/۱۶، ۱/۸، ۱/۴، ۱/۲ رقیـق نمـوده و در داخل چاهک‌هـای محیط کـشت تلقـیح شـد و پـس از آن، سلول‌های تلقیح شده با نسبت‌های متفاوت واکسن سـرخک تحت انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد قرار داده شـد تـا ویـروس در سـلول‌هـا تکثیـر یابـد و اثـرات سایکوپاتیک ویروس در سلول‌ها ظاهر گردد ظهور ایـن اثـر بین روزهای ۲ و ۴ مشاهده گردید(۱۰). پـس از طـی مراحـل فوق چاهک‌های محیط کـشت آلـوده بـه ویـروس و گـروه کنتـرل کـه بـه ویـروس آلـوده نبـود بـه بخـش رادیـوتراپی بیمارستان گلستان اهواز منتقل شدو تحت تابش ۲ گری اشعه گامای کبالت۶۰ (تحت دسـتگاه پرتودرمـانی کبالـت مـدل Theratron780) قرار گرفت(۱۱).

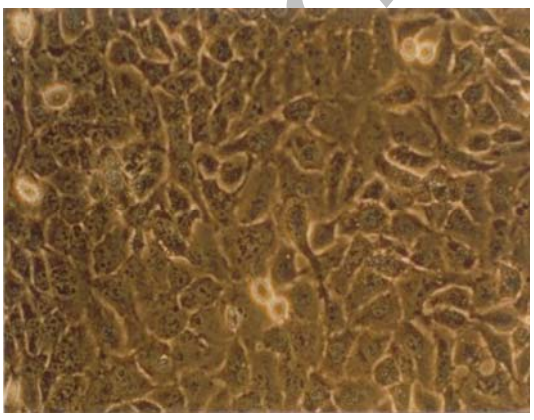
لازم بـه ذکـر اسـت کـه بـرای ایـن کـه بـرآورد صحیح‌تری از نتایج به دست آید از هـر غلظـت ویروسـی دو نمونه تحـت تـابش قـرار گرفـت و بـا یـک گـروه کنتـرل از غلظت‌هایی که تحت تابش قرار نگرفته بـود مقایـسه گـشت. هم‌چنین دو چاهک کـه فقـط حـاوی سـلول بـدون ویـروس سرخک بودند در نظر گرفته شد که یکی تحت تـابش اشـعه قرار گرفت و دیگری اشـعه ای دریافـت نکـرد. و بـه عنـوان کنتـرل بـرای ارزیـابی سـلول‌هـای هـلا مـورد اسـتفاده قـرار گرفتند.(اشکال ۱ و ۲و ۳) نتایج حاصله بر پایه توانایی سلول در تشکیل کلونی و شمارش کلونی‌ها به دست آمـده اسـت. بدین گونه کـه پـس از تـابش دهـی و تمهیـدات ذکـر شـده بعدی جهت آزمون Clonogenic Assay، رنـگ آمیـزی با محلول کربول فوشین ۱۰ درصـد (MERK) انجـام شـد و شمارش کلونی‌ها تحت میکروسکوپ معکوس لیتـز(Leitz) ساخت کشور آلمان انجام گرفـت (بـا لنـز۴۰). بـا بـه دسـت آوردن درصـد رانـدمان کـشت(Plating Efficiency) در سلول‌های تابش دیده و کنترل(۷۲ درصد) نـسبت بقـا مطـابق رابطه زیر محاسبه شد.

$$S = \frac{C}{N \times PE\%}$$

که در این رابطه S: نسبت بقا، C: تعداد کلونی‌های شمارش شده، N: تعداد سلول‌های کشت شده و PE%: بازده کشت می باشند.

نتایج

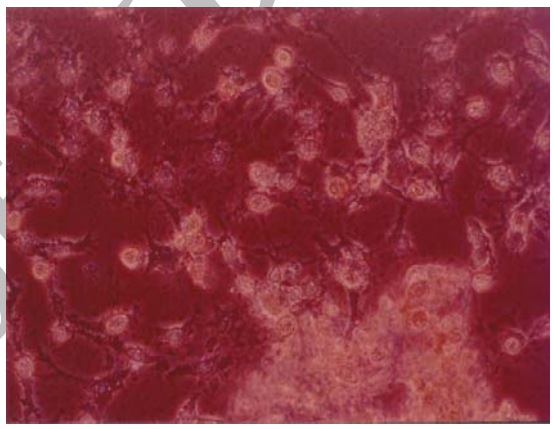
مـشاهده محـیط کـشت سـلول‌هـای آلـوده و غیـر آلوده پس از دریافـت اشـعه یـونیزان حـاکی از آن بـود کـه وجـود ویـروس باعـث افـزایش حـساسیت پرتـوی سـلول‌هـا می‌شود. به طوری که هرچه میزان غلظت ویروس در محـیط کشت بیـشتر باشـد حـساسیت پرتـوی سـلول‌هـا نیـز افـزایش خواهد یافت. در این راستا نتایج حاصل از مقایـسه گـروه هـا بیان‌گر آن بود که در غلظت‌های کـم آغـشتگی بـه ویـروس سـرخک یعنـی۱/۶۴، ۱/۳۲ ، پـس از دریافـت ۲ گـری اشـعه گامـای کبالـت ۶۰ مـرگ سـلولی بـه انـدازه ۵ تـا ۷ درصـد افزایش یافت. این میزان در غلظت‌های متوسط آغشتگی بـه ویروس یعنی۱/۱۶، ۱/۸، برابر ۱۵ تا ۲۰ درصد و در غلظت‌های بالا یعنی۱/۴، ۱/۲ ، به انـدازه ۵۰ تـا ۶۵ درصـد افـزایش نـشان داد.



شکل ۱. سلول‌های هلا قبل از درگیری با ویروس و پرتو یون ساز

Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۲. سلول‌های هلا پس از تلقیح ویروس سرخک



شکل ۳. سلول‌های هلای آغشته به غلظت متوسط ویروس پس از تابش ۲ گری

بحث

اثر اشعه یونیزان بر سلول‌های سرطانی تا کنون توسط بسیاری از محققان مورد کنکاش قرار گرفته است. اکثریت آنها منطقه تومورال را بدون در نظر گرفتن عوامل بیماری غیر سرطانی فرض نموده‌اند. از جمله آنها می‌توان به تحقیقات تراسیما و تولماچ اشاره کرد که منحنی بقای سلول هلا پس از تابش‌گیری ۳ گری اشعه ایکس برای مراحل مختلف چرخه سلول را ارائه کردند(۱۲). سینگلر و همکاران حساسیت پرتوی سلول‌های هامستر چینی را تحت تابش ۲و۴ گری در مراحل مختلف چرخه سلولی مورد کنکاش قرار داده و منحنی بقا را برای این سلول‌ها ترسیم نمودند(۱۳). در مطالعه‌ای دیگر که نسبت بقای سلول تومورهای مختلف تحت تابش ۲ گری اشعه به دست آمده است، نسبت بقا برای سلول‌های مختلف یکسان اعلام نشده و مطابق گزارش این محققین حساسیت سلول‌های سالم در محدوده بین حساسیت انواع سلول‌های توموری قرار می‌گیرد(۱۴). در واقع در اکثر بررسی‌های انجام شده تنها عامل مرگ سلولی همان دوز دریافتی اشعه است و محققین منحنی بقای سلول‌های سرطانی را با فرض عاری بودن منطقه تومورال از هرگونه بیماری دیگر بغیر از سرطان استخراج نموده‌اند. در تحقیق اخیر از لحاظ حساسیت پرتوی، سلول‌های سرطانی‌ای مورد بررسی قرار گرفت که از حیث آلودگی‌های محیطی تحت تاثیر بیماری ویروسی بودند. در واقع منحنی‌های بقای سلول که توسط محققین دیگر ارائه شده است همگی از لحاظ وابستگی به دوز اشعه، از الگوی تقریباً یکسانی پیروی می‌کنند که اساس و پایه رژیم‌های تقطیعی دوز در رادیوتراپی است.

نتیجه گیری

وجود بیماری ویروسی در منطقه تومورال الگوهای متداول و مشخص حساسیت سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و تاثیرات مشاهده شده بسته به غلظت آلودگی در نوسان هستند. چنین شرایطی در بیماری‌هایی نظیر سرطان دهانه رحم که اغلب مورد تهاجم ویروس پاپیلوما هستند رخ می‌دهد. البته باید توجه داشت که در یک موجود زنده آلودگی به ویروس به صورت منطقه‌ای نیست و معمولاً در یک بیماری ویروسی تمام سلول‌های بدن تحت تاثیر ویروس قرار خواهند گرفت که به نوبه خود حساسیت پرتوی سلول‌های سالم (به خصوص اطراف ناحیه تومورال) نیز افزایش می‌یابد. لذا در تجویز دوز اشعه به منظور درمان و از بین بردن سلول‌ها توسط رادیوتراپی، دقت به این نکته حایز اهمیت است که ابتدا تمهیداتی فراهم شود تا بیماری ویروسی درمان شده و سپس نسبت به رادیوتراپی بیمار اقدام گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

1. Hall EJ. Radiobiology for radiologist.5th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins; 1994. 1-45.
2. Steel GG, McMillan TJ, The radiobiology of human cells and tissues in vitro radio sensitivity. The picture has change in the 1980, Inter. J of Radiation Biology; 1989; 56(5):527-37
3. Muller T, Revel S, Moorhead H.The relative radiosensitivity of nucleus and cytoplasms of HeLa cell. Radial Res 2005; 83:451-9.
4. Juong R, DaQing L, Bert W, O'Malley J, Mohan S.Combination radiation and adenovirus- Mediated $p16^{INK4A}$ gene therapy in a murine model for head and neck cancer. Cancer Research 2003; 65(3):291-8.
5. Hornsey S, Howard A, Jeggo T. The radiosensitivity of melanoma cells in culture. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004; 42.1173-1179.
6. Zhang W, Anker L, Law R, Hinton D, Gopalakrishna R, Gundimeda U,et al. Enhancement of radiosensitivity in human malignant glioma cells by hypericin in vitro . Clin Cancer Res 2004; 2(5):843-8
7. Yakita s, Menson J, Arano B, Ziban M. Radiosensitivity enhancement of human glioblastoma multiforme by a herpes simplex virus vector. J Virol; 2002 ; 33(4): 881–887.
8. Lacal JC, Carrasco L. Modification of membrane permeability in poliovirus-infected HeLa Cells: Effect of guanidine. J Gen virol; 1983: 64:787-793.
9. Seif F, Baiatiani M, Tahmasebi M, Sohrabi A, Hosseini F. Radiosensitivity of HeLa Cells infected with Polio virus irradiated by Co 60. J of Banol University of Medical Sciences.2008; 10(3):25-29
10. Griffith TD, Talmach LJ. Lethal response of HeLa cells to x-irradiation in the latter part of the generation cycle. Biophys J; 1976:16:303-318.
11. Belli JA, Bonte FJ. Radiation recovery response of mammalian tumor cells in vivo. Nature; 1966: 211:662-663.
12. Terasima R, Tolmach LJ. X-ray sensitivity in synchronous populations of HeLa cells. Science; 1993:140:490_494.
13. Singleir WK, Morton RA. X-ray sensitivity during the cell generation cycle of cultured Chinese hamster cells. Radiat Res; 1996: 29: 450_474.
14. Brendsen G, Beusker T. Effect of different ionizing radiation on human cells in tissue culture. Radiat Res; 1990: 13: 841-849.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Arak University of Medical Sciences
Winter 2009; 11(4): 9-14

Original Article

Effect of ionizing radiation of cobalt 60 on radiosensitivity of HeLa cells infected with Measles virus

Baiatiani MR[1], Seif F[2*], Tahmasebi MJ[3], Ansari M[4] Sohrabi A[5], Hosseini F[6]

1- PhD Student of Medical Physics, Ahwaz Jondishapour University, Ahwaz, Iran.
2- Senior Lecturer, PhD Student of Medical Physics, Medical Physics Department, Ahwaz Jondishapour University, Ahwaz, Iran
3- Associated Professor, Medical Physicest, Medical Physics Department, Ahwaz Jondishapour University, Ahwaz, Iran
4- Assistant Professor, Oncologisest, Radiotherapy and Oncology Department, Golestan hospital, Ahwaz, Iran
5- MSc of Virology, Jondishapour University, Ahwaz, Iran
6- Assistant Professor, Biotechnologiest, Chemical Engineering Department, Kermanshah Razi University, Kermenshah, Iran

Received 21 May, 2008 Accepted 29 Nov, 2008

Abstract

Background: Radiotherapy is one of the cancer treatment methods. Prescribed dose for each fraction is considered based on radiosensitivity of tumoral and normal tissues. Viral agents are the effiectiv factors on tissue sensitivity. This research aimed to determine the effect of ionizing radiation of Cobal 60 on radiosensitivity of Hela cells infected with Measles virus.

Methods and Materials*:* In this study, the radiosensitivity of Hela cells is investigated experimentally and qualitively. The cells have been cultivated in two groups (experimental and blank) and plating efficiency has been obtained. Then 100λ measles virus with serial dilution method was used to induce infection in different ratio for experimental group. After cell growth and passage, the two groups were irradiated with 2Gy gamma radiation of cobalt 60.

Results*:* Results respectively indicated cell death increases up to 5-7%, 15-20% and 50-65%, after 2Gy irradiation by Co 60 for contaminating to Measles in low, moderate and high concentrations.

Conclusion: Radiosensitivity of tumoral cells increases when they are infected by viral agent. The result in radiotherapy of cancers showed, in prescribing dose fraction non cancer disease should be considered.

Key words: Radiosensitivity, Hela cells, Measles virus

*Corresponding author;
Email: sahar_s59@yahoo.com
Address: No3819748886, Shahid shirody Ave, Aark, Iran

Archive of SID
www.SID.ir