●مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره دهم، شمارهٔ ۳، مرداد – شهریور ۱۳۸۷، صفحه ۲۹-۲۵

حساسیت پرتویی سلولهای سرطانی آلوده به ویروس فلج اطفال، تحت تابش اشعه یونیزان کبالت ۶۰

فاطمه سیف[*1]، محمدرضا خیراله بیاتیانی[2]، محمدجواد طهماسبی بیرگانی[3]، امیر سهرابی[4]، فخری السادات حسینی[5]

۱- عضو هیأت علمی گروه فیزیک پزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز ۲- کارشناس ارشد فیزیک پزشکی ۳- دانشیار گروه فیزیک پزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز۴- کارشناس ارشد ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور۵- استادیار گروه مهندسی شیمی دانشگاه رازی کرمانشاه

سابقه و هدف: رسیدن دوز مناسب به صورت همگن به بافت تومورال و حفاظت بافتهای سالم اطراف تومور از اهداف اصلی پرتو درمانی است. حساسیت رادیوبیولوژیکی بافت سرطانی مبنای دوز تجویز شده برای هر جلسه رادیوتراپی می باشد. از آنجاییکه بیماریهای ویروسی در منطقه تومورال حساسیت پرتویی سلولهای سرطانی را تحت تأثیر قرار می دهد این مطالعه به منظور بررسی حساسیت پرتویی در سلولهای سرطانی آغشته به ویروس انجام شده است.

مواد و روشها: در این مطالعه، حساسیت پرتویی سلولهای هلا (Hela)، بدون حضور عامل بیماری ویروسی و بار دیگر با وجود عامل بیماری ویروسی فلج اطفال تحت تابش اشعه گامای کبالت ۶۰، قرار داه شد. برای آغشته شدن سلول به ویروس فلج اطفال، واکسن خوراکی فلج اطفال با نسبتهای مختلف استفاده شد. در نهایت با شمارش کلونیها تحت میکروسکوپ معکوس و محاسبه درصد راندمان کشت نسبت بقا در سلولهای تابش دیده و کنترل محاسبه شد.

یافته ها: نتایج حاصل نشان داد که مرگ سلولی برای غلظتهای کم آغشتگی به ویروس فلج اطفال، پس از دریافت 2Gy اشعه گامای کبالت ۶۰، به اندازه ۲۰ تا ۳۰ درصد و برای غلظتهای متوسط آغشتگی به ویروس، به اندازه ۳۰ تا ۴۰ درصد افزایش یافت. در حالیکه غلظتهای بالای آغشتگی به ویروس فلج اطفال، مرگ سلولی به اندازه ۷۰ تا ۹۰ درصد بیشتر شد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که وجود بیماری ویروسی در منطقه تومورال حساسیت پرتویی سلولهای سرطانی را افزایش می دهد. بنابراین در تجویز دوز اشعه در جلسات رادیوتراپی باید به محیط دریافت کننده اشعه از لحاظ درگیر بودن با بیماریهای غیر سرطانی نیز توجه شود.

واژه های کلیدی: *حساسیت پرتویی، سلولهای HeLa، ویروس فلج اطفال.*

دریافت: ۸۶/۱۱/۱۰، ارسال جهت اصلاح: ۸۷/۲/۱۸، پذیرش: ۸۷/۴/۱۹

مقدمه

برای درمان بعضی تومورهای سرطانی از اشعه ایکس و گاما، تشعشعات حاصل از مواد رادیواکتیو و رادیوایزوتوپها استفاده می نمایند که کلیه این تشعشعات و ذرات، دارای خاصیت یون سازی بوده و هنگام عبور، مقدار معینی انرژی به محیط تحت تابش منتقل می کنند. این انرژی انتقال یافته از نظر بیولوژیکی نقش بسیار مهمی در از بین بردن سلولهای سرطانی دارد. از آنجا که سلولها به لحاظ ساختمانی با یکدیگر کاملا شبیه نیستند لذا حساسیت پرتویی آنها نیز متفاوت است. مکانیسم تاثیر پرتو بر سلول به گونه ای است که سلولهای تمایزنیافته، حساسیت پرتویی بیشتری نسبت به سایر سلولها دارند، پس سلولهای سرطانی که مدام در حال تکثیرند، نسبت به پرتو، حساسیت بیشتری دارند (۲و۱). هدف نهایی در رادیوتراپی آنست که در حد امکان دوز مناسب، بطور یکنواخت به ناحیه تومورال داده شود بطوریکه موجب ازبین رفتن سلولهای سرطانی گردد و در عین حال دوز کمتری به سلولهای سالم که در مسیر پرتوهای یونساز قرار دارند، برسد (۳). رادیوبیولوژیست ها اثر کشندگی اشعه یونیزان بر سلولها را با مفهوم حساسیت پرتویی بیان می کنند. گزارشاتی

Archive of SID

www.SID.ir

مبنی بر این نکته که وجود بیماری ویروسی، می تواند حساسیت پرتویی سلولها را تحت تأثیر قراردهد مطرح شده است (۶-۴و۱).

در این تحقیق، حساسیت پرتویی سلولهای سرطانی دهانه رحم، بدون وجود عامل بیماری ویروسی و بار دیگر با وجود عامل بیماری ویروسی فلج اطفال، پس از تابش اشعه گامای کبالت ۶۰، بدست 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 و مربوط به دوز دریافتی اشعه است. لازم به ذکر است که سلول سرطانی HeLa برای ویروس فلج اطفال به عنوان سلول اختصاصی عمل می کند و حساسیت این سلول به ویروس فلج اطفال محرز است (۸و۷).

مواد و روشها

در این مطالعه، ابتدا سلولهای سرطانی دهانه رحم در محیط کشت(Dolbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM) همراه با ۱۰٪ Fetal calf Serum، و ۱۰۰U/mL از آنتی بیوتیک پنی سیلین و ۱۰۰µg/mL از آنتی بیوتیک استرپتومایسین و ۵µg/mL از آمفوتریسین B کشت داده شد.

پس از مراحل مختلف پاساژ سلولها و تکثیر آنها در فلاسکهای محیط کشت و آماده شدن سلولها برای تلقیح واکسن خوراکی ویروس فلج اطفال، تقریباً ۶۰۰۰ سلول هلا در چاهکهای ۶ تایی کشت سلول، رشد داده شد. 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٪ بمدت چهار روز تحت انکوباسیون قرار گرفتند، که در این چهار روز، ۸۰٪ از سطح چاهکهای ۶ تایی محیط کشت توسط سلولها پر شد.

در مرحله بعد، مقدار 100λواکسن خوراکی ویروس فلج اطفال را با روش رقیق سازی متوالی (Serial Dilution) به نسبتهای $\frac{1}{64},\frac{1}{32},\frac{1}{16},\frac{1}{8},\frac{1}{4},\frac{1}{2}$ رقیق نموده، در داخل چاهکهای محیط کشت تلقیح شد و پس از آن، سلولهای تلقیح شده با نسبتهای متفاوت واکسن خوراکی ویروس فلج اطفال تحت انکوباسیون ۳۷ درجه سانتیگراد و Co2 ۵٪ قرار داده شد تا ویروس در سلولها تکثیر یابد و اثرات سایکوپاتیک ویروس در سلولها ظاهر گردد(چنین اثری بین ۴-۲ روز مشاهده شد). پس از طی مراحل فوق چاهکهای محیط کشت آلوده به ویروس و گروه کنترل که به ویروس آلوده نبود، تحت تابش 2Gy اشعه گامای کبالت ۶۰ قرار گرفت. به منظور برآورد صحیح نتایج، از هر غلظت ویروسی دو نمونه تحت تابش قرار گرفت و با یک گروه کنترل از غلظتهایی که تحت تابش قرار نگرفته بود مقایسه شد. همچنین از دو چاهک که فقط حاوی سلول بدون ویروس فلج اطفال بوده، یکی تحت تابش اشعه و دیگری تحت تابش قرار نگرفت که به عنوان کنترل برای ارزیابی سلولهای HeLa مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج حاصله بر پایه توانایی سلول در تشکیل کلونی بود و اطلاعات از طریق شمارش کلونیها بدست آمد. بدین گونه که پس از تابش دهی، و تمهیدات بعدی، جهت آزمون Clonogenic Assay، با محلول کربول فوشین ۱۰٪ (MERK) رنگ آمیزی انجام شد و شمارش کلونیها تحت میکروسکوپ معکوس انجام گرفت. با بدست آوردن درصد راندمان کشت (Plating Efficiency) در سلولهای تابش دیده و کنترل ،نسبت بقا محاسبه شد.

یافته ها

در غلظتهای کم آغشتگی به ویروس فلج اطفال ($\frac{1}{64},\frac{1}{32}$)، پس از دریافت 2Gy اشعه گامای کبالت ۶۰، مرگ سلولی به اندازه ۲۰ تا ۳۰ درصد افزایش یافت. این میزان برای غلظتهای متوسط آغشتگی به ویروس فلج اطفال ($\frac{1}{16},\frac{1}{8}$)، ۳۰ تا ۴۰ درصد و برای غلظتهای بالای آغشتگی به ویروس فلج اطفال ($\frac{1}{4},\frac{1}{2}$)، ۷۰ تا ۹۰ درصد افزایش یافت.

بحث و نتیجه گیری

براساس نتایج این مطالعه، مشاهده محیط کشت سلولهای آلوده و غیر آلوده پس از دریافت اشعه یونیزان حاکی از آن بود که وجود ویروس، باعث افزایش حساسیت پرتویی سلولها می شود. بطوریکه هرچه میزان غلظت ویروس در محیط کشت بیشتر باشد، حساسیت پرتویی سلولها نیز افزایش خواهد یافت.

اثر اشعه یونیزان بر سلولهای سرطانی تا کنون توسط بسیاری از محققان مورد کنکاش قرار گرفته است که اکثر این تحقیقات منطقه تومورال را بدون در نظر گرفتن عوامل بیماری غیر سرطانی فرض نموده اند (۱۰و۹)، بعنوان مثال در تحقیق Terasima و Tolmach منحنی بقای سلول HeLa پس از تابش گیری 3Gy

Archive of SID

www.SID.ir

اشعه ایکس برای مراحل مختلف چرخه سلول ارائه شد (۱۱). در تحقیقی دیگر Sincleir و همکارانش حساسیت پرتویی سلولهای هامستر چینی را در مراحل مختلف چرخه سلولی مورد کنکاش قرار داده و منحنی بقا را برای این سلولها ارائه کرده اند (۱۲). در واقع در اکثر تحقیقات 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 نموده اند. در تحقیق اخیر، از لحاظ حساسیت پرتویی، سلولهای سرطانی تحت بررسی 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 تقریبا یکسانی پیروی می کنند که این الگوها اساس و پایه رژیمهای تقطیعی دوز در رادیوتراپی است. اما چنانکه در تحقیق حاضر آمده است وجود بیماری ویروسی در منطقه تومورال الگوهای متداول و مشخص حساسیت سلولی را تحت تأثیر قرار می دهد که بسته به غلظت آلودگی، تاثیرات مشاهده شده در نوسان هستند. چنین شرایطی در بیماریهایی نظیر سرطان دهانه رحم که اغلب مورد تهاجم ویروس پاپیلوما هستند رخ می دهد. البته باید توجه داشت که در یک موجود زنده آلودگی به ویروس به صورت منطقه ای نیست و معمولاً در یک بیماری ویروسی تمام سلولهای بدن، تحت تاثیر ویروس قرار خواهند گرفت که به نوبه خود، حساسیت پرتویی سلولهای سالم (بخصوص اطراف ناحیه تومورال) نیز افزایش می یابد. 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 شود و سپس نسبت به رادیوتراپی بیمار اقدام گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از پرسنل بخش رادیوتراپی و انکولوژی بیمارستان گلستان اهواز قدردانی می گردد.

****

References

1. Hall EJ. Radiobiology for radiologist, 5th ed, Philadelphia, Williams and Wilkins 1994; pp: 1-45.

2. Steel GG, McMillan TJ, Peacock JH. The radiobiology of human cells and tissues in vitro radio sensitivity. The picture has change in the 1980s. Int J Radiat Biol 1989 56(5): 525-37.

3. Khan MF. The physics of radiation therapy, 2nd ed, Baltimore, Williams and Wilkins 1994; pp. 50-257.

4. Taucher Scholz G, Stanton JA, Schneider M, Kraft G. Induction of DNA breaks in SV40 by heavy ions. Adv Space Res 1992; 12(2-3): 73-80.

5. Koiwai S, Muta N. Studies on radioresistance with HeLa cells: radiosensitivity and chromosome constitution. Radiat Res 1974: 59: 717-23.

6. Yokoro K, Ito T, Imamura N, Kawase A, Yamasaki T. Synergistic action of radiation and virus in induction of leukemia in rats. Cancer Res 1969: 29(11): 1973-6.

7. Merryman P, Jaffe IA, Ehrenfeld E. Effect of D-penicillamine on poliovirus replication in HeLa cells. J Virol 1974; 13(4): 881-7.

8. Lacal JC, Carrasco L. Modification of membrane permeability in poliovirus-infected HeLa Cells: effect of guanidine. J Gen Virol 1983; 64(pt 4): 787-93.

9. Griffith TD, Talmach LJ. Lethal response of HeLa cells to x-irradiation in the latter part of the generation cycle. Biophys J 1976; 16(4): 303-18.

Archive of SID

www.SID.ir

10. Belli JA, Bonte FJ, Rose MS. Radiation recovery response of mammalian tumor cells in vivo. Nature 1966; 211(5049): 662-3.

11. Terasima R, Tolmach LJ. X-ray sensitivity and DNA synthesis in synchronous populations of HeLa cells. Science 1963; 140: 490-2.

12. Sincleir WK, Morton RA. X-ray sensitivity during the cell generation cycle of cultured Chinese hamster cells. Radiat Res 1966: 29(3): 450-74.

Archive of SID

* آدرس نویسنده مسئول: اهواز، بیمارستان گلستان، بخش رادیوتراپی و انکولوژی، تلفن: ۳۳۴۹۲۸۶-۰۶۱۱.

www.SID.ir

RADIOSENSITIVITY OF HELA CELLS INFECTED WITH POLIO VIRUS IRRADIATED BY CO 60

F. Seif (MSc) [1*], M.R. Baiatiani (MSc) [2], M.J. Tahmasebi Birgani (PhD) [3], A. Sohrabi (MSc) [4], F. Hosseini (PhD) [5]

1. Academic staff of Medical Physics Department, Ahwaz Jondishapour University, Ahwaz, Iran, sahar_s59@yahoo.com, 2. MSc of Medical Physics, Department of Medical Physics, Ahwaz Jondishapour University, Ahwaz, Iran, 3. Associate Professor of Medical Physics Department, Ahwaz Jondishapour University, Ahwaz, Iran, 4. MSc of Virology, Department of Virology, Ahwaz Jondishapour University, Ahwaz, Iran, 5. Assistant Professor of Biotechnology, Department of Chemical Engineering, Kermanshah Razi University, Kermanshah*

BACKGROUND AND OBJECTIVE: The main purpose of radiotherapy is exposing enough dose to tumoral volume and protecting the normal tissues around it. Tumor dose for each fraction in radiotherapy prescribes with tumoral tissue consideration. Since viral diseases can affect cell radiosensitivity, this study was done to evaluate the radiosensitivity of tumoral cell that infected with virus.

METHODS: In this study the radiosensitivity of HeLa cell with and without the viral agent of polio disease was obtained and compared after gamma radiation of cobalt 60. Different polio vaccine was used to infect cell with polio virus. Finally calculated the percentage of plating efficiency and relative survival at radiated and control cells with colonies countering.

FINDINGS: Results implicate that cell death increases up to 20-30% for contaminating with low concentrations of polio virus, 30-40% for moderate concentrations and 70-90% for high concentrations after 2Gy irradiation by cobalt 60.

CONCLUSION: Results of this study showed that existing of viral disease in tumoral region can increase radiosensitivity of tumoral cells. Therefore non cancer disease in region under irradiation should be noticed to prescribing dose fraction in radiotherapy of cancers.

KEY WORDS: *Radiosensitivity, HeLa cells, Polio virus.*

Journal of Babol University of Medical Sciences 2008; 10(3): 25-29.

Received: January 29th 2008, Revised: May 7th 2008, July 9th 2008

Archive of SID

www.SID.ir