دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیک پزشکی

عنوان

بررسی اثر توام 2ME2 (۲- متوکسی استرادیول) و تابش گامای کبالت ۶۰ برمیزان صدمات سیتوژنتیکی ناشی ازحساس کننده پرتوی IUdR در مدل کشت اسفروئید از سلول های گلیوبلاستوما به روش کامت قلیایی.

استاد راهنما

سرکار خانم دکتر سمیده خویی

استاتید مشاور

جناب آقای دکتر علی نشاسته ریز جناب آقای دکتر سید ربیع مهدوی

نگارش

سارا دلفان

۱۳۸۸

چکیده:

هدف: در درمان به روش رادیوتراپی، دوز تجویز شده جهت کنترل تومور از توان تحمل بافت های طبیعی اطراف تومور خارج می باشد. جهت جلوگیری از این پدیده از روش هایی جهت حساس کردن سلول های سرطانی نسبت به پرتوهای یونساز استفاده می شود. IUdR یک حساس کننده پرتوی شناخته شده می باشد که به صورت هدفمند عمل می کند. این مولکول یک آنالوگ تیمین می باشد که در زمان سنتز DNA در رشته DNA جایگزین تیمین می شود و سبب افزایش حساسیت پرتوی سلول ها می شود. در استفاده از IUdR، مشکل زمانی به وجود می آید که اندازه تومور افزایش یافته و علاوه بر سلول های اکسیژن دار سطحی، در لایه های میانی به دلیل کمبود اکسیژن، سلول ها دچار هایپوکسی شده و از چرخه سلولی خارج می شوند و در فاز G_0 قرار می گیرند. تحت چنین شرایطی عملا میزان جذب IUdR کم شده و تاثیر گذاری آن نیز کاهش خواهد یافت. Hypoxia Inducible Factor (HIF) یک مولفه کلیدی پاسخ به هایپوکسی می باشد بدین صورت که با ایجاد شرایط هایپوکسی سطح فاکتور HIF-1α افزایش می یابد سپس افزایش این پروتئین است که منجر به توقف چرخه سلولی می شود. تحقیقات نشان داده است که 2ME2 (۲-متوکسی استرادیول) از طریق دپلیمریزه کردن میکروتوبول ها قادر است مانع از بیان پروتئین HIF-1α و جلوگیری از فعالیت این پروتئین در شرایط هایپوکسی شود. لذا هدف از انجام این پروژه بررسی اثر توأم 2ME2 و تابش گامای کبالت ۶۰ برمیزان صدمات سیتوژنتیکی ناشی ازحساس کننده پرتوی IUdR در مدل کشت اسفروئید از رده سلولی گلیوبلاستوما می باشد.

مواد و روش ها: سلول های U87MG به صورت اسفروئیدهای با قطر ۳۵۰ میکرومتر کشت داده شدند. سپس به مدت یک بار زمان دو برابر شدن حجم اسفروئید تحت تیمار دارویی با 2ME2 با غلظتμM ۲۵۰ قرار گرفتند. بعد از گذشت این زمان، اسفروئیدها را طبق گرو هبندی زیر تحت تیمار های بعدی قرار دادیم:

۱-vehicle

۲- تیمار با 2ME2 (غلظت 250μM) طی یک VDT

۳- تیمار با 2ME2 (غلظت 250μM) و IUdR (غلظت1μM) طی یک VDT

۴- تیمار با 2ME2 (غلظت 250μM) طی یک VDT و سپس تابش دهی با گاما (۲Gy)

۵- تیمار با 2ME2 (غلظت 250μM) و IUdR (غلظت1μM) طی یک VDT و سپس تابش دهی با گاما (۲Gy)

سپس میزان آسیب های DNA سلول ها توسط روش کامت قلیایی بررسی شد.

نتایج: نتایج نشان داد که کاربرد توام 2ME2 و گامای کبالت ۶۰ به طور معنی داری ($p<0.001$) باعث افزایش صدمات سلولی ناشی از IUdR در مقایسه با گروه کنترل می شود. این بدان معناست که ترکیب این دو دارو باعث افزایش صدمات ناشی از IUdR در سلول های U87MG که به صورت اسفروئیدی کشت داده شده اند می شود.

نتیجه گیری: 2ME2 قادر است از طریق مهار پروتئین HIF-1α و جلوگیری از توقف چرخه سلولی در فاز G_0 باعث افزایش جذب IUdR و افزایش میزان صدمات سلولی در اسفروئیدهای با قطر ۳۵۰ میکرون شود. این نتایج نشان می دهد که استفاده توام 2ME2 و IUdR می تواند در درمان گلیومای پیشرفته مفید واقع گردد.

Abstract:

Objective: In the radiation treatment, the irradiation effective enough to control the tumors far exceeds the tolerance of normal brain tissues. Thus, to avoid such unfavorable outcomes; methods which sensitize the tumor cells to ionizing radiation (IR) are used. Iododeoxyuridine (IUdR) is the known radiosensitizers that target the cells selectively. This molecule is a halogenated thymidine analogue which incorporates into DNA instead of thymine during DNA replication and increases the radiosensitization of the cells. In the use of IUdR when the tumor size is increased and the cells in the median layers suffer from hypoxia due to oxygen deficiency, the cells arrest in the G_0 phase of the cell cycle and in this condition the IUdR absorption is significantly reduced. Hypoxia inducible factor (HIF-1α) is the key regulatory element of the hypoxic response of cells. Enhancement of this protein level causes an increased progression into G_0 phase. It is reported that 2-Methoxystradiol (2ME2) inhibits activation of HIF-1α by depolymerizing microtubules. In this study, we have investigated the combination effect of 2ME2 and ^{60}Co on the cytogenetic damages of IUdR in spheroid model of U87MG glioblastoma cancer cell lines by alkaline comet assay.

Materials and Methods: U87MG cells were cultured as spheroids with 350 μm diameter. Cultures were pretreated with 2ME2 (250μM) for 1 volume doubling time (1VDT). After this time, accomplished the subsequent treatments according to the following groups:

1- vehicle
2- treated with 2ME2 (250 μM) for 1 VDT
3- treated simultaneously with 2ME2 (250 μM) and IUdR (1 μM) for 1 VDT
4- treated with 2ME2 (250 μM) for 1 VDT then irradiated with ^{60}Co (2Gy)
5- treated simultaneously with 2ME2 (250 μM) and IUdR (1 μM) for 1 VDT then irradiated with ^{60}Co (2Gy)

Then the damages of DNA were evaluated using alkaline comet assay method.

Results: The results showed that 2ME2 in the combination with gamma irradiation of ^{60}Co significantly ($p<0.001$) increased the DNA damages of IUdR as compared to control group. It means the combination of these two agents increased the cytogenetic effects of IUdR in spheroid culture model of U87MG glioblastoma cell lines

Conclusion: By inhibiting the HIF-1α protein and preventing the G_0 phase arrest, 2ME2 causes an increased progression into S phase and increases the IUdR absorption. Then the enhanced absorption of IUdR leads into increasing the damages of DNA in spheroid cells. These results support the combination use of 2ME2 and IUdR for the treatment of the advanced glioma.

Key words: IUdR, HIF-1α, 2-Methoxystradiol, spheroid, comet assay.