دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی- بیوشیمی

بررسی بیراهی های پایدار کروموزومی القا شده توسط دوزهای مختلف اشعه گاما با استفاده از روش رنگ آمیزی دو رگ گیری فلورسانس درجای کروموزومی

نگارش

تقوا داودی

استاد راهنما

دکتر محمد رضا کاردان

اساتید مشاور

دکتر رضا حاجی حسینی

دکتر سید ابوالقاسم حائری

بهمن ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

این پروژه از پشتیبانی معنوی و مادی مرکز نظام ایمنی هسته ای کشور- امور حفاظت در برابر اشعه بهره مند شده است.

در اینجا برخود لازم می دانم که از مرکز نظام ایمنی هسته ای کشور- امور حفاظت در برابر اشعه که در انجام این پژوهش از حمایت های معنوی و مادی از طرف ایشان بهره مند بوده ام، تشکر نموده و توفیق روزافزون دست اندرکاران آن مرکز را در امر ارتقاء ایمنی پرتوی کشور از درگاه خداوندگار آرزو نمایم.

دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی- بیوشیمی

بررسی بیراهی های پایدار کروموزومی القا شده توسط دوزهای مختلف اشعه گاما با استفاده روش رنگ آمیزی دو رگ گیری فلورسانس درجای کروموزومی

نگارش

تقوا داودی

استاد راهنما

دکتر محمد رضا کاردان

اساتید مشاور

دکتر رضا حاجی حسینی

دکتر سید ابوالقاسم حائری

بهمن ۱۳۹۰

تشکر و قدردانی

خداوند را سپاس میگویم که به من فرصت داد تا عمر خود را در راه تحصیل علم و دانش سپری کنم و همواره استادانی دلسوز و فرزانه بر سر راهم قرار داد تا در این راه راهنمایم باشند.

در اینجا برخود لازم دانسته که نهایت سپاس و قدردانی را نسبت به تمام عزیزانی که در انجام این پژوهش از راهنمایی ها و مساعدت های با ارزش آنان اعم از استادان محترم دانشگاه، مدیران وکارشناسان بخش تحقیقات و توسعه ایمنی پرتوی و همچنین از مدیر کل محترم امور حفاظت در برابر اشعه کشور **جناب آقای دکتر محمد رضا کاردان**، ابراز نموده و توفیق روز افزونشان را از درگاه احدیت آرزو نمایم.

به خصوص از استاد گرامی **جناب آقای دکتر رضا حاجی حسینی** که به سبب قبول زحمت مشاوره این تحقیق کمال سپاس وامتنان را دارم. همچنین از استاد گرامی **جناب آقای دکتر سید ابوالقاسم حائری** که قبول زحمت مشاوره این پروژه را نموده اند کمال سپاس و تشکر را دارم.

تقوا داودی

بهمن ۹۰

چکیده

هدف از دوزیمتری بیولوژیک، تخمین میزان پرتوگیری افراد پرتوکار و یا درگیر در سوانح مختلف پرتوی می باشد. روش های سیتوژنتیکی، از شایع ترین و کاربردی ترین روش های دوزیمتری بیولوژیک می باشند. در موارد پرتوگیری مزمن یا دراز مدت، روش سیتوژنتیک دو رگ گیری فلورسانس درجا (FISH) مورد استفاده قرار می گیرد که در آن میزان آسیب های پایدار کروموزومی، معیاری برای تخمین پرتوگیری افراد می باشد. هر آزمایشگاه بیودوزیمتری، برای تخمین صحیح و دقیق میزان پرتوگیری، باید منحنی کالیبراسیون اختصاصی برای انواع مختلف پرتو در دوزها و آهنگ دوزهای مختلف تهیه نماید. در این تحقیق، پس از نمونه گیری از خون دو مرد سالم و غیر سیگاری، نمونه ها را تحت تابش دوزهای ۰/۵ تا ۲ گری اشعه ایکس ساطع شده از دستگاه شتابدهنده خطی قرار داده و پس از جداسازی لنفوسیت های خون محیطی و کشت آنها، گستره متافازی آنها تهیه شده و سپس مراحل رنگ آمیزی دو رگ گیری فلورسانس درجا (FISH) انجام شد و آسیب های پایدار کروموزومی سلول ها مورد بررسی قرار گرفت. براساس میزان آسیب های پایدار کروموزومی شمارش شده در دوزهای مختلف پرتو، منحنی دوز- پاسخ ترسیم شد که از آن می توان برای تخمین گذشته نگر پرتوگیری های شغلی و حوادث بهره برداری نمود.

کلمات کلیدی : بیودوزیمتری، دو رگ گیری فلورسانس درجای کروموزومی، لنفوسیت های خون محیطی، آسیب های پایدار کروموزومی، منحنی کالیبراسیون

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول – مقدمه

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- لنفوسیت‌های خون محیطی انسان ۲

۱-۳- ساختمان کروموزوم ۴

۱-۳-۱- بسته‌بندی کروماتین ۴

۱-۳-۲- کاریوتیپ انسان ۵

۱-۳-۳- چرخه سلولی ۵

۱-۴- مکانیسم های آسیب رسانی پرتوهای یونساز ۷

۱-۴-۱- آسیب رسانی مستقیم ۷

۱-۴-۲- آسیب رسانی غیر مستقیم ۸

۱-۵- ناهنجاری‌های کروموزومی ناشی از پرتوهای یونساز ۹

۱-۵-۱- آسیب‌های کروماتیدی ۹

۱-۵-۲- آسیب‌های کروموزومی ۱۰

۱-۶- دوزیمتری و انواع آن ۱۳

۱-۷- روش های سیتوژنتیک بیودوزیمتری ۱۵

۱-۷-۱- روش آنالیز متافاز ۱۵

۱-۷-۲- سنجش میکرونوکلئی ۱۸

۱-۷-۳- روش تراکم پیش‌رس کروموزومی ۱۹

۱-۷-۴- بررسی جابجائی‌های پایدار کروموزومی ۲۱

۱-۸- مروری بر مطالعات انجام شده ۲۸

۱-۸-۱- مطالعات انجام شده در بیودوزیمتری ۲۸
۱-۸-۲- مطالعات انجام شده بر روی حادثه دیدگان ۳۱

فصل دوم – مواد و روش ها

۲-۱- مواد مورد نیاز ۳۵
۲-۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز برای کشت لنفوسیت ها ۳۵
۲-۱-۲- موادشیمیایی مورد نیازبرای رنگ آمیزی FISH ۳۶
۲-۲- تجهیزات مورد استفاده ۳۷
۲-۳- روش نمونه گیری ۳۸
۲-۴- پرتودهی ۳۹
۲-۵- کشت ۳۹
۲-۵-۱- روش جداسازی لنفوسیت ها ۳۹
۲-۵-۲- کشت لنفوسیت ها ۴۰
۲-۵-۳- محصول برداری ۴۱
۲-۵-۴- تهیه لام میکروسکوپی ۴۱
۲-۵-۵- رنگ آمیزی گیمسا ۴۲
۲-۶- مراحل رنگ آمیزی FISH ۴۲
۲-۶-۱- روز اول :دناتوره کردن و هیبریدیزاسیون ۴۲
۲-۶-۱-۱- تهیه محلول ها ۴۲
۲-۶-۱-۲- تهیه پروب ها و دناتوره کردن آنها ۴۳
۲-۶-۱-۳- پپسینه کردن لام ها (اختیاری) ۴۴
۲-۶-۱-۴- تهیه لام ها و دناتوره کردن ۴۴

۲-۶-۲- روز دوم : شستشو و تشخیص ۴۵
۲-۶-۲-۱- تهیه محلول ها ۴۵
۲-۶-۲-۲- مرحله شستشو ۴۷
۲-۶-۲-۳- مرحله آشکارسازی ۴۹
۲-۷- آنالیز اسلاید ها ۵۰
۲-۷-۱- تعیین اندیس میتوزی ۵۰
۲-۷-۲- بررسی ناهنجاری های ناپایدار ۵۰
۲-۷-۳- بررسی ناهنجاری های پایدار ۵۱
۲-۷-۳-۱- انتخاب سلول های قابل شمارش ۵۱
۲-۷-۳-۲- نام گذاری ۵۱
۲-۷-۳-۳- ثبت اطلاعات ۵۳

فصل سوم - نتایج

۳-۱- اندیس میتوزی ۵۹
۳-۲- تعیین میزان ناهنجاری های ناپایدار در دوزهای ۱ و ۲ گری ۶۰
۳-۳- تعیین میزان ناهنجاری های پایدار ۶۲

فصل چهارم – بحث و نتیجه گیری

۴-۱- بیودوزیمتری ۶۶
۴-۲- پایداری جابجایی ها ۶۷
۴-۳- محدودیت های شناخته شده روش FISH ۷۰
۴-۳-۱- حدود کنترل ۷۰
۴-۳-۲- کالیبراسیون ۷۱

۴-۳-۳- حساسیت ۷۲
۴-۳-۴- معیار شمارش ۷۲
۴-۴- اهمیت بیودوزیمتری در مطالعات اپیدمیولوژیک ۷۲
۴-۵- نتیجه گیری ۷۴
۴-۶- پیشنهادات ۷۶
منابع ۷۷

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۳-۱ : درصد اندیس میتوزی محاسبه شده در دوزهای مختلف اشعه	۵۹
جدول ۳-۲ تعداد ناهنجاری های ناپایدار شمارش شده برای لام های ۱ و ۲ گری رنگ آمیزی شده با گیمسا نمونه ۱	۶۰
جدول ۳-۳- تعداد ناهنجاری های ناپایدار شمارش شده برای لامهای ۱ و ۲ گری رنگ آمیزی شده با گیمسا نمونه ۲	۶۱
جدول ۳-۴- تعداد ناهنجاری های ناپایدار و پایدار شمارش شده برای دوزهای جذبی ۰/۵، ۱ و ۲ گری	۶۲
جدول ۳-۵- تعداد ناهنجاری های ناپایدار و پایدار شمارش شده برای دوزهای جذبی ۰/۵، ۱ و ۲ گری	۶۳
جدول ۳-۶-جدول میزان ناهنجاری های پایدار محاسبه شده در هر سلول برای نمونه ها و میانگین آنها	۶۳

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱- فرم‌های مختلف توده کروماتینی که برای تبدیل به کروموزوم متافازی به شدت متراکم می شوند	۴
شکل ۱- ۲ - کاریوتیپ نرمال انسان مذکر	۵
شکل ۱- ۳- مراحل چرخه سلولی	۶
شکل ۱- ۴- تاثیر سیکلین های مختلف بر چرخه سلولی	۷
شکل ۱- ۵- مراحل تشکیل دی سانتریک (الف) و حلقه (ب)	۱۱
شکل ۱- ۶- جابجایی در کراسینگ اوری که بین دو کروموزوم رخ می دهد	۱۲
شکل ۱- ۷- تصویر یک گستره متافازی با بزرگنمایی ۱۰۰	۱۶
شکل ۱-۸- مکانیسم ایجاد میکرونوکلئی	۱۸
شکل ۱-۹- یک لنفوسیت دو هسته ای که با اشعه تابش یافته است و دارای ۶ میکرونوکلئی می باشد	۱۹
شکل ۲-۱- لایه های مختلف تشکیل شده پس از سانتریفوژ خون به همراه فایکول	۴۰
شکل ۲- ۲- گستره متافازی رنگ آمیزی شده با رنگ DAPI در روش FISH	۵۵
شکل ۲- ۳- کروموزوم شماره ۱ رنگ آمیزی شده با پروب FITC در روش FISH	۵۶
شکل ۲- ۴- کروموزوم شماره ۴ رنگ آمیزی شده با پروب Texas red در روش FISH	۵۶
شکل۲- ۵- جابجایی در کروموزوم شماره ۴ رنگ آمیزی شده با پروب Texas red در روش FISH	۵۷
شکل۲- ۶ جابجایی در کروموزوم شماره ۱ رنگ آمیزی شده با پروب FITC در روش FISH	۵۷
شکل ۳-۱- منحنی دوز – پاسخ تهیه شده براساس بیراهی های ناپایدار دی سانتریک	۶۱
شکل ۳-۲- منحنی دوز – پاسخ نمونه ۱، نمونه ۲ و میانگین آنها	۶۴

۱-۱- مقدمه

امروزه کمتر علمی را می توان یافت که در آن پرتوهای یونساز و یا مواد رادیواکتیو به خدمت گرفته نشده باشد. استفاده گسترده از منابع رادیواکتیو و اشعه ایکس برای اهداف پزشکی، صنعتی، کشاورزی، تحقیقاتی و نظامی، خطر پرتوگیری بیش از حد را برای پرتوکاران و افراد عادی جامعه افزایش داده است (۱). تعیین میزان پرتوگیری افراد اعم از پرتوکار و یا غیر پرتوکار در موارد شغلی و نیز حوادث پرتوی و هسته ای، از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده و برای درمان ضایعات پرتوی و ارائه مشاوره های مختلف پزشکی از الزامات اصلی می باشد. در میان روش های مختلف دوزیمتری، دو روش دوزیمتری فیزیکی و بیولوژیکی از اهمیت و کاربرد بیشتری برخوردار می باشند (۲). در دوزیمتری فیزیکی با کمک انواع مختلف دوزیمترهای فیزیکی و یا روش های شبیه سازی، میزان پرتوگیری افراد مورد ارزیابی قرار می گیرد. در روش دوزیمتری بیولوژیکی برای تخمین دوز پرتوهای یونساز از زیست نشانگرها استفاده شده و میزان تغییر آنها ملاکی برای تعیین میزان پرتوگیری فرد می باشد. اندیکاتورهای بیولوژیکی مختلفی برای تخمین میزان پرتوگیری افراد شناسایی شده است که از جمله این اندیکاتورها می توان به اندیکاتورهای بیوشیمیایی، سیتولوژیک، ایمنولوژیک و سیتوژنتیک اشاره نمود که در این میان، اندیکاتورهای سیتوژنتیکی، جزو معتبرترین و کاربردی ترین آنها می باشند (۳). روش های سیتوژنتیک متعددی برای تخمین بیولوژیک پرتوگیری ابداع و کاربردی شده اند که هر کدام دارای مزایا و معایبی بوده، همچنین هر کدام نیز ویژگی‌های خاص خود را دارا می‌باشند. روش های سیتوژنتیکی بیودوزیمتری از نیمه دوم دهه ۶۰ میلادی تا کنون مورد استفاده قرار گرفته (۲) و در حال حاضر، آنالیز بیراهیهای کروموزومی بعنوان یک قسمت روتین برنامه های حفاظت در برابر پرتوها در بسیاری ازکشورها درآمده است. همچنین تجربه استفاده از این روش در هزاران مورد واقعی پرتوگیری و یا مشکوک به پرتوگیری، ارزش استفاده از این روش را نشان داده و نیز به تبیین محدودیتهای روش، کمک شایانی نموده است (۴).

برای تخمین میزان پرتوگیری با استفاده از روش های بیولوژیکی به منحنی های کالیبراسیون نیاز می باشد تا با استفاده از آنها دقت تخمین را افزایش داد. در روش های سیتوژنتیکی دوزیمتری

بیولوژیکی معمولا از لنفوسیت های خون محیطی بعنوان ساده ترین نمونه قابل تهیه، استفاده می شود. لنفوسیت های خون محیطی جزو حساس ترین سلول های بدن نسبت به پرتوهای یونیزان می باشند.

۱-۲- لنفوسیت‌های خون محیطی انسان

لنفوسیت‌های خون محیطی انسان، یک جمعیت سلولی است که غالباً در مرحلهٔ G_0 چرخه سلولی می‌باشند. در حدود ۰/۲٪ یا کمتر از لنفوسیت‌های محیطی در چرخه سلولی سنتز قرار دارند. از نظر مورفولوژیکی، لنفوسیت‌های خون محیطی هستهٔ متراکمی دارند که توسط سیتوپلاسم کمی احاطه می‌شود. قطر آنها حدود ۶ میکرون بوده و از حجمی حدود μm^3 ۱۱۰ برخوردارند.

لنفوسیت‌ها به دو نوع اصلی سلول‌های B و T یافت می‌شوند. این سلول‌ها از سلول‌های ریشه‌ای بوجود می‌آیند که از نظر ایمونولوژیکی غیر متعهدند و از کیسه زردهٔ جنینی منشأ گرفته و نهایتاً در مغز استخوان مستقر می‌شوند. این سلول‌های ریشه‌ای تمایز نیافته به تیموس و سایر اندام‌های لنفوییدی اولیه مهاجرت می‌کنند، در آنجا تکثیر شده و احتمالاً در اثر جهش‌های سوماتیکی (بدنی)، مجموعه‌ای از لنفوسیت‌های با عمر طولانی را بوجود می‌آورند که وارد جریان خون می‌شوند. سلول‌های B و T بر اساس نشانگرهای سطحی خود، از مخلوطی از سلول‌های بکر و خاطره‌ای تشکیل شده‌اند که طول عمر و نقش آنها در فرآیندهای ایمونولوژیکی، متفاوت است (۵). اکثراً سلول‌های T از زیر رده CD۴ و CD۸ می‌باشند که در آزمایشگاه بوسیله فیتوهماگلوتینین تحریک و وارد چرخهٔ تقسیم شده و در دوزیمتری بیولوژیکی از آن‌ها استفاده می‌شود. نوول اولین بار نشان داد که لکوسیت‌های خون محیطی انسان می‌توانند در آزمایشگاه با فیتوهماگلوتینین (PHA) تحریک شده و وادار به تقسیم میتوز شوند (۶). کارسترز نیز نشان داد که لنفوسیت‌ها در اثر تحریک با فیتوهماگلوتینین وارد مراحل تقسیم سلولی می شوند (۷).

تعداد لنفوسیت‌ها در خون محیطی متغیر است. بعنوان مثال، برای یک فرد بالغ و سالم دامنه طبیعی آن mm^3/۴۸۰۰-۱۳۰۰ است. به هرجهت در مورد پرتوگیری بدن با دوزهای بالا، حدود چندگری و بیشتر، یکی از ابتدایی‌ترین اثرات قطعی، افت سریع تعداد لنفوسیت‌های خون محیطی است.

بنابراین اولین موردی که در پرتوگیری‌ها باید در نظر داشت، نمونه‌گیری خون برای بررسی تعداد مطلق لنفوسیت‌ها و بیودوزیمتری است.

تعداد لنفوسیت‌های با آسیب پایدار به آهستگی کاهش می‌یابد که منجر به تخمین کمتر از واقع مرگ آنها، می‌شود. متوسط زمان مرگ یک سلول T حدود ۲۰ سال تخمین زده می‌شود و این زمان مربوط به هر دو سلول بکر و خاطره‌ای است.

برای شرح شکست‌های کروموزومی القاء شده در انسان، مطلب مهم آنست که قسمت عمدهٔ لنفوسیت‌های محیطی متعلق به مجموعهٔ قابل پخش مجدد می‌باشند. یعنی لنفوسیت‌ها قادر به ترک خون محیطی، عبور از طحال، گره های لنفی و سایر بافت‌ها و بازگشت دوباره به گردش خون هستند. متوسط زمانی که یک لنفوسیت از مجموعه قابل پخش مجدد، در خون محیطی حضور دارد، حدود ۳۰ دقیقه است. تخمین زده می‌شود که حدود ۸۰٪ یعنی ۴۰۰×۱۰^{۹} لنفوسیت، متعلق به مجموعهٔ قابل پخش مجدد می‌باشند و کل زمان چرخش مجدد حدود ۱۲ ساعت است. این به آن معنی است که لنفوسیت‌ها در هر جایی از بدن، متحمل شکست کروموزومی شوند، نهایتاً در خون محیطی حضور خواهند یافت. بنابراین با آزمایش لنفوسیت انسان، نه تنها شکست‌های کروموزومی القاء شده در لنفوسیت‌های خون محیطی قابل بررسی هستند، بلکه شکست‌هایی که در لنفوسیت‌های منتشر در اندام‌های مختلف بدن ایجاد شده است نیز قابل بررسی می‌باشند (۸).

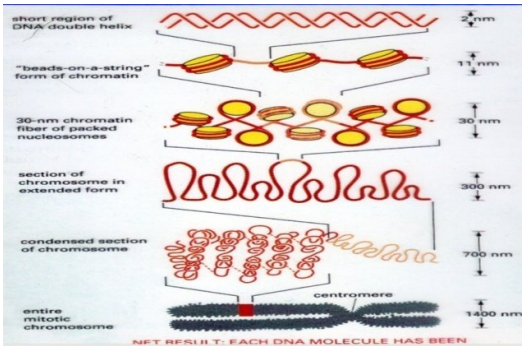
لنفوسیت ها قادرند که در آزمایشگاه با تحریک فیتوهماگلوتینین، که پروتئین مشتق از گیاه لوبیا phaseolus vulgaris است، وادار به تقسیمات میتوز می‌شوند (۶). فیتوهماگلوتینین، میتوژن کاملی است که طیف وسیعی از سلول‌های T را تحریک می‌کند. در اثر فیتوهماگلوتینین، لنفوسیت‌ها به سلول‌های بلاستوئید تغییر شکل داده و حجم هسته و کل سلول افزایش می‌یابد. حجم لنفوسیت‌های محیطی، ۴۸ ساعت پس از تحریک، حدود $۵۰۰\mu m^{۳}$ در مقایسه با حجم تقریباً $۱۱۰\mu m^{۳}$ قبل از تحریک، می‌باشد. حجم سیتوپلاسم قبل از تحریک حدود $۵۰\mu m^{۳}$ و پس از تحریک $۳۵۰\ \mu m^{۳}$ است. حجم هسته از حدود $۵۰\mu m^{۳}$ به $۱۷۰\mu m^{۳}$ پس از تحریک، افزایش می‌یابد. در طول این دوره ۴۸ ساعته، مقدار هتروکروماتین از ۷۰ درصد به ۱۳ درصد کاهش می‌یابد.

پیشرفت چرخه سلولی لنفوسیت‌ها پس از تحریک با فیتوهماگلوتینین، بسته به شرایط کشت و محیط کشتی که مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌تواند کاملاً متفاوت باشد. محیط‌های کشتی که استفاده می‌شوند مانند RPMI،Ham's F-10، محیط TC-۱۹۹ یا حداقل محیط ضروری (MEM) است.

۱-۳- ساختمان کروموزوم

۱-۳-۱- بسته بندی کروماتین

ارتباط DNA و هیستون‌ها در ساختمان یک نوکلئوزوم بخوبی مشخص شده است و این در حالی است که ارتباط پروتئین‌های غیر هیستونی با مجموعهٔ نوکلئوزوم هنوز بخوبی شناخته نشده است. بعلاوه، مشخص است که DNA در خارج از مرکز هیستونی نوکلئوزوم قرار دارد. برخی مطالعات وجود یک ساختمان مرکزی محوری تشکیل شده از پروتئین‌های غیر هیستونی یا یک داربست پروتئینی غیر هیستونی را در کروموزوم مرحلهٔ متافازی نشان دادند. تأثیر این نوع ساختمان‌های مرکزی در تشکیل شکست‌های کروموزومی هنوز روشن نشده است (۹ و ۱۰). ساختمان‌های مرکزی در زیر میکروسکوپ نوری بشکل نواحی رنگ‌پذیر نقره‌ای در کروموزوم‌های مراحل مختلف تقسیم قابل مشاهده هستند. اگرچه وجود یک قالب پروتئینی مرکزی سازمان یافته در مرحله انترفاز بخوبی مستند است، اما وجود داربست در کروموزوم‌های متافازی احتمالاً کاذب است. یک مدل سادهٔ سازمان یافته از کروموزوم متافازی در شکل ۱-۱ نشان داده شده است.



شکل ۱-۱- نمایی از فرم‌های مختلف توده کروماتینی که برای تبدیل به کروموزوم متافازی به شدت متراکم می شوند

۱-۳-۲- کاریوتیپ انسان

کاریوتیپ یک انسان مذکر با استفاده از نواربندی G (G- banding) در شکل ۱-۲ نشان داده شده است. کروموزوم‌ها بطور معمول از ۵ گروه اتوزوم (Aتا E) و جفت کروموزوم‌های جنسی تشکیل شده‌اند.

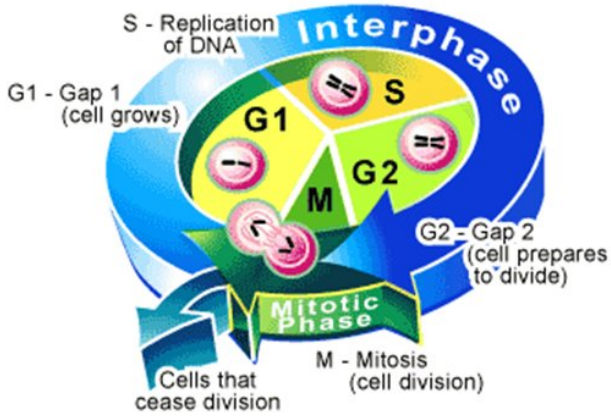
شکل ۱-۲- کاریوتیپ نرمال انسان مذکر

۱-۳-۳- چرخه سلولی

با بررسی کروموزوم‌ها در مرحلهٔ تقسیم سلولی، می‌توان اطلاعات مهمی در مورد اثرات کلاستوژنیک مواد فیزیکی و شیمیائی بر سلول‌های انترفازی بدست آورد. این تقسیم در سلول‌های سوماتیکی (بدنی) تقسیم میتوز نام دارد. سلول‌های بدنی مورد نظر در دوزیمتری بیولوژیکی، لنفوسیت‌های محیطی و سلول‌های پایه خونساز هستند.

توصیف مراحل اصلی چرخه سلول (M , S , G2 ,G1) به وسیله هوارد و پلک به سال ۱۹۵۳ بر می گردد. طی یک چرخه کامل سلولی، همانندسازی سلول در مرحله S به منظور سنتز یک مجموعه کروموزومی مشابه برای انتقال به سلول‌های دختر در مرحله M ضروری است. فاصله هایی بین میتوز و سنتز DNA وجود دارد که هیچ نشانه ای در آن دیده نمی شود. این اولین شکاف را هوارد و پلک G1

نامیدند که هنوز نیز استفاده می شود. پس از تکمیل سنتز DNA شکاف دیگری نیز (شکاف دوم) پیش از میتوز به نام G2 وجود دارد (شکل ۱– ۳).

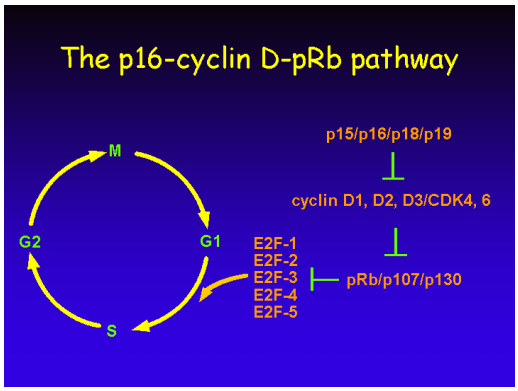


شکل ۱– ۳– مراحل چرخه سلولی

تنظیم چرخه با فعال شدن دوره ای اعضای مختلف خانواده کیناز وابسته به سیکلینCDK انجام می شود. هر CDK فعال مجموعه ای با یک سیکلین خاص است. لازم است مجموعه های مختلف سیکلین‌هایCDK تعدادی از سوبسترای پروتئینی را فسفریله کنند که منجر به رخدادهایی همانند شروع همانندسازیDNA یا شروع میتوز در چرخه سلول می شود. وجود و عملکرد صحیح سیکلینCDK نیز برای ممانعت از شروع وقایع چرخه سلول در زمان نامناسب ضروری است.

تنظیم دقیق فعالیت سیکلینCDK به وسیله برخی از مکانیزم‌های رونوشت‌برداری و پس از آن زمان دقیق و هماهنگی رخدادهای چرخه سلولی را میسر می‌سازد. زیرا واحد کاتالیتیکی CDK به خودی خود غیر فعال و برای فعالیت کامل مستلزم همراهی با یک زیر واحد سیکلین و فسفریلاسیون باقیمانده ترئونین معمولا T-160 است. مجموعه سیکلین–CDK به طور قابل برگشت یا با فسفریلاسیون روی باقیمانده تیروزین معمولا Y-15 واقع بر روی آدنوزین تری فسفات یا با همراهی پروتئین‌های بازدارنده کیناز سیکلین غیر فعال می‌شود. پس از تکمیل انتقال چرخه سلول مجموعه به صورت غیر قابل برگشت با تجزیه زیر واحد سیکلین به واسطه یوبیکوئیتین غیر فعال می‌شود.

ورود سلول به مرحله S با CDK ها که به ترتیب به وسیله سیکلین‌های A,E,D تنظیم می‌شوند، کنترل می‌شود. سیکلین‌های نوع D به عنوان حسگرهای عامل رشد عمل می‌کنند و بیان آنها بیشتر به عوامل خارج سلولی در مقایسه با موقعیت سلول در چرخه بستگی دارد. تشکیل مجموعه و سنتز CDK۴ و CDK۶ و فعالیت کاتالیتیک مجموعه ها موجب تحریک میتوژنی سلول می‌شود. شایان ذکر است تا زمانی که تحریک میتوژنی ادامه دارد در چرخه باقی می‌مانند. بیان سیکلین E در سلول‌های تکثیرشونده به طور طبیعی دوره‌ای است. در سرتاسر این دوره در مجموعه های فعال همراه با کاتالیتیک خود CDK۲ وارد می‌شود (۱۱).



شکل ۱- ۴- تاثیر سیکلین های مختلف بر چرخه سلولی

۱-۴- مکانیسم های آسیب رسانی پرتوهای یونساز

اساسا اثر بیولوژیکی تشعشع با ایجاد آسیب در مولکول DNA بعنوان هدفی بحرانی ناشی می شود (۱۲ و ۱۳). آسیب رسانی پرتوهای یونساز به مواد بیولوژیک اساسا با دو مکانیسم صورت می گیرد:

۱-۴-۱- آسیب رسانی مستقیم

هنگامی که پرتوهای یونساز (پرتوهای ایکس، گاما و ذرات باردار) در مواد بیولوژیکی جذب می‌شوند، این امکان وجود دارد که مستقیماً با هدف‌های بحرانی در سلول اندرکنش دهند. اتم‌های هدف خود نیز ممکن است یونیزه یا تهییج شوند. لذا زنجیره‌ای از وقایع تغییرات بیولوژیکی در سلول آغاز می‌گردد. این فرایند عمل مستقیم پرتو نامیده می‌شود.

۱-۴-۲- آسیب رسانی غیر مستقیم

پرتو ممکن است با اتم‌ها یا مولکول‌های مختلف بویژه آب برخورد کرده و ایجاد رادیکال‌های آزاد کند که این رادیکال های آزاد قادر به نفوذ و ایجاد آسیب در هدف‌های بحرانی می‌باشند. این فرایند عمل غیرمستقیم پرتو نامیده می‌شود. ۸۰ درصد سلول از آب تشکیل شده است و بنابراین مکانیسم غالب آسیب رسانی پرتوهای ایکس و گاما بصورت غیر مستقیم می باشد.

برای عمل غیر مستقیم پرتوهای ایکس، زنجیره ای از وقایع، از جذب فوتون اولیه تا تغییر بیولوژیکی نهائی روی می‌دهد. این مراحل را می‌توان به بصورت شکل زیر خلاصه کرد:

فوتون اشعه ایکس یا گاما

⇩

الکترون سریع (-e)

⇩

رادیکال یونی

⇩

رادیکال آزاد

⇩

تغییرات شیمیایی ناشی از شکست پیوندها

⇩

آثار بیولوژیکی

تفاوت زمانی بسیار زیادی در این وقایع وجود دارد. مدت زمان پدیده یونیزاسیون اولیه ممکن است فقط $۱۰^{-۵}$ ثانیه به طول انجامد. رادیکال‌های اولیه تولید شده ناشی از دفع یک الکترون عمدتا عمری حدود $۱۰^{-۱۰}$ثانیه دارند. رادیکال هیدروکسیل عمری حدود $۱۰^{-۹}$ ثانیه در سلول و رادیکال‌های DNA تشکیل شده با یونیزاسیون مستقیم یا طی واکنش با رادیکال‌های (OH°) احتمالا عمری حدود